

DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGIA ANIMAL  
UNIVERSIDAD DE CORDOBA  
UNIDAD DE INVESTIGACION  
HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFIA

EFECTO DIRECTO DEL PH SOBRE LA SECRECION DE HORMONA  
PARATIROIDEA (PTH)

IGNACIO LÓPEZ VILLALBA  
CORDOBA, 2002

DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGIA ANIMAL  
UNIVERSIDAD DE CORDOBA  
UNIDAD DE INVESTIGACION  
HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFIA

EFFECTO DIRECTO DEL PH SOBRE LA SECRECION DE HORMONA  
PARATIROIDEA (PTH)

Memoria de Tesis Doctoral presentada por IGNACIO LOPEZ VILLALBA,  
Licenciado en Veterinaria, para optar al grado de DOCTOR.

Los directores

Dr. Escolástico Aguilera Tejero

Profesor Titular del Departamento de  
Medicina y Cirugía Animal de la  
Universidad de Córdoba

Dr. Juan Mariano Rodríguez Portillo

Profesor Asociado del Departamento  
de Medicina de la Universidad de  
Córdoba

"[...] Lo que sea importante quedará; lo que sea inútil desaparecerá. Pero que cada uno juzgue simplemente las propias conquistas: no somos jueces de los sueños de nuestro prójimo.

Para tener fe en nuestro camino, no es preciso demostrar que el camino del otro es equivocado. El que actúa así, no confía en sus propios pasos."

Paulo Coelho  
*Maktub*

*A mis padres*

*A mis hermanos y a Meike*

Durante la elaboración de este trabajo ha habido muchas personas que han contribuido de alguna u otra manera a que esta Tesis Doctoral saliera adelante y a que finalmente vea la luz. A todas ellas debo dedicar estas páginas y quiero expresarles mi agradecimiento. Este agradecimiento debe tener mención especial para:

El *Dr. Escolástico Aguilera Tejero*, por su magnífica tarea como director de este trabajo de Tesis Doctoral, al que ha dedicado pacientemente mucho tiempo y esfuerzo. También quiero expresarle aquí mi satisfacción y mi agradecimiento por haber podido trabajar junto a él todos estos años. Durante este tiempo, que se remonta hasta mis primeros pasos como colaborador del Dpto. de Patología Médica antes de obtener la licenciatura, ha constituido para mi un modelo ejemplar de rigor y superación profesional.

El *Dr. Juan Mariano Rodríguez Portillo*, por haberme concedido el privilegio de trabajar bajo su dirección y asesoramiento. Además de las valiosas aportaciones científicas que ha hecho a este trabajo, quiero destacar y agradecer su capacidad de análisis, siempre tan constructiva y optimista que resulta muy útil para afrontar con entusiasmo e ilusión el enorme esfuerzo que constituye un trabajo de estas características.

El *Dr. Rafael Mayer Valor*, director del Departamento de Medicina y Cirugía Animal, por haber puesto a mi alcance los medios necesarios para el desarrollo de este trabajo. También quiero agradecerle su continuo apoyo y la confianza que me ha mostrado desde el momento en que comencé a trabajar en este departamento.

El *Dr. Arnold J. Felsenfeld*, por las aportaciones científicas prestadas a lo largo de la realización de esta Tesis Doctoral.

El *Dr. José Carlos Estepa*, por haberme ofrecido en todo momento su ayuda y colaboración de manera incondicional, mostrándose siempre como un magnífico compañero. Además de las innumerables aportaciones profesionales que me ha brindado desde el momento que comencé a trabajar con él, he de agradecer a José Carlos su entrega personal como amigo.

La *Dra. Yolanda Almadén*, por haber sido una excelente compañera desde el primer día que entre en el laboratorio de los “Paratiroides”, ofreciéndome siempre su inestimable ayuda y colaboración. También quiero expresarle mi agradecimiento por poder disfrutar de su valiosa amistad, que me confiere la oportunidad de compartir muy buenos momentos dentro y fuera del trabajo.

El *Dr. Antonio Canalejo*, por comportarse como un excelente compañero, del que he recibido, además de su ayuda, una inquietud especial por encontrar siempre el interés científico de las cosas. Además de estar agradecido por disfrutar de sus conocimientos, he de estarlo por poder compartir con él algunas aficiones.

*Sonia Bas y Bartolomé Garfia*, quienes me han ayudado en numerosas ocasiones durante la realización de la parte experimental de este trabajo.

Los demás compañeros de laboratorio: *Gracia Añón, Fernando Luque, Sagrario Cañadillas y Alicia Bas*, por haber sido igualmente unos estupendos compañeros y haberme ayudado siempre que ha sido necesario. Todos ellos constituyen, no sólo un magnífico grupo de trabajo, sino un círculo de amigos del que me siento orgulloso y feliz de formar parte.

El resto de mis compañeros de la Unidad Experimental (por orden alfabético): *Amira, Ana*

*Quintero, Carmen Marín, Chari López, Charo Jiménez, Elier Paz, Emilio Siendones, Jordi Muntané, José Manuel Lozano, Juan Antonio Madueño, Juan Moreno, Julia Carracedo, Lola Bravo, Nuria Barbarroja, Pablo Dobado, Puri Gómez, Rafael Ramírez, Silvia Sainz, Yolanda Jiménez,* con quienes he compartido tantísimos momentos de trabajo prestándome su ayuda y soportando pacientemente los inconvenientes de mi trabajo con perros. También quiero agradecerles los buenos momentos de ocio que hemos compartido fuera del trabajo, imprescindibles para afrontar el día a día con buen humor.

*Katuska Satué,* por haber sido una muy buena compañera, con la que he compartido en la sala de becarios largos días de trabajo inmersos en nuestros trabajos de tesis.

*Los miembros del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Universidad de Córdoba.*

*El personal de trabajo de la Unidad de Investigación del Hospital Universitario Reina Sofía,* sin cuya ayuda y colaboración no hubiera sido posible la realización de este trabajo. Especialmente quiero dar gracias a *José Luis Delgado,* por haberme facilitado el trabajo en todo lo posible y haberse mostrado siempre con excelente disposición y voluntad. De forma no menos especial, también quiero destacar la colaboración prestada por *Manoli Gallego,* gracias a la cual he podido disponer del material necesario para este trabajo y a *María Dolores Castro,* por agilizarme los trámites burocráticos necesarios para la presentación de esta Tesis. También quiero agradecer la valiosa ayuda y colaboración de *Francisco Javier Sánchez, Leovigilda Ortiz y María Francisca de Molina.*

*Los miembros del Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Universitario Reina Sofía,* por el buen trato que siempre me han ofrecido. De forma especial, quiero resaltar la ayuda prestada por *Antonio, Chelo y Mari Carmen* quienes me ofrecieron en todo momento su atención y colaboración. Además tengo que agradecerles los buenos momentos que pasé en su “acogedor” laboratorio durante las infinitas mediciones de “pth” que allí realicé.

*El Centro de Control Animal de Córdoba,* por habernos provisto de los animales necesarios para el desarrollo de este estudio. Quiero resaltar la especial importancia que ha tenido para nuestro grupo de trabajo el contar con el apoyo y participación de todos los miembros de esta entidad.

Mis padres, *Ignacio López y Benilde Villalba,* quienes son responsables en gran medida de la realización de esta Tesis Doctoral, pues gracias a su esfuerzo y sacrificio he tenido la oportunidad de obtener una licenciatura y seguir después dedicado a la investigación. Además, quiero agradecerles de forma especial la confianza y el cariño que siempre han depositado en mí, a pesar de no comprender muy bien el sentido de todo este tiempo dedicado al trabajo de Tesis.

Mis hermanos, *Escolástica y Félix,* por apoyar y aceptar todas mis decisiones. Gracias a su comprensión y cariño incondicional ha sido posible gran parte de los esfuerzos que he dedicado en mi formación profesional.

*Meike,* que ha soportado con paciencia y resignación mis cambios de humor en los últimos meses de redacción de este trabajo, durante los cuales el tiempo y la atención que le he prestado han sido escasos. Sin su cariño y su apoyo no hubiera podido superar los bajos momentos que he atravesado cuando las cosas no iban bien.

## LISTA DE ABREVIATURAS

A continuación, se presenta una relación de las abreviaturas más utilizadas a lo largo del texto.

AA	Acido araquidónico
AC	Adenilato ciclasa
Ac. Met.	Acidosis metabólica
Ac. Res.	Acidosis respiratoria
ADH	Hormona antidiurética
ADN	Acido desoxirribonucleico
Alb	Albúmina
Alc. Met.	Alcalosis metabólica
Alc. Res.	Alcalosis respiratoria
AMPc	Adenosina monofosfato cíclica
ARN	Acido ribonucleico
ARNm	Acido ribonucleico mensajero
At	Acidos débiles no volátiles
ATP	Trifosfato de adenosina
$Ca^{2+}$	Calcio iónico
$Ca_i^{2+}$	Calcio iónico intracelular
CaR	Receptor de calcio
CT	Calcitonina
CTR	Calcitriol
DAG	Diacilglicerol
HETEs	Acidos hidroxieicosatrenoicos
HPETEs	Acidos hidroxiperoxieicosatrenoicos
HPTH2	Hiperparatiroidismo renal secundario
$IP_3$	Inositol trifosfato
IRC	Insuficiencia renal crónica

LO	Lipoxigenasa
MAP	Proteína activada por mitógenos
Mg	Magnesio total
Mg <sup>2+</sup>	Magnesio iónico
nCaRE	Elemento de respuesta negativa al Ca <sup>2+</sup>
P	Fósforo inorgánico
PIP <sub>2</sub>	Fosfatidil-inositol 4,5-bifosfato
PKC	Proteína quinasa C
PLA <sub>2</sub>	Fosfolipasa A <sub>2</sub>
PLC	Fosfolipasa C
PTH	Hormona paratiroidea
PTHrP	Péptido relacionado con la PTH
SID	Diferencia de iones fuertes
TPX	Tiropatiroidectomía
VDR	Receptor de vitamina D
VDRE	Elemento de respuesta a la vitamina D



## ***INDICE***

	<u><i>Página</i></u>
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION BIBLIOGRAFICA	7
III. MATERIAL Y METODOS	113
IV. RESULTADOS	145
V. DISCUSION	217
VI. CONCLUSIONES	271
VII. RESUMEN	275
VIII. SUMMARY	279
IX. BIBLIOGRAFIA	283

**I. INTRODUCCION**



Los enfermos con insuficiencia renal crónica (IRC) frecuentemente desarrollan hiperparatiroidismo secundario (HPTH2).<sup>383</sup> El exceso en la producción de hormona paratiroidea (PTH) se debe a varios factores relacionados con la reducción de masa renal funcionante: hipocalcemia, disminución en los niveles de calcitriol (CTR) e hiperfosfatemia, principalmente.<sup>323</sup> Estos enfermos también suelen padecer acidosis metabólica, causada por la disminución en la excreción renal de ácidos fijos. Aunque se sabe que la disminución del pH favorece la descalcificación ósea,<sup>99,294</sup> una cuestión que está actualmente por resolver es si la acidosis que acompaña a la IRC influye directamente en la secreción de PTH. Este hecho tiene gran relevancia, puesto que el manejo terapéutico de los pacientes con IRC no será idóneo mientras existan dudas sobre los mecanismos por los que la acidosis favorece el HPTH2.

La relación entre PTH y equilibrio ácido-base no se conoce con exactitud. Desde un punto de vista filogenético, se ha propuesto que las glándulas paratiroides podrían haber tenido un papel importante en la homeostasis ácido-base y que, posteriormente, habrían evolucionado hacia la regulación del metabolismo mineral.<sup>521</sup> Dicha hipótesis se basa en que la acción de la PTH sobre el hueso proporciona un incremento de sustancias tampón con las que se puede neutralizar la acidosis. Por otro lado, la PTH actúa sobre los túbulos renales favoreciendo la eliminación de hidrogeniones en la orina (al aumentar la presencia de fosfato en el túbulo contorneado distal, que se comporta como aceptor de protones, favoreciendo así la reabsorción de bicarbonato en este punto de la nefrona).<sup>51,382</sup> Si la PTH ayuda a controlar el pH, parece lógico pensar que los cambios del pH deberían influir sobre la secreción de PTH. Sin embargo, hasta hoy no existen datos que hayan demostrado un efecto directo de los cambios del pH sobre la secreción de PTH.

La relación entre acidosis y HPTH2 es compleja. Existen estudios que sugieren que la disminución del pH puede favorecer el desarrollo de HPTH2, aunque otros investigadores no han conseguido demostrar un efecto de la acidosis sobre la secreción

de PTH. La disparidad de resultados está condicionada, en parte, por la dificultad para realizar estudios *in vivo*, dado que las modificaciones de pH influyen sobre diversos parámetros que alteran la secreción de PTH. En concreto, las variaciones del pH provocan cambios en la ionización del calcio plasmático, modificando la proporción de calcio unido a la albúmina.<sup>458</sup> Además, la acidosis produce un descenso en la síntesis de CTR, el cual influye sobre la secreción de PTH directa e indirectamente.<sup>92,122, 195,272,311</sup> La disminución del pH también ejerce un efecto directo sobre el hueso, independientemente de la acción hormonal, que favorece la reabsorción mineral y, por lo tanto, tiende a modificar la calcemia y fosfatemia.<sup>106,115</sup> Finalmente, la excreción urinaria de calcio, fósforo, y magnesio sufre modificaciones cuando varía el pH del medio interno.<sup>121,135,238,288,295,444</sup> Estas acciones colaterales determinan que se desconozca si existe un efecto directo del pH sobre la secreción de PTH, puesto que en ninguno de los estudios realizados hasta ahora se ha logrado controlar la calcemia cuando se modifica el pH.

Nuestro grupo investigador ha desarrollado un modelo experimental canino *in vivo* con el que se consigue modificar de forma aguda el pH sanguíneo, a la vez que se mantienen constantes los niveles de calcio iónico ( $\text{Ca}^{2+}$ ). De esta forma, se puede aislar el efecto del pH sobre la secreción de PTH sin las interferencias que suponen los cambios en la calcemia. En este trabajo, se ha utilizado este modelo experimental, con el propósito de conseguir los siguientes objetivos:

1. Evaluar *in vivo* el efecto de los cambios en el estado ácido-base sobre la secreción de PTH.
2. Determinar si el efecto es diferente cuando las alteraciones del pH son debidas a procesos metabólicos o respiratorios.

3. Analizar si los cambios en el equilibrio ácido-base provocan modificaciones en el metabolismo de la PTH.

**II. REVISION BIBLIOGRAFICA**

## II. REVISION BIBLIOGRAFICA

### A. METABOLISMO MINERAL

#### A.1. HOMEOSTASIS DEL CALCIO Y DEL FOSFORO

##### A.1.1. ELEMENTOS INTEGRANTES DEL SISTEMA HOMEOSTATICO

##### A.1.2. RESPUESTA DEL SISTEMA HOMEOSTATICO A LAS VARIACIONES DE CALCIO Y FOSFORO EXTRACELULARES

#### A.2. LAS GLANDULAS PARATIROIDES Y LA PARATHORMONA (PTH)

##### A.2.1. ANATOMIA DE LAS GLANDULAS PARATIROIDES

##### A.2.2. HISTOLOGIA DE LAS GLANDULAS PARATIROIDES

##### A.2.3. BIOSINTESIS DE LA PTH

##### A.2.4. ESTRUCTURA DE LA PTH

##### A.2.5. RELACION ESTRUCTURA-ACTIVIDAD DE LA PTH

##### A.2.6. METABOLISMO DE LA PTH

#### A.3. REGULACION DE LA FUNCION PARATIROIDEA

##### A.3.1. REGULACION DE LA FUNCION PARATIROIDEA POR CALCIO

##### A.3.2. REGULACION DE LA FUNCION PARATIROIDEA POR CALCITRIOL

##### A.3.3. REGULACION DE LA FUNCION PARATIROIDEA POR FOSFORO

### B. ESTADO ACIDO-BASE

#### B.1. REGULACION DEL ESTADO ACIDO-BASE

##### B.1.1. ANALISIS TRADICIONAL DEL ESTADO ACIDO-BASE

###### B.1.1.1. REGULACION DEL PH

###### B.1.1.2. ELECTROLITOS Y PH

##### B.1.2. ANALISIS CUANTITATIVO DEL ESTADO ACIDO-BASE

###### B.1.2.1. VARIABLES DEPENDIENTES E INDEPENDIENTES

###### B.1.2.2. PRESION PARCIAL DE CO<sub>2</sub>

###### B.1.2.3. DIFERENCIA DE IONES FUERTES

###### B.1.2.4. CONCENTRACION DE ACIDOS DEBILES NO VOLATILES

#### B.2. ALTERACIONES DEL EQUILIBRIO ACIDO-BASE

##### B.2.1. ANALISIS TRADICIONAL

##### B.2.2. ANALISIS CUANTITATIVO

### C. RELACION ENTRE EL METABOLISMO MINERAL Y EL ESTADO ACIDO-BASE

#### C.1. LA PTH Y EL EQUILIBRIO ACIDO-BASE

##### C.1.1. PTH Y ACIDIFICACION URINARIA

##### C.1.2. PTH Y *BUFFERS* EXTRARRENIALES

#### C.2. HIPERPARATIROIDISMO RENAL SECUNDARIO (HPTH2)

##### C.2.1. INSUFICIENCIA RENAL CRONICA Y HPTH2

##### C.2.2. ACIDOSIS METABOLICA Y HPTH2

###### C.2.2.1. EL HUESO Y LA HOMEOSTASIS MINERAL

###### C.2.2.2. OSTEODISTROFIA RENAL

###### C.2.2.3. EFECTO DE LA ACIDOSIS SOBRE EL HUESO

###### C.2.2.4. PAPEL DE LOS ANIONES EN LA OSTEODISTROFIA RENAL

###### C.2.2.5. EFECTO DE LA ACIDOSIS SOBRE PTH Y CALCITRIOL



## **A. METABOLISMO MINERAL**

### **A.1. HOMEOSTASIS DEL CALCIO Y DEL FOSFORO**

El mantenimiento de la homeostasis del calcio y del fósforo es de gran importancia para el correcto funcionamiento del organismo, dado el importante papel que desempeñan estos dos minerales en el ser vivo.

El calcio es un elemento esencial en todas las especies que integran la escala filogenética. En mamíferos, tiene una gran variedad de funciones tanto a nivel extracelular como intracelular: participa en numerosas reacciones enzimáticas, en mecanismos de secreción y acción hormonales y está íntimamente ligado a la transmisión del impulso nervioso y a la contracción muscular; además, también juega un esencial papel en la transmisión de señales celulares, en los fenómenos de división celular, fecundación y coagulación sanguínea.<sup>85</sup>

El 99 % del calcio presente en el organismo está depositado en el hueso, que representa el principal reservorio de este mineral. Del calcio presente en sangre, aproximadamente el 45 % se encuentra unido a proteínas, sobre todo albúmina; entre un 5 y un 10% forma complejos con ácidos débiles (bicarbonato, citrato, fosfato, etc.); y el resto, alrededor del 50 % (1.25 mM), se encuentra en forma iónica ( $\text{Ca}^{2+}$ ), siendo este último el único que tiene actividad biológica.<sup>390</sup>

La concentración extracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  debe mantenerse regulada dentro de unos límites bastante estrechos, por lo que existe un complejo y preciso sistema hormonal encargado de mantener la homeostasis del calcio.<sup>85</sup>

El fósforo también desarrolla un papel trascendental en numerosos procesos biológicos. Así, aparece en los productos intermediarios que participan en el metabolismo de la glucosa, siendo un constituyente esencial de elementos transmisores de alta energía, entre los que

destaca el trifosfato de adenosina (ATP). Asimismo, el fósforo forma parte de cofactores, como el dinucleótido del ácido nicotínico, y de sustancias de naturaleza lipídica, como la fosfatidilcolina, y puede actuar como modificador covalente de numerosas enzimas.<sup>292</sup>

Al igual que el calcio, la mayor parte (80%) del fósforo presente en los mamíferos se encuentra integrando la estructura cristalina del hueso, siendo éste su principal depósito de reserva. En el resto del organismo, el fósforo se localiza preferentemente a nivel intracelular. En el fósforo sanguíneo se pueden diferenciar tres fracciones: a) el fósforo lipóidico, que corresponde a los fosfolípidos; b) el fósforo incorporado a proteínas, al ATP, al ácido adenílico y a otras moléculas orgánicas; y c) y el fósforo inorgánico (P), que es la fracción constituida por los fosfatos y pirofosfatos. Este último es el que se mide rutinariamente en sangre.<sup>248</sup>

### **A.1.1. ELEMENTOS INTEGRANTES DEL SISTEMA HOMEOSTÁTICO**

El sistema homeostático del  $\text{Ca}^{2+}$  está constituido por tres componentes fundamentales:

a) El primero de ellos está formado por los iones,  $\text{Ca}^{2+}$  y P, que serán los principales protagonistas y en torno a cuya regulación girará el resto de elementos del sistema.<sup>85</sup>

b) El segundo elemento de este sistema homeostático es un “componente sensor”, encargado de percibir y responder a pequeñas variaciones en las concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular. Aquí se incluyen a las células paratiroides, las células de los túbulos proximales del riñón y las células C del tiroides, encargadas de producir hormona paratiroidea (PTH), calcitriol (CTR) y calcitonina (CT), respectivamente.<sup>27,65,83,329,453</sup>

c) Finalmente está el “componente efector”, compuesto por las células renales, óseas e intestinales, que responden a los estímulos producidos por las hormonas. De esta forma, modulan el intercambio de  $\text{Ca}^{2+}$  entre el medio extracelular, el riñón, el sistema esquelético y

el intestino, con la finalidad de mantener estables las concentraciones plasmáticas de estos iones.<sup>26,83,390,409,481</sup>

### **A.1.2. RESPUESTA DEL SISTEMA HOMEOSTÁTICO A LAS VARIACIONES DE CALCIO Y FOSFORO EXTRACELULARES**

El sistema homeostático anteriormente descrito está preparado para responder a variaciones muy pequeñas de la concentración extracelular de  $\text{Ca}^{2+}$ . La respuesta inmediata a las fluctuaciones de la calcemia viene determinada fundamentalmente por la PTH. De esta manera, pequeñas reducciones en la concentración plasmática de  $\text{Ca}^{2+}$  desencadenan un aumento en la secreción de PTH.<sup>453</sup> El sistema homeostático también es capaz de reconocer fluctuaciones en la concentración de P extracelular: el incremento en la concentración de P estimula la secreción de PTH y el descenso de P plasmático da lugar a un aumento en la síntesis de CTR.

La PTH actúa sobre el sistema esquelético favoreciendo los fenómenos de resorción ósea, provocando una salida de  $\text{Ca}^{2+}$  y de P desde el hueso hacia el espacio extracelular. Al mismo tiempo, a nivel renal, esta hormona favorece los procesos de reabsorción de  $\text{Ca}^{2+}$  y la eliminación de P.<sup>6,153</sup> Por último, la PTH estimula la síntesis de CTR a partir del 25-hidroxicolecalciferol.<sup>187,242</sup> Por lo tanto, el conjunto de las acciones de la PTH va encaminado a incrementar la calcemia y reducir la fosfatemia.<sup>85</sup>

El CTR actúa fundamentalmente a nivel intestinal, favoreciendo la absorción de  $\text{Ca}^{2+}$  y P, y a nivel óseo, provocando salida de  $\text{Ca}^{2+}$  y de P desde el esqueleto hacia el medio extracelular. Así pues, el CTR tiende a aumentar tanto la calcemia como la fosfatemia.<sup>85</sup> El CTR presenta al mismo tiempo un efecto “feed-back” negativo sobre las glándulas paratiroides, de forma que niveles elevados de CTR inhiben la síntesis y, posiblemente, la secreción de PTH.<sup>85,326,354,406</sup>

## *II Revisión bibliográfica*

---

Al incrementarse la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular se produce el efecto contrapuesto sobre las glándulas paratiroides: una inhibición de la secreción de PTH. La disminución en los niveles de PTH circulante da lugar a un incremento en la eliminación de  $\text{Ca}^{2+}$  por la orina, a una disminución en la salida de  $\text{Ca}^{2+}$  y P desde el hueso hacia la sangre, y a una menor absorción de estos iones desde el intestino (al cesar el efecto estimulador que ejerce la PTH sobre la síntesis de CTR).<sup>85,481</sup>

En algunas especies animales, como la rata, la hipercalcemia eleva notablemente la secreción de CT. Ello da lugar a una inhibición directa de los osteoclastos, reduciéndose así el flujo de  $\text{Ca}^{2+}$  desde el sistema óseo hacia la sangre, y a un aumento en la eliminación de  $\text{Ca}^{2+}$  por orina.<sup>27</sup> Sin embargo, en la mayoría de los mamíferos adultos la acción de la CT es muy limitada, debido a la relativamente baja tasa de remodelación del hueso.<sup>85</sup>

## **A.2. LAS GLANDULAS PARATIROIDES Y LA PARATHORMONA**

Como se ha descrito anteriormente, la PTH desempeña un papel fundamental en el complejo sistema de regulación del metabolismo fosfocálcico. Su principal misión es mantener el  $\text{Ca}^{2+}$  y el P extracelulares en unos niveles constantes, regulando los procesos de intercambio de estas iones entre el medio extracelular y el esqueleto, y modulando los procesos de absorción intestinal y excreción renal de  $\text{Ca}^{2+}$  y P.<sup>85</sup>

### **A.2.1. ANATOMIA DE LAS GLANDULAS PARATIROIDES**

En la mayoría de los mamíferos se distinguen dos grupos de glándulas paratiroides: las externas, procedentes del III arco branquiógeno; y las internas, cuyo origen embriológico es el IV arco branquiógeno.<sup>364</sup>

En el perro, sujeto experimental en el presente trabajo, las glándulas paratiroides externas generalmente se localizan en la mitad craneal de la glándula tiroides, tanto en su cara lateral como en la medial (Figura 1). Sin embargo, en algunas ocasiones también pueden ocupar territorios más caudales, situándose en posiciones dorsolaterales al polo caudal de la glándula. Las glándulas paratiroides externas presentan una morfología oval, aplanada, y una coloración amarillo-rojiza, siendo fácilmente distinguibles de la glándula tiroides. Su tamaño depende del peso corporal, pudiendo ser tan pequeñas como un grano de arroz en las razas caninas de menor tamaño.<sup>364</sup>

Las glándulas paratiroides internas se encuentran generalmente embutidas en el espesor del parénquima de la glándula tiroides, aunque también pueden localizarse superficialmente en su cara medial, o incluso en el borde dorsal. Las glándulas paratiroides internas presentan morfología y coloración similares a las externas, aunque su tamaño es menor.<sup>364</sup>

El riego sanguíneo de estas glándulas corre a cargo de las arterias y venas paratiroides,

dependientes de una pequeña red lateral de la arteria carótida común y de la vena yugular, o bien de las arterias y venas tiroideas craneales.<sup>364</sup>

La inervación es satélite; junto a las arterias, les llegan ramos sueltos del sistema nervioso simpático procedentes del ganglio cervical craneal, al mismo tiempo que reciben inervación del sistema nervioso parasimpático procedente del nervio laríngeo caudal.<sup>364</sup>



**Figura 1.** Imagen ventral de la localización anatómica de las glándulas paratiroides en el perro.<sup>364</sup>

## **A.2.2. HISTOLOGIA DE LAS GLANDULAS PARATIROIDES**

La célula secretora de las glándulas paratiroides, también denominada célula principal, presenta morfología poligonal. Es una célula polar de origen ectodérmico, como claramente se demuestra por la localización citoquímica de ATPasa, fosfatasa alcalina y 5'-nucleotidasa.<sup>449,450,496,517</sup>

La zona basal de la membrana plasmática presenta un recorrido recto y descansa sobre una membrana basal. Las zonas lateral y apical forman varios pliegues e interdigitaciones con las células del parénquima vecino. El grado de plegamiento de la membrana plasmática aumenta al estimularse la actividad secretora de las glándulas paratiroides y decrece cuando éstas se inhiben.<sup>514,516</sup> De forma ocasional aparecen desmosomas en el borde que limita las zonas basal y lateral, y mucho más frecuentemente en la región de tránsito entre las zonas lateral y apical. Existe una importante actividad enzimática en los polos lateral y apical de la membrana plasmática.<sup>517</sup> El polo basal contiene mitocondrias y cisternas de retículo endoplásmico rugoso dispuestas en capas paralelas. En el polo apical se observan mitocondrias, cisternas de retículo endoplásmico rugoso y complejo de Golgi rodeado por vesículas. Los gránulos de secreción se encuentran distribuidos entre el complejo de Golgi y las zonas lateral y apical, a menudo en contacto con la membrana plasmática. Raramente, puede observarse fusión de la membrana del gránulo con la membrana plasmática y huecos de endocitosis.<sup>515</sup> En las células paratiroides de animales de edad avanzada se aprecian cuerpos multivesiculares, lisosomas, gránulos de lipofuscinas y vacuolas lipídicas. Por otra parte, la cantidad y tamaño de estas vacuolas de lípidos puede variar en consonancia con el estado hormonal.<sup>48</sup> Las células paratiroides pueden formar quistes y a menudo contienen algunos cilios móviles en el polo apical.<sup>518</sup>

Además de las células principales, y distribuidas entre ellas, en las glándulas paratiroides de animales viejos se aprecian células oxífilas y células de aspecto claro. Wild y Setoguti describen la existencia de células oxífilas en glándulas paratiroides de caballos, vacas y perros.

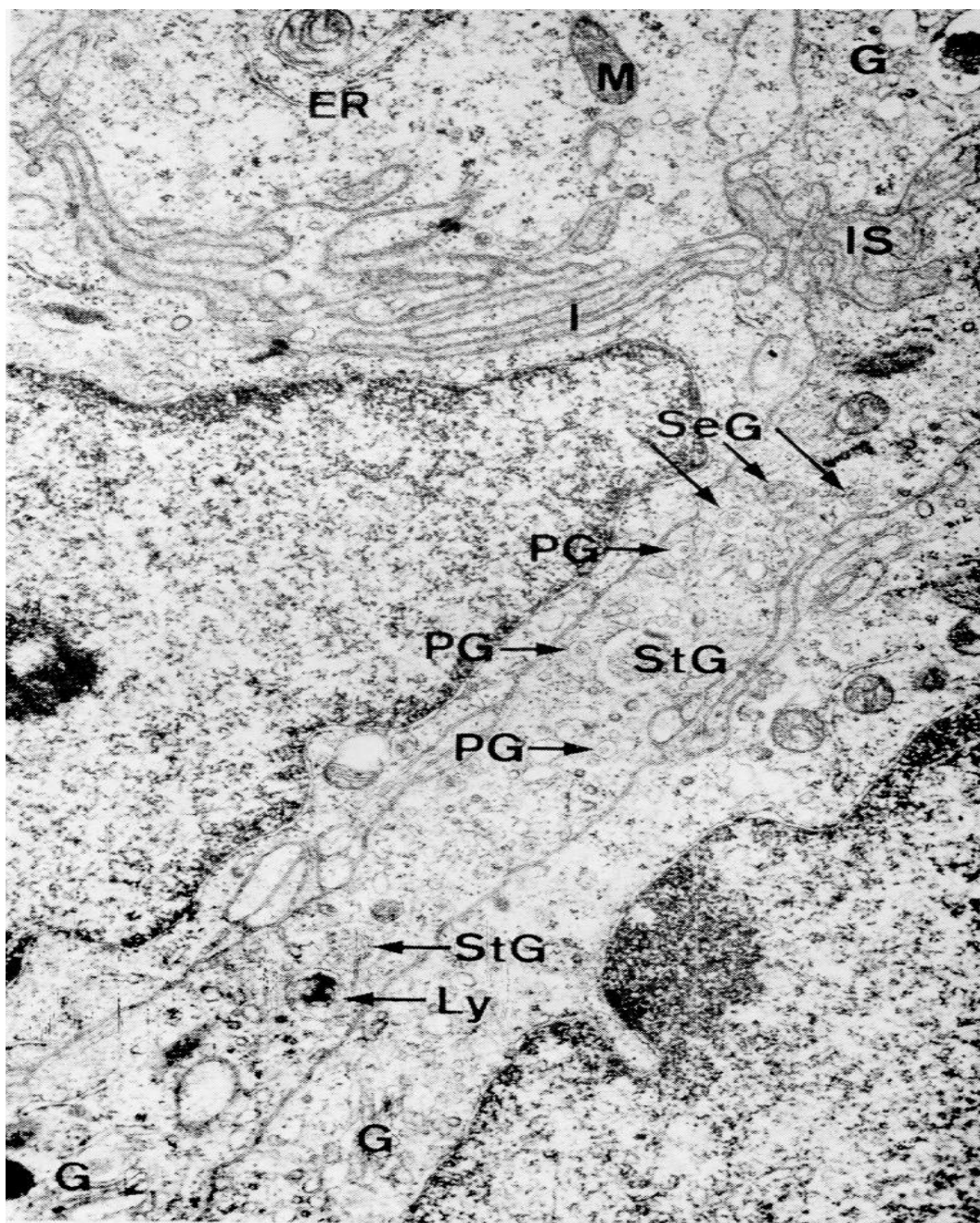
## *II Revisión bibliográfica*

---

Estas células, que derivan de las principales y pueden segregar PTH, son mucho menos numerosas que las células principales y aparecen aisladas o formando pequeños grupos. Son más grandes que las células principales y presentan una gran concentración de mitocondrias alargadas, con numerosas crestas. En los espacios que hay entre las mitocondrias se observan abundantes partículas de glucógeno, si bien no forman grandes masas como lo hacen en las células principales. El complejo de Golgi es poco llamativo y el retículo endoplásmico, escaso. Las células de aspecto claro tan sólo se han descrito en hamsters y en conejos.<sup>518</sup>

En las glándulas paratiroides de los mamíferos también puede encontrarse, aunque de forma ocasional, otros tipos celulares. Wild y Setoguti describieron células de características similares a las C tiroideas en glándulas paratiroides de caballo, y células similares a las productoras de somatostatina en glándulas paratiroides de conejo.<sup>518</sup>





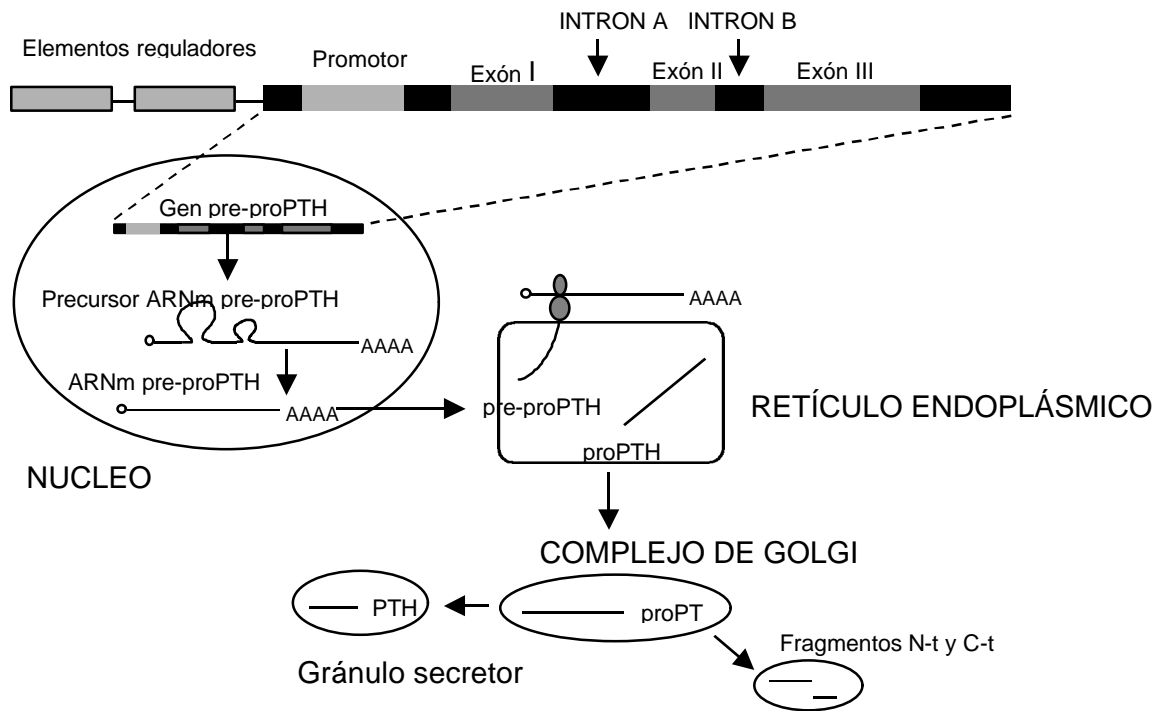
*Figura 2: Histología de las glándulas paratiroides.<sup>287</sup> IS Espacio intracelular, I interdigitación, M mitocondria, ER retículo endoplásmico, G aparato de Golgi, Ly lisosoma, SeG granulos de secreción, PG granulos pre-secreción, StG gránulos de almacén.*

### **A.2.3. BIOSÍNTESIS DE LA PTH**

En rata, bovino y humano, el gen para la síntesis de la molécula de PTH se presenta en el genoma haploide como una copia única que se localiza en la porción distal del brazo corto del cromosoma 11. El análisis de su estructura demuestra que contiene 2 intrones y un promotor único, a partir del cual la ARN polimerasa fabrica una gran molécula inicial de ácido ribonucleico (ARN). Tras la transcripción, el ARN inicial sufre en el núcleo un procesamiento por el que se eliminan las 2 secuencias no codificantes, quedando un ácido ribonucleico mensajero (ARNm) que será responsable de la síntesis de la pre-proPTH (Figura 2).<sup>230,499</sup>

La traducción del ARNm se lleva a cabo asociada a la membrana del retículo endoplásmico. La secuencia "pre" o péptido señal es la primera parte que surge del ribosoma, quedando por su carácter hidrófobo asociada a la membrana del retículo, lo que confiere a la PTH su carácter exportable. La síntesis de PTH comienza con la pre-proPTH, una proteína de 115 aminoácidos que contiene toda la información estructural codificada en el gen para la PTH. A medida que la cadena polipeptídica naciente va pasando a través de la membrana hacia la luz, una peptidasa específica situada en la cara interna de la membrana del retículo endoplásmico escinde, a partir del extremo N-terminal, 2 aminoácidos y, posteriormente, 23 aminoácidos, dando lugar a la aparición de un precursor intermedio de 90 aminoácidos denominado proPTH. La proPTH se transporta en el interior de vesículas desde el retículo endoplásmico rugoso hasta el complejo de Golgi, donde se eliminará la prosecuencia N-terminal constituida por 6 aminoácidos, apareciendo finalmente la molécula de PTH madura de 84 aminoácidos.<sup>221,399</sup> A continuación, la PTH se introduce en gránulos de secreción que se dirigen hacia la membrana plasmática, donde se liberarán por exocitosis en respuesta a una disminución en el nivel de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular. La hormona secretada es fundamentalmente la molécula de PTH intacta de 84 aminoácidos, aunque también se segrega una cantidad variable de fragmentos de PTH C-terminal y, posiblemente también, de fragmentos PTH N-terminal.<sup>180,221,222,259,330</sup>

El proceso que desencadena la liberación de PTH requiere tan sólo unos segundos, mientras que la síntesis de nuevas moléculas de PTH necesita de un tiempo superior a 2 horas.<sup>222</sup>



**Figura 3.** Organización del gen de la pre-proPTH y proceso de biosíntesis de la PTH.<sup>173</sup>

#### **A.2.4. ESTRUCTURA DE LA PTH**

Los primeros extractos biológicamente activos de paratiroides se prepararon hace 74 años por Collip.<sup>139</sup> En 1962, Rasmussen y Craig<sup>408</sup> purificaron la hormona, y su estructura primaria completa la determinaron Brewer y Ronan en 1970.<sup>66</sup> En la actualidad, se ha aislado y se conoce la secuencia estructural aminoacídica de la PTH de distintas especies de mamíferos y aves, destacando la información que existe al respecto en hombre, vaca, cerdo, rata y pollo.<sup>399,528</sup> En el caso del perro se ha aislado y secuenciado el cDNA de la PTH y, a partir de esta información, se ha podido predecir la secuencia de aminoácidos que forman la proteína.<sup>424</sup>

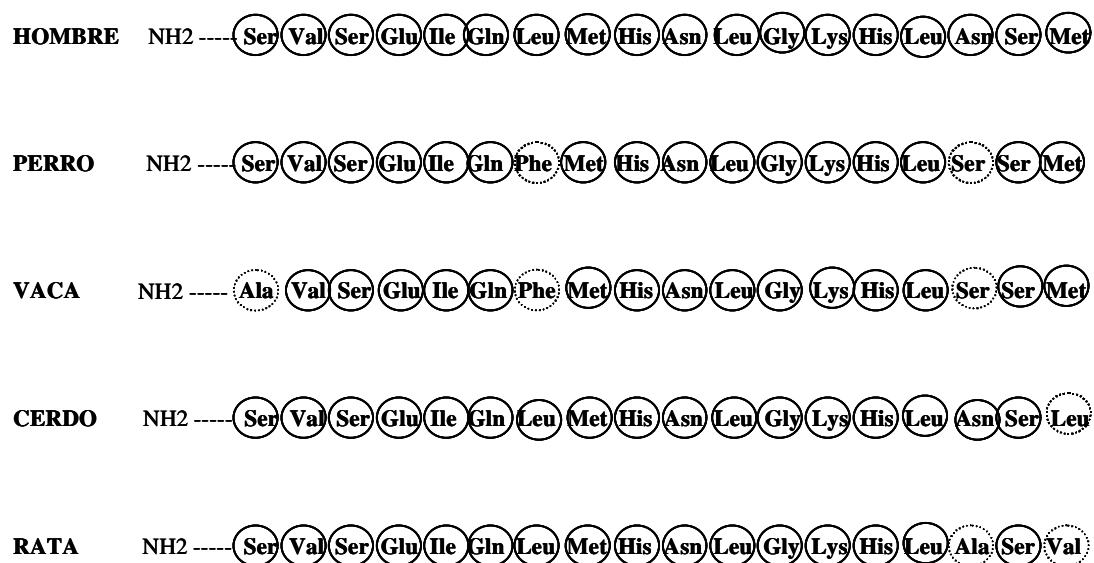
La secuencia de aminoácidos de la PTH bovina, porcina y humana se determinó por la técnica automatizada de Edman, mediante un proceso secuencial y progresivo de separación e identificación de los aminoácidos del grupo aminoterminal del polipéptido intacto y de subfragmentos hormonales preparados por digestión proteolítica.<sup>66,67,260,362,363,440</sup>

Con la aparición de técnicas de ácido desoxirribonucleico (ADN) recombinante, se logró analizar la secuencia de nucleótidos de la porción codificadora del gen de la PTH, pudiendo así deducir la secuencia proteica a partir del gen, sin necesidad de tener que aislar la proteína. Este método se ha utilizado para obtener la secuencia de PTH de rata y de pollo.<sup>228,264,436</sup>

La secuencia amino terminal de de las moléculas de PTH humana, canina, porcina, bovina y de rata<sup>260</sup> se muestra en la Figura 4.

La PTH es una proteína monocatenaria de peso molecular 9600 daltons que contiene 84 aminoácidos. Diversos estudios conformacionales han intentado dilucidar la estructura tridimensional de la molécula de PTH, aunque hasta el momento no está perfectamente definida. La molécula de PTH parece ser asimétrica, distinguiéndose, tanto por gel de filtración, como por microscopía electrónica, dos fragmentos que se encuentran conectados:

fragmento 1-34 o amino-terminal (35-52) y fragmento 53-84 o carboxi-terminal (C-terminal). Estos dos fragmentos parecen tener estructura helicoidal y encontrarse unidos por un segmento (región intermedia), enrollado al azar.<sup>137,180,399</sup>



*Figura 4. Secuencia amino-terminal de la molécula de PTH en distintas especies de mamíferos.<sup>399</sup>*

### **A.2.5. RELACION ESTRUCTURA-ACTIVIDAD DE LA PTH**

Existe una gran constancia evolutiva en la estructura del fragmento N-terminal de la molécula de PTH, lo que sugiere que esta región ha de tener una gran importancia biológica. Los primeros estudios sobre las relaciones entre la estructura bioquímica y la actividad de la PTH ya definían la región 1-34 de la molécula como esencial y suficiente para desarrollar su actividad biológica completa en múltiples sistemas de bioensayo.<sup>397,495</sup> Estudios posteriores permitieron discernir que la región 1-27 de la molécula de PTH era la secuencia mínima que conservaba actividad estimulante de adenosina monofosfato cíclica (AMPC).<sup>370,423</sup> Otros trabajos pusieron de manifiesto la importancia crítica de los aminoácidos 1 y 2 para la bioactividad adenilato ciclasa.<sup>261,495</sup>

Desde hace más de una década se conoce la importancia crucial de los primeros 5-7 aminoácidos de la región N-terminal de la molécula de PTH. En bovino, la eliminación del primer aminoácido de la cadena, alanina N-terminal, durante las fases iniciales de la síntesis de PTH, dando lugar al fragmento 2-34, resulta en una pérdida del 98% de la actividad biológica.<sup>496</sup> La eliminación adicional de la posición valina 2 se asocia con la pérdida completa de la actividad adenilato ciclasa medida en membranas renales de perro.<sup>207,422,495</sup> Cualquier sustitución que se intente hacer del primer aminoácido de la molécula de PTH, da como resultado una pérdida casi completa de la actividad hormonal. La única excepción a esta regla es la PTH humana, al sustituir la serina, primer aminoácido de su molécula, por alanina.<sup>384</sup>

Las regiones intermedia y C-terminal también tienen funciones específicas, hecho que se ha puesto de manifiesto en experimentos realizados con condrocitos embrionarios.<sup>268,441</sup> Además, diversos estudios apuntan a la existencia de un receptor específico de PTH C-terminal, siendo también esta parte de la molécula esencial en el proceso de síntesis y secreción de la hormona.<sup>300</sup>

La PTH se une específicamente a un receptor de membrana que es una glicoproteína de la

superfamilia de los receptores unidos a proteína G. Esta proteína tiene 593 aminoácidos, y posee un dominio extracelular aminoterminal, una región intermedia intermembrana (con 6 hélices) y un dominio intracelular formado por su extremo carboxiterminal.<sup>253</sup> La interacción de la PTH con su receptor es bastante compleja e implica la interacción de la región C-terminal de la hormona con el dominio extracelular del receptor, y una débil unión entre la región N-terminal y la porción intermembrana del receptor, la cual induce la traducción de la señal al interior de la célula.<sup>198</sup> La señalización de este receptor a la célula se hace a través de, al menos, dos sistemas de segundos mensajeros: vía adenilato ciclasa (AC) y vía fosfolipasa C (PLC).

Este receptor de la PTH puede ser activado con similar potencia por un péptido análogo, la PTHrP, debido a la gran homología que existe entre la región N-terminal de ambas moléculas.<sup>253</sup>

#### **A.2.6. METABOLISMO DE LA PTH**

A partir de los estudios de Berson *et al.*<sup>47</sup> se constató que la PTH sérica era inmunoquímicamente diferente de la extraída de las glándulas paratiroides. Esta heterogeneidad de la hormona endógena circulante se debe a que la PTH, después de su biosíntesis, sufre procesos metabólicos proteolíticos que tienen lugar dentro y fuera de las glándulas paratiroides.<sup>138,398</sup> El significado biológico de este metabolismo proteolítico es de gran interés, puesto que no está claro si su función es destruir la hormona o generar fragmentos biológicamente activos.<sup>20</sup>

Inicialmente, se pensaba que sólo la PTH intacta era secretada por las glándulas paratiroides y que todos los restantes fragmentos hormonales encontrados en suero eran producto del metabolismo periférico.<sup>328,445</sup> Silverman y Yalow<sup>462</sup> pusieron de manifiesto que la hormona extraída directamente de la glándula muestra múltiples picos inmunorreactivos en gel de filtración, los cuales son similares a los picos detectados en plasma. Estos autores también indican que todos los fragmentos C-terminales biológicamente inactivos del plasma de pacientes urémicos deberían ser considerados productos de secreción glandular en base al prolongado tiempo de vida media de los mismos, siendo más de 100 veces superior al tiempo de vida media de la PTH en este tipo de pacientes. A partir de estos datos, concluyen que la secreción glandular y no el metabolismo periférico da lugar a todas las formas inmunorreactivas de la hormona presente en la circulación periférica.<sup>462</sup> Estudios posteriores han demostrado que las glándulas paratiroides segregan fragmentos C-terminal de PTH y posiblemente también fragmentos N-terminal, junto a PTH intacta.<sup>183,330</sup>

La existencia de proteólisis periférica de PTH se ha demostrado en experimentos en los que se inyecta PTH intacta a perros y terneros, monitorizando seguidamente la desaparición plasmática de la hormona administrada y comprobando la aparición de fragmentos que inmuno- y fisico-químicamente son idénticos a los fragmentos hormonales producidos endógenamente. Actualmente, se puede asegurar que la molécula de PTH intacta sufre



proteólisis intraglandular y periférica, aunque todavía no se conoce el lugar donde predomina este proceso.<sup>219,398,446,463</sup>

Numerosos estudios han demostrado que el hígado y el riñón están implicados en el metabolismo de la PTH.<sup>119,319,448</sup> El hígado capta PTH intacta y genera fragmentos C-terminales similares a los que se presentan en la circulación.<sup>119,360</sup> Además, el metabolismo hepático de PTH produce uno o más fragmentos N-terminales biológicamente activos.<sup>120</sup> Segre *et al.*<sup>447</sup> han confirmado la existencia de metabolismo de PTH en el hígado utilizando ratas hepatectomizadas. Estos autores han observado que tras la hepatectomía no se detectan fragmentos C-terminales con residuos N-terminales en posiciones 34 y 37. Este estudio establece claramente que el hígado es el principal órgano periférico implicado en la generación de fragmentos C-terminales.<sup>447</sup> Segre *et al.*<sup>448</sup> también han demostrado *in vitro* que las células de Kupffer y los macrófagos intrasinusoidales poseen enzimas específicas implicadas en el metabolismo de la PTH. Los fragmentos de PTH producidos por las células de Kupffer son inmunorreactiva y químicamente idénticos a los que aparecen en el plasma tras la inyección de hormona intacta. El ataque proteolítico inicial que sufre la molécula de PTH intacta corre a cargo de una endopeptidasa que da lugar a fragmentos N-terminales y C-terminales. Inicialmente, la cantidad de fragmentos N-terminales y C-terminales formados es equivalente, pero los fragmentos N-terminales desaparecen rápidamente del medio.<sup>203</sup> Estos resultados son similares a los hallazgos obtenidos *in vivo*, donde se aprecian altas concentraciones plasmáticas de fragmentos C-terminales y bajas concentraciones de fragmentos N-terminales. El índice de desaparición de PTH intacta en suspensiones de células de Kupffer es similar al índice de desaparición encontrado en estudios *in vivo*, con un tiempo de vida media que se sitúa alrededor de los 10 minutos.<sup>448</sup>

El metabolismo intraglandular de PTH se ha estudiado en células paratiroides de cerdo incubadas *in vitro*. En estos experimentos, además de PTH intacta, se aislaron del medio dos fragmentos C-terminales: PTH (37-84) y PTH (34-84), los cuales eran idénticos a los fragmentos aislados *in vivo* procedentes del metabolismo hepático de la PTH.<sup>342,447</sup> Se ha

comprobado que la enzima catepsina B purificada a partir de glándulas paratiroides de cerdo es capaz de cortar la PTH y la Pro-PTH entre los residuos 36 y 37, produciendo un gran fragmento C-terminal y fragmentos N-terminales de menor tamaño, que se degradan posteriormente mediante la eliminación de pequeños péptidos de su extremo carboxílico.<sup>333</sup> La catepsina hepática purificada actúa sobre la PTH del mismo modo que la enzima procedente de glándulas paratiroides.<sup>333</sup> La catepsina B (EC 3.4.22.1.) es la responsable del metabolismo glandular que origina el fragmento PTH (37-84), aunque todavía no está claro si es capaz de generar el fragmento (34-84).<sup>333</sup>

El riñón parece ser el órgano responsable del aclaramiento de los fragmentos C-terminales.<sup>322,447</sup> Aparentemente, la captación renal de fragmentos de PTH C-terminal depende de la filtración glomerular, mientras que en la reabsorción y degradación estarían implicadas las células tubulares.<sup>320</sup> La PTH intacta se elimina por filtración glomerular y captación peritubular. El riñón, además de eliminar de la circulación PTH intacta y sus fragmentos, también es capaz de actuar como fuente generadora de tales fragmentos. Martin *et al.*<sup>322</sup> y Hruska *et al.*<sup>240</sup> demostraron *in vitro* que el riñón degradaba la molécula de PTH con la consiguiente producción de fragmentos C-terminales y N-terminales, similares a los obtenidos *in vivo* en animales de experimentación y en seres humanos. No obstante, el riñón parece tener menor efecto cuantitativo que el hígado en el metabolismo de PTH intacta y en la eliminación de fragmentos de PTH.<sup>447</sup>

La cuestión más importante en el metabolismo de la PTH es conocer si éste da lugar a fragmentos biológicamente activos que sean necesarios para el funcionamiento del organismo. Martin *et al.* han estudiado *in vitro* el efecto de la PTH intacta y del fragmento N-terminal (1-34) bovinos sobre el hueso, observando que tanto el ritmo de captación por parte del hueso como la producción de AMPc son mayores en el caso del fragmento N-terminal.<sup>321,322</sup> Estos autores concluyen que la captación de PTH en hueso difiere de la de riñón e hígado, sugiriendo también que el metabolismo periférico de PTH intacta puede jugar un papel importante en la regulación del efecto de la PTH sobre el tejido óseo.<sup>321,322</sup> Por otra parte, la

PTH intacta es capaz de activar la adenilato ciclasa en tejido esquelético *in vitro* sin previa escisión.<sup>208</sup> Además, las células óseas y el tejido esquelético pueden metabolizar PTH bovina (1-84), contribuyendo así a la inmunoheterogeneidad de la PTH circulante.<sup>189</sup> En conclusión, aún se necesitan más estudios para determinar de forma clara si la PTH debe metabolizarse para poder ejercer alguna de sus acciones biológicas sobre el hueso.<sup>20</sup>

El metabolismo proteolítico de PTH en las glándulas paratiroides y en órganos periféricos (hígado, riñón y hueso) da lugar a la formación de fragmentos N-terminales, que aparecerán durante un corto periodo de tiempo en la circulación, y a fragmentos C-terminales, que por el contrario poseen un mayor tiempo de vida media. Roos *et al.*<sup>419</sup> sugieren que el metabolismo de la PTH es aún más complejo, basándose en la existencia de un pequeño fragmento de la región intermedia. Este fragmento tiene un tamaño y unas características inmunoquímicas similares tanto cuando se aísla de la glándula como de la circulación periférica.<sup>325,419</sup>

### **A.3. REGULACION DE LA FUNCION PARATIROIDEA**

Los principales reguladores de la función paratiroidea son el  $\text{Ca}^{2+}$ , el CTR y el P, aunque existen otros elementos que también participan en dicha regulación, como el  $\text{Mg}^{2+}$ , las catecolaminas y la histamina.<sup>54</sup>

#### **A.3.1. REGULACION DE LA FUNCION PARATIROIDEA POR CALCIO**

##### **MECANISMO DE ACCION DEL CALCIO**

La capacidad de las células paratiroideas para detectar pequeñas variaciones en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular es esencial para el mantenimiento de la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$ . No obstante, los mecanismos a través de los cuales estas células reconocen y responden a los cambios en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  no están totalmente elucidados.

La clonación del receptor de  $\text{Ca}^{2+}$  (CaR) en paratiroides bovinas, realizada por Brown *et al.*<sup>84</sup> en 1993, confirma la hipótesis de que las células paratiroides expresan en la superficie celular un sensor capaz de detectar y responder a pequeños cambios en la concentración del  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular. Este receptor reconoce también otros cationes divalentes ( $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ), cationes trivalentes ( $\text{Gd}^{3+}$ ) e incluso policationes (neomicina).<sup>85</sup>

El ARNm del PCaR bovino, de un tamaño de 5,3 Kb, codifica una proteína de 1085 Aa (121 Kd) que tiene tres dominios estructurales.<sup>84,86</sup> El primero es un gran dominio N-terminal, con 613 Aa, predominantemente hidrofílico, de localización extracelular, glicosilable y con una estructura terciaria que forma dos lóbulos en los que queda englobado el  $\text{Ca}^{2+}$ . El segundo es un dominio central e hidrofóbico, constituido por 7 segmentos transmembrana y perteneciente a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G. Por último, el receptor presenta un tercer dominio hidrofílico de localización citoplasmática, constituido por 222 Aa, (Figura 5).<sup>84,86</sup>

También se ha clonado el ADNc del CaR humano que codifica una proteína de 1078 Aa, altamente glicosilada y que presenta 7 dominios transmembrana.<sup>203</sup>

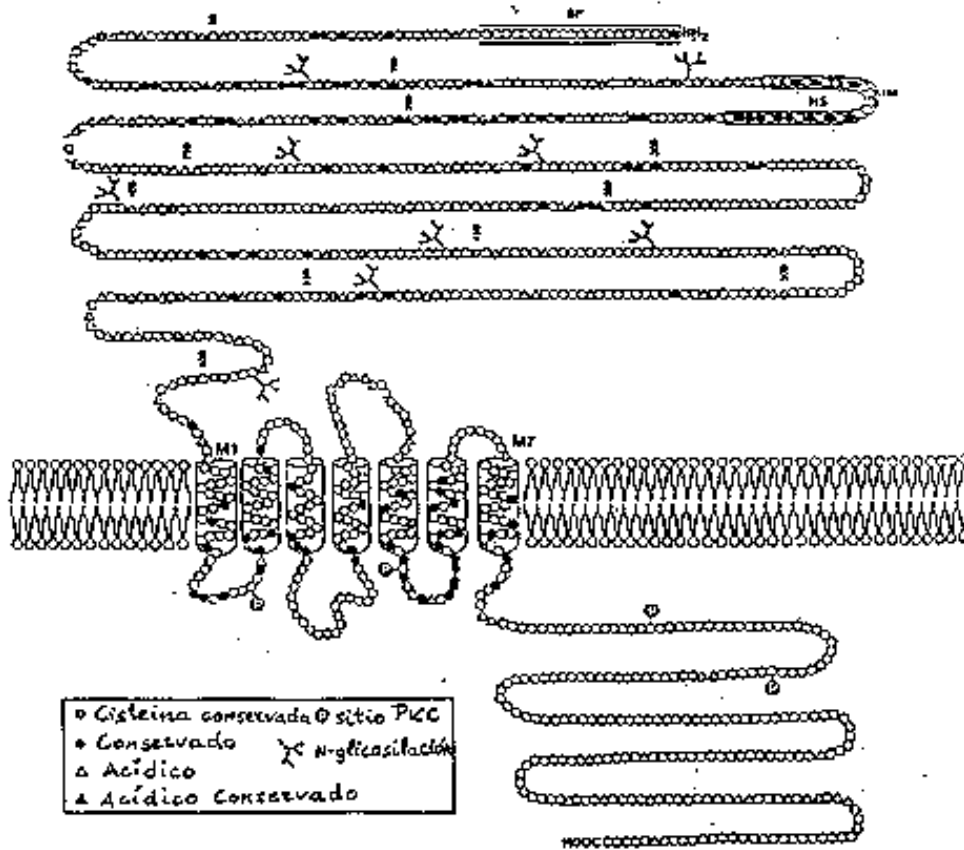
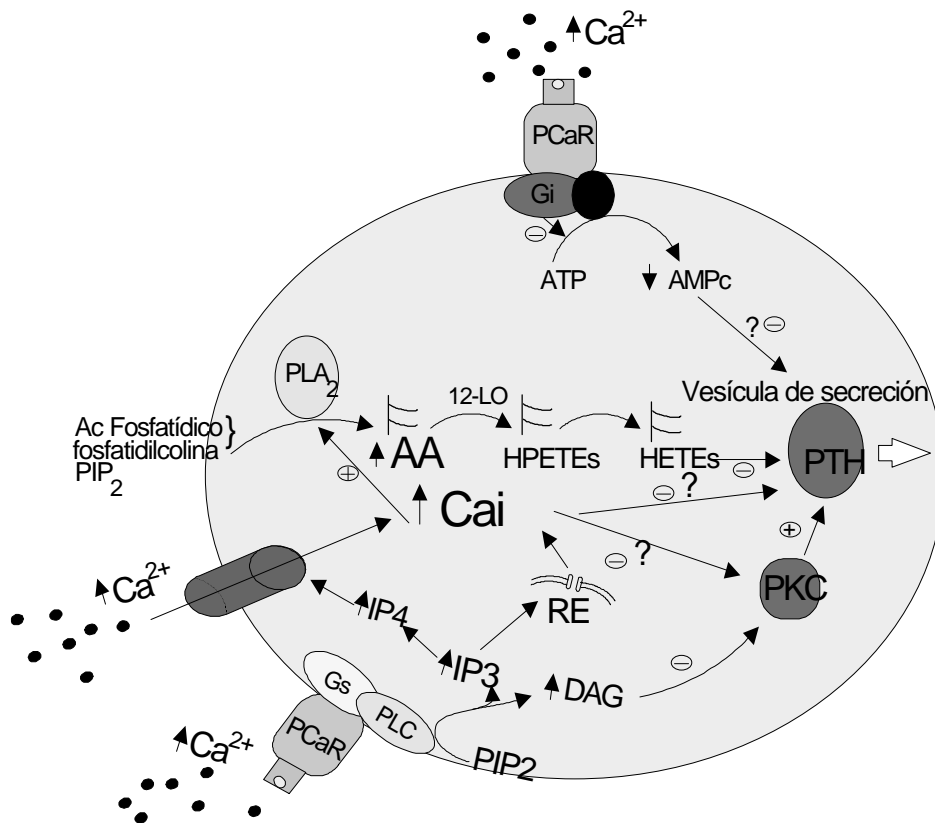


Figura 5. Modelo estructural propuesto para el CaR de la célula paratiroidea.<sup>84</sup>

La regulación de la función paratiroidea mediada por  $\text{Ca}^{2+}$  comienza a nivel de la membrana celular, donde tiene lugar la unión de  $\text{Ca}^{2+}$  y CaR. A continuación, esta información se traduce en el interior de la célula en una o varias señales que finalmente regularán el proceso de secreción y, probablemente, el de síntesis de PTH.

Se ha propuesto la existencia de varios mecanismos de transducción intracelular, los más importantes de los cuales son: el sistema Adenilato Ciclasa-AMPC, el sistema de la Fosfolipasa C (PLC) y el sistema de la Fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) (Figura 5).<sup>81,85</sup>



**Figura 6.** Representación esquemática de los mecanismos de transducción intracelular propuestos para la acción del  $\text{Ca}^{2+}$  sobre la célula paratiroidea.<sup>85</sup>

### ***Sistema de la Adenilato Ciclasa-AMPC***

En 1989, Chen *et al.*<sup>128</sup> demostraron que cuando disminuye la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular se produce una acumulación citosólica de AMPc y se estimula la secreción de PTH. El CaR está acoplado a una adenilato ciclasa (AC) mediante una proteína G inhibidora (Gi), de manera que niveles elevados de  $\text{Ca}^{2+}$  inactivan, vía proteína Gi, a la AC, disminuyendo la concentración de AMPc citosólico e inhibiéndose, consecuentemente, la secreción de PTH. En trabajos realizados por otros autores, se ha observado que la elevación de los niveles de AMPc, mediante la adición de inhibidores de la fosfodiesterasa o por adición directa de análogos del AMPc, estimula la secreción de PTH.<sup>75</sup> Por otra parte, Shoback *et al.*<sup>456</sup> y Brown *et al.*<sup>82</sup> han comprobado que el incremento en los niveles de AMPc intracelular no está relacionado con cambios en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular ni con variaciones en los niveles de inositol fosfato, lo que indica que el AMPc regula directamente la secreción de PTH, independientemente de otras rutas paralelas de segundos mensajeros.

### ***Sistema de la Fosfolipasa C***

En este sistema, al contrario de lo que ocurría en el sistema Adenilato Ciclasa-AMPC, el CaR situado en la membrana plasmática está acoplado a una proteína G estimuladora (Gs). La proteína Gs se encarga de activar una fosfolipasa C (PLC) que catalizará la hidrólisis de fosfatidil-inositol 4,5 bifosfato ( $\text{PIP}_2$ ), produciéndose diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato ( $\text{IP}_3$ ), siendo este último producto el responsable de la liberación del  $\text{Ca}^{2+}$  almacenado en los reservorios intracelulares lo que hace aumentar el nivel de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico. En la secreción de PTH influyen tanto el calcio citosólico como la proteína quinasa C (PKC) y diversos productos derivados del metabolismo de los fosfoinositoles.<sup>81,85</sup>

A) Calcio citosólico y liberación de PTH

Los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  extra- e intracelular están estrechamente relacionados. Como dato indicativo, podemos decir que un cambio de 1 mM en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular se acompaña de una variación paralela de, aproximadamente, 100-200 nM en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular. Además, existe correspondencia entre las variaciones en la secreción de PTH, mediadas por la acción del  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular, y los cambios en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular. También se sabe que el aumento de los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico requiere de la participación de dos mecanismos: a) el primero es la entrada de iones  $\text{Ca}^{2+}$  desde el espacio extracelular, a través de la membrana plasmática, mediante canales selectivos para el  $\text{Ca}^{2+}$ ,<sup>395</sup> b) el segundo conlleva la liberación de las reservas intracelulares de  $\text{Ca}^{2+}$  en respuesta a segundos mensajeros: el aumento en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular actuará incrementando los niveles de  $\text{IP}_3$  intracelular, el cual intervendrá en la liberación de las reservas intracelulares de  $\text{Ca}^{2+}$ .<sup>45</sup>

La relación entre  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular y secreción de PTH se considera en cierto modo paradójica, ya que en la mayoría de las células con capacidad secretora los procesos de secreción van precedidos de aumentos en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico. En las paratiroides, en cambio, la secreción de PTH se acompaña de una disminución del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular.<sup>85</sup>

No se conoce con exactitud el mecanismo por el que el aumento en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular inhibe la secreción de PTH. Se sabe que los cambios en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular pueden ser marcadores de otras vías intracelulares, como la de la fosfolipasa  $\text{A}_2$  ( $\text{PLA}_2$ ) y el ácido araquidónico (AA),<sup>12</sup> aunque también es posible que la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular *per se* contribuya directamente a la regulación de la secreción hormonal.<sup>85</sup>



**B) Metabolismo de los fosfoinositoles, la proteína quinasa C y liberación de PTH**

Como se ha descrito anteriormente, niveles elevados de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular estimulan la hidrólisis de  $\text{PIP}_2$ , por la actuación de una PLC, generándose dos mensajeros intracelulares: el DAG, que parece servir como un mediador intracelular inhibiendo la actividad PKC; y el  $\text{IP}_3$ , que actúa liberando  $\text{Ca}^{2+}$  de las reservas intracelulares.<sup>45,262</sup>

En la mayoría de las células, las sustancias hormonales que producen un incremento en el metabolismo de los fosfoinositoles activan la PKC, a través del aumento asociado en los niveles de DAG y en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular.<sup>44,368</sup> Sin embargo, en las células paratiroides, el aumento en los niveles de DAG está asociado, a través de la formación de esfingosina, con la inhibición de la actividad PKC y, por tanto, de la secreción de PTH.<sup>335</sup>

En trabajos realizados con células paratiroides en cultivo, se ha comprobado que la PKC presenta una actividad máxima a bajas concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  y una actividad mínima con niveles altos de  $\text{Ca}^{2+}$ .<sup>267,343</sup> La activación de la PKC se acompaña de un aumento en los niveles de ARNm de PTH citoplasmático y de una estimulación de la secreción de PTH.<sup>129</sup>

Se ha comprobado que se puede estimular la actividad PKC con la utilización de ésteres de forbol.<sup>78,343</sup> Se sabe también que estas sustancias pueden disminuir los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular bloqueando los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  o inhibiendo directamente la entrada de calcio.<sup>196,284,359,457</sup> Al mismo tiempo, los ésteres de forbol pueden reducir la producción de  $\text{IP}_3$ ,<sup>503</sup> aumentando su hidrólisis por estimulación de las  $\text{IP}_3$  fosfatasas,<sup>368</sup> o desensibilizando los receptores unidos a PLC.<sup>231,503</sup>

***Sistema de la Fosfolipasa  $A_2$***

Existen evidencias de que la  $\text{PLA}_2$ , el ácido araquidónico (AA) y/o los productos resultantes de su metabolismo juegan un papel clave en la inhibición de la secreción de PTH mediada por

el  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular.

Bourdeau *et al.* encontraron que la incubación de células paratiroides porcinas en medios con altas concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  (2.0 mM) inducía la liberación de AA y producía una inhibición de la secreción de PTH.<sup>59</sup> Dado que la  $\text{PLA}_2$  libera AA a partir de la posición 2-acil de los fosfolípidos,<sup>126,286</sup> la activación de esta enzima por altas concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  podría ser la causa directa de la liberación de AA y, por tanto, de la inhibición de PTH inducida por  $\text{Ca}^{2+}$ . Esta hipótesis se apoya en el hecho de que dos inhibidores de la  $\text{PLA}_2$ : la indometacina y la mepacrina, restauran la secreción de PTH en las células paratiroides incubadas en medios de cultivo con alta concentración de  $\text{Ca}^{2+}$ .

El AA puede seguir tres rutas metabólicas: a) la vía de la ciclooxigenasa, que da lugar a la formación de prostaglandinas; b) la vía de la lipooxigenasa, a través de la cual se forman leucotrienos y otros metabolitos activos; y, c) la vía del citocromo P450.

En experiencias realizadas para conocer la implicación de estas rutas en los mecanismos de señalización intracelular, se observó que la vía de la ciclooxigenasa no está implicada en el control de la secreción de PTH mediada por altos niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular.<sup>199</sup> En cambio, al estudiar la ruta de la lipoxigenasa (LO) se comprobó que puede jugar un papel importante en la regulación de la secreción de PTH.<sup>59</sup> En la ruta de la LO, el AA se convierte en varios ácidos hidroxiperoxieicosatetranoicos (HPETEs), y en sus correspondientes formas reducidas, los ácidos hidroxieicosatetranoicos (HETEs), que son potentes inhibidores de la secreción de PTH.<sup>60</sup> Ya que los niveles altos de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular inhiben la secreción de PTH, los HETEs podrían estar íntimamente relacionados con el metabolismo del  $\text{Ca}^{2+}$  en las células paratiroides.<sup>358</sup>

En un estudio reciente se observó que, en glándulas paratiroides de rata incubadas con sustancias que provocan un incremento en la concentración de calcio intracelular (ionóforo o thapsigargina), existe un aumento en la producción de AA junto con una inhibición de la

secreción de PTH.<sup>13</sup> Estos datos sugieren que la PLA<sub>2</sub> es activada por la elevación del calcio intracelular. Por otro lado, en un reciente trabajo de Kifor et al.<sup>263</sup> con cultivos de células paratiroides bovinas, se sugiere que el CaR media la activación de la PLA<sub>2</sub> a través de una cascada de proteínas kinasas activadas por mitógenos (MAP kinasas), cuya activación parece mediada por acción de la PLC.

A partir de toda esta información, se puede concluir que no existe un único mecanismo de señalización intracelular para la regulación de la función paratiroidea mediada por Ca<sup>2+</sup>, sino más bien un conjunto de rutas complementarias relacionadas entre sí, sin que todavía esté muy clara la importancia relativa de cada una de ellas.

#### REGULACION DE LA SECRECION DE PTH POR CALCIO

La concentración de Ca<sup>2+</sup> presente en el fluido extracelular es el principal regulador de la secreción de PTH. La relación PTH-Ca<sup>2+</sup> se puso de manifiesto por primera vez en experimentos con perros, al comprobar que la eferencia obtenida de las glándulas paratiroides perfundidas con sangre descalcificada era capaz de producir un aumento del Ca<sup>2+</sup> sérico.<sup>390</sup> Posteriormente, en trabajos realizados con vacas, se confirmó la validez de los experimentos anteriores mediante la cuantificación de la concentración plasmática de PTH durante la inducción de hipocalcemia.<sup>407,453</sup>

La secreción de PTH es inversamente proporcional a la concentración de Ca<sup>2+</sup> extracelular.<sup>81</sup> Aumentos en la concentración de Ca<sup>2+</sup> extracelular (en una escala de mM) se acompañan de un incremento en los niveles de Ca<sup>2+</sup> intracelular (en una escala de nM), y de una inhibición de la secreción de PTH.<sup>395</sup> Por esta razón, se ha considerado el fenómeno secretor de las glándulas paratiroides como paradójico, ya que, generalmente, en la mayoría de las células con función secretora, la secreción va precedida por un aumento del calcio citosólico. La respuesta de las glándulas paratiroides a los descensos en los niveles de Ca<sup>2+</sup> ocurre rápidamente, en cuestión de segundos, tanto *in vivo*<sup>56,329</sup> como *in vitro*.<sup>80,504</sup>

Las concentraciones plasmáticas de PTH y de  $\text{Ca}^{2+}$  muestran una relación sigmoidal inversa (Figura 7). Esta curva, observada tanto *in vivo* como *in vitro*, se puede describir en función de 4 parámetros: PTH máxima, PTH mínima, "set-point" y pendiente de la curva.<sup>77,83,173</sup>

El descenso en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular produce una estimulación de la secreción de PTH hasta unos niveles elevados y estables. La máxima secreción de PTH (PTH máxima) se alcanza cuando la calcemia basal disminuye aproximadamente un 25%.<sup>392</sup> En los individuos normales, la PTH basal es aproximadamente un 25% de la PTH máxima.<sup>65</sup>

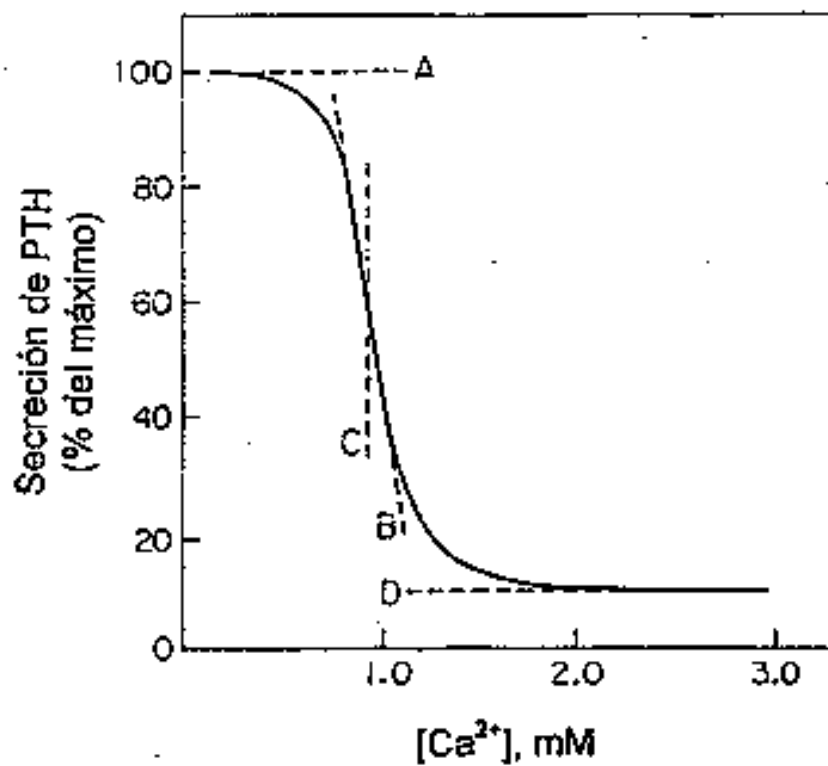
Por otra parte, si aumenta la calcemia disminuye la secreción de PTH, alcanzándose la secreción mínima de PTH (PTH mínima) cuando la calcemia basal se incrementa un 25% aproximadamente, aunque nunca existe supresión total de la secreción glandular.<sup>135</sup>

El "set point" se ha definido como la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  que produce una reducción del 50% de la PTH máxima, o, dicho de otra forma, el nivel de  $\text{Ca}^{2+}$  al que la concentración de PTH es la mitad de la máxima.<sup>173</sup>

Finalmente, la pendiente de la curva se define por algunos autores como el cociente entre la diferencia PTH máxima ( $\text{PTH}_{\text{máx}}$ ) menos PTH mínima ( $\text{PTH}_{\text{mín}}$ ), y la diferencia  $\text{Ca}^{2+}$  máximo ( $\text{Ca}^{2+}_{\text{máx}}$ ) menos  $\text{Ca}^{2+}$  mínimo ( $\text{Ca}^{2+}_{\text{mín}}$ ):  $[(\text{PTH}_{\text{máx}} - \text{PTH}_{\text{mín}}) / (\text{Ca}^{2+}_{\text{máx}} - \text{Ca}^{2+}_{\text{mín}})]$ . La pendiente o "slope" mide el promedio de secreción de PTH por célula funcional e indica la sensibilidad de la célula paratiroidea, definida como los cambios producidos en la secreción de PTH para un determinado cambio de  $\text{Ca}^{2+}$ .<sup>173</sup> Otros autores realizan los cálculos de los parámetros que definen la curva PTH- $\text{Ca}^{2+}$  mediante la fórmula propuesta por Brown en el llamado "modelo de los cuatro parámetros":<sup>77</sup>

$$y = \{ [A - D] / [1 + (x/C)^B] \} + D$$

Donde: A es la secreción máxima; D, la secreción mínima; C, el "set-point"; y B, la pendiente a nivel del "set point" (Figura 7).



**Figura 7.** Relación sigmoide entre las concentraciones plasmáticas de PTH y  $Ca^{2+}$ . Esta relación inversa está basada en la expresión  $Y=[(A-D)/(1+(X/C)^B)]+D$ .<sup>77</sup>

En la relación PTH-Ca<sup>2+</sup> existen otros elementos que introducen mayor complejidad, como por ejemplo el fenómeno de histéresis. Este consiste en que para un mismo nivel de Ca<sup>2+</sup> extracelular, la concentración de PTH es mayor cuando se está induciendo hipocalcemia que cuando la calcemia está recuperando niveles basales. Dicho fenómeno también se observa en el tramo hipercalcémico de la curva PTH-Ca<sup>2+</sup>, de manera que para una misma concentración de Ca<sup>2+</sup>, los niveles de PTH son más bajos durante la fase de inducción de hipercalcemia que durante el periodo de recuperación.<sup>172</sup> La explicación de la histéresis en la curva PTH-Ca<sup>2+</sup> no está completamente aclarada. Según algunos autores, podría estar relacionada con la velocidad con la que se producen los cambios en la concentración de Ca<sup>2+</sup>.<sup>216</sup> Otra posible explicación se basa en el agotamiento de las glándulas paratiroides tras la inducción de hipocalcemia.<sup>172</sup> Recientemente, se ha demostrado que ni la velocidad de inducción de hipocalcemia ni el agotamiento glandular influyen en el fenómeno de histéresis, y que posiblemente la finalidad de éste sea evitar sobrecorrecciones de la calcemia durante las fases de recuperación, desde hipo- e hipercalcemia, hacia la situación basal de normocalcemia.<sup>3</sup>

## REGULACION DE LA SINTESIS DE PTH POR CALCIO

Habener *et al.*,<sup>223</sup> determinando la cantidad de hormona almacenada y su tasa de secreción, estimaron que las glándulas paratiroides pueden secretar PTH a ritmo máximo durante hora y media. Esto hace pensar que existe un acoplamiento entre los procesos de síntesis y de secreción hormonales. Los primeros datos indicativos de que la síntesis de PTH está regulada por el Ca<sup>2+</sup> sérico se obtuvieron tras la realización de cortes histológicos sobre preparaciones tisulares expuestas a niveles bajos de Ca<sup>2+</sup>, tanto en modelos experimentales *in vitro*<sup>428</sup> como *in vivo*.<sup>429</sup> Las células paratiroides mostraron evidencia de un aumento de la síntesis proteica, basada en la aparición de cambios característicos del retículo endoplásmico rugoso y en la agregación de ribosomas, en respuesta a la hipocalcemia.<sup>428,429</sup>

En estudios *in vitro* de células paratiroides bovinas realizados por Russell *et al.*,<sup>434</sup> se comprobó que los aumentos en la concentración de Ca<sup>2+</sup> extracelular producían una caída

reversible en el ARNm de PTH, si bien no se observaron diferencias entre los niveles de ARNm detectados en células expuestas a  $\text{Ca}^{2+}$  normal o bajo. Además, estos mismos autores observaron que a las 6 horas de cultivo se producía un descenso en la tasa de transcripción del gen de la PTH de células paratiroides bovinas dispersadas.<sup>435</sup>

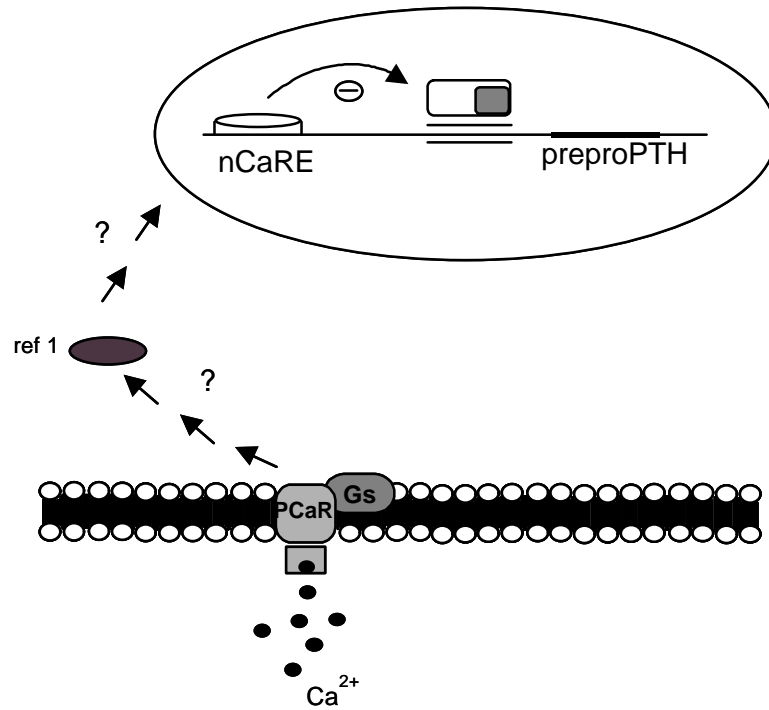
En esta misma línea, MacGregor *et al.*,<sup>334</sup> estudiando la incorporación de [<sup>3</sup>H]-leucina, demostraron que las variaciones en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular inducían modificaciones en la síntesis de pre-proPTH, probablemente como consecuencia de cambios previos en los niveles de ARNm de PTH.


En estudios *in vivo* realizados en ratas, se ha demostrado que los incrementos en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  sérico originan pequeños descensos en el ARNm de PTH, mientras que la hipocalcemia incrementa hasta casi el doble el nivel de ARNm.<sup>353,354,523</sup> Esto indica que las glándulas paratiroides están aparentemente mejor preparadas para responder aumentando la síntesis de ARNm de PTH, en respuesta a situaciones de hipocalcemia, que disminuyéndola, en respuesta a procesos de hipercalcemia. Al parecer, la hipercalcemia puede regular la secreción de PTH y el catabolismo de la hormona, pero no la transcripción del gen.<sup>355</sup>

Aunque los resultados de los experimentos *in vivo* e *in vitro* presentan cierta similitud, existen claras diferencias en las características de la respuesta en ambos sistemas. En primer lugar, en los sistemas *in vitro* la mayoría de los cambios en los niveles de PTH tienen lugar cuando la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  aumenta por encima de los niveles normales, mientras que en los modelos *in vivo*, los cambios más relevantes se observan en hipocalcemia. En segundo lugar, la velocidad de respuesta observada en modelos experimentales *in vivo* es mucho más rápida que la observada en las experiencias realizadas *in vitro*. Estas diferencias podrían ser debidas a una respuesta alterada al  $\text{Ca}^{2+}$  por parte de las células paratiroides cuando se dispersan y se mantienen en cultivo.<sup>365</sup>

Actualmente se sabe poco acerca del mecanismo de regulación transcripcional del gen de la PTH mediado por  $\text{Ca}^{2+}$ , no conociéndose con exactitud si la transducción de la señal extracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  hacia el núcleo celular requiere la participación del receptor de  $\text{Ca}^{2+}$ . Okazaki *et al.*<sup>373</sup> han sugerido la existencia de "elementos de respuesta al  $\text{Ca}^{2+}$ ". Estos autores proponen la existencia de una secuencia de ADN de 3,5 Kb situada por encima del promotor del gen de la pre-proPTH humana, conocida con el nombre de nCaRE ("negative calcium-responsive element"). Este elemento de respuesta consiste en una secuencia palindrómica de 15 pares de bases precedida por una secuencia rica en timidina. En la actualidad no se conocen los detalles de este mecanismo de regulación, aunque se ha identificado una proteína nuclear denominada REF1 que actúa como reguladora del ARNm de PTH a nivel postranscripcional, teniendo a su vez capacidad para unirse al nCaRE y participar en la represión transcripcional de la PTH mediada por  $\text{Ca}^{2+}$  (Figura 8).<sup>374</sup>





- PCaR      receptor/sensor de calcio extracelular
-       maquinaria de transcripción
- nCaRE    elemento de respuesta al calcio
- Gs        proteína G activadora

**Figura 8.** Mecanismo transcripcional propuesto para el Ca<sup>2+</sup> en el gen de la PTH.<sup>374</sup>

## REGULACION DE LA PROLIFERACION DE CELULAS PARATIROIDEAS POR CALCIO

Existen trabajos *in vivo* que sugieren que la hipocalcemia prolongada puede provocar hiperplasia en las glándulas paratiroides. En estos estudios es complicado separar los efectos de la hipocalcemia de los del CTR, dado que el descenso de  $\text{Ca}^{2+}$  aumenta la producción de CTR.

Naveh-Many y Silver encontraron que, en ratas alimentadas durante 3 semanas con una dieta deficitaria en calcio y vitamina D, el número de células paratiroides se incrementó 1.7 veces.<sup>354</sup>

Algunos estudios *in vitro* han puesto de manifiesto el efecto del  $\text{Ca}^{2+}$  sobre la proliferación celular, demostrando un incremento en la incorporación de [<sup>3</sup>H]-timidina en glándulas paratiroides de rata mantenidas en cultivo con baja concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  durante un intervalo de 24-48 horas.<sup>83</sup> En este mismo sentido, Kremer *et al.*<sup>280</sup> estudiaron *in vitro* la incorporación de [<sup>3</sup>H]-timidina y la expresión de los oncogenes c-myc y c-fos, implicados en los procesos de división celular, encontrando que el CTR y no el  $\text{Ca}^{2+}$  es el principal regulador de proliferación. Experiencias realizadas recientemente por el grupo de T. Drüeke, confirman este hecho.<sup>143</sup>

Resumiendo, el CTR parece ser el factor clave en la regulación de la proliferación celular, aunque el  $\text{Ca}^{2+}$  y más concretamente la hipocalcemia, también se relaciona con procesos de hipertrofia e hiperplasia celular.<sup>356,514,461</sup>

### **A.3.2. REGULACION DE LA FUNCION PARATIROIDEA POR CALCITRIOL**

#### **MECANISMO DE ACCION DEL CALCITRIOL**

El CTR actúa sobre la función secretora de las glándulas paratiroides a través de mecanismos directos e indirectos. De forma directa, el CTR influye sobre las células paratiroides ejerciendo un efecto “feed-back” negativo sobre la síntesis de PTH. Por otra parte, el CTR aumenta la concentración plasmática de  $Ca^{2+}$ , lo que inhibe la síntesis y secreción de PTH.<sup>85,326,354,406</sup>

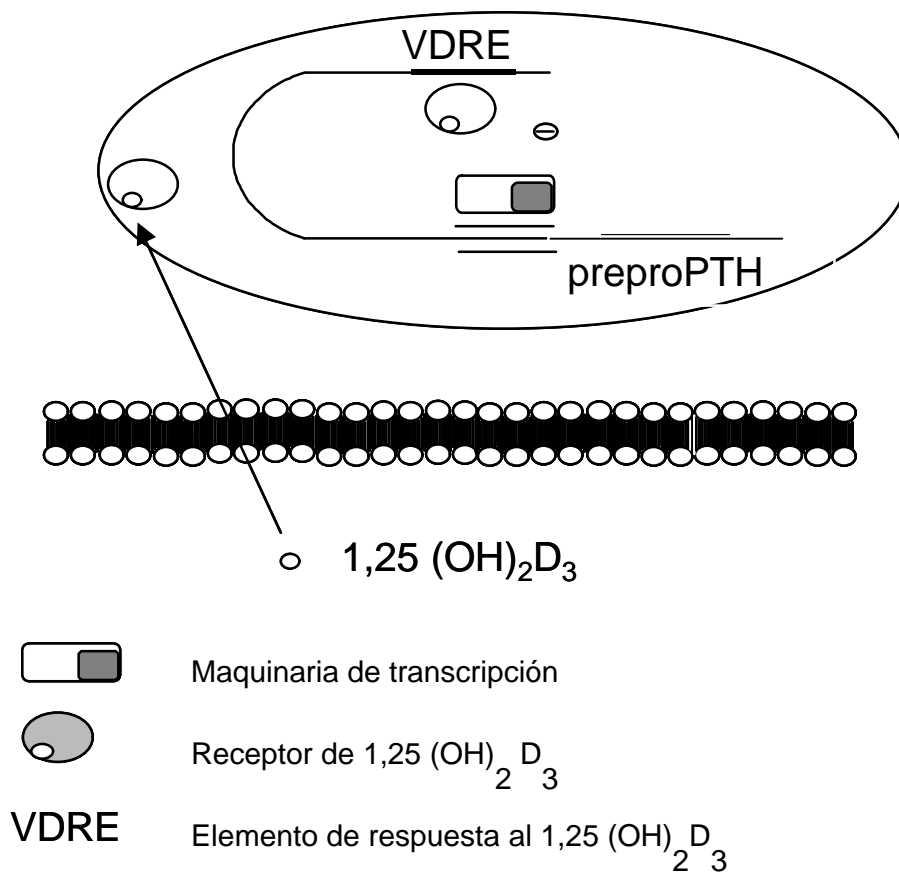
A pesar de que se han realizado numerosos trabajos para dilucidar el mecanismo mediante el cual el CTR actúa en las células paratiroides, aún quedan muchos puntos por esclarecer.

El CTR actúa a nivel transcripcional y ejerce sus efectos a través de un receptor específico de localización nuclear, el VDR (“vitamin D receptor”), que molecularmente se define como un factor de transcripción dependiente de ligando. El mecanismo de acción del CTR es parecido al de las hormonas esteroideas, tiroideas y la vitamina A, por lo que a todos estos receptores se les engloba dentro de la superfamilia de receptores de hormonas esteroideas-tiroideas.<sup>167</sup>

Debido a su naturaleza química, el CTR atraviesa sin dificultad las membranas plasmática y nuclear de sus células diana para unirse al VDR y producir así su activación. El receptor, una vez activado, reconoce específicamente una secuencia del ADN situada cerca del promotor del gen, denominada elemento de respuesta a la vitamina D o VDRE (“vitamin D responsive element”). La ocupación del VDRE por parte del VDR activado interfiere con la maquinaria de transcripción. (Figura 9).

Existen numerosos genes en los que se ha encontrado al menos un VDRE, si bien el efecto producido varía en cada uno de ellos. El CTR regula positivamente la expresión de los genes de la calbindina, la osteocalcina, la osteopontina, la 24-hidroxilasa renal, la fosfatasa alcalina

ósea, etc.; e inhibe la expresión de la colagenasa, de la 1- $\alpha$ -hidroxilasa y de la PTH. La razón de esta disparidad de acciones se debe a que todos estos genes no tienen ni el mismo número ni las mismas secuencias de VDREs, y a que estas secuencias tampoco ocupan la misma posición en el gen.<sup>224</sup>



**Figura 9.** Mecanismo transcripcional propuesto para el CTR en el gen de la PTH.

Los receptores de CTR de las células paratiroides están identificados y caracterizados, estando clonado y secuenciado el ADNc del VDR en varias especies animales.<sup>29,88,391</sup> Además, con técnicas de ADN recombinante se ha conseguido producir y purificar la proteína,<sup>367,425</sup> lo que ha facilitado el estudio de su estructura y de la interacción que ésta mantiene con el ADN.<sup>86,332</sup>

#### REGULACION DE LA SINTESIS Y SECRECION DE PTH POR CALCITRIOL

La regulación de la expresión génica de PTH por CTR, la estudiaron por primera vez Silver *et al.*<sup>459</sup> Estos autores demostraron que los niveles de ARNm de PTH de células paratiroides bovinas mantenidas en cultivo con niveles fisiológicos de CTR disminuyen a lo largo del tiempo. Este efecto se acentúa en presencia de concentraciones crecientes de CTR (entre 10 pM y 0.1  $\mu$ M) en forma dosis-dependiente. El efecto del CTR sobre la transcripción del gen de la PTH también se ha constatado en diversos estudios realizados *in vivo*. Así, se ha comprobado que la inyección intraperitoneal de CTR en ratas produce una rápida y drástica caída de la transcripción del gen de la PTH, incluso utilizando dosis de CTR suficientemente bajas como para no modificar los niveles plasmáticos de  $Ca^{2+}$ .<sup>460</sup> En otras experiencias realizadas con ratas a las que se les administró durante 3 semanas una dieta deficiente en vitamina D, los niveles de ARNm de PTH alcanzaron valores dos veces superiores a los que presentaban los animales del grupo control. Este aumento en el ARNm de PTH se produjo sin la aparición de cambios paralelos en la concentración de  $Ca^{2+}$  sérico y se pudo revertir posteriormente con la administración de inyecciones diarias de CTR.<sup>354</sup>

Las acciones del  $Ca^{2+}$  y del CTR están estrechamente interrelacionadas, siendo difícil separar sus efectos o establecer la predominancia de uno de ellos. El resultado neto que se observa al variar la concentración de cada uno de forma independiente dependerá de la cronicidad de la manipulación que se haya efectuado y de la magnitud del cambio producido en cada variable.<sup>355</sup>

Los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  y CTR rara vez varían independientemente. En trabajos realizados con ratas, se puso de manifiesto que, cuando se provoca hipocalcemia aguda, el efecto inhibitor del CTR sobre las glándulas paratiroides predomina sobre la estimulación que supone la hipocalcemia, observándose una caída en los niveles de ARNm de PTH como consecuencia de la acción del CTR.<sup>353</sup> Sin embargo, en experimentos realizados durante un periodo de tiempo prolongado los resultados fueron diferentes. De este modo, en un grupo de ratas alimentadas durante 3 semanas con una dieta de bajo contenido en calcio y cantidad normal de vitamina D, se encontró un descenso en los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  sérico y un aumento en los niveles de CTR, resultando que los niveles de ARNm de PTH fueron 5 veces superiores a los encontrados en el grupo de ratas control.<sup>355</sup> Esto demuestra que la estimulación de la transcripción inducida por la hipocalcemia no se puede suprimir completamente por el CTR. Esta puede ser una de las razones por las cuales, en los enfermos con avanzado hiperparatiroidismo renal secundario, el tratamiento con CTR no suprime completamente la producción de PTH si existe una hipocalcemia persistente.<sup>355</sup>

También se ha estudiado la acción del CTR sobre la secreción de PTH, observándose una inhibición de la secreción de PTH sólo tras la administración de tratamientos prolongados con CTR. Esto sugiere que los efectos del CTR sobre la secreción de PTH son debidos a la supresión de la síntesis de ARNm de PTH más que a una acción sobre el proceso de secreción en sí.<sup>73,120</sup>

#### REGULACION DE LA PROLIFERACION DE CELULAS PARATIROIDEAS POR CALCITRIOL

En la actualidad existe bastante información acerca de la influencia del CTR sobre la capacidad proliferativa del tejido paratiroideo: se sabe que el CTR ejerce un claro efecto inhibitor sobre la progresión de la hiperplasia paratiroidea. En este sentido, Kremer *et al.*<sup>280</sup> observaron que cuando se incuban células paratiroideas bovinas en presencia de CTR y de [<sup>3</sup>H]-timidina, se produce una inhibición en la incorporación del isótopo.<sup>280</sup> Esta inhibición en

la incorporación de [<sup>3</sup>H]-timidina inducida por CTR también se ha evidenciado en experiencias realizadas con glándulas paratiroides humanas.<sup>143</sup> Además, existen estudios realizados en ratas en los que se ha demostrado que, tras el consumo de una dieta deficiente en calcio y vitamina D durante tres semanas, el número de células paratiroides se incrementaba 1.7 veces, poniéndose una vez más de manifiesto este efecto antiproliferativo del CTR.<sup>354</sup> De todos estos trabajos, quizás el más completo haya sido el realizado por Szabo *et al.*<sup>488</sup> Estos autores encontraron que tras la administración de CTR a ratas urémicas, alcanzando niveles ligeramente superiores a las encontradas en el rango fisiológico, se producía: a) una disminución en el peso de las glándulas paratiroides; b) una reducción en la tasa de incorporación de [<sup>3</sup>H]-timidina, al incubar las glándulas inmediatamente después de su extracción; y, c) una disminución en el número de células paratiroides en fase de mitosis. De este modo se ponía de manifiesto, una vez más, el efecto antiproliferativo del CTR sobre las glándulas paratiroides.<sup>488</sup>

En este mismo campo de trabajo, también se han realizado estudios sobre pacientes con insuficiencia renal. Así, Fukagawa *et al.*<sup>193</sup> observaron que, en pacientes en hemodiálisis, el tratamiento con CTR oral en forma de pulsos durante 12 semanas reducía el volumen de las glándulas paratiroides en un 40%. Esta reducción en el volumen glandular se observó principalmente durante las primeras 4 semanas de tratamiento.

El CTR puede modular la proliferación de células paratiroides alterando la expresión de ciertos oncogenes.<sup>280</sup> Kremer *et al.*<sup>280</sup> evaluaron la expresión de proto-oncogenes en células paratiroides bovinas en incubación, encontrando que el tratamiento con CTR inhibe la expresión del oncogen c-myc, que participa en la regulación de la proliferación celular; la expresión de c-myc es necesaria para el paso de la Fase C1 a la Fase S (duplicación de ADN) del ciclo celular.

Fukagawa *et al.*<sup>194</sup> realizaron un trabajo en el que estudiaron el efecto antiproliferativo del CTR sobre el tejido paratiroideo, encontrando que la administración de dosis farmacológicas

de CTR inducía un patrón de fragmentación del ADN de las células paratiroideas típico de la muerte celular programada o apoptosis. Aunque las dosis administradas eran suprafisiológicas, los autores sugirieron que el CTR puede, no sólo inhibir los procesos de división celular sino, además, desencadenar un proceso de apoptosis. Este último resultado no ha sido confirmado por otros autores, así Canalejo *et al.*,<sup>118</sup> en estudios in vitro con glándulas paratiroides de perro, observaron que el CTR inhibe, de forma dosis-dependiente, la proliferación y también la apoptosis en glándulas paratiroides normales. Además, existen grupos de investigación que ponen en duda la importancia cuantitativa de la apoptosis en un tejido como el paratiroideo en el que la tasa de mitosis es muy baja.



### **A.3.3. REGULACION DE LA FUNCION PARATIROIDEA POR FOSFATO**

#### **MECANISMO DE ACCION DEL FOSFORO**

Tradicionalmente, sólo se han considerado dos reguladores directos de la célula paratiroidea: el  $\text{Ca}^{2+}$  y el CTR. Hasta hace poco tiempo, se pensaba que la acción del P sobre las glándulas paratiroides era exclusivamente de tipo indirecto, mediada por modificaciones en las concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  y/o de CTR. El incremento en los niveles de P da lugar a una disminución en la síntesis de CTR, por inhibición de la enzima 1- $\alpha$ -hidroxilasa; por otro lado determina un descenso en la calcemia, por precipitación de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular, reducción de la respuesta ósea a la acción de la PTH, y descenso de CTR.<sup>61,62,459,523</sup> Sin embargo, existen estudios recientes *in vivo* e *in vitro*, en los que se ha puesto de manifiesto que el P también actúa de forma directa sobre la función de las glándulas paratiroides, estimulando la secreción de PTH, independientemente de las acciones indirectas descritas anteriormente.<sup>10,163,365,470</sup>

Es bien conocido que, en pacientes humanos y animales con insuficiencia renal crónica (IRC), los niveles elevados de fósforo en la dieta contribuyen a agravar el HPTH2.<sup>61,62,141,186,307,323,437,465,467</sup> Los efectos beneficiosos de la reducción de los niveles de fósforo dietético se ponen de manifiesto en diferentes estudios clínicos en pacientes humanos con IRC.<sup>19,140,157,312,314,404,418</sup>

Aunque menos numerosos, también existen algunos estudios clínicos realizados en animales con insuficiencia renal e HPTH2 que demuestran el efecto beneficioso de la restricción dietética de fósforo sobre la progresión del HPTH2.<sup>31,178,437,465</sup> En este sentido, cabe destacar los trabajos de Finco *et al.*,<sup>178</sup> en perros, y de Barber *et al.*,<sup>31</sup> en gatos.

Se conoce que la hiperfosfatemia disminuye la sensibilidad del sistema óseo a la acción calcémica de la PTH. Este fenómeno, que se denomina resistencia esquelética a la PTH, es tan evidente que basta con modificar el contenido en fósforo en la dieta para que se

incremente la resistencia esquelética, incluso antes de que se produzcan modificaciones en el Pi plasmático.<sup>61,62,152</sup>

## REGULACION DE LA SINTESIS Y SECRECION DE PTH POR FOSFORO

En los últimos años, se ha abordado el estudio de los mecanismos celulares implicados en el efecto estimulador de P sobre la secreción de PTH. En un estudio *in vitro* con glándulas paratiroides de rata, Almadén *et al.*<sup>10</sup> observaron que pese a los elevados niveles de P en el medio, la adición de AA exógeno restauró la capacidad de inhibición de la secreción de PTH por cambios de  $Ca^{2+}$  extracelular. Es decir, la adición de AA revirtió el efecto estimulador del P sobre la secreción de PTH. Por otra parte, los resultados de otro trabajo *in vitro* de este mismo grupo, con tejido paratiroideo de rata y de perro,<sup>12</sup> demuestran que el efecto estimulador del P sobre la secreción de PTH está asociado a un descenso en la producción de AA inducida por elevados niveles de calcio (el cual es un potente inhibidor de la secreción de PTH). Este fenómeno ocurre de forma específica en el tejido paratiroideo y no en otros tejidos glandulares estudiados. Por ello, se ha sugerido que el mecanismo de acción del fósforo sobre la secreción de PTH podría estar mediado por la vía de la  $PLA_2$ -AA.<sup>12</sup> Así se confirma en unos recientes resultados de este grupo, en los que se observó que la elevación del  $Ca^{2+}$  intracelular fue capaz de prevenir el descenso en los niveles de AA y la estimulación en la secreción de PTH inducida por niveles elevados de P; demostrando que el mecanismo por el que el P estimula la secreción de PTH implica la reducción del  $Ca^{2+}$  intracelular, que impide la activación de la vía  $PLA_2$ -AA.<sup>13</sup>

Un dato más sobre el mecanismo de acción del P es que el efecto de éste sobre la secreción de PTH *in vitro* sólo se ha observado cuando se cultiva el tejido íntegro y no cuando se utilizan células dispersas,<sup>365,430,468,470,485</sup> por lo que se ha sugerido que la intercomunicación entre las células es necesaria para que se observe el efecto del fósforo, al igual que se ha descrito en el caso del efecto del calcio.<sup>485</sup> Este hecho puede estar relacionado con la influencia ejercida por determinadas sustancias producidas en una célula sobre las células

vecinas, como se ha demostrado en otros tejidos diferentes del paratiroideo.<sup>472</sup>

Por otro lado, los mecanismos sensores de las células paratiroideas para captar la concentración de fósforo extracelular son desconocidos, pero se ha propuesto recientemente que pudieran establecerse a través de un cotransportador Na/P (PiT-1), que se expresa específicamente en dichas células y que ha sido recientemente clonado.<sup>491, 339</sup>

Dada la estrecha relación que existe entre los diferentes elementos del sistema homeostático fosfocálcico, siempre ha resultado difícil aislar un efecto directo del P sobre la secreción de PTH. Es por ello que las acciones del P sobre las células paratiroideas se conocen con mucha menor exactitud que las del  $\text{Ca}^{2+}$  y el CTR.

Existen estudios *in vivo* e *in vitro* sobre regulación de la función paratiroidea por fósforo, que ponen de manifiesto que los niveles de fósforo modifican la secreción y síntesis de PTH.<sup>10,11,163,179,186,232,233,256,257,264,307,365,454,464,469,470,489,524</sup>

Estudios *in vivo* recientes han demostrado que el efecto del fósforo sobre la secreción de PTH es dosis dependiente, aunque la respuesta de las glándulas paratiroides a las variaciones de fósforo plasmático es de muy inferior magnitud a la que se da cuando se modifican los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$ .<sup>163</sup> Mientras que las glándulas paratiroides responden a variaciones minúsculas de  $\text{Ca}^{2+}$  plasmático (inferiores a 0.5 mM), se requieren cambios mucho mayores en la concentración de P (del orden de 3 mM) para detectar modificaciones en la concentración plasmática de PTH. Además, los niveles máximos de secreción de PTH que se alcanzan durante la hiperfosfatemia son muy inferiores a los observados en hipocalcemia. No obstante, es importante señalar que la sensibilidad de las glándulas paratiroides a las variaciones en la concentración plasmática de P puede potenciarse en situaciones patológicas donde exista una hiperfosfatemia crónica, como en el caso de un gran número de pacientes con insuficiencia renal crónica. Así, ligeras elevaciones en la fosfatemia (del orden de 1mM), en este tipo de pacientes, podrían desencadenar un incremento en la secreción de PTH.

En diferentes trabajos en los que se estudia el efecto de la modificación en el contenido de fósforo en la dieta, se han observado cambios en la concentración plasmática de PTH y en los niveles de ARNm de PTH. Estos datos indican que el P no sólo modifica la secreción de PTH sino que también altera la síntesis de esta hormona.<sup>232,264,524</sup> En experimentos *in vitro* e *in vivo* se ha comprobado que los niveles de fósforo extracelular pueden modificar la expresión del gen de la PTH, aunque no se conoce exactamente si este efecto tiene lugar a nivel transcripcional, postranscripcional o a ambos niveles.<sup>11,340</sup>

## REGULACION DE LA PROLIFERACION DE CELULAS PARATIROIDEAS POR FOSFORO

Se ha comprobado que el fósforo tiene también un efecto sobre la tasa de proliferación celular de las glándulas paratiroides, y parece claro que la sobreproducción de PTH y la hiperplasia celular, con el consecuente aumento del tamaño glandular, que se producen en fases avanzadas de la insuficiencia renal, están directamente relacionadas con la retención de fósforo. Así, existen estudios en los que se observaron cambios en la tasa de proliferación celular de las células paratiroides al modificar los niveles de P en la dieta.<sup>117,151,156,225,232,356,470,506,524</sup> Sin embargo, los mecanismos implicados en este efecto del P sobre el ciclo celular de las células paratiroides no están claros. Algunos trabajos sugieren que este efecto del P puede estar relacionado con cambios en la expresión del CaR de las glándulas paratiroides.<sup>414</sup> Anteriormente se ha descrito que la hiperfosfatemia es un factor que contribuye de manera importante en la falta de respuesta al tratamiento con CTR para la reducción de la hiperplasia glandular en pacientes urémicos.<sup>417</sup> La interferencia que produce el P sobre los efectos antiproliferativos del CTR en las células paratiroides ha sido recientemente evidenciada en estudios *in vivo* en ratas con dietas altas en P.<sup>14</sup> Avanzando en esta línea de estudio, trabajos recientes de Dusso *et al.*<sup>160</sup> han demostrado que ratas con alto fósforo en la dieta presentaban un incremento en la proliferación celular por aumento del factor de crecimiento TGF- $\infty$ , mientras que la dieta con bajo P hizo descender la proliferación celular estimulando la

expresión del factor de transcripción p21/WAF. Se sabe que el CTR hace descender la proliferación celular inhibiendo la expresión del oncogen c-myc, el cual resulta en la estimulación de p21/WAF. Por lo tanto, estos hallazgos sugieren que la sobrecarga de fósforo en la dieta estimula la proliferación celular en las células paratiroides al reducir el efecto estimulante del CTR sobre el factor p21/WAF.

En resumen, resulta evidente que, al igual que el calcio y el CTR, los niveles de fósforo pueden regular de forma directa la función paratiroidea, a tres niveles: secreción, síntesis y proliferación celular, aunque aún no se conocen bien los mecanismos de acción.

#### **A.3.4. OTROS FACTORES REGULADORES DE LA FUNCION PARATIROIDEA**

Las paratiroides representan un ejemplo típico de células sensibles a los iones: su gran sensibilidad para captar cambios en la concentración extracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  juega un papel crítico en el mantenimiento de la homeostasis de este ion. Pero las células paratiroides no sólo integran información sobre la concentración extracelular de  $\text{Ca}^{2+}$ , sino que también pueden modificar su respuesta secretora según los niveles circulantes de otros iones y de factores no iónicos.<sup>83</sup>

Conviene resaltar que, además del  $\text{Ca}^{2+}$  y del P, existen otros iones minerales, como el magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) que influyen sobre la función paratiroidea.<sup>15,83</sup> El  $\text{Mg}^{2+}$  es uno de los cationes más abundantes en el organismo y juega un papel fundamental en el metabolismo intracelular, interviniendo en procesos de producción y utilización de energía, así como en numerosas reacciones enzimáticas.<sup>336</sup>

Diversos estudios han demostrado que el  $\text{Mg}^{2+}$  puede regular la secreción de PTH de forma similar al  $\text{Ca}^{2+}$ .<sup>431</sup> Trabajos realizados *in vitro* con glándulas paratiroides de rata y de vaca han puesto de manifiesto que los aumentos en la concentración de  $\text{Mg}^{2+}$  presente en el medio inhiben la secreción de PTH, y viceversa.<sup>375,455</sup> Estas acciones del  $\text{Mg}^{2+}$  tienen lugar a través del mismo receptor y de los mismos mecanismos por los que actúa el  $\text{Ca}^{2+}$ .<sup>81</sup>

En estudios realizados con glándulas de vacuno se ha comprobado que el efecto estimulador del descenso de  $\text{Mg}^{2+}$  sobre la secreción de PTH es 2.5 a 3 veces menos potente, en bases de molaridad, que el del  $\text{Ca}^{2+}$ . Además, el aumento de  $\text{Mg}^{2+}$  es todavía menos efectivo que el del  $\text{Ca}^{2+}$ , alrededor de unas 30 veces, a la hora de inhibir la secreción de PTH.<sup>79,220</sup> Si consideramos que la concentración extracelular de  $\text{Mg}^{2+}$  es similar a la de  $\text{Ca}^{2+}$ , parece improbable que, en circunstancias normales, los cambios de  $\text{Mg}^{2+}$  modulen de forma importante la secreción de PTH.

Por otra parte, concentraciones elevadas de  $Mg^{2+}$  estimulan la secreción de CT, <sup>387</sup> y pueden inhibir la respuesta de las células del túbulo proximal del riñón a la PTH. <sup>466</sup> En estas acciones, el  $Mg^{2+}$  y el  $Ca^{2+}$  tienen una potencia relativa similar.

La influencia de las hormonas calciotrópicas (PTH y CTR, fundamentalmente) sobre la concentración extracelular de  $Mg^{2+}$  no está del todo aclarada. La homeostasis del  $Mg^{2+}$  depende tanto de las acciones que las hormonas calciotrópicas ejercen sobre los tejidos diana (hueso, riñón e intestino) como del efecto directo del  $Mg^{2+}$  sobre el riñón y/o otros tejidos involucrados en la regulación de la concentración extracelular de  $Mg^{2+}$ .

Como ya se ha comentado, existen determinados factores no iónicos que también pueden afectar la secreción de PTH. La dopamina y el isoproterenol estimulan la secreción de PTH, a través de su acción sobre mediadores intracelulares. Concretamente, estas sustancias activan la enzima adenilato ciclasa, determinando un aumento en el contenido intracelular de AMPc. <sup>74,75</sup> De manera inversa, otros compuestos pueden inhibir la secreción de PTH reduciendo el contenido intracelular de AMPc, como, por ejemplo, los agonistas  $\alpha$  adrenérgicos (epinefrina y norepinefrina) y la prostaglandina  $F_{2\alpha}$ . Estas sustancias inhiben la enzima adenilato ciclasa a través de proteínas G de membrana inhibitoras. <sup>76,181,200,476</sup>

En relación a los cambios en la secreción de PTH producidos por las variaciones en la actividad y concentración de mediadores intracelulares, es importante comentar que una variación del pH extracelular puede tener múltiples efectos a nivel celular, ya que hay muchos elementos de membrana e intracelulares cuya actividad es pH dependiente. Por lo tanto, es lógico pensar que desviaciones del pH extracelular hacia la acidosis o hacia la alcalosis puedan determinar cambios en la respuesta secretora de las glándulas paratiroides.

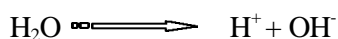
## **B. ESTADO ACIDO-BASE**

### **B.1. REGULACION DEL ESTADO ACIDO-BASE**

Existen varias teorías para explicar el concepto de equilibrio ácido-base. La más aceptada en la actualidad es la de Bronsted-Lowry, según el cual un ácido es una sustancia capaz de donar protones, mientras una base sería aquella sustancia que puede aceptar protones. Dichas propiedades son independientes de la carga de la sustancia. Esta teoría tiene la ventaja de que extiende el concepto de equilibrio ácido-base a cualquier tipo de soluciones, acuosas o no acuosas, y que permite explicar el estado ácido-base de una solución sin necesidad de conocer detalladamente sus componentes.<sup>116,401,421</sup>

Para estudiar el estado ácido-base en los seres vivos, cuyo componente principal es el agua, también es interesante la teoría clásica de Arrenio. Según Arrenio, un ácido es una sustancia que al disolverse en el agua da lugar a la producción de hidrogeniones, mientras que una base es una sustancia capaz de generar radicales hidroxilo. La neutralidad de una solución, según esta teoría, se consigue cuando el número de hidrogeniones es igual al de hidroxilos ( $H^+ = OH^-$ ).<sup>401</sup>

El agua, componente principal de los seres vivos, se comporta como un electrolito débil y se disocia en hidrogeniones e hidroxilos:



La constante de disociación de esta ecuación ( $K_a$ ) es el producto  $[H^+] \times [OH^-]$ . A 37 °C, el valor de esta constante es  $2.4 \times 10^{-14}$ . Dado que, para satisfacer la ley de la electroneutralidad,  $[H^+]$  debe ser igual  $[OH^-]$ , la concentración de hidrogeniones en agua pura es  $1.55 \times 10^{-7}$  mol/l.<sup>401,421</sup>



Una de las constantes que el organismo intenta mantener dentro de unos límites más estrechos es la concentración de  $H^+$ .<sup>421</sup> Mantener un nivel constante de hidrogeniones en el medio interno es esencial para el correcto funcionamiento celular.<sup>251,271,351</sup> Los hidrogeniones, debido a su pequeño tamaño, son extraordinariamente reactivos, especialmente con las proteínas, a cuyas porciones con carga tienden a unirse.<sup>421</sup>

Cuando se modifica la concentración de hidrogeniones, se producen alteraciones en la distribución de las cargas y en la configuración molecular de las proteínas, con el consiguiente deterioro en la función de las mismas. En condiciones normales, la concentración de hidrogeniones en el medio interno se mantiene prácticamente constante alrededor de 40 nmol/l.<sup>421</sup>

#### **B.1.1. ANALISIS TRADICIONAL DEL ESTADO ACIDO-BASE**

Para describir el estado ácido-base de una solución, generalmente se recurre a la medición del pH. El pH se define como el logaritmo negativo de la concentración de hidrogeniones:

$$pH = - \log [H^+]$$

Por lo tanto, en el caso del agua, a una temperatura de 37 °C, su pH sería 6.8.

Obviamente, el medio interno de los organismos no está compuesto sólo por agua. Cuando se consideran todas las sustancias presentes en el medio interno, se observa que existe una concentración de hidrogeniones de 40 nmol/l. Por ello, el pH del medio interno es de 7.4.<sup>421</sup>

##### **B.1.1.1. Regulación del pH**

La regulación del pH del medio se lleva a cabo fundamentalmente por tres mecanismos:

1. Tamponamiento por medio de buffers extra e intracelulares.

2. Regulación de la  $PCO_2$
3. Control del bicarbonato plasmático por medio del riñón.

### ***Sistemas tampón***

Normalmente, como consecuencia del metabolismo se producen gran cantidad de ácidos, como el ácido carbónico procedente del  $CO_2$ , el ácido sulfúrico, el ácido fosfórico y diversos ácidos orgánicos que aportan numerosos protones. Estos ácidos han de ser eliminados para que se mantenga el pH constante, por lo que se dispone de una serie de mecanismos de excreción. No obstante, para evitar las fluctuaciones del pH del medio interno durante el tiempo que media entre la producción de esas sustancias ácidas en el organismo y su posterior eliminación, el organismo utiliza una serie de sistemas amortiguadores o tampón.<sup>158,421</sup>

Los principales sistemas neutralizadores en el líquido extracelular son el sistema compuesto por  $HCO_3^- / H_2CO_3$ , la hemoglobina y el hueso. La hemoglobina, en realidad, no está presente en el espacio extracelular, sino que actúa como un tampón dentro de los hematíes. Existen otros dos sistemas amortiguadores muy poderosos en líquido extracelular: los fosfatos y las proteínas. Cuando un ácido fuerte ingresa en el organismo, el sistema  $HCO_3^- / H_2CO_3$  contribuye con el 42 % de la amortiguación, la hemoglobina, con el 6% y los fosfatos orgánicos y las proteínas intracelulares con el 51 %. No obstante, el sistema  $HCO_3^- / H_2CO_3$ , por su fácil disponibilidad en el líquido extracelular, es el más importante inicialmente. Los sistemas intracelulares y del hueso necesitan varias horas para alcanzar plena actividad, debido al tiempo que requiere la carga de hidrogeniones para difundir uniformemente por todo el organismo.<sup>236,324,401,421</sup> Los otros dos factores que consolidan la importancia extrema del sistema  $HCO_3^- / H_2CO_3$  en el líquido extracelular son: las cantidades de  $HCO_3^-$  disponibles y el control de la excreción pulmonar de  $H_2CO_3$  y de la eliminación renal de  $HCO_3^-$ .<sup>158,421</sup>

Sistema Bicarbonato /Acido carbónico

La ecuación de Henderson-Hasselbach relativa al sistema  $\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3$  se expresa como: <sup>401,421</sup>

$$\text{pH} = \text{pK} + \log [\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3]$$

Donde  $\text{pK} = 6.1$ . Por tanto,

$$\text{pH} = 6.1 + \log [\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3]$$

Como el ácido carbónico es difícil de medir directamente, se utiliza la relación constante que existe en el líquido extracelular entre  $\text{PCO}_2$  y  $[\text{H}_2\text{CO}_3]$ , tal que  $[\text{H}_2\text{CO}_3] = 0.03 \times \text{PCO}_2$ , y así la ecuación de Henderson-Hasselbach se puede expresar en una forma clínicamente más útil: <sup>401,421</sup>

$$\text{pH} = 6.1 + \log [\text{HCO}_3^-] / 0.03 \text{PCO}_2$$

En general, un sistema tampón es más eficiente en un rango de pH situado una unidad por encima o por debajo de su pK. En el caso del tampón bicarbonato, el pK se encuentra 1.3 unidades debajo del pH fisiológico y, sin embargo, este es el sistema amortiguador más eficaz. Ello es debido a la propiedad única de este sistema, que al funcionar como un sistema abierto, permite regular constantemente y de forma inmediata la  $\text{PCO}_2$  mediante cambios en la ventilación pulmonar. Así, a medida que se van neutralizando ácidos, se incrementa la concentración de  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , pero este producto puede eliminarse fácilmente incrementando la ventilación alveolar. Efectivamente, la hiperventilación reducirá la  $\text{PCO}_2$  y, como ya sabemos,  $[\text{H}_2\text{CO}_3] = 0.03 \times \text{PCO}_2$ . <sup>401,421</sup>

### ***Regulación de la PCO<sub>2</sub>***

La regulación de la PCO<sub>2</sub> se lleva a cabo en los pulmones, que eliminan constantemente el CO<sub>2</sub> producido como consecuencia del metabolismo aerobio. Dada la gran difusibilidad del CO<sub>2</sub>, el control de su concentración en el medio interno vendrá determinado de forma casi exclusiva por los procesos de ventilación alveolar.<sup>401</sup>

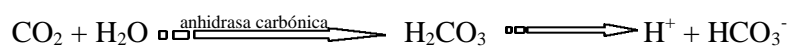
La regulación de la PCO<sub>2</sub> llevará asociada, por lo tanto, cambios en la ventilación alveolar. El control de la ventilación se lleva a cabo por parte del centro respiratorio que es capaz de responder a diversos tipos de estímulos, fundamentalmente a cambios de la PO<sub>2</sub> y de la PCO<sub>2</sub>. Un incremento en PCO<sub>2</sub> representa un estímulo positivo para el centro respiratorio, que de esta manera se encarga de incrementar la ventilación pulmonar. Por el contrario la reducción de los niveles de PCO<sub>2</sub> actuará como estímulo negativo sobre el centro respiratorio.<sup>421</sup>

### ***Control del bicarbonato plasmático por el riñón***

El riñón desempeña dos funciones en la regulación del equilibrio ácido-base. Por una parte, se encarga de excretar los ácidos fijos (no volátiles) que provienen del metabolismo de las proteínas de la dieta y que no pueden eliminarse por vía respiratoria. Además, interviene de manera decisiva en la regulación de la concentración plasmática de bicarbonato.<sup>158,401,421</sup>

La excreción de los ácidos fijos por parte del riñón se lleva a cabo mediante la combinación de los protones con buffers urinarios (como los fosfatos) o con el amoníaco, para formar iones amonio.<sup>421</sup> Estos procesos son muy importantes, puesto que la capacidad de excreción de hidrogeniones libres por la orina es limitada, dado que la excreción masiva de estos iones supondría una gran disminución del pH urinario. El mecanismo básico por el que se llevaba a cabo la secreción de protones se basa en la

formación de un ion hidrógeno a partir del ácido carbónico que, a su vez, deriva de la unión del dióxido de carbono y del agua, lo que requiere la presencia de la enzima anhidrasa carbónica.



La acidificación de la orina en los túbulos proximales es mínima; no es así en los túbulos distales y colectores, donde existe un movimiento de hidrogeniones hacia el lumen gracias a un mecanismo de transporte activo que puede actuar en contra de gradiente de concentración. Este transporte implica el intercambio de ion por ion entre hidrogeniones e iones de sodio del filtrado (antiporte electroneutro), por lo que no sólo se acidifica la orina sino que se ingresan iones de sodio al medio interno. Los iones bicarbonato, resultantes en la célula tubular de la disociación del  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , se desplazan pasivamente hacia la sangre, donde neutralizarán eléctricamente a los iones de sodio reabsorbidos en los túbulos.<sup>16,421</sup>

La cantidad de hidrogeniones que se elimina por la orina aumenta en una situación de acidemia y disminuye en alcalemia. En situaciones de acidemia, el pH de las células tubulares disminuye y la  $[\text{CO}_2]$  se eleva, lo que causa un incremento en la formación y secreción de hidrogeniones. Por el contrario, cuando se eleva el pH del medio interno, la  $[\text{CO}_2]$  es inferior y se deprime la secreción de hidrogeniones. Existe otro factor intracelular que puede influir en la secreción de hidrogeniones, se trata de la concentración de potasio. Los iones de potasio e hidrógeno comparten el mismo mecanismo de transporte, a través de la membrana de la célula tubular, hacia la luz del túbulo. Por ello cuando la  $[\text{K}^+]$  intracelular es alta, disminuye la secreción de hidrogeniones; y si por el contrario la concentración de potasio es baja tiende a aumentar la secreción de hidrogeniones.

El ion bicarbonato es el principal aceptador de  $\text{H}^+$  del plasma y se encuentra presente en

## *II Revisión bibliográfica*

---

el filtrado glomerular, siendo la cantidad filtrada diariamente mucho mayor que la cantidad total de que dispone el organismo, por lo tanto es evidente que la mayor parte de este bicarbonato es reabsorbido del líquido tubular en distintas partes de la nefrona. Casi todo el bicarbonato filtrado en el glomérulo se recupera pasivamente en los túbulos proximales, al mismo tiempo que se reabsorben iones sodio de forma activa. Otra parte se reabsorbe en los túbulos colectores por un mecanismo que implica la secreción en forma activa de hidrogeniones mediante una bomba protónica. Cuando existe bicarbonato en el líquido tubular, el ion hidrógeno puede reaccionar con él, dando lugar a la formación de CO<sub>2</sub>.<sup>421</sup>

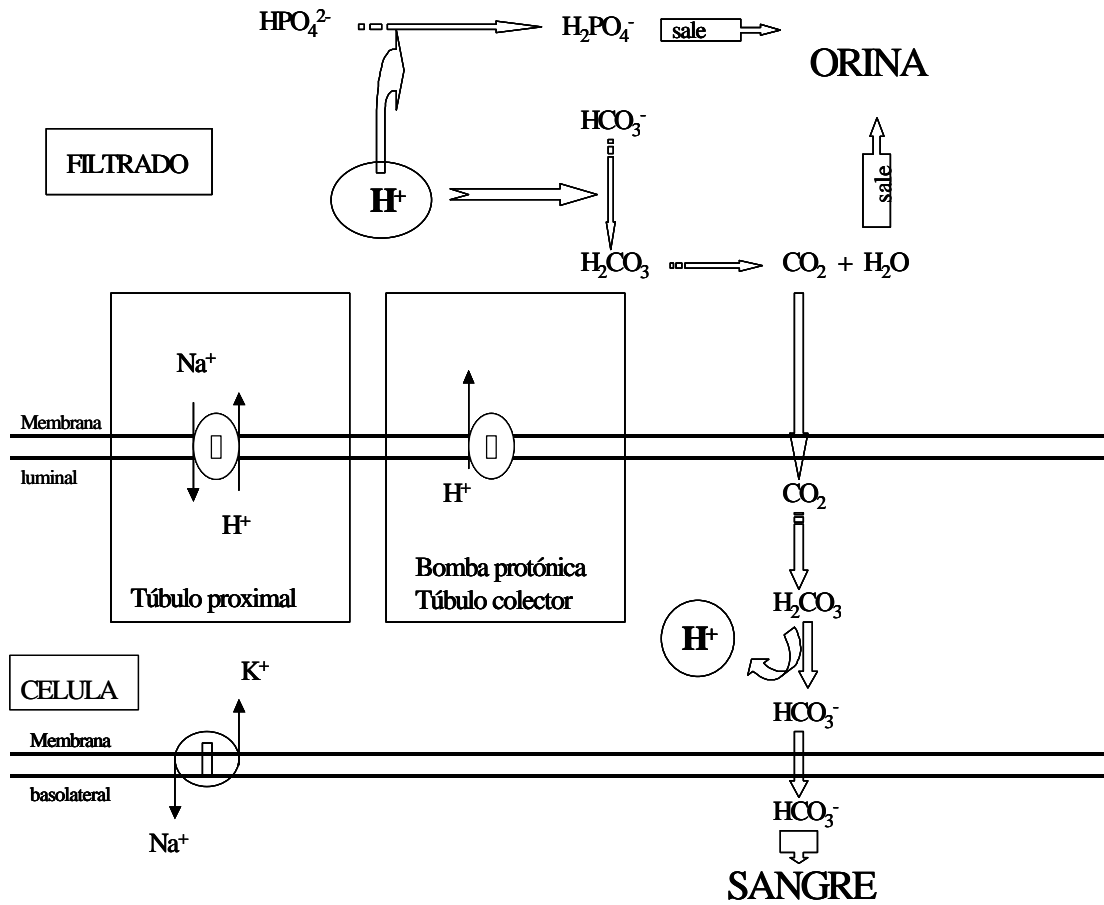


Este dióxido de carbono generado en la luz del túbulo difunde a través de la membrana tubular con facilidad, pasando al interior de la célula, donde servirá de sustrato para la formación de bicarbonato e hidrogeniones. Cada molécula de dióxido de carbono que es utilizada por la anhidrasa carbónica en la formación de ácido carbónico y la consiguiente secreción de hidrogeniones es remplazada por otra reabsorbida de esta manera en el líquido tubular.<sup>158</sup>

De lo anterior se deduce que la cantidad iones bicarbonato filtrados que se reabsorben va a depender de la cuantía de hidrogeniones que se secrete. Si la cantidad de hidrogeniones excretados en los túbulos excede a la de iones bicarbonato filtrados en el glomérulo, se reabsorberá todo el bicarbonato, pero si, por el contrario, la secreción de hidrogeniones es menor que la de filtración de bicarbonato, algunas moléculas de bicarbonato escaparán a la reabsorción tubular y aparecerán en orina.<sup>393</sup>

En una situación de acidosis se eleva la secreción de hidrogeniones, lo que propicia la reabsorción de todo el bicarbonato, con lo que la orina se acidifica. Sin embargo, en

alcalosis se segregan menos hidrogeniones, por lo que aparecen más iones bicarbonato en la orina, y ésta se alcalinizará. En la mayoría de los trastornos ácido-base, los cambios en la cantidad de hidrogeniones que se secretan a la orina parecen determinar la cantidad de bicarbonato que aparecerá en la orina, de modo que los cambios en la filtración glomerular del bicarbonato juegan un papel de menor importancia. Sin embargo, si se adiciona una gran cantidad de bases a los líquidos orgánicos, como sucede tras la ingestión de bicarbonato sódico, el gran incremento en la filtración de los iones bicarbonato excederá a la capacidad de secreción tubular de hidrogeniones y por tanto no se podrá reabsorber todo el bicarbonato filtrado, apareciendo éste rápidamente en gran cantidad en orina.<sup>158,421</sup>



**Figura 10.** Esquema de los mecanismos renales de regulación del equilibrio ácido-base.



### **B.1.1.2. Electrólitos y pH**

La intervención de los electrólitos en el organismo es muy amplia. Están implicados en la conducción del impulso nervioso, en el transporte de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, en multitud de reacciones enzimáticas, etc. Además, los electrolitos desempeñan un papel fundamental en el equilibrio ácido-base.<sup>158</sup>

La distribución de los electrólitos en el organismo es como sigue: los iones Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> y HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> se encuentran preferentemente en el líquido extracelular, mientras que la mayor parte del K<sup>+</sup> y Mg<sup>2+</sup> se acumula en el espacio intracelular. Estos cationes intracelulares están equilibrados eléctricamente por fosfatos orgánicos, proteínas, sulfatos y una pequeña cantidad de bicarbonato.<sup>421</sup>

A continuación, revisaremos los electrólitos más abundantes del medio interno, que son también los que tienen mayor importancia en la regulación del estado ácido-base.

#### **SODIO**

El sodio es el catión más importante del medio extracelular, donde desempeña un papel fundamental en la regulación del volumen extracelular y de la osmolaridad plasmática. El volumen extracelular viene determinado por la cantidad absoluta de sodio y agua, mientras que la osmolaridad representa la relación existente entre los solutos (fundamentalmente el sodio) y el agua.<sup>421</sup>

El equilibrio salino se consigue manteniendo una concentración de sodio relativamente constante en el líquido extracelular, para lo cual se requiere regular la ingesta y excreción de sodio y agua. El sistema que rige la ingesta de sodio no es del todo conocido, pero se piensa que está controlado por un mecanismo neurológico similar al que controla la sed. Por otro lado, la excreción de Na<sup>+</sup> por los riñones implica, primero, la filtración del Na<sup>+</sup>

plasmático en el glomérulo y, después, la reabsorción tubular de la mayor parte del sodio filtrado. La reabsorción del  $\text{Na}^+$  tiene lugar preferentemente en el túbulo proximal (70%) y, en menor medida, en el asa de Henle (20%), túbulo distal (5%) y túbulos colectores (4%). La diferencia del sodio filtrado y el reabsorbido representa la cantidad excretada por la orina.<sup>16,158</sup>

Existen dos grupos de mecanismos que actúan en la regulación de la concentración de sodio: a) Los mecanismos reguladores del volumen (contenido total de sodio) y b) los mecanismos reguladores de la osmolaridad (contenido total de agua).

#### **a) Mecanismos reguladores del volumen**

La excreción renal de sodio se ve afectada por múltiples factores. Parece ser que la aldosterona y el péptido natriurético atrial son los responsables de corregir las pequeñas variaciones en el volumen extracelular que se producen como consecuencia de las fluctuaciones en la ingestión de  $\text{Na}^+$ . La aldosterona promueve la reabsorción tubular de sodio, mientras que el péptido natriurético favorece su eliminación. Así, cuando disminuye la ingestión de  $\text{Na}^+$ , se produce un descenso en el volumen extracelular que da lugar a activación del eje renina-angiotensina-aldosterona, a la vez que se inhibe el péptido natriurético. Como consecuencia de ello, se incrementa la reabsorción tubular de sodio en los túbulos colectores. Cuando la disminución del volumen extracelular es más marcada, se produce, además, un descenso en la filtración glomerular y un aumento en la reabsorción tubular proximal de sodio, que ayudan a mantener la natremia. En esta respuesta contribuyen también la angiotensina I y la norepinefrina. Si, por el contrario, se produce una expansión en el volumen extracelular tendrán lugar fenómenos opuestos, con un incremento en la secreción de péptido natriurético y una disminución en la secreción de aldosterona, que facilitarán la eliminación de sodio al reducirse la reabsorción de este ion en los túbulos colectores. Cuando la hipervolemia es más marcada, también disminuye la reabsorción de sodio en el túbulo proximal.<sup>202,239,421</sup>

Existe otro mecanismo para regular el volumen extracelular que, aunque tiene poca importancia en individuos sanos, puede ser relevante cuando los otros sistemas de regulación se encuentran alterados (enfermedad renal, exceso de angiotensina II o de aldosterona): se trata del fenómeno de natriuresis inducida por la hipertensión. Este fenómeno, cuyas bases fisiológicas no se conocen por completo, consiste en una disminución en la reabsorción tubular de sodio en respuesta a la elevación en la presión arterial.<sup>421</sup>

### **b) Mecanismos reguladores de la osmolaridad**

La osmolaridad del líquido extracelular viene determinada por la proporción entre solutos (básicamente sales de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>) y el agua. Las modificaciones en la osmolaridad plasmática van a estar determinadas primariamente por cambios en la concentración de sodio. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre en la regulación de las alteraciones del volumen extracelular, el control de la osmolaridad no se realiza mediante la ingestión y excreción de sodio. La osmolaridad del medio extracelular se regula mediante cambios en la ingestión y excreción de agua, controlados por los mecanismos de la sed y la hormona antidiurética (ADH), respectivamente.<sup>421</sup>

Los cambios en la osmolaridad plasmática son detectados por osmorreceptores situados en el hipotálamo. Cuando la osmolaridad sanguínea aumenta, estas neuronas especializadas del hipotálamo se encargan de desencadenar la sensación de sed y el animal ingiere agua. Además, favorecen la secreción de ADH, con lo que aumenta la retención renal de agua, y de esta forma se recupera la proporción sodio/agua. Al disminuir la osmolaridad sanguínea tienen lugar fenómenos opuestos: desaparición de la sensación de sed e inhibición en la secreción de ADH, que determinan que no se ingiera agua al tiempo que se aumenta la excreción renal de agua.<sup>158,421</sup>

## POTASIO

El potasio es el principal catión del espacio intracelular. El 98% del contenido orgánico de potasio está localizado en el interior de las células, en contraste con el sodio que está primariamente limitado al espacio extracelular. La localización del  $\text{Na}^+$  y del  $\text{K}^+$  en los diferentes compartimentos se mantiene constante gracias a la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  de la membrana celular que, consumiendo ATP, transporta  $\text{Na}^+$  en contra de gradiente hacia fuera y  $\text{K}^+$  hacia dentro de la célula en proporción 3:2.<sup>421</sup>

El potasio entra normalmente en el organismo a través de la dieta, (40 a 120 mEq al día en el hombre) y, como ya hemos visto, se almacena principalmente en el interior de las células. La excreción de potasio se realiza primariamente por la orina y, en menor grado, por las heces y el sudor. Por lo tanto, cuando se altera la concentración plasmática de potasio deben estar involucrados algunos de estos procesos.

Un estado de hipokalemia puede producirse por: a) incremento en la entrada de  $\text{K}^+$  al interior de las células, b) incremento en las pérdidas urinarias de  $\text{K}^+$  o, c) restricción de  $\text{K}^+$  en la dieta.

Aunque la restricción dietética de potasio puede contribuir a la hipokalemia, en sujetos con una función renal normal raramente causará depleción de potasio ya que el riñón tiene una enorme capacidad para reducir las pérdidas urinarias de  $\text{K}^+$  (por debajo de 15 mEq/día en el hombre).

Entre las causas que pueden determinar un incremento en la entrada de potasio al interior de las células cabe destacar las siguientes: elevación del pH extracelular, incremento en la disponibilidad de la insulina, elevación de la actividad  $\beta$ -adrenérgica e hipotermia.

Por otro lado, el incremento en las pérdidas de  $\text{K}^+$  suele producirse principalmente a nivel

gastrointestinal (diarreas, vómitos, etc) y renal (diuréticos de asa y tiazidas, hiperaldosteronismo, flujo distal incrementado, alteraciones en la reabsorción de sodio, hipomagnesemia, poliuria, etc).

Inversamente, la hiperkalemia se produce en la mayoría de los casos por aumento en la liberación de  $K^+$  desde el interior de las células o por un descenso en la excreción urinaria de este catión. Si la función adrenal y renal de un individuo están intactas, un incremento en la ingestión de potasio no conduce normalmente a una hiperkalemia.

Cuando se ingiere potasio en exceso, éste pasa al interior de las células gracias a un proceso que se ve facilitado por la insulina y por las catecolaminas. De esta forma, se minimiza el aumento de la potasemia en el intervalo que transcurre hasta que el potasio pueda ser excretado por el riñón.<sup>421</sup>

Los movimientos de  $K^+$  desde el interior de las células al fluido extracelular, que pueden generar una hiperkalemia, se dan en procesos tales como: acidosis metabólica, diabetes mellitus (deficiencia de insulina unida a hiperosmolaridad), catabolismo tisular, ejercicio intenso, dosis elevadas de algunos fármacos como los bloqueantes  $\beta$ -adrenérgicos, etc.

Las causas más comunes de hiperkalemia son debidas a problemas en la excreción renal de este ion, relacionadas fundamentalmente con fallo renal, depleción de volumen circulante, hipoaldosteronismo, acidosis tubular renal tipo 1, etc.

La excreción renal de potasio se lleva a cabo en la porción final de la nefrona, fundamentalmente en los túbulos colectores. El proceso excretor está regulado por la aldosterona y por la concentración plasmática de potasio.<sup>421</sup>

La aldosterona juega un papel fundamental en la homeostasis del potasio merced a que promueve un incremento en la secreción de potasio en los túbulos colectores. Los niveles

de aldosterona varían en forma directamente proporcional a la concentración plasmática de potasio: se incrementan en hiperpotasemia y disminuyen en hipopotasemia. En las células de los túbulos colectores, la aldosterona promueve todos los mecanismos relacionados con la excreción de potasio: aumenta el número de canales  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  abiertos en la membrana luminal e incrementa la actividad de la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  en la membrana basolateral. Al incrementarse la permeabilidad al  $\text{Na}^+$ , se favorece la reabsorción de este ion en la célula, pasando después a la circulación sistémica gracias a la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ . Este proceso favorece la excreción de potasio por dos mecanismos: a) el transporte de  $\text{Na}^+$ , desde la célula tubular al plasma, da lugar a la entrada de  $\text{K}^+$ , procedente de la circulación, en la célula tubular, b) la reabsorción de  $\text{Na}^+$  luminal determina que en el espacio luminal se cree un gradiente electonegativo, lo que favorece la excreción de  $\text{K}^+$ .<sup>421</sup>

Por otra parte, diversos experimentos han puesto de manifiesto que la excreción de potasio está directamente relacionada con la concentración plasmática de potasio, independientemente de los niveles de aldosterona, indicando que deben existir otros factores reguladores involucrados.<sup>421</sup>

## COLORO

El cloruro es el principal anión del líquido extracelular y constituye el 60% o más de los aniones de este compartimento líquido. Debido a su abundancia, el ion cloruro tiene una actuación importante en el equilibrio ácido-base.<sup>421</sup>

Los iones cloruro y bicarbonato están equilibrados eléctricamente en su mayor parte con los iones sodio del líquido extracelular. Osmóticamente, el efecto de estos iones iguala al de los iones de sodio.<sup>158</sup>

La regulación de la concentración de  $\text{Cl}^-$  es secundaria a la regulación de la concentración de  $\text{Na}^+$  y de  $\text{HCO}_3^-$ . Si se excreta un exceso de sodio por el riñón, el

cloruro lo acompaña. Si debido a un estado de alcalosis el nivel plasmático de bicarbonato se eleva, éste debe ser eliminado por el riñón, reteniéndose una cantidad equivalente de cloro, con el fin de que se mantenga la electroneutralidad en el líquido extracelular.<sup>158</sup>

La concentración del ion cloruro está sujeta a más variaciones que las de sodio, ya que otros aniones, especialmente el bicarbonato, pueden intercambiarse con él.<sup>421</sup>

El cloruro se excreta fundamentalmente en las heces, sudor y orina, como cloruro sódico o potásico, aunque también puede acompañarse de iones amonio, cuando necesitan conservarse las bases.<sup>158</sup>

## ELECTROLITOS Y PH

La composición electrolítica del medio interno es uno de los factores más relevantes a la hora de determinar su estado ácido-base. La importancia de los electrólitos en el estado ácido-base empezó a ser apreciada a principios del siglo pasado, cuando los avances en química analítica permitieron un conocimiento más exacto del contenido electrolítico del medio interno. No obstante, es a partir de los trabajos de Gamble, en la década de los sesenta, cuando se populariza el uso de los electrólitos en el estudio del equilibrio ácido-base.<sup>197</sup>

La aplicación de los electrólitos en el estudio del estado ácido-base se basa en el principio de electroneutralidad, según el cual, la suma de todas las cargas positivas (cationes) debe estar equilibrada con la suma de las cargas negativas (aniones). Con el fin de comparar la contribución eléctrica de los iones presentes en el medio interno, sus concentraciones deben expresarse en mEq/l.<sup>161</sup>

Como ya hemos visto los cationes más importantes del medio extracelular son el sodio y

el potasio (representan el 95 % de todos los cationes), mientras que los aniones más abundantes en el mismo son el cloro y el bicarbonato (aunque éstos tan solo suponen el 85% de la carga aniónica total). Las concentraciones de todos estos iones se pueden medir fácilmente y su estudio conjunto permite definir el concepto de *anion gap*.<sup>154,161</sup>

El *anion gap* representa la diferencia entre los cationes y aniones anteriormente citados.<sup>161</sup>

$$\text{Anion Gap} = (\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-)$$

Puesto que la concentración de  $\text{Na}^+$  es muy superior a la de  $\text{K}^+$ , el *anion gap* también se puede calcular obviando la concentración de  $\text{K}^+$ .

Debido a que el cloro y el bicarbonato representan un porcentaje menor de la cantidad total de aniones (85%) que el sodio y el potasio respecto a los cationes (95%), en condiciones normales, el *anion gap* será positivo.

El principio de la electroneutralidad requiere que todas las cargas positivas estén contrarrestadas por un número igual de cargas negativas. Por lo tanto, el *anion gap* indica el número de aniones, distintos de  $\text{Cl}^-$  y  $\text{HCO}_3^-$ , que deben existir para contrarrestar las cargas positivas de  $\text{Na}^+$  y de  $\text{K}^+$ . En circunstancias fisiológicas, el *anion gap* representa una estimación de las cargas negativas suministradas por las proteínas, fosfatos, sulfatos y ácidos orgánicos, principalmente.<sup>421</sup>

La utilidad fundamental del *anion gap* radica en la evaluación del estado ácido-básico. Salvo algunas excepciones, el incremento del *anión gap* es sinónimo de acidosis metabólica.<sup>161</sup> La acidosis metabólica consiste en un acúmulo de ácidos orgánicos o inorgánicos en el espacio extracelular. La adición de ácidos a los fluidos orgánicos tiene dos efectos simultáneos sobre la composición electrolítica del medio interno:<sup>505</sup>



a) Los iones hidrógeno se unen al bicarbonato para formar ácido carbónico, el cual se deshidrata rápidamente, dando lugar a dióxido de carbono que es eliminado por el pulmón.

b) Por otro lado, el consumo de bicarbonato conlleva una disminución en las cargas negativas. Si el ácido que ingresa en el organismo es HCl, cada mEq de bicarbonato que se pierde es reemplazado por un mEq de Cl<sup>-</sup>, con lo que no se va alterar el *anion gap* (estaríamos en el caso de una acidosis metabólica hiperclorémica). La adición al medio interno de un ácido distinto del HCl, conllevaría un aumento del *anion gap*, puesto que se sustituyen aniones “medibles” (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) por aniones “no rutinariamente medibles”, (como podrían ser lactato, fosfato, citrato, sulfato, etc.).<sup>505</sup>

#### B.1.2. ANALISIS CUANTITATIVO DEL ESTADO ACIDO-BASE

A principios de los años 80 Stewart presentó su teoría sobre análisis físico-químico, también denominado cuantitativo, del estado ácido-base. Dicha teoría se basa en el estudio pormenorizado de todos los factores que intervienen en el equilibrio ácido-base. Este análisis, que anteriormente había sido considerado imposible por su complejidad de cálculo, se ha convertido en factible mediante el uso de sistemas informáticos que permiten realizar complejas operaciones matemáticas con gran rapidez.<sup>480</sup> Recientemente, las ideas de Stewart se han desarrollado, permitiendo la aplicación clínica de sus principios.<sup>174,175,177,191,293</sup>

La teoría de Stewart se fundamenta en tres conceptos fisicoquímicos fundamentales:

1. Principio de electroneutralidad. Es decir, en todo momento, en el medio interno la suma de las cargas positivas debe ser igual a la de las cargas negativas.
2. Principio de conservación de masa. Esto significa que la concentración total de una

sustancia que no se disocia completamente se puede calcular siempre como la suma de la concentración de la forma disociada y de la no disociada.

3. Principio de disociación. La disociación o ionización de una sustancia en el agua viene determinada por una constante de disociación. Dicha constante determina cómo de ionizada se encuentra una sustancia en un estado de equilibrio. En los fluidos biológicos, los electrólitos débiles son aquellos que se encuentran parcialmente ionizados o disociados, mientras que los electrólitos fuertes son los que están completamente disociados. Electrólitos débiles importantes en la fisiología ácido-base son los ácidos débiles (como las proteínas o los fosfatos) mientras que el  $\text{Na}^+$  y el  $\text{Cl}^-$  son ejemplos de electrolitos completamente ionizados.

#### **B.1.2.1. Variables dependientes e independientes**

Según el análisis cuantitativo introducido por Stewart, existen tres componentes principales para evaluar el estado ácido-base: a) variables independientes o primarias, b) variables dependientes, y c) constantes de disociación de ambas variables.

Las tres variables independientes son: la  $\text{PCO}_2$ , la diferencia entre las cargas positivas y negativas de los iones fuertes (“strong ion difference “ o SID) y la concentración total de ácidos débiles (At).

Estos tres factores influyen sobre otras variables, denominadas dependientes, entre las que se incluyen la concentración de: hidrogeniones, hidroxilos, bicarbonato y carbonato. Estas variables dependientes cambian, todas simultáneamente, siempre que una o más variables independientes se modifican. Por ejemplo, las alteraciones en la  $[\text{H}^+]$  sólo suceden secundariamente a cambios en uno o varios factores independientes ( $\text{PCO}_2$ , SID y/o At). Este concepto difiere radicalmente de la interpretación fisiológica tradicional del estado ácido-base, que se basa en la premisa de que la  $[\text{H}^+]$  y la  $[\text{HCO}_3^-]$  son las variables

fundamentales cuyas modificaciones se ven afectadas directamente por diferentes enfermedades o por diferentes respuestas homeostáticas.<sup>175</sup>

En un sistema *in vivo*, los valores de las variables dependientes se pueden calcular a partir de los datos de las variables independientes del sistema, ya que todas ellas están interrelacionadas y deben cumplir los tres principios físico-químicos fundamentales. Matemáticamente, dicha interrelación puede expresarse mediante la siguiente fórmula:

$$[H^+]^4 + (K_A + SID) [H^+]^3 + \{K_A (SID - At) - (K_C \cdot PCO_2 + K'_w)\} [H^+]^2 - \{K_A (K_C \cdot PCO_2 + K'_w) + (K_3 \cdot K_C \cdot PCO_2)\} [H^+] - (K_A \cdot K_3 \cdot K_C \cdot PCO_2) = 0$$

Donde  $K'_w$ ,  $K_A$ ,  $K_3$ , y  $K_C$  son las constantes de disociación del agua, de los ácidos débiles, del ácido carbónico y del bicarbonato.

Seguidamente, describiremos brevemente las tres variables independientes:

#### **B.1.2.2. Presión parcial de CO<sub>2</sub>**

La presión parcial de CO<sub>2</sub> en la sangre arterial se regula por medio de la ventilación alveolar.<sup>511</sup> Dado que la molécula de CO<sub>2</sub> es liposoluble y difunde libremente a través de las membranas biológicas, la diferencia de PCO<sub>2</sub> entre membranas es despreciable. Por lo tanto, referido a la concentración de CO<sub>2</sub>, se pueden considerar los diferentes compartimentos corporales como un único sistema abierto. El CO<sub>2</sub> se produce constantemente en los tejidos y es eliminado, al mismo ritmo de producción, por los pulmones. De esta forma, alteraciones en la ventilación dan lugar, de forma inmediata, a cambios significativos en la PCO<sub>2</sub> del plasma y, simultáneamente, en los demás fluidos corporales. Normalmente, las modificaciones en la producción de CO<sub>2</sub> se controlan mediante ajustes en la circulación y la respiración.

### **B.1.2.3. Diferencia de iones fuertes**

La diferencia de iones fuertes o “*strong ion difference*” (SID) representa la diferencia de carga eléctrica neta entre todos los cationes y todos los aniones fácilmente disociables presentes en el organismo.<sup>351</sup>

$$\text{SID} = (\text{Na}^+ + \text{K}^+ + \text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}) - (\text{Cl}^- + \text{otros aniones fácilmente disociables})$$

El  $\text{Na}^+$  y el  $\text{Cl}^-$  representan la mayor parte de la carga iónica inorgánica en el fluido extracelular de los mamíferos. El  $\text{K}^+$  y el  $\text{SO}_4^-$  también son iones fuertes, pero están presentes en mucha menor concentración que los anteriores. En algunas ocasiones, el  $\text{Ca}^{2+}$  y el  $\text{Mg}^{2+}$  pueden actuar también como iones fuertes, pero su concentración es muy pequeña comparada con la de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ , por lo que, en condiciones normales, se pueden despreciar en el cálculo del SID. El ácido láctico tiene una constante de disociación del orden de  $10^{-3}$  Eq/l; por lo tanto, el lactato puede comportarse como un ion orgánico fuerte en plasma o fluido extracelular. El lactato puede ser cuantitativamente significativo en determinadas circunstancias (por ejemplo, cuando se realiza ejercicio físico intenso). De forma práctica, en animales en los que la producción de lactato no está elevada, el valor de SID se puede calcular como:  $\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$ .

El SID está controlado primariamente en el plasma por el flujo iónico a través de las membranas, fundamentalmente en los túbulos renales y, en menor medida, en el intestino. En comparación con las variaciones de  $\text{PCO}_2$ , los cambios en el SID suceden de forma más lenta.

Los movimientos de iones fuertes entre los distintos fluidos corporales, que se realizan a través de las membranas, provocan cambios en el valor de SID, y estas variaciones del SID constituyen los principales mecanismos de interacción ácido-base entre los fluidos corporales.<sup>480</sup> Por lo tanto, la manipulación del SID, a través de intercambios iónicos

transmembrana, sirve para mantener o establecer una diferente acidificación en dos fluidos separados por una membrana. El SID se puede cambiar en un compartimento transfiriendo de forma diferencial cationes o aniones fuertes (principalmente el  $\text{Cl}^-$ ) a través de las membranas. Por ejemplo, para producir ácido gástrico ( $\text{pH} \cong 1$ ) desde el fluido intersticial en la mucosa gástrica ( $\text{pH} \cong 7.4$ ) se debe transferir en exceso  $\text{Cl}^-$ , junto con agua, a través de la membrana epitelial; esto crea un valor negativo de SID en el fluido secretado (y al mismo tiempo, resulta en un valor positivo alto del SID en fluido gástrico intersticial y en el plasma sanguíneo que pasa por la mucosa gástrica, lo que se denomina alcalinización postprandial).

Los cambios del SID plasmático producidos por los riñones y el intestino se transmitirán a los demás fluidos corporales mediante modificaciones apropiadas en el equilibrio de Donnan, ya que las membranas de los capilares son permeables a los iones fuertes pero no a las proteínas.

En la regulación del pH intracelular también están involucradas las mismas consideraciones que hemos descrito anteriormente. El pH intracelular depende en gran medida del control del SID. En este control, el transporte activo a través de membranas, mediante bombas iónicas, se convierte en un elemento muy importante, ya que es en definitiva el mayor responsable del movimiento de moléculas químicas no reactivas: cationes y aniones fuertes entre los distintos compartimentos. De esta manera, las concentraciones intracelulares de  $\text{H}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  son variables dependientes que no se pueden modificar directamente por estas bombas, sino a través de cambios en el SID, la variable independiente.<sup>175</sup>

En condiciones normales, los valores del SID del plasma y del fluido extracelular son positivos. Desviaciones en la concentración de los iones fuertes se traducirán en alteraciones del equilibrio ácido-base, así un aumento del SID produce alcalosis metabólica mientras que la reducción del SID da lugar a acidosis metabólica.

Como puede apreciarse, en el análisis cuantitativo del estado ácido-base, la composición electrolítica del plasma desempeña un papel fundamental, puesto que a partir de ella puede determinarse uno de los tres parámetros que se utilizan en dicho análisis (SID).

175,480

#### **B.1.2.4. Concentración de ácidos débiles no volátiles**

Los ácidos débiles no volátiles más relevantes son: a) las proteínas plasmáticas, entre las que destaca la concentración de albúmina plasmática (Alb); y, b) la concentración total de fósforo inorgánico (P).<sup>176,331,426,427</sup> En la práctica, la concentración de ácidos débiles no volátiles [At] se puede calcular utilizando la siguiente expresión matemática:

$$At = Alb (1.23 \text{ pH} - 6.31) + \frac{P (0.309 \text{ pH} - 0.469) 10}{30.97}$$

La concentración plasmática de albúmina está determinada primariamente por la producción hepática; por lo tanto, de la buena funcionalidad de este órgano depende en gran medida que la [At] no varíe. Los niveles de P dependen de la absorción intestinal de fósforo y de su eliminación selectiva por el riñón, a través del transporte activo en los túbulos. Estos procesos están funcionalmente orientados primariamente a mantener una concentración de P constante en los fluidos extracelulares.<sup>175,480</sup>

La [At] podría teóricamente sufrir variaciones por intercambios ácido-base entre los diferentes compartimentos corporales, sin embargo, estas variaciones tienen poca significación en el estado ácido-base porque las proteínas son macromoléculas que no pueden traspasar las membranas biológicas y, además, no se conoce ningún sistema biológico que pueda variar los niveles de P para regular el estado ácido-base de un compartimento corporal. Por lo tanto, los cambios más significativos de la [At] tienen

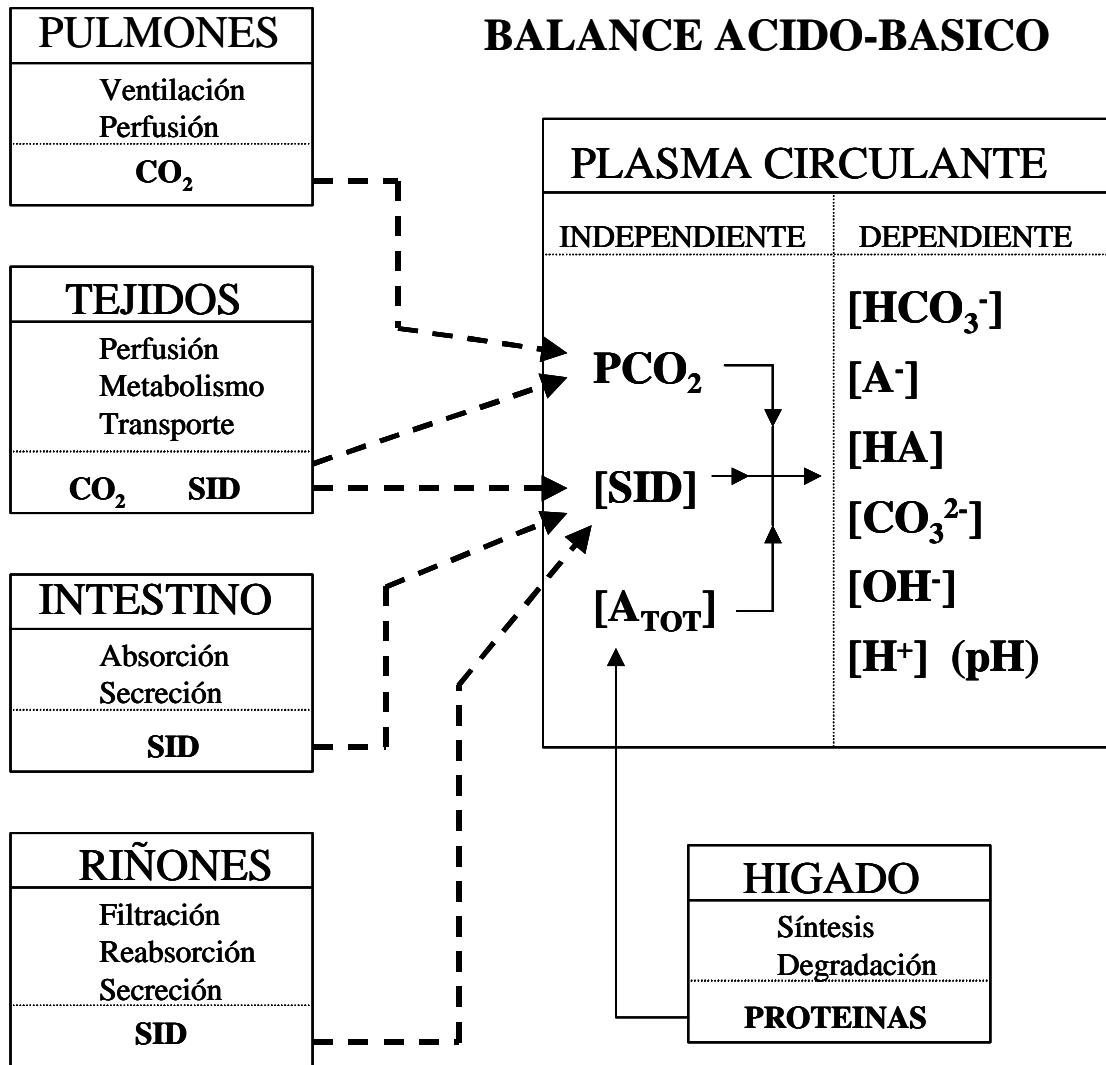
lugar en situaciones patológicas, normalmente relacionadas con disfunciones hepáticas.

Para facilitar el entendimiento de este análisis cuantitativo del estado ácido-base haremos un resumen de las premisas fundamentales que lo diferencian del análisis tradicional.<sup>175</sup> (Figura 11)

1) El análisis tradicional enfoca el estudio del estado ácido-base a partir del equilibrio de un único ácido, el ácido carbónico. El análisis cuantitativo, por el contrario, enfatiza la distinción de variables dependientes e independientes en un sistema abierto de soluciones iónicas, que son los distintos compartimentos corporales con sus distintos fluidos separados por membranas. En estos fluidos corporales las variables independientes son tres:  $PCO_2$ , SID y [At]. Además, existen unas variables dependientes (concentración de hidroxilos, carbonato, bicarbonato y hidrogeniones) cuyos valores pueden determinarse a partir de las variables independientes por medio de una ecuación matemática.

2) Los movimientos de  $H^+$  entre los fluidos no pueden afectar la  $[H^+]$  o pH de este fluido, solamente cambios en las variables independientes pueden hacerlo. Los fluidos corporales interaccionan, a través de las membranas que los separan, primariamente por movimientos de iones fuertes, lo que altera el SID.

3) El balance ácido-base de un organismo puede ser entendido cuantitativamente en términos de sólo tres variables independientes y de su regulación fisiológica llevada a cabo, fundamentalmente, por los pulmones, los riñones, el intestino y el hígado.



**Figura 11:** Esquema del análisis cuantitativo del estado ácido-base (según Stewart<sup>480</sup>). Donde  $PCO_2$  es la presión parcial de  $CO_2$ ,  $SID$  es la diferencia de iones fuertes y  $A_{TOT}$  son los ácidos débiles no volátiles.



## **B.2. ALTERACIONES DEL EQUILIBRIO ACIDO-BASE**

A pesar de que los mecanismos de regulación anteriormente descritos son muy eficientes en el control del equilibrio ácido-base, en determinadas circunstancias patológicas se producen alteraciones del pH del medio interno.

### **B.2.1. ANALISIS TRADICIONAL**

El pH del organismo puede elevarse, lo que se denomina alcalosis, o descender lo que se conoce como acidosis. A su vez, ambas situaciones pueden deberse a trastornos respiratorios o metabólicos. Los trastornos de tipo respiratorio estarán relacionados con alteraciones en la eliminación de  $\text{CO}_2$  por los pulmones y, por lo tanto, cursarán primariamente con cambios en el denominador de la ecuación de Henderson-Hasselbach ( $0.03 \times \text{PCO}_2$ ). Por el contrario, los procesos de tipo metabólico se refieren a alteraciones extrapulmonares que generalmente se relacionan con cambios primarios en la concentración de bicarbonato, es decir afectando al numerador de la citada ecuación ( $\text{HCO}_3^-$ ). Asimismo, pueden presentarse trastornos mixtos en los que se dan simultáneamente alteraciones respiratorias y metabólicas, con efectos aditivos o contrapuestos.<sup>71,72,204,433</sup>

Las variaciones de  $\text{HCO}_3^-$  y de  $\text{PCO}_2$  pueden ser primarias, cuando son las responsables directas del cambio del pH, o secundarias, cuando resultan de la actuación de los mecanismos compensatorios.<sup>519</sup>

#### ***Acidosis respiratoria***

Se produce por el aumento de la  $\text{PCO}_2$  causada por la dificultad en la eliminación de dióxido de carbono, por problemas en la ventilación alveolar. Así, la producción de  $\text{CO}_2$  supera de forma transitoria la excreción del mismo. El dióxido de carbono difunde a

través del pulmón mucho más fácilmente que el oxígeno, de ahí, que en aquellas enfermedades en las que está comprometida la ventilación, normalmente, se produce antes hipoxemia que hipercapnia. Como consecuencia de la hipercapnia se reduce el cociente  $\text{HCO}_3^- / \text{PCO}_2$  y, por consiguiente, disminuye el pH. Generalmente, esta alteración tiende a compensarse mediante la retención renal de bicarbonato, con lo que se pretende reequilibrar el cociente  $\text{HCO}_3^- / \text{PCO}_2$ .<sup>142,401</sup>

### ***Alcalosis respiratoria***

En este caso, debido a la hiperventilación, se produce una disminución de la  $\text{PCO}_2$ . La hiperventilación puede estimularse por hipoxemia asociada a trastornos pulmonares, insuficiencia cardiaca, anemia o alteraciones neurológicas. Como consecuencia de la hipocapnia, se produce un aumento en el cociente  $\text{HCO}_3^- / \text{PCO}_2$  lo que dará lugar a un incremento en el pH. La compensación renal en la alcalosis respiratoria consiste en un incremento en la excreción de bicarbonato.<sup>142,324</sup>

### ***Acidosis metabólica***

En los trastornos metabólicos se produce un cambio primario en la concentración de bicarbonato. En el caso de la acidosis, la concentración de bicarbonato disminuye, lo que puede ocurrir por tres mecanismos:

a) Consumo excesivo de  $\text{HCO}_3^-$ , debido a que se combina con los  $\text{H}^+$  de los ácidos que ingresan masivamente en el organismo, como ocurre en enfermos tratados con ácido salicílico; o que se producen en el mismo, como sucede con los cuerpos cetónicos o el ácido láctico, en la cetoacidosis diabética y en el shock, respectivamente.<sup>270,393</sup>

b) Eliminación de bicarbonato por vía digestiva, esto es lo que ocurre, por ejemplo, en las diarreas, ya que se pierden secreciones digestivas alcalinas.<sup>265,308</sup>

c) Incapacidad del riñón para recuperar y/o regenerar el  $\text{HCO}_3^-$ , esto sucede en la insuficiencia renal, en las acidosis tubulares renales y en el hipoadosteronismo.<sup>188</sup>

En todas estas situaciones, decrece el cociente  $\text{HCO}_3^-/\text{PCO}_2$ , con la consiguiente disminución del pH. En un proceso de acidosis metabólica se produce una respuesta fisiológica compensatoria de los sistemas orgánicos que dará lugar a una hiperventilación pulmonar, lo que se traduce en una disminución de la  $\text{PCO}_2$ .<sup>324</sup>

### *Alcalosis metabólica*

La alcalosis metabólica cursa con un exceso de bicarbonato. Este proceso puede ocurrir por dos mecanismos:

a) Aporte excesivo de  $\text{HCO}_3^-$  desde el exterior, en forma de bicarbonato sódico o de otras sustancias como el lactato o el citrato sódicos, que al metabolizarse generan bicarbonato.<sup>236,282,303</sup>

b) Producción en exceso de  $\text{HCO}_3^-$ . Esto ocurre cuando se pierden fluidos digestivos de carácter ácido. La secreción de  $\text{H}^+$  en el estómago va ligada al aporte de  $\text{HCO}_3^-$  al medio interno, por lo que si no se reponen los protones perdidos, el  $\text{HCO}_3^-$  generado queda libre. Esto se puede complicar con hiperaldosteronismo, porque la aldosterona promueve la incorporación de  $\text{HCO}_3^-$  al medio interno al estimular directamente la retención de sodio en los túbulos, e indirectamente mediante la hipopotasemia resultante, que favorece también la acidificación urinaria.<sup>251</sup> Otra causa de excesiva producción de  $\text{HCO}_3^-$  sería el hiperaldosteronismo primario.

Es importante tener en cuenta que la capacidad de eliminación renal del  $\text{HCO}_3^-$  sobrante es de tal magnitud que no es posible que se establezca una alcalosis a no ser que se trate de un proceso muy agudo o que existan unos factores asociados que limiten la excreción

de bicarbonato, entre los que podemos incluir: hipovolemia o hipopotasemia.<sup>166,265,308</sup>

- Hipovolemia. Ante la disyuntiva de mantener normal la  $[\text{HCO}_3^-]$  o el volumen de sangre circulante, el organismo se inclina por esto último y, así, aumenta la reabsorción de  $\text{Na}^+$  en el túbulo proximal, que arrastra el anión  $\text{HCO}_3^-$ .

- Hipopotasemia. El bajo  $\text{K}^+$  existente dentro de las células tubulares estimula la secreción de hidrogeniones a la luz tubular, lo que promueve el ingreso de  $\text{HCO}_3^-$  al medio interno.

Estos procesos tenderán a aumentar el cociente  $\text{HCO}_3^-/\text{PCO}_2$ , con la consiguiente elevación del pH. La compensación respiratoria, que supondría hipoventilación para incrementar la  $\text{PCO}_2$ , generalmente, es pequeña, pudiendo incluso estar ausente.

### ***Trastornos mixtos***

Tienen lugar cuando se producen simultáneamente alteraciones de origen respiratorio y metabólico. Generalmente, estos trastornos son debidos a la actuación de los mecanismos compensadores (compensación respiratoria de un proceso metabólico y viceversa) y, en la mayoría de las ocasiones, dificultan el diagnóstico puesto que el pH del medio interno puede permanecer relativamente constante. Cuando, por el contrario, tienen efectos aditivos, se producen graves modificaciones del pH del medio interno.

### **B.2.2. ANALISIS CUANTITATIVO**

Como ya hemos definido anteriormente, la homeostasis ácido-base, según este análisis, requiere la regulación de tres variables independientes que determinan el estado ácido-base (SID,  $\text{PCO}_2$  y At). SID y  $\text{PCO}_2$  son regulados por los riñones y el sistema respiratorio, respectivamente. La concentración plasmática de ácidos débiles no volátiles

[At], que tienen una influencia importante en el estado ácido-base, no se regula por propósitos directamente relacionados con la homeostasis ácido-base.

Las alteraciones ácido-base primarias surgen de los cambios de una o más variables independientes, pudiendo estar presente más de una alteración primaria, con efectos aditivos o contrarios.<sup>480</sup>

Por otro lado, las alteraciones secundarias o compensatorias del equilibrio ácido-base se producen como respuesta del sistema homeostático a los cambios del SID o la  $PCO_2$ . Si se produce una alteración primaria en una de estas dos variables, normalmente se dará al mismo tiempo un cambio compensatorio en la otra variable. Por ejemplo: en respuesta a alteraciones primarias de el SID se da una compensación respiratoria regulada (cambio en la  $PCO_2$ ); por el contrario, si lo que se altera de forma primaria es la  $PCO_2$  suceden cambios compensatorios controlados por el riñón (cambio en la concentración de  $Cl^-$ , lo que produce un cambio en el SID).<sup>480</sup> La [At] generalmente no se regula de forma compensatoria, incluso se ha observado que en respuesta a una alcalosis provocada por una hipoproteinemia crónica primaria (reducción del valor de At) no se produce ni una compensación renal ni respiratoria, sino que, paradójicamente, se produce una hiperventilación (descenso de la  $PCO_2$ ).<sup>427</sup>

Las alteraciones ácido-base, según el análisis cuantitativo, se clasifican en acidosis y alcalosis respiratorias y no respiratorias (“metabólicas”), lo cual difiere en ciertos matices respecto de la clasificación tradicional.

### *Acidosis y alcalosis respiratorias*

Este tipo de alteraciones resulta de las modificaciones en la variable independiente  $PCO_2$ , que puede estar anormalmente elevada (acidosis) o disminuida (alcalosis). Su base patogénica está relacionada directamente con la relación entre la producción tisular de

CO<sub>2</sub> y la ventilación alveolar. En estas alteraciones del equilibrio ácido base, la interpretación según el análisis cuantitativo es muy similar a la del análisis tradicional.

***Acidosis y alcalosis no respiratorias (“metabólicas”)***

Estos desequilibrios del estado ácido-base son consecuencia de las variaciones anormales de una o de las dos variables independientes restantes, es decir de los cambios en el SID, en la [At], o en ambos simultáneamente.

A nivel práctico, las alteraciones de la [At] pueden deberse a cambios en la concentración de Pi o de la albúmina. La hiperfosfatemia que se da en una insuficiencia renal crónica, es un factor importante en el estado de acidosis que se desarrolla en esta enfermedad. La hipofosfatemia, por el contrario, no suele producir una alcalosis detectable, ya que la concentración normal de fosfato es sólo de 1mM.<sup>175</sup> En cuanto a la albúmina, la hipoalbuminemia puede causar alcalosis no respiratoria (metabólica), en situaciones patológicas de cirrosis hepática, síndrome nefrótico y malnutrición.<sup>331,426</sup> La hiperproteinemia, como consecuencia de hemoconcentración, ha sido descrita como un factor importante en el desarrollo de la acidosis metabólica que produce en enfermos con cólera.<sup>505</sup>

Si analizamos la influencia de los cambios del SID en el estado ácido-base, podemos decir que, en general, un descenso del SID produce acidosis metabólica, mientras que el incremento de esta variable causa alcalosis metabólica. Existen dos mecanismos generales por los que el valor del SID puede modificarse:

El primero de estos mecanismos se entiende como cambios en el contenido de agua del plasma, es decir, la concentración de los iones fuertes en el plasma cambia cuando se modifica la cantidad de solvente, aunque no varíe la cantidad relativa de los solutos. Así, cuando aumenta la cantidad de agua del plasma (en intoxicaciones acuosas) o cuando se

pierde agua del plasma (en déficits aislados de agua, sin pérdida de electrólitos), los cationes y aniones fuertes se diluirán o concentrarán en igual proporción, produciendo el correspondiente descenso o aumento del SID. Las alteraciones metabólicas resultantes son “acidosis dilucional” y “alcalosis concentracional”.<sup>174</sup>

El segundo de los mecanismos implicados en los cambios del SID está basado en un desequilibrio de los iones fuertes, que puede afectar a los cationes, a los aniones, o a ambos. Con respecto a los cationes, la concentración de  $\text{Na}^+$  no variará apreciablemente en tanto en cuanto la osmorregulación permanezca intacta y no existan procesos patológicos que conlleven una pérdida importante de este ion, como sucede en las alteraciones gastrointestinales que cursan con diarrea, o en la insuficiencia renal pierde sal. Cuando existen estas pérdidas anormales de  $\text{Na}^+$ , se produciría un descenso del SID y, consecuentemente, un estado de acidosis metabólica. Otros cationes:  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Ca}^{2+}$  están regulados de forma estricta con fines distintos a la regulación del estado ácido-base. Por lo tanto, la concentración de estos cationes no está sujeta a variaciones lo suficientemente grandes como para que produzcan cambios importantes en el SID. Cuando la concentración de  $\text{Na}^+$  está entre los límites normales, los cambios del SID van a surgir de las desviaciones en la suma de la concentración de los aniones fuertes. Esta variación en la concentración de los aniones fuertes la analizamos a continuación.

El SID se reduce, dando como resultado una acidosis, si la concentración de  $\text{Cl}^-$  es anormalmente elevada, lo que resultaría en una acidosis hiperclorémica. También descendería el valor del SID si se acumulan en el plasma los “aniones no identificados” o no medidos habitualmente, entre los que podemos destacar: el lactato y los cetoácidos (productos ácidos del metabolismo); el sulfato y otros aniones fuertes que se acumulan en el fallo renal; y sustancias ácidas exógenas como el salicilato.<sup>175</sup> En el sentido contrario, para producir una alcalosis, por una elevación del SID, la concentración de  $\text{Cl}^-$  debe descender anormalmente. Las alteraciones a la baja de la concentración de  $\text{Cl}^-$  serían el único factor que podría determinar una alcalosis significativa, ya que el descenso en la

## *II Revisión bibliográfica*

---

concentración de los demás aniones fuertes, que existen normalmente en el plasma, no podrían producir un efecto alcalinizante importante. Por lo tanto, en condiciones osmóticas normales del plasma, es decir, con una concentración normal de  $\text{Na}^+$ , la aparición de una alcalosis metabólica debida a cambios iónicos sólo puede ser consecuencia de deficiencias de cloro.<sup>175</sup>



## **C. RELACION ENTRE EL METABOLISMO MINERAL Y EL ESTADO ACIDO-BASE**

### **C.1. LA PTH Y EL EQUILIBRIO ACIDO-BASE**

La relación entre PTH y equilibrio ácido-base no se conoce con exactitud. Como ya se dijo, desde un punto de vista filogenético, se ha propuesto que las glándulas paratiroides podrían haber tenido un papel importante en la homeostasis ácido-base y que, posteriormente, habrían evolucionado hacia la regulación del metabolismo mineral.<sup>521</sup> Lo que sí parece claro es que el mantenimiento de un ambiente ácido-básico estable en los mamíferos depende de la capacidad de neutralización y de excreción del exceso de carga ácida. El hueso participa de forma activa en la neutralización de cargas ácidas, proporcionando un gran reservorio de sustancias buffer, como el carbonato, que pueden ser movilizadas por resorción ósea. Por lo tanto, la PTH, que es un potente agente estimulador de la resorción ósea, puede ser considerada como un factor regulador del balance ácido-básico. Además, esta hormona puede modificar la acidificación urinaria mediante efectos directos sobre distintos segmentos de la nefrona o también con acciones indirectas, a través de sus efectos sobre los niveles de calcio y de fósforo.<sup>482</sup>

#### **C.1.1. PTH Y ACIDIFICACION URINARIA**

La PTH participa en la acidificación urinaria por varios mecanismos. Aislar los efectos directos de la PTH sobre la acidificación urinaria resulta complejo, debido a los efectos indirectos que ejerce esta hormona en el riñón, a través de los cambios en calcitriol, calcio y fósforo.

En numerosos estudios clínicos<sup>22,346,347,416</sup> realizados en pacientes que sufrían hiperparatiroidismo primario o secundario se ha encontrado un estado de acidosis metabólica hiperclorémica. Este hecho ha llevado a plantear una relación causal entre el

exceso de PTH y la acidosis. La fisiopatología de la acidosis que desarrollan los pacientes hiperparatiroides se ha explicado argumentando que la PTH inhibe la reabsorción de bicarbonato en el túbulo proximal.<sup>21,269,346,347,349,403</sup> Otros autores, sin embargo, han observado que los pacientes con hiperparatiroidismo no muestran de forma uniforme acidosis metabólica, por lo que han minimizado el papel de la PTH en la regulación del equilibrio ácido-base.<sup>134</sup>

Por otro lado, algunos trabajos realizados en animales de experimentación<sup>30,229,255,369,403</sup> que recibieron dosis elevadas de PTH confirmaron los efectos inhibitorios de la PTH sobre la acidificación urinaria a nivel proximal de la nefrona. No obstante, los efectos de la PTH sobre la excreción urinaria de bicarbonato son variables y difieren mucho entre distintas especies. Algunos autores han descrito un aumento en la excreción urinaria de bicarbonato en perros que recibían PTH.<sup>255,403</sup> Otros, trabajando con ratas, han encontrado un incremento en la reabsorción de bicarbonato en los túbulos renales tras la administración de PTH.<sup>52</sup> Finalmente, también existen trabajos en los que no se encuentra modificación alguna en la excreción de bicarbonato tras la administración de PTH.<sup>30</sup> Parte de la variabilidad en los resultados experimentales puede ser debida a las modificaciones que se producen en el GFR de los animales durante los estudios, relacionadas probablemente con las propiedades vasodilatadoras de la PTH.

En cuanto a los trabajos que estudian la acidificación a nivel distal de la nefrona producida por la administración de PTH, también muestran cierta variación en sus observaciones: algunos autores no encuentran modificaciones,<sup>21</sup> mientras que otros observan un incremento de la acidificación y de la excreción de amonio tras la administración de PTH.<sup>30,51,525</sup> Se ha demostrado que la PTH induce un aumento en la excreción distal de fosfato que promueve la acidificación urinaria, al actuar como sustancia *buffer* no reabsorbible, que es capaz de aceptar iones H<sup>+</sup>, lo que favorece la reabsorción de bicarbonato a este nivel.<sup>51,382</sup> La acidificación distal puede, por tanto, modificarse en función de la fosfatúria. La importancia de los niveles de fosfato para la

excreción y neutralización de sustancias ácidas a nivel renal ha sido descrita ampliamente, y se pone de manifiesto en numerosos trabajos en los que se estudian las consecuencias de una depleción de fósforo<sup>24,162,206,252,283</sup> y las que se producen tras la administración de fosfato a individuos con función renal normal.<sup>274</sup> En los primeros, es constante la aparición de acidosis metabólica; de forma inversa, la sobrecarga de fósforo genera y mantiene una alcalosis metabólica. En estudios recientes de Jara *et al.*,<sup>249</sup> realizados en ratas azotémicas que sufrían acidosis metabólica, mantenidas con una dieta alta en fósforo, se ha observado que la sobrecarga de fósforo a nivel renal les protegía de los efectos nocivos de la acidosis. Estos y otros hallazgos anteriormente citados, ponen de manifiesto la importancia del fosfato como buffer a nivel renal cuando se produce una sobrecarga de ácidos. Esto puede resultar contradictorio con la idea de que la retención de fósforo, como ácido débil que es, contribuye al desarrollo de acidosis metabólica en los enfermos renales; sin embargo, se debe puntualizar que el aporte de grandes cantidades de fósforo en forma de sales en la dieta implica el ingreso de cationes fuertes asociados a este elemento, que actúan incrementando el SID, de ahí su efecto alcalinizante.

Por otro lado, a la hora de analizar y discutir el efecto que la PTH pueda tener sobre los mecanismos renales de acidificación urinaria y reabsorción de bicarbonato, hay que tener en cuenta la importante contribución del balance calcio-fósforo sobre la excreción renal de ácidos y, por lo tanto, sobre el equilibrio ácido-base. Este hecho se observa claramente en modelos animales y humanos con un exceso de PTH.

Diferentes estudios en ratas, perros y humanos, a los que se les administraba un exceso de PTH de forma prolongada, demuestran que estos individuos desarrollan un estado de alcalosis metabólica, además de presentar hipercalcemia, hipofosfatemia, hipercalciuria e hiperfosfaturia.<sup>30,244,245,246,299,338</sup> La contribución del riñón al mantenimiento de esta alcalosis metabólica parece mediada por distintos mecanismos según la especie estudiada: en los humanos el principal factor es un descenso en la excreción de

bicarbonato, mientras que en los perros se debe en mayor medida a la elevada fosfaturia.<sup>482</sup> Al mismo tiempo, conviene resaltar que la hipercalcemia, que se produce como consecuencia del exceso de PTH, tiene efectos sobre la acidificación urinaria independientes de la PTH. En estudios realizados en perros, se demuestra que la hipercalcemia por si sola potencia la reabsorción proximal de bicarbonato, en presencia o ausencia de PTH.<sup>22,144</sup> El efecto del calcio sobre la acidificación urinaria se explica por acciones directas, en la células de los túbulos, o indirectas, a través de alteraciones hemodinámicas en el flujo renal.<sup>482,525</sup>

En resumen, la PTH claramente puede influir sobre la acidificación urinaria actuando en diferentes puntos de la nefrona, tanto por mecanismos directos como por sus efectos sobre el calcio y fósforo.

#### C.1.2. PTH Y *BUFFERS* EXTRARRENALES

Numerosas enfermedades en las que está potenciada la resorción ósea, tales como hipercalcemia neoplásica, hiperparatiroidismo e hipervitaminosis D, están asociadas con un estado de alcalosis metabólica, que se origina debido a la liberación de sustancias alcalinas desde el hueso.<sup>25,38,185,227,244,295</sup>

La acidosis metabólica crónica determina una mayor disolución del hueso, el cual va a proporcionar una fuente importante de sustancias *buffers*.<sup>294</sup> La resorción ósea mediada por la acidosis metabólica es independiente de la PTH. Por otro lado, se ha observado que la PTH también puede potenciar la capacidad de búfer extrarrenal a través de su acción resortiva sobre el hueso.<sup>438</sup> Esto se comprobó en estudios *in vivo* que utilizaban animales nefrectomizados y tiroparatiroidectomizados (TPX) a los cuales se les infundían sustancias ácidas, de manera, que los animales que recibieron dosis farmacológicas de PTH antes de la infusión de ácidos presentaban una menor tasa de mortalidad que los animales que no recibieron la PTH.<sup>185</sup> Este aumento en la capacidad de neutralización de

sustancias ácidas fuera del riñón se observó también en animales intactos cuando se estimulaba la secreción de PTH endógena; bien, mediante infusión de sustancias como el EDTA o la colchicina; o bien, provocando un hiperparatiroidismo secundario a insuficiencia renal crónica.<sup>23</sup> Otros autores, como Madias *et al.*,<sup>313</sup> ponen en duda el papel de la PTH, tanto endógena como exógena, en la capacidad *buffer* de un individuo expuesto a una carga aguda de ácidos, ya que no encontraron diferencias entre animales intactos y animales TPX suplementados con hormona tiroidea y calcio, sometidos a una sobrecarga de ácidos.

En estudios posteriores se ha profundizado más sobre las acciones de la PTH en el hueso. Actualmente, se conoce que la hormona paratiroidea promueve la resorción ósea mediada por células. De esta manera, al mismo tiempo que produce una salida de calcio desde el hueso, se liberan los aniones que están unidos a este ion en la fase mineral del hueso, como son el fosfato y carbonato, que pueden actuar como tampones de los iones de H<sup>+</sup>.<sup>502</sup> También se ha demostrado que la PTH promueve la desmineralización ósea estimulando los osteoclastos, que van a segregar ácidos al microambiente que existe entre la membrana de estas células y la superficie mineral ósea.<sup>17,32,33,55,498</sup> Por último, es importante destacar algunos trabajos, tanto *in vitro* como *in vivo*, que han evidenciado que la acidosis y la PTH tienen efectos sinérgicos sobre el hueso, potenciando sus efectos desmineralizantes. Así, se ha observado que la actividad de los osteoclastos, determinada por su enzima  $\beta$ -glucuronidasa, se eleva por la acción de la acidosis y del exceso de PTH, pero aún más cuando se combinan los dos factores.<sup>40,111</sup>

Por lo tanto, a través de toda la bibliografía que existe al respecto, al margen de que aparezcan determinados hallazgos contradictorios sobre las acciones de la PTH en el control del estado ácido-base, parece claro que la PTH emerge como un componente más de todo el sistema multifactorial que en los mamíferos se encarga de mantener el equilibrio ácido-base.<sup>247,438,482</sup>

## **C.2. HIPERPARATIROIDISMO RENAL SECUNDARIO (HPTH2)**

### **C.2.1. INSUFICIENCIA RENAL CRONICA E HPTH2**

La asociación existente entre insuficiencia renal, alteraciones óseas e hiperplasia de las glándulas paratiroides se conoce en medicina humana desde hace más de 50 años.<sup>8,383</sup> El esclarecimiento de los factores implicados en el inicio y mantenimiento de esta alteración de las glándulas paratiroides no sólo tiene interés fisiopatológico, sino que además puede ser muy útil para abordar un tratamiento racional de las complicaciones de la insuficiencia renal.

La hiperplasia de las glándulas paratiroides, que se acompaña de elevados niveles plasmáticos de PTH, es una de las primeras alteraciones que se producen en el metabolismo mineral cuando disminuye la función renal. Este proceso da lugar a un incremento en la secreción basal de PTH y a una respuesta exagerada de las glándulas paratiroides a la hipocalcemia.<sup>302</sup>

En la insuficiencia renal se dan una serie de factores que contribuyen a alterar la secreción de PTH, entre los que destacan: hipocalcemia, retención de fósforo, descenso de los niveles de calcitriol, alteraciones funcionales de las glándulas paratiroides y resistencia del hueso a la acción de la PTH.<sup>323</sup> Todos estos factores no actúan de forma aislada, sino que están interrelacionados. A continuación, vamos a describir la forma en que interviene cada uno de ellos en el desarrollo del hiperparatiroidismo renal secundario (HPTH2).

#### ***Hipocalcemia***

Una disminución en los niveles de calcio extracelular es la alteración más común en el curso de la insuficiencia renal y tiene origen multifactorial: se ve influida por la retención

de fósforo, por la disminución de calcitriol y por el aumento en la resistencia esquelética a la acción de la PTH. La retención de fósforo conduce a hiperfosfatemia que va a resultar en la formación de complejos minerales con el calcio; por lo tanto, la hipocalcemia puede producirse por la deposición de estos complejos minerales en los tejidos blandos y/o hueso, aunque esta circunstancia es poco relevante al comienzo del desarrollo del hiperparatiroidismo renal. Dado que la principal acción del calcitriol es la de favorecer la absorción intestinal de calcio, si los niveles de calcitriol disminuyen progresivamente, la absorción intestinal de calcio se va a ver reducida a medida que progresa la enfermedad renal. Este descenso de la absorción intestinal de calcio contribuye a la aparición de hipocalcemia. Una causa adicional de hipocalcemia, en pacientes con insuficiencia renal, es la resistencia esquelética a la acción de PTH, que se define como una alteración en la respuesta del hueso a la acción calcemianta de la PTH. Así, en individuos con IRC, existe dificultad para extraer calcio del hueso, lo que puede contribuir a un estado de hipocalcemia. Como ya se ha señalado, la disminución en los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular es el principal factor estimulante de la secreción de PTH.<sup>323</sup>

### ***Retención de fosfato***

El incremento de los niveles de fosfato sérico es uno de los signos que aparecen más precozmente en el desarrollo de la insuficiencia renal, ya que los riñones enfermos tienen disminuida su capacidad para excretar fósforo.<sup>464,465</sup> La hiperfosfatemia produce un descenso en los niveles de calcio, por disminución en la movilización ósea de  $\text{Ca}^{2+}$ , por inhibición de la síntesis de calcitriol y también, por la formación de complejos que se depositan en los tejidos blandos. Ambos factores unidos, hipocalcemia e hiperfosfatemia, producen un aumento en la secreción de PTH, orientado a restablecer los valores séricos normales de estos iones. Por tanto, la homeostasis de este nuevo estado de equilibrio se consigue a expensas de mantener unos elevados niveles de PTH.<sup>323</sup>

Para confirmar la influencia de la retención de fósforo en el desarrollo del HPTH2 se han

realizado experiencias en perros con insuficiencia renal, comprobándose que al restringirles el aporte de P en la dieta se previene el desarrollo de HPTH2.<sup>437</sup> Resultados similares se han obtenido en enfermos humanos.<sup>302</sup>

Los mecanismos por los que la hiperfosfatemia puede favorecer el desarrollo del HPTH2 son complejos. Clásicamente, se ha considerado que la hiperfosfatemia estimula la secreción de PTH por dos efectos indirectos: inducción de hipocalcemia y descenso de los niveles de calcitriol.

En personas sanas, se ha demostrado que un incremento en los niveles séricos de P determina una disminución en la concentración de calcio sérico y un aumento en la secreción de PTH.<sup>412</sup> Sin embargo, no está muy claro que en una insuficiencia renal temprana los niveles de P estén lo suficientemente elevados como para producir un descenso de la calcemia.<sup>396,522</sup> Por otra parte, no todos los pacientes con insuficiencia renal presentan hipocalcemia, aunque la tendencia sea ésta en la mayoría de ellos.<sup>302</sup> Además, en perros con uremia a los cuales se les han normalizado los niveles de calcio, se ha observado que la PTH sigue aumentada;<sup>306</sup> por lo tanto, la hipocalcemia pudiera no ser esencial para el desarrollo de un HPTH2.

Los efectos beneficiosos de la restricción de fósforo en la dieta observados en pacientes con IRC parecen estar relacionados con el aumento de calcitriol.<sup>306,307</sup> Conviene recordar que el P es un factor fundamental en la regulación de la síntesis de calcitriol, y que la retención de fosfato en la insuficiencia renal conduce a una disminución en la producción de 1,25 dihidroxicolecalciferol, al inhibir la actividad de la enzima 1 $\alpha$  hidroxilasa renal.<sup>490</sup>

Recientemente, se ha demostrado *in vitro* e *in vivo*, que la hiperfosfatemia tiene un efecto estimulante directo sobre la secreción de PTH, independientemente de los factores considerados anteriormente.<sup>10,11,163,186</sup> Lo que pone de manifiesto la importancia que tiene el control del P en la insuficiencia renal para prevenir el desarrollo del HPTH2.



### ***Descenso en la síntesis de calcitriol***

El riñón interviene de forma decisiva en la síntesis de calcitriol. Por lo tanto, los problemas renales suelen conllevar déficits en la producción de esta sustancia. La deficiencia de calcitriol, por su parte, contribuirá al desarrollo del HPTH2.<sup>323</sup>

En pacientes con insuficiencia renal, se ha observado que la producción de calcitriol desciende cuando el filtrado glomerular disminuye por debajo de 50 ml/min. La disminución en la producción de calcitriol está directamente relacionada con la pérdida de masa renal funcionante. En los individuos con insuficiencia renal existen otros factores que influyen sobre la producción de calcitriol. Así, los niveles elevados de PTH que presentan estos pacientes favorecen la síntesis de calcitriol. Por otra parte, la retención de P, la acidosis metabólica y otros factores plasmáticos derivados de la uremia, actúan, todos ellos, inhibiendo la enzima  $1\alpha$  hidroxilasa renal.<sup>241</sup>

A medida que avanza el trastorno renal, se va reduciendo progresivamente el parénquima renal y, por tanto, cada vez se produce menos calcitriol. Por ello, hay que considerar el déficit de esta vitamina como uno de los factores principales en el desarrollo del HPTH2.<sup>323</sup>

### ***Resistencia del esqueleto a la acción de la PTH***

Se ha demostrado que el incremento de calcio sérico, como respuesta a la infusión de PTH, es proporcionalmente menor en pacientes con fallo renal que en individuos sanos.<sup>168,327</sup> Además, la recuperación de los niveles de calcio extracelular desde una situación de hipocalcemia está retrasada en aquellos con respecto a éstos, a pesar de que los pacientes con insuficiencia renal presentan niveles más elevados de PTH.<sup>473</sup> Estos hechos demuestran que en situaciones de uremia existe una menor respuesta del esqueleto a la acción de la PTH.<sup>473</sup> La resistencia esquelética de la PTH parece deberse a

una desensibilización (“*down regulation*”) en el sistema de receptores de la PTH y de la adenilato ciclasa en el hueso, como resultado a la exposición continuada a altos niveles de PTH,<sup>376,377</sup> aunque existe un estudio donde se demuestra que la uremia *per se* determina una resistencia del esqueleto a la acción de la PTH, sin que existan niveles elevados de esta hormona.<sup>42</sup> Asimismo, la hiperfosfatemia, el descenso de CTR, y la acidosis metabólica que suelen presentar estos pacientes desempeñan un papel importante en este fenómeno.<sup>418,474</sup>

### ***Alteraciones propias de las glándulas paratiroides***

En la insuficiencia renal concurren muchos factores (hipocalcemia, hiperfosfatemia, déficit de calcitriol, etc.) que directa e indirectamente, producen un aumento en la secreción de PTH. En estos enfermos parece que existen, además, cambios en las células que van a alterar la respuesta glandular.

En células hiperplásicas de paratiroides se ha observado un aumento del *set-point* de la curva PTH-Ca, lo que se traduce en la necesidad de una mayor concentración de Ca para hacer descender la secreción de PTH.<sup>41</sup> Esta elevación en el *set-point* puede estar relacionada con cambios en el contenido celular de receptores de calcio (CaR).<sup>205</sup>

El calcitriol tiene efectos inhibitorios en la transcripción del gen de la PTH. Parece ser que el descenso de calcitriol influye también de forma directa e indirecta en las alteraciones de las células paratiroides. Los efectos directos consisten en la disminución de su acción inhibitoria sobre la transcripción del gen de la PTH.<sup>323</sup> Además, los animales con fallo renal crónico tienen un menor número de receptores de calcitriol (VDR) en las glándulas paratiroides.<sup>270</sup> La densidad de VDR en las glándulas paratiroides está controlada por los niveles de calcitriol. Se ha observado que en pacientes con insuficiencia renal tratados con vitamina D se produce un aumento de estos receptores.<sup>270</sup>

El calcitriol también actúa como sustancia reguladora del crecimiento celular en las glándulas paratiroides: bajos niveles de calcitriol inducen proliferación celular; inversamente, la administración de calcitriol puede suprimir esta hiperplasia.<sup>169</sup>

Todas estas anomalías en la función de las glándulas paratiroides, como consecuencia de la disminución en el nivel de calcitriol, contribuyen a la generación y al mantenimiento del hiperparatiroidismo en el curso de la insuficiencia renal.

### C.2.2. ACIDOSIS METABOLICA Y HPTH2

Entre las alteraciones más frecuentes y de mayor significación clínica que suceden en el hiperparatiroidismo renal secundario están los problemas óseos (osteodistrofia renal). Para comprender la génesis de estas alteraciones óseas es importante conocer con detalle el importante papel que desarrolla el hueso en la homeostasis mineral.

#### **C.2.2.1. El hueso y la homeostasis mineral**

El esqueleto no sólo soporta la estructura física de los animales, sino que tiene un papel muy importante en el mantenimiento de la homeostasis de los diferentes iones. El hueso contiene una fase mineral y una fase orgánica. La fase mineral está constituida por cristales de hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ ) (más del 99% del calcio y el 80% del carbonato del cuerpo están integrados en la fase mineral del hueso). La parte orgánica del hueso contiene una matriz no mineralizada y las células óseas. La matriz no mineralizada está formada principalmente por colágeno tipo-1 y otras proteínas como la osteocalcina y la osteonectina. Por otra parte, existen tres tipos de células óseas: osteoblastos, osteoclastos y osteocitos. Los osteoblastos sintetizan la matriz orgánica (osteoides) y tienen receptores para la PTH y el calcitriol. Los osteoblastos que dejan de segregar la matriz orgánica y quedan inmersos en la fase mineral se denominan osteocitos. Por último, están los osteoclastos que reabsorben el mineral óseo mediante la

secreción de hidrogeniones en el microambiente situado entre la célula y la fase mineral. La comunicación y coordinación entre la función formadora de los osteoblastos y la reabsortiva de los osteoclastos resulta en un remodelado activo del hueso (“*turnover*”) del 10 al 15 % del esqueleto cada año. Este proceso normal de “*turnover*” es necesario para la reparación de microfracturas y para evitar que se transformen en fracturas de mayor significación clínica.<sup>112</sup>

El calcio, el fósforo, la PTH y el calcitriol constituyen un eje de suma importancia en la actividad normal del hueso. El calcitriol puede estimular la formación y/o resorción del hueso, dependiendo del contenido iónico del ambiente. La PTH moviliza el calcio del hueso estimulando la resorción ósea llevada a cabo por los osteoclastos e incrementando la secreción de calcitriol. Por otro lado, la elevación en los niveles de calcio y fósforo plasmáticos, y especialmente del producto Ca x P, puede incrementar la mineralización ósea, además de inducir mineralización en tejidos blandos. Es importante también destacar que un incremento en la concentración de H<sup>+</sup> en el microambiente existente entre los osteoclastos y la fase mineral del hueso estimula directamente la disolución fisicoquímica del hueso, así como la resorción mineral mediada por estas células.<sup>112</sup>

#### **C.2.2.2. Osteodistrofia renal**

Un fallo renal alterará, en diversos aspectos, el complejo mecanismo homeostático que controla la actividad ósea. Las alteraciones que más influyen sobre el hueso son: descenso en la producción de calcitriol y retención de fosfato e hidrogeniones. Las dos primeras, además, darán lugar a una disminución en la concentración de calcio y a una elevación de la PTH. Estos desequilibrios iónicos y hormonales van a determinar alteraciones en la formación ósea y en los procesos de disolución fisicoquímica y de resorción mineral mediada por células. Como consecuencia de ello, se producirán una serie de modificaciones en la composición y estructura del hueso, que se agrupan de forma general bajo el nombre de osteodistrofia renal.<sup>112</sup>

Hay dos tipos principales de alteraciones óseas en la fase final de la insuficiencia renal: enfermedades de alto remodelado, fundamentalmente osteitis fibrosa, y enfermedades de bajo remodelado, entre las que destacan la osteomalacia y el hueso adinámico o aplásico.<sup>132,213,452</sup> En la osteitis fibrosa está incrementado el número y el tamaño de los osteoclastos y osteoblastos, determinando la aparición de profundas lagunas de resorción ósea, y la deposición del colágeno es menos ordenada, apareciendo fibrosis. La osteomalacia se caracteriza por una disminución del número de células óseas y una deficiente mineralización ósea, siendo el ritmo de mineralización proporcionalmente inferior al ritmo de la síntesis de colágeno, produciéndose en consecuencia un acúmulo de materia osteoide no mineralizada, con amplias uniones de osteoide. En la osteodistrofia renal aplásica o adinámica también desciende el número de células óseas y se produce una reducción similar, tanto en el ritmo de mineralización, como en la síntesis de colágeno, por lo que no existe un acúmulo de materia osteoide.

La osteodistrofia renal de alto remodelado se debe principalmente a los elevados niveles séricos de PTH que se producen por el descenso de la función renal.<sup>112</sup>

Por otra parte las alteraciones óseas de bajo remodelado en la insuficiencia renal se asocian a diversos factores. La osteomalacia se ha relacionado estrechamente con la toxicidad del aluminio. El aluminio ha sido utilizado durante mucho tiempo en estos pacientes como quelante del fósforo. El aluminio se deposita en el frente de mineralización afectando negativamente a la mineralización ósea.<sup>9,211,235,290,317,380,389,394</sup> Además, el aluminio parece reducir el número y la actividad de los osteoblastos, determinando un descenso en la formación ósea y aumentando la resorción ósea que producen los osteoclastos. Finalmente, en la osteomalacia existe una disminución de PTH.<sup>112,212,477,478</sup> Las enfermedades de hueso adinámico vienen condicionadas por la reducción relativa de los niveles de PTH que existe en algunos pacientes con insuficiencia renal. En estos enfermos, el descenso de PTH puede ser debido a: la avanzada edad, diabetes y/o excesivo aporte de calcio. En estos individuos, el aporte de

calcio a través de fuentes exógenas puede hacer descender la concentración de PTH hasta niveles que son inadecuados para mantener un remodelado óseo normal.

### **C.2.2.3. Efecto de la acidosis sobre el hueso**

En un individuo adulto el metabolismo diario de las proteínas genera aproximadamente 1 mEq de hidrogeniones/kg de peso vivo. Estos iones de hidrógeno deben ser excretados, primariamente a través del riñón, para mantener el equilibrio ácido-base.<sup>113</sup> Cuando existe una insuficiencia renal se imposibilita la eliminación de los ácidos producidos diariamente. En este caso, para evitar que se produzca una variación significativa del pH, van actuar los sistemas tampón del hueso y de los tejidos blandos reteniendo estos iones H<sup>+</sup>. El acúmulo progresivo de H<sup>+</sup> inducirá la liberación de calcio desde la fase mineral del hueso, por fenómenos fisicoquímicos y por mecanismos mediados por células.<sup>99,107,294,295,297,442</sup>

De este modo, la disfunción progresiva del riñón, antes de la instauración de una terapia adecuada, estará acompañada por una producción continuada de ácidos con inadecuada excreción neta de ellos, resultando en una sustancial acidemia. Una vez instaurada una terapia renal sustitutiva, bien sea por diálisis peritoneal o hemodiálisis, se van a paliar favorablemente estas alteraciones del equilibrio ácido-base, pero es importante destacar que en ambas formas de diálisis, los niveles de bicarbonato y pH estarán generalmente por debajo de los niveles fisiológicos al inicio de cada sesión. Esto es indicativo de la existencia de una acidosis metabólica.<sup>91,318</sup>

A continuación, resumiremos los hallazgos encontrados en numerosos estudios *in vivo* y, sobre todo, *in vitro*, realizados para determinar el efecto de una acidosis aguda y crónica sobre el hueso.

#### *Acidosis Aguda*

Cuando se infunde una solución de ácido inorgánico a animales nefrectomizados, el calcio sérico se incrementa rápidamente.<sup>276</sup> Si consideramos que hueso contiene el 99% del calcio total del cuerpo,<sup>512,513</sup> este hecho implica que hay una disolución del mineral óseo. Usando cultivos de hueso de ratones neonatos se observó que un descenso en el pH del medio producía una disolución del mineral óseo con la liberación de calcio al medio en un periodo de 3 horas. De forma inversa, cuando el medio era alcalino, existía un flujo de calcio desde el medio hacia el interior de hueso. Finalmente, no se encontraron cambios en el flujo de calcio cuando el pH del medio era igual al fisiológico.<sup>93,94</sup>

Los mecanismos por los cuales los iones hidrógeno inducen una liberación de calcio desde el hueso, en un corto espacio de tiempo, pueden estar mediados por la disolución fisicoquímica directa del calcio o por estimulación de resorción ósea mediada por osteoclastos. Ambos mecanismos han sido demostrados en sendos trabajos realizados por Bushinsky *et al.*<sup>94,110</sup> utilizando cultivos óseos *in vitro*. Estos mismos autores demostraron el papel fundamental del carbonato óseo en la disolución mineral mediada por protones, al observar, en estudios *in vitro*, una relación inversa entre la salida de calcio desde el hueso y la concentración de bicarbonato del medio.<sup>96,105</sup>

De este modo, existen evidencias de que el hueso puede responder en un lapso de 3 horas a un descenso de pH en el rango que presentan tanto los pacientes con una insuficiencia renal progresiva como los enfermos renales dializados entre las sesiones de diálisis.

Pero el hueso no sólo responde a la acidemia liberando calcio, sino que funciona también como un tampón de H<sup>+</sup> ayudando a restaurar el pH hacia el rango fisiológico. Hace más de 40 años que Swan y Pitts demostraron que aproximadamente el 60% de los H<sup>+</sup> administrados por la infusión aguda de un ácido eran tamponados fuera del espacio extracelular por los tejidos blandos y el hueso.<sup>487</sup>

## II Revisión bibliográfica

---

Existe un gran número de estudios *in vivo* e *in vitro* que ponen en evidencia la respuesta de los *buffers* del hueso a una sobrecarga de ácidos, observando un descenso de  $\text{Na}^+$ , y carbonato en la composición del hueso por efecto de la acidosis.<sup>49,93,95,96,97,98,108,109</sup> La salida de sodio desde el hueso sugiere el intercambio de éste con protones, mientras que la disminución del contenido óseo en carbonato sugiere el consumo de este tampón por los protones.

El hueso contiene aproximadamente el 80% de la reserva total de dióxido de carbono ( $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  y  $\text{CO}_2$ ) del cuerpo. Aproximadamente 2/3 del dióxido de carbono del hueso están en forma de carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ), formando complejos con calcio, sodio y otros cationes, y localizado en los cristales óseos, siendo relativamente inaccesible para la circulación general. El tercio restante está en forma de bicarbonato, localizado en la estructura hidratada de la hidroxiapatita, sitio accesible para la circulación sistémica.<sup>112</sup>

Una acidosis metabólica aguda hace descender el contenido total de dióxido de carbono del hueso. La pérdida de dióxido de carbono del hueso, presumiblemente desde la reserva de bicarbonato disponible, sugiere que el hueso participa activamente tamponando el aumento de la concentración de  $\text{H}^+$ .<sup>112</sup>

Por lo tanto, durante una acidosis metabólica aguda, el descenso del pH provoca la salida de calcio y de *buffers* del hueso. Esta liberación de calcio y sustancias tampón es sólo un componente más de la acción neutralizante de protones que el hueso ejerce, ya que al mismo tiempo que tiene lugar la salida de calcio, se produce una liberación importante de otros cationes como el  $\text{Na}^+$  y el  $\text{K}^+$ , que son desplazados de la fase mineral del hueso.<sup>95,108,217,278</sup>



*Acidosis crónica*

En pacientes no urémicos, una acidosis metabólica crónica incrementa la excreción urinaria de calcio, sin alteración en la absorción intestinal de este ion, dando lugar a una pérdida neta de calcio corporal.<sup>294,296,301</sup> Con mucha probabilidad, la fuente del calcio que se pierde por orina es el hueso.

La acidosis metabólica crónica parece inducir una liberación de calcio óseo del mismo modo que lo hace un proceso de acidosis aguda, por medio de mecanismos directos de disolución fisicoquímica del mineral óseo mediados por la elevada  $[H^+]$ , y por mecanismos de reabsorción ósea mediados por células.<sup>100,277,281</sup>

En cultivos celulares óseos, se ha demostrado que un descenso en la concentración de bicarbonato del medio de cultivo estimula la producción de la enzima  $\beta$ -glucuronidasa (enzima producida por los osteoclastos) e inhibe la síntesis de colágeno y la actividad de la enzima fosfatasa alcalina (ambas dependientes de los osteoblastos).<sup>281</sup>

Estos y otros hallazgos surgidos en posteriores estudios evidencian que la acidosis metabólica crónica estimula la actividad de los osteoclastos e inhibe la función de los osteoblastos en cultivo. De este modo, podemos decir que tanto el incremento en la resorción ósea como el descenso en la formación de hueso mediados por células juegan un papel muy importante en la hipercalciuria que tiene lugar en un proceso de acidosis metabólica crónica.<sup>281,479</sup>

Durante un fallo renal crónico, la concentración de bicarbonato y el pH del líquido extracelular permanecen reducidos, aunque de forma estable, durante largos períodos de tiempo.<sup>103,104,210,443</sup> Considerando la masa y la capacidad tampón del hueso, podríamos pensar que éste es el lugar donde se neutraliza la sobrecarga de hidrogeniones que se produce en el fallo renal crónico.<sup>210</sup> Esta idea se ve apoyada por la observación de que la

cantidad de calcio y carbonato del hueso se ven reducidas de forma significativa en pacientes con uremia, y que esta reducción es proporcional a la duración de la enfermedad renal.<sup>386</sup>

En pacientes no urémicos, el hueso aparece también como el sitio donde son neutralizados el exceso de  $H^+$  durante la administración de ácidos.<sup>294</sup>

Como en el caso de la acidosis aguda, la imposición de una carga de ácidos crónica determina una reducción del carbonato del hueso. De este modo, también puede decirse que el carbonato óseo es el aceptor de los iones de hidrógeno.<sup>35,89</sup>

#### **C.2.2.4. Papel de los aniones en la osteodistrofia renal**

En diversos estudios realizados *in vitro* se ha puesto de manifiesto que el anión que acompaña al ácido en el medio es determinante de la magnitud con la que se libera el calcio del hueso y de la capacidad de neutralización de iones hidrógeno del hueso. Esto es aún más evidente cuando comparamos los diferentes efectos que provoca en el hueso una acidosis respiratoria frente una acidosis metabólica.<sup>93,94,95,96,97,98,100,103,104,105,106,109,110,113,125,281</sup> En incubaciones durante un corto período de tiempo, la acidosis respiratoria no sólo está acompañada de una menor salida de calcio desde el hueso, sino que además causa una deposición del calcio del medio en la superficie ósea.<sup>106</sup> En una acidosis metabólica, los bajos niveles de bicarbonato favorecen la disolución del hueso, mientras que durante una acidosis respiratoria el incremento en  $PCO_2$  y bicarbonato favorecen la deposición de carbonato.<sup>98</sup>

Cuando se realizan incubaciones de larga duración, los mecanismos celulares que determinan la liberación de calcio óseo durante una acidosis metabólica no ocurren en acidosis respiratoria.<sup>100</sup> Además, se ha demostrado que la acidosis respiratoria no estimula la acción resorptiva de los osteoclastos, ni inhibe la síntesis de colágeno ni la

actividad fosfatasa alcalina mediada por osteoblastos, como sucede en un proceso de acidosis metabólica.<sup>114,281</sup> Finalmente, existe otro hallazgo que diferencia ambos tipos de acidosis en el hueso, y es que el proceso respiratorio no modifica la concentración de otros iones, distintos del calcio, en la superficie ósea como se había visto que sucedía en la acidosis metabólica.<sup>125</sup>

#### **C.2.2.5. Efecto de la acidosis sobre PTH y calcitriol**

Una de las cuestiones que aún no está muy clara es si la carga de ácidos que se da en los pacientes con insuficiencia renal puede determinar un incremento en los niveles de PTH y complicar aún más el hiperparatiroidismo. Se conoce que la acidosis produce un desplazamiento del calcio unido a la albúmina, aumentándose así los niveles de calcio iónico, lo que reduciría la secreción de PTH.<sup>341</sup> Por otro lado, la acidosis provoca un aumento de la calciuria, lo que tiende a reducir los niveles séricos de calcio y a incrementar la concentración de PTH. Existen numerosos estudios, realizados a lo largo de estas últimas décadas, en los que se ha intentado poner de manifiesto si la acidosis tiene algún efecto sobre la secreción de PTH, con resultados muy dispares. A continuación, haremos un recorrido por los trabajos más destacados que han abordado este tema.

Un grupo importante de autores ha defendido a lo largo de sus trabajos un efecto estimulante de la acidosis sobre la secreción de PTH:

Wachman *et al.*<sup>502</sup> ya en 1970, en un estudio en individuos sanos, resaltaron el aumento de actividad de PTH que existía durante la acidosis metabólica, según ellos, dirigida principalmente a la liberación de tampones fosfato desde el hueso para el control del exceso de H<sup>+</sup>.

En 1975, Coe *et al.*,<sup>135</sup> provocaron acidosis aguda a humanos sanos mediante la

administración de  $\text{ClNH}_4^+$ , y observaron un aumento ligero de la PTH que relacionaron con un aumento de fosfato y un descenso de calcio sérico. Cuando establecieron una acidosis crónica, el aumento de PTH que observaron fue mucho más evidente, aunque no concluyeron que el aumento de PTH fuera provocado directamente por el descenso del pH, sino que estaba relacionado con un balance negativo de calcio total, derivado de la hipercalciuria. Una idea muy similar obtuvieron Scott *et al.*<sup>444</sup> en un estudio realizado en corderos en crecimiento, a los que infundieron durante 4 horas una solución de HCl. Estos autores observaron también un aumento en la concentración de PTH con la acidosis metabólica que relacionaron, del mismo modo, con el descenso del calcio en el plasma debido a la hipercalciuria existente. Además, en ese mismo estudio no se consiguió mejorar el balance de calcio negativo administrando a los animales PTH exógena, por lo que concluyeron que en un estado de acidosis la respuesta del riñón a la PTH estaba alterada. Este fenómeno fue apuntado anteriormente por Batlle *et al.*<sup>37</sup> en 1982 en un estudio realizado en perros.

Beck *et al.*,<sup>40</sup> trabajando con ratas, pusieron de manifiesto la existencia de una conexión importante entre la PTH y la acidosis metabólica, ya que observaron que la acidosis potenciaba la acción resorptiva de la PTH en el hueso, aumentando la salida de calcio del hueso; mientras que los efectos de la PTH sobre el calcio a nivel renal contrarrestaban la hipercalciuria provocada por la acidosis. La acción sinérgica en el hueso de la PTH y la acidosis, potenciando la salida de minerales desde el hueso, va a ser corroborada posteriormente en varios trabajos en cultivos de tejido óseo por Bushinsky *et al.*<sup>93,111</sup>

Una evidencia más de que la acidosis puede ser de alguna manera un estímulo para la secreción de PTH resulta de los diferentes estudios realizados en pacientes dializados o urémicos en prediálisis, en los cuales los niveles de PTH se estabilizaron o incluso se redujeron cuando se les proporcionó una adecuada corrección de la acidosis, aumentando la adición de bicarbonato en la solución de diálisis o infundiéndoles una solución de bicarbonato. De esta manera, se conseguía frenar la progresión del HPTH2 y

la evolución de la osteodistrofia renal que presentaban este tipo de pacientes.<sup>215,291,310</sup> Pero además, Graham *et al.*<sup>215</sup> aventuraron una hipótesis para explicar el posible efecto de la acidosis sobre la glándula paratiroides, ésta era que el pH ácido modificaba la estructura de los receptores de  $\text{Ca}^{2+}$  de la glándula haciéndolos menos afines a este ion, de modo que la glándula perdía sensibilidad para captar el  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular.

Paillard M y Bichara M<sup>382</sup> en una completa revisión sobre los efectos de las hormonas peptídicas en el control renal del estado ácido-base, apuntaron que la PTH actuaba sobre el riñón potenciando la eliminación de ácidos y, por lo tanto, un acúmulo de ácidos podía estimular la secreción de PTH. Posteriormente, estos mismos autores, en un estudio en ratas a las que se les provocó acidosis metabólica aguda, administrando una solución de HCl, observaron un aumento significativo de los niveles de PTH. Este aumento de PTH era directamente proporcional a la  $[\text{H}^+]$ , e independiente del calcio (aunque no consiguieron evitar que la calcemia aumentase durante la acidosis).<sup>53</sup> También a través de este estudio reafirmaron su idea de que la PTH favorecía los mecanismos renales de eliminación de ácidos, aumentando la excreción renal de fosfato. Este es el trabajo más destacado que consigue ver un efecto estimulante de la acidosis aguda sobre la secreción de PTH, aunque no puedan controlar factores tan importantes para las glándulas paratiroides como son los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular.

Otros hallazgos que apoyan la idea de que la acidosis y el bajo bicarbonato pueden estimular las glándulas paratiroides son, por un lado, que los niveles de PTH registrados en pacientes con IRC sometidos a diálisis peritoneal son inferiores a los observados en este mismo tipo de pacientes sometidos a hemodiálisis; y por otro lado, que los valores de PTH que presentan los individuos con diabetes asociada a IRC son menores si se comparan con los recogidos en pacientes con el mismo grado de IRC y sin diabetes. En ambos casos se comprueba que, de forma generalizada, los individuos con valores más bajos de PTH presentan niveles superiores de bicarbonato y un pH más estable.<sup>18,28,123,226,385,483,500,501,510</sup>

Por otro lado, hay una serie de trabajos en los que no se ha conseguido evidenciar un aumento en la concentración de PTH asociado a la acidosis metabólica, encontrando incluso un descenso en los niveles de esta hormona provocado por la acidosis.

Kaplan *et al.*<sup>254</sup> realizaron estudios en ovejas en los años 70, en los que se observó un marcado incremento en la PTH asociado a la alcalosis metabólica, mientras que la acidosis metabólica aguda produjo un descenso de los niveles de PTH. Todo ello se relacionó con las variaciones de  $\text{Ca}^{2+}$  producidas por los cambios de pH.

En estudios posteriores, Weber *et al.*<sup>509</sup> no encontraron un aumento de la PTH en individuos sanos a los que se provocó una acidosis metabólica crónica administrándoles  $\text{ClNH}_4^+$  en la dieta. Estos individuos sufrieron una acelerada descalcificación ósea, aunque los niveles de fosfato plasmático no experimentaron cambios apreciables, lo que fue uno de sus argumentos para explicar que los niveles de PTH no estuvieran aumentados. Posteriormente, en otro estudio en humanos a los cuales también se administró una carga crónica de ácidos, Adams *et al.*<sup>1</sup> observaron un leve descenso en los niveles de PTH, y concluyeron que las pérdidas urinarias de calcio y la mayor descalcificación que presentaron estos individuos durante la acidosis metabólica eran independientes de la PTH.

Del mismo modo, Bushinsky *et al.*<sup>92</sup> no encontraron modificados los niveles de PTH en ratas sometidas a una acidosis metabólica crónica por la administración de  $\text{ClNH}_4^+$  en el agua de bebida.

Kraut *et al.*<sup>275</sup> tampoco detectaron un efecto de la acidosis metabólica aguda o crónica sobre los niveles de PTH en humanos suplementados con  $\text{ClNH}_4^+$  en la dieta. Incluso, no se descartó la existencia de un pequeño descenso de esta hormona asociado a la acidosis. Aún llegaron más lejos a través de este trabajo, y concluyeron que la respuesta del riñón y del hueso a la PTH no se modificaba en un estado de acidosis metabólica, como

anteriormente algunos autores habían sugerido.

En estudios más recientes en pacientes en diálisis a los que se alteró el equilibrio ácido-base, modificando la concentración de bicarbonato en la solución de dializado, no se observaron variaciones en la concentración de PTH.<sup>315,381,520</sup> Ouseph *et al.*,<sup>381</sup> que estudiaron la relación  $\text{Ca}^{2+}$ -PTH, no encontraron que durante una acidosis metabólica aguda esta relación sufriera modificaciones. En este mismo estudio se sugirió que la ausencia de cambios en la dinámica de secreción de la PTH durante la acidosis pudo ser debida a que sus pacientes, a pesar de tener descendidos los niveles de bicarbonato y de  $\text{PCO}_2$  (compensación respiratoria), no experimentaron cambios importantes en el pH sérico; por lo que se sugirió que debía ser el cambio de pH, y no los niveles de bicarbonato, lo que afectaría la respuesta de la glándula paratiroides.

Para añadir aún más polémica sobre este tema, citaremos un interesante trabajo de Oster *et al.*,<sup>379</sup> en el que se pone de manifiesto que el anión que acompaña al ácido tiene una gran importancia en las alteraciones que se dan en el metabolismo fosfocálcico por efecto de la acidosis. Así, cuando los autores infundieron HCl y ácido metilmalónico a perros sanos obtuvieron una elevación en la concentración de PTH, asociada a un incremento en  $\text{Ca}^{2+}$  y P, y a un descenso del  $\text{Mg}^{2+}$ ; mientras que con la infusión de ácido láctico, los perros sufrieron un descenso en los niveles de PTH, con un aumento en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ , estando el P descendido.

En cuanto al efecto de la acidosis sobre el metabolismo del calcitriol se observa que depende de una compleja interrelación, ya que la producción de esta hormona está influenciada por varios factores como son: los niveles de PTH, y la concentración de calcio y fósforo. De esta manera, si la acidosis produce cambios sobre estos factores, influirá indirectamente sobre la producción del calcitriol. Por otra parte, se ha demostrado que la acidosis tiene efectos directos sobre la síntesis de la forma activa de la vitamina D (1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>).

## *II Revisión bibliográfica*

---

Numerosos estudios en ratas han puesto de manifiesto que la conversión de 25(OH) D<sub>3</sub> a 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> está alterada en una situación de acidosis metabólica, porque la acidosis inhibe la enzima 1 $\alpha$  hidroxilasa renal, encargada de esta hidroxilación.<sup>146,258,285,289,410,415</sup> Sin embargo, otros autores afirman que la síntesis de calcitriol puede verse alterada por la acidosis metabólica dependiendo de los niveles de calcio y fósforo en estas ratas.<sup>92,101,277</sup>

Por otra parte, la influencia de la acidosis sobre la síntesis de calcitriol no está aclarada en humanos, pues hay muchos resultados contradictorios. Algunos autores no han observado un descenso en los niveles de calcitriol con acidosis metabólica en sus estudios con pacientes.<sup>1,509</sup> Sin embargo, en otros trabajos se puso de manifiesto que en humanos, al igual que en las ratas, la actividad de la enzima 1 $\alpha$  hidroxilasa renal también se alteraba por la acidosis.<sup>145,285,311</sup> Un estudio en pacientes hemodializados demuestra de forma indirecta la influencia de la acidosis sobre la síntesis de calcitriol, de modo que cuando en esos pacientes se aumentó la concentración de bicarbonato en la diálisis para corregir la acidosis metabólica que sufrían, se encontró que los niveles de calcitriol se elevaron.<sup>315</sup>

Aún más contradictorio parece el hallazgo de Krapf *et al.*<sup>272</sup> en un trabajo realizado en individuos sanos, en los que se obtiene un aumento en la producción de 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> cuando se induce acidosis metabólica administrándoles CINH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Este hecho, según ellos, se explica por el descenso de fosfato que produce la acidosis.



**III. MATERIAL Y METODOS**

III. MATERIAL Y METODOS

A. ANIMALES

B. PREPARACION E INSTRUMENTACION  
DE LOS ANIMALES

C. SOLUCIONES IONICAS

D. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

E. RECOGIDA Y CONSERVACION DE MUESTRAS

F. DETERMINACIONES BIOQUIMICAS

F.1. Parámetros medidos

F.1.1. pH, PCO<sub>2</sub>, PO<sub>2</sub>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> y Cl<sup>-</sup>

F.1.2. Fósforo inorgánico (P)

F.1.3. Magnesio total (Mg)

F.1.4. Albúmina plasmática (Alb)

F.1.5. Hormona paratiroidea (PTH)

F.2. Parámetros calculados

F.2.1. Bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

F.2.2. *Anion gap* (AG)

F.2.3. Diferencia de iones fuertes (SID)

F.2.4. Concentración total de ácidos débiles no volátiles (At)

G. ANALISIS ESTADISTICO

H. DISEÑO Y PRESENTACION GRAFICA

## A. ANIMALES

Todos los perros utilizados en este trabajo procedían del Centro de Control Animal de Córdoba y estaban destinados a recibir eutanasia. Antes de ser aceptados como sujetos experimentales, los animales se mantuvieron en observación durante una semana en el animalario de la “Unidad de Investigación del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba”. Durante este periodo, recibieron un manejo acorde con la normativa legal vigente.<sup>20,62</sup> (BOE 1990, DOCE 1986). Los perros se alojaron en jaulas individuales, se alimentaron con una dieta comercial equilibrada (Tabla I) y recibieron agua *ad libitum*. Asimismo, se realizaron controles diarios para comprobar su estado clínico-sanitario. Una vez transcurrido el periodo de observación, se seleccionaron aquellos animales que se encontraban en buen estado de salud. En los experimentos, se utilizaron perros mestizos de ambos sexos, con un peso corporal de  $22.54 \pm 0.24$  kg ( $\bar{x} \pm SE$ ) y una edad, estimada por la dentadura, de  $3.55 \pm 0.14$  años ( $\bar{x} \pm SE$ ).

Humedad.....	10 %	Calcio.....	1.7 %
Proteína Bruta.....	20 %	Fósforo.....	0.9 %
Grasa Bruta.....	7 %	Vitamina A.....	6.600 UI/kg
Celulosa Bruta.....	4.3 %	Vitamina D <sub>3</sub> .....	660 UI/kg
Cenizas Brutas.....	9 %	Vitamina E.....	40 mg/kg

**Tabla 1.** Composición de la dieta administrada a los perros utilizados en el estudio.

## **B. PREPARACION E INSTRUMENTACION DE LOS ANIMALES**

Previamente a la realización de los experimentos, los perros se mantuvieron en ayuno durante un periodo de 18-24 horas. Para facilitar el manejo de los animales, antes de iniciar los experimentos, se les administró por vía intramuscular (i.m.) clorhidrato de ketamina (Ketolar 50 mg, Parke-Davis S.L, El Prat de Llobregat, España), a una dosis de 7.5 mg/kg, fentanilo y droperidol (Thalamonal, Productos Roche S.A., Madrid, España) a unas dosis de 7.5 y 375 µg/kg, respectivamente. Posteriormente, se rasuró la cara craneal de ambos antebrazos, la zona latero-ventral derecha del cuello y la zona inguinal de la extremidad posterior izquierda. Dichas áreas se prepararon quirúrgicamente mediante limpieza sucesiva con una solución de povidona yodada y alcohol etílico.

A continuación, se procedió a colocar catéteres intravenosos (i.v.) en ambas venas cefálicas, 18G x 51 mm, (Abbocath-T, Abbott Ireland, Sligo, Irlanda). Una vez colocados dichos cateteres, se indujo la anestesia infundiendo, por vía i.v., tiopental sódico (Pentothal Sódico 1 g, Abbott Laboratories S.A., Madrid, España) 12.5 mg/kg, diluido en solución de ClNa al 0.9% (Suero Fisiológico, Bieffe Medital S.A., Sabiñánigo, España). Seguidamente, se procedió a la colocación de una sonda endotraqueal 8.5 mm x 34 cm (Rüsch sterile endotracheal tube, Rüsch AG, Kernlen, Alemania), que fue conectada a un servoventilador (Servoventilador modelo de empleo abreviado, Siemens-Elema 900, Suecia) ajustado para administrar aire medicinal (Aire medicinal 20-23 % Oxígeno en Nitrógeno, Praxair, Madrid, España) enriquecido con Oxígeno (O<sub>2</sub>) para conseguir una mezcla final al 27% de O<sub>2</sub>, a una dosis de 15 ml/kg/min, con un ritmo ventilatorio de 12 respiraciones por minuto. Una vez en ventilación asistida, se administró también por vía i.v., 0.25 mg/kg de midazolam (Dormicum 15 mg/3 ml, Productos Roche S.A., Madrid, España), 2.5 µg/kg de fentanilo (Fentanest 0.15 mg/3 ml, productos Roche S.A., Madrid, España) y 0.1 mg/kg de bromuro de pancuronio (Pavulon 4 mg/2 ml, Organon Teknika Española, S.A., Sant Boi de Llobregat, Barcelona, España) para mantener la anestesia y curarizar al animal. Estas mismas dosis

hubieron de repetirse cada 20 minutos a lo largo de los experimentos. Seguidamente, se colocaron en la vena yugular derecha y en la arteria femoral izquierda catéteres 16 G x 51 mm, (Abbocath-T, Abbott Ireland, Sligo, Irlanda). El catéter de la vena yugular se utilizó para la administración de solución salina (Suero Fisiológico, Bieffe Medital S.A., Sabiñánigo, España) y también para la administración repetida del anestésico (fentanilo), relajante muscular (midazolán) y bloqueante muscular (bromuro de pancuronio). El catéter localizado en la arteria femoral se utilizó para la obtención de muestras de sangre arterial y para el control de la presión arterial mediante un sistema manométrico acoplado a una columna de monitorización (Hewlett Packard 7754B System, USA). Finalmente, los catéteres colocados en ambas venas cefálicas se usaron para la infusión de las diferentes soluciones iónicas utilizadas en los distintos protocolos experimentales desarrollados en este trabajo.

## **C. SOLUCIONES IONICAS**

### **1.- EDTA**

Se utilizaron 4 soluciones diferentes de EDTA de acuerdo a las necesidades del experimento. Estas se prepararon disolviendo 300, 290, 280 y 260 mg/kg de peso vivo (pv) de EDTA disódico (Etylenediaminetetraacetic acid, disodium salt dihydrate 99 %, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Alemania) en 250 ml de dextrosa y agua al 5% (Suero Glucosado 5%, Bieffe Medital S.A., Sabiñánigo, España).

### **2.- CALCIO**

Se utilizaron 2 soluciones diferentes de calcio conformes a las necesidades de los experimentos, preparadas disolviendo 23.5 y 22 mg/kg pv de CaCl<sub>2</sub> 10% (Cloruro Cálculo, B. Braun Medical S.A., Barcelona, España) en 55 ml de dextrosa y agua al 5% (Suero Glucosado 5%, Bieffe Medital S.A., Sabiñánigo, España).

### **3.- HCl**

Las soluciones de HCl se prepararon, a partir de una solución concentrada 12.1 M de HCl (Acido clorhídrico fumante 37 %, Merk KgaA, Dormstadt, Alemania), diluyendo en 200 ml de agua desionizada vitulia (agua destilada vitulia estéril y apirógena, Laboratorios ERN, S.A., Barcelona, España) un volumen de esta solución que contenía 2.5 mEq por cada kg de peso vivo.

### **4.- MAGNESIO**

Se utilizó una solución de Mg preparada mediante la disolución de 125 mg/kg pv de sulfato magnésico (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Magnesium Sulphate 7-hydrate, Panreac, Montplet & Esteban S.A., Sabiñánigo, España) en 100 ml de dextrosa y agua al 5% (Suero Glucosado 5%, Bieffe Medital S.A., Sabiñánigo, España).

#### 5.- BICARBONATO

La solución de bicarbonato se preparó disolviendo 10 mEq/kg pv de NaHCO<sub>3</sub> (Sodium bicarbonate 99.5 %, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Alemania) en 200 ml de agua desionizada (agua destilada vitulia estéril y apirógena, Laboratorios ERN, S.A., Barcelona, España).

#### 6.- HIPEROSMOLAR

Finalmente, la solución hiperosmolar se obtuvo disolviendo, por cada kg de peso vivo del animal, 9 mEq de ClNa (Sodium chloride 99.5 %, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Alemania) y 1 mEq de NaHCO<sub>3</sub> (Sodium bicarbonate, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Alemania) en 200 ml de agua desionizada.

## **D. PROTOCOLO EXPERIMENTAL**

Durante los experimentos, los animales se mantuvieron anestesiados y en ventilación asistida.

En los 15 minutos previos al inicio de los protocolos se tomaron cuatro muestras de sangre arterial basales, con intervalos de 5 minutos entre cada extracción.

Se han estudiado en total 8 grupos experimentales, agrupados en diferentes fases según el objetivo que se intentaba conseguir.

### **Primera fase: Modificación del estado ácido-base con control del calcio.**

En esta primera fase se realizaron 6 grupos de experimentos. En estos experimentos, el animal, una vez tomadas las muestras basales, permaneció en normocalcemia durante 60 minutos. Seguidamente, se indujo hipocalcemia mediante la infusión de EDTA, haciendo descender en 30 minutos los niveles de calcio iónico desde 1.25 hasta 0.8 mM, para después mantener un clamp hipocalcémico 30 minutos más, siguiendo un protocolo estandarizado.<sup>3</sup>

Se realizaron distintos protocolos para provocar, de una parte, estados agudos de acidosis y alcalosis metabólica, mediante la infusión de soluciones de HCl y bicarbonato sódico, respectivamente, y de otra, procesos de acidosis y alcalosis respiratorias, modificando el volumen minuto de aire medicinal. Al mismo tiempo, para controlar los niveles de calcio iónico a lo largo de los experimentos, se necesitó administrar soluciones de EDTA o de calcio, según el tipo de experimento. Las soluciones de HCl y bicarbonato sódico se infundieron mediante el uso de bombas de flujo programable (Modelo 591, IVAC Corporation, San Diego, USA), mientras que para la perfusión de soluciones de EDTA y Ca se utilizaron bombas de infusión con jeringa (Vial Medical

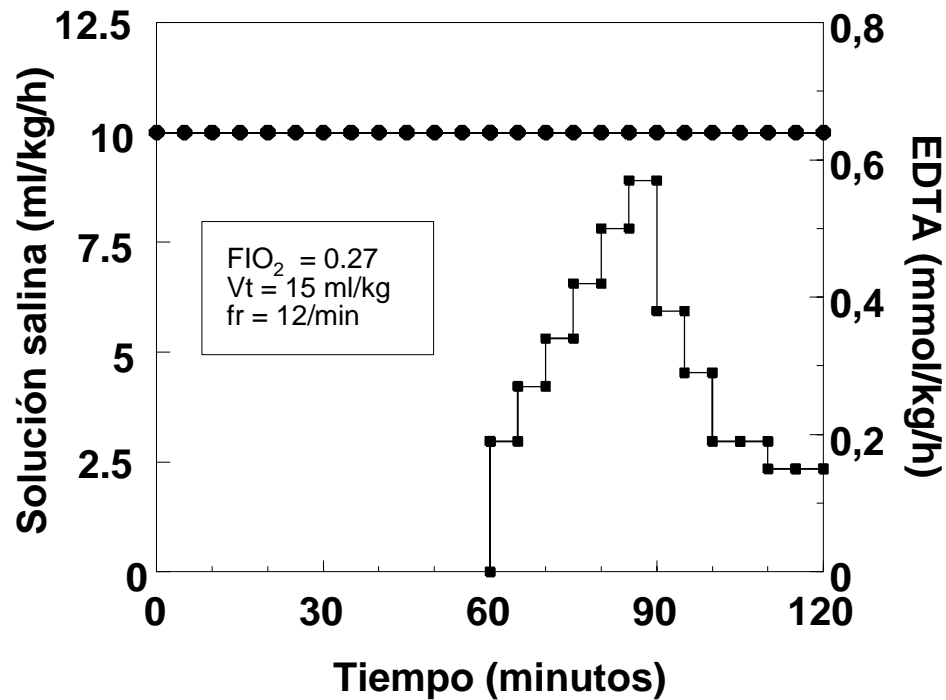


Becton Dickinson Program 2, Prim S.A., Madrid, España).

**- GRUPO I: CONTROL.**

Este grupo, que se utilizó como control, estaba integrado por 10 perros. Estos animales recibieron solución salina isotónica a través de los catéteres situados en ambas venas cefálicas. El ritmo de infusión y los cambios de velocidad a lo largo del experimento se ajustaron para que los animales recibiesen un volumen de solución salina equivalente al volumen de soluciones iónicas administrado en el resto de los grupos experimentales. El volumen de aire medicinal administrado a los perros de este grupo fue de 15 ml/kg/min, con un 27 % de oxígeno y un ritmo respiratorio de 12 respiraciones por minuto, manteniéndose constante el volumen minuto durante todo el experimento.

Para inducir y mantener la hipocalcemia, en la segunda hora de experimento, se perfundió una solución de EDTA (3.83 mmol/l/kg) al ritmo de infusión que aparece reflejado en la Figura 12. En esta figura puede apreciarse que la cantidad de EDTA administrada aumentó progresivamente durante los primeros 30 minutos de la fase hipocalcémica para, seguidamente, descender desde el minuto 90 de experimento hasta el final del mismo.

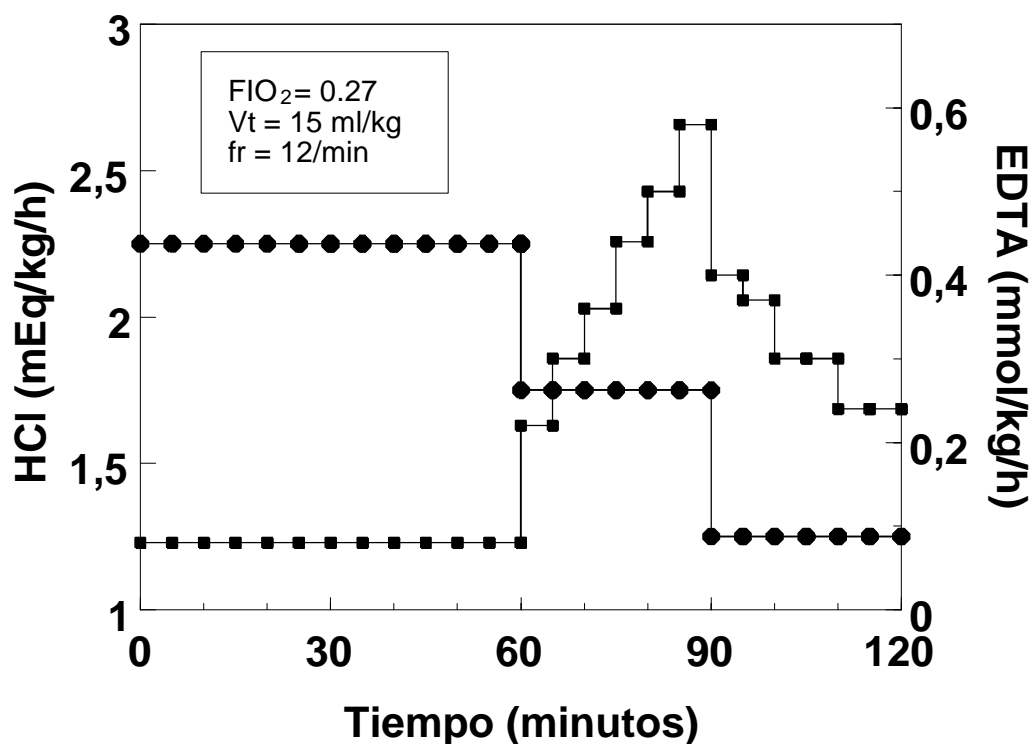


**Figura 12.** Ritmos de infusión de solución salina (●) y EDTA (■), y constantes respiratorias ( $FIO_2$  = fracción de oxígeno inspirada,  $V_t$  = volumen tidal,  $fr$  = frecuencia respiratoria) en el Grupo I: Control.

**- GRUPO II: ACIDOSIS METABOLICA.**

En este grupo se estudiaron 10 perros a los que se les provocó acidosis metabólica infundiendo una solución de HCl. El ritmo ventilatorio de estos perros fue exactamente igual que el utilizado en el grupo Control. Para prevenir el aumento de los niveles de calcio iónico que se produce como consecuencia del descenso del pH, los perros recibieron al mismo tiempo una solución de EDTA (3.97 mmol/l/kg). Así, se mantuvo el pH en valores inferiores a 7.2 al mismo tiempo que se controlaron los niveles de calcio iónico. El ritmo de administración de estas soluciones aparece reflejado en la Figura 13.

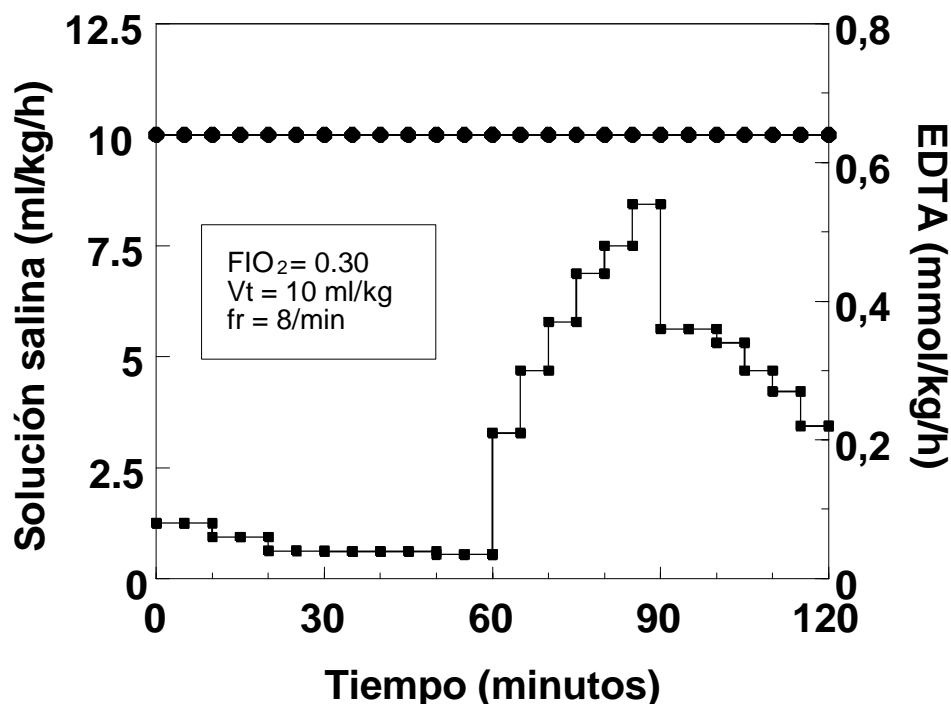
La velocidad de infusión de la solución de HCl se redujo a los 60 minutos de experimento, desde 2.25 a 1.75 mEq/kg/h, y de nuevo en el minuto 90 a 1.25 mEq/kg/h. La cantidad total de HCl administrada durante los experimentos fue 3.75 mEq/kg. La solución de EDTA se administró a un ritmo constante de 0.08 mmol/kg/h, durante la primera hora de clamp normocalcémico, teniendo que incrementarse progresivamente a partir del minuto 60, con el fin de provocar hipocalcemia. En este grupo fue necesario infundir cantidades totales de EDTA superiores a las del grupo control para conseguir el mismo grado de hipocalcemia: 0.432 versus 0.303 mmol/kg en el grupo Control.



**Figura 13.** Ritmos de infusión de HCl (●) y EDTA (■), y constantes respiratorias ( $FIO_2$  = fracción de oxígeno inspirada,  $V_t$  = volumen tidal,  $fr$  = frecuencia respiratoria) en el Grupo II: Acidosis Metabólica.

**GRUPO III: ACIDOSIS RESPIRATORIA.**

A los 10 perros integrados en este grupo se les provocó acidosis reduciendo el volumen minuto, disminuyendo el volumen de aire administrado de 15 a 10 ml/kg pv y reduciendo el ritmo respiratorio de 12 a 8 respiraciones por minuto. Para evitar la hipoxemia, consecuente a esta hipoventilación, se aumentaron en este grupo los niveles de O<sub>2</sub> en el aire inspirado de 27 a 30 %. En estos animales, en los que se pretendía conseguir el mismo grado de descenso del pH que en el grupo anterior, también fue necesaria la administración de una solución de EDTA (3.56 mmol/l/kg) para mantener el calcio iónico al mismo nivel que los valores basales. Como se ve reflejado en la Figura 14, el ritmo de infusión de EDTA en este grupo durante la primera hora fue decreciente (descendió desde 0.08 mmol/kg/h, al inicio, hasta 0.036 mmol/kg/h a los 60 min) y no constante como en el grupo de Acidosis Metabólica. Además, la cantidad total de EDTA administrada al final del experimento en el grupo de Acidosis Respiratoria (0.399 mmol/kg) fue sensiblemente inferior a la recibida por el grupo de Acidosis Metabólica (0.432 mmol/kg).



**Figura 14.** Ritmos de infusión de solución salina (●) y EDTA (■), y constantes respiratorias ( $FIO_2$  = fracción de oxígeno inspirado,  $V_t$  = volumen tidal,  $fr$  = frecuencia respiratoria) en el Grupo III: Acidosis Respiratoria.

### GRUPO CONTROL CON CLAMP DE MAGNESIO

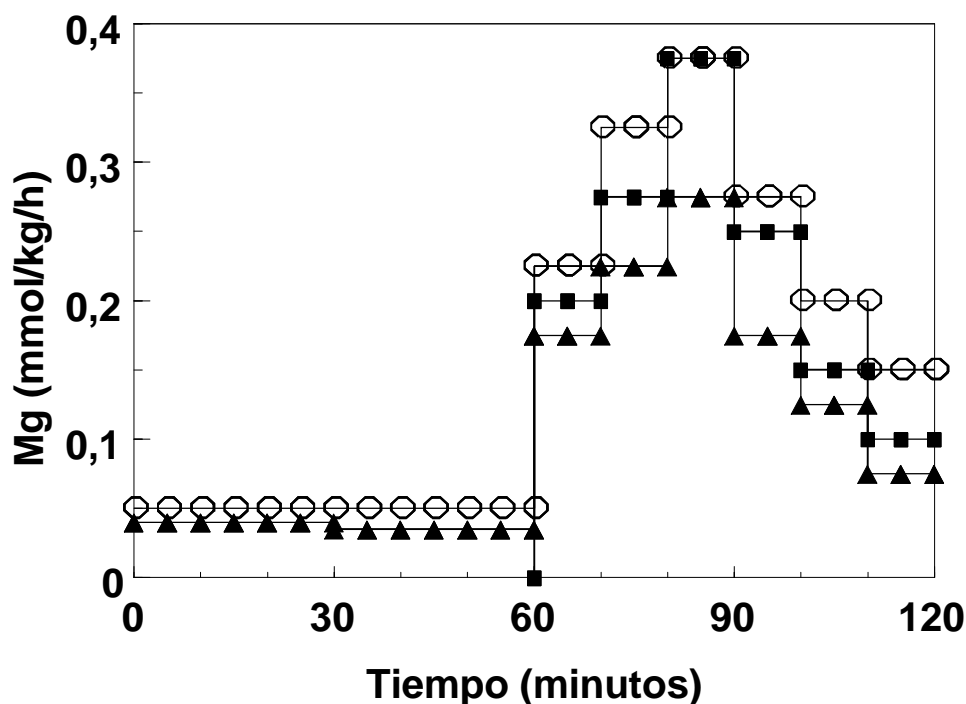
A los 7 perros que se incluyen en este grupo se les instauró un protocolo experimental con los mismos ritmos de infusión de solución salina y EDTA, y el mismo ritmo respiratorio que los utilizados en el grupo Control. Además, a este nuevo grupo, durante la fase de hipocalcemia, se le infundió una solución de  $MgSO_4$  para prevenir la caída de Mg que se observó al administrar EDTA. El ritmo de administración de la solución de Mg fue creciendo progresivamente desde el minuto 60 al 90, para después descender hasta el final del experimento (Figura 15). La cantidad total de Mg infundida a cada perro de este grupo, durante la hipocalcemia, fue de 0.225 mmol/kg de peso vivo.

### **GRUPO IIB: ACIDOSIS METABÓLICA CON CLAMP DE MAGNESIO**

Este grupo lo integran 7 perros a los cuales se les sometió a un protocolo exactamente igual al grupo de Acidosis Metabólica anteriormente descrito, sólo que en este caso se les infundió, además, una solución de sulfato magnésico, para evitar el descenso de Mg observado en el Grupo II. Como se aprecia en la Figura 15, el ritmo de infusión de esta solución fue constante durante la primera hora, 0.05 mmol/kg/h. Durante la segunda hora de experimento, el ritmo de infusión de Mg ascendió sensiblemente desde 0.225 hasta 0.375 mol/kg/h, para después, a partir del minuto 90, reducirse progresivamente hasta el final del experimento.

### **GRUPO IIIB: ACIDOSIS RESPIRATORIA CON CLAMP DE MAGNESIO**

En este grupo se utilizaron 7 animales en los que se realizó un protocolo de acidosis respiratoria idéntico al protocolo de acidosis respiratoria descrito anteriormente y, del mismo modo que en el grupo anterior, para prevenir los cambios de Mg observados como consecuencia de la acidosis, se infundió una solución de sulfato magnésico. En la Figura 15 se aprecia que el ritmo de infusión de Mg utilizado en este grupo fue siempre inferior al del grupo de Acidosis Metabólica. Del mismo modo, la cantidad total de Mg administrada fue de 0.183 mmol/kg, sensiblemente inferior a la suministrada al grupo de Acidosis Metabólica que requirió 0.308 mmol/kg.

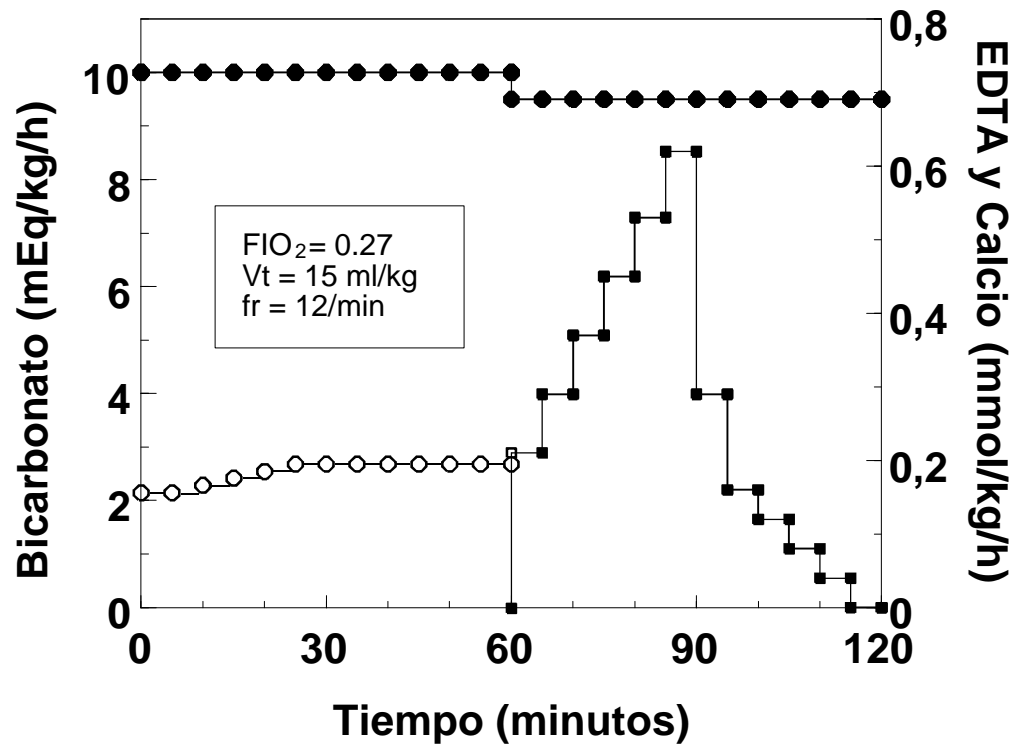


*Figura 15. Ritmos de infusión de Mg en el grupo Control (■), Grupo IIB: Acidosis Metabólica (○) y Grupo IIIB: Acidosis Respiratoria (▲).*

#### **GRUPO IV: ALCALOSIS METABOLICA.**

A los 10 perros que forman este grupo, se les infundió una solución de bicarbonato sódico por una de las venas cefálicas para aumentar el pH por encima de 7.6. Las constantes respiratorias establecidas en este grupo fueron las mismas que se utilizaron en el grupo Control. La solución de bicarbonato se preparó para conseguir que en el volumen infundido en una hora (200 ml) se administraran 10 mEq por kg de peso vivo del animal. Como se refleja en la Figura 16, el ritmo de infusión se redujo ligeramente en la segunda hora del experimento para evitar una elevación excesiva del pH. Al mismo tiempo que se administró la solución de bicarbonato, fue necesario perfundir, por la otra vena cefálica, una solución de calcio (1.95 mmol/l/kg) para evitar el descenso de calcio

iónico que se produce con la alcalosis. El ritmo inicial de administración de esta solución fue de 156 nmol/kg/h, incrementándose progresivamente hasta 195 nmol/kg/h, en el minuto 25, momento a partir del cual se mantuvo constante hasta los 60 min. En este grupo, al igual que los anteriores, se perfundió una solución de EDTA (4.1 mmol/l/kg) durante la segunda hora de experimento para producir hipocalcemia, utilizando un ritmo de infusión muy similar al del grupo Control (Figura 16).

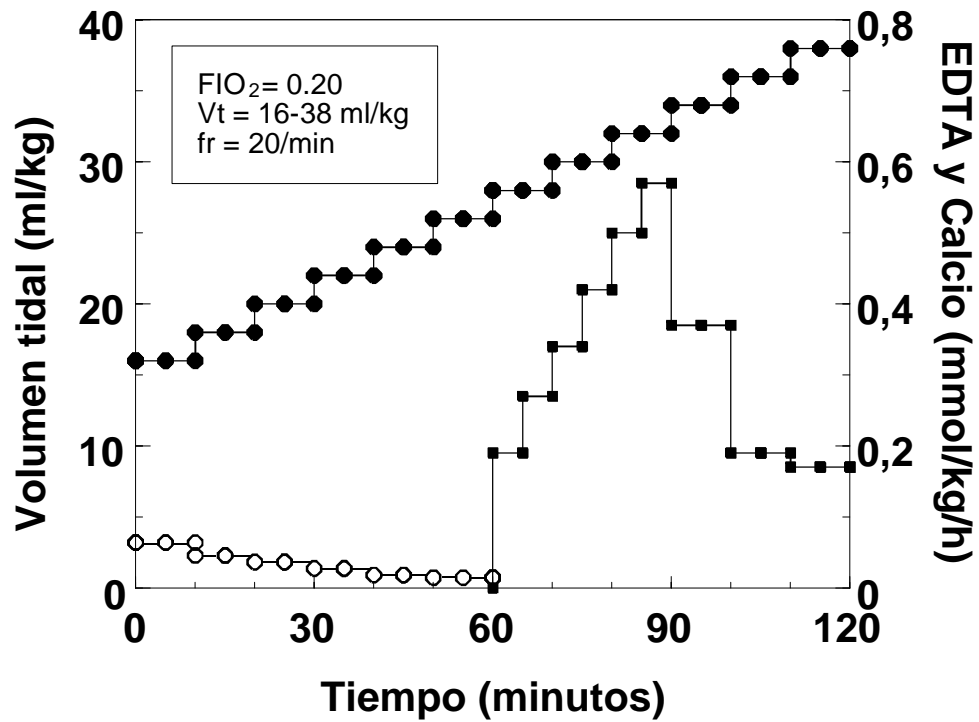


**Figura 16.** Ritmos de infusión de bicarbonato (●) EDTA (■) y calcio (○) y constantes respiratorias ( $FIO_2$  = fracción de oxígeno inspirado,  $V_t$  = volumen tidal,  $fr$  = frecuencia respiratoria) en el Grupo IV: Alcalosis Metabólica.



**GRUPO V: ALCALOSIS RESPIRATORIA.**

En este grupo, integrado por 10 animales, se incrementó progresivamente el volumen minuto de aire medicinal para provocar una alcalosis respiratoria (Figura 17). El volumen de aire que recibieron estos perros se aumentó progresivamente desde 16 ml/kg, al iniciarse el experimento, hasta 38 ml/kg en el minuto 120, con un ritmo respiratorio constante de 20 respiraciones por minuto durante las dos horas de experimento. Al mismo tiempo, se redujo la fracción de O<sub>2</sub> inspirada (FIO<sub>2</sub>) de un 27 a un 20 %. De esta manera, se pretendía conseguir una elevación de pH igual a la obtenida en el grupo de Alcalosis Metabólica. En este grupo de Alcalosis Respiratoria, del mismo modo que en el anterior, fue necesaria la infusión de una solución de calcio (1.83 mmol/l/kg), para prevenir el descenso de calcio iónico debido a la alcalosis. En este caso, como se observa en la Figura 17, el ritmo de infusión de calcio fue descendiendo progresivamente, desde 64 hasta 15 nmol/kg/h, de modo que se necesitó infundir una cantidad total de 34.4 nmol/kg, francamente inferior a los 183.7 nmol/kg administrados en el grupo de Alcalosis Metabólica. Como en los demás grupos, durante la segunda hora de experimento se infundió una solución de EDTA (3.83 mmol/l/kg), para producir un descenso del calcio iónico de la misma magnitud que en los anteriores (Figura 17). El ritmo de perfusión de esta solución de EDTA fue idéntico al del grupo Control.

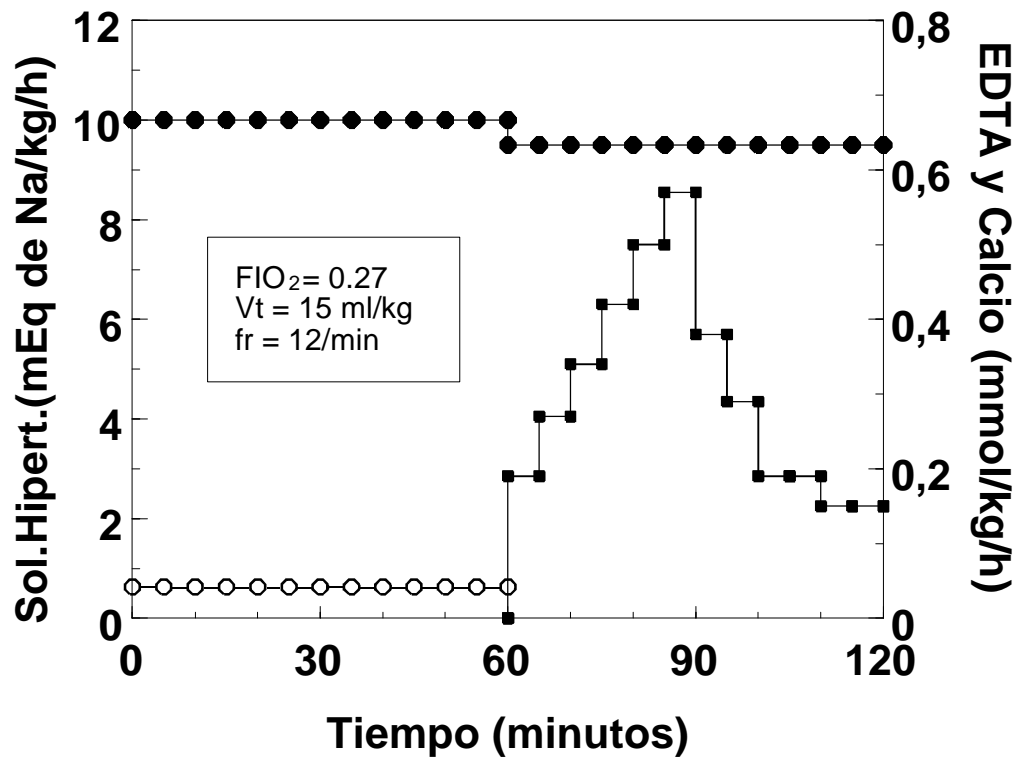


**Figura 17.** Ritmos de infusión de calcio (○) y EDTA (■), volumen tidal (●) y constantes respiratorias ( $FIO_2$  = fracción de oxígeno inspirada,  $V_t$  = volumen tidal,  $fr$  = frecuencia respiratoria) en el Grupo VI: Alcalosis Respiratoria.

### GRUPO VI: CONTROL HIPEROSMOLAR.

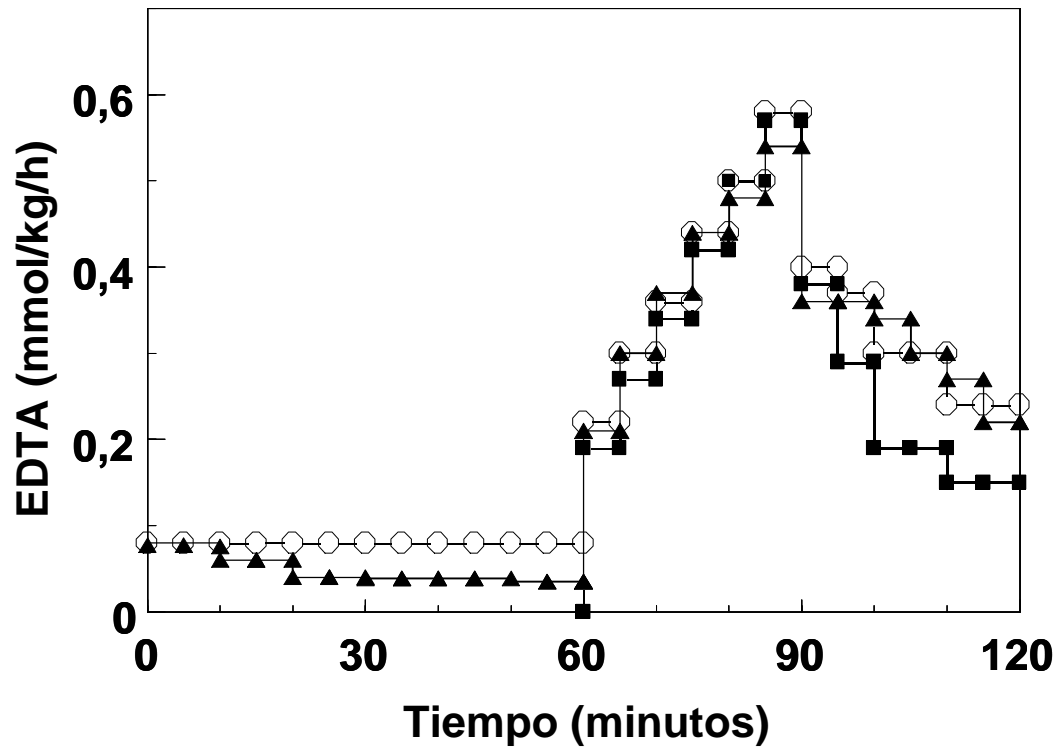
Con la finalidad de provocar un aumento en los niveles de  $Na^+$  plasmático de similar magnitud al alcanzado en el grupo de Alcalosis Metabólica, a los 6 perros que constituían este grupo se les administró una solución hiperosmolar de ClNa. Además, para evitar el pequeño descenso de pH que producía en los animales la infusión de esta solución, se le adicionó también una pequeña cantidad de bicarbonato. Como se describe en la Figura 18, la infusión de la solución hiperosmolar se efectuó al mismo ritmo de

administración que la solución de bicarbonato en el grupo de alcalosis metabólica. Debido al ligero descenso de  $\text{Ca}^{2+}$  que se producía, fue necesaria, durante la primera hora, la infusión de una solución de calcio, a un ritmo constante de 42 nmol/kg/h. La solución de EDTA que se perfundió en este grupo durante la segunda hora de experimento para provocar hipocalcemia fue la misma que la utilizada en el grupo Control (3.83 mmol/l/kg) (Figura 18).

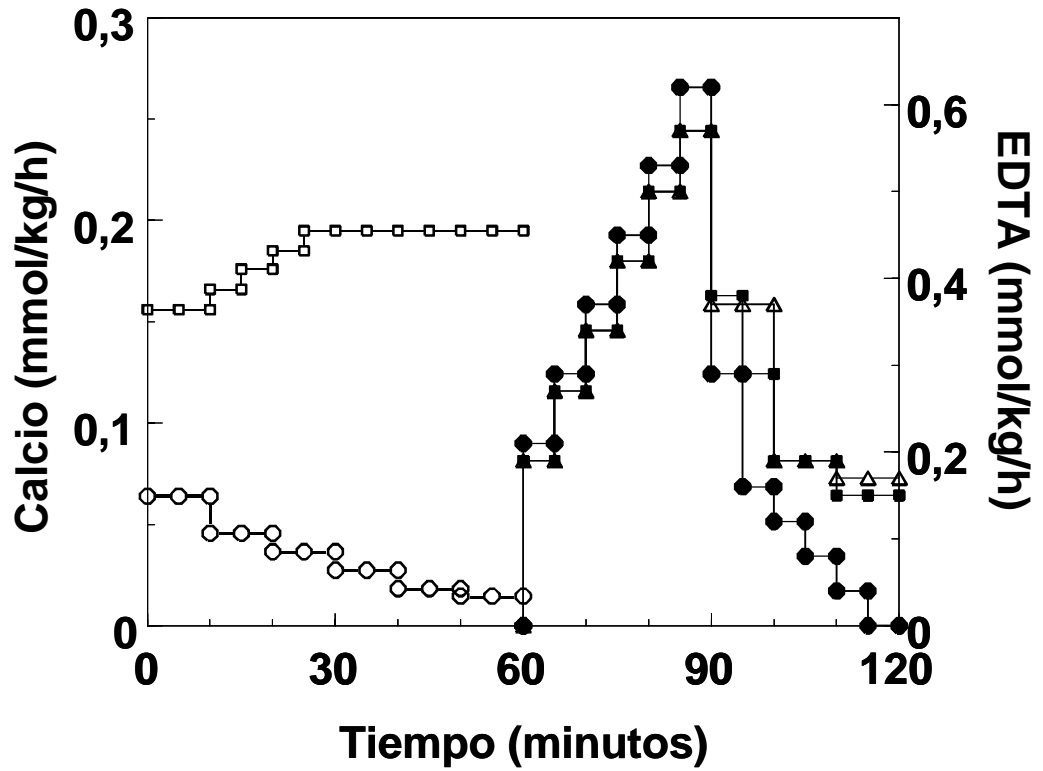


**Figura 18.** Ritmos de infusión de solución hipertónica (●), EDTA (■), y calcio (○) y constantes respiratorias ( $FIO_2$  = fracción de oxígeno inspirada,  $V_t$  = volumen tidal,  $fr$  = frecuencia respiratoria) en el Grupo VI: Control Hiperosmolar.

Para apreciar mejor la cantidad EDTA y calcio que fue necesaria infundir en los distintos grupos estudiados para controlar los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$ , en la Figura 19 se recogen los ritmos de infusión de EDTA en el grupo Control y en los grupos de Acidosis, mientras que en la Figura 20 se representan los ritmos de infusión de calcio y EDTA en el grupo Control y en los grupos de Alcalosis.



**Figura 19.** Ritmos de infusión de EDTA en el Grupo I: Control (■), Grupos II y IIB: Acidosis Metabólica (○) y Grupos III y IIIB: Acidosis Respiratoria (▲).



*Figura 20. Ritmos de infusión de EDTA en el Grupo I: Control (■), Grupo IV: Alcalosis Metabólica (●) y Grupo V: Alcalosis Respiratoria (▲); e infusión de calcio en el Grupo IV: Alcalosis Metabólica (□) y Grupo V: Alcalosis Respiratoria (○)*

**Segunda fase: Modificación del estado ácido-base sin control del calcio.**

En esta segunda fase se estudió un grupo de 7 perros a los que, una vez tomadas las muestras de sangre basales, se les provocó acidosis metabólica siguiendo el mismo protocolo que en el Grupo II. En este caso los perros completaron únicamente la primera hora de experimento y, además, no se tomaron medidas para evitar la elevación del calcio iónico debida a la acidosis (en este caso no se les perfundió EDTA).

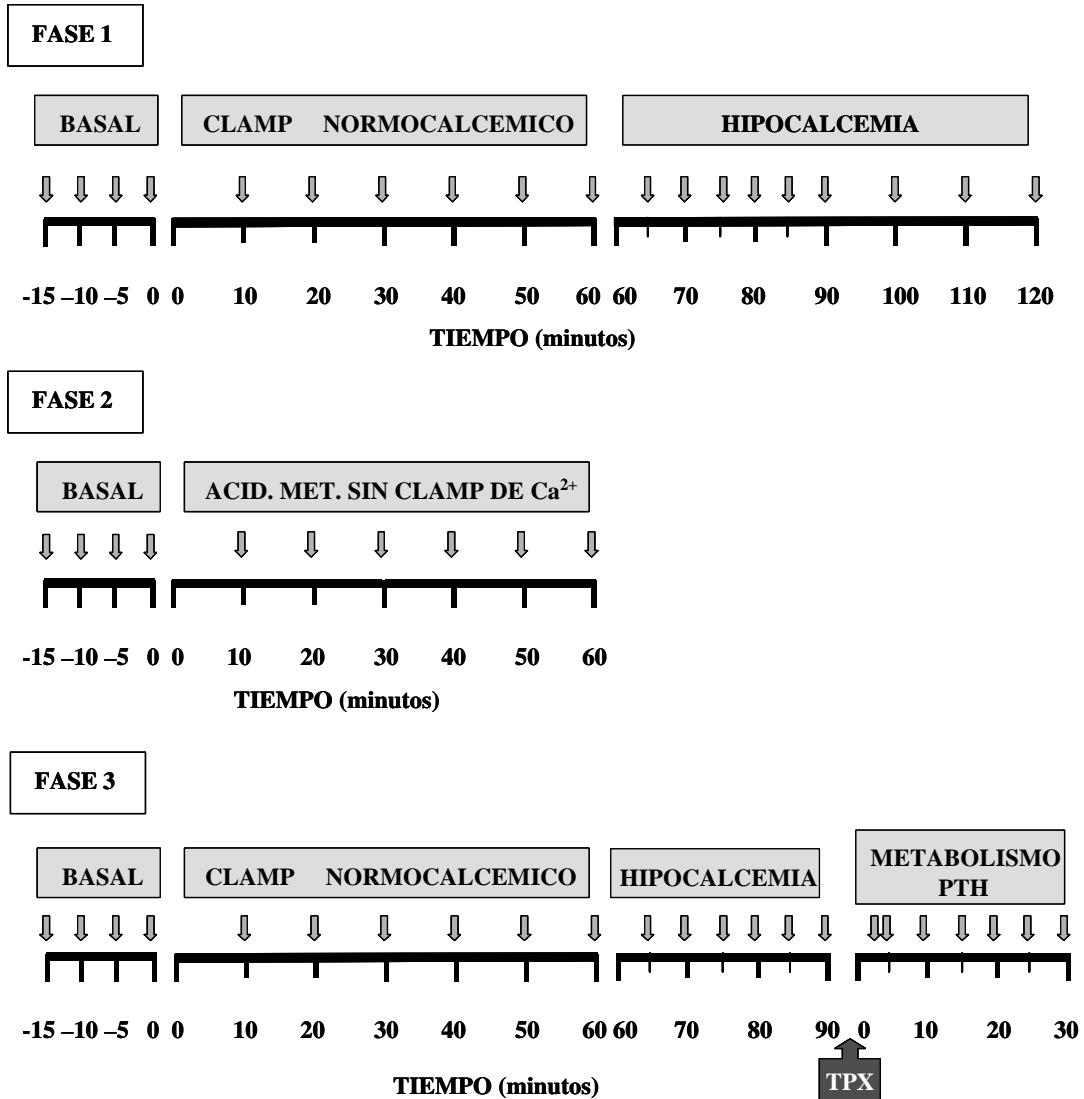
**Tercera fase: Estudio de la influencia del estado ácido-base en el metabolismo de la PTH.**

Para este estudio se utilizaron 5 grupos de 5 perros cada uno, en los que se llevaron a cabo protocolos experimentales idénticos a los realizados en la primera fase, distinguiendo, de igual modo los siguientes grupos: Control, Acidosis Metabólica, Acidosis Respiratoria, Alcalosis Metabólica y Alcalosis Respiratoria. En estos nuevos 5 grupos, llegados al minuto 90 de experimento, punto donde se iniciaba el clamp hipocalcémico, se procedió a realizar una tiroparatiroidectomía. Para ello, previamente al inicio del experimento y con el animal anestesiado, se incidió la línea media ventral del cuello, separando luego la capa muscular (esternohiideo), para acceder a la cara ventral de los primeros anillos traqueales donde se alojan las glándulas tiroides y paratiroides, bajo los músculos tiroideos. Tras retirar estos músculos, se disecaron ambos lóbulos de la glándula tiroides, al mismo tiempo que se localizaban en su superficie las glándulas paratiroides externas e internas. Una vez disecados los pedículos vasculares craneal y caudal de las glándulas tiroides y paratiroides se colocaron sendas ligaduras de seda trenzada sin proceder aún a su cierre. De este modo quedaron perfectamente localizadas las glándulas tiroides y paratiroides, para después, en el momento determinado, proceder a su extracción de la forma más rápida posible tras ligar ambos pedículos vasculares. Una vez realizada la tiroparatiroidectomía, proceso en el que se empleaba un tiempo invariable de 5 minutos, los animales se mantuvieron 30 minutos más en hipocalcemia, durante los cuales se obtuvieron muestras de sangre arterial cada 5 minutos.

## **E. RECOGIDA Y CONSERVACION DE MUESTRAS**

La toma de muestras sanguíneas se realizó en condiciones de anaerobiosis, a través del catéter situado en la arteria femoral, utilizando jeringuillas de 3 y 5 ml (B. Braun, Melsungen, Alemania) heparinizadas con heparina de litio (Lithium Heparin, Industrias Aulabor S.A. España). En el transcurso de los experimentos, además de las cuatro muestras basales, se obtuvieron muestras de sangre arterial cada 10 minutos durante la primera hora de experimento, cada 5 minutos entre el minuto 60 y 90 de experimento y, finalmente, cada 10 minutos hasta el final del experimento (Figura 21). Cada vez que se obtenían las muestras se tomaba por separado un volumen de 2.5 ml en una jeringuilla y de 5 ml en otra. Inmediatamente después de la extracción, la jeringuilla con 2.5 ml de sangre se introdujo en un recipiente con hielo picado, y así se conservó hasta el final del experimento, momento el que se procedió a medir en esta muestra los siguientes parámetros: pH, PCO<sub>2</sub>, PO<sub>2</sub>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> y Cl<sup>-</sup>. Las muestras que contenían 5 ml de sangre se centrifugaron a 3500 r.p.m. durante 5 minutos, en una citocentrífuga termostatzada a 4° C. Seguidamente, se separó el plasma, obteniendo tres alícuotas que se conservaron a una temperatura de -20° C, hasta el momento de realizar la cuantificación del resto de los parámetros.





**Figura 21.** Esquema de la recogida de muestras de sangre en los experimentos de cada una de las fases de estudio. Las flechas señalan cada una de las extracciones de sangre. TPX = tiroparatiroidectomia.

## **F. DETERMINACIONES BIOQUIMICAS**

En cada una de la muestras obtenidas en la totalidad de los grupos de animales utilizados en este trabajo se midieron los siguientes parámetros: pH, presión parcial de CO<sub>2</sub> (PCO<sub>2</sub>), presión parcial de O<sub>2</sub> (PO<sub>2</sub>), Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup> y hormona paratiroidea (PTH); y, a partir de ellos, se calcularon estos otros: bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), *anion gap* (AG), diferencia de iones fuertes (SID) y concentración total de ácidos débiles no volátiles (A<sub>T</sub>). Por otro lado, en los grupos de la primera fase de este estudio: Control, Acidosis Metabólica, Acidosis Respiratoria, Alcalosis Metabólica y Alcalosis Respiratoria, se determinaron además: fósforo inorgánico (P), magnesio total (Mg) y albúmina plasmática (Alb).

### **F.1. PARAMETROS MEDIDOS.**

#### **F.1.1. pH, PCO<sub>2</sub>, PO<sub>2</sub>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> y Cl<sup>-</sup>.**

La determinación de estos parámetros se realizó inmediatamente después del final de cada experimento, transcurriendo como máximo 3 horas desde la toma de las muestras. El contenido de las jeringuillas, tras extraerlas del hielo, se homogeneizó mediante agitación suave de las mismas. Seguidamente, se procedió a medir estos parámetros en un gasómetro-analizador de electrolitos (Ciba-Corning Mod. 850 Chiron Diagnostics, Madrid, España). Este instrumento incorpora una serie de electrodos en batería que permite la medición, en una cámara termostatzada a 37° C, de todos estos parámetros.

#### **F.1.2. Fósforo inorgánico (P)**

La cuantificación de los niveles de fósforo inorgánico se llevó a cabo mediante un método colorimétrico (Phosphorus inorganic, Procedure N° 360-UV, Sigma Diagnostics, St. Louis, MO, Estados Unidos), basado en la siguiente reacción:

Fósforo inorgánico + Acido Sulfúrico + Molibdenato de Amonio  $\rightleftharpoons$  Complejo no reducido de Fosfomolibdenato de Amonio.

La reacción del fósforo inorgánico con el molibdenato de amonio, en presencia de ácido sulfúrico, produce un complejo de molibdenato de fósforo no reducido. La absorbancia de este complejo, determinada con un espectrofotómetro (Beckman DU-64 Spectrophotometer) a longitud de onda  $\lambda = 340$  nm, es directamente proporcional a la concentración de fósforo inorgánico presente en la muestra.

### **F.1.3. Magnesio total (Mg)**

La cuantificación de los niveles de magnesio total se llevó a cabo mediante un método colorimétrico (Magnesium, Procedure N°. 595, Sigma Diagnostics, St. Louis, MO, Estados Unidos). La técnica utilizada en este trabajo se basa en la siguiente reacción:

Calmagita + Magnesio  $\rightleftharpoons$  Complejo Calmagita-Magnesio

La formación del compuesto Calmagita-Magnesio da lugar a la aparición de un complejo de color rosáceo. La absorbancia de este complejo, determinada con un espectrofotómetro (Beckman DU-64 Spectrophotometer) a longitud de onda  $\lambda = 520$  nm, es directamente proporcional a la concentración de magnesio presente en la muestra.

### **F.1.4. Albúmina plasmática (Alb)**

La cuantificación de los niveles de albúmina plasmática se llevó a cabo mediante un método colorimétrico (Albumin BCG, Procedure N° 631, Sigma Diagnostics, St. Louis, MO, Estados Unidos), basado en la unión cuantitativa del bromocresol verde con la albúmina, formando un complejo de color verde azulado intenso, que presenta una absorbancia máxima a 628 nm de longitud de onda. De esta manera, utilizando un

espectrofotómetro (Beckman DU-64 Spectrophotometer) con una fuente de luz visible a esta longitud de onda, obtenemos los niveles de absorbancia, que son directamente proporcionales a la concentración de albúmina presente en la muestra.

#### **F.1.5. Hormona paratiroidea (PTH)**

La concentración de PTH presente en las muestras se determinó utilizando un ensayo inmunoradiométrico (IRMA) para cuantificación de PTH intacta humana (Allegro Intact-PTH, Nichols Institute Diagnostics, San Juan Capistrano, CA, Estados Unidos), que ha sido previamente validado para la medición de PTH canina.<sup>493,494</sup>

Esta técnica se basa en la utilización de dos anticuerpos dirigidos frente a distintas porciones de la molécula de PTH. Por este procedimiento, la muestra que contiene PTH se incuba simultáneamente con un anticuerpo preadsorbido en bolas de poliestireno, el cual reacciona con las regiones media y carboxi-terminal (39-84) de la molécula de PTH, y con otro anticuerpo marcado con  $I^{125}$ , que se adhiere a la región amino-terminal (1-34) de la molécula de PTH. Las moléculas de PTH intacta contenidas en la muestra se unen inmunológicamente a los dos anticuerpos para formar un “complejo sandwich”:

Bola anti-PTH (39-84) ---- molécula de PTH intacta (1-84) ----  $I^{125}$  anti-PTH (1-34)

La concentración de PTH presente en las muestras analizadas se cuantificó mediante una curva estándar. Esta se realizó representando en una escala logarítmica el valor medio de cuentas por minuto (cpm) de cada estándar frente a la concentración de PTH respectiva. La concentración de PTH de las muestras se calculó directamente, interpolando en la curva estándar el número de cpm obtenido al ensayar cada muestra.

## **F.2. PARAMETROS CALCULADOS.**

A partir de estos parámetros medidos se obtuvieron una serie de parámetros calculados que nos ayudarán para el análisis del estado ácido-base.

### **F.2.1. Bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ).**

La concentración de bicarbonato real en sangre se ha calculado a partir de la ecuación de Hendersonn–Hasselbach, siguiendo las recomendaciones del National Comitee for Clinical Laboratory Standars (NCCLS), según la siguiente fórmula:

$$\log \text{HCO}_3^- = \text{pH} + \log \text{PCO}_2 \times 0.0307 - 6.105$$

### **F.2.2. *Anion gap* (AG).**

El *anion gap* se ha calculado a partir de la diferencia entre los cationes y aniones más abundantes en la sangre, utilizando esta fórmula:

$$\text{AG} = (\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-)$$

### **F.2.3. Diferencia de iones fuertes (SID).**

Este parámetro, referido al análisis cuantitativo del estado ácido base, se ha calculado según el método descrito por Fencl y Leith:<sup>175</sup>

$$\text{SID} = (\text{Na}^+ + \text{K}^+) - \text{Cl}^-$$

**F.2.4. Concentración total de ácidos débiles no volátiles (At).**

La cantidad teórica de ácidos débiles no volátiles totales se ha calculado utilizando la siguiente expresión matemática:<sup>480</sup>

$$At = Alb (1.23 \text{ pH} - 6.31) + \frac{P (0.309 \text{ pH} - 0.469) 10}{30.97}$$

Donde Alb y P son la concentración plasmática de albúmina y fósforo respectivamente.

## **G. ANALISIS ESTADISTICO**

El estudio estadístico de los datos obtenidos en este trabajo se realizó con el programa informático SPSS versión 8.0. (Microsoft Corporation, Estados Unidos)

Para la comparación de tres o más muestras dentro de un mismo grupo se usó el análisis de varianza (ANOVA). Si el test ANOVA mostraba diferencias estadísticamente significativas, posteriormente se aplicaba un test post-hoc, la prueba Fisher LSD, para determinar diferencias entre grupos. Se consideraron significativos aquellos valores de  $p < 0.05$ .

Para la comparación entre muestras pertenecientes a los diferentes grupos de estudio, en el mismo intervalo de tiempo, se utilizó una prueba  $t$  de Student. El nivel de significación estadística se fijó en  $p < 0.05$ .

Para los estudios de correlación se ha utilizado el procedimiento de correlación de Pearson. La contribución de las variables independientes de análisis cuantitativo del estado ácido-base a la varianza de la variable PTH fue estimada mediante un análisis de regresión múltiple usando el procedimiento de “stepwise”.

Todos los resultados se presentan como media  $\pm$  error estándar ( $\bar{x} \pm ES$ ).

## **H. DISEÑO Y PRESENTACION GRAFICA**

Para la redacción de este trabajo se ha utilizado la versión 7.0 del programa Microsoft Word (Microsoft Corporation, Estados Unidos).

Las ilustraciones y representaciones gráficas se han realizado con el programa Power Point versión 2000 (Microsoft Corporation, Estados Unidos ).

El texto y las representaciones gráficas se han imprimido con una impresora Laserjet 4L (Hewlett Packard, Boise, ID, Estados Unidos).

Todos los programas informáticos utilizados para la elaboración de este trabajo se ejecutaron con un ordenador compatible Pentium I.



**RESULTADOS**

Seguidamente, se presentan los resultados, ordenados por grupos, obtenidos en cada una de las fases que incluye el protocolo experimental.

## **A. PRIMERA FASE: MODIFICACION DEL ESTADO ACIDO-BASE CON CONTROL DE LA CALCEMIA**

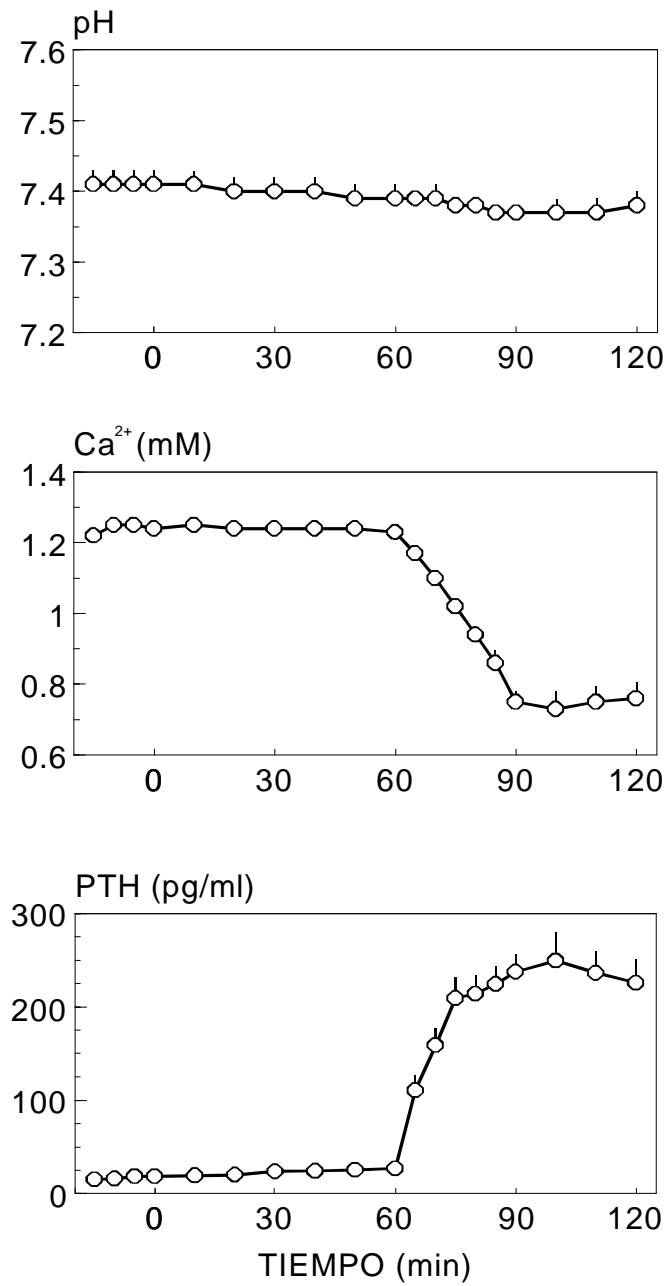
### **Grupo I: Control**

Los resultados de las experiencias realizadas con el Grupo I aparecen recogidos en la Figura 22 y en la Tabla 2.

En estos animales, a los que solamente se les infundió solución salina isotónica, no se produjeron modificaciones significativas del pH, obteniéndose a lo largo de todo el experimento valores similares a los basales ( $7.41 \pm 0.01$ ).

Durante los primeros 60 minutos de la experiencia, los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  permanecieron invariables, con fluctuaciones inferiores a 0.02 mmol/l, sin que se detectaran diferencias estadísticamente significativas con respecto a los basales ( $1.24 \pm 0.01$  mmol/l). A partir del minuto 60, con la infusión de EDTA, se produjo un descenso progresivo y lineal de  $\text{Ca}^{2+}$  durante media hora, hasta alcanzar valores de  $0.75 \pm 0.03$  mmol/l en el minuto 90. Durante los últimos 30 minutos, la calcemia se mantuvo estabilizada en concentraciones similares a las obtenidas en el minuto 90.

La concentración plasmática de PTH se mantuvo estable durante la primera hora del estudio en valores similares a los basales ( $18.5 \pm 4.5$  pg/ml). La estimulación producida por la hipocalcemia dio lugar a un incremento en los niveles de PTH, obteniéndose un valor máximo de  $249.6 \pm 30.0$  pg/ml. La concentración de PTH permaneció estabilizada entre los minutos 90 y 120.



**Figura 22.** Valores de pH, Calcio iónico ( $\text{Ca}^{2+}$ ) y Hormona Paratiroidea (PTH) en los perros del Grupo I: Control (  $\bigcirc$  ).

#### *IV Resultados*

---

Las concentraciones de los principales electrólitos del plasma: bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) sodio ( $\text{Na}^+$ ), potasio ( $\text{K}^+$ ) y cloro ( $\text{Cl}^-$ ), aparecen reflejados en la Tabla 2. Como puede observarse, sus valores no sufrieron variaciones importantes a lo largo de la experiencia.

Los niveles de bicarbonato oscilaron alrededor de 21 mEq/l durante toda la experiencia, sin que en ningún momento se detectaran diferencias significativas con respecto al basal ( $21.6 \pm 0.7$  mEq/l).

La natremia y la cloremia, cuyos niveles basales fueron de  $142.2 \pm 1.4$  y  $109.0 \pm 1.2$  mEq/l, respectivamente, se mantuvieron prácticamente invariables en las dos horas de experimento, con fluctuaciones inferiores a 1 mEq/l.

Por lo que refiere al  $\text{K}^+$ , su concentración basal ( $4.1 \pm 0.1$  mEq/l) experimentó un pequeño aunque progresivo descenso a lo largo de la experiencia. La disminución de la potasemia comenzó a ser estadísticamente significativa a partir del minuto 60 y el nivel más bajo de  $\text{K}^+$  se registró a partir del minuto 90 ( $3.5 \pm 0.1$  mEq/l).

Finalmente, no se detectaron cambios destacables en el *anion gap*, cuyos valores se mantuvieron durante todo el experimento alrededor de 15 mEq/l.

TIEMPO (minutos)	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mEq/l)	Na <sup>+</sup> (mEq/l)	K <sup>+</sup> (mEq/l)	Cl <sup>-</sup> (mEq/l)	AG (mEq/l)
<b>-15</b>	21.3 ± 1.1	141.9 ± 2.0	4.2 ± 0.1	109.4 ± 1.5	14.5 ± 1.0
<b>-10</b>	21.2 ± 0.8	141.8 ± 1.4	4.1 ± 0.1	108.4 ± 1.3	16.0 ± 0.8
<b>-5</b>	21.6 ± 0.7	142.1 ± 1.3	4.1 ± 0.1	108.7 ± 1.1	15.4 ± 0.8
<b>0</b>	21.6 ± 0.7	142.2 ± 1.4	4.1 ± 0.1	109.0 ± 1.2	15.3 ± 0.8
<b>10</b>	21.6 ± 0.8	142.6 ± 1.1	4.1 ± 0.1	109.0 ± 1.1	15.5 ± 0.8
<b>20</b>	21.6 ± 0.7	142.7 ± 1.2	4.0 ± 0.1	109.0 ± 1.1	15.4 ± 0.6
<b>30</b>	21.4 ± 0.7	142.6 ± 1.3	4.0 ± 0.1	109.1 ± 1.0	15.8 ± 0.9
<b>40</b>	21.4 ± 0.7	142.7 ± 1.4	4.0 ± 0.1	109.4 ± 1.1	15.4 ± 0.9
<b>50</b>	21.2 ± 0.7	142.6 ± 1.2	3.9 ± 0.1	109.5 ± 1.0	15.5 ± 0.8
<b>60</b>	21.0 ± 0.7	142.6 ± 1.3	3.9 ± 0.1*	109.5 ± 1.0	15.6 ± 0.8
<b>65</b>	20.3 ± 0.6	141.7 ± 0.9	3.9 ± 0.1*	108.8 ± 1.1	16.1 ± 0.9
<b>70</b>	20.7 ± 0.7	143.0 ± 1.2	3.8 ± 0.1*	109.5 ± 1.1	16.2 ± 0.7
<b>75</b>	19.9 ± 0.6	141.7 ± 0.9	3.7 ± 0.1*	109.1 ± 1.1	15.8 ± 0.8
<b>80</b>	20.2 ± 0.7	142.9 ± 1.3	3.6 ± 0.1*	109.2 ± 1.0	16.7 ± 0.9
<b>85</b>	19.4 ± 0.6	141.9 ± 1.0	3.6 ± 0.1*	108.9 ± 1.3	16.6 ± 1.0
<b>90</b>	19.7 ± 0.7	143.1 ± 1.3	3.5 ± 0.1*	108.9 ± 1.0	17.4 ± 1.0
<b>100</b>	20.5 ± 1.1	143.0 ± 1.8	3.5 ± 0.1*	108.7 ± 1.3	16.4 ± 1.0
<b>110</b>	20.4 ± 1.0	142.9 ± 1.9	3.5 ± 0.1*	109.3 ± 1.4	15.8 ± 1.1
<b>120</b>	20.3 ± 1.0	142.4 ± 1.7	3.5 ± 0.1*	108.9 ± 1.3	15.7 ± 1.2

**Tabla 2.** Valores (media ± ES) de bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), sodio (Na<sup>+</sup>), potasio (K<sup>+</sup>), cloro (Cl<sup>-</sup>) y anion gap (AG) del Grupo I: Control. \*  $p < 0,05$  respecto del valor basal medio (ANOVA)

#### *IV Resultados*

---

La Tabla 3 recoge los valores de las tres variables independientes que se usan en el análisis físico-químico del estado ácido-base: presión parcial de CO<sub>2</sub> (PCO<sub>2</sub>), diferencia de iones fuertes (SID) y ácidos debiles no volátiles (At); así como la presión parcial de oxígeno (PO<sub>2</sub>) y la concentración plasmática de albúmina (Alb).

Ninguna de las variables independientes que determinan el estado ácido-base sufrió modificaciones significativas a lo largo de la experiencia en los perros del grupo Control.

Los niveles de PCO<sub>2</sub> se mantuvieron alrededor de sus niveles basales ( $34.7 \pm 1.0$  mmHg), con pequeñas fluctuaciones que nunca fueron superiores a 2 mmHg.

Los valores de SID permanecieron estables en un margen muy estrecho, en torno a 36 mEq/l, con oscilaciones inferiores a 1.5 mEq/l.

La concentración de At arrojó unos valores basales de  $8.4 \pm 0.4$  mEq/l y se mantuvo estable durante toda la experiencia.

En el caso de la PO<sub>2</sub>, los niveles basales, que fueron cercanos a 100 mm de Hg, fluctuaron muy poco a lo largo del estudio. Aunque al final del experimento se registraron valores de PO<sub>2</sub> ligeramente elevados, no existían diferencias estadísticamente significativas.

La concentración de albúmina plasmática en los perros de este grupo no sufrió cambios significativos a lo largo del experimento, con valores que se oscilaron entre 2.2 y 2.5 g/dl.

<b>TIEMPO (minutos)</b>	<b>PO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	<b>PCO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	<b>SID (mEq/l)</b>	<b>At (mEq/l)</b>	<b>Alb (g/dl)</b>
<b>-15</b>	102.4 ± 4.4	34.3 ± 1.7	35.6 ± 1.9	9.2 ± 0.7	2.6 ± 0.2
<b>-10</b>	98.1 ± 6.5	34.2 ± 1.2	37.0 ± 1.4	8.8 ± 0.5	2.5 ± 0.1
<b>-5</b>	96.7 ± 5.6	34.7 ± 1.0	36.8 ± 1.2	8.7 ± 0.6	2.5 ± 0.1
<b>0</b>	97.9 ± 5.8	34.7 ± 1.0	36.7 ± 1.4	8.4 ± 0.4	2.3 ± 0.1
<b>10</b>	98.5 ± 6.1	34.8 ± 0.9	36.9 ± 1.2	8.4 ± 0.4	2.3 ± 0.1
<b>20</b>	97.0 ± 5.1	35.3 ± 1.0	36.8 ± 1.2	8.7 ± 0.6	2.5 ± 0.2
<b>30</b>	97.7 ± 4.9	35.3 ± 1.0	37.0 ± 1.4	8.1 ± 0.5	2.2 ± 0.1
<b>40</b>	94.4 ± 5.6	35.3 ± 1.0	36.6 ± 1.4	8.3 ± 0.5	2.2 ± 0.1
<b>50</b>	97.4 ± 6.4	35.4 ± 1.0	36.5 ± 1.3	8.5 ± 0.4	2.4 ± 0.1
<b>60</b>	99.0 ± 5.9	35.1 ± 1.0	36.4 ± 1.4	8.3 ± 0.5	2.3 ± 0.1
<b>65</b>	104.1 ± 6.0	34.5 ± 1.1	36.1 ± 1.1	8.2 ± 0.5	2.2 ± 0.1
<b>70</b>	101.9 ± 5.9	34.7 ± 1.0	36.7 ± 1.2	8.6 ± 0.6	2.4 ± 0.2
<b>75</b>	105.4 ± 5.2	34.5 ± 1.1	35.5 ± 1.1	8.4 ± 0.5	2.4 ± 0.4
<b>80</b>	105.4 ± 5.3	34.4 ± 1.0	36.6 ± 1.3	8.3 ± 0.5	2.3 ± 0.1
<b>85</b>	105.5 ± 4.5	34.2 ± 1.2	35.8 ± 1.2	7.9 ± 0.6	2.2 ± 0.2
<b>90</b>	106.9 ± 5.2	34.7 ± 1.0	37.0 ± 1.5	7.9 ± 0.5	2.2 ± 0.2
<b>100</b>	108.0 ± 6.1	35.6 ± 1.2	36.7 ± 2.1	8.6 ± 0.9	2.5 ± 0.3
<b>110</b>	106.6 ± 5.1	35.6 ± 1.0	36.1 ± 2.3	8.4 ± 0.8	2.4 ± 0.2
<b>120</b>	107.4 ± 5.2	35.2 ± 1.0	35.9 ± 2.2	8.0 ± 0.6	2.3 ± 0.2

**Tabla 3:** Valores (media ± ES) de PO<sub>2</sub>, PCO<sub>2</sub>, diferencia de iones fuertes (SID), ácidos débiles no volátiles (At) y albúmina plasmática (Alb) del Grupo I: Control.

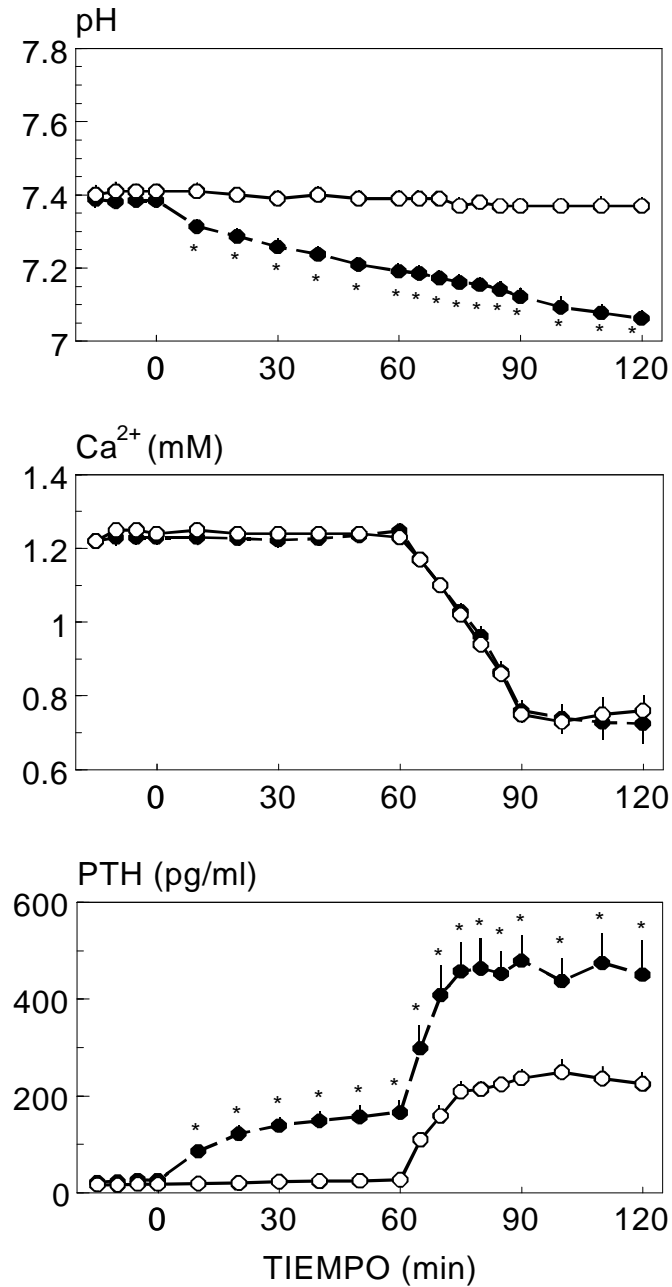
## **Grupo II: Acidosis Metabólica**

En este grupo se indujo, como se observa en la Figura 23, un descenso progresivo del pH a lo largo de las dos horas de la experiencia. Así, partiendo de un valor basal medio de  $7.39 \pm 0.01$ , durante la primera hora el pH descendió hasta  $7.19 \pm 0.01$ . Posteriormente, el pH continuó descendiendo durante la segunda hora, alcanzando un valor mínimo de  $7.07 \pm 0.02$ , en el minuto 120. Los valores basales medios de pH en este grupo no difirieron de los observados en el grupo Control. A partir del minuto 10, todos los valores de pH registrados en el grupo de Acidosis Metabólica fueron significativamente inferiores a los del grupo Control.

Gracias a la infusión de pequeñas cantidades de EDTA, la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  basal se mantuvo estable, en niveles de  $1.23 \pm 0.01$  mmol/l, durante los 60 primeros minutos del experimento. Además, estos niveles de calcemia son similares a los del grupo Control. Al aumentar la cantidad de EDTA infundido, se obtuvo un descenso de  $\text{Ca}^{2+}$  de igual magnitud que el del grupo Control, alcanzándose una calcemia de  $0.76 \pm 0.03$  mmol/l en el minuto 90. Los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  se mantuvieron estabilizados entre los minutos 90 y 120 en niveles similares a los del Grupo Control.

La concentración plasmática de PTH, cuyos niveles basales ( $26.7 \pm 4.7$  pg/ml) no eran distintos de los del grupo Control, sufrió un incremento significativo a partir del minuto 10, alcanzando una concentración de  $166.9 \pm 25.9$  pg/ml en el minuto 60. La hipocalcemia incrementó la PTH a unos niveles aún más elevados, obteniéndose un valor máximo de  $480.3 \pm 44.3$  pg/ml, que prácticamente duplicaba la concentración máxima de PTH encontrada en el Grupo Control. Todos los valores de PTH registrados en el grupo de Acidosis Metabólica entre los minutos 10 y 120 fueron mayores que los del grupo Control.





**Figura 23.** Valores de pH, Calcio iónico ( $Ca^{2+}$ ) y Hormona Paratiroidea (PTH) en los perros del Grupo II: Ac. Metabólica (●). \*  $p < 0.05$  con respecto al Grupo I: Control (○) en el mismo tiempo (t-test no pareado).

#### *IV Resultados*

---

Los niveles basales de  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$  del grupo de Acidosis Metabólica fueron similares a los del grupo Control (Tabla 4).

La concentración basal media de bicarbonato ( $19.9 \pm 0.6$  mEq/l) descendió progresivamente a lo largo de la experiencia, obteniéndose, a partir del minuto 10, valores significativamente inferiores a los del grupo Control. La concentración plasmática de bicarbonato registrada en los minutos 60 y 120 fue  $12.6 \pm 0.5$  y  $9.4 \pm 0.8$  mEq/l, respectivamente.

La natremia y la potasemia no sufrieron variaciones importantes a lo largo del tiempo de experimento y se mantuvieron en torno a los valores iniciales de  $142.2 \pm 1.2$  y  $4.0 \pm 0.1$  mEq/l, respectivamente.

Sin embargo, la concentración plasmática de  $\text{Cl}^-$  aumentó, desde un nivel basal de  $112.8 \pm 1.0$  mEq/l, hasta alcanzar  $118.3 \pm 0.9$  mEq/l, al final del experimento. Los niveles de  $\text{Cl}^-$  registrados durante toda la experiencia fueron significativamente superiores a los encontrados en el grupo Control.

El *anion gap* no mostró cambios notables a lo largo del experimento, y en ningún momento sus valores fueron diferentes significativamente de los recogidos en el grupo Control.

<b>TIEMPO (minutos)</b>	<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (mEq/l)</b>	<b>Na<sup>+</sup> (mEq/l)</b>	<b>K<sup>+</sup> (mEq/l)</b>	<b>Cl<sup>-</sup> (mEq/l)</b>	<b>AG (mEq/l)</b>
<b>-15</b>	20.0 ± 0.6	142.3 ± 1.3	4.1 ± 0.1	111.8 ± 0.7	14.8 ± 0.8
<b>-10</b>	19.8 ± 0.5	142.4 ± 1.3	4.1 ± 0.1	111.7 ± 0.7	15.2 ± 0.7
<b>-5</b>	19.8 ± 0.5	142.7 ± 1.4	4.1 ± 0.1	112.1 ± 0.7	15.1 ± 0.8
<b>0</b>	19.8 ± 0.6	142.4 ± 1.4	4.1 ± 0.1	112.8 ± 1.0	14.1 ± 1.7
<b>10</b>	17.8 ± 0.5*	142.2 ± 1.2	4.0 ± 0.1	113.3 ± 0.8*	15.6 ± 0.8
<b>20</b>	16.6 ± 0.5*	142.2 ± 1.2	4.1 ± 0.1	114.1 ± 0.8*	16.0 ± 0.8
<b>30</b>	15.5 ± 0.5*	141.9 ± 1.3	4.0 ± 0.1	115.2 ± 0.9*	15.6 ± 0.9
<b>40</b>	14.4 ± 0.5*	141.7 ± 1.3	4.0 ± 0.1	115.7 ± 0.9*	16.1 ± 0.8
<b>50</b>	13.4 ± 0.5*	141.5 ± 1.2	4.0 ± 0.1	116.1 ± 0.8*	16.6 ± 0.9
<b>60</b>	12.6 ± 0.5*	141.6 ± 1.1	4.0 ± 0.1	117.3 ± 0.9*	16.2 ± 0.9
<b>65</b>	12.4 ± 0.5*	141.4 ± 1.0	4.0 ± 0.1	117.3 ± 0.8*	16.2 ± 0.9
<b>70</b>	11.9 ± 0.5*	141.0 ± 1.0	3.9 ± 0.1	116.7 ± 0.8*	16.7 ± 0.9
<b>75</b>	11.6 ± 0.5*	140.8 ± 1.0	3.8 ± 0.1	116.7 ± 1.0*	16.9 ± 0.9
<b>80</b>	11.3 ± 0.6*	141.5 ± 1.0	3.9 ± 0.1	117.0 ± 0.8*	17.4 ± 0.9
<b>85</b>	10.9 ± 0.6*	141.3 ± 1.0	3.8 ± 0.1	117.0 ± 0.8*	17.6 ± 0.8
<b>90</b>	10.6 ± 0.6*	141.3 ± 0.9	3.8 ± 0.1	117.1 ± 0.8*	17.8 ± 0.9
<b>100</b>	10.0 ± 0.8*	142.0 ± 1.1	4.1 ± 0.2	117.9 ± 0.8*	18.7 ± 1.0
<b>110</b>	9.7 ± 0.8*	140.9 ± 0.8	4.3 ± 0.3	118.0 ± 0.7*	18.0 ± 1.1
<b>120</b>	9.4 ± 0.8*	139.9 ± 0.9	4.6 ± 0.4	118.3 ± 0.9*	17.5 ± 0.8

**Tabla 4:** Valores (media ± ES) de bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), sodio (Na<sup>+</sup>), potasio (K<sup>+</sup>), cloro (Cl<sup>-</sup>) y anion gap (AG) del Grupo II: Acidosis Metabólica. \*  $p < 0.05$  con respecto al Grupo I: Control, en el mismo tiempo (t-test no pareado).

Al estudiar las variables independientes que determinan el estado ácido-base se observa que los niveles de  $PCO_2$  y  $At$  se mantuvieron prácticamente invariables a lo largo de la Acidosis Metabólica. Ni los valores basales de estos parámetros ni ninguno de los registrados a lo largo de la experiencia diferían significativamente de los del grupo Control (Tabla 5).

Por el contrario, el SID sufrió modificaciones significativas en los perros sometidos a Acidosis Metabólica. Los valores basales medios de SID,  $33.8 \pm 1.6$  mEq/l, no diferían significativamente de los del grupo Control. Durante las dos horas de experimento se produjo un descenso significativo de SID, alcanzando valores de  $27.0 \pm 0.5$  mEq/l en el minuto 120. Todos los valores de SID registrados entre los minutos 10 y 120 fueron significativamente más bajos que los del grupo Control.

Los niveles basales medios de presión parcial de oxígeno ( $PO_2$ ), que estaban un poco por encima de los 100 mm de Hg, se mantuvieron prácticamente constantes durante toda la experiencia. Ninguno de los valores de  $PO_2$  registrados en este grupo difería significativamente de los del grupo Control.

En cuanto a la albúmina plasmática, también se observaron valores prácticamente idénticos a los del grupo Control. Los niveles de Alb se mantuvieron en torno a los 2.5 g/dl a lo largo de todo el experimento con fluctuaciones inferiores a 0.2 g/dl.

<b>TIEMPO (minutos)</b>	<b>PO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	<b>PCO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	<b>SID (mEq/l)</b>	<b>At (mEq/l)</b>	<b>Alb (g/dl)</b>
<b>-15</b>	108.1 ± 9.4	34.0 ± 1.3	34.8 ± 0.8	8.9 ± 0.4	2.5 ± 0.1
<b>-10</b>	104.9 ± 6.5	34.3 ± 1.3	34.9 ± 0.9	9.0 ± 0.5	2.6 ± 0.2
<b>-5</b>	97.8 ± 12.4	34.0 ± 1.3	34.9 ± 0.9	9.6 ± 0.4	2.7 ± 0.1
<b>0</b>	108.8 ± 8.6	33.9 ± 1.3	33.8 ± 1.6	9.1 ± 0.3	2.5 ± 0.1
<b>10</b>	107.9 ± 7.1	35.8 ± 1.1	33.3 ± 0.8*	8.8 ± 0.4	2.6 ± 0.1
<b>20</b>	108.5 ± 8.3	35.6 ± 1.3	32.5 ± 0.9*	8.3 ± 0.4	2.4 ± 0.1
<b>30</b>	109.5 ± 10.2	35.5 ± 1.3	31.0 ± 0.8*	8.6 ± 0.5	2.5 ± 0.2
<b>40</b>	114.7 ± 12.1	34.6 ± 1.4	30.5 ± 0.8*	8.7 ± 0.3	2.6 ± 0.1
<b>50</b>	115.3 ± 11.3	34.3 ± 1.4	29.9 ± 0.8*	8.4 ± 0.5	2.5 ± 0.2
<b>60</b>	116.6 ± 12.0	33.5 ± 1.3	28.8 ± 0.9*	8.4 ± 0.5	2.5 ± 0.1
<b>65</b>	109.1 ± 5.1	33.4 ± 1.2	28.5 ± 0.7*	8.0 ± 0.3	2.4 ± 0.1
<b>70</b>	111.8 ± 5.8	32.9 ± 1.1	28.6 ± 0.7*	7.8 ± 0.5	2.3 ± 0.1
<b>75</b>	105.2 ± 12.5	33.2 ± 1.2	28.4 ± 0.6*	8.1 ± 0.4	2.5 ± 0.1
<b>80</b>	115.6 ± 5.9	32.6 ± 1.1	28.7 ± 0.8*	7.7 ± 0.4	2.4 ± 0.1
<b>85</b>	117.6 ± 8.6	32.3 ± 1.3	28.5 ± 0.6*	7.5 ± 0.3	2.3 ± 0.1
<b>90</b>	118.0 ± 9.2	32.7 ± 1.2	28.4 ± 0.7*	7.4 ± 0.4	2.3 ± 0.1
<b>100</b>	111.3 ± 6.0	33.2 ± 1.5	28.7 ± 1.0*	7.5 ± 0.4	2.5 ± 0.1
<b>110</b>	111.4 ± 6.6	33.0 ± 1.5	27.7 ± 0.8*	7.3 ± 0.4	2.4 ± 0.2
<b>120</b>	113.6 ± 7.8	33.1 ± 1.5	27.0 ± 0.5*	7.2 ± 0.3	2.4 ± 0.2

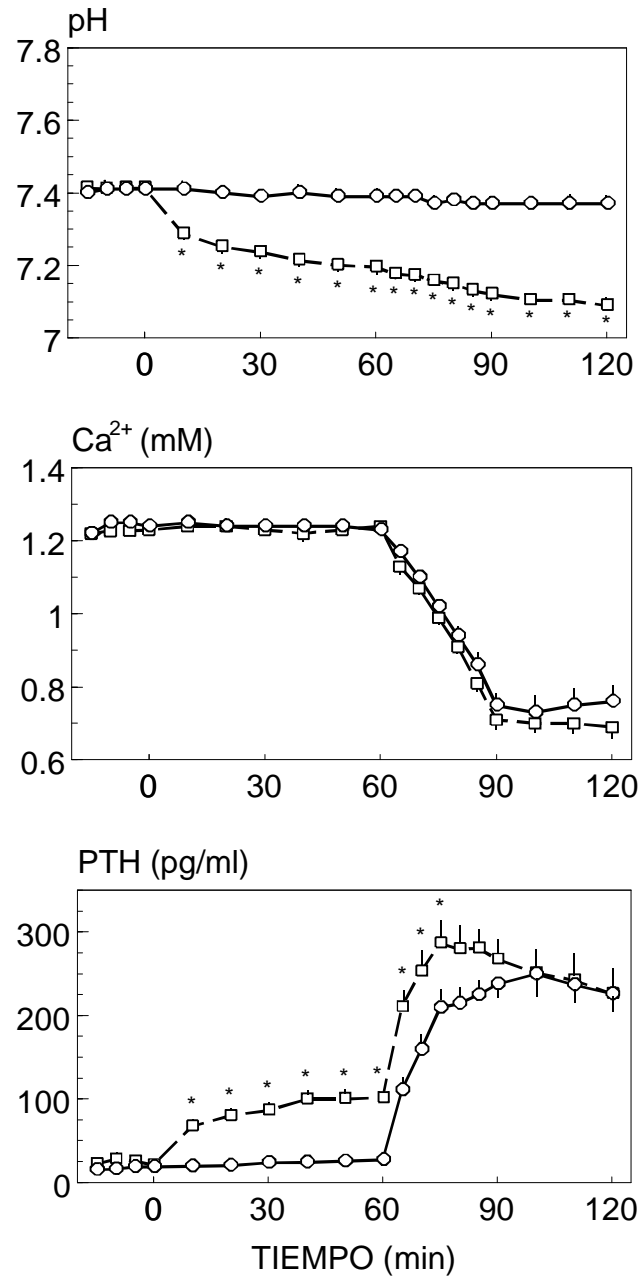
**Tabla 5:** Valores (media ± ES) de PO<sub>2</sub>, PCO<sub>2</sub>, diferencia de iones fuertes (SID), ácidos débiles no volátiles (At) y albúmina plasmática (Alb) del Grupo II: Acidosis Metabólica. \*  $p < 0.05$  con respecto al Grupo I: Control, en el mismo tiempo (t-test no pareado).

### **Grupo III: Acidosis Respiratoria**

Los valores basales de pH en el grupo de Acidosis Respiratoria,  $7.41 \pm 0.01$ , fueron similares a los del grupo Control (Figura 24). A partir del minuto 10 se produjo un descenso significativo de pH, alcanzando valores de  $7.19 \pm 0.01$ , a los 60 minutos, y de  $7.09 \pm 0.03$ , a los 120 minutos. Todos los valores de pH registrados entre los minutos 10 y 120 fueron significativamente inferiores a los del grupo Control.

Al igual que en el Grupo II, gracias a la infusión de una pequeña cantidad de EDTA, la concentración plasmática de  $\text{Ca}^{2+}$  permaneció prácticamente constante durante los 60 primeros minutos, en niveles cercanos a los basales,  $1.24 \pm 0.02$  mmol/l. Durante los siguientes 30 minutos, se produjo una caída de  $\text{Ca}^{2+}$  del orden de 0.51 mmol/l, manteniéndose la calcemia estabilizada, alrededor de 0.7 mmol/l, desde el minuto 90 hasta el final de la experiencia. A lo largo de todo el experimento, no se detectaron diferencias significativas en la calcemia entre el grupo de Acidosis Respiratoria y el grupo Control.

Los niveles basales de PTH,  $20.9 \pm 3.7$  pg/ml, fueron similares a los del grupo Control. A partir del minuto 10, la concentración plasmática de PTH se elevó progresivamente hasta el minuto 60, alcanzando valores de  $101.3 \pm 10.2$  pg/ml. Durante esta primera hora, los niveles de PTH registrados en el grupo de Acidosis Respiratoria fueron significativamente más altos que los del grupo Control. Durante el periodo de hipocalcemia, la concentración plasmática de PTH en el grupo de Acidosis Respiratoria continuó siendo significativamente más alta que la del grupo Control hasta el minuto 75, momento en el que se alcanza la concentración máxima de PTH,  $286.5 \pm 28.2$  pg/ml. A partir de este instante, los niveles de PTH comenzaron a descender, estabilizándose en valores muy similares a los del grupo Control.



**Figura 24.** Valores de pH, Calcio iónico ( $Ca^{2+}$ ) y Hormona Paratiroidea (PTH) en los perros del Grupo III: Acidosis Respiratoria (□). \*  $p < 0.05$  con respecto al Grupo I: Control (○), al mismo tiempo (t-test no pareado).

A diferencia de lo que sucedía en el grupo anterior, en los perros sometidos a Acidosis Respiratoria no se han detectado cambios significativos en la concentración plasmática de  $\text{HCO}_3^-$  (Tabla 6). Los niveles basales de bicarbonato,  $20.6 \pm 0.7$  mEq/l, sufrieron una pequeña elevación al inducir Acidosis Respiratoria y permanecieron en niveles cercanos a los 22 mEq/l durante toda la experiencia, aunque como ya se ha comentado no existen diferencias estadísticamente significativas.

El perfil electrolítico del plasma no sufrió variaciones significativas a lo largo de las dos horas en Acidosis Respiratoria. Los valores basales de  $\text{Na}^+$  ( $142.4 \pm 1.0$  mEq/l),  $\text{K}^+$  ( $4.2 \pm 0.1$  mEq/l) y  $\text{Cl}^-$  ( $109.0 \pm 0.8$  mEq/l) se mantuvieron prácticamente invariables a lo largo de la experiencia, y en ningún punto difirieron significativamente de los registrados en los perros del grupo Control.

Finalmente, tampoco se detectaron cambios en el anion gap de los perros sometidos a Acidosis Respiratoria. Durante las dos horas de experimento, los valores de este parámetro se mantuvieron en niveles cercanos a los basales ( $17.0 \pm 1.0$  mEq/l). Además, estos niveles de anion gap no diferían significativamente de los del grupo Control.



<b>TIEMPO (minutos)</b>	<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (mEq/l)</b>	<b>Na<sup>+</sup> (mEq/l)</b>	<b>K<sup>+</sup> (mEq/l)</b>	<b>Cl<sup>-</sup> (mEq/l)</b>	<b>AG (mEq/l)</b>
<b>-15</b>	21.4 ± 1.6	141.3 ± 0.9	4.2 ± 0.1	108.4 ± 0.8	15.8 ± 1.3
<b>-10</b>	20.4 ± 0.6	141.7 ± 0.9	4.3 ± 0.1	108.5 ± 0.8	17.1 ± 0.9
<b>-5</b>	20.4 ± 0.6	142.5 ± 0.8	4.3 ± 0.1	108.9 ± 1.0	17.4 ± 1.0
<b>0</b>	20.6 ± 0.7	142.4 ± 1.0	4.2 ± 0.1	109.0 ± 0.8	17.0 ± 1.0
<b>10</b>	22.3 ± 0.8	143.9 ± 1.1	4.2 ± 0.1	108.3 ± 0.7	17.5 ± 1.2
<b>20</b>	22.7 ± 0.7	144.1 ± 1.5	4.2 ± 0.1	108.4 ± 0.9	17.3 ± 1.8
<b>30</b>	23.0 ± 0.7	144.4 ± 1.3	4.1 ± 0.1	108.9 ± 0.8	16.6 ± 1.5
<b>40</b>	22.9 ± 0.7	144.2 ± 1.5	4.2 ± 0.2	108.5 ± 1.0	17.0 ± 1.8
<b>50</b>	23.1 ± 0.6	145.0 ± 1.4	4.1 ± 0.1	109.0 ± 0.8	17.1 ± 1.8
<b>60</b>	23.0 ± 0.7	143.9 ± 1.7	4.2 ± 0.2	108.7 ± 0.8	16.4 ± 2.0
<b>65</b>	22.8 ± 0.6	144.3 ± 1.7	4.2 ± 0.2	108.0 ± 0.9	17.6 ± 1.8
<b>70</b>	22.7 ± 0.6	144.5 ± 1.6	4.1 ± 0.2	108.4 ± 0.8	17.6 ± 1.8
<b>75</b>	22.3 ± 0.6	144.3 ± 1.7	4.1 ± 0.2	107.9 ± 0.7	18.2 ± 1.8
<b>80</b>	22.2 ± 0.6	144.7 ± 1.8	4.1 ± 0.2	107.9 ± 0.9	18.6 ± 2.0
<b>85</b>	22.0 ± 0.6	144.6 ± 1.6	4.0 ± 0.2	107.4 ± 0.8	19.1 ± 2.0
<b>90</b>	21.9 ± 0.6	144.9 ± 1.7	3.9 ± 0.2	107.5 ± 0.7	19.4 ± 2.0
<b>100</b>	22.2 ± 0.5	144.4 ± 1.8	3.9 ± 0.2	106.7 ± 0.8	19.4 ± 2.1
<b>110</b>	22.1 ± 0.6	144.8 ± 1.9	4.0 ± 0.3	107.3 ± 0.9	19.4 ± 2.4
<b>120</b>	22.1 ± 0.6	144.5 ± 2.4	4.0 ± 0.3	107.0 ± 0.8	19.4 ± 2.9

**Tabla 6:** Valores (media ± ES) de bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), sodio (Na<sup>+</sup>), potasio (K<sup>+</sup>), cloro (Cl<sup>-</sup>) y anion gap (AG) del Grupo III: Acidosis Respiratoria.

Al analizar la evolución de las variables independientes que determinan el estado ácido-base en los perros sometidos a Acidosis Respiratoria (Tabla 7), se observaron cambios significativos en los niveles de  $PCO_2$ . Partiendo de una presión parcial media de  $33.3 \pm 1.1$  mmHg, que fue similar a la registrada en el grupo Control, se produjo un incremento progresivo de  $PCO_2$  hasta alcanzar niveles de  $75.3 \pm 4.6$  mmHg, al final del experimento. Todos los valores de  $PCO_2$  registrados entre los minutos 10 y 120 fueron significativamente más altos que los del grupo Control.

Las otras dos variables independientes, SID y At, se mantuvieron estabilizadas en valores cercanos a los basales ( $37.6 \pm 1.5$  y  $8.8 \pm 0.4$  mEq/l, respectivamente) durante la Acidosis Respiratoria y no presentaron diferencias significativas con respecto al grupo Control.

Los niveles de  $PO_2$  en estos perros fueron similares a los del grupo Control, oscilando entre 100 y 110 mmHg a lo largo del experimento. Estas pequeñas fluctuaciones de  $PO_2$  no dieron lugar a cambios estadísticamente significativos.

La concentración basal media de albúmina en los perros sometidos a Acidosis Respiratoria fue  $2.4 \pm 0.1$  g/dl, y se mantuvo prácticamente constante durante todo el experimento, sin que se detectaran diferencias significativas con respecto al grupo Control.

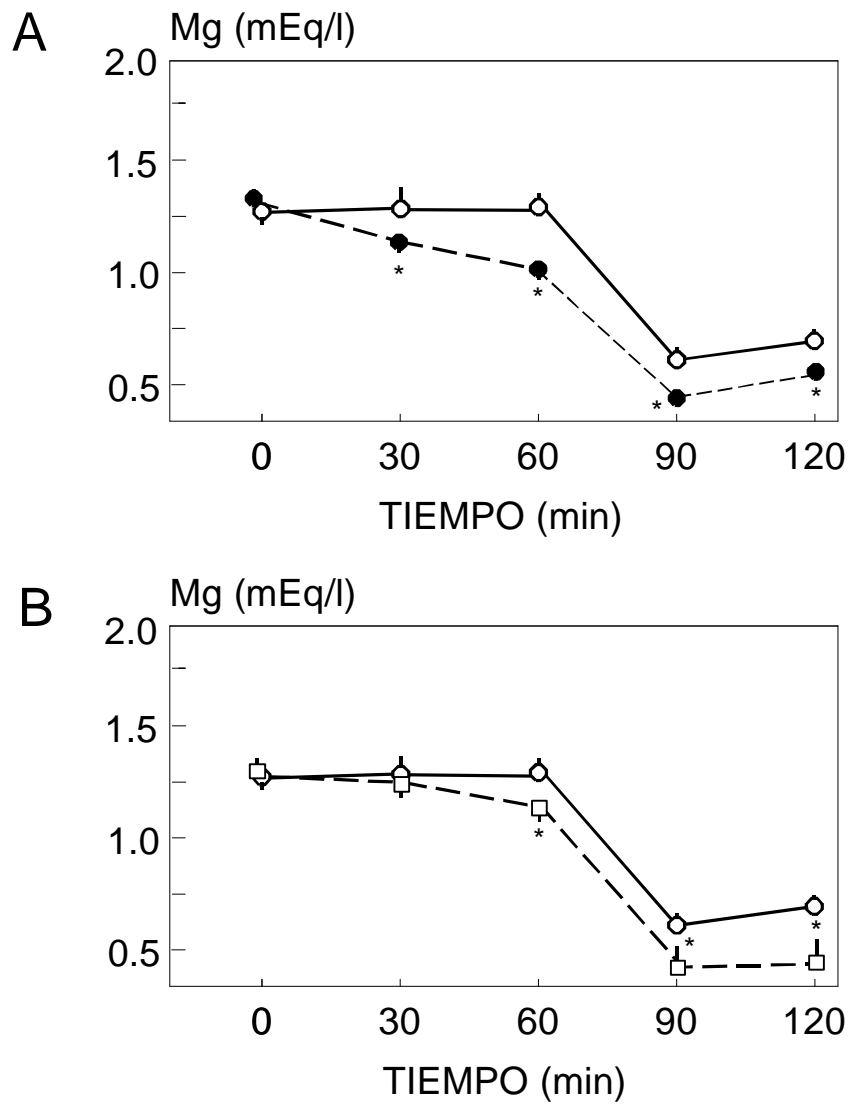
<b>TIEMPO (minutos)</b>	<b>PO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	<b>PCO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	<b>SID (mEq/l)</b>	<b>At (mEq/l)</b>	<b>Alb (g/dl)</b>
<b>-15</b>	106.8 ± 5.8	32.5 ± 0.8	37.2 ± 1.1	8.7 ± 0.3	2.4 ± 0.1
<b>-10</b>	105.7 ± 6.4	33.0 ± 0.8	37.4 ± 1.3	8.7 ± 0.4	2.4 ± 0.1
<b>-5</b>	103.6 ± 5.3	33.0 ± 0.9	37.9 ± 1.5	8.7 ± 0.4	2.4 ± 0.1
<b>0</b>	103.2 ± 4.9	33.3 ± 1.1	37.6 ± 1.5	8.8 ± 0.4	2.4 ± 0.1
<b>10</b>	96.4 ± 6.8	48.3 ± 1.6*	39.8 ± 1.4	7.9 ± 0.4	2.3 ± 0.1
<b>20</b>	103.1 ± 4.9	53.1 ± 1.6*	39.9 ± 2.0	8.5 ± 0.5	2.4 ± 0.1
<b>30</b>	104.7 ± 4.0	56.0 ± 2.3*	39.6 ± 1.7	8.3 ± 0.6	2.4 ± 0.2
<b>40</b>	107.9 ± 4.8	58.0 ± 2.4*	39.8 ± 2.0	8.2 ± 0.4	2.3 ± 0.1
<b>50</b>	108.3 ± 4.7	60.7 ± 2.6*	40.1 ± 1.9	8.3 ± 0.3	2.4 ± 0.1
<b>60</b>	110.1 ± 5.5	61.1 ± 2.4*	39.4 ± 2.1	8.3 ± 0.3	2.4 ± 0.1
<b>65</b>	109.4 ± 5.3	63.3 ± 2.9*	40.4 ± 2.0	8.4 ± 0.4	2.4 ± 0.1
<b>70</b>	109.5 ± 5.4	63.9 ± 2.9*	40.2 ± 2.0	7.8 ± 0.3	2.2 ± 0.1
<b>75</b>	110.5 ± 4.8	64.4 ± 2.9*	40.5 ± 1.9	8.3 ± 0.4	2.4 ± 0.1
<b>80</b>	109.6 ± 4.9	65.8 ± 3.3*	40.9 ± 2.3	8.2 ± 0.3	2.4 ± 0.1
<b>85</b>	106.5 ± 5.4	67.6 ± 3.1*	41.1 ± 2.1	7.9 ± 0.5	2.3 ± 0.1
<b>90</b>	105.6 ± 4.9	69.0 ± 3.6*	41.3 ± 2.2	7.9 ± 0.6	2.4 ± 0.2
<b>100</b>	104.3 ± 7.0	72.9 ± 3.6*	41.6 ± 2.1	7.8 ± 0.4	2.4 ± 0.1
<b>110</b>	108.1 ± 9.8	72.8 ± 3.4*	41.5 ± 2.3	7.2 ± 0.5	2.1 ± 0.2
<b>120</b>	102.0 ± 6.7	75.3 ± 4.6*	41.5 ± 2.9	7.0 ± 0.3	2.2 ± 0.1

**Tabla 7:** Valores (media ± ES) de PO<sub>2</sub>, PCO<sub>2</sub>, diferencia de iones fuertes (SID), ácidos débiles no volátiles (At) y albúmina plasmática (Alb) del Grupo III: Acidosis Respiratoria. \*  $p < 0.05$  con respecto al Grupo I: Control, en el mismo tiempo (t-test no pareado).

Al realizar controles de la concentración plasmática de magnesio (Mg) en los grupos de Acidosis (Grupos II y III), se observó que ésta descendía significativamente en el transcurso de los experimentos. Como puede apreciarse en la Figura 25, durante los primeros 60 minutos, la disminución en la magnesemia fue del orden de 0.3 mEq/l en el grupo de Acidosis Metabólica, y algo menor en el grupo de Acidosis Respiratoria. Durante la segunda hora, se produjo un mayor descenso en la concentración plasmática de Mg, hasta niveles por debajo de 0.5 mEq/l en ambos grupos de Acidosis. En el grupo Control la magnesemia permaneció estable durante la primera hora de la experiencia y durante el periodo de hipocalcemia (minutos 60 a 120), a medida que se infundía EDTA para disminuir la calcemia, se observó un descenso en la concentración plasmática de magnesio similar al detectado en los grupos de Acidosis.

El Mg es un catión divalente que puede estimular al receptor de calcio y, de este modo, regular la secreción de PTH. Aunque, en base a los datos recogidos en la bibliografía, la influencia del Mg sobre la secreción de PTH parece ser muy inferior a la del  $\text{Ca}^{2+}$ , resulta obligado controlar el posible efecto de la hipomagnesemia sobre la secreción de PTH en los perros sometidos a acidosis. Para ello, fue necesario estudiar nuevos grupos de perros Control y de Acidosis Metabólica y Respiratoria, modificando el protocolo experimental, con el fin de controlar los niveles plasmáticos de Mg (mediante la infusión i.v. de sulfato de magnesio).

A continuación se presentan los resultados obtenidos en una serie adicional de experimentos en los que se mantuvo constante la concentración plasmática de Mg. Dado que el control de la magnesemia no influyó en los parámetros que determinan el estado ácido-base, con el fin de evitar reiteraciones, sólo se presentan los resultados de pH,  $\text{Ca}^{2+}$ , Mg y PTH.



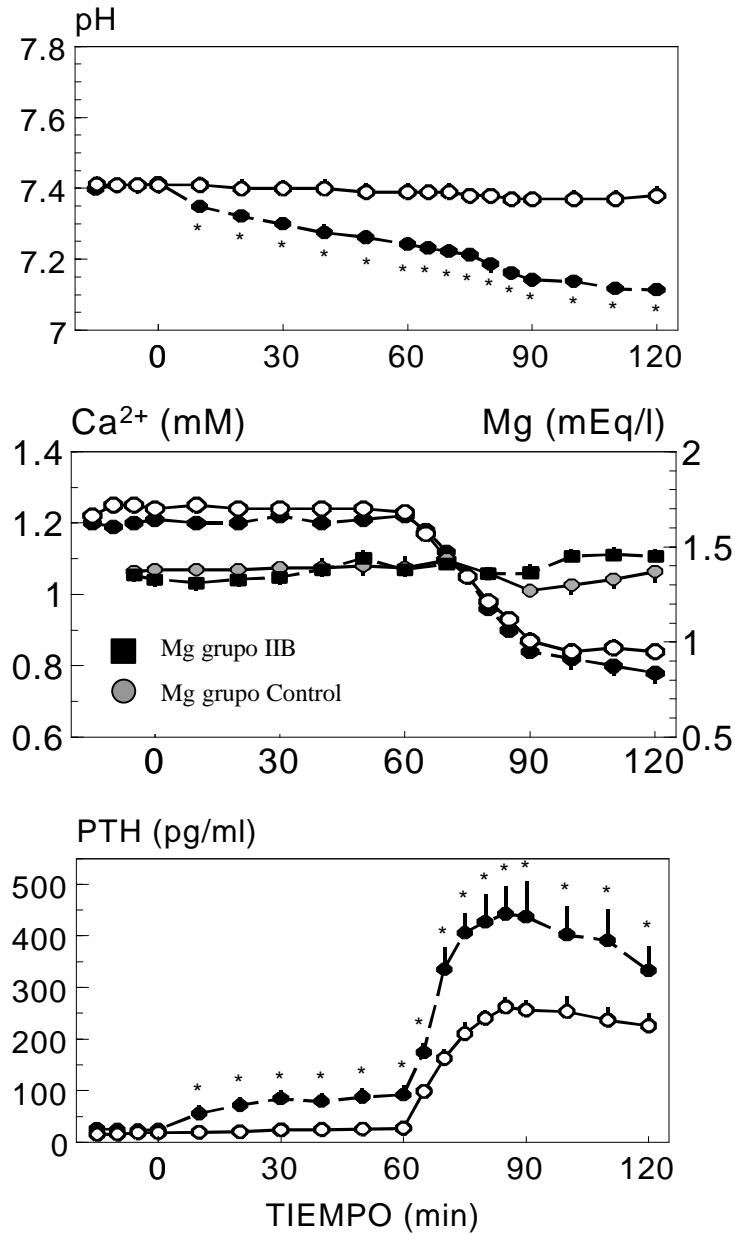
**Figura 25.** Niveles de magnesio total (Mg) en los grupos Control (○), Acidosis Metabólica (●) y Acidosis Respiratoria (□). \* $p < 0.05$  respecto del grupo Control en el mismo tiempo (t-test no pareado).

### **Grupo IIB. Acidosis Metabólica con Clamp de Magnesio**

En la Figura 26 puede observarse que la evolución de los valores de pH de estos perros fue similar a la obtenida sin control de Mg. En el grupo de Acidosis Metabólica el pH descendió de manera significativa, con respecto al grupo Control, alcanzando valores en torno a 7.20 en la primera hora de experimento. Durante la segunda hora el pH continuó disminuyendo hasta niveles cercanos a 7.10. En el grupo Control el pH se mantuvo estable durante toda la experiencia en valores cercanos a 7.40.

Durante la primera hora de experimento, tanto en el grupo Control como en el de Acidosis Metabólica, la calcemia permaneció estabilizada en valores muy próximos a los basales. Durante los siguientes 30 minutos se produjo un descenso de  $\text{Ca}^{2+}$  prácticamente idéntico en ambos grupos y, finalmente, en la última media hora, el calcio se mantuvo en niveles cercanos a 0.80 mmol/l. En lo referente al Mg, gracias a la administración de una solución de  $\text{MgSO}_4$ , la magnesemia se mantuvo prácticamente constante durante todo el experimento, tanto en el grupo Control como en el de Acidosis Metabólica. Ninguno de los valores de Mg medidos en estos experimentos fue significativamente diferente de la magnesemia basal del grupo Control,  $1.31 \pm 0.04$  mEq/l.

En el grupo Control, los niveles de PTH, tanto en normo- como en hipocalcemia, fueron prácticamente idénticos a los que se obtuvieron sin controlar el Mg. En el grupo de Acidosis Metabólica con el Mg clampado, la disminución del pH dio lugar a un incremento en la concentración de PTH que alcanzó valores significativamente más altos que los del grupo Control. No obstante, en este caso, la concentración de PTH en normocalcemia sólo se elevó hasta niveles  $91.8 \pm 18.7$  pg/ml, en el minuto 60. Durante la estimulación hipocalcémica la PTH alcanzó unas concentraciones plasmáticas muy superiores a las del grupo Control, con valores máximos de  $442.6 \pm 53.6$  pg/ml, en el minuto 85.



**Figura 26.** Valores de pH, Calcio iónico ( $Ca^{2+}$ ), Magnesio total (Mg) y Hormona Paratiroidea (PTH) en los perros del Grupo IIB: Acidosis Metabólica con clamp de Mg (●). \*  $p < 0.05$  con respecto al Grupo I: Control (○) en el mismo tiempo (t-test no pareado).

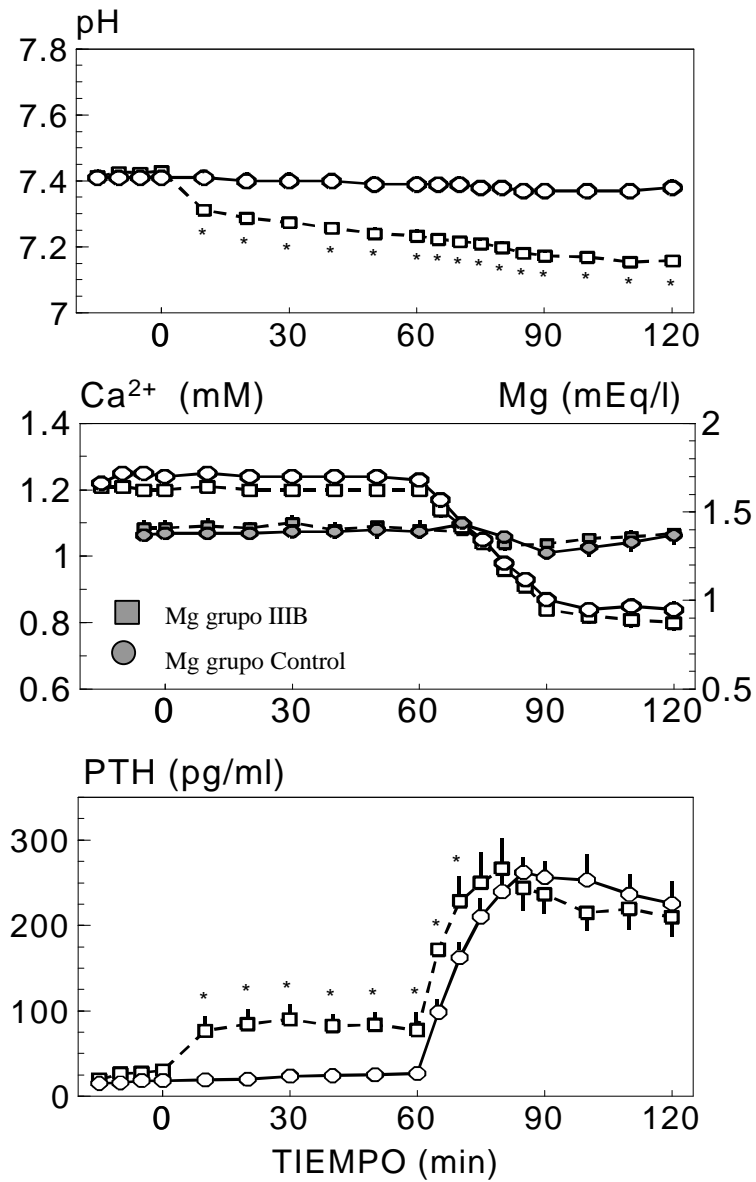
### **Grupo IIIB. Acidosis Respiratoria con Clamp de Magnesio**

La evolución de los valores de pH de este nuevo grupo de Acidosis Respiratoria fue prácticamente idéntica a la descrita en el Grupo III (sin control de Mg). Los valores de pH descendieron de manera significativa, con respecto al grupo Control, alcanzando valores en torno a 7.2 en la primera hora de experimento, y reduciéndose un poco más a lo largo de la segunda hora (Figura 27).

Tanto en el grupo de Acidosis Respiratoria como en el Control, los niveles del  $\text{Ca}^{2+}$  se mantuvieron constantes durante la primera hora de clamp normocalcémico, entre 1.20 y 1.25 mmol/l. En la siguiente hora, se produjo un descenso en la calcemia de la misma magnitud en ambos grupos. De igual manera, la magnesemia se mantuvo constante tanto en el grupo Control como en el de Acidosis Respiratoria, gracias a la administración de una solución de  $\text{MgSO}_4$ . Ninguno de los valores de Mg registrado en ambos grupos difiere significativamente de la magnesemia basal del grupo Control,  $1.31 \pm 0.04$  mEq/l.

Durante la primera hora de experimento, la concentración de PTH en el grupo de Acidosis Respiratoria con clamp de Mg, se vio incrementada significativamente con respecto a los niveles del grupo Control, registrándose en el minuto 60 valores de  $77.4 \pm 21.6$  pg/ml. En la fase de hipocalcemia, la concentración máxima de PTH alcanzada en este grupo de Acidosis Respiratoria fue de  $266.6 \pm 36.9$ . Estos niveles de PTH máxima no difirieron significativamente de los del grupo Control.





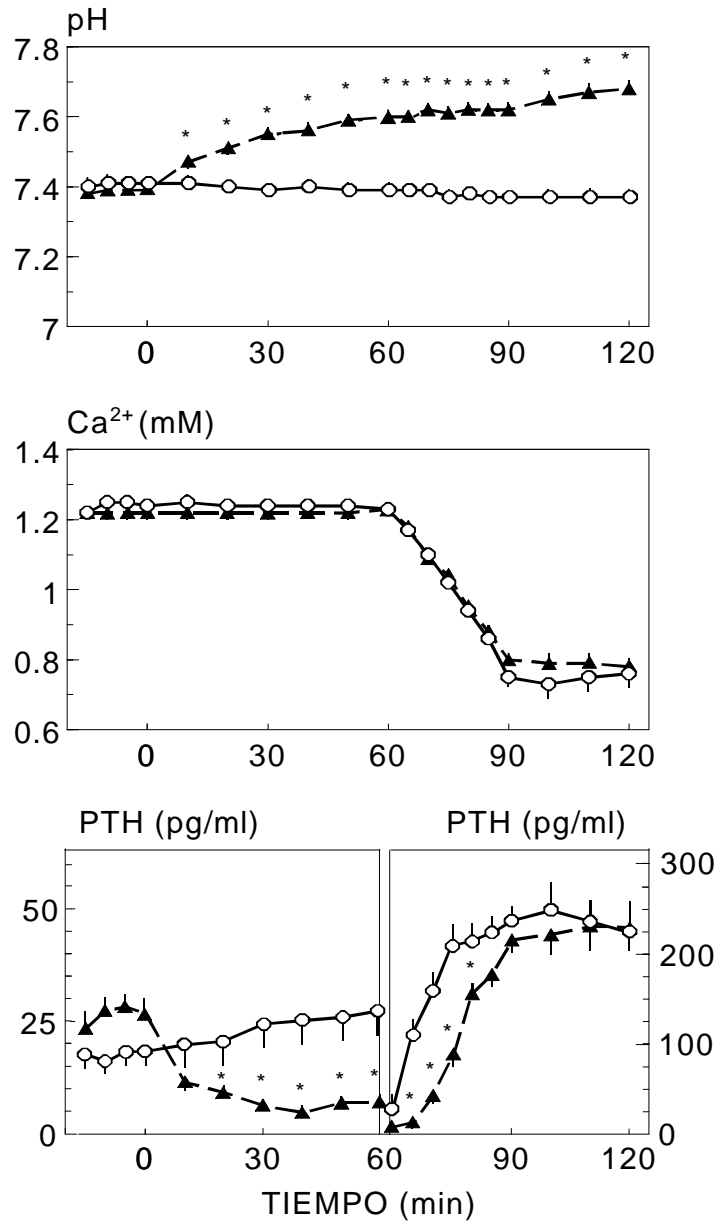
**Figura 27.** Valores de pH, Calcio iónico ( $Ca^{2+}$ ), Magnesio total (Mg) y Hormona Paratiroidea (PTH) en los perros del Grupo III B: Acidosis Respiratoria con clamp de Mg ( $\square$ ). \*  $p < 0.05$  con respecto al Grupo I: Control ( $\circ$ ) en el mismo tiempo (t-test no pareado).

#### **Grupo IV: Alcalosis Metabólica**

En este grupo, la administración de bicarbonato sódico produjo un incremento significativo del pH, que alcanzó valores de  $7.61 \pm 0.01$  en el minuto 60 y de  $7.69 \pm 0.02$  al final del experimento (Figura 28).

A pesar del aumento del pH, la concentración basal de  $\text{Ca}^{2+}$  ( $1.22 \pm 0.01$  mmol/l) se mantuvo constante durante la primera hora del experimento, gracias a la infusión de una solución  $\text{Cl}_2\text{Ca}$ . Durante este periodo los valores de  $\text{Ca}^{2+}$  sufrieron oscilaciones inferiores a 0.01 mmol/l y no se observaron cambios significativos con respecto de los del grupo Control. También, durante la fase hipocalcémica (2ª hora) los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  evolucionaron de forma similar a los de el grupo Control, lográndose una concentración mínima de  $\text{Ca}^{2+}$  de  $0.78 \pm 0.03$  mmol/l.

En estos animales, al contrario de lo que ocurría en los grupos de Acidosis, los niveles de PTH se redujeron progresivamente a medida que subía el pH. La concentración basal de PTH,  $26.3 \pm 5.2$  pg/ml, disminuyó hasta alcanzar valores de  $5.6 \pm 0.8$  pg/ml, en el minuto 60. Todos los valores de PTH registrados entre los minutos 20 y 60 fueron significativamente inferiores a los del grupo Control. Durante la segunda hora de experimento, la elevación en los niveles de PTH inducida por la hipocalcemia se produjo de forma más lenta en el grupo de Alcalosis Metabólica que en el grupo Control, aunque posteriormente alcanzó valores máximos de PTH ( $232 \pm 31.6$  pg/ml) muy similares a los del grupo Control.



**Figura 28.** Valores de pH, Calcio iónico (Ca<sup>2+</sup>) y Hormona Paratiroidea (PTH) en los perros del Grupo IV: Alcalosis Metabólica (▲). \*  $p < 0.05$  con respecto al grupo Control (○) en el mismo tiempo (*t*-test no pareado).

La concentración plasmática de bicarbonato, como se observa en la Tabla 8, aumentó progresivamente en el grupo de Alcalosis Metabólica a lo largo del experimento. Los niveles basales de bicarbonato,  $20.3 \pm 0.8$  mEq/l, se elevaron hasta alcanzar valores de  $52.7 \pm 1.1$  mEq/l, en el minuto 120. Todos los valores de bicarbonato registrados a partir del minuto 10 fueron significativamente más elevados en el grupo de Alcalosis Metabólica que en el Grupo Control.

En cuanto a los electrólitos, es necesario reseñar que el  $\text{Na}^+$  experimentó una elevación muy similar a la del bicarbonato. Así, la natremia, partiendo de unos niveles basales de  $142.4 \pm 0.5$  mEq/l, se elevó significativamente a partir del minuto 10 hasta alcanzar valores de  $172.6 \pm 1.0$  mEq/l, al final de los experimentos. Por otro lado, tanto el  $\text{K}^+$  como el  $\text{Cl}^-$  experimentaron un pequeño descenso en el transcurso de la experiencia. La potasemia descendió desde  $4.2 \pm 0.1$  hasta  $2.9 \pm 0.1$  mEq/l; mientras que la cloremia se redujo desde  $110.0 \pm 1.0$  hasta  $105.4 \pm 1.2$  mEq/l. El descenso de la potasemia en el grupo de Alcalosis Metabólica fue significativo a partir del minuto 10, mientras que la disminución de la cloremia tan sólo adquirió significación estadística a partir del minuto 50 de experimento.

Dado que los cambios de bicarbonato y de sodio fueron de similar magnitud, los valores de *anion gap* permanecieron prácticamente constantes a lo largo de la experiencia, sin que aparecieran desviaciones significativas con respecto al basal ( $16.2 \pm 0.9$  mEq/l).

<b>TIEMPO (minutos)</b>	<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (mEq/l)</b>	<b>Na<sup>+</sup> (mEq/l)</b>	<b>K<sup>+</sup> (mEq/l)</b>	<b>Cl<sup>-</sup> (mEq/l)</b>	<b>AG (mEq/l)</b>
<b>-15</b>	20.5 ± 0.7	141.5 ± 0.4	4.2 ± 0.1	110.2 ± 1.0	15.1 ± 0.9
<b>-10</b>	20.3 ± 0.8	141.7 ± 0.4	4.2 ± 0.1	109.8 ± 1.0	15.9 ± 0.6
<b>-5</b>	20.3 ± 0.8	142.0 ± 0.5	4.2 ± 0.1	110.0 ± 1.0	16.0 ± 0.9
<b>0</b>	20.3 ± 0.8	142.4 ± 0.5	4.2 ± 0.1	110.0 ± 0.9	16.2 ± 0.9
<b>10</b>	27.3 ± 0.9*	147.3 ± 0.4*	3.8 ± 0.1*	109.3 ± 0.9	14.7 ± 0.8
<b>20</b>	30.8 ± 0.8*	149.0 ± 0.4*	3.6 ± 0.1*	108.2 ± 0.8	14.0 ± 0.9
<b>30</b>	33.8 ± 0.8*	151.3 ± 0.4*	3.4 ± 0.1*	107.5 ± 0.7	13.7 ± 0.9
<b>40</b>	35.5 ± 1.1*	152.7 ± 0.6*	3.4 ± 0.1*	107.0 ± 0.9	13.4 ± 0.9
<b>50</b>	38.5 ± 0.9*	155.0 ± 0.6*	3.3 ± 0.1*	106.4 ± 0.7*	13.2 ± 1.1
<b>60</b>	40.7 ± 0.7*	157.5 ± 0.4*	3.2 ± 0.1*	106.0 ± 0.7*	14.2 ± 1.0
<b>65</b>	41.0 ± 0.9*	157.6 ± 0.6*	3.1 ± 0.1*	106.0 ± 1.1*	13.8 ± 1.0
<b>70</b>	42.4 ± 0.9*	159.2 ± 0.6*	3.1 ± 0.1*	105.8 ± 0.7*	14.2 ± 0.8
<b>75</b>	42.3 ± 0.9*	160.0 ± 0.9*	3.0 ± 0.1*	105.8 ± 1.0*	15.0 ± 1.0
<b>80</b>	43.8 ± 0.9*	161.5 ± 0.8*	3.1 ± 0.1*	105.3 ± 0.7*	15.6 ± 0.9
<b>85</b>	43.7 ± 1.0*	161.7 ± 1.1*	2.9 ± 0.1*	105.5 ± 1.1*	16.3 ± 1.2
<b>90</b>	45.5 ± 1.0*	163.7 ± 1.0*	2.9 ± 0.1*	105.0 ± 0.8*	16.8 ± 1.0
<b>100</b>	49.0 ± 0.9*	168.0 ± 0.6*	2.9 ± 0.1*	105.4 ± 1.0*	17.3 ± 1.3
<b>110</b>	50.8 ± 0.9*	170.9 ± 0.9*	2.9 ± 0.1*	105.6 ± 1.2*	18.0 ± 1.3
<b>120</b>	52.7 ± 1.1*	172.6 ± 1.0*	2.9 ± 0.1*	105.4 ± 1.2*	18.5 ± 1.5

**Tabla 8:** Valores (media ± ES) de bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), sodio (Na<sup>+</sup>), potasio (K<sup>+</sup>), cloro (Cl<sup>-</sup>) y anion gap (AG) del Grupo IV: Alcalosis Metabólica. \* p<0.05 con respecto al grupo Control en el mismo tiempo (t-test no pareado).

Al analizar las variaciones que sufren las variables independientes del estado ácido-base en los perros sometidos a Alcalosis Metabólica (Tabla 9), se observó un incremento en los valores de  $PCO_2$ . A pesar de que en estos perros la ventilación se mantuvo constante, se produjo una elevación significativa de  $PCO_2$ , que evolucionó desde unos niveles basales de  $34.1 \pm 1.0$  mmHg hasta  $45.1 \pm 1.7$  mmHg, al final del experimento.

Como cabía esperar, la variable independiente que se altera de forma más marcada es el SID. Este parámetro experimentó un notable incremento a lo largo de la experiencia. Así, partiendo de niveles basales de  $36.7 \pm 1.0$  mEq/l, que no difieren significativamente de los del grupo Control, el SID se fue elevando progresivamente hasta alcanzar valores finales que prácticamente duplican los basales ( $71.1 \pm 0.5$  mEq/l). Todos los valores de SID registrados a partir del minuto 10 fueron significativamente más altos que los del grupo Control.

La concentración de ácidos débiles no volátiles (At) no experimentó grandes variaciones en los perros sometidos a Alcalosis Metabólica. Aunque no se detectó una tendencia a la elevación de At, de forma puntual, se registraron 2 valores significativamente más elevados.

Finalmente, ni los valores de  $PO_2$  y ni la concentración de albúmina experimentaron cambios significativos a lo largo de los experimentos.

<b>TIEMPO (minutos)</b>	<b>PO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	<b>PCO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	<b>SID (mEq/l)</b>	<b>At (mEq/l)</b>	<b>Alb (g/dl)</b>
<b>-15</b>	109.0 ± 6.7	34.4 ± 0.9	35.8 ± 1.2	9.5 ± 0.4	2.8 ± 0.1
<b>-10</b>	110.1 ± 7.2	34.1 ± 0.9	36.5 ± 1.0	8.8 ± 0.3	2.5 ± 0.1
<b>-5</b>	106.7 ± 6.2	33.9 ± 0.9	36.5 ± 1.2	9.0 ± 0.4	2.5 ± 0.1
<b>0</b>	107.6 ± 5.9	34.1 ± 1.0	36.7 ± 1.0	8.7 ± 0.5	2.5 ± 0.1
<b>10</b>	105.3 ± 5.5	38.0 ± 1.1*	42.2 ± 1.0*	9.0 ± 0.3	2.5 ± 0.1
<b>20</b>	108.4 ± 6.4	38.7 ± 1.3*	44.6 ± 1.0*	9.3 ± 0.4	2.5 ± 0.1
<b>30</b>	106.0 ± 6.3	39.4 ± 1.2*	47.2 ± 1.1*	9.3 ± 0.5	2.5 ± 0.2
<b>40</b>	104.9 ± 6.5	40.0 ± 1.2*	49.4 ± 1.1*	9.5 ± 0.4	2.5 ± 0.1
<b>50</b>	104.5 ± 7.0	41.1 ± 1.2*	51.8 ± 1.1*	9.3 ± 0.3	2.4 ± 0.1
<b>60</b>	108.4 ± 8.7	42.5 ± 1.2*	54.8 ± 0.9*	9.4 ± 0.4	2.4 ± 0.1
<b>65</b>	108.6 ± 7.4	42.5 ± 1.4*	54.7 ± 0.9*	9.1 ± 0.3	2.3 ± 0.1
<b>70</b>	105.9 ± 7.9	42.2 ± 1.0*	56.5 ± 0.8*	9.2 ± 0.4	2.3 ± 0.1
<b>75</b>	112.5 ± 9.4	43.2 ± 1.3*	57.3 ± 1.1*	9.4 ± 0.6	2.4 ± 0.2
<b>80</b>	106.1 ± 8.7	43.2 ± 1.0*	59.2 ± 1.0*	9.8 ± 0.4*	2.5 ± 0.1
<b>85</b>	106.0 ± 8.6	43.2 ± 1.2*	59.8 ± 1.3*	8.9 ± 0.2	2.2 ± 0.1
<b>90</b>	103.7 ± 8.2	44.9 ± 1.2*	62.0 ± 1.1*	9.3 ± 0.3*	2.4 ± 0.1
<b>100</b>	94.2 ± 8.9	45.1 ± 1.5*	66.2 ± 0.7*	9.1 ± 0.4	2.3 ± 0.1
<b>110</b>	96.0 ± 9.6	45.0 ± 1.7*	68.9 ± 0.4*	9.7 ± 0.5	2.4 ± 0.1
<b>120</b>	95.1 ± 8.9	45.1 ± 1.7*	71.1 ± 0.5*	9.3 ± 0.5	2.3 ± 0.1

**Tabla 9:** Valores (media ± ES) de PO<sub>2</sub>, PCO<sub>2</sub>, diferencia de iones fuertes (SID), ácidos débiles no volátiles (At) y albúmina plasmática (Alb) del Grupo IV: Alcalosis Metabólica. \*  $p < 0.05$  con respecto al Grupo I: Control, en el mismo tiempo (t-test no pareado).

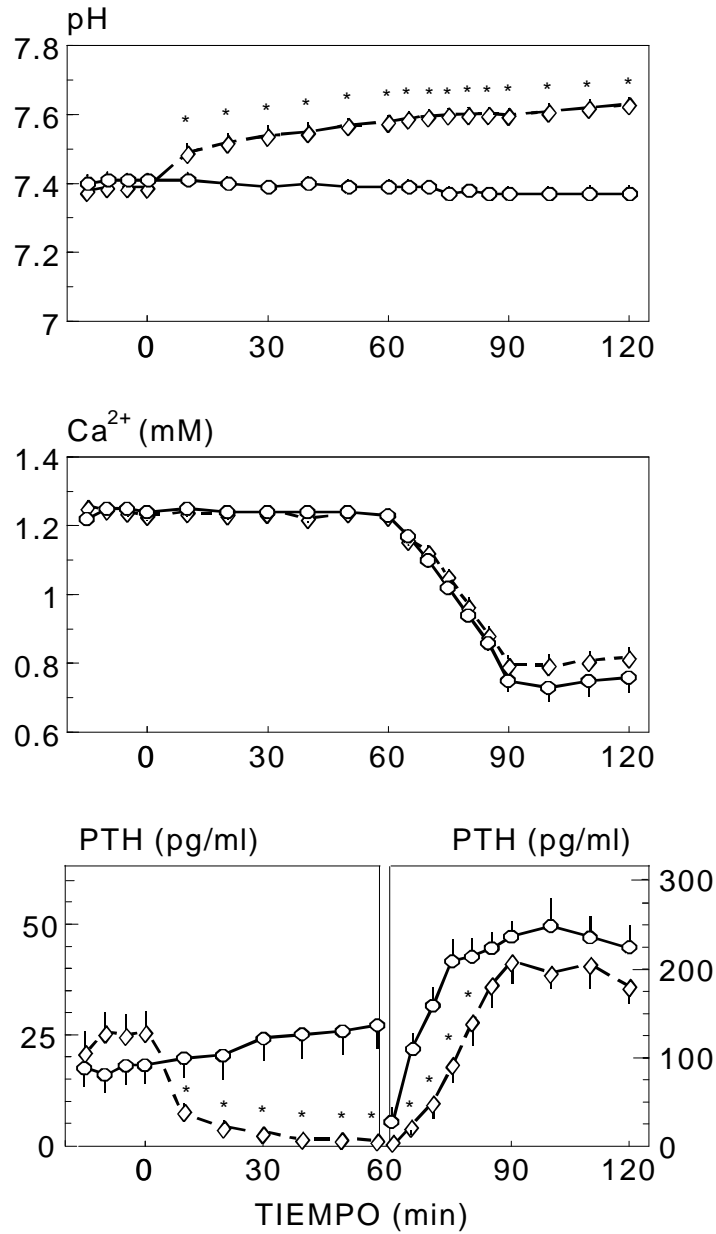
### **Grupo V: Alcalosis Respiratoria**

En los perros de este grupo, el pH sanguíneo se incrementó de forma significativa con respecto al grupo Control. Así, partiendo de un valor basal de  $7.38 \pm 0.02$  se alcanzaron niveles de  $7.59 \pm 0.02$ , en la primera hora de los experimentos, y de  $7.63 \pm 0.02$ , al final de los mismos. Desde el minuto 10 hasta el final de la experiencia los valores de pH fueron significativamente más elevados que los del grupo Control (Figura 29).

La infusión de una pequeña cantidad de  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  consiguió mantener la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  prácticamente constante durante la primera hora, en niveles muy cercanos a los basales ( $1.23 \pm 0.01$  mmol/l). En la segunda hora, se produjo un descenso de  $\text{Ca}^{2+}$  prácticamente idéntico al observado en el grupo Control. La concentración mínima de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $0.79 \pm 0.02$  mmol/l, se mantuvo estable desde el minuto 90 hasta el final de la experiencia. Al igual que en el resto de los grupos, no se detectaron diferencias significativas con respecto al grupo Control en los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  de los perros sometidos a Alcalosis Respiratoria.

La concentración plasmática de PTH se redujo de forma considerable justo después de iniciarse el protocolo de Alcalosis Respiratoria. Así, partiendo de una concentración basal media de  $26.9 \pm 7.1$  pg/ml, que no presentaba diferencias significativas respecto de la del grupo Control, los niveles de PTH prácticamente llegaron a suprimirse, alcanzando una concentración de  $1.8 \pm 0.6$  pg/ml en el minuto 60. Todos los valores de PTH registrados durante la primera hora fueron significativamente más bajos en el grupo de Alcalosis Respiratoria que en el grupo Control. Durante el periodo de hipocalcemia, en el grupo de Alcalosis Respiratoria, los niveles de PTH se mantuvieron por debajo de los del grupo Control hasta el minuto 90. En este punto se alcanzó la concentración máxima de PTH,  $209.6 \pm 26.1$  pg/ml, la cual no difiere significativamente de la del grupo Control.





**Figura 29.** Valores de pH, Calcio iónico ( $Ca^{2+}$ ) y Hormona Paratiroidea (PTH) en los perros del Grupo V: Alcalosis Respiratoria ( $\diamond$ ). \*  $p < 0.05$  con respecto al Grupo I: Control ( $\circ$ ) en el mismo tiempo (t-test no pareado).

En la Tabla 10 se observa que en los perros sometidos a Alcalosis Respiratoria se produjo un descenso en los niveles plasmáticos de bicarbonato. La bicarbonatemia se redujo, desde unos niveles basales de  $19.9 \pm 1.0$  mEq/l, hasta  $11.3 \pm 0.9$  mEq/l, al final de los experimentos. Todos los valores de bicarbonato registrados a partir del minuto 10 fueron significativamente más bajos que los del grupo Control.

La concentración plasmática del resto de los electrólitos no manifestó grandes variaciones a lo largo de los experimentos. Aunque se registraron diferencias significativas con respecto al grupo Control, la disminución en la natremia fue muy moderada. El descenso de sodio con respecto a los niveles basales,  $140.3 \pm 1.0$  mEq/l, no fue significativo y nunca fue superior a 1.5 mEq/l. En cuanto al  $K^+$ , sus niveles presentaron una tendencia levemente descendente, muy similar a la observada en los perros del grupo Control (desde un valor basal de  $4.2 \pm 0.1$  mEq/l hasta  $3.4 \pm 0.1$  mEq/l), presentando diferencias significativas respecto de esos valores basales desde el minuto 40. Con respecto al  $Cl^-$ , se registró una pequeña aunque progresiva elevación en su concentración plasmática respecto de los valores basales, pero no se llegaron a alcanzar valores significativamente superiores a los medidos en el grupo Control.

Finalmente, debido a que el descenso de bicarbonato que se produjo en este grupo fue de mayor magnitud que el aumento de  $Cl^-$ , el *anion gap* sufrió un ligero aumento a lo largo del experimento. Esta elevación del *anion gap* presenta significación estadística, con respecto a los niveles del grupo Control, a partir del minuto 50 de la experiencia.

TIEMPO (minutos)	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mEq/l)	Na <sup>+</sup> (mEq/l)	K <sup>+</sup> (mEq/l)	Cl <sup>-</sup> (mEq/l)	AG (mEq/l)
<b>-15</b>	19.9 ± 1.0	140.1 ± 0.6	4.3 ± 0.1	108.4 ± 0.8	16.1 ± 0.9
<b>-10</b>	19.9 ± 1.0	140.6 ± 0.7	4.2 ± 0.1	108.7 ± 0.8	16.2 ± 0.7
<b>-5</b>	19.9 ± 0.9	140.7 ± 0.6	4.2 ± 0.1	108.8 ± 1.0	16.2 ± 0.7
<b>0</b>	19.9 ± 1.0	140.3 ± 0.7	4.2 ± 0.1	108.5 ± 0.8	16.0 ± 0.6
<b>10</b>	18.4 ± 0.7*	140.0 ± 0.6	4.1 ± 0.1	109.7 ± 0.9	16.1 ± 0.5
<b>20</b>	17.5 ± 0.5*	139.4 ± 0.7*	4.1 ± 0.1	109.9 ± 1.0	16.1 ± 0.5
<b>30</b>	16.6 ± 0.5*	139.5 ± 0.6*	4.0 ± 0.1	110.1 ± 0.8	16.8 ± 0.5
<b>40</b>	15.9 ± 0.5*	139.3 ± 0.6*	4.0 ± 0.1	110.1 ± 0.8	17.1 ± 0.3
<b>50</b>	15.1 ± 0.5*	139.2 ± 0.5*	3.9 ± 0.1	110.5 ± 0.9	17.5 ± 0.5*
<b>60</b>	14.5 ± 0.5*	139.0 ± 0.6*	3.9 ± 0.1	110.6 ± 0.8	17.7 ± 0.6*
<b>65</b>	13.9 ± 0.5*	139.2 ± 0.7*	3.9 ± 0.1	110.5 ± 0.9	18.7 ± 0.6*
<b>70</b>	13.7 ± 0.5*	139.6 ± 0.5*	3.8 ± 0.1	111.0 ± 0.8	18.6 ± 0.6*
<b>75</b>	13.3 ± 0.5*	139.5 ± 0.5	3.7 ± 0.1	111.2 ± 1.0	18.7 ± 0.8*
<b>80</b>	13.0 ± 0.5*	139.1 ± 0.5*	3.6 ± 0.1	110.9 ± 0.8	18.8 ± 0.7*
<b>85</b>	12.6 ± 0.6*	139.4 ± 0.7	3.6 ± 0.1	110.9 ± 0.8	19.5 ± 0.4*
<b>90</b>	12.4 ± 0.5*	139.6 ± 0.7*	3.5 ± 0.1	111.1 ± 1.0	19.6 ± 0.7*
<b>100</b>	12.1 ± 0.7*	140.4 ± 0.7	3.4 ± 0.1	112.1 ± 0.9	19.7 ± 1.1*
<b>110</b>	11.7 ± 0.8*	140.4 ± 0.5	3.4 ± 0.1	112.6 ± 0.9	19.5 ± 1.3*
<b>120</b>	11.3 ± 0.9*	140.6 ± 0.6	3.4 ± 0.1	113.1 ± 0.7	19.5 ± 1.5*

**Tabla 10:** Valores (media ± ES) de bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), sodio (Na<sup>+</sup>), potasio (K<sup>+</sup>), cloro (Cl<sup>-</sup>) y anion gap (AG) del Grupo V: Alcalosis Respiratoria. \* p<0.05 con respecto al grupo Control en el mismo tiempo (t-test no pareado).

Como observamos en la Tabla 11, se produjo una reducción considerable de los niveles de  $\text{PCO}_2$  a lo largo de los experimentos. La presión parcial de  $\text{PCO}_2$  bajó de forma progresiva desde  $34.0 \pm 0.7$  mmHg, en situación basal, hasta  $11.0 \pm 0.9$  mmHg, en el minuto 120. Los niveles de  $\text{PCO}_2$  fueron significativamente inferiores a los del grupo Control a partir del minuto 10.

El SID experimentó un ligero descenso a lo largo de la experiencia, obteniéndose valores significativamente inferiores a los del grupo Control a partir del minuto 20. No obstante, la disminución de SID es bastante moderada, no superando en ningún caso los 5 mEq/l.

No se han encontrado variaciones significativas en los niveles de At a lo largo de los experimentos. Los valores de este parámetro experimentaron pequeñas fluctuaciones alrededor de sus niveles basales,  $8.5 \pm 0.4$  mEq/l; sin embargo, al final de los experimentos se constató un leve descenso del At respecto de estos valores basales.

La cuantificación de la  $\text{PO}_2$  en la sangre arterial de los perros sometidos a Alcalosis Respiratoria permitió obtener unos niveles basales cercanos a 100 mm de Hg, similares a los recogidos en el grupo Control. En el transcurso de los experimentos se observó una moderada elevación de  $\text{PO}_2$  que tan sólo arrojó significación estadística en el minuto 40 de la experiencia.

Al igual que ocurrió en los demás grupos estudiados con anterioridad, la concentración de albúmina plasmática en los perros sometidos a Alcalosis Respiratoria permaneció prácticamente invariable a lo largo del las dos horas de experimento, fluctuando entre 2.5 y 2.3 g/dl.

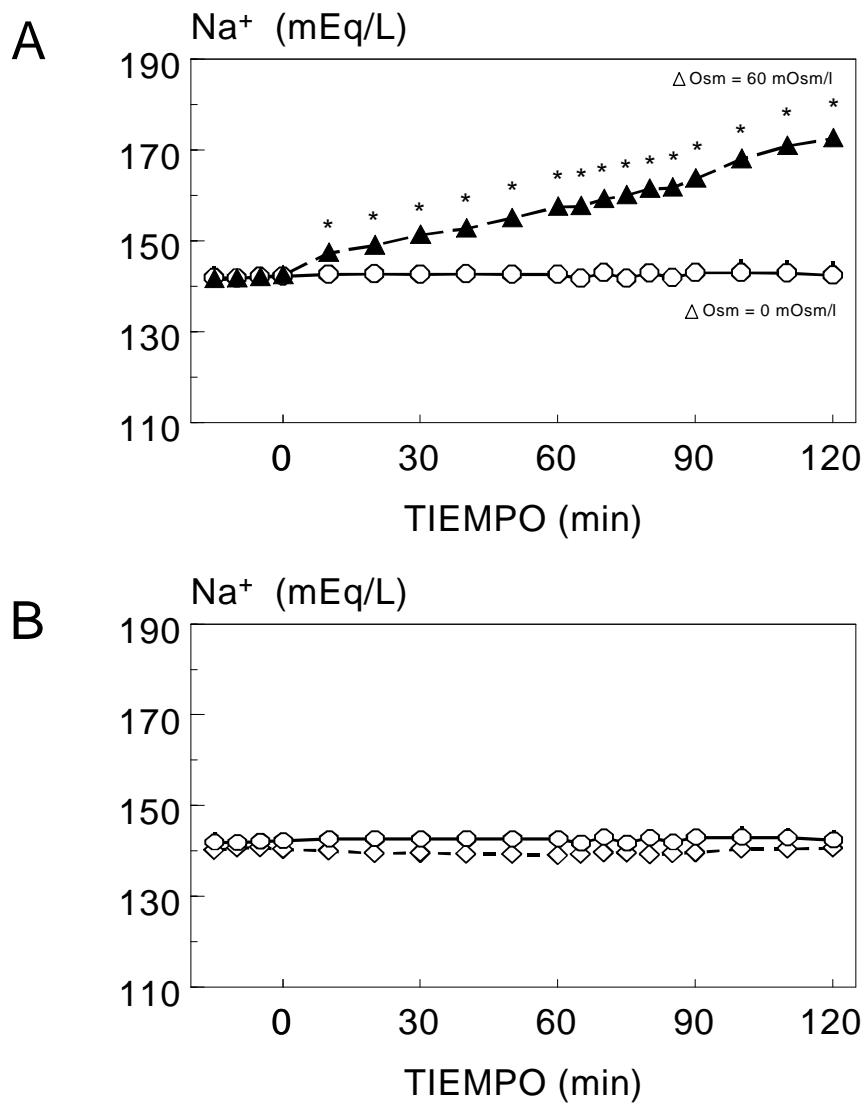
<b>TIEMPO (minutos)</b>	<b>PO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	<b>PCO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	<b>SID (mEq/l)</b>	<b>At (mEq/l)</b>	<b>Alb (g/dl)</b>
<b>-15</b>	93.3 ± 6.7	34.4 ± 0.8	36.0 ± 1.0	9.1 ± 0.5	2.6 ± 0.1
<b>-10</b>	92.5 ± 6.1	34.3 ± 0.8	36.1 ± 0.9	9.0 ± 0.4	2.5 ± 0.1
<b>-5</b>	93.3 ± 6.3	34.2 ± 0.7	36.1 ± 0.9	9.0 ± 0.4	2.5 ± 0.1
<b>0</b>	94.2 ± 6.3	34.0 ± 0.7	35.9 ± 0.8	8.5 ± 0.4	2.4 ± 0.1
<b>10</b>	109.3 ± 8.2	24.5 ± 1.2*	34.4 ± 0.8	9.4 ± 0.5	2.5 ± 0.1
<b>20</b>	111.2 ± 8.0	22.0 ± 1.0*	33.6 ± 0.7*	9.1 ± 0.4	2.4 ± 0.1
<b>30</b>	109.1 ± 5.3	20.0 ± 0.9*	33.4 ± 0.6*	9.4 ± 0.4	2.5 ± 0.1
<b>40</b>	111.3 ± 5.3*	19.2 ± 1.4*	33.0 ± 0.6*	9.2 ± 0.5	2.5 ± 0.1
<b>50</b>	109.3 ± 6.9	16.7 ± 0.5*	32.6 ± 0.6*	9.2 ± 0.4	2.5 ± 0.1
<b>60</b>	110.6 ± 6.2	15.6 ± 0.5*	32.2 ± 0.6*	8.9 ± 0.4	2.4 ± 0.1
<b>65</b>	114.2 ± 7.4	14.7 ± 0.4*	32.6 ± 0.5*	8.9 ± 0.3	2.4 ± 0.1
<b>70</b>	111.6 ± 7.2	14.3 ± 0.3*	32.3 ± 0.4*	8.7 ± 0.5	2.4 ± 0.1
<b>75</b>	114.1 ± 7.0	13.8 ± 0.4*	31.9 ± 0.7*	8.4 ± 0.4	2.3 ± 0.1
<b>80</b>	118.8 ± 6.9	13.4 ± 0.3*	31.8 ± 0.6*	8.9 ± 0.3	2.5 ± 0.1
<b>85</b>	118.6 ± 7.7	13.0 ± 0.4*	32.1 ± 0.4*	8.3 ± 0.3	2.3 ± 0.1
<b>90</b>	116.0 ± 6.2	12.9 ± 0.4*	32.0 ± 0.5*	8.3 ± 0.3	2.4 ± 0.1
<b>100</b>	121.9 ± 6.6	12.3 ± 0.6*	31.7 ± 0.7*	8.0 ± 0.4	2.3 ± 0.1
<b>110</b>	122.1 ± 6.7	11.6 ± 0.7*	31.2 ± 0.8*	7.8 ± 0.4	2.3 ± 0.1
<b>120</b>	122.4 ± 7.6	11.0 ± 0.9*	30.8 ± 0.9*	7.8 ± 0.4	2.3 ± 0.1

**Tabla 11:** Valores (media ± ES) de PO<sub>2</sub>, PCO<sub>2</sub>, diferencia de iones fuertes (SID), ácidos débiles no volátiles (At) y albúmina plasmática (Alb) del Grupo V: Alcalosis Respiratoria. \*  $p < 0.05$  con respecto al Grupo I: Control, en el mismo tiempo (t-test no pareado).

Al analizar los valores de la Tabla 8, se aprecia que en los perros sometidos a Alcalosis Metabólica se produjeron notables incrementos en las concentraciones plasmáticas de bicarbonato y de sodio. Estos cambios iónicos, consecuencia de la infusión intravenosa de gran cantidad de  $\text{NaHCO}_3$ , eran previsibles y necesarios para producir el incremento de pH sanguíneo deseado. Sin embargo, la gran elevación de  $\text{Na}^+$  y de  $\text{HCO}_3^-$  en los perros con Alcalosis Metabólica, también dio lugar a un notable aumento de la osmolaridad plasmática.

En la Figura 30 se presenta la evolución de la natremia, a lo largo del tiempo, en los grupos Control, Alcalosis Metabólica y Alcalosis Respiratoria. Como se aprecia, en el grupo de Alcalosis Metabólica se produjo un incremento en los niveles plasmáticos de  $\text{Na}^+$  que determinó una elevación en la osmolaridad del plasma de aproximadamente 60 mOsmol/l.

Aunque la relación entre osmolaridad plasmática y secreción de PTH es un tema controvertido y poco estudiado, existen referencias bibliográficas que sugieren que los cambios de osmolaridad y de fuerza iónica pueden influir en la secreción de PTH. Por ello, nos pareció importante descartar la interferencia de este fenómeno en nuestro estudio. Con este objetivo, se diseñó un nuevo grupo experimental en el que se elevase la osmolaridad plasmática, incrementando los niveles de  $\text{Na}^+$  igual que en el grupo de Alcalosis Metabólica, sin que se produjeran cambios en el pH sanguíneo. De esta forma se puede estudiar la respuesta de las glándulas paratiroides a una situación de hipertonicidad plasmática y diferenciarla del efecto de la Alcalosis Metabólica.



**Figura 30.** **A.** Niveles de Na<sup>+</sup> en el grupo Control (○) y en el grupo Alcalosis Metabólica (▲). **B** Niveles de Na<sup>+</sup> en el grupo Control (○) y en el grupo Alcalosis Respiratoria (◇). \*  $p < 0.05$  respecto del grupo Control en el mismo tiempo (*t*-test no pareado).

### **Grupo VI: Control Hiperosmolar**

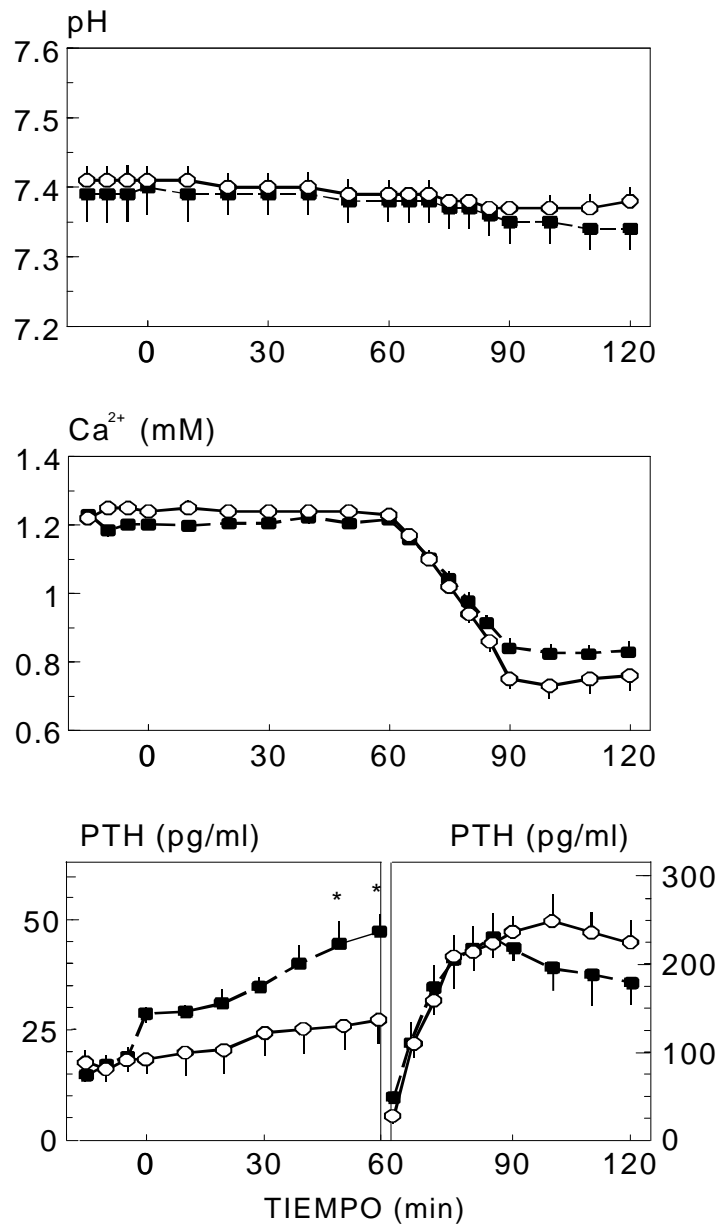
Al realizar experimentos preliminares en los que se infundió solución hipertónica de NaCl, se observó que el pH sufría un ligero descenso a lo largo de las dos horas de la experiencia. Por ello fue necesario modificar esta solución hipertónica, adicionando una pequeña cantidad de NaHCO<sub>3</sub>, con el fin de prevenir el descenso del pH sanguíneo.

De esta forma, como se aprecia en la Figura 31, se consiguió que el pH se mantuviera estable durante todo el experimento. Además, los niveles de pH del Grupo VI no mostraron diferencias significativas con respecto al grupo Control en ningún punto del experimento.

En este grupo, los valores basales de Ca<sup>2+</sup> fueron  $1.21 \pm 0.02$  mmol/l. Gracias a la infusión de una solución de Cl<sub>2</sub>Ca se mantuvieron estables durante la primera hora del experimento, mostrando fluctuaciones inferiores a 0.02 mmol/l. El descenso de Ca<sup>2+</sup> durante la siguiente hora fue muy similar a la producida en el grupo Control. Los valores de Ca<sup>2+</sup> registrados en los perros del Grupo VI no mostraron diferencias significativas respecto del grupo Control .

En cuanto a la PTH, durante la primera hora de clamp normocalcémico, se observó un ligero incremento en su concentración plasmática. El aumento en los niveles de PTH del grupo Control Hiperosmolar es significativo, comparado con el grupo Control Normosmolar, en los minutos 50 y 60 del experimento. A partir del minuto 60, con la inducción de hipocalcemia, los niveles de PTH del Grupo VI evolucionaron de forma muy parecida a los del grupo Control, alcanzándose una concentración máxima de  $228.3 \pm 39.4$  pg/ml.





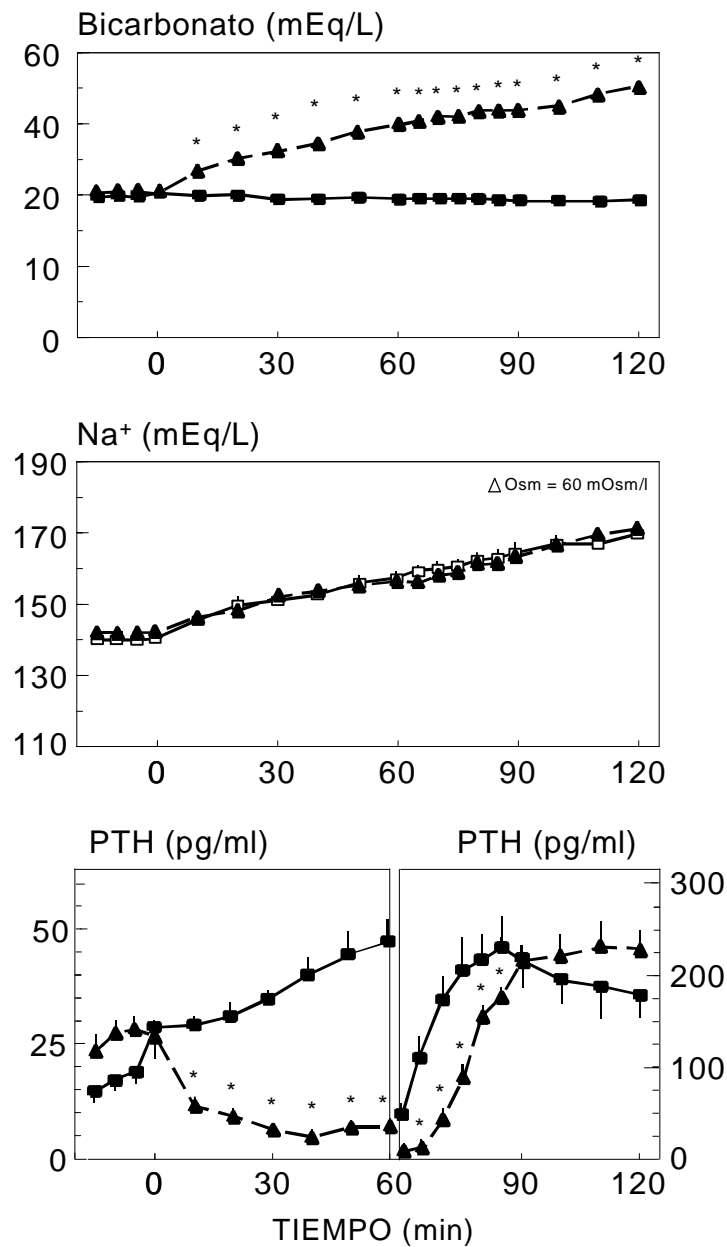
**Figura 31.** Valores de pH, Calcio iónico ( $Ca^{2+}$ ) y Hormona Paratiroidea (PTH) en los perros del Grupo VI: Control Hiperosmolar (■). \*  $p < 0.05$  con respecto al Grupo Control (○) en el mismo tiempo (t-test no pareado).

En la Figura 32 se presenta, de forma comparada, la evolución de las concentraciones plasmáticas de bicarbonato, sodio y PTH en el grupo de Alcalosis Metabólica y en el grupo Control Hiperosmolar.

Los niveles de bicarbonato, que en el grupo de Alcalosis Metabólica ascendieron progresivamente hasta alcanzar niveles de  $52.7 \pm 1.1$  mEq/l, se mantuvieron constantes en el grupo Control Hiperosmolar, fluctuando muy poco alrededor del nivel basal,  $19.9 \pm 0.7$  mEq/l.

La evolución de la natremia, por el contrario, es prácticamente idéntica en los dos grupos y no se aprecian diferencias significativas entre ambos. Partiendo de unos niveles basales muy similares:  $141.0 \pm 1.2$  mEq/l, en el grupo Control Hiperosmolar, y  $142.4 \pm 0.5$  mEq/l, en el grupo de Alcalosis Metabólica, los niveles de Na se elevaron hasta alcanzar en valores ligeramente superiores a 170 mEq/l.

Durante el periodo de normocalcemia, la concentración plasmática de PTH cambió en direcciones opuestas en estos grupos. En el grupo de Alcalosis Metabólica, como ya se había descrito con anterioridad, los niveles de PTH experimentaron una reducción progresiva. En el grupo Control Hiperosmolar, por el contrario, se observó una tendencia ascendente. Todos los valores de PTH registrados desde minuto 10 hasta el minuto 60 difirieron significativamente. En la fase hipocalcémica, la concentración de PTH en el grupo de Alcalosis Metabólica continuó siendo significativamente más baja que la del grupo Control Hiperosmolar hasta el minuto 85. A partir de este momento desaparecieron las diferencias registrándose una PTH muy similar en ambos grupos ( $232 \pm 31.6$  pg/ml y  $228.3 \pm 39.4$  pg/ml).



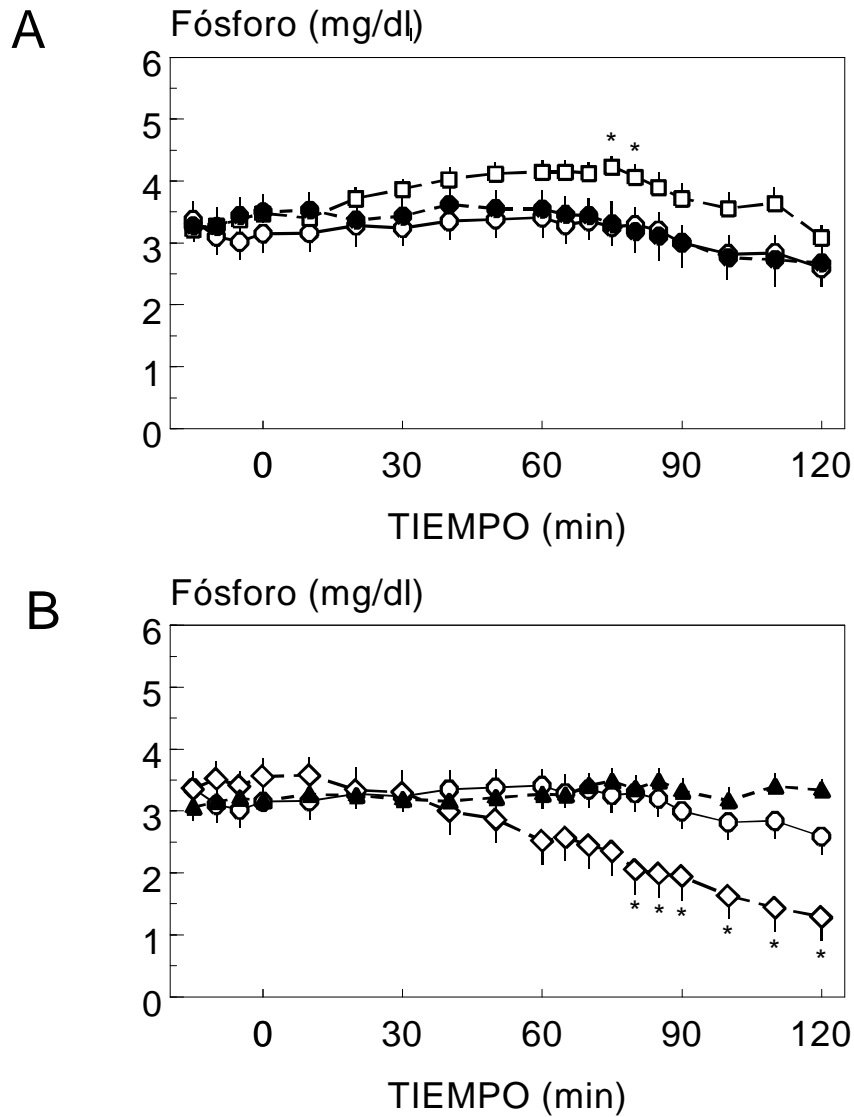
**Figura 32.** Valores de bicarbonato, sodio (Na<sup>+</sup>) y Hormona Paratiroidea (PTH) del Grupo IV: Alcalosis Metabólica (▲) y del Grupo VI: Control Hiperosmolar (■) \*p<0.05 en el mismo tiempo (t-test no pareado).

Finalmente, se presenta la evolución de los niveles de fósforo inorgánico a lo largo de los experimentos. Debido a su especial relevancia en la secreción de PTH, hemos preferido presentar los datos de fósforo independientemente del resto de los electrolitos. Así, en la Figura 33 aparecen los resultados de las mediciones de fósforo realizadas en los grupos de Acidosis y de Alcalosis comparados con el grupo Control.

La concentración plasmática de fósforo inorgánico no sufrió modificaciones importantes en el grupo Control, manteniéndose estabilizada durante toda la experiencia en niveles en torno a 3 mg/dl.

Los niveles de fósforo también permanecieron estables en el grupo de Acidosis Metabólica, sin que se observaran diferencias significativas con respecto al Control. En el grupo de Acidosis Respiratoria se registró un ligero incremento de la fosforemia, midiéndose algunos valores por encima de 4 mg/dl. Esta elevación de fósforo sólo alcanzó significación estadística de forma transitoria en algunos momentos durante la fase de hipocalcemia.

En el grupo de Alcalosis Metabólica los niveles de fósforo inorgánico permanecieron invariables durante toda la experiencia, situándose alrededor de 3 mg/dl, sin que se apreciaran diferencias significativas con respecto al grupo Control. En los perros sometidos a Alcalosis Respiratoria, por el contrario, se observó un descenso progresivo de la fosfatemia. Estos animales, que tenían unos niveles basales similares a los del grupo Control,  $3.6 \pm 0.3$  mg/dl, experimentaron una disminución progresiva de la fosfatemia a lo largo de las dos horas de experimento, alcanzando un valor mínimo de  $1.3 \pm 0.3$  mg/dl, a los 120 minutos. Todos los valores de fósforo registrados en el grupo de Alcalosis Respiratoria a partir del minuto 80 son significativamente más bajos que los del grupo Control.



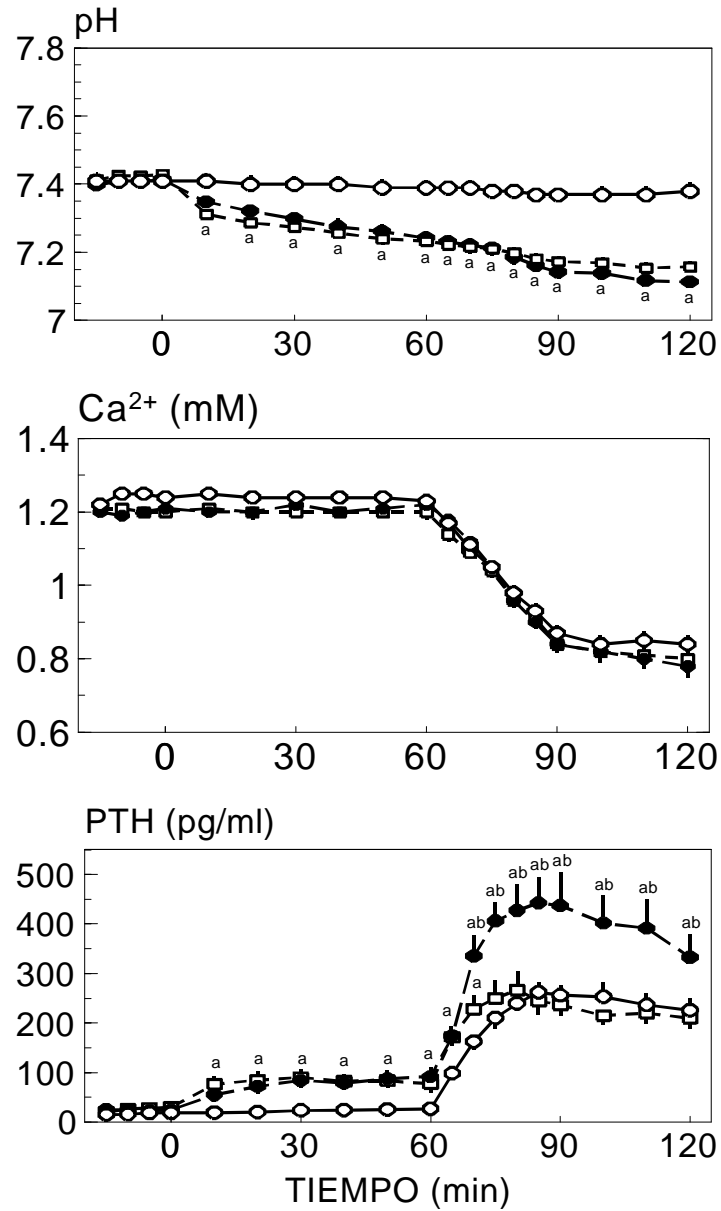
**Figura 33.** A. Valores de Fósforo en los grupos de Acidosis Metabólica: Grupo IIB (●) Acidosis Respiratoria: Grupo IIIB (□) y Control: Grupo I (○) B. Valores de Fósforo en los grupos de Alcalosis Metabólica: Grupo IV (▲), Alcalosis Respiratoria: Grupo V (◇) y Control: Grupo I (○), \*  $p < 0.05$  respecto del grupo Control en el mismo tiempo (*t*-test no pareado).

A continuación, se resumen los resultados obtenidos al estudiar el efecto del pH sobre la secreción de PTH. Con el fin de obtener una visión de conjunto, se presentan los datos de pH,  $\text{Ca}^{2+}$  y PTH comparando el grupo Control con los dos grupos de Acidosis, por un lado, y el grupo Control con los dos grupos de Alcalosis, por otro.

Como se observa en la Figura 34, el descenso de pH fue prácticamente idéntico en los dos grupos de Acidosis. Los niveles basales de pH en ambos grupos no diferían de los del grupo Control, pero a partir del minuto 10 ya se observó un pH significativamente más bajo en los grupos de Acidosis. Los valores de pH en los grupos de Acidosis se situaron alrededor de 7.2, en el minuto 60, y de 7.1 en el minuto 120.

No se observaron diferencias significativas en la concentración plasmática de  $\text{Ca}^{2+}$  a lo largo de toda la experiencia. Durante la primera hora la calcemia se mantuvo constante, en los niveles basales, tanto en el grupo Control como en los grupos de Acidosis (en estos últimos gracias a la infusión de EDTA). De la misma manera, la evolución de la calcemia durante la segunda hora de la experiencia fue prácticamente idéntica en los tres grupos.

Durante la primera hora de los experimentos (fase normocalcémica) se observó un incremento significativo en la concentración plasmática de PTH en los grupos de Acidosis. Los perros sometidos a Acidosis Metabólica y a Acidosis Respiratoria (con control de Mg) presentaron una concentración de PTH cercana a 100 pg/ml en normocalcemia. En esta fase no se apreciaron diferencias entre los dos tipos de acidosis. Durante la inducción de hipocalcemia, los niveles de PTH fueron muy similares en el Grupo Control y en el de Acidosis Respiratoria (alrededor de 250 pg/ml). En el grupo de Acidosis Metabólica, por el contrario, se registró una concentración de PTH significativamente más alta que en los otros dos grupos, llegando a alcanzar valores de 450 pg/ml.



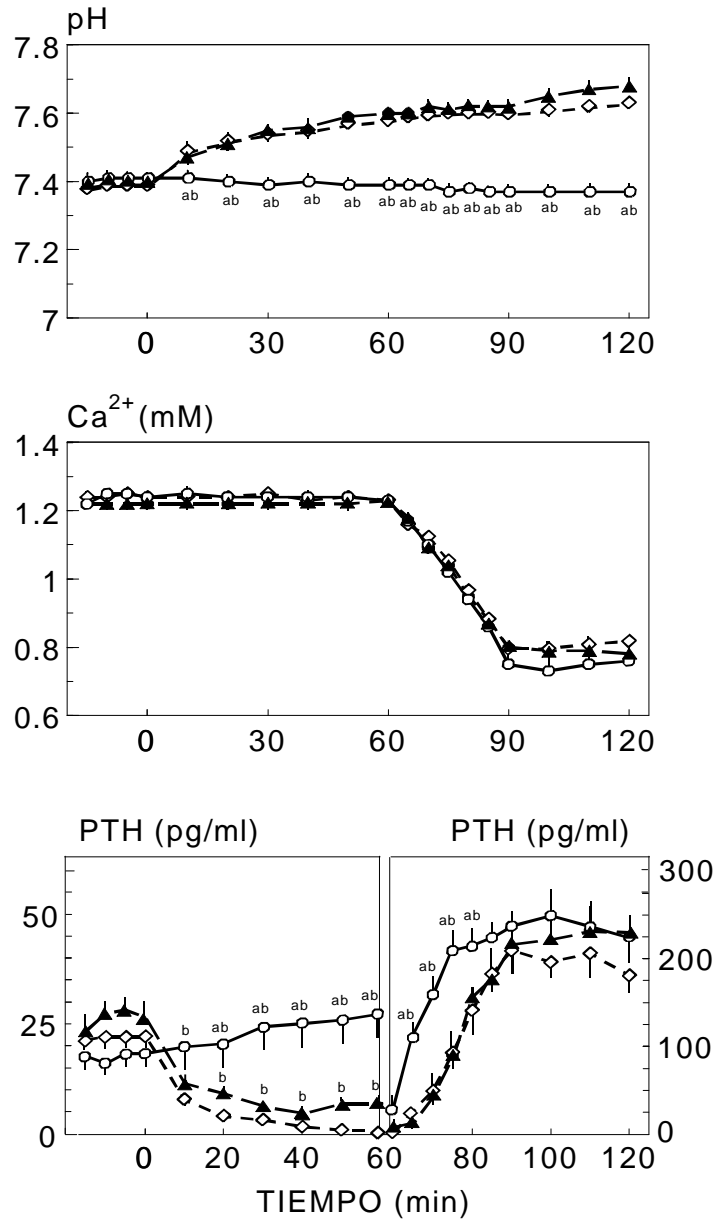
**Figura 34.** Valores de pH, Calcio iónico ( $Ca^{2+}$ ) y PTH en los grupos de Acidosis Metabólica: Grupo IIB (●), Acidosis Respiratoria: Grupo IIIB (□) y Control: Grupo I (○), <sup>a</sup>  $p < 0.05$  respecto del grupo Control, <sup>b</sup>  $p < 0.05$  respecto del grupo de Acidosis Respiratoria, en el mismo tiempo (*t*-test no pareado)

Al igual que sucedía en los grupos de Acidosis, la evolución del pH fue muy parecida en los grupos de Alcalosis Metabólica y Alcalosis Respiratoria (Figura 35). En ambos casos se produjo un incremento de pH que fue estadísticamente significativo a partir del minuto 10. Los valores de pH continuaron ascendiendo durante toda la experiencia alcanzando niveles cercanos a 7.70 al final de la misma.

La evolución de la calcemia fue prácticamente idéntica en el grupo Control y en los dos grupos de Alcalosis. Durante la primera hora de los experimentos, la concentración  $\text{Ca}^{2+}$  se mantuvo estabilizada en niveles basales tanto en el grupo Control como en los grupos de Alcalosis (en este caso gracias a la infusión simultánea de  $\text{CaCl}_2$ ). Asimismo, los tres grupos experimentaron una reducción en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  muy parecida durante la segunda hora de la experiencia.

Durante la fase normocalcémica se registró una disminución significativa en la concentración plasmática de PTH en los grupos de Alcalosis. A partir del minuto 10, los niveles de PTH en el grupo de Alcalosis Metabólica y en el grupo de Alcalosis Respiratoria fueron significativamente más bajos que los del grupo Control. La concentración plasmática de PTH llegó a disminuir por debajo de 5 pg/ml en los grupos de Alcalosis y el descenso de PTH fue más acusado en la Alcalosis Respiratoria. Durante la estimulación hipocalcémica, en la segunda hora de la experiencia, los grupos de Alcalosis mostraron valores de PTH inferiores a los del grupo Control entre los minutos 60 y 80, aunque la secreción máxima de PTH, alcanzada a partir del minuto 90, fue muy parecida en los tres grupos.





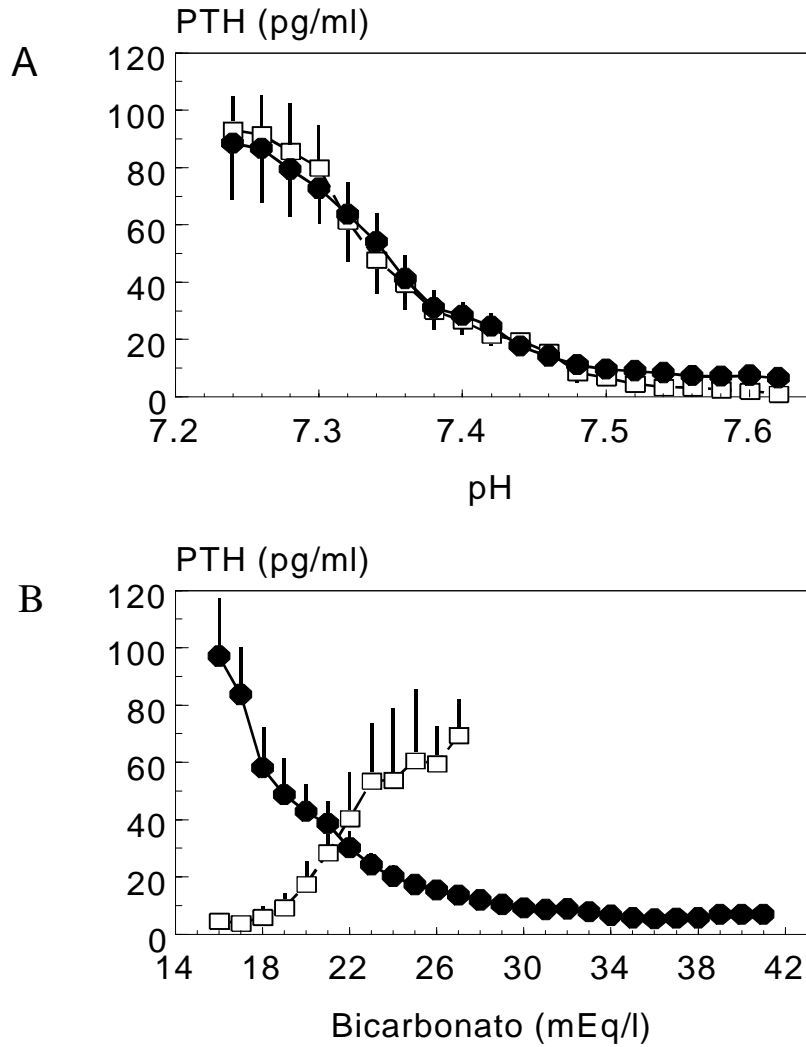
**Figura 35.** Valores de pH, Calcio iónico Ca<sup>2+</sup> y PTH en los grupos de Alcalosis Metabólica: Grupo IV (▲), Alcalosis Respiratoria: Grupo V (◇) y Control (○).

<sup>a</sup>  $p < 0.05$  respecto del grupo Alcalosis Metabólica, <sup>b</sup>  $p < 0.05$  respecto del grupo de Alcalosis Respiratoria, en el mismo tiempo (t-test no pareado)

Con el fin de relacionar la evolución de los distintos parámetros indicadores del estado ácido-base con la concentración de PTH encontrada, se han elaborado unas curvas pH-PTH y bicarbonato-PTH a partir de los valores extrapolados gráficamente en cada uno de los perros en la fase de normocalcemia. Además de estas curvas, se presenta también una representación gráfica, en forma de nube de puntos, de la relación entre PTH y  $\text{PCO}_2$ , SID y At, así como una tabla donde se expresa la relación de estas variables independientes con la PTH, a través de modelos de regresión múltiple.

En la Figura 36 se representan las curvas pH-PTH y bicarbonato-PTH, diferenciadas en procesos metabólicos y respiratorios. El coeficiente de correlación de Pearson muestra la existencia de una marcada correlación inversa entre la PTH y el pH en ambos tipos de procesos:  $r = -0.710$ ,  $p < 0.01$  (metabólicos), y  $r = -0.722$ ,  $p < 0.01$  (respiratorios). Así, un desplazamiento del pH desde un nivel fisiológico (7.38-7.42), en donde existen niveles de PTH entre 20 y 30 pg/ml, hacia el rango de acidosis (7.4  $\rightarrow$  7.2) produce un incremento en la concentración de PTH hasta niveles cercanos a los 90 pg/ml, en ambos tipos de procesos. Esencialmente, un descenso del pH sanguíneo de 0.01 unidad equivale, aproximadamente, a un incremento de 5 pg/ml de PTH. De forma inversa, cuando se produce una elevación del pH, elevándose por encima del fisiológico, se produce una reducción considerable en la concentración de PTH en ambos tipos de procesos, llegando prácticamente a suprimirse los niveles plasmáticos de esta hormona cuando se alcanza un pH de 7.6.

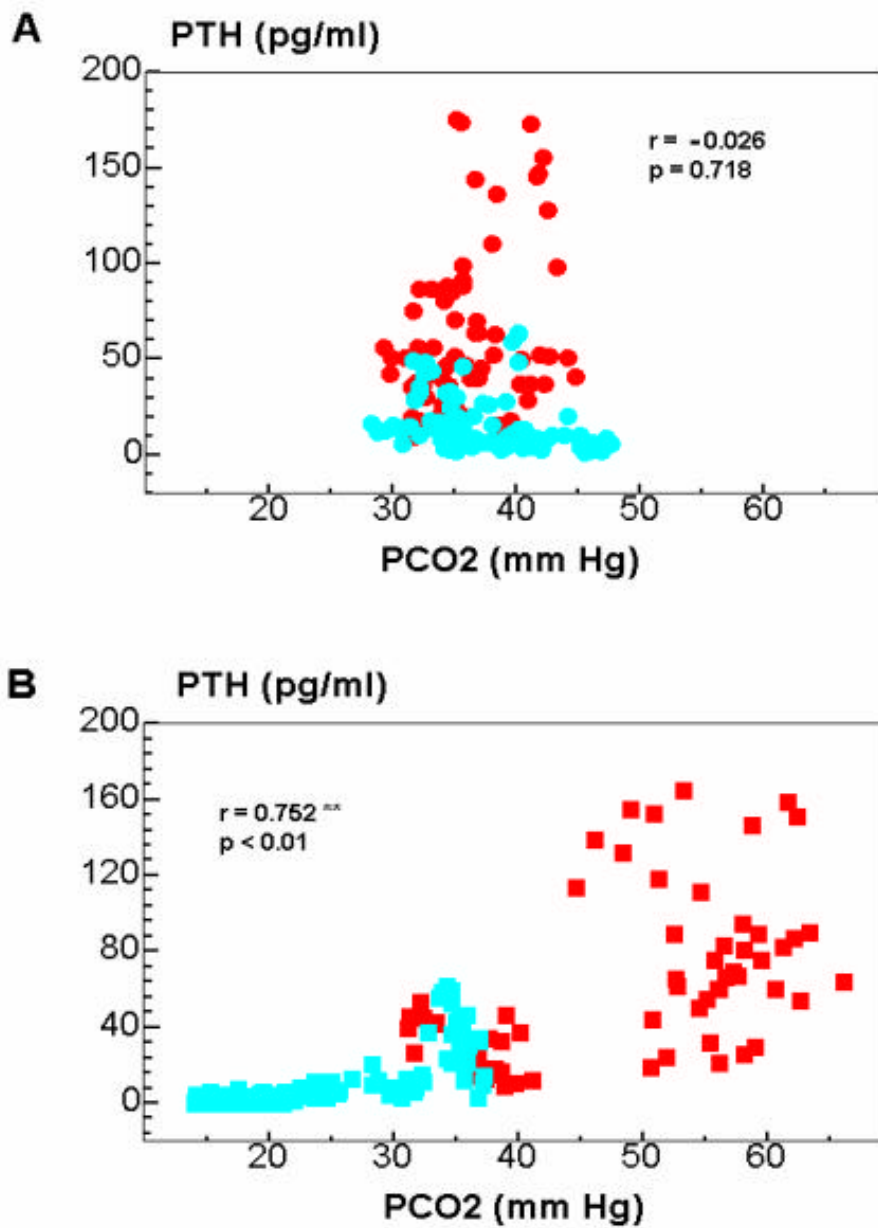
En el caso de la curva bicarbonato-PTH, como vemos en la Figura 36B, existe una marcada diferencia entre las alteraciones del pH de origen respiratorio y metabólico. En los procesos respiratorios la relación entre la PTH y el bicarbonato plasmático es similar a lo observado entre PTH y pH, una relación inversa con un coeficiente de correlación de Pearson  $r = -0.565$ ,  $p < 0.01$ . En cambio, en los procesos metabólicos encontramos que, a pesar de tener un rango de bicarbonato menor, existe una correlación directa entre la PTH y el bicarbonato ( $r = 0.537$ ,  $p < 0.01$ ).



**Figura 36.** A. Curva pH-PTH en los procesos metabólicos: Acidosis y Alcalosis Metabólica (●) y en los procesos respiratorios: Acidosis y Alcalosis Respiratoria (□) B. Curva bicarbonato-PTH en los procesos metabólicos: Acidosis y Alcalosis Metabólica (●) y en los procesos respiratorios: Acidosis y Alcalosis Respiratoria (□).

El análisis de la relación existente entre la PTH y los niveles de  $\text{PCO}_2$ , muestra que en el caso de los procesos metabólicos (Figura 37A) no hay una correlación aparente entre dichas variables, fenómeno que se confirma con el coeficiente de correlación de Pearson  $r = 0.026$ ,  $p = 0.718$ .

En el caso de los procesos respiratorios, en donde se dio un amplio rango de valores de  $\text{PCO}_2$ , se observa que existe una relación directa muy clara entre la PTH y los niveles de  $\text{PCO}_2$  plasmáticos (coeficiente de correlación  $0.752$ ,  $p < 0.01$ ) (Figura 37B). Así se obtienen los valores más elevados de PTH, hasta  $160 \text{ pg/ml}$ , con valores de  $\text{PCO}_2$  por encima de  $50 \text{ mm de Hg}$ , y valores de PTH cercanos a  $0$  cuando los niveles de  $\text{CO}_2$  se reducen por debajo de  $25 \text{ mm de Hg}$ . Esta correlación directa existe tanto en la Acidosis Respiratoria ( $r = 0.532$ ,  $p < 0.01$ ) como en la Alcalosis Respiratoria ( $r = 0.721$ ,  $p < 0.01$ ).

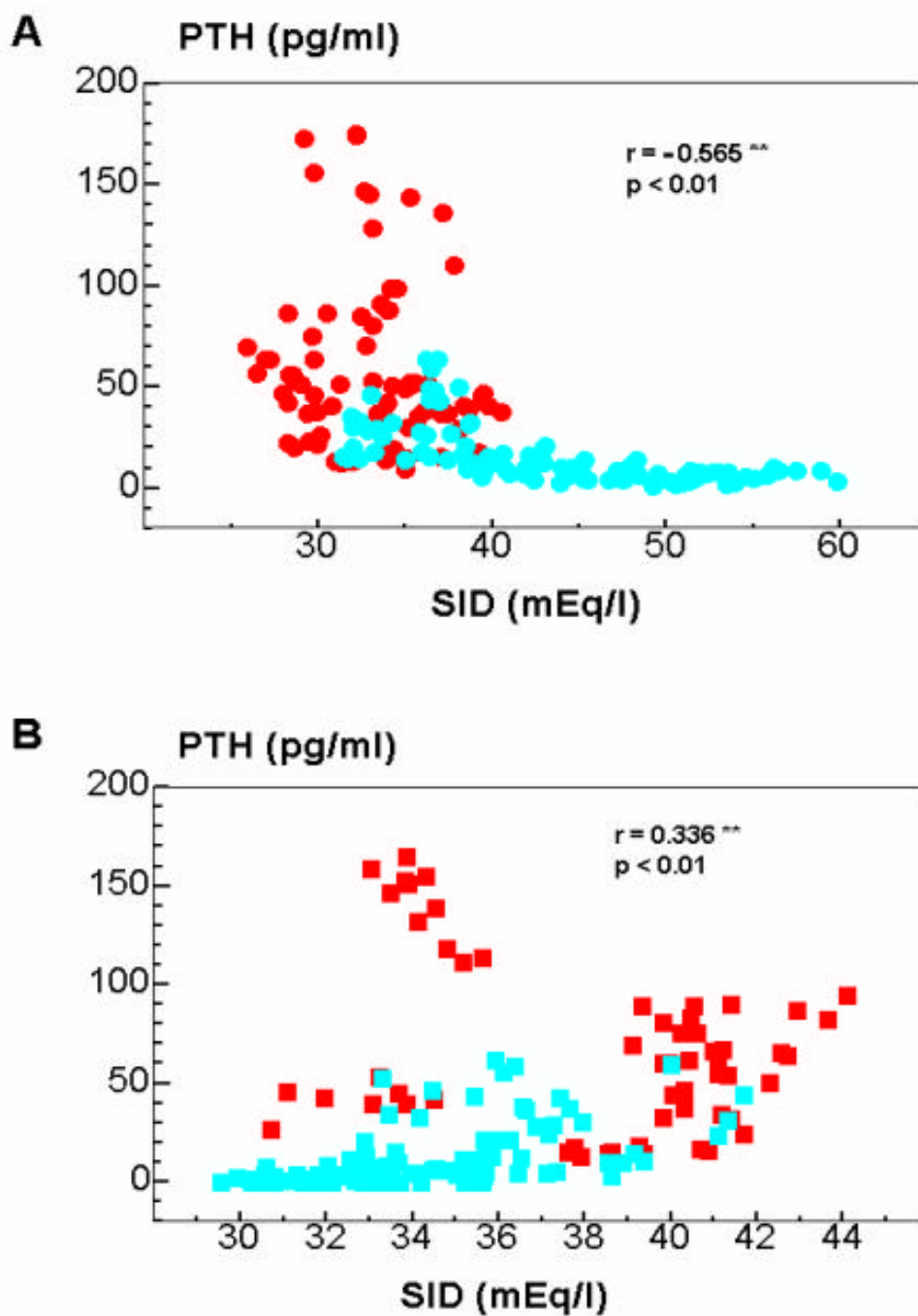


**Figura 37. A.** Relación en forma de nube de puntos entre la PCO<sub>2</sub> y la PTH en los procesos metabólicos: Acidosis Metabólica (●) y Alcalosis Metabólica (●).

**B.** Relación en forma de nube de puntos entre la PCO<sub>2</sub> y la PTH en los procesos respiratorios: Acidosis Respiratoria (■) y Alcalosis Respiratoira (■). *r*: coeficiente de correlación de Pearson.

Al relacionar mediante una correlación bivariable de Pearson las variables PTH y SID en los procesos metabólicos obtenemos un coeficiente  $r = 0.565$ ,  $p < 0.01$ , lo que demuestra la existencia en este tipo de procesos de una relación inversa bastante fuerte entre ambas variables. Los niveles más elevados de PTH se alcanzan cuando se produce un descenso en el SID por debajo de 35 mEq/l, mientras que la concentración plasmática de PTH se acerca a cero cuando el SID se eleva por encima de 45 mEq/l, Figura 38A.

Cuando se analiza esta misma correlación entre estas dos variables para los grupos con alteraciones respiratorias, aparece una correlación bastante más débil y en este caso positiva ( $r = 0.336$ ,  $p < 0.01$ ), es decir, existe una correlación directa entre la PTH y el SID en los procesos respiratorios. Si se observa la representación gráfica de esta relación en la Figura 38B, vemos que, aunque existen una serie de puntos pertenecientes a la acidosis respiratoria que parecen estar fuera de la tendencia general, la mayoría de los puntos con unos niveles más bajos de PTH se corresponden con valores de SID por debajo de los niveles fisiológicos.

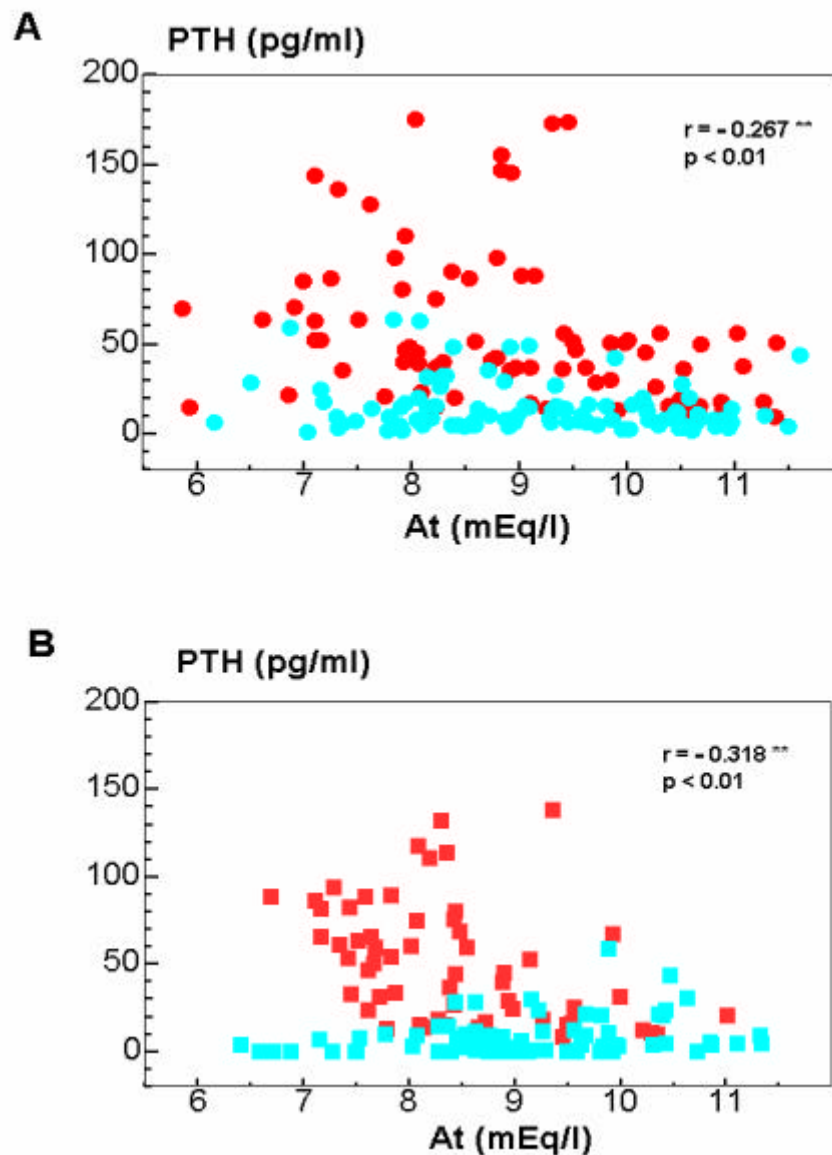


**Figura 38.** A. Relación en forma de nube de puntos entre el SID (diferencia de iones fuertes) y la PTH en los procesos metabólicos: Acidosis Metabólica (●) y Alcalosis Metabólica (●). B. Relación en forma de nube de puntos entre la SID y la PTH en los procesos respiratorios: Acidosis Respiratoria (■) y Alcalosis Respiratoria (■). *r*: coeficiente de correlación de Pearson.

Si se observa la Figura 39, en donde están expresadas gráficamente la relación entre la concentración de PTH y los niveles de ácidos débiles totales no volátiles (At), veremos que, aparentemente, la tendencia de los puntos no muestra una relación evidente entre ambas variables, tanto en los procesos metabólicos como en los respiratorios.

Cuando se analiza la correlación entre estas dos variables obtenemos unos coeficientes de correlación reducidos, que son muy parecidos en ambos tipos de procesos ( $r = -0.267$ ,  $p < 0.01$  en los procesos metabólicos,  $r = -0.318$ ,  $p < 0.01$ ). Estos coeficientes, aunque son significativos debido al elevado número de casos, indican una relación inversa bastante débil entre la PTH y el At.





**Figura 39 . A.** Relación en forma de nube de puntos entre la At (concentración total de ácidos débiles no volátiles) y la PTH en los procesos metabólicos: Acidosis Metabólica (●) y Alcalosis Metabólica (●). **B.** Relación en forma de nube de puntos entre la At y la PTH en los procesos respiratorios: Acidosis Respiratoria (■) y Alcalosis Respiratoira (■). *r*: coeficiente de correlación de Pearson.

En la tabla 12 se expresa la relación entre las variables independientes del análisis cuantitativo del estado ácido-base con los niveles de PTH en cada uno de los grupos estudiados en esta fase, a través de modelos de regresión múltiple. De esta manera se intenta analizar la contribución individual de cada una de estas variables en las varianzas de PTH.

Mediante el procedimiento de regresión múltiple “stepwise” se obtiene en el grupo de Acidosis Metabólica un modelo donde las variables SID,  $PCO_2$  y At explican estadísticamente el 44.1 % de la varianza de la PTH, de la cuál el 33.8 % se debe al SID, y el resto se reparte entre At (10.6 %) y  $PCO_2$  (1 %).

En el grupo de Acidosis Respiratoria obtenemos un modelo donde la  $PCO_2$  explica la mayor parte de la variación de PTH (37.5 %), y después está el SID con un 25.4 % y sólo un 1 % para el At.

Al aplicar este análisis de regresión múltiple en la Alcalosis Metabólica, observamos que las variables SID,  $PCO_2$  y At predicen el 38 % de la variación de PTH, siendo el SID la más importante (37.7 %), mientras que  $PCO_2$  y At apenas influyen.

Por último, en el grupo de Alcalosis Respiratoria la regresión múltiple revela que el 59.7 % de la variación de PTH se explica por las variables independientes del análisis cuantitativo del estado ácido base. En este caso, la  $PCO_2$  es la variable que predice la mayor parte de esa variación (50.6 %), después está la variable SID (8.1 %) y de nuevo la variable At es la que menos aporta al modelo (1 %).

La significación de este análisis mediante ANOVA fue en Acidosis Metabólica  $F= 4.443$ ,  $p<0.001$ ; en Acidosis Respiratoria  $F=25.582$ ,  $p<0.001$ ; en Alcalosis Metabólica  $F=17.557$ ,  $p<0.001$  y en Alcalosis Respiratoria  $F=35.567$ ,  $p<0.001$ .

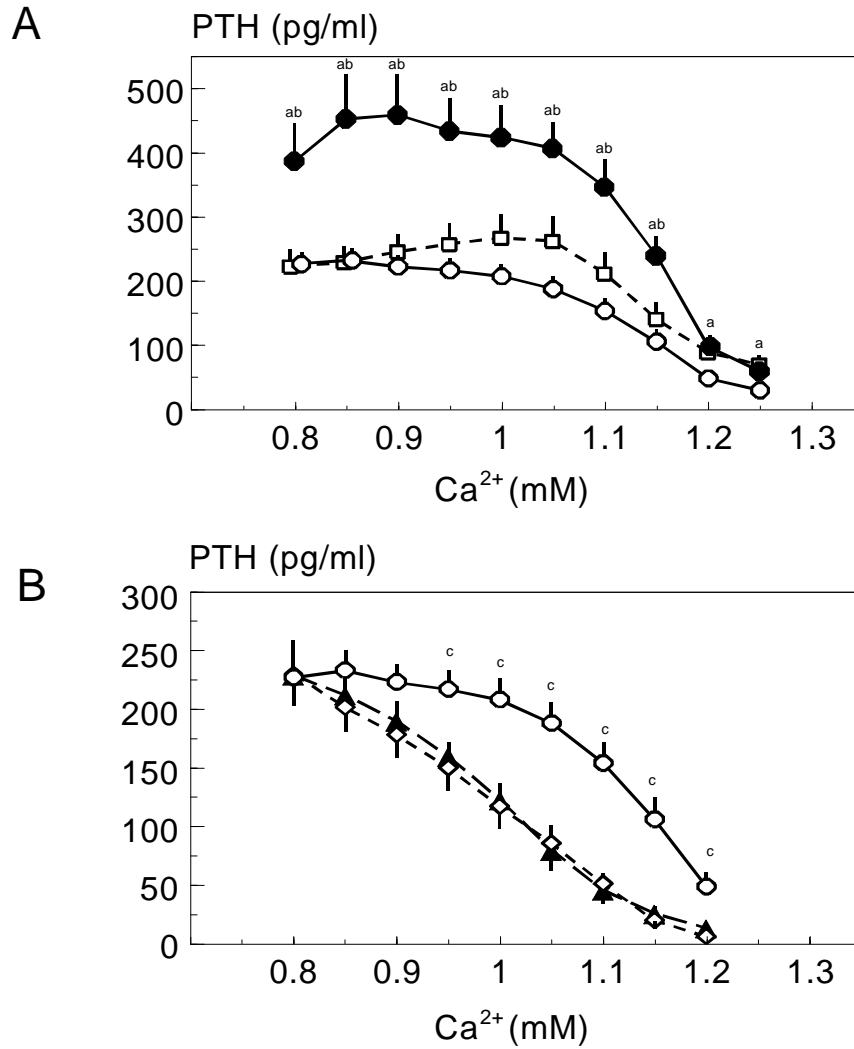
GRUPO	Variable	Coefficientes $\pm$ ES	Valor t	P	R <sup>2</sup>	Cambio R <sup>2</sup>
ACIDOSIS METAB.	(Constante)	1045.421 $\pm$ 120.080	8.706	0.000		
	<b>SID</b>	<b>-21.771 <math>\pm</math> 3.031</b>	<b>7.182</b>	<b>0.000</b>	<b>0.338</b>	<b>0.338</b>
	At	-41.794 $\pm$ 8.469	-4.935	0.000	0.444	0.106
	PCO <sub>2</sub>	4.550 $\pm$ 2.947	1.544	0.125	0.441	0.010
ACIDOSIS RESPIR.	(Constante)	242.185 $\pm$ 74.731	3.421	0.002		
	<b>PCO2</b>	<b>2.834 <math>\pm</math> 0.344</b>	<b>8.238</b>	<b>0.000</b>	<b>0.375</b>	<b>0.375</b>
	SID	-6.900 $\pm$ 1.243	-5.553	0.000	0.612	0.254
	At	-6.108 $\pm$ 5.180	-1.179	0.245	0.616	0.012
ALCALOSIS METAB.	(Constante)	58.388 $\pm$ 15.127	3.860	0.000		
	<b>SID</b>	<b>-1.294 <math>\pm</math> 0.233</b>	<b>-5.542</b>	<b>0.000</b>	<b>0.377</b>	<b>0.377</b>
	PCO <sub>2</sub>	0.210 $\pm$ 0.345	0.610	0.543	0.378	0.001
	At	0.627 $\pm$ 1.165	0.539	0.592	0.380	0.002
ALCALOSIS RESPIR.	(Constante)	-56.70 $\pm$ 10.779	-5.360	0.000		
	<b>PCO<sub>2</sub></b>	<b>0.700 <math>\pm</math> 0.151</b>	<b>4.641</b>	<b>0.000</b>	<b>0.506</b>	<b>0.506</b>
	SID	1.084 $\pm$ 0.449	2.415	0.018	0.587	0.081
	At	1.177 $\pm$ 0.889	1.324	0.190	0.597	0.010

**Tabla 12.** Análisis de regresión múltiple (“stepwise”) en cada uno de los grupos, para analizar la contribución individual de cada una de las variables independientes del análisis cuantitativo del estado ácido-base en las varianzas de la PTH. La significación de este análisis mediante ANOVA fue: en Acidosis Metabólica  $F= 4.443$ ,  $p<0.001$ ; en Acidosis Respiratoria  $F=25.582$ ,  $p<0.001$ ; en Alcalosis Metabólica  $F=17.557$ ,  $p<0.001$  y en Alcalosis Respiratoria  $F=35.567$ ,  $p<0.001$ .

En la Figura 40 se representan las curvas  $\text{Ca}^{2+}$ -PTH obtenidas en el grupo Control con los grupos de Acidosis (Figura 40A) y de Alcalosis (Figura 40B).

En situación de normocalcemia,  $\text{Ca}^{2+}=1.20\text{-}1.25$  mM, la concentración de PTH fue significativamente más elevada en los grupos de Acidosis (Metabólica y Respiratoria) que en el grupo Control. En el rango de  $\text{Ca}^{2+}$  comprendido entre 1.15 y 0.8 mmol/l, los niveles de PTH en el grupo de Acidosis Metabólica fueron significativamente mayores que los del grupo Control y que los del grupo de Acidosis Respiratoria, llegando a alcanzar una concentración máxima de  $459.5 \pm 62.0$  pg/ml. Los niveles de PTH correspondientes al grupo de Acidosis Respiratoria se encuentran también por encima de los del grupo Control, aunque las diferencias de PTH entre ambos grupos se reducen cuando se alcanzan niveles bajos de  $\text{Ca}^{2+}$ , llegando a igualarse cuando la calcemia desciende por debajo de 0.9 mmol/l.

Los grupos de Alcalosis Metabólica y Respiratoria presentaron una concentración de PTH significativamente menor a la del grupo Control a niveles fisiológicos de  $\text{Ca}^{2+}$  (1.20 mM). A lo largo de la mayor parte de la curva  $\text{Ca}^{2+}$ -PTH, en un rango de  $\text{Ca}^{2+}$  comprendido entre 1.2 y 0.9 mmol/l, los niveles de PTH fueron muy parecidos en los dos grupos de Alcalosis y significativamente inferiores a los del grupo Control. Finalmente, en los niveles más bajos de  $\text{Ca}^{2+}$  (0.8 mmol/l) la concentración de PTH en los tres grupos fue prácticamente idéntica:  $227 \pm 17$  pg/ml (Control),  $229 \pm 32$  pg/ml (Alcalosis Metabólica) y  $230 \pm 27$  pg/ml (Alcalosis Respiratoria).



**Figura 40. A.** Curva  $Ca^{2+}$ -PTH en los grupos de Acidosis Metabólica (●), Acidosis Respiratoria (□) y Control (○), <sup>a</sup>  $p < 0.05$  respecto del grupo Control, <sup>b</sup>  $p < 0.05$  respecto del grupo de Acidosis Respiratoria, en el mismo tiempo (*t*-test no pareado).

**B.** Curva  $Ca^{2+}$ -PTH en los grupos de Alcalosis Metabólica (▲), Alcalosis Respiratoria (◇) y Control (○), <sup>c</sup>  $p < 0.05$  respecto del grupo Alcalosis Metabólica y Respiratoria, en el mismo tiempo (*t*-test no pareado).

## **SEGUNDA FASE: MODIFICACIÓN DEL ESTADO ACIDO-BASE SIN CONTROL DE CALCIO**

En esta fase se utilizó un único grupo de 7 animales a los que se les indujo Acidosis Metabólica durante una hora sin controlar el  $\text{Ca}^{2+}$ . De esta forma se pretendía comprobar si el descenso del pH se veía acompañado de una elevación de los niveles de PTH, a pesar del incremento del  $\text{Ca}^{2+}$  que se produciría con pH bajo.

Como se observa en la Figura 41, los valores de pH de este grupo descendieron de forma significativa, desde unos niveles basales de  $7.41 \pm 0.03$ , hasta llegar a un pH de  $7.18 \pm 0.02$  al final del experimento.

El descenso del pH sanguíneo produjo un aumento progresivo de los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$ , que fue superior a 0.1 mM, pasando de unos niveles basales de  $1.25 \pm 0.02$  mmol/l a 1.37 mmol/l, al final de los experimentos. Es interesante señalar que el incremento del  $\text{Ca}^{2+}$  no es completamente lineal, apareciendo un pequeño escalón entre el minuto 20 y 30, donde parece darse un descenso parcial de la calcemia. En cuanto a los niveles de Mg, como puede apreciarse en esta misma figura, permanecieron invariables y similares a los basales durante todo el experimento.

La concentración del PTH de este grupo de perros también se elevó significativamente, a pesar del aumento de  $\text{Ca}^{2+}$ . La concentración basal de PTH,  $22.8 \pm 4.9$  pg/ml, se incrementó hasta alcanzar un máximo de  $49.4 \pm 10.3$  pg/ml, en el minuto 30. A partir de este momento y hasta el final de la experiencia se registró un descenso en los niveles de PTH, aunque permanecieron siempre por encima de los basales.

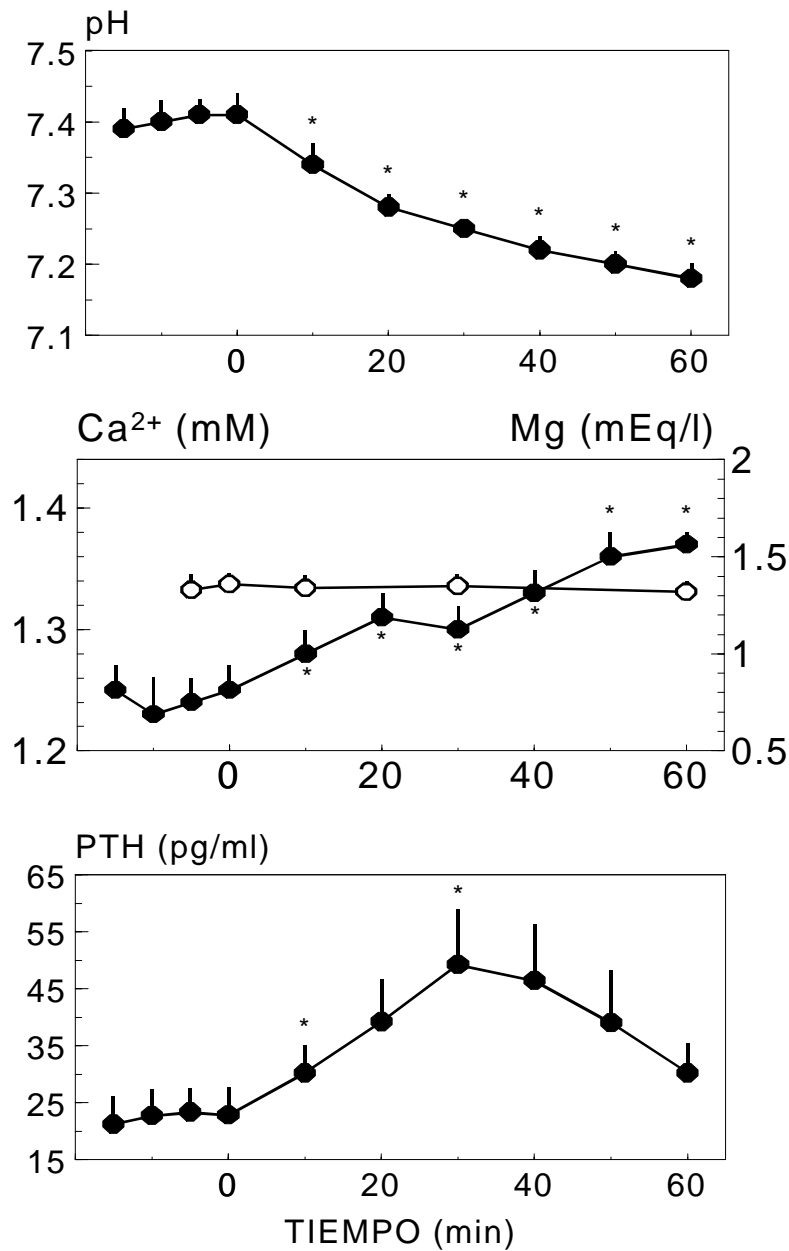


Figura 41. Valores de pH, Calcio iónico ( $\text{Ca}^{2+}$ ), magnesio total (Mg  $\circ$ ) y Hormona paratiroidea (PTH) en el grupo de Acidosis Metabólica sin control del  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\bullet$ ).

\*  $p < 0.05$  respecto de los valores basales (ANOVA).

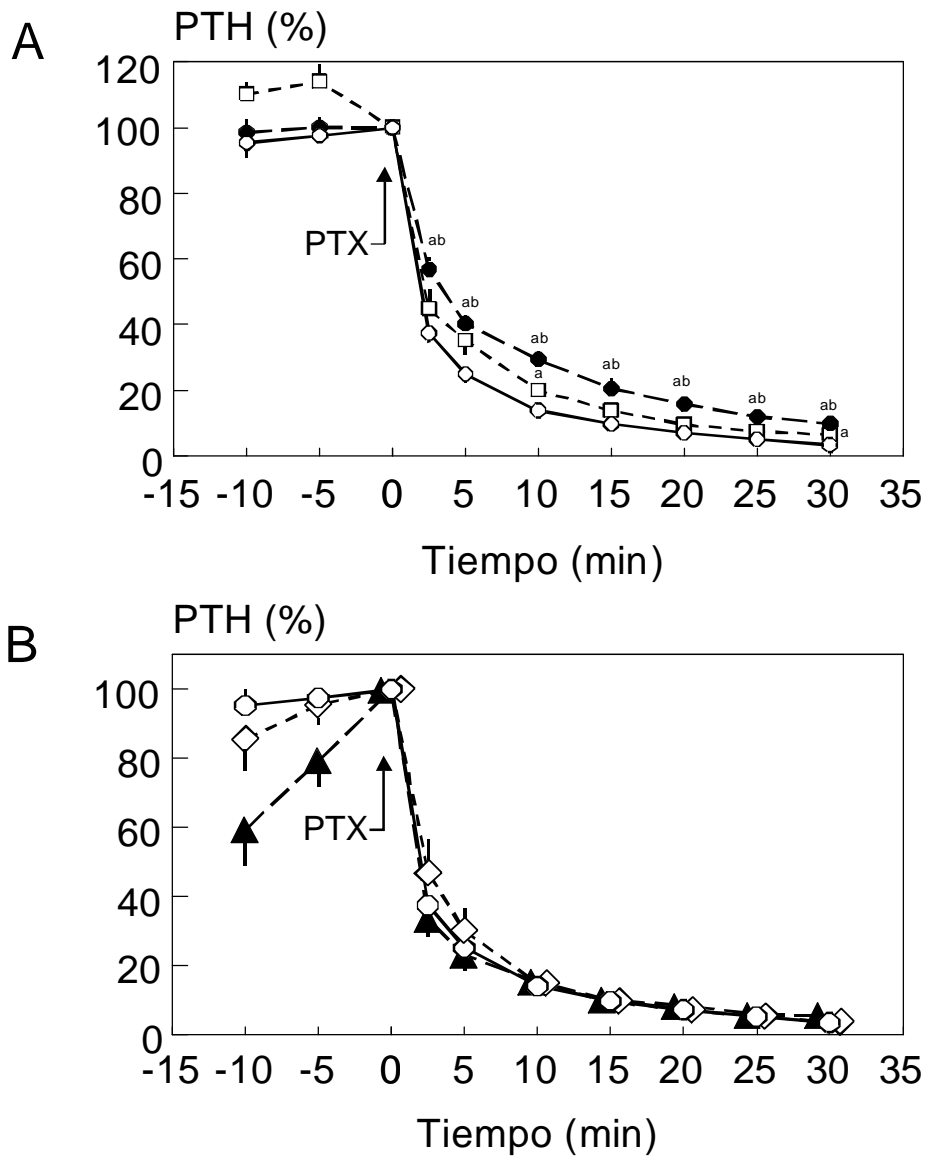
### **TERCERA FASE: ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL ESTADO ACIDO-BASE EN EL METABOLISMO DE LA PTH.**

En la Figura 42 aparecen reflejadas las curvas de desaparición de la hormona paratiroidea en los distintos grupos experimentales. Los valores de PTH se expresan en % de la concentración de PTH registrada en el minuto 90 de experimento, que en la mayoría de los grupos coincide con el valor máximo de PTH. Como se ha descrito en el apartado de Material y Métodos, la paratiroidectomía se realizó en el minuto 90.

A partir del momento en que se extirparon las glándulas paratiroides, la concentración plasmática de PTH fue descendiendo rápidamente en todos los animales. En los grupos de Acidosis (Figura 42A), los niveles de PTH permanecieron siempre algo más elevados que en el grupo Control, observándose diferencias significativas. Además, los valores de PTH post-paratiroidectomía también fueron significativamente más elevados en el grupo de Acidosis Metabólica que en el de Acidosis Respiratoria. Esto indica que en los grupos de Acidosis, especialmente en el de Acidosis Metabólica, el ritmo metabólico de la PTH es inferior al del grupo Control.

En ambos grupos de Alcalosis (Figura 42B), el descenso en los niveles de PTH registrado tras realizar la paratiroidectomía fue prácticamente idéntico al del grupo Control, no apreciándose diferencias significativas en ninguno de los tiempos estudiados. Es decir, el ritmo metabólico de la PTH no parece alterarse con los protocolos de Alcalosis.





**Figura 42.** A. Valores de PTH (% del valor obtenido en el min. 90 de experimento) en los grupos de Acidosis Metabólica ( ● ), Acidosis Respiratoria ( □ ) y Control ( ○ ). B. Valores de PTH (% del valor obtenido en el min. 90 de experimento) en los grupos de Alcalosis Metabólica ( ▲ ), Alcalosis Respiratoria ( ◇ ) y Control ( ○ ). <sup>a</sup>  $p < 0.05$  respecto del Control, <sup>b</sup>  $p < 0.05$  respecto de acidosis respiratoria ( *t* -test no pareado).

Como se ha visto en la Figura 42, la curva de desaparición de la PTH en los distintos grupos se ajusta a una ecuación del tipo:  $C_t = C_o \times e^{-kt}$ , donde  $C_t$  es la concentración en un tiempo determinado,  $C_o$  es la concentración inicial y  $k$  es una constante que determina el ritmo de desaparición. A partir de esa constante ( $k$ ) se puede calcular el tiempo de vida media ( $T_{1/2}$ ) de la PTH mediante esta expresión:  $T_{1/2} = \ln 2/k$ . Este parámetro es el que mejor define la cinética que sigue una determinada sustancia en el organismo y por lo tanto nos da idea del ritmo al que se metaboliza dicha sustancia.

Al ajustar los datos experimentales de cada uno de los grupos estudiados a esta ecuación se obtuvieron los siguientes coeficientes de regresión (media  $\pm$  ES):  $r^2 = 0.904 \pm 0.018$ , en grupo Control;  $r^2 = 0.934 \pm 0.010$ , en Acidosis Metabólica;  $r^2 = 0.910 \pm 0.016$ , en Acidosis Respiratoria;  $r^2 = 0.828 \pm 0.040$ , en Alcalosis Metabólica; y  $r^2 = 0.888 \pm 0.033$ , en Alcalosis Respiratoria.

El tiempo de vida media más elevado se registró en el grupo de Acidosis Metabólica,  $9.71 \pm 0.57$  min. Este valor difiere significativamente del encontrado en el grupo Control, que es de  $6.97 \pm 0.54$  min. En el grupo de Acidosis Respiratoria se registró un valor intermedio de  $T_{1/2}$ ,  $8.24 \pm 0.37$  min., que no presenta diferencias significativas con respecto a los otros grupos (Control y Acidosis Metabólica). Estos resultados están en consonancia con los datos sobre la curva de desaparición de la PTH que comentamos anteriormente, y reflejan que existe un cierto enlentecimiento en el metabolismo de la PTH con la Acidosis Metabólica.

Por otra parte, los valores de tiempo de vida media en los grupos de alcalosis son muy similares al calculado para el grupo Control,  $7.05 \pm 0.36$  min. para Alcalosis Respiratoria, y  $8.29 \pm 0.59$  min. en el grupo de Alcalosis Metabólica (Tabla 13), sin que existan diferencias significativas entre ellos. Estos datos reafirman la similitud observada en las curvas de desaparición de PTH entre los grupos de Alcalosis.

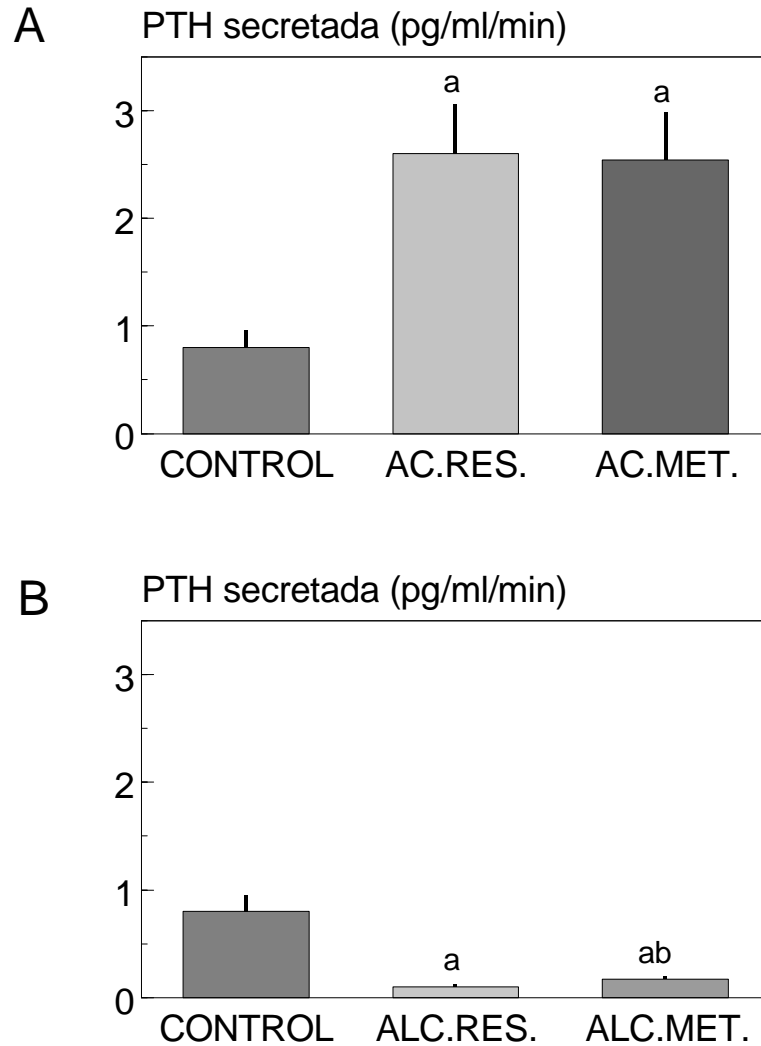
GRUPO	$r^2$	$k$ (min <sup>-1</sup> )	$T_{1/2}$ (min)
<b>CONTROL</b>	0.908 ± 0.018	0.1018 ± 0.0075	6.97 ± 0.54
<b>ACIDOSIS MET.</b>	0.934 ± 0.010	0.0726 ± 0.0049 <sup>a</sup>	9.71 ± 0.57 <sup>a</sup>
<b>ACIDOSIS RES.</b>	0.910 ± 0.016	0.0849 ± 0.0039	8.24 ± 0.37
<b>CONTROL</b>	0.908 ± 0.018	0.1018 ± 0.0075	6.97 ± 0.54
<b>ALCALOSIS MET.</b>	0.828 ± 0.040	0.0857 ± 0.0074	8.29 ± 0.59
<b>ALCALOSIS RES.</b>	0.888 ± 0.033	0.0993 ± 0.0048	7.05 ± 0.36

**Tabla 13.** Valores del coeficiente de regresión ( $r^2$ ); constante de la ecuación exponencial ( $k$ ) y tiempo de vida media ( $T_{1/2}$ ), en los grupos Control, Acidosis Metabólica y Acidosis Respiratoria y en los grupos de Alcalosis Metabólica y Alcalosis Respiratoria. <sup>a</sup>  $p < 0.05$  respecto del grupo Control.

Para determinar si el aumento del tiempo de vida media de la PTH durante la acidosis metabólica pudiera ser responsable del incremento en la concentración plasmática de PTH observado en este grupo, se calculó el ritmo de secreción de PTH. Para ello, a partir de la ecuación anteriormente citada,  $C_t = C_o \times e^{-kt}$ , se calculó la cantidad de PTH secretada en la unidad de tiempo por las glándulas paratiroides en cada uno de los grupos. Esto se hizo asumiendo que la cantidad de PTH secretada es idéntica a la metabolizada, cuando se analiza en un periodo donde la concentración de PTH no varía (“steady state conditions”). De este modo, se seleccionó en cada uno de los perros estudiados en esta fase un periodo de tiempo entre los minutos 30 y 60 en donde la PTH fuese estable (esto es en donde no existieran diferencias significativas en la concentración de PTH en 3 mediciones consecutivas). En este periodo, la cantidad de PTH secretada es, por definición, igual a la cantidad de PTH metabolizada (y esta última se conoce a partir de los datos de la curva de desaparición).

Esto es lo que se expresa gráficamente en la Figura 43A, donde se ve que la cantidad de PTH secretada en el grupo de Acidosis Metabólica ( $2.54 \pm 0.45$  pg/ml/min) es significativamente superior a la que presenta el grupo Control ( $0.80 \pm 0.16$  pg/ml/min). El valor obtenido para el grupo de Acidosis Respiratoria ( $2.60 \pm 0.48$  pg/ml/min) también es significativamente más elevado que el del grupo Control.

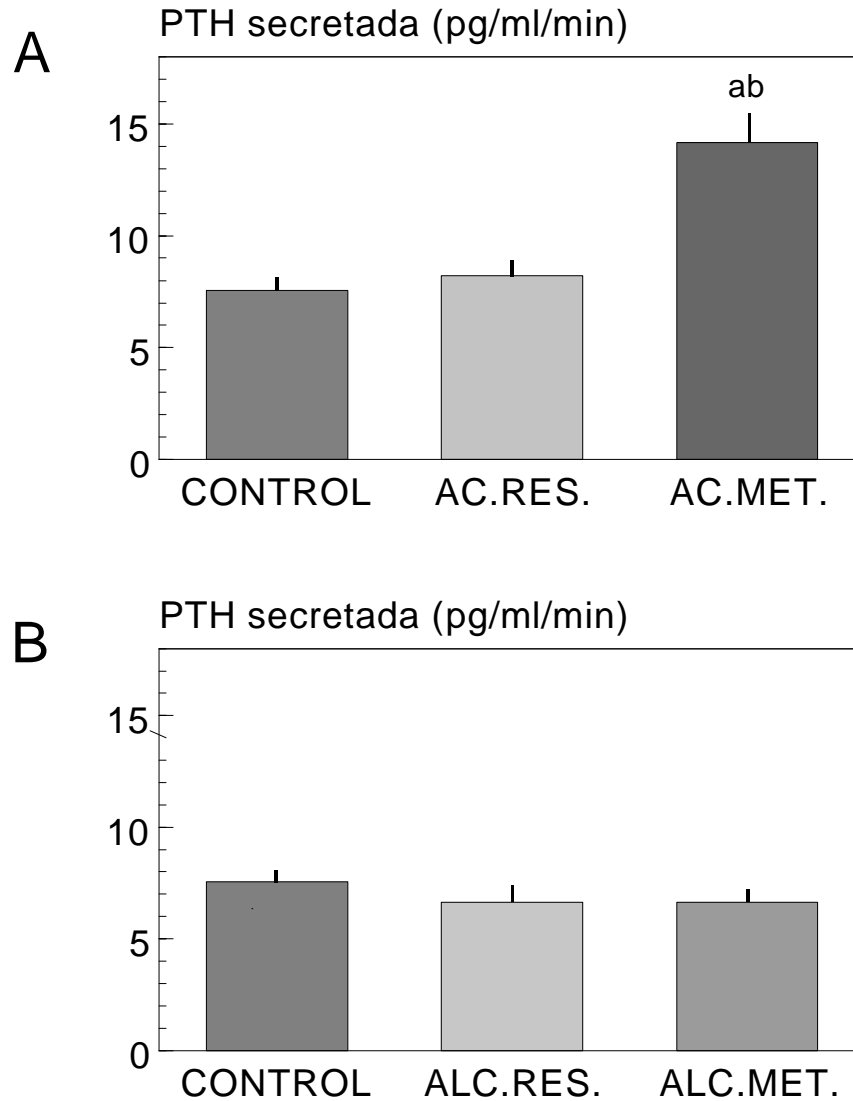
En cuanto a los grupos de Alcalosis, resulta evidente tras observar la Figura 43B que, en estos perros, la cantidad de PTH secretada está significativamente reducida con respecto del grupo Control, llegando prácticamente a suprimirse.



**Figura 43.** **A.** Valores de PTH secretada en el tiempo calculados en situación de normocalcemia, en los grupos Control, Acidosis Respiratoria y Acidosis Metabólica. **B.** Valores de PTH secretada en el tiempo calculados en situación de normocalcemia, en los grupos Control, Alcalosis Respiratoria y Alcalosis Metabólica. <sup>a</sup>  $p < 0.05$  respecto del grupo Control, <sup>b</sup>  $p < 0.05$  respecto del grupo de Alcalosis Respiratoria.

Dado que todos los cálculos sobre metabolismo, anteriormente expresados, se han realizado tomando como base las curvas de desaparición de la PTH estudiada en los perros en una situación de hipocalcemia (a partir del minuto 90) y pensando que el ritmo metabólico de la PTH pueda modificarse según los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$ , nos parece oportuno volver a realizar los cálculos del ritmo secretorio de la PTH en cada uno de los grupos durante la hipocalcemia. Para ello, al igual que describimos anteriormente, en cada uno de los perros elegimos un periodo de tiempo en hipocalcemia donde la concentración de PTH fuese estable. A continuación se calculó la PTH metabolizada en ese tiempo, que teóricamente debe ser igual a la PTH secretada. Como se muestra en la Figura 44A, el ritmo secretorio en el grupo de Acidosis Metabólica ( $14.2 \pm 1.3$  pg/ml/min) fue significativamente superior ( $p < 0.01$ ) al del Control ( $7.6 \pm 0.6$  pg/ml/min) y al de Acidosis Respiratoria ( $8.2 \pm 0.7$ )

En el caso de los grupos de Alcalosis los cálculos de la PTH secretada en el periodo de normocalcemia presentaban la dificultad añadida del manejo de valores muy bajos, incluso de cero, lo que añade un argumento más para volver a hacer esos cálculos durante la hipocalcemia. El resultado lo expresamos en la Figura 44B, en donde se observa que tanto los valores de PTH secretada en el grupo de Alcalosis Metabólica ( $6.7 \pm 0.6$  pg/ml/min) como los hallados en el grupo de Alcalosis Respiratoria ( $6.6 \pm 0.8$  pg/ml/min) no difieren significativamente del grupo Control.



**Figura 44. A.** Valores de PTH secretada en el tiempo calculados en situación de hipocalcemia, en los grupos Control, Acidosis Respiratoria y Acidosis Metabólica.

**B.** Valores de PTH secretada en el tiempo calculados en situación de hipocalcemia, en los grupos Control, Alcalosis Respiratoria y Alcalosis Metabólica. <sup>a</sup>  $p < 0.05$  respecto del grupo Control, <sup>b</sup>  $p < 0.05$  respecto del grupo de Acidosis Respiratoria.

**V. DISCUSION**



El presente trabajo se planteó para estudiar el efecto del pH sobre la secreción de hormona paratiroidea (PTH) a través de estudios *in vivo* en perros anestesiados. Los resultados obtenidos demuestran claramente la existencia de un efecto del pH sobre la secreción de PTH: la secreción de PTH se estimula en acidosis y se inhibe en alcalosis, independientemente de los niveles de calcio iónico y magnesio plasmáticos.

La discrepancia que existe entre los distintos resultados obtenidos hasta ahora en el estudio del efecto del pH sobre la secreción de PTH refleja la gran dificultad que entraña aislar el efecto del pH en un estudio *in vivo*. Esta dificultad se puede constatar en las diferentes fases de las que consta nuestro trabajo. En la realización de cada una de estas fases hemos conseguido depurar el efecto del pH en una situación *in vivo* similar a la fisiológica, a través de un estricto y laborioso control de las variables que regulan la respuesta de las glándulas paratiroides, como son el calcio iónico y el magnesio. Por medio de la infusión de pequeñas cantidades de EDTA y CaCl<sub>2</sub>, se ha conseguido mantener los niveles de calcio iónico constantes, a pesar de los cambios del pH, y, por otra parte, modificar de forma controlada la concentración de calcio iónico al mismo tiempo que se provocaron cambios en el estado ácido-base. Asimismo, para descartar la interferencia de los cambios de la magnesemia en nuestros resultados, también se han controlado y mantenido constantes los niveles de este ion por medio de la infusión de reducidas cantidades de sulfato magnésico. Además, al plantear los estudios de forma aguda (con una duración máxima de 2 horas), se evita la interferencia de otras variables como la producción de CTR, ya que no da tiempo a que se produzcan los posibles efectos inhibitorios del pH sobre la enzima 1 $\alpha$  hidroxilasa renal. Por otra parte, al realizar experimentos agudos también se han previsto las fluctuaciones de la fosfatemia y otras variaciones derivadas de los cambios compensatorios renales que suelen aparecer más tarde en el curso de una alteración del equilibrio ácido-base.

Se debe resaltar que en todos los grupos de perros utilizados en este trabajo se administró, a través del aire inspirado, una cantidad de O<sub>2</sub> suficiente para conseguir que

los niveles de O<sub>2</sub> en sangre arterial fueran lo más parecido a una situación fisiológica, en la que el perro estuviera respirando voluntariamente, esto es una PO<sub>2</sub> en sangre arterial cercana a 100 mm de Hg. Como observamos en los resultados, los valores de PO<sub>2</sub> se mantuvieron estables a lo largo del tiempo, con pequeñas desviaciones en torno a los 100 mm de Hg. Del mismo modo, gracias a la monitorización continua de cada uno de los perros, se comprobó que la presión arterial permaneció estable a lo largo de los experimentos, con valores de  $80 \pm 2$  mm de Hg para la presión arterial diastólica, y de  $150 \pm 3$  mm de Hg para la presión arterial sistólica. Por lo tanto, los animales de los distintos grupos se mantuvieron con una buena oxigenación sanguínea y una presión arterial adecuada, con lo que se excluye la existencia de hipoxemia. Esta afirmación se ve reforzada por los resultados obtenidos al medir los niveles de lactato plasmático (en experimentos preliminares donde se ultimaron cada uno de los protocolos utilizados en este estudio), en los que se pudo observar que este parámetro no experimentó cambios significativos.

También hay que señalar que los niveles de albúmina plasmática fueron estables y dentro del rango fisiológico descrito en la bibliografía.

Para la consecución de los objetivos planteados en este estudio hemos utilizado al perro como animal de experimentación. Este animal presenta una serie de características que lo convierten en un animal de experimentación idóneo. Las principales ventajas de usar un modelo experimental canino son:

- a) El metabolismo fosfocálcico canino es muy similar al humano.<sup>5</sup>
- b) La homeostasis ácido-base en la especie canina se controla igual que en los humanos y el perro ha servido en muchas ocasiones como modelo para el estudio de la fisiología de muchos procesos relacionados con el equilibrio ácido-base.<sup>2,433</sup>

c) El perro de tamaño medio posee suficiente volemia como para permitir la toma seriada de muestras de sangre en las que se puedan medir todos los parámetros objeto de estudio.

e) La PTH canina se puede medir fácilmente utilizando el mismo ensayo que mide PTH intacta humana.<sup>130,131,493,494</sup>

Además, nuestro grupo de investigación tiene amplia experiencia en el uso del perro como animal de experimentación para estudiar la secreción de hormona paratiroidea.<sup>3,5,163,164,305,439</sup> Así, anteriormente hemos utilizado este modelo experimental en estudios sobre: a) fisiología del metabolismo mineral en perros adultos y seniles,<sup>5</sup> b) histéresis de la curva PTH-Ca durante hipocalcemia,<sup>3</sup> c) efecto de la hipercalcemia sobre la secreción de PTH,<sup>439</sup> d) secreción de PTH durante “clamps” hipocalcémicos<sup>164</sup> y e) efecto de la hiperfosfatemia en la secreción de PTH.<sup>163</sup>

Aparte de las ventajas que plantea la utilización del perro como animal de experimentación, hay que subrayar que las repercusiones clínicas de nuestros resultados tienen un especial interés para la medicina veterinaria canina. Como se describe en la bibliografía, el perro, al igual que los humanos, sufre importantes cambios en el metabolismo fosfocálcico con el envejecimiento que conducen a procesos de desmineralización ósea. Estas alteraciones óseas pueden agravarse cuando coexisten con alteraciones del equilibrio ácido-base como la acidosis metabólica.<sup>5,344,378</sup> Las alteraciones del equilibrio ácido-base relacionadas con enfermedades renales son muy comunes en los perros, especialmente en perros viejos. De hecho, la insuficiencia renal crónica representa la segunda causa de muerte canina no accidental.<sup>279</sup>

A continuación, se procede a discutir los resultados obtenidos. La discusión se desglosará por los objetivos planteados en cada una de las fases de este estudio.

## **FASE 1: MODIFICACION DEL ESTADO ACIDO-BASE CON CONTROL DE LA CALCEMIA.**

### ACIDOSIS

Los resultados obtenidos en esta primera fase ponen de manifiesto que la disminución del pH ejerce un efecto estimulante sobre la secreción de PTH en perros. Se distingue también una importante diferenciación del efecto que produce la acidosis dependiendo del origen metabólico (disminución en la concentración de bicarbonato plasmático) o respiratorio (aumentos en la  $PCO_2$ ). Así, se observa que el estímulo provocado por la acidosis metabólica fue muy superior al de la acidosis respiratoria cuando se produjo un descenso en la concentración de  $Ca^{2+}$ . Además, en la acidosis metabólica se obtuvieron unos niveles de PTH máximos muy por encima de los controles, que por otra parte mostraban niveles dentro del rango normal obtenido por otros autores al estudiar la dinámica de secreción de PTH en perros.<sup>3,131,150</sup>

Durante las 3 últimas décadas se han realizado numerosos estudios, en pacientes humanos y animales, que han intentado demostrar una relación directa entre la acidosis metabólica y la secreción de PTH.<sup>1,22,25,37,40,53,92,93,111,123,135,185,206,215,244,254,275,291,299,313,379,381,382,400,444,502,509,520,521</sup>

En la mayoría de estos trabajos no se han encontrado cambios significativos en la concentración plasmática de PTH en una situación de acidosis. Algunos autores incluso han reportado niveles descendidos de esta hormona en acidosis.<sup>1,37,92,206,254,275,313,381,400,509,520</sup>

Por el contrario, otros estudios han sugerido la existencia de una elevación en los niveles de PTH en situaciones donde existe un estado de acidosis.<sup>53,135,502,379</sup> Algunos autores han predicho un efecto estimulador de la acidosis sobre la secreción de PTH al observar

que, en pacientes en diálisis y prediálisis con hiperparatiroidismo secundario, se producía una reducción de los niveles de PTH cuando se corregía la acidosis metabólica.<sup>215,291,310</sup>

La disparidad de resultados encontrada en la bibliografía puede estar relacionada con el hecho de que, *in vivo*, los cambios del pH influyen en numerosas variables que, a su vez, modifican la secreción y síntesis de PTH. Se conoce que la acidosis ejerce las siguientes modificaciones sobre el metabolismo mineral:

a) Aumento del calcio iónico, debido a que se reduce la proporción de este catión unido a la albúmina aumentando su forma libre en el plasma.<sup>458</sup>

b) Incremento en la excreción urinaria de calcio, que tiende a reducir la calcemia.<sup>121,135,238,295,444</sup>

c) Descenso en la producción de calcitriol, lo que influye sobre la secreción de PTH directamente, favoreciendo la proliferación celular paratiroidea, e indirectamente, propiciando hipocalcemia.<sup>92,122,195,272,311</sup>

d) Aumento en la resorción mineral por un efecto directo sobre el hueso, independiente de la acción hormonal, lo que tiende a incrementar la calcemia y la fosfatemia.<sup>106,115</sup>

e) Aumento de la excreción urinaria de fosfato y magnesio.<sup>288,249</sup>

Todos estos cambios se acentúan cuando se trata de procesos crónicos, en los que hay tiempo para que acontezcan procesos compensatorios. Así, en muchos de los trabajos citados anteriormente en donde se intentaba relacionar ambos tipos de acidosis con los niveles de PTH, se produjeron cambios en los niveles sanguíneos de calcio, fosfato y/o magnesio,<sup>34,53,121,135,272,276,379</sup> modificaciones en la excreción urinaria de fósforo, calcio y magnesio,<sup>121,135,238,249,272,288,295,486</sup> alteraciones en el metabolismo del calcitriol,<sup>92,122,195,272,</sup>

<sup>311</sup> modificaciones en la respuesta renal o esquelética a la acción de la PTH,<sup>39,40,275</sup> variaciones en la capacidad de neutralización de ácidos del riñón<sup>249</sup> y cambios en el flujo de calcio entre el hueso y el espacio extracelular<sup>106,115</sup>

Todos estos efectos colaterales inducidos por los cambios del pH han hecho difícil identificar una posible acción directa de la acidosis metabólica y respiratoria sobre la secreción de PTH. Además, en los estudios más antiguos existía una complicación añadida: la imposibilidad para cuantificar de forma específica la PTH intacta, ya que hasta finales de los años 80 no estuvo disponible este ensayo.

Los estudios más alejados en el tiempo, como el de Wachman *et al.*,<sup>502</sup> tenían la dificultad de no disponer de un ensayo para medir PTH intacta, aunque estos autores ya intuyeron un aumento en la secreción de PTH cuando detectaron un incremento de la actividad ósea en individuos sanos durante la acidosis metabólica. El aumento de PTH estaría dirigido primariamente a la liberación de tampones fosfato desde el hueso para controlar el exceso de H<sup>+</sup>.

Más tarde, cuando se pudieron medir los niveles de PTH intacta, muchos de los estudios que se realizaron sobre acidosis y elevación de PTH no pudieron relacionar directamente ambos procesos por la existencia de cambios en los niveles de calcio y fósforo séricos. Por ello, la mayoría de los autores atribuyeron como responsables de los cambios de PTH a las variaciones de la calcemia y la fosfatemia, provocadas fundamentalmente por los efectos de la acidosis sobre el riñón y sobre el hueso.

En 1975 Coe *et al.*,<sup>135</sup> que provocaron acidosis aguda a humanos sanos mediante la administración de ClNH<sub>4</sub><sup>+</sup>, observaron un ligero aumento de PTH, que relacionaron con un descenso de calcio y aumento de fosfato séricos. Cuando establecieron un proceso crónico de acidosis, el aumento de PTH que observaron fue más evidente, pero

concluyeron que este incremento fue provocado por un balance negativo de calcio total, derivado de la hipercalciuria.

Scott *et al.*<sup>444</sup> también observaron un aumento en la concentración de PTH con la acidosis metabólica en un estudio realizado en corderos en crecimiento, a los que infundieron durante 4 horas una solución de HCl. Del mismo modo que los autores anteriores, relacionaron el aumento de los niveles de PTH con el descenso del calcio en el plasma provocado por la hipercalciuria. Estos autores sugirieron que la hipercalciuria puede deberse a que la acción anticalciúrica de la PTH en el riñón está alterada en una situación de acidosis. Esta misma idea había sido apuntada anteriormente por Batlle *et al.*<sup>37</sup> en 1982, al obtener resultados similares a los anteriores en perros sometidos a acidosis metabólica crónica

Otros autores han explicado los efectos de la acidosis metabólica sobre los niveles de PTH a través de fenómenos relacionados con el hueso. Así, hay trabajos en humanos en los que se relaciona el hecho de que los niveles de PTH bajen o no se modifiquen durante la acidosis con la existencia de cambios en la calcemia y fosfatemia provocados por un aumento de la resorción ósea.<sup>1,509</sup> Existen también estudios en animales, sometidos a acidosis metabólica, en los que no se observan cambios en los niveles de PTH relacionados con la acidosis, debido a un incremento en los niveles de calcio, que se supone originado por una acelerada desmineralización ósea.<sup>92,254</sup>

Beck *et al.*,<sup>40</sup> en estudios con ratas, y posteriormente numerosos trabajos de Bushinsky *et al.*,<sup>93,111</sup> utilizando cultivos de tejido óseo, ponen de manifiesto la acción sinérgica de la PTH y la acidosis sobre el hueso. Ambos procesos actúan potenciando la salida de minerales desde el hueso por un estímulo de la resorción ósea. Por lo tanto, estos autores establecen una conexión importante entre la PTH y la acidosis.

Paillard M. y Bichara M. avanzaron a partir de sus estudios iniciales en 1989 sobre los efectos de las hormonas peptídicas en el control renal del estado ácido-base,<sup>382</sup> y consiguieron, un año después, demostrar una elevación significativa en los niveles de PTH en ratas a las que se les provocó acidosis metabólica aguda administrando una solución de HCl.<sup>53</sup> Según estos autores, el aumento de PTH que observaron estaba relacionado directamente con la  $[H^+]$  y era independiente del calcio. No obstante, conviene resaltar que no consiguieron evitar cambios considerables del calcio iónico durante la acidosis. Aunque éste es el trabajo que más claramente sugiere un efecto estimulante de la acidosis aguda sobre la secreción de PTH, no se puede concluir a partir de sus resultados que el efecto de la acidosis sobre los niveles de PTH fuera debido a una acción directa sobre las glándulas paratiroides, ya que no se consiguió controlar con precisión los niveles de  $Ca^{2+}$  extracelular.

En la bibliografía existen una serie de trabajos que pretendieron demostrar el efecto de la acidosis sobre los niveles de PTH de forma indirecta. En individuos que padecían una acidosis metabólica debido a una insuficiencia renal crónica intentaron ver si la corrección de esta alteración del pH modificaba los niveles de PTH. Así, en varios estudios llevados a cabo en pacientes dializados o urémicos en prediálisis, se observó una estabilización en los niveles de PTH, e incluso una reducción en la concentración plasmática de esta hormona, cuando a los pacientes se les corrigió la acidosis aumentando la adición de bicarbonato en la solución de diálisis o infundiéndoles una solución de bicarbonato.<sup>215,291,310</sup> Este hecho sugiere, de forma indirecta, que la acidosis metabólica que sufrían estos pacientes estaba contribuyendo a elevar los niveles de PTH. Por otra parte, existen varios estudios recientes en pacientes en diálisis, en los que no se observaron variaciones en la concentración de PTH cuando se modificó la concentración de bicarbonato en la solución de dializado.<sup>315,381,400,520</sup> Ouseph *et al.*<sup>381</sup> sugieren que la ausencia de respuesta de la PTH a las correcciones de bicarbonato se puede explicar debido a que es el pH, y no los niveles de bicarbonato, el que estimula a las glándulas



paratiroides (estos pacientes tenían un pH sérico normal a pesar de tener descendidos los niveles de bicarbonato y de  $\text{PCO}_2$ ).

Aunque parezca ya bastante dispar la información obtenida en la bibliografía sobre el efecto de la acidosis sobre la secreción de PTH, aún se puede añadir más polémica sobre este tema si se analizan los resultados de un interesante estudio de Oster *et al.*<sup>379</sup> realizado en perros sanos. En este trabajo se pone de manifiesto que los cambios de los niveles de PTH con la acidosis dependen del tipo de ácido que origine el descenso del pH. Según estos autores, el anión que acompaña al ácido tiene una gran importancia en las alteraciones que se dan en el metabolismo fosfocálcico por efecto de la acidosis. Así, cuando infundieron HCl y ácido metilmalónico a los perros obtuvieron un incremento en  $\text{Ca}^{2+}$  y P, y un descenso del Mg que fue, según los autores, lo que determinó una elevación en la concentración de PTH; mientras que cuando infundieron ácido láctico, los perros experimentaron un descenso en los niveles de PTH debido al aumento en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  y Mg y al descenso de P.

Los efectos de la acidosis respiratoria sobre el metabolismo fosfocálcico y la secreción de PTH, han sido estudiados por Canzanello *et al.*<sup>121</sup> En este trabajo, se sometió a un grupo de perros a acidosis respiratoria crónica colocándolos en un ambiente con alta concentración de  $\text{CO}_2$ . A pesar de ser un protocolo de acidosis respiratoria crónica, los autores obtuvieron datos a las dos horas de estudio. En este intervalo de tiempo de 2 horas, igual al tiempo total de nuestros experimentos, consiguieron establecer una elevación de la  $\text{PCO}_2$  (desde 35 hasta 80 mm de Hg) similar a la obtenida por nosotros en el grupo de perros de Acidosis Respiratoria, con un descenso del pH (desde 7.38 hasta 7.17) también muy parecido al que conseguimos con nuestro protocolo. Esto produjo una elevación de 0.1 mmol/l en el  $\text{Ca}^{2+}$ , sin que se observaran cambios en los niveles de PTH. De forma teórica, una elevación de esta magnitud en el  $\text{Ca}^{2+}$  debería producir una reducción importante en los niveles de PTH. Este dato tan importante, que Canzanello *et al.*<sup>121</sup> pasaron por alto, sugiere la existencia de una posible estimulación de

las glándulas paratiroides con la acidosis respiratoria, puesto que debe existir un estímulo que obviara el fuerte efecto inhibitor que la subida de calcio iónico produce sobre estas glándulas.

En los primeros perros a los que se sometió a los protocolos de acidosis (Grupos II y III) se observó un incremento de PTH con respecto al grupo Control desde el momento en que se inició el descenso del pH. En estos grupos, dicho efecto estimulador fue de diferente magnitud en la acidosis metabólica y respiratoria, también desde el inicio del protocolo de acidosis, durante la fase de normocalcemia. Después, cuando se realizaron las mediciones del magnesio, pudo comprobarse que existía una caída significativa de este catión, que podía afectar a los niveles de PTH. Ciertamente así sucedía, pues al corregir los niveles de magnesio en los nuevos grupos de acidosis (IIB y IIIB), mediante la infusión de sulfato magnésico, se obtuvieron niveles de PTH similares en ambos tipos de acidosis en el periodo de normocalcemia. Sin embargo, en estos dos nuevos grupos en donde se controlaron los niveles de magnesio, siguen existiendo enormes diferencias en la máxima respuesta de PTH a la hipocalcemia, obteniendo niveles de PTH mucho más elevados en el grupo de Acidosis Metabólica que en el de Acidosis Respiratoria. Así se confirma la diferencia de efectos que los dos tipos de acidosis ejercen sobre las glándulas paratiroides (en una situación de normocalcemia, cuando existe un magnesio descendido, y también durante la hipocalcemia, a pesar de que los niveles de magnesio no cambien).

El descenso de magnesio observado durante la inducción de acidosis metabólica y respiratoria sólo se produjo cuando se infundió EDTA para controlar la calcemia. En los estudios realizados durante la segunda fase de este trabajo, donde se indujo acidosis metabólica aguda sin infundir EDTA, no se observó descenso en los valores de magnesio, a pesar de que la caída de pH fue similar a la observada en los grupos de acidosis de la primera fase. De este modo, parece evidente que la hipomagnesemia observada durante la acidosis fue causada por la infusión de EDTA.

En otros estudios en los que se indujo acidosis metabólica mediante la infusión de HCl se encontró un descenso en los niveles de magnesio en perros,<sup>379</sup> pero no en ratas.<sup>53</sup> En el estudio de Oster *et al.*<sup>379</sup> también se observó un descenso en la concentración plasmática de magnesio en los perros de su grupo control, que sólo recibieron cloruro sódico. Además, en otro grupo de perros a los que le indujeron acidosis metabólica aguda mediante la administración de ácido láctico, los niveles de magnesio estaban por encima de los del grupo control. En un estudio realizado en humanos, a los que provocaron una acidosis metabólica infundiéndoles  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , se comprobó que en una situación aguda no se produjeron cambios en los niveles de magnesio, mientras que en un proceso crónico aparecía una pequeña caída de este catión.<sup>135</sup> Este fenómeno no ocurrió en ratas acidóticas que recibieron también  $\text{NH}_4\text{Cl}$  en su dieta durante 3 y 9 días.<sup>195</sup> En un estudio de acidosis respiratoria aguda en el perro no se describieron cambios en el magnesio sérico, mientras que los niveles de este catión se incrementaron un poco cuando el proceso se prolongaba por más de 24 horas.<sup>121</sup>

Es importante destacar el hecho de que, tanto en el grupo Control, como en los de Acidosis, la hipomagnesemia existente durante la fase de hipocalcemia no representa un estímulo añadido a la secreción de PTH, ya que al corregir la caída de magnesio no se modifican los niveles máximos de PTH. Este hecho refuerza la tesis de que existe una diferencia importante en la capacidad de ambos cationes para actuar sobre la secreción de PTH, de manera que en una situación de hipocalcemia aguda el descenso en los niveles de magnesio no supone un mayor estímulo para la secreción de PTH.

Por otro lado, la diferencia en los niveles de PTH observada en los grupos de perros de Acidosis Metabólica (Grupo II y Grupo IIB) durante el clamp normocalcémico, dependiendo de que se controlen o no los niveles de Mg, pone de manifiesto la importancia de este catión en la dinámica de secreción de las glándulas paratiroides.

A partir de estos datos se reafirman varias ideas acerca del efecto del calcio y magnesio sobre la secreción de PTH: a) ambos cationes ( $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ ) actúan sobre la célula paratiroidea, b) el efecto del calcio es más potente que el del magnesio, y c) en presencia de máxima estimulación hipocalcémica, no se aprecia efecto del magnesio sobre la secreción de PTH.

El efecto estimulador de la hipomagnesemia sobre la secreción de PTH ha sido descrito anteriormente en numerosas ocasiones por diferentes autores,<sup>83,87,220,431,455</sup> pero no existe uniformidad sobre la magnitud e importancia de este efecto. Además, no existe ningún estudio *in vivo* en donde se compruebe la influencia de los cambios agudos de magnesio sobre la secreción de PTH. Por otra parte, se ha comprobado que una deficiencia crónica en el magnesio está asociada a un descenso en la secreción de PTH y a la aparición de resistencias a la acción de la PTH.<sup>7,170,190,431,432</sup> A la vista de nuestros resultados, parece evidente la necesidad de realizar nuevos estudios para aclarar el papel del Mg sobre la secreción de PTH. Especialmente, en estados patológicos en donde pueden coexistir alteraciones en la magnesemia con desequilibrios ácido-base, como la acidosis metabólica.

Las diferencias entre los efectos de la acidosis, dependiendo de que tenga un origen metabólico o respiratorio, son de interés y han sido descritas con anterioridad a nivel renal y óseo. En un estudio en ratas, se comprobó que la excreción renal de calcio, fósforo y magnesio, era diferente dependiendo del tipo de acidosis. Los autores concluyeron que el manejo renal de estos iones no depende únicamente del pH sanguíneo, sino que también influyen las causas que determinan el cambio de pH.<sup>288</sup> Además, numerosos estudios *in vivo* e *in vitro* han constatado esta diferencia de efectos entre ambos tipos de acidosis a nivel óseo.<sup>93,94,95,96,97,98,100,103,104,105,106,109,110,113,114</sup> Algunos autores han descrito que la liberación de búferes óseos como el carbonato, y otros iones como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  es de distinta magnitud cuando se somete al hueso a una acidosis metabólica o respiratoria.<sup>98,106</sup> Incluso se ha demostrado que los mecanismos celulares

óseos que median los efectos que la acidosis metabólica ejerce sobre el hueso no actúan en la acidosis respiratoria.<sup>100,114</sup> Estas diferencias en las acciones de ambos tipos de acidosis sobre el hueso podrían tener conexión con nuestros resultados. Como se ha descrito en el apartado de Material y Métodos, la cantidad de EDTA administrada para mantener invariable la calcemia fue mucho mayor en Acidosis Metabólica que en la Respiratoria, a pesar de que los cambios del pH fueron similares en ambos grupos. Esto sugiere que ambos tipos de acidosis no tienen la misma capacidad de extraer calcio del hueso.

La necesidad de infundir EDTA en acidosis, para mantener la concentración de calcio iónico, está en consonancia con estudios previos en los que se ha observado una elevación en la concentración plasmática de calcio iónico en las acidosis metabólica y respiratoria agudas.<sup>53,121,379</sup> El incremento del calcio iónico sérico es debido a un aumento del flujo de calcio desde el hueso<sup>108</sup> y a una reducción de la unión del calcio a la albúmina.<sup>458</sup> Aunque nuestro estudio no permite la completa diferenciación entre estas dos posibilidades, a la vista de los datos de infusión de EDTA, parece que la diferencia entre los dos tipos de acidosis debe estar relacionada con una mayor capacidad de la acidosis metabólica para extraer calcio del hueso.

Un elemento importante del metabolismo mineral del que hasta ahora no se había discutido es el fósforo. En nuestros experimentos no se producen cambios importantes en los niveles de fósforo. Concretamente, en los grupos de acidosis se detectó una pequeña elevación transitoria de la fosfatemia sólo en la acidosis respiratoria. En consonancia con nuestros resultados, estudios previos en los que se indujo acidosis metabólica aguda no encontraron cambios destacables en los niveles de fósforo inorgánico sérico.<sup>53,379</sup>

El incremento del fósforo inorgánico plasmático con la hipercapnia (acidosis respiratoria) aguda observado en nuestros experimentos es similar al descrito por otros

autores.<sup>121,218,508</sup> En el estudio de Canzanello *et al.*,<sup>121</sup> en donde se analiza el efecto de la acidosis respiratoria crónica sobre la excreción urinaria de calcio en el perro, se observó un aumento de fosfatemia de 0.5 mmol/l respecto del control a las dos horas de instaurarse el protocolo de acidosis respiratoria. En el transcurso de este estudio se apreció que la hiperfosfatemia era un fenómeno transitorio, que los autores no consideraron relevante y por ello no trataron de explicar los posibles mecanismos que lo determinaban. Algunos estudios han descrito que la acidosis puede incrementar la liberación de fósforo inorgánico desde el espacio intracelular, lo que contribuiría a incrementar la concentración plasmática del mismo.<sup>34,50</sup> El aumento de la salida de fósforo de la célula parece mediado por el descenso del pH, que inhibe la glicólisis intracelular y provoca un aumento en la degradación de compuestos con fosfato orgánico en el interior de la célula.<sup>50</sup> Por otra parte, hay que considerar que el incremento en los niveles de PTH que acompaña a la acidosis tiene un efecto hipofosfatémico y puede explicar el hecho de que en el grupo de Acidosis Metabólica no se observara un incremento en los niveles plasmáticos de fósforo inorgánico.

Es improbable que el pequeño y transitorio incremento en los niveles de fosfatemia observado en la Acidosis Respiratoria representara un estímulo significativo para la secreción de PTH; de acuerdo a los datos de Estepa *et al.*,<sup>163</sup> estos niveles de fósforo plasmáticos son insuficientes para estimular la secreción de PTH.

Con respecto al análisis de los cambios electrolíticos, es interesante resaltar que los valores del grupo Control presentaron unos niveles dentro del rango normal descrito en la bibliografía y similares a los obtenidos en perros en anteriores trabajos realizados en nuestro laboratorio.<sup>4,165,166,171,265,308,519</sup> En el grupo Control sólo se observó una leve caída de la potasemia que pudo ser causada por un efecto dilucional, puesto que, para evitar cambios de volumen entre grupos, fue necesario administrar solución salina a los controles. Es interesante resaltar que no es posible atribuir la disminución de  $K^+$  a un aumento del pH, porque el pH no cambió en este grupo. Tampoco puede atribuirse este

hecho a un efecto de la anestesia, pues el bloqueante muscular (bromuro de pancuronio) es el único fármaco que podría afectar a los niveles de potasio, pero actuaría aumentando sus niveles plasmáticos, es decir justo lo contrario a lo observado.<sup>58</sup>

El único cambio destacable a nivel electrolítico que se produjo en el grupo de Acidosis Metabólica fue el descenso de bicarbonato. Este hecho era predecible puesto que al infundir un ácido, como el HCl, se consume gran cantidad del buffer bicarbonato para neutralizar el exceso de hidrogeniones que se le administra al individuo. Al mismo tiempo se produjo una elevación de  $\text{Cl}^-$ , la cual también es una lógica consecuencia de la infusión del citado ácido.

El grupo de Acidosis Respiratoria experimentó muy poca variación en los niveles de los principales electrólitos, que se mantuvieron siempre dentro del rango normal. Tan sólo se observó una pequeña elevación en los niveles de bicarbonato que está relacionada con el aumento de la  $\text{PCO}_2$ . Esta elevación en los niveles de bicarbonato, en una situación de hipercapnia aguda está descrita en la bibliografía, y resulta de la disociación del ácido carbónico (formado previamente por la hidratación del  $\text{CO}_2$ ), que genera nuevos iones bicarbonato y, al mismo tiempo, libera  $\text{H}^+$ , que se combinan con otros tampones distintos del bicarbonato (hemoglobina, otras proteínas plasmáticas y búferes intracelulares).<sup>350</sup> En general, en la bibliografía se comenta que los cambios en el bicarbonato suelen ser pequeños, pero se ha descrito que el bicarbonato puede elevarse en una acidosis respiratoria aguda en una proporción de 1 mEq/l por cada 10 mm de Hg de aumento de  $\text{PCO}_2$ , fluctuando en humanos desde 24 mEq/l hasta un nivel máximo de 30 mEq/l.<sup>350,421</sup>

El análisis cuantitativo del estado ácido base en cada uno de los grupos se hará discutiendo de forma individualizada las variaciones en las variables independientes: diferencia de iones fuertes (SID), presión parcial de  $\text{CO}_2$  ( $\text{PCO}_2$ ) y ácidos débiles no volátiles (At).

En el caso del grupo control los valores de  $PCO_2$ , SID y At permanecieron invariables a lo largo de los experimentos, y sus valores están en consonancia con los descritos en perros tanto en la bibliografía consultada, como con los obtenidos en nuestro laboratorio en anteriores trabajos.<sup>4,165,171,519</sup>

En el grupo de Acidosis Metabólica se produjo un descenso del SID, como consecuencia del ingreso en estos perros de un anión fuerte: el  $Cl^-$  (por la infusión de HCl). Dicho anión se elevó en el plasma de estos animales en magnitud muy parecida a como descendió el SID, lo cual es lógico si pensamos que no hubo variación significativa en los niveles de cationes fuertes ( $Na^+$  y  $K^+$ ). Esto se correspondería con una situación de acidosis metabólica hiperclorémica. Como los perros estuvieron sometidos a ventilación controlada, se impidió la compensación respiratoria, que daría lugar a un descenso de la  $PCO_2$ . Como se ha descrito anteriormente, los niveles de  $PCO_2$  no se modificaron en este grupo a lo largo de las dos horas de experimento.

En el caso del grupo de Acidosis Respiratoria, el único cambio destacable fue una elevación considerable de la  $PCO_2$ , que por otra parte era lo que se pretendía al disminuir en este grupo el ritmo y el volumen ventilatorio. Este acúmulo de  $CO_2$  fue lo que provocó el descenso del pH. En estos animales se produjo una pequeña compensación metabólica que se manifiesta en la elevación del SID. El incremento de SID, que no llegó a ser significativo, viene a ser el reflejo de un pequeño aumento en los niveles de  $Na^+$  y un cierto descenso del anión cloro.

En cuanto a la tercera variable independiente, At, aunque tiene poco peso en una situación en donde no se modifican los niveles de proteínas plasmática, hay que reseñar que esta variable presenta en los grupos de Acidosis una leve caída de sus niveles durante la fase de hipocalcemia (minuto 60 al 120). Dado que la concentración de albúmina plasmática se mantuvo prácticamente invariable en estos grupos, esta pequeña caída del



At debe ser reflejo de un descenso relativo en los niveles de fósforo, hecho que se aprecia en los grupos de Acidosis durante la fase de hipocalcemia.

Mediante el estudio de regresión lineal multivariable se ha planteado un modelo donde la variación de PTH se explica por cambios en las variables independientes que determinan el estado ácido-base ( $PCO_2$ , SID y At). A partir de los datos de este estudio estadístico, se puede inferir que en cada grupo de Acidosis la variación de la PTH está determinada por variables distintas. Cuando se analiza un modelo de regresión lineal, se observa que en el grupo de Acidosis Metabólica es el SID lo que está afectando principalmente a la PTH. Este resultado es razonable porque es el descenso de SID lo que provoca en este grupo la caída del pH. Del mismo modo, en el grupo de Acidosis Respiratoria, donde la elevación de la  $PCO_2$  provoca el descenso del pH, se obtiene un modelo donde la variable  $PCO_2$  explica principalmente las variaciones de PTH. De modo que en los cambios de SID y  $CO_2$ , que se producen en Acidosis Metabólica y Acidosis Respiratoria, respectivamente, se debe buscar el origen del estímulo en la secreción de PTH observado durante la acidosis.

En conclusión, a partir de los resultados obtenidos en los grupos de acidosis se puede afirmar que existe una relación directa entre el descenso del pH y la secreción de PTH. Así se demuestra que, en una situación de normocalcemia, ambos tipos de acidosis ejercen un efecto estimulador directo sobre la secreción de PTH de la misma magnitud, y este estímulo determina, al cabo de una hora de acidosis, una elevación de los niveles de PTH hasta alcanzar valores 4 a 5 veces superiores a los normales. Además, se comprueba que la secreción máxima de PTH en respuesta a la hipocalcemia en Acidosis Metabólica es muy superior al Control y a Acidosis Respiratoria. Al comparar los resultados entre los grupos de Acidosis con y sin control de Mg, se puede deducir que el estímulo provocado por la caída del Mg sobre los niveles de PTH es también superior en Acidosis Metabólica que en Acidosis Respiratoria.

## ALCALOSIS

Los resultados obtenidos en los Grupos IV y V, en los que se sometió a los perros a protocolos de alcalosis metabólica y respiratoria, muestran la existencia de un potente efecto inhibitor de la alcalosis sobre la secreción de PTH, que es independiente del calcio.

El efecto inhibitor directo de la alcalosis sobre la secreción de PTH no había sido descrito con anterioridad. La información que se obtiene de la bibliografía respecto del efecto de la alcalosis sobre la secreción de PTH es ciertamente distinta a la que muestran nuestros resultados. Debido al descenso de los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  que provoca la alcalemia, la mayoría de los autores han descrito que la alcalosis representa un estímulo para las glándulas paratiroides, dando lugar a niveles elevados de PTH.<sup>102,301,337</sup> Sólo hemos encontrado un estudio antiguo en perros donde se consiguió evitar el descenso de  $\text{Ca}^{2+}$  y la concentración de PTH no cambió, a pesar de la alcalosis.<sup>337</sup> La ausencia de inhibición durante la alcalosis metabólica encontrada por estos autores puede ser debida a la diferente técnica utilizada para la cuantificación de PTH, ya que en esa fecha aún no existía un ensayo para medir PTH intacta.

Nuestros datos podrían ayudar a explicar los resultados de algunos estudios en los que, tras la administración de sustancias alcalinizantes, se ha observado una notable reducción en los índices de función ósea y una estabilización, e incluso disminución, en los niveles de PTH en enfermos con osteodistrofia renal.<sup>133,145,215,291,413</sup> Estos estudios se realizaron en enfermos con insuficiencia renal en prediálisis o dializados que sufrían hiperparatiroidismo secundario y, por lo tanto, presentaban elevados niveles de PTH con un alto índice de remodelación ósea. Cuando se les administró una mayor cantidad de álcali, oralmente o a través de la diálisis, se consiguió, en algunos casos, reducir los niveles de PTH y, en la mayoría de los individuos, se frenó la progresión de la osteítis fibrosa.

Coen *et al.*<sup>136</sup> han descrito que el efecto beneficioso sobre el hueso del tratamiento con calcitriol en pacientes con insuficiencia renal es mucho mayor cuando estos pacientes poseen niveles de bicarbonato más elevados y estables. En un estudio retrospectivo en pacientes con osteodistrofia renal, se observó que el grupo de enfermos con una concentración más elevada de bicarbonato en sangre presentaba una mejoría significativa de sus lesiones óseas, respecto al grupo con los niveles de bicarbonato descendidos.<sup>136</sup>

Otros autores, en cambio, no han encontrado efectos beneficiosos sobre el hueso y sobre el grado de hiperparatiroidismo en enfermos renales que recibían un suplemento de sustancias alcalinizantes. En un estudio bastante antiguo realizado en pacientes con enfermedad renal, se afirmaba que la administración crónica de bicarbonato, paradójicamente, retardaba la resolución de los déficits esqueléticos de calcio que sufrían estos individuos.<sup>301</sup> En un trabajo más reciente, en el que se consiguió elevar los niveles de bicarbonato plasmático a pacientes en hemodiálisis utilizando una técnica de biofiltración de acetato libre, de Precigout *et al.*<sup>400</sup> no observaron reducción alguna en los niveles de PTH, ni cambios en la sensibilidad de las glándulas a los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$ . Del mismo modo, Ouseph *et al.*,<sup>381</sup> un año después, en 1996, no consiguieron ver diferencias en la curva  $\text{Ca}^{2+}$ -PTH entre dos grupos de pacientes hemodializados con distintos niveles de bicarbonato, aunque puntualizaron de forma acertada que sus pacientes presentaban distintos niveles de bicarbonato en sangre pero que el pH no se modificó, por lo que no descartaron la posibilidad de un efecto del pH sobre la función de las glándulas paratiroides. Para finalizar con este grupo de trabajos, hay que citar uno en el que no se encontraron modificaciones en los niveles de PTH, pero si se observó una elevación de los niveles de calcitriol circulante en pacientes hemodializados cuando aumentaron la cantidad de bicarbonato en la solución de dializado para corregir la acidosis metabólica. Los autores interpretaron el aumento de CTR como resultado de un aumento en la actividad  $1\alpha$  hidroxilasa renal que, aunque está muy reducida en este tipo de enfermos, se reactivó al corregir la acidosis metabólica.<sup>315</sup> Este aumento en la

concentración de calcitriol podría justificar la mejora de las alteraciones óseas descrita en algunos de los trabajos anteriormente citados.

La bibliografía relacionada con los efectos de la hipocapnia sobre el metabolismo fosfocálcico es muy reducida. Algunos estudios, en los que se provocó hipocapnia aguda a ratas o a voluntarios humanos, han mostrado la existencia de un efecto bloqueante de la hipocapnia sobre la acción fosfatúrica de la PTH.<sup>43,237,273,274,345,402</sup> No obstante, Hoppe *et al.*<sup>237</sup> demostraron que el antagonismo frente a la acción fosfatúrica de la PTH sobre el riñón fue debido principalmente al descenso de la PCO<sub>2</sub> y no a la alcalemia concomitante. Krapf *et al.*,<sup>273,274</sup> en varios estudios realizados en voluntarios humanos a quienes se sometió a hipocapnia (mediante hiperventilación o mediante un ambiente con bajo CO<sub>2</sub>), también describieron la existencia de un bloqueo de la acción de la PTH sobre el riñón. Estos autores plantearon la existencia de una posible alteración en la secreción de PTH durante la alcalosis respiratoria crónica, ya que, a pesar de que existía un descenso significativo del Ca<sup>2+</sup> y un aumento del fósforo, no se producían cambios en los niveles de PTH. Es interesante resaltar que en la mayoría de estos estudios en hipocapnia aguda no se consiguió provocar una elevación del pH comparable a la alcanzada en nuestros grupos de perros sometidos a alcalosis respiratoria. Además, en ninguno de estos trabajos se controlaron los niveles de Ca<sup>2+</sup>.

Para una misma elevación del pH, el efecto inhibitor sobre la secreción de PTH detectado en los grupos de alcalosis durante la situación de normocalcemia fue de mayor intensidad cuando la alcalosis era de origen respiratorio (descenso de la PCO<sub>2</sub>) que cuando tenía origen metabólico (aumento de bicarbonato). En la bibliografía no se recogen datos que ayuden a explicar el porqué de estas diferencias. Más adelante, y sirviéndonos de los resultados encontrados en el grupo Control Hiperosmolar, se expondrá un argumento para ello.

En ambos grupos de alcalosis fue necesario infundir calcio para mantener constantes los niveles de este ion en el plasma. El efecto hipocalcémico de la alcalosis ha sido descrito anteriormente en humanos y en animales.<sup>102,273,304,371,388</sup> También en estudios *in vitro*, se ha comprobado la existencia de una relación lineal inversa entre el pH y la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en un medio de cultivo a base de plasma sanguíneo.<sup>243,341,492</sup> En estos estudios *in vitro* se relaciona el descenso de calcio iónico con los cambios que el pH provoca en la unión de este ion a la albúmina y también con la formación de complejos con el bicarbonato. En nuestro estudio hay que destacar que la cantidad de  $\text{Ca}^{2+}$  que fue necesario infundir en los perros sometidos a Alcalosis Metabólica fue mucho mayor que la requerida en el caso de los animales sometidos a Alcalosis Respiratoria. Dado que no existían diferencias a lo largo de los experimentos en la concentración de albúmina plasmática, este hecho probablemente esté relacionado con la elevada concentración de bicarbonato existente en el grupo de Alcalosis Metabólica, que formaría complejos con el calcio produciendo un descenso del  $\text{Ca}^{2+}$ . En la alcalosis respiratoria por el contrario, la proporción de calcio unido al bicarbonato estaría disminuida, ya que existe un descenso de los niveles de bicarbonato en este grupo. Esta hipótesis está en consonancia con estudios *in vitro* en los que se ha visto que existe una relación inversa entre la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  y la de bicarbonato, independientemente de la variación que sufre el  $\text{Ca}^{2+}$  con cambios del pH.<sup>243</sup>

Al analizar el efecto de la alcalosis en una situación de hipocalcemia, se observó que la supresión en la secreción de PTH que existía durante normocalcemia desapareció, y se alcanzó en ambos grupos una secreción de PTH máxima que no difirió del grupo Control. Por lo tanto, parece que el potente efecto estimulador que la caída de  $\text{Ca}^{2+}$  ejerce sobre las glándulas paratiroides hace que desaparezca el estado de inhibición provocado por una situación de pH elevado. Es interesante resaltar que, a pesar de que la alcalosis produce inhibición de la secreción de PTH, la respuesta secretora de PTH a un estímulo hipocalcémico subsiguiente no se altera. Este hecho contrasta con la respuesta secretora de PTH a la hipocalcemia cuando las glándulas paratiroides han

estado previamente sometidas a hipercalcemia. En nuestro laboratorio se han realizado estudios en animales donde se observó que la respuesta secretora de las glándulas paratiroides a la hipocalcemia se reducía considerablemente cuando previamente habían sido sometidas a un estímulo inhibitorio, provocado por una hipercalcemia aguda.<sup>36,439</sup> La repuesta alterada de las glándulas paratiroides a la hipocalcemia puede estar causada por un aumento de la degradación intracelular de la PTH intacta, promovida por los altos niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular. También es posible que la hipercalcemia aguda previa provoque la liberación, desde las células paratiroides, de sustancias inhibitoras de la secreción de PTH. Incluso, cabría considerar la posibilidad de que las señales intracelulares desencadenadas por la interacción de una elevada concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  con el CaR estén alteradas, de forma que después no exista una respuesta adecuada a la hipocalcemia. De cualquier manera, esta diferencia en la respuesta a la hipocalcemia en glándulas previamente inhibidas por alcalosis o por hipercalcemia, nos lleva a pensar que los mecanismos que determinan la inhibición en la secreción de PTH por la alcalosis deben estar dirigidos por caminos muy diferentes de los que conducen la respuesta de las glándulas a una hipercalcemia aguda.

Para descartar que el efecto inhibitor sobre la secreción de PTH que se observó en el grupo de perros sometidos a Alcalosis Metabólica durante la fase de normocalcemia fuese debido a cambios en la osmolaridad plasmática producidos por la elevación en los niveles de  $\text{Na}^+$ , se estudió la influencia de la elevación de la natremia (Grupo VI) sin modificar el pH. En este grupo se produjo una elevación en los niveles de  $\text{Na}^+$  mediante la infusión de una solución de NaCl hipertónico, con osmolaridad prácticamente idéntica a la solución de bicarbonato sódico infundida a los perros para inducir alcalosis metabólica. La concentración de PTH de este grupo, en donde subió progresivamente la natremia, no descendió, sino que, por el contrario, se elevó lentamente llegando a ser significativamente mayor que la del grupo Control, a pesar de que el  $\text{Ca}^{2+}$  se mantuvo constante. Estos datos sirven para descartar que el efecto inhibitor en la secreción de

PTH que se produce en la Alcalosis Metabólica (infusión de bicarbonato sódico) fuese debido a la elevación de la natremia.

Además, los datos obtenidos en este grupo, donde se provocó una elevación del  $\text{Na}^+$  plasmático en más de 30 mmol/l, están en consonancia con los existentes *in vitro*, en los que se ha demostrado que el incremento en la osmolaridad y/o fuerza iónica ejerce un efecto estimulador sobre la secreción de PTH.<sup>127,405</sup> Chen *et al.*,<sup>127</sup> usando cultivos de células paratiroides bovinas dispersadas, obtuvieron una elevación en los niveles de PTH cuando incrementaban la osmolaridad del medio de cultivo añadiendo tanto NaCl como sucrosa. A partir de estos datos, concluyeron que el efecto estimulante está causado por la elevación de la osmolaridad más que por los cambios de fuerza iónica. En cambio, Quinn *et al.*,<sup>405</sup> también en estudios *in vitro*, han descrito un efecto estimulador sobre las células paratiroides, a través de acciones sobre el receptor de  $\text{Ca}^{2+}$ , provocado por cambios de fuerza iónica en el medio de cultivo y que es independiente de la elevación de la osmolaridad. En cualquier caso, nuestros resultados son compatibles con ambos estudios, dado que en el Grupo VI los cambios en la osmolaridad fueron provocados por la adición de una sal de  $\text{Na}^+$ , que al mismo tiempo provoca un aumento de la fuerza iónica. Estos resultados, según nuestro conocimiento, serían los primeros en evidenciar el efecto de la osmolaridad y/o fuerza iónica sobre las glándulas paratiroides *in vivo*.

En los perros sometidos a Alcalosis Metabólica, la fosfatemia se mantuvo prácticamente constante en sus niveles basales, sin embargo, se detectó un descenso significativo del mismo en el transcurso de la Alcalosis Respiratoria.

El descenso de los niveles plasmáticos de fosfato en una situación de alcalosis respiratoria aguda ha sido descrito ampliamente tanto en humanos como en animales (rata y perros).<sup>64,266,345,507</sup> Aunque los mecanismos no están del todo aclarados, la hipofosfatemia se debe principalmente a un desplazamiento del fosfato extracelular hacia el interior de las células, especialmente a las musculares. La alcalinización intracelular

estimula la glicólisis, lo que propicia la entrada de fosfato, nucleótidos de adenina y glucosa-6 fosfato. Al mismo tiempo, la hipofosfatemia parece estar relacionada parcialmente con la acreción de este mineral al hueso, por efecto de la alcalemia. La repercusión del descenso en los niveles de fósforo sobre los niveles de PTH recogidos en el grupo de Alcalosis Respiratoria es, con toda probabilidad, insignificante, por dos razones: primero, porque aunque se ha demostrado que una gran elevación de los niveles de fósforo provoca un aumento en la secreción de PTH,<sup>163</sup> no se ha descrito nunca que una disminución aguda de la fosfatemia pueda producir una disminución en la secreción de PTH; segundo, porque el descenso en los niveles de fosfato del grupo de Alcalosis Respiratoria adquirió significación estadística durante la segunda hora de experimento, fase en la que se estaba induciendo hipocalcemia, cuyo estímulo positivo sobre la secreción de PTH obviaría el posible efecto supresor de la hipofosfatemia.

En el caso de los perros sometidos a protocolos de alcalosis existe una serie de variaciones en algunos electrólitos que conviene analizar. La elevación del bicarbonato y del  $\text{Na}^+$  que se produjo en el grupo de Alcalosis Metabólica estaba lógicamente relacionada con la infusión en estos perros de bicarbonato sódico, por lo tanto, era algo que estaba previsto. Algo también previsible, que ha sido descrito ampliamente en anteriores estudios, tanto en animales, como en humanos,<sup>350,421</sup> es la caída de potasio que se produjo en el grupo de Alcalosis Metabólica y, en menor medida, en el de Alcalosis Respiratoria. La explicación es que parte del potasio extracelular pasaría al interior de la célula, donde la concentración de hidrogeniones es baja.<sup>350,421</sup>

Por otro lado, el descenso de  $\text{Cl}^-$  que aconteció en el grupo de Alcalosis Metabólica no parece en consonancia con lo que teóricamente debiera suceder. Según la bibliografía, la deplección de  $\text{Cl}^-$  provocaría, a través de mecanismos principalmente renales, una alcalosis metabólica con aumento del bicarbonato.<sup>350</sup> En el grupo de Alcalosis Metabólica, donde existía un considerable elevación en los niveles de bicarbonato, la excreción renal de este ion debería acompañarse de una mayor reabsorción de  $\text{Cl}^-$  a este



nivel. Además, también debería producirse un intercambio de estos aniones a nivel celular. En definitiva, teóricamente, en la alcalosis metabólica debería producirse una elevación de los niveles de  $\text{Cl}^-$ . El descenso de  $\text{Cl}^-$ , y parte del descenso de  $\text{K}^+$  que se produce en este grupo, podría deberse a un efecto dilucional en el plasma provocado por paso de líquido del espacio intracelular al extracelular, debido al aumento de osmolaridad en este último compartimento. Un dato que podría apoyar esta idea del efecto dilucional, es que en el grupo de infusión de  $\text{NaCl}$  hipertónico donde se produce un aumento similar de la presión osmótica, existía también un descenso de  $\text{K}^+$  y de  $\text{Ca}^{2+}$  (aunque la disminución de  $\text{Ca}^{2+}$  se evitó infundiendo una pequeña cantidad de  $\text{CaCl}_2$ ).

El cambio electrolítico más significativo en el grupo de Alcalosis Respiratoria fue el descenso de bicarbonato. En la bibliografía se describe que, cuando se produce un descenso en los niveles de  $\text{CO}_2$ , tiene lugar una disminución proporcional en la concentración de bicarbonato. Teóricamente, en un proceso agudo, el bicarbonato caería 2 mEq/l por cada 10 mm de Hg que descendiera la  $\text{PCO}_2$ . En el caso de una situación de hipocapnia de más de dos horas de duración comienzan a funcionar fenómenos compensatorios renales, determinando una caída mayor de los niveles de bicarbonato, entre 4 y 5 mEq/l de bicarbonato por un descenso de 10 mm Hg de la  $\text{PCO}_2$ .<sup>350,421</sup> Al observar nuestros datos, se aprecia que durante la primera hora de experimento el descenso de bicarbonato con respecto a la caída de  $\text{PCO}_2$  cumple de forma aproximada la relación descrita en la bibliografía para un proceso agudo. Sin embargo, durante la segunda hora, esta relación se parece mucho más a la descrita para un proceso crónico. Por lo tanto, esto nos lleva pensar que los fenómenos compensatorios renales aparecerían antes de dos horas en un proceso de hipocapnia aguda.

Las pequeñas variaciones que sufren tanto la natremia como la cloremia en los perros sometidos a alcalosis respiratoria están en consonancia con los datos existentes en la bibliografía referidos a humanos y a perros.<sup>350,421</sup> Al igual que sucede en nuestro grupo

de Alcalosis Respiratoria, se ha descrito una pequeña elevación del *anion gap* (AG) relacionada con el descenso del bicarbonato.<sup>350</sup>

Por lo que se refiere a las variables independientes que definen el estado ácido-base en los grupos de perros sometidos a alcalosis, se discutirán los siguientes aspectos:

La elevación del valor de SID que se produjo en la Alcalosis Metabólica en algo más de 30 mEq/l se correspondería prácticamente con el incremento observado en los niveles de Na<sup>+</sup>, catión fuerte que ingresó en estos perros a través de la infusión de bicarbonato sódico. Esta elevación del SID es lo que origina la alcalosis metabólica.

En un proceso de alcalosis metabólica se produce una respuesta compensatoria del organismo que da lugar a elevación de la PCO<sub>2</sub>. Concretamente, se ha descrito que en un proceso agudo, existe una subida de PCO<sub>2</sub> de 6 mm de Hg por cada 10 mEq/l que se incrementa la concentración de bicarbonato. Esto ocurre en una situación en la que el individuo puede respirar de forma natural. En nuestro caso, al mantener fijo y constante el ritmo respiratorio a través de la ventilación mecánica, se deberían prevenir los cambios de PCO<sub>2</sub>. Sin embargo, en nuestros datos se aprecia una ligera elevación de este parámetro. Las causas que pueden producir la elevación de la PCO<sub>2</sub> en una alcalosis metabólica son: a) generación de dióxido de carbono, a partir de la titulación del bicarbonato que ingresa en el organismo, por combinación con iones H<sup>+</sup>; b) retención de CO<sub>2</sub> por compensación respiratoria, para amortiguar los efectos alcalinizantes del exceso de base. Dado que nuestros perros recibieron ventilación controlada, la elevación en la PCO<sub>2</sub> debe estar relacionada con una mayor generación de CO<sub>2</sub>. Los cambios de PCO<sub>2</sub> debidos a modificaciones en la concentración plasmática de bicarbonato, han sido reportados anteriormente en otros estudios en perros con ventilación controlada.<sup>2,201,433</sup>

En el caso de los perros del grupo de Alcalosis Respiratoria, en los cuales se estableció un aumento progresivo del ritmo y del volumen ventilatorio, aparecía una consecuente

disminución de la  $PCO_2$ . Del mismo modo que se ha descrito anteriormente en la alcalosis metabólica, el organismo actúa en consecuencia ante esta nueva situación y, de forma compensatoria, se reducen las cargas positivas y se aumentan las negativas. Esto se puede apreciar en el descenso del SID que se observa en los perros hiperventilados. Este hecho se produce como consecuencia de un pequeño descenso del  $Na^+$  y una elevación, más evidente, del  $Cl^-$  plasmáticos.

Los niveles de At se mantuvieron prácticamente invariables en los perros sometidos a Alcalosis Metabólica, sin embargo, en el grupo de Alcalosis Respiratoria el At presenta una tendencia descendente durante la segunda hora de experimento, lo que debe estar causado por la caída de la fosfatemia descrita en la hipocapnia.

En los grupos de Alcalosis la relación que se establece entre las variables del análisis cuantitativo del estado ácido-base ( $PCO_2$ , SID y At) y los niveles de PTH, a través del análisis de regresión lineal, nos muestra la gran importancia de estas variables en los cambios de PTH. De manera que, en la Alcalosis Metabólica, el SID es la variable que con mayor peso determina los cambios que suceden en la concentración de PTH. En cuanto al grupo de Alcalosis Respiratoria es la  $PCO_2$  la variable que influye más sobre los cambios de PTH. Por lo tanto, en los fenómenos de alcalosis, al igual que se describió en la acidosis, se deben considerar primariamente estas dos variables, SID y  $PCO_2$ , para predecir los cambios en la concentración de PTH.

Es interesante estudiar, de forma global, la relación entre las distintas variables dependientes (pH y bicarbonato) e independientes ( $PCO_2$ , SID y At) del estado ácido-base y los niveles de PTH encontrados en los distintos grupos Acidosis y Alcalosis. En este sentido, los estudios de correlación simple y análisis de regresión múltiple entre estas variables en normocalcemia, aportan datos interesantes para una mejor interpretación del efecto del pH sobre la secreción de PTH. Existe una marcada relación entre la PTH y el pH, variables que presentan uno de los coeficientes de correlación más altos cuando

se estudia su evolución tanto en los procesos respiratorios como en los metabólicos. Estos hallazgos apoyan la hipótesis de partida de este trabajo, que es la existencia de una conexión directa entre el estado ácido-base y la secreción de PTH, independiente del  $\text{Ca}^{2+}$ .<sup>53,381</sup> Sin embargo, hay que reseñar que, según los estudios de correlación, también existe una relación importante entre los niveles de bicarbonato y la concentración de PTH en las alteraciones ácido-base de origen metabólico, lo que haría más compleja la relación entre este tipo de alteraciones del equilibrio ácido base y la respuesta secretora de las glándulas paratiroides. En los procesos respiratorios existe también una relación evidente entre los niveles de bicarbonato y la concentración de PTH, pero en este caso es de sentido contrario a la observada en los procesos metabólicos, esto dificulta enormemente establecer una relación única entre ambas variables, así como predecir variaciones en la concentración de PTH debidas a un cambio en el bicarbonato plasmático.

Por otra parte, las relaciones que se establecen en el estudio de correlación simple y múltiple entre las variables independientes  $\text{PCO}_2$ , SID y At y los niveles de PTH aportan una visión más detallada y original, ya que nunca antes se había descrito con la complejidad que se aborda en el presente trabajo. En el caso de las alteraciones respiratorias, los resultados de correlación simple y múltiple entre la  $\text{PCO}_2$  y la PTH indican que los niveles de  $\text{CO}_2$  son responsables primarios de las alteraciones que se observan en la respuesta secretora de las células paratiroides. Esto estaría en consonancia con la idea que avanzaron otros autores cuando expusieron que las alteraciones que observaban en la excreción renal de fósforo en una situación de hipocapnia eran debidas a los cambios de  $\text{PCO}_2$ , más que a la elevación del pH sanguíneo.<sup>237</sup>

Algo parecido a lo que hemos descrito con los niveles de  $\text{PCO}_2$  podría decirse a partir de la relación existente entre los niveles de PTH y el SID en los procesos metabólicos, aunque en este caso la relación es inversa. En los procesos metabólicos suceden

desplazamientos importantes del SID en un sentido u otro, como consecuencia de los cambios que acontecen en iones fuertes ( $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ ), que son los principales responsables de las variaciones del pH extracelular y, en consecuencia, de los cambios en la respuesta secretora de las glándulas paratiroides. La relación entre el SID y la PTH en los procesos respiratorios es de mucha menor entidad, y pensamos que no merece demasiada atención porque es reflejo de fenómenos compensatorios que acontecen paralelamente cuando se producen grandes cambios de  $\text{PCO}_2$

En la relación entre At y PTH hay que considerar que en nuestros perros sólo existen pequeñas variaciones en los niveles de At, que se deben fundamentalmente a ligeros cambios de los niveles de fósforo. Así, las débiles correlaciones negativas que resultan entre los niveles de la PTH y esta variable del estado ácido-base no tienen otro sentido que la existencia de elevados niveles de PTH, coincidiendo con una tendencia descendente en los niveles de fósforo. Del mismo modo, esto se refleja en los distintos modelos de regresión, donde la variable At presenta muy poco valor para explicar la variación de PTH. Por lo tanto, a partir de nuestros resultados no se puede afirmar que cambios de At influyan significativamente sobre los niveles de PTH.

En resumen, en base a nuestros datos de correlación simple y múltiple, se deduce que existe una clara relación entre el pH y la PTH que es común a ambos tipos de procesos (metabólicos y respiratorios). Al mismo tiempo se demuestra que, aunque los cambios en la concentración de PTH se pueden explicar en gran medida por el pH, es importante tener en cuenta en cada situación en donde exista un desequilibrio ácido-base las variaciones que sufren las variables SID y  $\text{PCO}_2$ . Además, es muy probable que la diferente respuesta secretora de las células paratiroides, observada entre los procesos de origen respiratorio y metabólico, esté relacionada con efectos diferentes e independientes que producen los cambios en la  $\text{PCO}_2$  y el SID en estas células (disyuntiva que discutiremos posteriormente cuando hablemos de los posibles mecanismos de acción del pH sobre las células paratiroides).

## **FASE 2: MODIFICACION DEL ESTADO ACIDO-BASE SIN CONTROL DE LA CALCEMIA**

Para evaluar el efecto de la acidosis metabólica sobre la secreción de PTH en una situación fisiológica, en la que se produciría una elevación del calcio iónico por el descenso del pH, establecimos una segunda fase de trabajo donde se indujo acidosis metabólica a perros sin controlar la subida de calcio iónico. En estos perros, a los que se infundía HCl durante 60 minutos al mismo ritmo utilizado en el grupo de perros de acidosis metabólica con control del calcio, se encontró un incremento significativo en la concentración de PTH a pesar de existir un aumento del calcio iónico superior a 0.1 mmol/l. Estos resultados refuerzan los ya publicados por otros autores que también obtuvieron elevaciones en los niveles de PTH, a pesar de producirse un incremento en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  plasmático, en animales (rata y perro) a los que se les inducía acidosis metabólica aguda administrando soluciones de HCl.<sup>53,379</sup> La menor magnitud de la elevación de los niveles de PTH que encontramos en este grupo de perros, comparada con los resultados de PTH observados en la primera fase de este trabajo en el grupo de Acidosis Metabólica, demuestra la importancia del control de los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  para evidenciar el verdadero efecto del pH sobre las glándulas paratiroides, o al menos para observarlo en toda su magnitud.

El aumento de los niveles de PTH pone de manifiesto que la acidosis metabólica puede perturbar notablemente el metabolismo mineral. Aparte de las alteraciones que la acidosis metabólica produce en la regulación de los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  y fósforo, a través de acciones directas sobre riñón, hueso e intestino, nuestros resultados demuestran que también existe una acción directa de la acidosis metabólica sobre la PTH, una de las principales hormonas reguladoras del metabolismo mineral. Este efecto puede tener considerables consecuencias en el control de los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  y de P. Estas consideraciones deben ser tomadas con especial atención en individuos en los que pueden coexistir alteraciones en el metabolismo mineral con estados de acidosis metabólica, como es el caso de

enfermos con insuficiencia renal. Resultados de algunos estudios en enfermos renales humanos han demostrado que cuando se establecen medidas adecuadas para controlar la acidosis metabólica se obtienen beneficios considerables en el metabolismo mineral, y esto está relacionado con el descenso en los niveles de PTH.<sup>133,145,215,291,413</sup> Pero este tipo de pacientes no es sólo frecuente en medicina humana, también se dan muchos casos de enfermedad renal en Medicina Veterinaria, sobre todo en las poblaciones seniles. En relación a esto, en estudios realizados en nuestro laboratorio se comprobó que en perros seniles existía un incremento en los niveles de PTH que no estaba relacionado con alteraciones evidentes en los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  o de P.<sup>5</sup> En estudios en medicina humana se ha descrito en individuos seniles una cierta tendencia a padecer acidosis metabólica,<sup>188</sup> aunque en Veterinaria no existen datos similares en perros seniles, se podría relacionar el aumento de PTH observado en edades avanzadas con este tipo de alteraciones del pH.

La existencia, en este grupo de Acidosis Metabólica sin control de  $\text{Ca}^{2+}$ , de unos niveles de magnesio invariables e iguales a los basales está en consonancia con lo descrito por otros autores que tampoco encontraron cambios de Mg cuando indujeron acidosis metabólica.<sup>53,135,195</sup> Además, este hecho demuestra que el descenso en la concentración de magnesio que se produjo en los perros de los grupos de acidosis de la primera fase no estaba provocado por el descenso del pH (de la misma magnitud que en este grupo), sino que, como ya habíamos apuntado anteriormente, se trata de un efecto producido por la infusión de EDTA. Esta es una sustancia quelante que de forma indiscriminada se une al magnesio favoreciendo su eliminación renal, igual que lo hace con el calcio, ya que son cationes divalentes de similares características.

### **FASE 3: ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL ESTADO ACIDO-BASE EN EL METABOLISMO DE LA PTH.**

Para estudiar si el efecto del pH sobre los niveles de PTH observado durante la primera fase de estudio se debía a cambios en el metabolismo de la PTH, se evaluó la desaparición de esta hormona en el plasma después de realizar una tiroparatiroidectomía en perros sometidos a cada uno de los protocolos utilizados en la primera fase de trabajo. La tiroparatiroidectomía se llevó a cabo inmediatamente después de la inducción de hipocalcemia (min 90) cuando los niveles de PTH estaban elevados. De esta manera, se pudo hacer un estudio temporal más amplio (al partir de niveles elevados de PTH, se pudo obtener un número mayor de muestras).

A partir de estas curvas de desaparición se comprobó que la vida media de PTH en los perros era bastante corta y muy similar en todos los grupos excepto en el grupo de Acidosis Metabólica. La reducida vida media de la PTH intacta que observamos en nuestros perros está en consonancia con los datos existentes en humanos <sup>63,159,182</sup> y en animales <sup>69,184,448</sup>

El metabolismo periférico de la PTH intacta circulante que tiene lugar en los tejidos está determinado por un rápido aclaramiento y proteólisis de la hormona, y se lleva a cabo principalmente en el hígado y en los riñones. <sup>68,148,223,322,361,392,447</sup>

Algunos autores han sugerido que ciertas condiciones metabólicas pueden determinar un cambio fisiológico en el metabolismo periférico de la PTH. A pesar de que no existen datos específicos en la bibliografía que describan cambios en el metabolismo de la PTH en situaciones donde está alterado el pH, nos pareció oportuno comprobar si la existencia de este tipo de alteraciones en el equilibrio ácido-base podrían modificar el metabolismo de la PTH y si ésto pudiera afectar de forma importante los niveles de PTH intacta circulantes. Efectivamente, observamos que el metabolismo de esta hormona



estaba algo retrasado en una situación de acidosis metabólica comparado con del grupo Control, que representa una situación fisiológica. Este enlentecimiento del metabolismo periférico durante la acidosis metabólica podría estar relacionado con una mayor carga metabólica para los riñones, que tienen que neutralizar y eliminar sustancias ácidas de forma forzada. Según este razonamiento, en ambos procesos metabólicos (alcalosis y acidosis) debería existir un cierto retraso en el metabolismo de la hormona al menos por parte del sistema renal, y de acuerdo con ello si nos fijamos bien podemos comprobar que el segundo tiempo de vida media más elevado es el del grupo de Alcalosis Metabólica, aunque no llega a ser significativamente mayor que el del grupo Control, datos que apoyarían esta hipótesis.

Existen estudios que han descrito cambios en el metabolismo de la PTH cuando se modifica la concentración extracelular de calcio,<sup>119,147,150,240</sup> aunque otros autores no han encontrado una regulación evidente del metabolismo de la PTH por el calcio.<sup>69,149,184,360</sup> Como nuestros estudios del metabolismo de la PTH se realizaron durante el periodo de hipocalcemia, y dado que los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  pudieran influir en el ritmo del metabolismo periférico de esta hormona, consideramos que lo más correcto era realizar los cálculos del ritmo de secreción durante ese período en hipocalcemia. No obstante, estos cálculos también se realizaron con los datos registrados durante la normocalcemia.

Como ya se describió en el apartado de resultados, los cálculos del ritmo de secreción están basados en la ecuación de la curva exponencial ( $C_t = C_o \times e^{-kt}$ ) que describe el ritmo metabólico de PTH en cada una de las situaciones estudiadas en la primera fase de nuestro estudio. De modo que en un período determinado en el que se conocen la concentración inicial ( $C_o$ ) y final ( $C_t$ ) de PTH se puede calcular de forma sencilla los cambios en la concentración de PTH plasmática causados por el metabolismo periférico de la hormona. Además, si se elige un espacio de tiempo donde la concentración plasmática de PTH no se modifique, se puede asumir que toda la hormona secretada en ese período se ha metabolizado. En base a este razonamiento calculamos, en cada una de

las situaciones, la cantidad de PTH secretada. Los resultados obtenidos en estos cálculos demuestran que, a pesar de que existía una elevación de la vida media en el grupo de acidosis metabólica, el incremento en los niveles de PTH intacta registrados en este grupo no se debía únicamente a la reducción en el metabolismo de la hormona, sino que, como se ilustra en las Figuras 19 y 20, durante la acidosis metabólica, tanto en una situación de normocalcemia como en hipocalcemia, la PTH secretada estaba incrementada significativamente. Por tanto, el incremento en la concentración de PTH que se observó en ambos tipos de acidosis en normocalcemia así como los elevados niveles de esta hormona registrados en el grupo de Acidosis Metabólica en hipocalcemia no se pueden atribuir únicamente a cambios en el metabolismo periférico de la PTH. Del mismo modo, los cambios en el metabolismo de PTH no podrían justificar la reducción en la concentración plasmática de dicha hormona en los grupos de perros sometidos a alcalosis.

## MECANISMOS DE ACCION POR LOS QUE CAMBIOS DEL PH AFECTAN LA SECRECION DE PTH

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran la existencia de un efecto de los cambios del pH sobre la secreción de PTH, de manera que cuando desciende el pH se observa un aumento de los niveles de PTH y con la elevación del pH la concentración plasmática de PTH disminuye. Si excluimos la existencia, poco probable durante nuestros experimentos, de modificación en la masa de las glándulas paratiroides, estos cambios en los niveles de PTH circulante pueden ser el resultado de varios mecanismos: 1) Cambios en la producción de PTH, aumentando o disminuyendo individualmente en cada una de las células, asumiendo que todas las células respondan a los estímulos del pH; 2) Modificaciones en el porcentaje de células paratiroides que secretan PTH, considerando que normalmente no todas las células paratiroides están activas;<sup>485</sup> 3) Movilización de gránulos de PTH desde las reservas, obteniendo un pool de donde puede liberarse rápidamente más PTH.<sup>420</sup> De cualquier manera, conviene señalar que cada una de estas posibilidades no excluye a las otras, de forma que el resultado final podría ser la suma de varios de estos fenómenos.

Los mecanismos por los que los cambios de pH actúan sobre la secreción de PTH no se pueden determinar con precisión a partir de los resultados de este estudio. No obstante, podemos intentar establecer algunas conjeturas razonables. En principio, es lógico pensar que los efectos descritos estén relacionados con cambios en el pH del líquido extracelular y que, posiblemente, se deban a una acción sobre el receptor de  $\text{Ca}^{2+}$  (CaR). Los cambios del pH en el medio extracelular pueden inducir cambios conformacionales del CaR que alteren la respuesta de esta proteína de membrana a los niveles plasmáticos de  $\text{Ca}^{2+}$ . Una idea similar fue apuntada anteriormente por Graham *et al.*<sup>215</sup> a partir de los resultados de un estudio donde observaron que la relación  $\text{Ca}^{2+}$ -PTH se modificaba al corregir las alteraciones del pH en pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC). Esta hipótesis estaría basada en la teoría “alfastat” para la regulación del balance ácido-base, según la

cual el control de la concentración de  $H^+$  está encaminado a mantener constante la carga de las proteínas y su ionización.<sup>411</sup> De este modo, los cambios en el pH podrían influir sobre algunas proteínas que actúan como receptores de membrana, induciendo modificaciones en su conformación. Estos cambios en la estructura cuaternaria de las proteínas son debidos a la protonación de grupos imidazoles de los residuos de histidina, grupos que poseen un pK que es susceptible a cambios en un rango de pH cercano al fisiológico. Conviene resaltar que el CaR contiene varios aminoácidos histidina en su dominio extracelular, que serían susceptibles de experimentar las modificaciones anteriormente descritas. Además de los cambios de pH, factores como la temperatura, la osmolaridad y la concentración de iones fuertes (SID) pueden alterar la carga de esas proteínas independientemente.<sup>352</sup>

Además de la acción sobre el CaR, no se pueden descartar otros posibles mecanismos por los que el cambio de pH extracelular, directamente o bien a través de efectos adicionales de SID,  $PCO_2$  y At, actúe sobre las células paratiroides. Estos mecanismos adicionales pueden ser debidos a interferencias en alguna o varias de las vías de señalización intracelular que hasta ahora se conocen en estas células: vía fosfolipasa C - inositolfosfatos, vía fosfolipasa A - ácido araquidónico, vía adenilato ciclasa - AMPc y vía  $Ca^{2+}$  intracelular. Se sabe que los mecanismos de señalización intracelular en estas células son críticos para coordinar la secreción de PTH.<sup>484,46</sup> Por otra parte, se ha comprobado que los cambios del pH intracelular pueden afectar a la capacidad de modular la señalización intracelular en las células paratiroides.<sup>90</sup> De esta manera, es razonable pensar que los cambios de pH a nivel extracelular puedan afectar de algún modo a esas vías de señalización intracelular modificando la secreción de PTH. En numerosos estudios sobre distintos tipos de células se ha descrito que el  $Ca^{2+}$  intracelular actúa como mediador de señales intracelulares provocadas por los cambios del pH extra e intracelular.<sup>90,209,357,366,471,475,497</sup> Con gran probabilidad, este tipo de señales intracelulares mediadas por  $Ca^{2+}$  podrían estar involucradas en la respuesta secretora de las células paratiroides a acidosis y a alcalosis.

No existen datos suficientes en nuestros resultados para establecer el mecanismo de la diferente respuesta secretora de las glándulas paratiroides a las alteraciones del pH según se trate de procesos metabólicos o respiratorios. Sin embargo, si analizamos las peculiaridades que caracterizan ambos tipos de alteraciones del pH, podemos obtener información suficiente para plantear posibles mecanismos que expliquen tales diferencias. Los procesos metabólicos y respiratorios difieren, fundamentalmente, en el gradiente de pH que se establece entre el exterior y el interior de la célula.<sup>234</sup> En los procesos metabólicos existe un gradiente de pH alto (por ejemplo, en acidosis metabólica el descenso de pH extracelular, debido al descenso de SID, es relativamente mayor que el que se produce en el interior de la célula).<sup>250</sup> Este hecho estaría también en la línea de algunas teorías sobre el efecto del pH en los quimiorreceptores celulares, que postulan que el estímulo que éstos captan está relacionado con un gradiente de  $H^+$  a través de la membrana celular.<sup>451</sup> En los procesos respiratorios, sin embargo, el gradiente es más bajo (así en el caso de una acidosis respiratoria el descenso del pH intracelular es similar al extracelular, debido a la gran capacidad de difusión del  $CO_2$ ). La elevación aguda de la  $PCO_2$  (acidosis respiratoria) causa un incremento en la concentración de  $H^+$  y una rápida formación de pequeñas cantidades de carbamatos; estos cambios tendrían lugar en ambas partes de la membrana por igual, y por ello podrían modificar la conformación, tanto de las proteínas extra, como intracelulares. Esta diferencia entre los cambios de pH extra e intracelulares podría justificar las diferencias encontradas entre la Acidosis Metabólica y la Acidosis Respiratoria en una situación de hipocalcemia, así como la diferente inhibición detectada entre la Alcalosis Respiratoria y la Alcalosis Metabólica en normocalcemia.

La diferencia de efectos encontrada entre ambos tipos de alcalosis sobre la secreción de PTH puede ser también el reflejo de una combinación de mecanismos. En los resultados recogidos en el grupo Control Hiperosmolar durante la normocalcemia se observa una elevación en la concentración de PTH. En el grupo de Alcalosis Metabólica, donde existe una elevación de los niveles plasmáticos de  $Na^+$  de igual magnitud a la producida en el

grupo Control Hiperosmolar, se deben producir dos efectos diferentes: un efecto inhibitor del alto pH y un efecto estimulante producido por la elevación de  $\text{Na}^+$  (aumento de la osmolaridad y/o fuerza iónica), y como resultado final se obtiene un efecto inhibitor sobre la secreción de PTH más moderado que en la Alcalosis Respiratoria.

Por otra parte, conviene resaltar que el efecto inhibitor que la Alcalosis Respiratoria produce sobre la secreción de PTH es muy potente, reduciéndose los niveles de esta hormona hasta suprimirse totalmente. Este grado de supresión no se llega a obtener en una situación de máxima inhibición por alto calcio,<sup>439</sup> lo que nos lleva a pensar que durante una alcalosis respiratoria aguda existen alteraciones en los mecanismos de secreción de la hormona que producen un bloqueo completo de la secreción de PTH.

Todos los mecanismos expuestos hasta ahora se pueden considerar de igual modo, tanto en una situación de normocalcemia, como en hipocalcemia. Sin embargo, los resultados obtenidos durante la hipocalcemia demuestran que el fuerte efecto estimulante del bajo calcio sobre la células paratiroides prevalece sobre los demás fenómenos que acontecen en la célula debidos a los cambios del pH extracelular. Así, la respuesta secretora encontrada en los grupos de Acidosis Respiratoria, Alcalosis Respiratoria y Alcalosis Metabólica durante la hipocalcemia no difiere de la recogida en el grupo Control. En el caso de la Acidosis Metabólica, la gran elevación de los niveles de PTH máximos observados en hipocalcemia debe ser considerada separadamente y como fruto de un fenómeno secretagogo adicional. Este efecto secretagogo de la acidosis metabólica sobre las glándulas paratiroides en una situación de máxima estimulación no es del todo novedoso. En estudios recientes, se ha observado que determinadas situaciones y/o sustancias pueden incrementar la secreción máxima de PTH durante la hipocalcemia. De forma similar a lo que ocurre con nuestros resultados en acidosis metabólica, se ha comprobado que la infusión de péptido relacionado con la PTH (PTHrP) durante la inducción de hipocalcemia incrementa marcadamente la respuesta de PTH a la

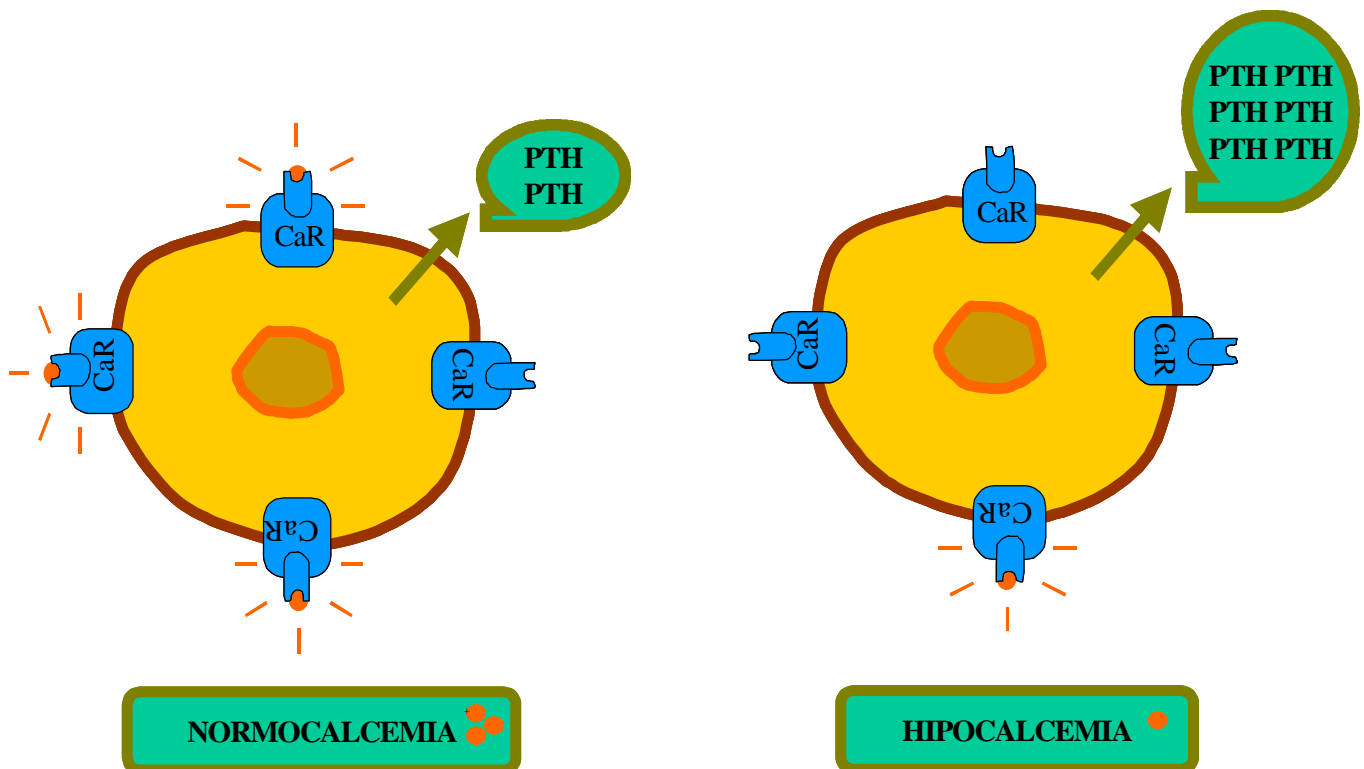
hipocalcemia.<sup>298</sup> En pacientes con hiperparatiroidismo primario también se ha observado que la reducción de los niveles de calcio iónico hasta los valores normales, mediante la administración de bifosfonato durante 5 a 10 días, produjo una respuesta de PTH máxima a hipocalcemia por encima del doble de la observada en la situación inicial.<sup>316</sup> Además, esta situación no es exclusiva para la PTH y el calcio. Existen otras sustancias secretagogas que pueden potenciar la secreción de una hormona por encima de lo que lo hace el sustrato que normalmente regula dicha hormona. Un estudio reciente ha mostrado que cuando se infundía glucagón-like peptide-1 (GLP-1) y arginina la secreción de insulina se incrementó por encima de lo observado con el estímulo de la glucosa.<sup>192</sup>

Se debe resaltar el hecho de que el efecto estimulante adicional en la secreción de PTH (efecto secretagogo) producido por la acidosis metabólica no sólo apareció en una situación de hipocalcemia, sino que también sucedió en hipomagnesemia. Si se observan los resultados recogidos durante la normocalcemia en los grupos iniciales de Acidosis sin corrección del Mg, encontramos que el descenso de Mg produjo un estímulo adicional sobre la secreción de PTH en el grupo de Acidosis Metabólica, estímulo que no se observó en la Acidosis Respiratoria. Este hallazgo apuntaría hacia el CaR (receptor capaz de sensar cambios de ambos cationes divalentes: Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>) como responsable del efecto secretagogo adicional encontrado en la Acidosis Metabólica.

Por todo lo expuesto hasta aquí, parece evidente la necesidad de realizar estudios adicionales para esclarecer los mecanismos de acción responsables de los efectos del pH sobre la secreción de PTH.

En las Figuras 45, 46, 47, 48 y 49 se muestra una representación gráfica de los posibles mecanismos de acción que median el efecto del pH sobre las células paratiroideas.

**FIGURA 45.** Esquema de los mecanismos de acción propuestos en las células paratiroideas en una situación sin cambios en el pH (Control). Se observa que en normocalcemia la mayoría de los receptores de  $\text{Ca}^{2+}$  (CaR) están interaccionando con su agonista, el ion  $\text{Ca}^{2+}$  (●). La señal que recibe la célula de sus receptores indica que existen niveles adecuados de  $\text{Ca}^{2+}$  en el plasma. La célula responde secretando unos niveles basales de PTH, suficientes para mantener esa situación de normocalcemia. En el supuesto de que la concentración de extracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  descienda marcadamente, la mayoría de los CaR se encontrarán libres, sin interaccionar con el  $\text{Ca}^{2+}$ . Esta circunstancia es percibida por la célula que responderá aumentando la secreción de PTH, hasta alcanzar unos niveles máximos, con los que se intentará recuperar la concentración plasmática de  $\text{Ca}^{2+}$ .





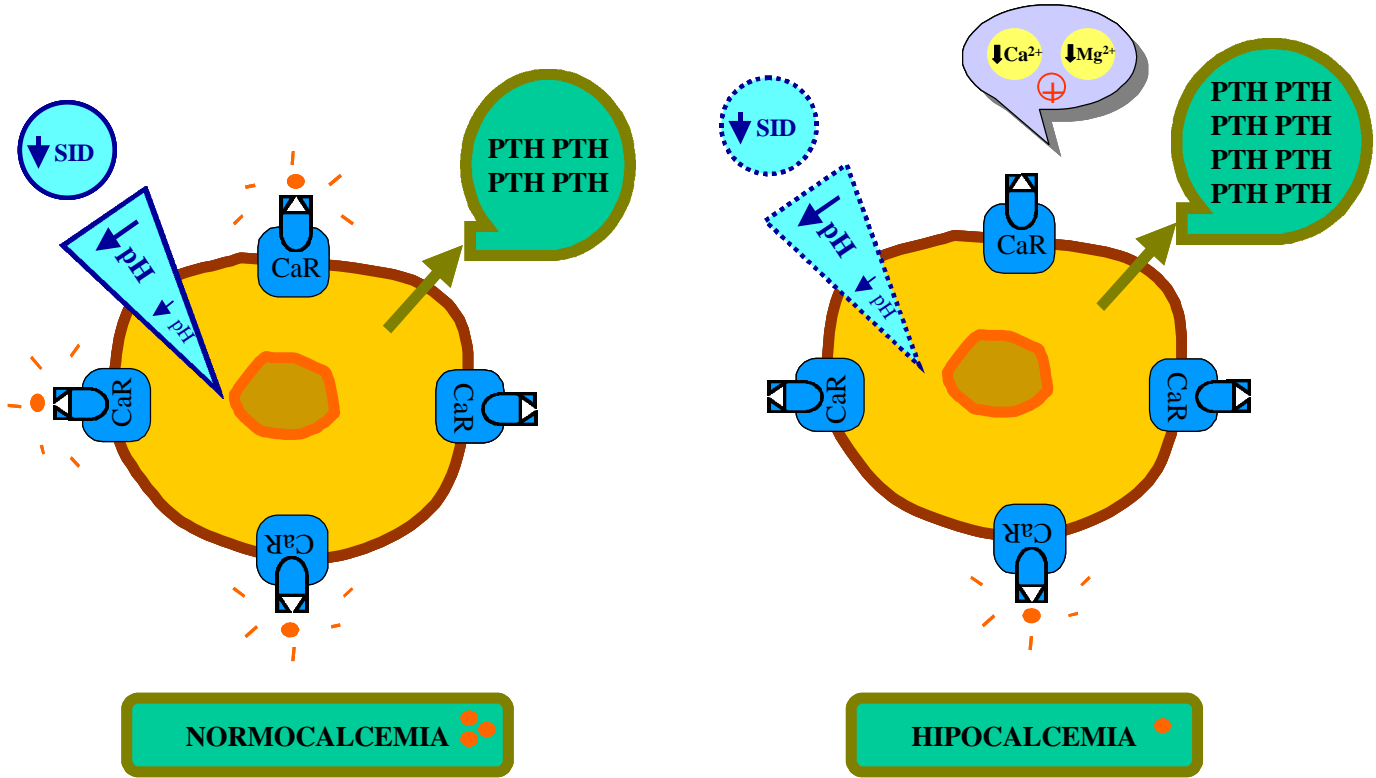
**FIGURA 46.** Esquema de los mecanismos de acción propuestos en las células paratiroides en una situación de Acidosis Metabólica.  $\text{Ca}^{2+}$  (● )

En Acidosis Metabólica el descenso de SID produce una disminución del pH que será más acusada en el espacio extracelular que en el interior de la célula. El descenso de pH extracelular determinaría cambios en la conformación del CaR que dificultarían su interacción con el  $\text{Ca}^{2+}$ . Por ello, en una situación de normocalcemia, a pesar de que existen un gran número de iones  $\text{Ca}^{2+}$  capaces de unirse a su receptor, su unión se vería alterada por el bajo pH. Así, lo que la célula sentiría con sus receptores es una situación de “hipocalcemia relativa”, a la que responde secretando una cantidad suficiente de PTH para recuperarse de esa “hipocalcemia”. Por lo tanto, la respuesta secretora de la célula será superior a la que se observa en una situación basal.

Cuando la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular es muy baja, la célula tendrá muy pocos CaR ocupados por  $\text{Ca}^{2+}$  y responderá con una secreción máxima de PTH. Pero en este caso, debido al efecto combinado del bajo  $\text{Ca}^{2+}$  y del gradiente de pH (entre el espacio extra e intracelular) sobre el CaR, existirá un estímulo añadido en la célula que determina una secreción de PTH por encima de la máxima respuesta observada en hipocalcemia a pH fisiológico (7.4).

Además de potenciar la respuesta secretora de PTH en la hipocalcemia, la Acidosis Metabólica también incrementa la secreción de PTH cuando existe hipomagnesemia. El hecho de que la respuesta secretora de PTH a la disminución de los cationes divalentes ( $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ ) se vea potenciada en una situación de Acidosis Metabólica, sugiere que en dicho efecto puede estar implicado el CaR.

**ACIDOSIS METABOLICA**

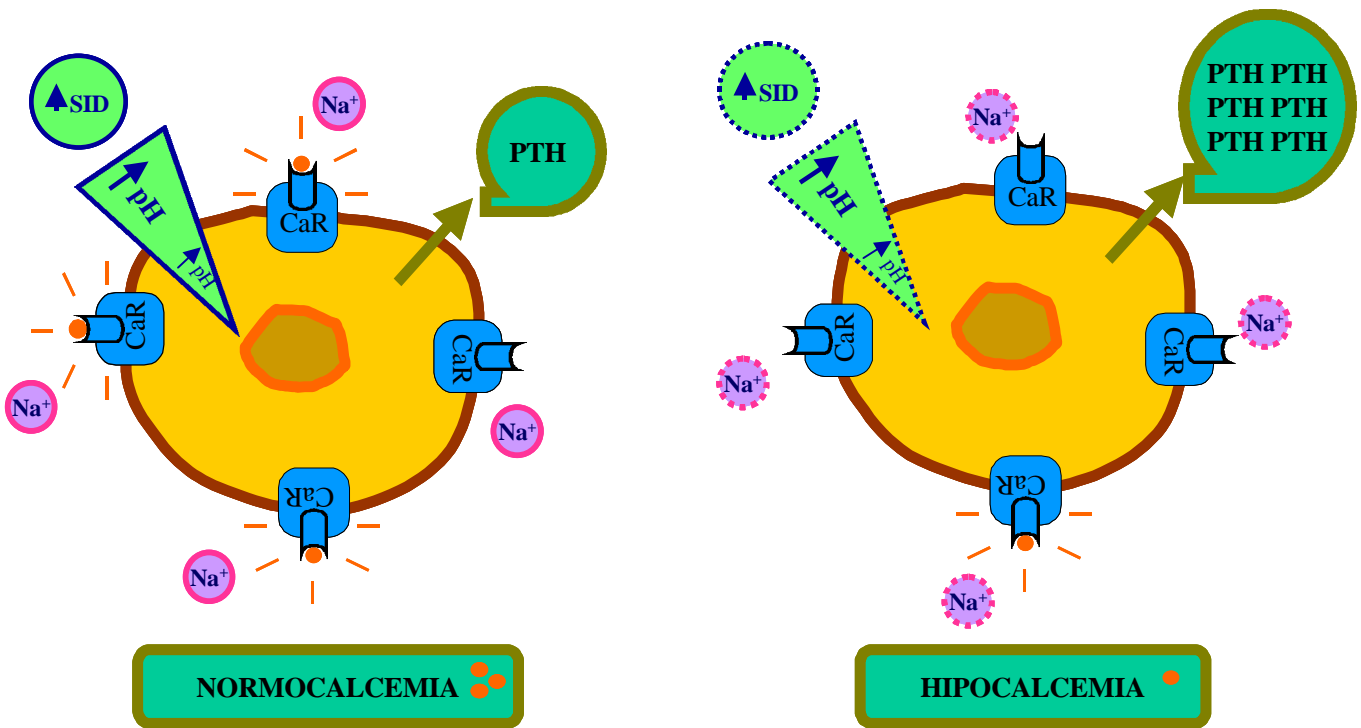


**FIGURA 47.** Esquema de los mecanismos de acción propuestos en las células paratiroides en una situación de Alcalosis Metabólica.  $\text{Ca}^{2+}$  (● )

El aumento de SID que se produce en Alcalosis Metabólica determina un aumento del pH, de mayor magnitud en el espacio extracelular. Este cambio de pH provocaría cambios en la conformación de CaR que potenciarían su afinidad por el  $\text{Ca}^{2+}$ , de manera, que cuando los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  plasmático son normales, la mayoría de los receptores (CaR) se unirían fuertemente con su agonista ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Esta situación provocará una fuerte señal inhibitoria en la célula, que reducirá la secreción de PTH. Al mismo tiempo, en Alcalosis Metabólica existe un ambiente extracelular con elevada concentración de iones  $\text{Na}^+$ , que van a interaccionar también con el CaR estimulando la secreción de la célula. Por lo tanto, el resultado final sería que la célula paratiroidea secreta PTH, pero en cantidad muy reducida.

Cuando la concentración extracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  desciende mucho, a pesar de que esté potenciada la unión de este catión con su receptor, la mayoría de los CaR quedarán libres y se producirá un fuerte estímulo sobre la célula, que responderá con una secreción máxima de PTH.

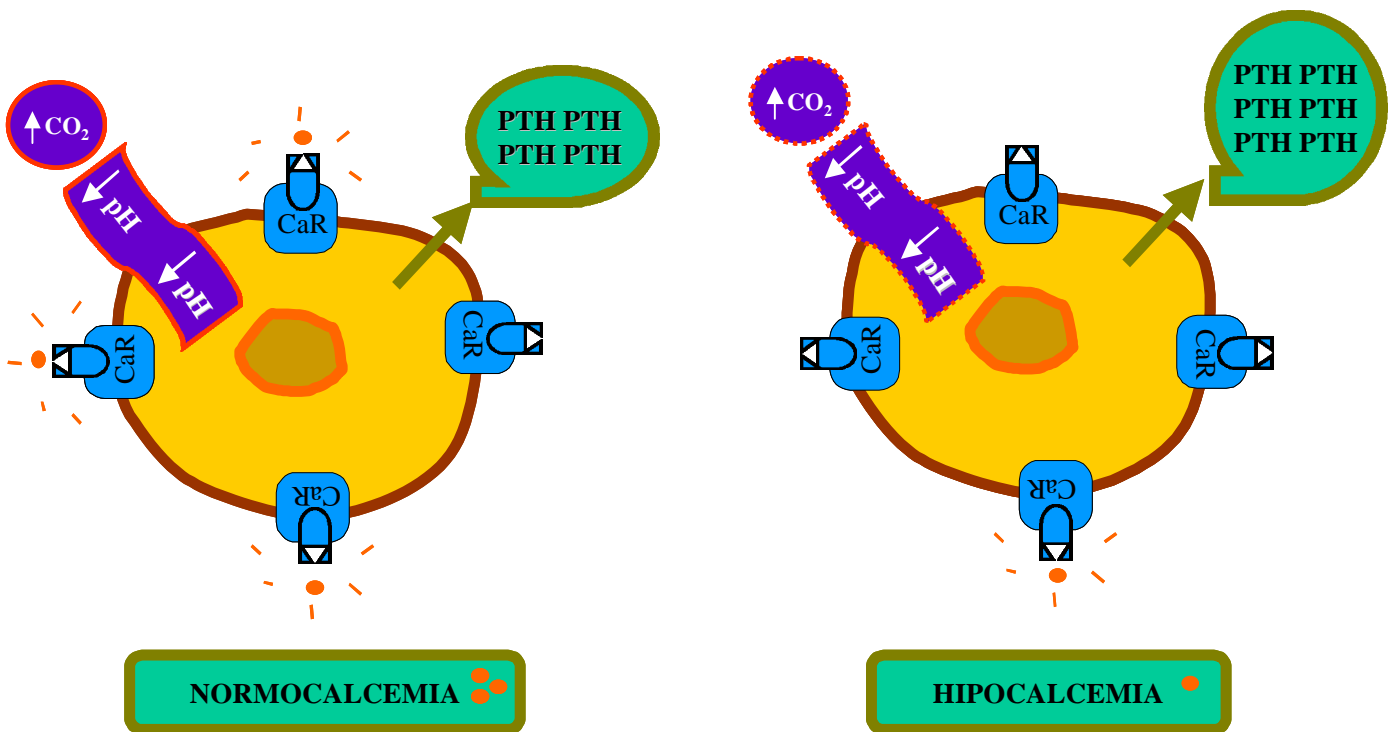
ALCALOSIS METABOLICA



**FIGURA 48.** Esquema de los mecanismos de acción propuestos en las células paratiroides en una situación de Acidosis Respiratoria.  $Ca^{2+}$  (●)

En Acidosis Respiratoria el acúmulo de  $CO_2$  provoca una caída del pH, que es similar en el espacio extra e intracelular. El descenso del pH, al igual que en la Acidosis Metabólica, alteraría la conformación del receptor de  $Ca^{2+}$  (CaR) dificultando la interacción de éste con su agonista. Con estas alteraciones, a pesar de existir numerosos iones  $Ca^{2+}$ , la célula no sería capaz de captarlos bien y aumentaría la secreción de PTH en normocalcemia. Al producirse una hipocalcemia severa, los receptores se ven mínimamente ocupados, lo que se traduce en una máxima respuesta secretora de la célula.

ACIDOSIS RESPIRATORIA

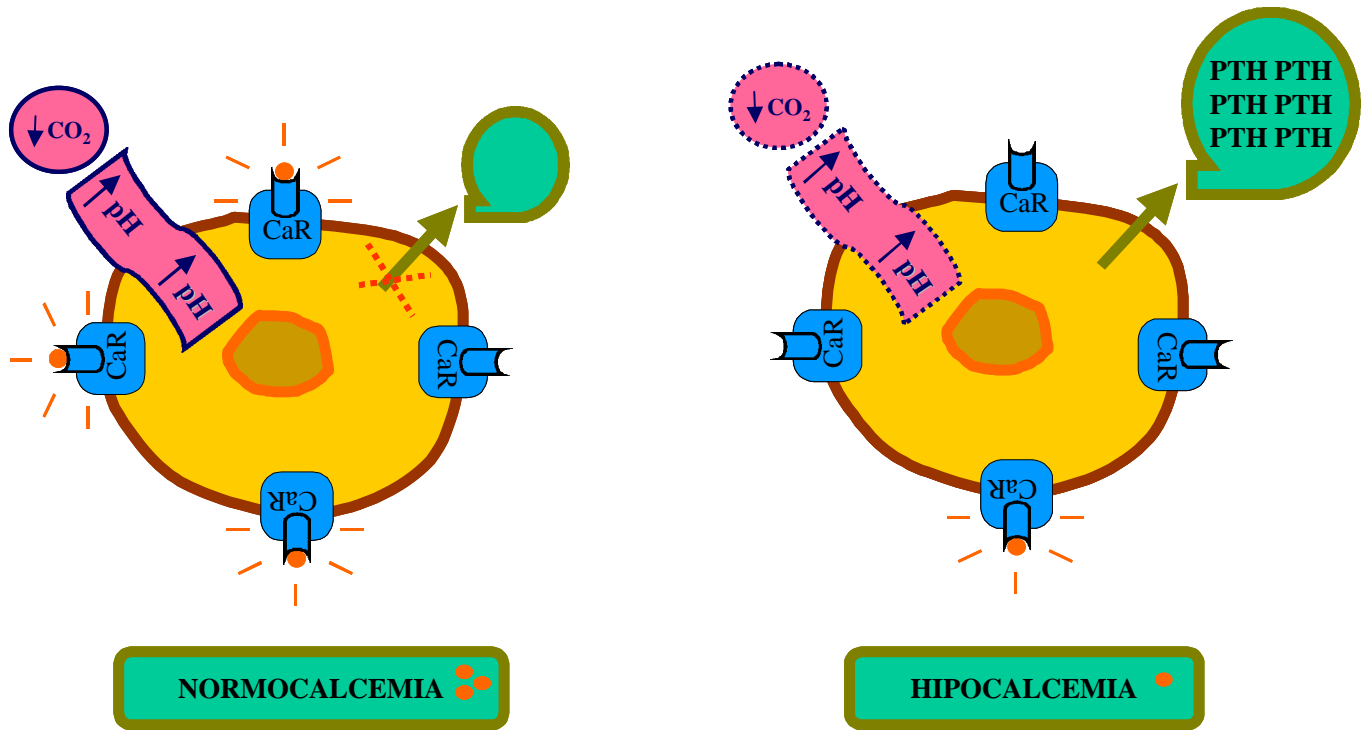


**FIGURA 49.** Esquema de los mecanismos de acción propuestos en las células paratiroides en una situación enj Alcalosis Respiratoria.  $Ca^{2+}$  (● )

En Alcalosis Respiratoria el descenso de  $PCO_2$  determina la elevación del pH extra e intracelular. Al igual que sucede en Alcalosis Metabólica, la elevación del pH extracelular potenciaría la afinidad de los CaR por los iones  $Ca^{2+}$ . Así, durante normocalcemia, la unión de los CaR con su agonista provoca una fuerte señal inhibitoria sobre la célula, que reduce drásticamente su secreción. Probablemente, el descenso agudo de  $PCO_2$  o de pH en el interior de la célula produce al mismo tiempo un bloqueo en los mecanismos de secreción, por lo que la secreción de PTH se suprime completamente.

De nuevo, la ausencia de CaR ocupados durante hipocalcemia severa, provocará un estímulo muy fuerte sobre la célula que consigue restaurar la secreción de PTH y se alcanza la secreción máxima de PTH.

ALCALOSIS RESPIRATORIA





## CONSIDERACIONES CLINICAS

Los efectos negativos de la acidosis sobre el hueso se han descrito en numerosas ocasiones, y se conoce desde hace años la asociación entre la acidosis y los procesos de osteomalacia en adultos y de raquitismo en individuos jóvenes.<sup>35,213,294</sup> Al mismo tiempo, numerosos autores han descrito y revisado la contribución de la acidosis al desarrollo de osteodistrofia renal.<sup>112,132,213,452</sup> Sin embargo, siempre ha existido la duda de si la acidosis podría o no contribuir a estas alteraciones modificando directamente los niveles de PTH. A partir de nuestros resultados, se puede afirmar que, en pacientes con insuficiencia renal, la acidosis metabólica contribuye directamente, como un factor etiopatogénico independiente, al hiperparatiroidismo secundario y, evidentemente, promueve la osteodistrofia renal. Hasta ahora, los datos que existen sobre el efecto de acidosis sobre el metabolismo del hueso muestran un efecto directo del bajo pH y bajo bicarbonato, favoreciendo la disolución fisicoquímica de la fase mineral.<sup>99,107,277,295</sup> Al mismo tiempo, existen evidencias de un efecto resortivo de la acidosis metabólica mediado por células óseas (osteoclastos), así como también se ha comprobado que en acidosis existe un balance negativo de calcio que favorece la descalcificación del hueso.<sup>94,110,281,296,301</sup> Con los datos obtenidos en el presente trabajo, se aporta una nueva dimensión en esa constelación de efectos, en donde la elevación de los niveles de PTH provocada por la acidosis puede actuar potenciando o incluso mediando algunas de las alteraciones que el bajo pH produce en el hueso.

Las alteraciones provocadas por la acidosis metabólica tendrán especial importancia cuando de forma concomitante existan alteraciones en los niveles de calcio y/o magnesio plasmáticos, circunstancia que con gran frecuencia existe en pacientes con IRC.

Por otra parte, los datos recogidos en nuestros estudios de alcalosis ilustran la gran utilidad que tiene la administración de sustancias alcalinizantes, como el bicarbonato, a los enfermos renales con acidosis metabólica. Los efectos beneficiosos de la corrección

de la acidosis metabólica mediante la suplementación de álcalis en pacientes con insuficiencia renal se han descrito en numerosos estudios clínicos, tanto en enfermos dializados, como en los enfermos en prediálisis. Con la corrección de los niveles de bicarbonato en plasma y la estabilización de éstos entre periodos interdiálisis, utilizando distintas técnicas de diálisis, se ha conseguido en la mayoría de los pacientes estudiados mejorar notablemente el estado del hueso, pudiendo incluso en algunos casos frenar la progresión del hiperparatiroidismo secundario.<sup>215,291,310,315</sup> Sin embargo, la inconsistencia de los resultados acerca del efecto de estas medidas terapéuticas sobre los niveles de PTH en los pacientes ha dificultado notablemente encontrar una explicación lógica que conjugue los diferentes hallazgos reportados en este tipo de estudios clínicos. En base a nuestros resultados, donde se observa claramente que la elevación del pH (mediante la administración de bicarbonato) reduce de forma progresiva los niveles de PTH, podemos afirmar que algunos de los efectos beneficiosos que el suplemento de álcalis produce en pacientes con insuficiencia renal, están mediados por la reducción en los niveles de PTH. Este hecho contribuiría a mejorar, entre otros, los problemas de osteitis fibrosa que se originan en el hiperparatiroidismo renal secundario.

La corrección de la acidosis metabólica en pacientes con IRC reporta otras ventajas adicionales, como son: una mejora del estado nutricional y de las alteraciones cardiovasculares, y la resolución de algunos de los problemas metabólicos originados por la resistencia a la acción de la insulina.<sup>214,309,315,520</sup> Estos efectos beneficiosos, en principio, pueden parecer independientes de los efectos que la acidosis ejerce sobre el metabolismo mineral, sin embargo, existen datos en la bibliografía que nos llevan a relacionar algunos de estos procesos con los elevados niveles de PTH que presentan los pacientes urémicos. Así, se ha descrito que el exceso de PTH en la IRC puede producir alteraciones en la secreción de insulina e intolerancia a la glucosa.<sup>70,315</sup> También existen datos sobre el efecto adverso del exceso de PTH sobre los músculos esqueléticos y el miocardio,<sup>70</sup> por lo que parece evidente que si se actúa en los pacientes con insuficiencia renal frente a la acidosis metabólica, corrigiendo eficientemente los niveles de

bicarbonato, se consigue paliar gran número de complicaciones que aparecen en estos enfermos debidos al hiperparatiroidismo renal secundario.

A la hora de llevar a cabo las medidas oportunas para corregir la acidosis metabólica en pacientes con IRC en prediálisis y en diálisis hay que ser cautos, sobre todo en aquellos enfermos que tengan un calcio y un fósforo elevados, ya que la administración de bicarbonato puede favorecer la precipitación de sales de fosfato cálcico en los tejidos blandos. Así pues, este tipo de medidas debe realizarse de forma individualizada, considerando los distintos parámetros que pueden verse afectados por los cambios de pH.

Otro de los elementos fundamentales en el metabolismo mineral que puede modificarse por la corrección de la acidosis metabólica es el calcitriol. Aunque en nuestro estudio no se aportan datos sobre los niveles de la vitamina D, existe información en la bibliografía que revela un aumento en la actividad de esta vitamina y de los niveles plasmáticos de su forma activa ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) en pacientes con IRC en los que se reduce el grado de acidosis metabólica administrando sustancias alcalinizantes.<sup>133,311,315</sup> Algunos de estos autores relacionan los cambios en la producción de CTR con los efectos inhibitorios que la acidosis ejerce sobre la enzima  $1\alpha$  hidroxilasa renal, de manera que en un estado de IRC con hiperparatiroidismo secundario existe descenso en la producción de CTR provocado por esta acción inhibitoria de la acidosis, y aunque la concentración plasmática de PTH esté muy aumentada su acción renal está bloqueada por la acidosis metabólica.<sup>311,315</sup> Por lo tanto, al eliminar la acidosis metabólica en estos pacientes, aunque los niveles de PTH se redujeran, la PTH sería capaz de estimular la actividad de la enzima  $1\alpha$  hidroxilasa renal y así aumentar la producción de CTR.

Los procesos de alcalosis metabólica son frecuentes en numerosas condiciones clínicas donde existen vómitos, uso de diuréticos, lavados gástricos, hipertensión inducida por renina o angiotensina, etc. Además, puede aparecer alcalosis respiratoria aguda asociada

a hipocalcemia en pacientes en estado crítico que padecen sepsis, enfermedades hepáticas y neumonía.<sup>124,348,526</sup> Al mismo tiempo, pacientes que requieren cuidados intensivos a menudo presentan hipocalcemia de origen multifactorial asociada a niveles inadecuados de PTH.<sup>124,348,526,527</sup> La alcalosis y la hipocalcemia iónica están además relacionadas, puesto que un incremento del pH reduce la ionización del calcio. En general, la información que existe sobre el efecto de la alcalosis metabólica y respiratoria aguda sobre la secreción de PTH es muy escasa. Además, no hay datos sobre la respuesta secretora de PTH a la hipocalcemia, en estados de alcalosis. Nuestros resultados en perros y los de Krapf *et al.*<sup>273</sup> en humanos sugieren que la alcalosis aguda reduce de forma directa los niveles de PTH y altera la respuesta de las glándulas paratiroides a los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$ . Por ello, en estos estados críticos donde coexiste una hipocalcemia con alcalosis aguda, es importante considerar que la alcalosis puede ser un factor que afecte separadamente el desarrollo de hipocalcemia y la secreción de PTH, siendo así más fácil abordar el manejo terapéutico de estos pacientes.

No se debe olvidar que estas consideraciones clínicas, además de tener especial relevancia en pacientes humanos, tienen un gran interés en medicina veterinaria, sobre todo en la clínica de pequeños animales, donde el número de casos atendidos por enfermedad renal suele ser muy alto y el desarrollo de unidades de cuidados intensivos está muy avanzado.

Como ya se ha descrito anteriormente, en estudios previos realizados en nuestro laboratorio, se observó que, al igual que en humanos, existe un incremento en la concentración de PTH en perros asociado a la edad.<sup>5</sup> En los individuos de edad avanzada son muy frecuentes las alteraciones óseas degenerativas y los procesos de desmineralización ósea.<sup>344</sup> Además, en humanos se ha descrito una tendencia a padecer acidosis metabólica con la edad. Con estos datos y a la vista de nuestros resultados, puede ser de gran utilidad clínica comprobar si en los individuos seniles, donde aparecen

frecuentemente problemas óseos, existen desequilibrios del estado ácido-base que estén agravando u originando estas alteraciones

**VI. CONCLUSIONES**



1. En un modelo experimental canino *in vivo*, tanto la acidosis metabólica, como la acidosis respiratoria agudas producen una elevación en los niveles plasmáticos de PTH.
2. En perros, la acidosis metabólica aguda potencia la respuesta secretora de las glándulas paratiroides a la hipocalcemia, incrementando la secreción máxima de PTH.
3. Aunque en perros sometidos a acidosis metabólica el metabolismo periférico de PTH está enlentecido, la elevación en los niveles plasmáticos de PTH en acidosis metabólica aguda se debe principalmente a un incremento de secreción hormonal.
4. Cuando se induce acidosis metabólica aguda a perros sin controlar la calcemia, los niveles plasmáticos de PTH sufren un ligero incremento, a pesar de la elevación de calcio iónico que se produce como consecuencia del descenso de pH.
5. Para mantener constante la calcemia en perros sometidos a acidosis, es necesario administrar mayor cantidad de EDTA en acidosis metabólica que en acidosis respiratoria. Este hecho sugiere que la acidosis metabólica provoca una mayor salida de calcio del hueso que la acidosis respiratoria.
6. La infusión intravenosa de EDTA a perros produce, además de un descenso en la calcemia, una disminución equiparable en los niveles plasmáticos de magnesio. La hipomagnesemia estimula la secreción de PTH y la acidosis metabólica potencia la respuesta secretora de las glándulas paratiroides a la hipomagnesemia en perros normocalcémicos.



7. En perros, la alcalosis aguda, tanto metabólica como respiratoria, determina una disminución en los niveles plasmáticos de PTH.
8. La alcalosis respiratoria aguda da lugar a niveles plasmáticos de PTH inferiores a los registrados en la alcalosis metabólica aguda, llegando prácticamente a suprimir por completo la secreción hormonal.
9. Para un mismo incremento de pH, la inducción de alcalosis metabólica, mediante infusión de bicarbonato sódico, produce un mayor descenso en la calcemia iónica que la inducción de alcalosis respiratoria, mediante hiperventilación.
10. Cuando existe un estímulo hipocalcémico, en los perros con alcalosis aguda (metabólica y respiratoria) se alcanzan niveles máximos de secreción de PTH.
11. Aunque no se conocen los mecanismos por los que los cambios del estado ácido-base influyen sobre la secreción de PTH, los resultados de este estudio apuntan hacia dos posibles hipótesis: a) cambios conformacionales en el receptor de calcio; y, b) modificaciones intracelulares provocadas por los cambios en la concentración de calcio intracelular u otros mediadores intracelulares dependientes del pH intracelular.

**VII. RESUMEN**



Debido a los diversos efectos que las alteraciones del equilibrio ácido-base (acidosis y alcalosis) ejercen sobre el metabolismo mineral, no se ha establecido aún si los cambios en el pH del medio interno afectan directamente la secreción de PTH. Además, el efecto sobre la secreción de PTH puede ser diferente si las alteraciones del pH tienen un origen metabólico o respiratorio, y si son de carácter agudo o crónico. Este efecto del pH sobre la secreción de PTH también puede diferir dependiendo de los niveles de calcio iónico. Nuestros objetivos han sido determinar si la acidosis y alcalosis agudas: 1) afectan directamente a la secreción de PTH, 2) modifican la respuesta de PTH a la hipocalcemia, 3) alteran el metabolismo de la PTH y 4) producen efectos sobre la PTH diferentes según sean de origen metabólico o respiratorio. En una primera fase se han estudiado 5 grupos de perros: 1) Control, 2) Acidosis Metabólica (Ac. Met.), 3) Acidosis Respiratoria (Ac. Res.), 4) Alcalosis Metabólica (Alc. Met.) y 5) Alcalosis Respiratoria (Alc. Res.). La Ac. y la Alc. metabólicas fueron inducidas mediante la infusión de HCl y bicarbonato, respectivamente; mientras que la Ac. y la Alc. respiratorias se establecieron mediante hipoventilación (Ac.) e hiperventilación (Alc), respectivamente. Durante los primeros 60 minutos del estudio, se infundió EDTA o  $\text{CaCl}_2$  para prevenir el incremento o disminución del calcio iónico provocado por la Ac. y Alc. La cantidad de EDTA o  $\text{CaCl}_2$  que se necesitó infundir en las alteraciones de origen metabólico fue mayor que en los procesos respiratorios. Entre el minuto 60 y 90 del estudio se evaluó la respuesta de PTH a una hipocalcemia inducida por EDTA. Fue necesaria la infusión de una solución de magnesio para prevenir la hipomagnesemia provocada por la infusión de EDTA en los grupos de acidosis. Cuando la concentración de calcio iónico se mantuvo en valores normales durante los primeros 60 minutos del estudio, tanto la Ac. Met. como la Ac. Res. produjeron un incremento ( $p < 0.05$ ) en los niveles de PTH, alcanzando valores cercanos a 100 pg/ml; mientras que en ese mismo periodo se observó un descenso ( $p < 0.05$ ) en la concentración plasmática de PTH con la Alc. Met. y la Alc. Res. La respuesta máxima de PTH registrada durante hipocalcemia fue muy superior en el grupo de Ac. Met. que en los grupos de Ac. Res. y Control, mientras que esta respuesta fue similar en los grupos de Alc. y Control. En una segunda fase del estudio se sometió a Ac.

Met. a un nuevo grupo de perros sin controlar la elevación del  $\text{Ca}^{2+}$ . En estos animales se observó también un incremento ( $p < 0.05$ ) en la concentración de PTH, a pesar de presentar una subida del  $\text{Ca}^{2+}$  superior a 0.1 mmol/l. Finalmente, en la tercera fase del estudio se determinó la vida media de la PTH intacta durante la hipocalcemia, en cada uno de los grupos utilizados durante la primera fase, midiendo los niveles descendentes de PTH tras realizar una paratiroidectomía en el minuto 90 del estudio. La vida media de PTH en el grupo de Ac. Met. fue superior ( $p < 0.05$ ) que la del Control, no obstante, el ritmo de secreción en el grupo de Ac. Met. también fue más elevado que el de los demás grupos. En conclusión: 1) tanto la Ac. Met. aguda como la Ac. Res. aguda producen un rápido incremento en la secreción de PTH; 2) la Alc. Met. y la Alc. Res. determinan una reducción en los niveles plasmáticos de PTH; 3) la Ac. Met. aguda actúa como un secretagogo para la secreción de PTH, potenciando la máxima respuesta de las glándulas paratiroides a la hipocalcemia; 4) la elevación en los niveles de PTH durante una situación de acidosis aguda es debida fundamentalmente a un aumento del ritmo secretorio de las glándulas paratiroides; 5) los mecanismos por los cuales la acidosis y alcalosis potencian o inhiben, respectivamente, la secreción de PTH permanecen sin ser aclarados, aunque se consideran algunas posibilidades como cambios conformacionales en el receptor de calcio y efectos intracelulares a través de las diferentes vías de señalización intracelular que regulan la secreción de PTH.

**VIII. SUMMARY**



Because acid-base balance disorders have multiple effects on mineral metabolism, up to now it has been difficult to establish whether pH changes directly affect PTH secretion. The work reported here was aimed to determine whether acute acidosis and acute alkalosis: 1) directly affect PTH secretion, 2) have different effects depending of their metabolic or respiratory origin, 3) affect the PTH response to hypocalcemia, and 4) alter the metabolism of PTH. Five groups of dogs were studied in the first stage: 1) Control, 2) Metabolic Acidosis (Met. Ac.), 3) Respiratory Acidosis (Res. Ac.), 4) Metabolic Alkalosis (Met. Alc.) and 5) Respiratory Alkalosis (Res. Alk.). Acute Met. Ac. and Met. Alc. were induced in dogs by HCl and NaCO<sub>3</sub>H infusion respectively, whereas Res. Ac. and Res. Alk. were set up by hypoventilation and hyperventilation respectively. During the first 60 minutes of the study, EDTA or CaCl<sub>2</sub> were infused to prevent the acidosis-induced increase or alkalosis-induced decrease in ionized calcium levels. More EDTA and CaCl<sub>2</sub> were needed in metabolic than in respiratory processes. Between 60 and 90 minutes of the study, the PTH response to hypocalcemia was evaluated during EDTA-induced hypocalcemia. Magnesium needed to be infused in the acidosis groups receiving EDTA to prevent hypomagnesemia. When the ionized calcium concentration was clamped at normal values during the first 60 minutes of the study, both Met. Ac. and Res. Ac. increased ( $p < 0.05$ ) PTH values to near 100 pg/ml. A decrease ( $p < 0.05$ ) in PTH concentration was observed in Met. Alc. and Res. Alk.. The maximal PTH response to hypocalcemia was greater ( $p < 0.05$ ) in the Met. Ac. group than in the Control and Res. Ac. groups, whereas the response to hypocalcemia was similar in the Alkalosis and Control groups. In a second stage, metabolic acidosis was induced in a new group of dogs without clamping plasma calcium. Even though ionized calcium levels raised over 0.1 mmol/l, an increase ( $p < 0.05$ ) in PTH was observed in these animals. Finally, in the last stage of the study the half-life of intact PTH was studied. The decline in plasma PTH concentration was measured after a parathyroidectomy. The half-life of PTH was greater ( $p < 0.05$ ) in the Met. Ac. group than in the Control group. However, the secretion rate of PTH was also greater ( $p < 0.05$ ) in the Met. Ac. group. In conclusion: 1) both acute Met. Ac. and Res. Ac. increase PTH secretion when ionized calcium and magnesium



concentration are maintained at normal values; 2) acute Met. Alk. and Resp. Alk. decrease PTH secretion; 3) acute Met. Ac. enhances the maximal PTH response to hypocalcemia; and 4) the increase in PTH levels during Met. Ac. is caused mainly by an increase in secretion rate of PTH; and 5) although the mechanisms by which pH changes modify PTH secretion are unknown, changes in CaR and in intracellular signalling pathways are likely involved.

**IX. BIBLIOGRAFIA**



1. Adams, N.D.; Gray, R.W. and Leman, J. The calciuria of increased fixed acid production in humans: Evidence against a role for parathyroid hormone and 1,25 (OH)<sub>2</sub> vitamin D. *Calcif. Tissue Int.*, 28: 233-238, 1979.
2. Adroque, H.J.; Brensilver, J.; Cohen, J.J. and Madias, N.E. Influence of steady-state alterations in acid-base equilibrium on the fate of administered bicarbonate in the dog. *J. Clin. Invest.*, 71: 867-883, 1983.
3. Aguilera-Tejero, E.; Sánchez, J.; Almadén, Y.; Mayer-Valor, R.; Rodríguez, M. and Felsenfeld, A.J. Hysteresis of the PTH-Calcium curve during hypocalcemia in the dog: effect of the rate and linearity of calcium decrease and sequential episodes of hypocalcemia. *J. Bone Min. Res.*, 11: 1226-1233, 1996.
4. Aguilera-Tejero, E.; Fernández, H.; Estepa, J.C.; Mayer-Valor, R. and Rodríguez, M. Arterial blood gases and acid-base balance in geriatric dogs. *Res. Vet. Sci.*, 63: 253-256, 1997.
5. Aguilera-Tejero, E.; López, I.; Estepa, J.C.; Mayer-Valor, R.; Almadén, Y.; Concepción, M.T.; Felsenfeld, A.J. and Rodríguez, M. Mineral metabolism en healthy geriatric dogs. *Res. Vet. Sci.*, 64: 191-194, 1998.
6. Agus, Z.S.; Gardner, L.B.; Beck, L.M. and Goldberg, M. Effects of parathyroid hormone on renal tubular reabsorption of calcium, sodium, and phosphate. *Am. J. Physiol.*, 224: 1143-1148, 1973.
7. Agus, Z.S. Hypomagnesemia. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 10: 1616-1622, 1999.
8. Albright, F.; Drake, T.G. and Sulkowitch, H.W. Renal osteitis fibrosa cystica: report of a case with discussion of metabolic aspects. *John Hopkins Med. J.*, 60: 377, 1937.
9. Alfrey, A.C.; Legendre, G.R. and Kaenhy, W.D. The dialysis encephalopathy syndrome: possible aluminium intoxication. *N. Engl. J. Med.*, 294: 184-188, 1976.
10. Almadén, Y.; Canalejo, A.; Hernández, A.; Ballesteros, E.; García-Navarro, S.; Torres, A. and Rodríguez, M. Direct effect of phosphorus on PTH secretion from whole rat parathyroid glands in vitro. *J. Bone Min. Res.*, 11: 970-976, 1996.
11. Almadén, Y.; Hernández, A.; Torregrosa, V.; Canalejo, A.; Sabaté, L.; Fernández-Cruz, L.; Campistol, J.M.; Torres, A. and Rodríguez, M. High phosphate level directly stimulates parathyroid hormone secretion and synthesis by human parathyroid tissue in vitro. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 9: 1845-1852, 1998.

12. Almadén, Y.; Canalejo, A.; Ballesteros, E.; Añón, G. and Rodríguez, M. Effect of high extracellular phosphate concentration on arachidonic acid production by parathyroid tissue *in vitro*. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 11: 1712-1718, 2000.
13. Almadén, Y.; Canalejo, A.; Ballesteros, E.; Añón, G.; Cañadillas S. and Rodríguez, M. The regulation of arachidonic acid production by intracellular calcium in parathyroids cells: the effect of extracelular phosphate. *J. Am. Soc. Nephrol.*, (aceptado para publicación) 2001.
14. Almadén, Y.; Felsenfeld, A.J.; Rodríguez, M.; Cañadillas, S.; Luque, F.; Bravo, J.; Torregrosa, V.; Palma, A.; Ramos, B.; Sánchez, C.; Martín-Malo, A. and Canalejo, A. Parathyroid cell proliferation in hyperplastic human and normal rat parathyroid glands: role of phosphate and effect of calcitriol. *J. Am. Soc. Nephrol.*, (enviado para publicación) 2001.
15. Anast, C.; Winnacker, J.L.; Forte, L.R. and Burns, T.W. Impaired release of parathyroid hormone in magnesium deficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 42: 707-717, 1976.
16. Anderson, J.W. and Jennings, D.B. H<sup>+</sup> homeostasis, osmolarity, and body temperature during controlled NaCl and H<sub>2</sub>O intake. *Am. J. Physiol.*, 255: R79-R105, 1988.
17. Anderson, R.E.; Woodbury, D.M. and Jee, W.S. Humoral and ionic regulation of osteoclastic acidity. *Calcif. Tissue Int.*, 39: 252-258, 1986.
18. Andress, D.L.; Hercz, G.; Kopp, J.B.; Endres, D.B.; Norris, K.C.; Coburn, J.W. and Sherrard, D.J. Bone hitomorphometry of renal osteodistrophy in diabetic patients. *J. Bone Miner. Res.*, 2: 525-531, 1987.
19. Aparicio, M.; Combe, C.; Lafage, M.H.; De Precigout, V.; Potaux, L. and Bouchet, J.L. In advanced renal failure, dietary phosphorus restriction reverses hyperparathyroidism independent of changes in the level of calcitriol. *Nephron*, 63: 122-123, 1993.
20. Armitage, E.K. Parathyrin (parathyroid hormone): metabolism and methods for assay. *Clin. Chem.*, 32: 418-424, 1986.
21. Arruda, J.A.L.; Nascimento, L.; Westerfelder, C. and Kutzman, N.A. Effects of parathyroid hormone on urinary acidification. *Am. J. Physiol.*, 232: F429- F433, 1977.
22. Arruda, J.A.L. and Kurtzman, N.A. Hyperparatyroidism and metabolic acidosis. *Nephron*, 26: 1-6, 1980.

23. Arruda, J.A.L.; Alla, V.; Rubinstein, H.; Cruz-Soto, M.; Sabatini, S.; Batle, D.C. and Kutzman, N.A. Parathyroid hormone and extrarenal acid buffering. *Am. J. Physiol.*, 239: F533- F538, 1980.
24. Arruda, J.A.L.; Julka, N.K.; Rubinstein, H.; Sabatini, S. and Kutzman, N.A. Distal acidification defect induced by phosphate deprivation. *Metabolism*, 29: 826-836, 1980.
25. Arruda, J.A.L.; Alla, V.; Rubinstein, H.; Cruz-Soto, M.; Sabatini, S.; Batle, D.C. and Kutzman, N.A. Metabolic and hormonal factors influencing extrarenal buffering of an acute acid load. *Miner. Electrolyte Metab.*, 8: 36- 43, 1982.
26. Aurbach, G.D.; Marx, S.J. and Spiegel, A.M. Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols. In: Wilson, J. and Foster, D.W., eds. *Textbook of endocrinology*, 7th ed., 1137-1217. W.B. Saunders. Philadelphia, 1985.
27. Austin, L.A. and Heath, H. Calcitonin, physiology and pathophysiology. *N. Engl. J. Med.*, 304: 269-278, 1981.
28. Avram, M.M. Lower parathyroid hormone and creatinine in diabetic uremia. *Contr. Nephrol.* 20: 4-8, 1980.
29. Baker, A.R.; McDonnell, D.P.; Hughes, M.; Crisp, T.M.; Mangelsdorf, D.J.; Haussler, M.R.; Pike, J.W.; Shine, J. and O'Malley, B.W. Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 3294-3298, 1988.
30. Bank, N. and Aynedjian, H.S. A micropuncture study of the effect of parathyroid hormone on renal bicarbonate reabsorption. *J. Clin. Invest.*, 58: 336-344, 1976.
31. Barber, P.J.; Rawlings, J.M.; Markwell, P.J. and Elliot, J. Effect of dietary phosphate restriction on renal secondary hyperparathyroidism in the cat. *J. Small Anim. Pract.*, 40: 62-70, 1999.
32. Baron, R.; Neff, L.; Louvard, D. and Courtoy, P.J. Cell-mediated acidification and bone resorption: Evidence of a low pH in resorbing lacunae and localization of a 100 Kd lysosomal membrane protein at the osteoclast ruffled border. *J. Cell. Biol.*, 101: 2210-2222, 1985.
33. Baron, R. Molecular mechanism of bone resorption by osteoclast. *Anat. Rec.*, 224: 317-324, 1989.

34. Barsotti, G.; Lazzeri, M.; Cristofano, C.; Cerri, M.; Lupetti, S. and Giovannetti, S. The role of metabolic acidosis in causing uremic hyperphosphatemia. *Miner. Electrolyte Metab.*, 12: 103-106, 1986.
35. Barzel, U.S. The effect of excessive acid feeding on bone. *Calcif. Tissue Res.*, 4: 94-100, 1969.
36. Bas, S.; Aguilera-Tejero, E.; Estepa, J.C.; Garfia, B.; López, I. and Rodríguez, M. The influence of acute and chronic hypercalcemia on the PTH response to hypocalcemia in rabbits. *Eur. J. Endocrinol.*, 146: 411-418, 2002.
37. Battle, D.; Itsarayoungyuen, K.; Hays, S.; Arruda, J.A.L. and Kurtzman, N.A. Parathyroid hormone is not anticalciuric during chronic metabolic acidosis. *Kidney Int.*, 22: 264-271, 1982.
38. Baylink, D.; Wergedal, J. and Stouffer, M. Formation, mineralization and resorption of bone in hypophosphatemic rats. *J. Clin. Invest.*, 50: 2519-2530, 1971.
39. Beck, N.; Kim, H.P.; and Kim, K.S. Effect of metabolic acidosis on renal action of parathyroid hormone. *Am. J. Physiol.*, 228: 1483-1488, 1975.
40. Beck, N. and Webster, S.K. Effects of acute metabolic acidosis on parathyroid hormone action and calcium mobilization. *Am. J. Physiol.*, 230: 127-131, 1976.
41. Bellorin-Font, E.; Martin, K.J.; Freitag, J.J.; Anderson, C.; Sichra, G.; Slatopolski, E. and Klahr, S. Altered adenylate cyclase kinetics in hyperfunctioning human parathyroid glands. Comparison with normal human and bovine parathyroid tissue. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 52: 499-507, 1981.
42. Berdud, I.; Martin-Malo, A.; Almadén, Y.; Tallon, S.; Concepción, M.T.; Torres, A.; Felsenfeld, A.J.; Aljama, P. and Rodríguez, M. Abnormal calcemic response to PTH in the uremic rat without secondary hyperparathyroidism. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 11: 1292-1298, 1996.
43. Berndt, T.J.; Tucker, R.R.; Kent, P.D.; Streiff, P.C.; Tyce, G.M. and Knox, F.G. Dopamine enhances the phosphaturic effect of PTH during acute respiratory alkalosis. *J. Lab. Clin. Med.*, 134: 616-622, 1999.
44. Berridge, M.J. and Irvine, R.F. Inositol trisphosphate, a novel second messenger in cellular signal transduction. *Nature Lond.*, 312: 315-321, 1984.
45. Berridge, M.J. Inositol triphosphate and calcium signalling. *Nature*, 361: 315-325, 1993.

46. Berridge, M.J.; Bootman, M.D. and Lipp, P. Calcium - a life and death signal. *Nature*, 395: 645-648, 1998.
47. Berson, S.A.; Yalow, R.S.; Aurbach, G.D. and Potts, J.T. Jr. Immunoassay of bovine and human parathyroid hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 49: 613-617, 1963.
48. Bertoni, G.; Torresani, T.; Schraner, E.M. and Wild, P. Unimpaired membrane dynamics in parathyroid cells in insulin deficient rats. *Virchows Arch. B. Cell Pathol.*, 55: 31-37, 1988.
49. Bettice, J.A. Skeletal carbon dioxide stores during metabolic acidosis. *Am. J. Physiol.*, 247: F326- F330, 1984.
50. Bevington, A.; Brough, D.; Baker, F.E.; Hattersley, J. and Walls, J. Metabolic acidosis is a potent stimulus for cellular inorganic phosphate generation in uraemia. *Clin. Sci.*, 88: 405-412, 1995.
51. Bichara, M.; Mercier, O.; Paillard, M.; Pringent, A. and Leviel, F. Effect of PTH on the renal handling of hydrogen ions in TPTX Sprague Dawley rats. (abstract). *Kidney Int.*, 27: 278, 1985.
52. Bichara, M.; Mercier, O.; Paillard, M. and Leviel, F. Effects of parathyroid hormone on urinary acidification. *Am. J. Physiol.*, 20: F444-F453, 1986.
53. Bichara, M.; Mercier, O.; Borensztein, P. and Paillard, M. Acute metabolic acidosis enhances circulating parathyroid hormone, which contributes to the renal response against acidosis in the rat. *J. Clin. Invest.*, 86 : 430-443, 1990.
54. Bilezikian, J.P.; Marcus, R. and Levine, M.A., eds. *The parathyroids: basic and clinical concepts*. Raven Press. New York, 1994.
55. Blair, H.C.; Teitelbaum, S.L.; Ghiselli, R. and Gluck, S. Osteoblastic bone resorption by polarized vacuolar proton pump. *Science*, 245: 855-857, 1989.
56. Blum, J.W.; Treschel, U.; Born, W.; Tobler, P.H.; Taylor, C.M.; Binswanger, U. and Fischer, J.A. Rapidity of plasma 1,25-dihydroxyvitamin D responses to hypo- and hypercalcemia in steers. *Endocrinology*, 113: 523-526, 1983.
57. BOE. Ratificación del convenio europeo sobre protección de los animales vertebrados utilizados con fines experimentales y otros fines científicos. En: *Boletín Oficial del Estado*, 256: 31348-31362, 1990.
58. Booth, N.H. and McDonalds, L.E., eds. *Farmacología y terapéutica veterinaria*. 1ª ed. Acribia, Zaragoza, 1988.



59. Bourdeau, A.; Souberbielle, J.C.; Bonnet, P.; Herviaux, P.; Sachs, Ch. and Lieberherr, M. Phospholipase-A<sub>2</sub> action and arachidonic acid metabolism in calcium-mediated parathyroid hormone secretion. *Endocrinology*, 130: 1339-1344, 1992.
60. Bourdeau, A.; Moutahir, M.; Souberbielle, J.C.; Bonnet, P.; Herviaux, P.; Sachs, Ch. and Lieberherr, M. Effects of lipoxygenase products of arachidonate metabolism on parathyroid hormone secretion. *Endocrinology*, 135: 1109-1112, 1994.
61. Bover, J.; Rodríguez, M.; Trinidad, P.; Jara, A.; Martínez, M.E.; Machado, L.; Llach, F. and Felsenfeld, A.J. Factors in the development of secondary hyperparathyroidism during graded renal failure in the rat. *Kidney Int.*, 45: 953-961, 1994.
62. Bover, J.; Jara, A.; Trinidad, P.; Rodríguez, M.; Martín-Malo, A. and Felsenfeld, A.J. The calcemic response to PTH in the rat: Effect of elevated PTH levels and uremia. *Kidney Int.*, 46: 310-317, 1994.
63. Brasier, A.R.; Wang, C.; and Nussbaum, S. Recovery of parathyroid hormone secretion after parathyroid adenectomy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 66: 495-500, 1988.
64. Brautbar, N.; Leibovici, H. and Massry, S.G. On the mechanism of hypophosphatemia during acute hyperventilation: evidence for increased muscle glycolysis. *Miner. Electrolyte Metab.*, 9: 45-50, 1983.
65. Brent, G.A.; LeBoff, M.S.; Seely, E.W.; Conlin, P.R. and Brown, E.M. Relationship between the concentration and rate of change of calcium and serum intact parathyroid hormone levels in normal humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 67: 944-950, 1988.
66. Brewer, H.B. Jr. and Ronan, R. Bovine parathyroid hormone: amino acid sequence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 67: 1862-1869, 1970.
67. Brewer, H.B. Jr.; Fairwell, T. and Ronan, R. Human parathyroid hormone: amino acid sequence of the amino-terminal residues 1-34. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 69: 3585-3588, 1972.
68. Bringhurst, F.R.; Segre, G.V.; Lampman, G.W. and Potts, J.T. Jr. Metabolism of parathyroid hormone by Kupffer cells: analysis by reverse phase high performance liquid chromatography. *Biochemistry*, 21: 4252-4258, 1982.
69. Bringhurst, F.R.; Stern, A.M.; Yotts, M.; Mizrahi, N.; Segre, G.V. and Potts, J.T. Jr. Peripheral metabolism of [<sup>35</sup>S] parathyroid hormone in vivo: influence of alterations in calcium availability and parathyroid status. *J. Endocrinol.*, 122: 237-245, 1989.

70. Bro, S. and Olgaard K. Effects of excess PTH on nonclassical target organs. *Am. J. Kidney Dis.*, 30: 606-620, 1997.
71. Brobst, D. Evaluation of clinical disorders of acid-base balance. *J.A.V.M.A.*, 166: 359-364, 1975.
72. Brobst, D. Pathophysiologic and adaptative changes in acid-base disorders. *J.A.V.M.A.*, 183: 773-780, 1983.
73. Brown, A.J.; Ritter, C.R.; Finch, J.L.; Morrissey, J.; Martin, K.J.; Murayama, E.; Nishii, Y. and Slatopolsky, E. The noncalcemic analogue of vitamin D, 22-oxacalcitriol, suppresses parathyroid hormone synthesis and secretion. *J. Clin. Invest.*, 84: 728-732, 1989.
74. Brown, E.M.; Carrol, R.J. and Aurbach, G.D. Dopaminergic stimulation of cyclic AMP accumulation and parathyroid hormone release from dispersed bovine parathyroid cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 74: 4210-4213, 1977.
75. Brown, E.M.; Gardner, D.G.; Windeck, R.A. and Aurbach, G.D. Relationship of intracellular 3',5'-adenosine monophosphate accumulation to parathyroid hormone release from dispersed bovine parathyroid cells. *Endocrinology*, 103: 2323-2333, 1978.
76. Brown, E.M.; Hurwitz, S.H. and Aurbach, G.D. Alpha adrenergic inhibition of adenosine 3',5'- monophosphate accumulation and parathyroid hormone release from dispersed bovine parathyroid cells. *Endocrinology*, 103: 893-899, 1978.
77. Brown, E.M. Four-parameter model of the sigmoidal relationship between parathyroid hormone release and extracellular calcium concentration in normal and abnormal parathyroid tissue. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 56: 572-581, 1983.
78. Brown, E.M.; Redgrave, J. and Thatcher, J. Effect of phorbol ester TPA on PTH secretion. Evidence for a role for protein kinase C in the control of PTH secretion. *FEBS Lett.*, 175: 72-75, 1984.
79. Brown, E.M.; Thatcher, J.; Watson, E.J. and Leombruno, R. Extracellular calcium potentiates the inhibitory effects of magnesium on parathyroid function in dispersed parathyroid cells. *Metabolism*, 33: 171-176, 1984.
80. Brown, E.M.; Leombruno, R.; Thatcher, J. and Burrowes, M. The acute secretory response to alterations in the extracellular calcium concentration and dopamine in perfused bovine parathyroid cells. *Endocrinology*, 116: 1123-1132, 1985.
81. Brown, E.M.; Chen, C.J.; Leboff, M.S.; Kifor, O. and El-hajj, G. Mechanism underlying the inverse control of parathyroid hormone secretion by calcium. In: Oxford, G. and

- Armstrong, C.M., eds. *Secretion and its control*, 252-268. Rockefeller Univ. Press. New York, 1989.
82. Brown, E.M.; Niznik, H.B. and Chen, C.J. D1 dopaminergic receptors in the parathyroid gland. In: Amenta, F., ed. *Pathophysiology of peripheral dopamine receptors*, 96-116. CRC, Tampa, F.L., 1989.
83. Brown, E.M. Extracellular Ca<sup>2+</sup> sensing, regulation of parathyroid cell function, and role of Ca<sup>2+</sup> and other ions as extracellular (first) messengers. *Physiol. Rev.*, 71: 371-411, 1991.
84. Brown, E.M.; Gamba, G.; Riccardi, D.; Lombardi, M.; Butters, R.; Kifor, O.; Sun, A.; Hediger, M.A.; Lytton, J. and Hebert, S.C. Cloning and characterization of an extracellular Ca<sup>2+</sup> sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature*, 366: 575-580, 1993.
85. Brown, E.M. Homeostatic mechanisms in regulating extracellular and intracellular calcium metabolism. In: Bilezikian, J.P.; Marcus, R. and Levine, M.A., eds. *The parathyroids: basic and clinical concepts*, 15-54. Raven Press. New York, 1994.
86. Brown, E.M.; Pollak, M.; Seidman, C.E.; Seidman, J.G.; Chou, Y.H.W.; Riccardi, D. and Hebert, S.C. Calcium-ion-sensing cell-surface receptors. *New England J. Med.*, 333: 234-240, 1995.
87. Buckle, R.M.; Care, A.D.; Cooper, C.W. and Gitelman, H.J. The influence of plasma magnesium concentration on parathyroid hormone secretion. *J. Endocrinol.*, 42: 529-534, 1968.
88. Burmester, J.K.; Wiese, R.J.; Maeda, N. and DeLuca, H.F. Structure and regulation of the rat 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 9499-9502, 1988.
89. Burnell, J.M. Changes in bone sodium and carbonate in metabolic acidosis and alkalosis in the dog. *J. Clin. Invest.*, 50: 327-331, 1971.
90. Busa, W.B. and Nuccitelli, R. Metabolic regulation via intracellular pH. *Am. J. Physiol.*, 246: R409-R438, 1984.
91. Bushinsky, D.A.; Coe, F.L.; Katzenberg, C.; Szidon, J.P. and Parks, J.H. Arterial pCO<sub>2</sub> in chronic metabolic acidosis. *Kidney Int.*, 22: 311-314, 1982.
92. Bushinsky, D.A.; Favus, M.J.; Schneider, A.B.; Sen, P.K.; Sherwood, L.M. and Coe, F.L. Effects of metabolic acidosis on PTH and 1,25 (OH) 2 D<sub>3</sub> response to low calcium diet. *Am. J. Physiol.*, 243: F570-F575, 1982.

93. Bushinsky, D.A.; Krieger, N.S.; Geisser, D.I.; Grossman, E.B. and Coe, F.L. Effects of pH on bone calcium and proton fluxes in vitro. *Am. J. Physiol.*, 245: F204-F209, 1983.
94. Bushinsky, D.A.; Goldring, J.M.; and Coe, F.L. Cellular contribution to pH mediated calcium flux in neonatal mouse calvarie. *Am. J. Physiol.*, 248: F785-F789, 1985.
95. Bushinsky, D.A.; Levi-Setti, R. and Coe, F.L. Ion microprobe determination of bone surface elements: Effects of reduced medium pH. *Am. J. Physiol.*, 250: F1090-F1097, 1986.
96. Bushinsky, D.A. and Lechleider, R.J. Mechanism of proton induced bone calcium release: calcium carbonate dissolution. *Am. J. Physiol.*, 253: F998-F1005, 1987.
97. Bushinsky, D.A. Effects of parathyroid hormone on net proton flux from neonatal mouse calvarie. *Am. J. Physiol.*, 252: F585-F589, 1987.
98. Bushinsky, D.A. Net proton influx into bone during metabolic, but not respiratory acidosis. *Am. J. Physiol.*, 254: F306-F310, 1988.
99. Bushinsky, D.A. Internal exchanges of hydrogen ions: Bone. In: Seldin, D.W. and Giebish, G., eds. *The regulation of acid-base balance*, 69-88. Raven. New York, 1989.
100. Bushinsky, D.A. Net calcium efflux from live bone during chronic metabolic, but not respiratory acidosis. *Am. J. Physiol.*, 256: F836-F842, 1989.
101. Bushinsky, D.A.; Nalbatian-Brandt, C. and Favus, M.J. Elevated  $\text{Ca}^{++}$  does not inhibit the  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  response to phosphorus restriction. *Am. J. Physiol.*, 256: F285-F289, 1989.
102. Bushinsky, D.A.; Kittaka, M.K.; Weissinger, J.R.; Langman, C.B. and Favus, M.J. Effects of chronic metabolic alkalosis on  $\text{Ca}^{2+}$ , PTH, and  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  in the rat. *Am. J. Physiol.*, 257: E578-E582, 1989.
103. Bushinsky, D.A. and Krieger, N.S. Role of skeleton in calcium homeostasis. In: Seldin, D.W. and Giebish, G., eds. *The kidney: physiology and pathophysiology*, 2395-2430. Raven. New York, 1992.
104. Bushinsky, D.A. and Krieger, N.S. Integration of calcium metabolism in the adult. In: Coe, F.L.; Favus, M.J., eds. *Disorders of bone and mineral metabolism*, 417-432. Raven. New York, 1992.

105. Bushinsky, D.A. and Sessler, N.E. Critical role of bicarbonate in calcium release from bone. *Am. J. Physiol.*, 263: F510-F515, 1992.
106. Bushinsky, D.A.; Sessler, N.E. and Krieger, N.S. Greater unidirectional calcium efflux from bone during metabolic, than respiratory, acidosis. *Am. J. Physiol.*, 262: F425-F431, 1992.
107. Bushinsky, D.A. and Ory, Y. Effects of metabolic and respiratory acidosis on bone. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 2: 588-596, 1993.
108. Bushinsky, D.A.; Wolbach, W.; Sessler, N.E.; Mogilevsky, R. and Levi-Setti, R. Physicochemical effects of acidosis on bone calcium flux and surface ion composition. *J. Bone Miner. Res.*, 8: 93-102, 1993.
109. Bushinsky, D.A.; Lam, B.C.; Nespeca, R.; Sessler, N.E.; Grynepas, M.D. Decreased bone carbonate content in response to metabolic, but not to respiratory acidosis. *Am. J. Physiol.*, 265: F530-F536, 1993.
110. Bushinsky, D.A.; Sessler, N.E.; Glena, R.E. and Featherstone, J.D.B. Proton induced physicochemical calcium release from ceramic apatite disks. *J. Bone Miner. Res.*, 9: 213-220, 1994.
111. Bushinsky, D.A. and Nilsson, E.L. Acidosis and PTH have additional effects on osteoblastic bone resorption.(abstract). *J. Am. Soc. Nephrol.*, 5: 848, 1994.
112. Bushinsky, D.A. The contribution of acidosis to renal osteodystrophy. *Kidney Int.*, 47: 1816-1832, 1995.
113. Bushinsky, D.A. Metabolic acidosis. In: Jacobson, H.R.; Striker, G.E. and Klhar, S., eds. *The principles of nephrology*, 924-932. Mosby. St. Louis, 1995.
114. Bushinsky, D.A. Stimulated osteoclastic and suppressed osteoblastic activity in metabolic, but not respiratory, acidosis. *Am. J. Physiol.*, 268: C80-C88, 1995.
115. Bushinsky, D.A. Hydrogen Ions. In: Bushinsky, D.A., eds. *Renal Osteodystrophy*, 103-127. Lippincott-Raven. Philadelphia, 1998.
116. Cameron, J.N. Acid-base homeostasis: past and present perspectives. *Physiol. Zool.*, 62: 845-865, 1989.
117. Canalejo, A.; Hernández, A.; Almadén, Y.; Concepción, M.T.; Felsenfeld, A.; Torres, A.; Rodríguez, M. The effect of a high phosphorus diet on the parathyroid cell cycle. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 13: 19-22, 1998.

118. Canalejo, A.; Almadén, Y.; Torregrosa, V.; Gómez-Villamandos, J.C.; Ramos, B.; Campistol, J.M.; Felsenfeld, J. and Rodríguez, M. The *in vitro* effect of calcitriol on parathyroid cell proliferation and apoptosis. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 11: 1865-1872, 2000.
119. Canterbury, J.M.; Bricker, L.A.; Levey, G.S.; Kozlovski, P.L.; Ruiz, E.; Zull, J.E. and Reiss, E. Metabolism of bovine parathyroid hormone. Immunochemical and biological characteristics of fragments generated by liver perfusion. *J. Clin. Invest.*, 55: 1245-1253, 1973.
120. Cantley, L.K.; Russell, J.; Littieri, D. and Sherwood, L.M. 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> suppresses parathyroid hormone secretion from bovine parathyroid cells in tissue culture. *Endocrinology*, 117: 2114-2119, 1985.
121. Canzanello, V.J.; Bodvarsson, M., Kraut, J. A.; Johns, C.A.; Slatopolsky, E. and Madias, N.E. Effect of chronic respiratory acidosis on urinary calcium excretion in the dog. *Kidney Int.* 38: 409-416, 1990.
122. Canzanello, V.J.; Kraut, J.A.; Holick, M.F.; Johns, C.; Liu, C.C. and Madias, N.E. Effect of respiratory acidosis on calcium metabolism in the rat. *J. Lab. Clin. Med.* 126:81-87, 1995.
123. Caravaca, F.; Arrobas, M.; Pizarro, J.L. and Espárrago, J.F. Metabolic acidosis in advanced renal failure: differences between diabetic and nondiabetic patients. *Am. J. Kidney Dis.*, 33: 892-898, 1999.
124. Carlstedt, F.; Lind, L.; Rastad, J.; Stjernstrom, H.; Wide, L. and Ljunghall, S. Parathyroid hormone and ionized calcium levels are related to the severity of illness and survival in critically ill patients. *Eur. J. Clin. Invest.*, 28: 898-903, 1998.
125. Chabala, J.M.; Levi-Setti, R. and Bushinsky, D.A. Alteration in ion surface composition of cultured bone during metabolic, but not respiratory, acidosis. *Am. J. Physiol.*, 261: F76-F84, 1991.
126. Chang, J.; Musser, J.H. and McGregor, H. Phospholipase A<sub>2</sub>: function and pharmacological regulation. *Biochem. Pharmacol.*, 36: 2429-2436, 1987.
127. Chen, C.J.; Anast, C.S. and Brown, E.M. High osmolality: a potent parathyroid hormone secretagogue in dispersed parathyroid cells. *Endocrinology*, 121: 958-964, 1987.
128. Chen, C.J.; Barnett, J. and Brown, E.M. Divalent cations suppress adenosine monophosphate accumulation by stimulating a pertussis toxin-sensitive guanine

- nucleotide-binding protein in cultured bovine parathyroid cells. *Endocrinology*, 124: 233-239, 1989.
129. Clarke, B.L.; Hassager, C.H. and Fitzpatrick, L.A. Regulation of parathyroid hormone release by protein kinase-C is dependent on extracellular calcium in bovine parathyroid cells. *Endocrinology*, 132: 1168-1175, 1993.
130. Cloutier, M.; Gascon-Barre, M. and D'Amour, P. Chronic adaptation of dog parathyroid function to a low-calcium-high-sodium-Vitamin D-deficient diet. *J. Bone Min. Res.*, 7: 1021-1028, 1992.
131. Cloutier, M.; Brossard, J.H.; Gascon-Barre, M. and D'Amour, P. Lack of involution of hyperplastic parathyroids glands in dogs: Adaptation via a decrease in the calcium stimulation set point and a change in secretion profile. *J. Bone Min. Res.*, 9: 621-629, 1994.
132. Coburn, J.W. and Slatopolsky, E. Vitamin D, parathyroid hormone, and the renal osteodystrophies. In: Brenner, B. and Rector, F.C., eds. *The kidney*, 2036-2120. Saunders. Philadelphia, 1991.
133. Cochran, M. and Wilkinson, R. Effect of correction of metabolic acidosis on bone mineralisation rates in patients with renal osteomalacia. *Nephron*, 15: 98-110, 1975.
134. Coe, F.L. Magnitude of metabolic acidosis in primary hyperparathyroidism. *Archs. Intern. Med.*, 134: 262-265, 1974.
135. Coe, F.L.; Firpo, J.J.; Hollandsworth, D.L.; Segil, L.; Canterbury, J.M. and Redds, E. Effect of acute and chronic metabolic acidosis on serum immunoreactive parathyroid hormone in man. *Kidney Int.*, 8: 262- 273, 1975.
136. Coen, G.; Manni, M.; Addari, O.; Ballanti, P.; Pasquali, M.; Chicca, S.; Mazzaferro, S.; Napoletano, I.; Sardella, D. and Bonucci, E. Metabolic acidosis and osteodystrophic bone disease in predialysis chronic renal failure: Effect of calcitriol treatment. *Miner. Electrolyte Metab.*, 21: 375-382, 1995.
137. Cohn, D.V.; MacGregor, R.R. and Sinha, D. The migration behavior of proparathyroid hormone, parathyroid hormone, and their peptide fragments during gel filtration. *Arch. Biochem. Biophys.*, 164: 669-673, 1974.
138. Cohn, D.V. and MacGregor, R.R. The biosynthesis, intracellular processing, and secretion of parathormone. *Endocr. Rev.*, 2: 1-26, 1981.

139. Collip, J.B. Extraction of a parathyroid hormone which will prevent or control parathyroid tetany and which regulates the level of blood calcium. *J. Biol. Chem.*, 63: 395-361, 1925.
140. Combe, C. and Aparicio, M. Phosphorus and protein restriction and parathyroid function in chronic renal failure. *Kidney Int.*, 46: 1381-1386, 1994.
141. Combe, C.; Morel, D.; de Précigout, V.; Blanchetier, V.; Bouchet, J.L.; Potaux, L.; Fournier, A. and Aparicio, M. Long-term control of hyperparathyroidism in advanced renal failure by low-phosphorus diet supplemented with calcium (without changes in plasma calcitriol). *Nephron*, 70: 287-295, 1995.
142. Cornelius, L.M. and Rawlings, CA. Arterial blood gas and acid-base values in dogs with various diseases and signs of diseases. *J.A.V.M.A.*, 178: 992-995, 1981.
143. Correze, M.C.; Gogusev, J.; Bourdeau, A.; Sarfati, E. and Drüeke, T.B. In vitro regulation of PTH synthesis/secretion and parathyroid cell [<sup>3</sup>H]-thymidine uptake by calcium and calcitriol in human parathyroid tissue. (abstract). *J. Am. Soc. Nephrol.*, 6: 958, 1995.
144. Crumb, C.K.; Martinez-Maldonado, M.; Eknoyan, G. and Suki, W.N. Effects of volume expansion, purified parathyroid extract, and calcium on renal bicarbonate absorption in the dog. *J. Clin. Invest.*, 54: 1287-1294, 1974.
145. Cunningham, J.; Fraher, L.J.; Clemens, T.L.; Revell, P.A. and Papapoulos, S.E. Chronic acidosis with metabolic bone disease. Effect of alkali on bone morphology and vitamin D metabolism. *Am. J. Med.*, 73: 199-204, 1982.
146. Cunningham, J.; Bikle, D.D. and Avioli, L.V. Acute, but not chronic, metabolic acidosis disturbs 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> metabolism. *Kidney Int.*, 25: 47-52, 1984.
147. Dambacher, M.A.; Fischer, J.A.; Hunziker, W.H.; Born, W.; Moran, J.; Roth, H.R.; Delvin, C.E. and Glorieux, F.H. Distribution of circulating immunoreactive components of parathyroid hormone in normal subjects and in patients with primary and secondary hyperparathyroidism: the role of kidney and of the serum calcium concentration. *Clin. Sci.*, 57: 435-443, 1979.
148. D'Amour, P.; Segre, G.V.; Roth, S.I. and Potts, J.R.Jr. Analysis of parathyroid hormone and its fragments in rat tissues. Chemical identification and microscopical localization. *J. Clin. Invest.*, 63: 89-98, 1979.
149. D'Amour, P. and Huet, P.M. Serum calcium does not influence the extraction of <sup>125</sup>I-bovine parathyroid hormone by the dog liver in vivo. *Clin. Invest. Med.*, 8: 202-207, 1985.



150. D'Amour, P.; LaBelle, F.; LeCavalier, L.; Plourde, V. and Harvey, D. Influence of serum Ca concentration on circulating molecular forms of PTH in three species. *Am. J. Physiol.*, 251: E680-E687, 1986.
151. Denda, M.; Finch, J. and Slatopolsky, E. Phosphorus restriction prevents the development of parathyroid hyperplasia and secondary hyperparathyroidism in rats with renal failure. (abstract). *J. Am. Soc. Nephrol.*, 6: 959, 1995.
152. Denda, M.; Finch, J. and Slatopolsky, E. Phosphorus accelerates the development of parathyroid hyperplasia and secondary hyperparathyroidism in rats with renal failure. *Am. J. Kidney Dis.*, 28: 596-602, 1996.
153. Denis, V.W. Phosphate homeostasis. In: Windhager, E.E., ed. *Handbook of physiology, section 8: renal physiology*, 1785-1816. Oxford University Press. New York, 1992.
154. Dibartola, S.P.; Green, R.A. and Morais, S.A. Electrolytes and acid-base. In: Willard, M.D.; Tvedten, H. and Turnwald, G.H., eds. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*, 97-113. W. B. Saunders. Philadelphia, 1994.
155. DOCE. Directiva del Consejo sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. En: *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, 1-6, 1986.
156. Drake, T.G.; Albright, F. and Castleman, B. Parathyroid hyperplasia in rabbits produced by parenteral phosphate administration. *J. Clin. Invest.*, 16: 203-206, 1937.
157. Dressler, R.; Laut, J.; Lynn, R.I. and Ginsberg, N. Long-term high dose intravenous calcitriol therapy in end-stage renal disease patients with severe secondary hyperparathyroidism. *Clin. Nephrol.*, 43: 324-331, 1995.
158. Dukes, H.H. and Swenson, M.J., eds. *Fisiología de los animales domésticos*, 4<sup>a</sup> ed., Aguilar. Madrid, 1977.
159. Duquenne, M.; Werya, G.; Kaminsky, P.; De Talance, N.; Mathieu, P. and LeClere, J. Serum parathormone profile during surgical treatment of hyperfunctioning parathyroid adenoma: A multicompartmental model. *J. Bone Miner. Res.*, 9:1371-1375, 1994.
160. Dusso, A.S.; Pavlopoulos, T.; Naumovich, L.; Lu, Y.; Finch, J.; Brown, A.J.; Morrissey, J. and Slatopolsky, E. p21<sup>waf</sup> and transforming growth factor- $\infty$  mediated dietary phosphate regulation of parathyroid cell growth. *Kidney Int.*, 59: 855-865, 2001.

161. Emmett, M. and Narins, R.G. Clinical use of the anion gap. *Medicine*, 56: 38-54, 1977.
162. Emmett, M.; Goldfarb, S.; Agus, Z.S. and Narins, R.C. The pathophysiology of acid-base changes in cronically phosphate depleted rats: Bone-kidney interactions. *J. Clin. Invest.*, 69: 291-298, 1977.
163. Estepa, J.C.; Aguilera-Tejero, E.; López, I.; Almadén, Y.; Rodríguez, M.; Felsenfeld, J. Effect of phosphate on parathyroid hormone secretion in vivo. *J. Bone. Miner. Res.*, 14: 1848-1854, 1999.
164. Estepa, J.C.; Aguilera-Tejero, E.; Almadén, Y.; Rodríguez, M. and Felsenfeld, A.J. Effect of rate of calcium reduction and a hypocalcemic clamp on PTH secretion: a study in dogs. *Kidney Int.*, 55: 1724-1733, 1999.
165. Estepa, J.C.; López, I.; Bas, S.; Mayer-Valor, R. y Aguilera-Tejero, E. Valores de referencia de gasometria arterial y estado ácido-básico en perros. *Med. Vet.*, 16: 264-269, 1999.
166. Ettinger, S.J., ed. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 3<sup>rd</sup> ed. W.B. Saunders. Philadelphia, 1992.
167. Evans, R.M. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*, 240: 889-895, 1988.
168. Evanson, J.M. The response to the infusion of parathyroid extract in hypercalcemic states. *Clin. Sci.*, 31: 63-75, 1966.
169. Fajtova, V.T.; Quinn, S.T. and Brown, E.M. Cytosolic calcium responses of single rMTC 44-2 cells to stimulation with external calcium and potassium. *Am. J. Physiol.*, 261: E151-E158, 1991.
170. Fatemi, S.; Ryzen, E.; Flores, J.; Endres, D.B. and Rude, R.K. Effect of experimental human magnesium depletion on parathyroid hormone secretion and 1,25-dihydroxyvitamin D metabolism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 73: 1067-1072, 1991.
171. Feigl, E.O. and D'Alecy, L.G. Normal arterial blood pH, oxygen and carbon dioxide tensions in unanesthetized dogs. *J. Appl. Physiol.*, 32: 152-153, 1973.
172. Felsenfeld, A.J.; Ross, D. and Rodríguez, M. Hysteresis of the parathyroid hormone response to hypocalcemia in hemodialysis patients with low turnover bone disease. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2: 1136-1143, 1991.

173. Felsenfeld, A.J. and Llach, F. Parathyroid gland function in chronic renal failure. *Kidney Int.*, 43: 771-789, 1993.
174. Fencl, V. and Rossing, T.H. Acid-base disorders in critical care medicine. *Annu. Rev. Med.*, 40: 17-29, 1989.
175. Fencl, V. and Leith, D.E. Stewart's quantitative acid-base chemistry: applications in biology and medicine. *Respir. Physiol.*, 91: 1-16, 1993.
176. Figge, J.; Rossing, T.H. and Fencl, V. The role of serum proteins in acid-base equilibria. *J. Lab. Clin. Med.*, 117: 453-467, 1991.
177. Figge, J.; Mydosh, T. and Fencl, V. Serum proteins and acid-base equilibria: a follow up. *J. Lab. Clin. Med.*, 20: 713-719, 1992.
178. Finco, D.R.; Brown, S.A.; Crowell, W.A.; Groves, C.A.; Duncan, J.R. and Barsanti, J.A. Effects of phosphorus/calcium-restricted and phosphorus/calcium-replete 32% protein diets in dogs with chronic renal failure. *Am. J. Vet. Res.*, 53: 157-163, 1992.
179. Fine, A.; Cox, D. and Fontaine, B. Elevation of serum phosphate affects parathyroid hormone levels in only 50% of hemodialysis patients, which is unrelated to changes in serum calcium. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 3: 1947-1953, 1993.
180. Fiskin, A.M.; Cohn, D.V. and Peterson, G.S. A model for the structure of bovine parathormone derived by dark field electron microscopy. *J. Biol. Chem.*, 252: 8261-8268, 1977.
181. Fitzpatrick, L.A.; Brandi, M.L. and Aurbach, G.D. Prostaglandin F<sub>2α</sub> and α-adrenergic agonist regulate parathyroid cell function via inhibitory guanine nucleotide regulation protein. *Endocrinology*, 118: 2115-219, 1986.
182. Flentje, D.; Schmidt-Gayk, H.; Blind, E.; Buhr, H. and Herfarth, C. Intact parathyroid hormone in primary hyperparathyroidism. *Br. J. Surg.*, 77:168-172, 1990.
183. Flueck, J.A.; DiBella, F.P.; Edis, A.J.; Kehrwald, J.M. and Arnaud, C.D. Immunoheterogeneity of parathyroid hormone in venous effluent serum from hyperfunctioning parathyroid glands. *J. Clin. Invest.*, 60: 1367-1375, 1977.
184. Fox, J.; Scott, M.; Nissenson, R.A. and Heath, H. Effects of plasma calcium concentration on the metabolic clearance rates of parathyroid hormone in the dog. *J. Lab. Clin. Invest.*, 102: 70-77, 1983.

185. Fraley, D.S. and Adler, S. An extrarenal role of parathyroid hormone in the disposal of acute acid loads in rats and dogs. *J. Clin. Invest.*, 63: 985-997, 1979.
186. Francisco, A.L.M.; Cobo, M.; Setien, M.E.; Rodrigo, E.; Fresnedo, G.M.; Unzueta, M.T.; Amado, J.A.; Arias, M. and Rodriguez, M. The effect of serum phosphate on PTH secretion during hemodiálisis. *Kidney Int.*, 54: 2140-2145, 1998.
187. Fraser, D.R. and Kodicek, E. Regulation of 25(OH)cholecalciferol-hidroxylyase activity in kidney by parathyroid hormone. *Nature*, 241: 163-166, 1973.
188. Frassetto, L. and Sebastian, A. Age and systemic acid-base equilibrium: analysis of published data. *J. Gerontol.*, 51: B91-B99, 1996.
189. Freitag, J.J.; Martin, K.J.; Conrades, M.B. and Slatopolsky, E. Metabolism of parathyroid hormone by fetal rat calvaria. *Endocrinology*, 104: 510-516, 1979.
190. Freitag, J.J.; Martin, K.J. and Conrades, M.B. Evidencie for skeletal resistance to parathyroid hormone in magnesium deficiency: studies in isolated perfused bone. *J. Clin. Invest.*, 64: 1238-1244, 1979.
191. Frischmeyer, K.J. and Moon, P.E. Evaluation of quantitative acid-base balance and determination of unidentified anions in swine. *Am. J. Vet. Res.*, 55: 1153-1157, 1994.
192. Fritsche, A.; Stefan, N.; Hardt, E.; Schutzenauer, S.; Haring, H. and Stumvoll, M. A novel hyperglycaemic clamp for characterization of islet function in humans: assessment of three different secretagogues, maximal insulin response and reproducibility. *Eur. J. Clin. Invest.*, 30:411-418, 2000.
193. Fukagawa, M.; Okazaki, R. and Takano, K. Regression of parathyroid hyperplasia by calcitriol pulse therapy in patients on long-term dialysis. *New. Engl. J. Med.*, 323: 421-422, 1990.
194. Fukagawa, M.; Yi, H. and Kurokawa, K. Calcitriol induces apoptosis of hyperplastic parathyroid cells in uremic rats. (abstract). *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2: 635, 1991.
195. Gafter, U.; Kraut, J.A.; Lee, D.B.N.; Silis, V.; Walling, M.; Kurokawa, K.; Haussler, M.R. and Coburn, J.W. Effect of metabolic acidosis on intestinal absorption of calcium and phosphorus. *Am. J. Physiol.*, 239: G480-G484, 1980.
196. Galizzi, J.P.; Qar, J.; Fosset, M.; Van Renterghem, G. and Lazdunski, M. Regulation of calcium channels in aortic muscle cells by protein kinase C activators (diacylglycerol and phorbol esters) and by peptides (vasopressin and bombesin) that stimulate phosphoinositide breakdown. *J. Biol. Chem.*, 262: 6947-6950, 1987.

197. Gamble, J.L., ed. *Chemical anatomy, Physiology and pathology of extracellular fluid: a lecture syllabus*, 6<sup>th</sup> ed. Harvard University Press. Cambridge, 1960.
198. Gardella, T.J. and Jüppner, H. Molecular properties of the PTH/PTHrP receptor. *Trends Endocrinol. Metab.*, 12: 210-217, 2001.
199. Gardner, D.G.; Brown, E.M.; Windeck, R. and Aurbach, G.D. Prostaglandin E<sub>2</sub> stimulation of adenosine 3'5'-monophosphate accumulation and parathyroid hormone release in dispersed bovine parathyroid cells. *Endocrinology*, 103: 577-582, 1978.
200. Gardner, D.G.; Brown, E.M.; Windeck, R. and Aurbach, G.D. Prostaglandin F<sub>2α</sub> inhibits 3'5'- adenosine monophosphate accumulation and parathyroid hormone release in dispersed bovine parathyroid cells. *Endocrinology*, 104: 1-7, 1979.
201. Garella, S.; Dana, C.L. and Chazan, J.A. Severity of metabolic acidosis as determinant of bicarbonate requirements. *N. Engl. J. Med.*, 289: 121-126, 1973.
202. Garella, S.; Chang, B.S. and Kahn, S.I. Dilution acidosis and concentration alkalosis. Review of a concept. *Kidney Int.*, 8: 279-283, 1975.
203. Garrett, J.E.; Capuano, I.V.; Hammerland, L.G.; Hung, B.C.; Brown, E.M.; Hebert, S.C.; Nemeth, E.F. and Fuller, F. Molecular cloning and functional expression of human parathyroid calcium receptor cDNAs. *J. Biol. Chem.*, 270: 12919-12925, 1995.
204. Gennari, F.G.; Cohen, J.J. and Kassirer, J.P. Measurement of acid-base status. In: Cohen, J.J. and Kassirer, J.P., eds. *Acid/Base*. Little Brown. Boston, 1982.
205. Gogusev, J.; Duchambon, P.; Hory, B.; Giovannini, M.; Sarfati, E. and Drüeke, T.B. Depressed expression of calcium receptor in parathyroid gland tissue of patients with primary or secondary uremic hyperparathyroidism. *Kidney Int.*, 51: 328-336, 1997.
206. Gold, L.W.; Massry, S.G.; Ariefl, A.I. and Coburn, J.W. Renal bicarbonate wasting during phosphate depletion: a possible cause of altered acid-base homeostasis in hyperparathyroidism. *J. Clin. Invest.*, 52: 2556-2562, 1973.
207. Goldman, M.E.; Chorev, M. and Reagan, J.E. Evaluation of novel parathyroid hormone analogues using a bovine renal membrane receptor binding assay. *Endocrinology*, 123: 1468-1475, 1988.
208. Goltzman, D. Examination of the requirement for metabolism of parathyroid hormone in skeletal tissue before biological action. *Endocrinology*, 102: 1555-1562, 1978.

209. González, A.; Pariente, J.A.; Salido, G.M. and Camello, P.J. Intracellular pH signalling in rat pancreatic acinar cells. *Eur. J. Physiol.* 434: 609-614, 1997.
210. Goodman, W.G.; Lemann, J.Jr.; Lennon, E.J. and Relman, A.S. Production, excretion and net balance of fixed acid in patients with renal acidosis. *J. Clin. Invest.*, 44: 495-506, 1965.
211. Goodman, W.G.; Henry, D.A.; Horst, R.; Nudelman, R.K.; Alfrey, A.C. and Coburn, J.W. Parenteral aluminium administration in the dog: Induction of osteomalacia and effect of vitamin D metabolism. *Kidney Int.*, 25: 370-375, 1984.
212. Goodman, W.G.; Gilligan, J. and Horst, R.. Short-term aluminium administration in the rat. Effects on bone formation and relationship to renal osteomalacia. *J. Clin. Inv.*, 73: 171-181, 1984.
213. Goodman, W.G.; Coburn, J.W.; Ramirez, J.A.; Slatopolsky, E. and Salusky, I.B. Renal osteodystrophy in adults and children. In: Favus, M.J., ed. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders in mineral metabolism*, 304-323. Raven. New York, 1993.
214. Graham, K.A.; Reaich, D.; Channon, S.M.; Downie, S.; Gilmour, E.; Passlick-Deetjen, J. and Goodship, T.H.J. Correction of acidosis in CAPD decreases whole body protein degradation. *Kidney Int.*, 49: 1396-1400, 1996.
215. Graham, K.A.; Hoenich, N.A.; Tarbit, M.; Ward, M.K. and Goodship, T.H.J. Correction of acidosis in hemodialysis patients increases the sensitivity of the parathyroid glands to calcium. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 8:627-631, 1997.
216. Grant, F.D.; Conlin, P.R. and Brown, E.M. Rate and concentration dependence of parathyroid hormone dynamics during stepwise changes in serum ionized calcium in normal humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 71: 370-378, 1990.
217. Green, J. and Kleeman, C.R. Role of bone in regulation of systemic acid-base balance. *Kidney Int.*, 39: 9-26, 1991.
218. Guntupalli, J.; Matthews, B.; Carlin, B. and Bourke, E. Effect of acute hypercapnia on PTH-stimulated phosphaturia in dietary Pi-deprived rats. *Am. J. Physiol.*, 253: F34-F40, 1987.
219. Habener, J.F.; Powel, D.; Murray, T.M.; Mayer, G.P. and Potts, J.T. Jr. Parathyroid hormone: secretion and metabolism in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 68: 2986-2991, 1971.

220. Habener, J.F. and Potts, J.T. Jr. Relative effectiveness of magnesium and calcium on the secretion and biosynthesis of parathyroid hormone in vitro. *Endocrinology*, 98: 197-202, 1976.
221. Habener, J.F.; Amherdt, M.; Ravazzola, M. and Orci, L. Parathyroid hormone biosynthesis. *J. Cell Biol.*, 80: 715-731, 1979.
222. Habener, J.F. Regulation of parathyroid hormone secretion and biosynthesis. *Am. Rev. Physiol.*, 43: 211-223, 1981.
223. Habener, J.F.; Rosenblatt, M. and Potts, J.R.Jr. Parathyroid hormone: biochemical aspects of biosynthesis secretion, action and metabolism. *Physiol. Rev.*, 64: 985-1053, 1984.
224. Haussler, M.R.; Terpening, C.M.; Konn, B.S.; Whitfield, G.K. and Haussler, C.A. Vitamin D hormone receptors: structure, regulation and molecular function. In: Norman, A.W.; Shaefer, K.; Grigoleit, H.G. and Herrath, D.V., eds. *Vitamin D. Molecular, cellular and clinical endocrinology*, 205-214. Walter de Gruyter & Co. Berlin-New York, 1988.
225. Hayakawa, Y.; Tanaka, Y.; Funahashi, H.; Imai, T.; Matsuura, N.; Oiwa, M.; Kikumori, T.; Mase, T.; Tominaga, Y.; Nakao, A. Hyperphosphatemia accelerates parathyroid cell proliferation and parathyroid hormone secretion in severe secondary parathyroid hyperplasia. *Endocr. J.*, 46: 681-686, 1999.
226. Heidbreder, E.; Gotz, R.; Schafferhans, K. and Heidland, A. Diminished parathyroid gland responsiveness to hypocalcemia in diabetic patients with uremia. *Nephron*, 42: 285-289, 1986.
227. Heinemann, H.O. Metabolic alkalosis in patients with hypercalcemia. *Metabolism*, 14: 1137-1152, 1965.
228. Heinrich, G.; Kronenberg, H.M.; Potts, J.T. Jr. and Habener, J.F. Gene encoding parathyroid hormone: nucleotide sequence of the rat gene and deduced amino acid sequence of rat preproparathyroid hormone. *J. Biol. Chem.*, 259: 3320-3329, 1984.
229. Hellman, D.E.; Au, W.Y.W. and Bartter, F.C. Evidence for a direct effect of parathyroid hormone on urinary acidification. *Am. J Physiol.*, 209: 643-650, 1965.
230. Hendy, G.N.; Kronenberg, H.M.; Potts, J.T. Jr. and Rich, A. Nucleotide sequence of cloned cDNAs encoding human preproparathyroid hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78: 7365-7369, 1981.

231. Hepler, J.R.; Earp, H.S. and Harden, T.K. Long-term phorbol ester treatment down-regulates protein kinase C and sensitizes the phosphoinositide signaling pathway to hormone and growth factor stimulation. *J. Biol. Chem.*, 263: 7610-7619, 1988.
232. Hernández, A.; Concepción, M.T.; Rodríguez, M.; Salido, E. and Torres, A. High phosphorus diet increases preproPTH mRNA independent of calcium and calcitriol in normal rats. *Kidney Int.*, 50: 1872-1878, 1996.
233. Hernández, A.; Torres, A.; Concepción, M.T. and Salido, E. Parathyroid gland calcium receptor gene expression is not regulated by increased dietary phosphorus in normal and renal failure rats. *Nephrol. Dial. Transpl.*, 11: 11-14, 1996.
234. Hindman, B.J. Sodium bicarbonate in the treatment of subtypes of acute lactic acidosis: Physiologic considerations. *Anesthesiology* 72: 1064-1076, 1990.
235. Hodsman, A.B.; Sherrard, D.J.; Alfrey, A.C.; Ott, S.M.; Brickman, A.S.; Miller, N.L.; Maloney, N.A. and Coburn, J.W. Bone aluminium and histomorphometric features of renal osteodystrophy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 54: 539-546, 1982.
236. Holloway, S.A.; Sundstrom, D. and Senior, D.F. Effect of acute induced metabolic alkalosis on the acid/base responses to sprint exercise of six racing greyhounds. *Res. Vet. Sci.*, 61: 245-251, 1996.
237. Hoppe, A.; Metler, M.; Berdt, T.J.; Knox, F.G. and Angielski, S. Effect of respiratory alkalosis on renal phosphate excretion. *Am. J. Physiol.*, 243: F471-F475, 1982.
238. Houillier, P.; Normand, M.; Froissart, M.; Blanchard, A.; Jungers, P. and Paillard, M. Calciuric response to an acute acid load in healthy subjects and hypercalciuric calcium stone formers. *Kidney Int.*, 50:987-997, 1996.
239. Howland, W.S.; Sweizer, O. and Murphy, T.W. Estimation of acid-base of venous and arterial blood from capillary samples. *Acta Anaesth. Scand.*, 8: 191-196, 1964.
240. Hruska, K.A.; Martin, K.; Mennes, P.; Greenwalt, A.; Anderson, C.; Klahr, S. and Slatopolsky, E. Degradation of parathyroid hormone and fragment production by isolated perfused dog kidney. The effect of glomerular filtration rate and perfusate  $\text{Ca}^{++}$  concentration. *J. Clin. Invest.*, 60: 501-510, 1977.
241. Hsu, C.H. and Patel, S. Uremic plasma contains factors inhibiting 1- $\alpha$ - hydroxylase activity. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 3: 947-952, 1991.



242. Hughes, M.R.; Brumbaugh, P.F.; Hausster, M.R.; Wergedal, J.E. and Balynek, D.J. Regulation of serum 1,25 (OH)<sub>2</sub> D, by calcium and phosphate in the rat. *Science*, 190: 578-590, 1975.
243. Hughes, W.S.; Aurbach, G.D.; Sharp, M.E. and Marx, S.J. The effect of the bicarbonate anion on serum ionised calcium concentration in vitro. *J. Lab. Clin. Med.*, 103: 93-103, 1984.
244. Hulter, H.N.; Sebastian, A.; Toto, R.D.; Bonner, E.L. and Ilnicki, L.P. Renal and systemic acid-base effects of the chronic administration of hipercalcemia-producing agents: calcitrol, PTH and intravenosus calcium. *Kidney Int.*, 21: 445-458, 1982.
245. Hulter, H.N.; Toto, R.D.; Ilnicki, L.P.; Hallorand, B. and Sebastian, A. Metabolic alkalosis in models of primary and secondary hyperparatiroid states. *Am. J. Physiol.*, 245: F450-F461, 1983.
246. Hulter, H.N. and Peterson, J.C. Acid- base homeostasis during chronic PTH excess in humans. *Kidney Int.*, 28: 187-192, 1985.
247. Hulter, H.N. Effects and interrelationships of PTH, Ca<sup>2+</sup>, vitamin D and Pi in acid-base homeostasis. *Am. J. Physiol.*, 248: F739-F752, 1985.
248. Iovine, E. y Selva, A.A., eds. *El laboratorio en la clínica*. Médica Panamericana. Buenos Aires, 1975.
249. Jara, A.; Felsenfeld, A.J.; Bover, J. and Kleeman, C.R. Chronic metabolic acidosis in azotemic rats on a high-phosphate diet halts the progression of renal disease. *Kidney Int.*, 58:1023-1032, 2000.
250. Jennings, D.B. The physiochemistry of [H<sup>+</sup>] and respiratory control: roles of PCO<sub>2</sub>, strong ions, and their normal regulators. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 72: 1499-1512, 1994.
251. Johnson, D.D.; Hoop, B. and Kazemi, H. Movement of CO<sub>2</sub> and HCO<sub>3</sub> from blood to brain in dogs. *J. Appl. Physiol.*, 54: 989-996, 1983.
252. Julka, N.K.; Sabatini, S.; Arruda, A.L. and Kurtzman, N.A. Distal acidification defect (AD) induced by phosphate depletion. *Clin. Res.*, 26: 691, 1978.
253. Jüppner, H. Molecular cloning and characterization of parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide (PTHrP) receptor: a member of an ancient family of G protein-coupled receptors. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 3: 371-378, 1994.

254. Kaplan, E.L.; Hill, B.J.; Locke, S.; Toth, D.N. and Peskin, G.W. Metabolic acidosis and parathyroid hormone secretion in the sheep. *J. Lab. Clin. Med.*, 78: 819-822, 1971.
255. Karlinsky, M.; Sager, D.S.; Kurtzman, N.A. and Pillay, V.K.G. Effect of parathyroid hormone and cyclic adenosine monophosphate on bicarbonate reabsorption. *Am. J. Physiol.*, 227: 1226-1231, 1974.
256. Kates, D.M.; Sherrard, D.J. and Andress, D.L. Serum phosphorus strongly correlates with PTH in mild chronic renal failure. (abstract). *J. Am. Soc. Nephrol.*, 6: 965, 1995.
257. Kates, D.M.; Sherrard, D.J. and Andress, D.L. Evidence that serum phosphate is independently associated with serum PTH in patients with chronic renal failure. *Am. J. Kidney Dis.*, 30: 809-813, 1997.
258. Kawashima, H.; Kraut, J. and Kurokawa, K. Metabolic acidosis suppresses 25-hydroxyvitamin D3 - 1 alfa Hydroxylase in the rat. *J. Clin. Inves.*, 70: 135-140, 1982.
259. Kemper, B. Biosynthesis and secretion of parathyroid hormone. In: Cantin, M., ed. *Cell biology of the secretory process*, 443-480. Karger. Basel, 1984.
260. Keutmann, H.T.; Sauer, M.M.; Hendy, G.N.; O'Riordan, L.H. and Potts, J.T.Jr. Complete amino acid sequence of human parathyroid hormone. *Biochemistry*, 17: 5723-5729, 1978.
261. Keutmann, H.T.; Griscom, A.V. and Nussbaum, S.R. Rat parathyroid hormone (1-34) fragment: renal adenylate cyclase activity and receptor binding properties in vitro. *Endocrinology*, 117: 1230-1234, 1985.
262. Kifor, O.; Kifor, I. and Brown, E.M. Effects of high extracellular calcium concentrations on phosphoinositide turnover and inositol phosphate metabolism in dispersed bovine parathyroid cells. *J. Bone Min. Res.*, 11: 1327-1335, 1992.
263. Kifor, O.; McLeod, R.J.; Diaz, R.; Bai, M.; Yamaguchi, T.; Yao, T.; Kifor, I. and Brown, E.M. Regulation of MAP kinase by calcium-sensing receptor in bovine parathyroid and CaR transfected HEK 293 cells. *Am. J. Physiol.*, 280: F291-F302, 2001.
264. Kilav, R.; Silver, J. and Naveh-Many, T. Parathyroid hormone gene expression in hypophosphatemic rats. *J. Clin. Invest.*, 96: 327-333, 1995.
265. Kirk, R.W. and Bistner, S.I., eds. *Handbook of veterinary procedures and emergency treatment*. 5<sup>th</sup> ed. W.B. Saunders. Philadelphia, 1990.

266. Knochel, J.P. The pathophysiology and clinical characteristics of severe hypophosphatemia. *Arch. Intern. Med.*, 137: 203, 1977.
267. Kobayashi, N.; Russell, J.; Lettieri, D. and Sherwood, L.M. Regulation of protein Kinase C by extracellular calcium in bovine parathyroid cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 4857-4860, 1988.
268. Koike, T.; Lawamoto, M. and Shimazu, A. Potent mitogenic effects of parathyroid hormone (PTH) on embryonic chick and rabbit chondrocytes: differential effects of age on growth, proteoglycan, and cyclic AMP responses of chondrocytes to PTH. *J. Clin. Invest.*, 85: 626-631, 1990.
269. Koni, I. and Takeda, R. Acid-base disturbance in adrenal and parathyroid diseases. *Nippon Rinsho.*, 50: 2191-2198, 1992.
270. Korkor, A.B. Reduced binding of [ $^3$ H] 1,25 (OH) $_2$  cholecalciferol in the parathyroid glands in patients with renal failure. *N. Engl. J. Med.*, 316: 1573-1577, 1987.
271. Kowalchuk, J.M.; Heigenhauser, G.J.F.; Lindinger, M.I.; Sutton, J.R. and Jones, N.L. Factors influencing hydrogenion concentration in muscle after intense exercise. *J Appl. Physiol.*, 65: 2080-2089, 1988.
272. Krapf, R.; Vetsch, R.; Vetsch, W. and Hulter, H. Chronic metabolic acidosis increases the serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D in humans by stimulating its production rate. *J. Clin. Invest.*, 90: 2456-2463, 1992.
273. Krapf, R.; Jaeger, P. and Hulter, H.N. Chronic respiratory alkalosis induces renal PTH-resistance, hyperphosphatemia and hypocalcemia in humans. *Kidney Int.*, 42: 727-734, 1992.
274. Krapf, R.; Glatz, M. and Hulter, H.N. Neutral phosphate administration generates and maintains renal metabolic alkalosis and hyperparathyroidism. *Am. J. Physiol.*, 268: F802-F807, 1995.
275. Kraut, J.A.; Gordon, E.M.; Ransom, J.C.; Coburn, J.W. and Kurokawa, K. The effect of chronic metabolic acidosis on the end organ responsiveness to parathyroid hormone in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 56: 619-621, 1983.
276. Kraut, J.A.; Mishler, D.R. and Kurokawa, K. Effect of colchicines and calcitonin on calcemic response to metabolic acidosis. *Kidney Int.*, 25: 608-612, 1984.
277. Kraut, J.A.; Mishler, D.R.; Singer, F.R. and Goodman, W.G. The effects of metabolic acidosis on bone formation and bone resorption in the rat. *Kidney Int.*, 30: 694-700, 1986.

278. Kraut, J.A. Disturbances of acid-base balance and bone disease in end-stage renal disease. *Semin. Dial.*, 13: 261-266, 2000.
279. Krawiec, D.R. Urologic disorders of the geriatric dog. *Vet. Clin. North Am. S.A.P.*, 19: 75-85, 1989.
280. Kremer, R.; Bolivar, I.; Goltzman, D. and Hendy, G.N. Influence of calcium and 1,25-dihydroxycholecalciferol on proliferation and proto-oncogene expression in primary cultures of bovine parathyroid cells. *Endocrinology*, 125: 935-941, 1989.
281. Krieger, N.S.; Sessler, N.E. and Bushinsky, D.A. Acidosis inhibits osteoblastic and stimulated osteoclastic activity in vitro. *Am. J. Physiol.*, 262: F442-F448, 1992.
282. Kurtz, I.; Maher, T. and Hulter, H.N. Effect of the diet on plasma acid-base composition in normal humans. *Kidney Int.*, 24: 670-680, 1983.
283. Kurtz, T.W. and Hsu C.H. Impaired distal nephron acidification in cronically phosphate depleted rats. *Pflügers Arch.*, 337: 229-234, 1978.
284. Lacerda, A.E.; Rampe, D. and Brown, A.M. Effects of protein kinase C activators on cardiac Ca<sup>2+</sup> channels. *Nature*, 335: 249-251, 1988.
285. Langman, C.B. Calcitriol metabolism during chronic metabolic acidosis. *Semin. Nephrol.*, 9: 65-71, 1989.
286. Lapetina, E.G. Regulation of arachidonic acid production: role of phospholipases C and A<sub>2</sub>. *Trends Pharmacol. Sci.*, 3: 115-118, 1982.
287. Larsson, H-O., ed. *Quantitative morfological studies of parathyroid gland*. Umea University. Umea, 1984.
288. Lau, K.; Rodriguez Nichols, F. and Tannen, R.L. Renal excretion of divalent ions in response to chronic acidosis: Evidence that systemic pH is not the controlling variable. *J. Lab. Clin. Med.*, 109: 27-33, 1987.
289. Lee, S.W.; Russell, J. and Avioli, L.V. 25-Hydroxycholecalciferol to 1,25-dihydroxycholecalciferol: conversion impaired by systemic metabolic acidosis. *Science*, 195: 994-996, 1977.
290. Lefevre, A.; Horlait, S.; Chapuis, P.; Moynot, A.; Masselot, J.P.; Gueris, J. and Vernejoul, M.C. Cortical vs trabecular bone aluminium in dialyzed patients. *Am J. Kidney Dis.*, 12: 220-226, 1988.

291. Lefevre, A.; Vernejoul, M.C.; Gueris, J.; Goldfarb, B.; Graulet, A.M. and Morieux, C. Optimal correction of acidosis changes progression of dialysis osteodistrophy. *Kidney Int.*, 36: 1112-1118, 1989.
292. Lehninger, A.L. ed. *Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y función celular*, 2<sup>a</sup> ed. Ediciones Omega, S.A. Barcelona, 1984.
293. Leith, D.E. The new acid-base: power and simplicity. *Proceedings Am. Coll. Vet. Intern. Med.*, 611-617, 1991.
294. Lemann, J.; Litzow, J.R. and Lenon, E.J. The effects of chronic acid loads in normal man: Further evidence for the pertipation of bone mineral in the defense against chronic metabolic acidosis. *J. Clin. Invest.*, 45: 1609- 1614, 1966.
295. Lemann, J.; Litzow, J.R. and Lenon, E.J. Studies of the mechanism by which chronic metabolic acidosis augments urinary calcium excretion in man. *J. Clin. Invest.*, 46: 1318-1328, 1967.
296. Lemann, J.; Adams, N.D. and Gray, R.W. Urinary calcium excretion in human beings. *N. Engl. J. Med.*, 301: 535-541, 1979.
297. Lennon, E.J.; Lemann, J. and Litzow, J.R. The effects of diet and stool composition on the external acid balance of normal subjects. *J. Clin. Invest.*, 45: 1601-1607, 1966.
298. Lewin, E., Almadén, Y., Rodríguez, M., and Olgaard, K. PTHrP enhances the secretory response of PTH to a hypocalcemic stimulus in rat parathyroid glands. *Kidney Int.*, 58:71-81, 2000.
299. Licht, J.H. and McVicker, K. Parathyroid hormone induced metabolic alkalosis in dog. *Miner. Electrolyte Metab.*, 8: 78-91,1982.
300. Lim, S.K.; Gardella, T.J. and Baba, H. The carboxy-terminus of parathyroid hormone is essential for hormone processing and secretion. *Endocrinology*, 131: 2325-2330, 1992.
301. Litzow, J.R.; Lemann, J. and Lennon, E.J. The effect of treatment of acidosis on calcium balance in patients with chronic azotemic renal disease. *J. Clin. Invest.*, 46: 280-286, 1967.
302. Llach, F.; Massry, S.G.; Singer, F.R.; Kurokawa, K.; Kaye, J.M. and Coburn, J.W. Skeletal resistance of endogenous parathyroid hormone in patients with early renal failure: a possible cause of secondary hyperparathyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 41: 333-345, 1975.

303. Lloyd, D.R.; Evans, D.L.; Hodgson, D.R.; Suann, C.J. and Rose, R.J. Effects of sodium bicarbonate on cardiorespiratory measurements and exercise capacity in thoroughbred horses. *Equine Vet. J.*, 25: 125-129, 1993.
304. Loken, H.F.; Havel, R.J.; Gordan, G.S. and Wittington, S.L. Ultracentrifugal analysis of protein-bound and free calcium in human serum. *J. Biol. Chem.*, 235: 3654-3658, 1960.
305. López, I.; Estepa, J.C.; Bas, S.; Mayer-Valor, R. y Aguilera-Tejero, E. Valores de referencia de los principales parámetros sanguíneos relacionados con el metabolismo fosfocálcico en perros. *Med. Vet.*, 16: 328-333, 1999.
306. Lopez-Hilker, S.; Galceran, T.; Chan, I.; Rapp, N.; Martin, K.J. and Slatopolsky, E. Hypocalcemia may not be essential for the development of secondary hyperparathyroidism in chronic renal failure. *J. Clin. Invest.*, 78: 1097-1102, 1986.
307. Lopez-Hilker, S.; Dusso, A.S.; Rapp, N.S.; Martin, K.J. and Slatopolsky, E. Phosphorus restriction reverses hyperparathyroidism in uremia independent of changes in calcium and calcitriol. *Am. J. Physiol.*, 259: F432-F437, 1990.
308. Lorenz, M.D. and Cornelius, L.M., eds. *Small animal medical diagnosis*. J.B. Lippincot. Philadelphia, 1987.
309. Loudon, J.D.; Roberts, R.R. and Goodship, T.H.J. Acidosis and nutrition. *Kidney Int.*, 56 (sup. 73): S85-S88, 1999.
310. Lu, K.C.; Shieh S.D.; Li, B.L.; Chu, P.; Jan, S.Y. and Lin, Y.F. Rapid correction of metabolic acidosis in chronic renal failure: effect of parathyroid hormone activity. *Nephron*, 67: 419-424, 1993.
311. Lu, K.C.; Lin, S.H.; Yu, F.C.; Chyr, S.H. and Shieh, S.D. Influence of metabolic acidosis on serum 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> levels in chronic renal failure. *Miner. Electrolyte Metab.*, 21: 1398-1402, 1995.
312. Lucas, P.A.; Brown, R.C.; Woodhead, J.S. and Coles, G.A. 1,25-dihydroxycholecalciferol and parathyroid hormone in advanced chronic renal failure: effects of simultaneous protein and phosphorus restriction. *Clin. Nephrol.*, 25: 7-10, 1986.
313. Madias, N.E.; Johns, C.A. and Homer, S.M. Independence of the acute acid-buffering response from endogenous parathyroid hormone. *Am. J. Physiol.*, 243: F141-F149, 1982.

314. Mak, R.H.K.; Turner, C.; Thompson, T.; Powell, H.; Haycock, G.B. and Chantler, C. Suppression of secondary hyperparathyroidism in children with chronic renal failure by high dose phosphate binders: calcium carbonate versus aluminium hydroxide. *Brit. Med. J.*, 291: 623-627, 1985.
315. Mak, R.H.K. Effect of metabolic acidosis on insulin action and secretion in uremia. *Kidney Int.*, 54: 603-607, 1998.
316. Malberti, F.; Farina, M. and Imbasciati, E. The PTH-calcium curve and the set point of calcium in primary and secondary hyperparathyroidism. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 14: 2398-2406, 1999.
317. Maloney, N.A.; Ott, S.M.; , Alfrey, A.C.; Miller, N.L.; Coburn, J.W., and Sherrard, D.J. Histological quantification of aluminium in iliac bone from patients with renal failure. *J. Lab. Clin. Med.*, 99: 206-216, 1982.
318. Man, N.K.; Fournier, G.; Tireau, P.; Gaillard, J.L. and Funk-Brentano, J. Effects of bicarbonate containing dialysate on chronic hemodialysis patients: a comparative study. *Artif. Organs*, 6: 421-425, 1982.
319. Martin, K.J.; Hruska, K.; Greemwalt, A.; Klahr, S. and Slatopolsky, E. Selective uptake of intact parathyroid hormone by the liver. Differences between hepatic and renal uptake. *J. Clin. Invest.*, 58: 781-788, 1976.
320. Martin, K.J.; Hruska, K.A.; Lewis, J.; Anderson, C. and Slatopolsky, E. The renal handling of parathyroid hormone. Role of peritubular uptake and glomerular filtration. *J. Clin. Invest.*, 60: 808-814, 1977.
321. Martin, K.J.; Freitag, J.J.; Conrades, M.B.; Hruska, K.A.; Klahr, S. and Slatopolsky, E. Selective uptake of the synthetic amino terminal fragment of bovine parathyroid hormone by isolated perfused bone. *J. Clin. Invest.*, 62: 256-261, 1978.
322. Martin, K.J.; Hruska, K.A.; Freitag, J.J.; Klahr, S. and Slatoposky, E. The peripheral metabolism of parathyroid hormone. *New Engl. J. Med.*, 302: 1092-1098, 1979.
323. Martin, K.J. and Slatopolsky, E. The parathyroids in renal disease. In: Bilezikian, J.P.; Marcus, R. and Levin, M.D., eds. *The parathyroids: basic and clinical concepts*, 711-719. Raven Press. New York, 1994.
324. Martin, L., ed. *All you really need to know to interpret arterial blood gases*. Lea & Febiger. Philadelphia, 1992.

325. Marx, S.J.; Sharp, M.E.; Krudy, A.; Rosenblatt, M. and Mallette, L.E. Radioimmunoassay for the middle region of human parathyroid hormone: studies with a radioiodinated synthetic peptide. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 53: 76-84, 1981.
326. Marx, S.J.; Liberman, U.A. and Eil, C.A. Calciferols: actions and deficiencies in actions. *Vitam. Horm.*, 40: 235-248, 1983.
327. Massry, S.G.; Coburn, J.W.; Lee, D.B.; Jowsey, J. and Kleeman, C.R. Skeletal resistance to parathyroid hormone in renal failure. Studies in 105 human subjects. *Ann. Intern. Med.*, 78: 357-364, 1978.
328. Mayer, G.P.; Habener, J.F. and Potts, J.T. Jr. Parathyroid hormone secretion in vivo. Demonstration of a calcium-independent, nonsuppressible component of secretion. *J. Clin. Invest.*, 57: 678-683, 1976.
329. Mayer, G.P. and Hurst, J.G. Sigmoidal relationship between parathyroid hormone secretion rate and plasma calcium concentration in calves. *Endocrinology*, 102: 1036-1042, 1978.
330. Mayer, G.P.; Keaton, J.A.; Hurst, J.G. and Habener, J.F. Effects of plasma calcium concentration on the relative proportion of hormone and carboxyl fragments in parathyroid venous blood. *Endocrinology*, 104: 1778-1784, 1979.
331. McAuliffe, J.J.; Lind, J.J.; Leith, D.E. and Fencl, V. Hypoproteinemic alkalosis. *Am. J. Med.*, 81: 86-90, 1986.
332. McDonald, P.N.; Haussler, C.A.; Terpening, C.M.; Galligan, M.A.; Reeder, M.C.; Whitfield, G.K. and Haussler, M.R. Baculovirus-mediated expression of the human vitamin D receptor: functional characterization, vitamin D response element interactions, and evidence for a receptor auxiliary factor. *J. Biol. Chem.*, 266: 18808-18813, 1991.
333. McGregor, R.R.; Hamilton, J.W.; Kent, N.G.; Shotstall, R.E. and Cohn, D.V. The degradation of proparathormone and parathormone by parathyroid and liver cathepsin B. *J. Biol. Chem.*, 254: 4428-4433, 1979.
334. McGregor, R.R.; Hinton, D.A. and Ridgeway, R.D. Effects of calcium on synthesis and secretion of parathyroid hormone and secretory protein I. *Am. J. Physiol.*, 255: E299-E305, 1988.
335. McKay, Ch. and Miller, A. Relationship among cellular diacylglycerol, sphingosine formation, protein kinase C activity, and parathyroid hormone secretion from dispersed bovine parathyroid cells. *Endocrinology*, 137: 2473-2479, 1996.



336. McNair, P.; Christensen, M.S.; Christiansen, C.; Madsbad, S. and Transbol, I.B. Renal hypomagnesemia in human diabetes mellitus: its relation to glucose homeostasis. *Eur. J. Clin. Invest.*, 12: 81-85, 1982.
337. Mercado, A.; Slatopolsky, E. and Klhar, S. On the mechanism responsible for the phosphaturia of bicarbonate administration. *J. Clin. Invest.*, 56: 1386-1395, 1975.
338. Mitnick, P.; Greenberg, A.; Coffman, T.; Kelepouris, E.; Wolf, C.J. and Goldfarb, S. Effects of two models of hypercalcemia on renal acid-base metabolism. *Kidney Int.*, 21: 613-620, 1982.
339. Miyamoto, K.; Tatsumi, S.; Morita, K. and Takeda, E. Does the parathyroid "see" Phosphate? *Nephrol. Dial. Transplant.*, 13: 2727-2729, 1998.
340. Moallem, E.; Kilav, R.; Silver, J. and Naveh-Many, T. RNA-protein binding and post-transcriptional regulation of parathyroid hormone gene expression by calcium and phosphate. *J. Biol. Chem.*, 273: 5253-5259, 1998.
341. Moore, E.W. Ionized calcium in normal serum, ultrafiltrates and whole blood determined by ion-exchange electrodes. *J. Clin. Invest.*, 49: 318-334, 1970.
342. Morrissey, J.J.; Hamilton, J.W.; MacGregor, R.R. and Cohn, D.V. The secretion of parathormone fragments 34-84 and 37-84 by dispersed porcine parathyroid cells. *Endocrinology*, 107: 164-71, 1980.
343. Morrissey, J.J. Effect of phorbol myristate acetate on secretion of parathyroid hormone. *Am. J. Physiol.*, 254: E63-E70, 1988.
344. Mosier, J.E. Effects of aging on the body systems of the dog. *Vet. Clin. North Am. S.A.P.*, 19: 1-12, 1989.
345. Mostellar, M.E. and Tuttle, E.P.Jr. Effects of alkalosis on plasma concentration and urinary excretion of inorganic phosphate in man. *J. Clin. Invest.*, 43: 138-149, 1964.
346. Muldowney, F.P.; Donohoe, J.F.; Freaney, R.; Kampff, C. and Swan, M. Parathormone-induced renal bicarbonate wastage in intestinal malabsorption and in chronic renal failure. *Ir. J. Med. Sci.*, 3: 221-231, 1970.
347. Muldowney, F.P.; Carroll, D.V.; Donohoe, J.F. and Freaney, R. Correction of renal bicarbonate wastage by parathyroidectomy. *Q. J. Med.*, 40: 487-498, 1971.
348. Muller, B.; Becker, K.L.; Kranzlin, M.; Schachinger, H.; Huber, P.R.; Nylen, E.S.; Snider, R.H.; White, J.C.; Schmidt-Gayk, H.; Zimmerli, W. and Ritz, R. Disordered

- calcium homeostasis of sepsis: association with calcitonin precursors. *Eur. J. Clin. Invest.*, 30: 823-831, 2000.
349. Muther, R.S.; McCarron, D.A. and Bennett, W.M. Change in serum bicarbonate during acute EDTA infusions in post-transplant hyperparathyroidism. *Nephron*, 30: 36-38, 1982.
350. Narins, R.G., ed. *Maxwell & Kleeman's. Clinical disorders of fluid and electrolyte metabolism*. 5<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill. New York, 1994.
351. Nattie, E.E. Ionic mechanisms of cerebrospinal fluid acid-base regulation. *J. Appl. Physiol.*, 54: 3-12, 1983.
352. Nattie, E.E. The alaphastat hypothesis in respiratory control and acid-base balance. *J. Appl. Physiol.*, 69: 1201-1207, 1990.
353. Naveh-Many, T.; Friedlaender, M.M.; Mayer, H. and Silver, J. Calcium regulates parathyroid hormone messenger ribonucleic acid (mRNA), but not calcitonin mRNA in vivo in the rat: dominant role of 1,25-dihydroxyvitamin D. *Endocrinology*, 125: 275-280, 1989.
354. Naveh-Maney, T. and Silver, J. Regulation of parathyroid hormone gene expression by hipocalcemia, hypercalcemia and vitamin D in the rat. *J. Clin. Invest.*, 86: 1313-1319, 1990.
355. Naveh-Many, T.; Marx, R.; Keshet, E.; Pike, J.W. and Silver, J. Regulation of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptor gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in the parathyroid in vivo. *J. Clin. Invest.*, 86: 1968-1975, 1990.
356. Naveh-Many, T.; Rahamimov, R.; Livni, N. and Silver, J. Parathyroid cell proliferation in normal and chronic renal failure rats: the effects of calcium, phosphate and vitamin D. *J. Clin. Invest.*, 96: 1786-1793, 1995.
357. Negulescu, P.A. and Machen, T.E. Lowering extracellular sodium or pH raises intracellular calcium in gastric cells. *J. Membr. Biol.*, 116: 239-248, 1990.
358. Nemeth, E.F. and Scarpa, A. Cytosolic Ca<sup>2+</sup> and the regulation of secretion in parathyroid cells. *FEBS. Lett.*, 203: 15-19, 1986.
359. Nemeth, E.F.; Wallace, J. and Scarpe, A. Stimulus secretion coupling in bovine parathyroid cells. Disociation between secretion and net changes in cytosolic Ca<sup>++</sup>. *J. Biol. Chem.*, 261: 2668-2674, 1986.

360. Neuman, M.W.; Neuman, W.F.; Lane, K.; Miller, L. and Sammon, P.J. The metabolism of labelled parathyroid hormone. V. Collected biological studies. *Calcif. Tissue Res.*, 18: 271-287, 1975.
361. Neuman, M.W.; Neuman, W.F. and Lane, K. The metabolism of labelled parathyroid hormone. VII. Attempts to modify hormone deposition. *Calcif. Tissue Res.*, 19: 169-178, 1975.
362. Niall, H.D.; Keutmann, H.T.; Sauer, R.; Hogan, M.; Dawson, B.; Aurbach, G. and Potts, J.T.Jr. The amino acid sequence of bovine parathyroid hormone, part I. *Hoppe Seylers Z Physiol. Chem.*, 351: 1586-1588, 1970.
363. Niall, H.D.; Sauer, R.T.; Jacobs, J.W.; Keutmann, H.T.; Segre G.V.; O'Riordan, J.L.; Aurbach, G. and Potts, J.T.Jr. The amino acid sequence of the amino-terminal 37 residues of human parathyroid hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71: 384-388, 1974.
364. Nickel, R.; Schummer, A. und Seiferle, E., eds. *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere*, 326-329. Paul Parey. Berlin, 1954.
365. Nielsen, P.K.; Feldt-Rasmussen, U. and Olgaard, K. A direct effect in vitro of phosphate on PTH release from bovine parathyroid tissue slices but not from dispersed parathyroid cells. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 11: 1762-1768, 1996.
366. Nishiguchi, H.; Hayashi, T.; Shigetomi, T.; Ueda, M. and Tomita, T. Changes in intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration produced by alteration of intracellular pH in rat parotid acinar cells. *Jpn. J. Physiol.*, 47: 41-49, 1997.
367. Nishikawa, J.I.; Matsumoto, M.; Sakoda, K.; Kitaura, M.; Imagawa, M. and Nishishara, T. Vitamin D receptor zinc finger region binds to a direct repeat as a dimer and discriminates the spacing number between each half-site. *J. Biol. Chem.*, 268: 19739-19743, 1993.
368. Nishizuka, Y. Intracellular signalling by hydrolysis of phospholipids and activation of Protein Kinase C. *Science*, 258: 607-613, 1992.
369. Nordin, B.E.C. The effects of intravenous parathyroid extract on urinary pH, bicarbonate and electrolyte excretion. *Clin. Sci.*, 19: 311-319, 1960.
370. Nussbaum, S.R.; Rosenblat, M. and Potts, J.T. Jr. Parathyroid hormone renal receptor interactions. *J. Biol. Chem.*, 255: 10183-10187, 1980.

371. Oberleithner, H.; Greger, R. and Lang, F. The effect of respiratory and metabolic acid-base changes on ionised calcium concentration: in vivo and in vitro experiments in man and rat. *European J. Clin. Invest.*, 12: 451-455, 1982.
372. Oh, M.S. Irrelevance of bone buffering to acid-base homeostasis in chronic metabolic acidosis. *Nephron*, 59: 7-10, 1991.
373. Okazaki, T.; Zajac, J.D.; Igarashi, T.; Ogata, E. and Kronenberg, H.M. Negative regulatory elements in the human parathyroid hormone gene. *J. Biol. Chem.*, 266: 21903-21910, 1991.
374. Okazaki, T.; Chung, U.; Nishishita, T.; Ebisu, S.; Usuda, S.; Mishiro, S.; Xanthoudakis, S.; Igarashi, T. and Ogata, E. A redox factor protein, ref1, is involved in negative gene regulation by extracellular calcium. *J. Biol. Chem.*, 269: 27855-27862, 1994.
375. Oldham, S.B.; Fischer, J.A.; Capen, C.; Sizemore, W. and Arnaud, C.D. Dynamics of parathyroid hormone secretion in vitro. *Am. J. Med.*, 50: 650-657, 1971.
376. Olgaard, K.; Schwartz, J. and Finco, D. Extraction of parathyroid hormone and release of cyclic-AMP by isolated perfused bones obtained from dogs with acute uremia. *Endocrinology*, 111: 1678-1682, 1982.
377. Olgaard, K.; Arbelaez, M.; Schwartz, J.; Khlar, S. and Slatopolsky, E. Abnormal skeletal response to parathyroid hormone in dogs with chronic uremia. Skeletal cyclic response to PTH in chronic uremia. *Calcif. Tissue Int.*, 34: 403-407, 1982.
378. Orwoll, E.S. and Meier, D.E. Alterations in calcium, vitamin D, and parathyroid hormone physiology in normal men with aging: Relationship to the development of senile osteopenia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 63: 1262-1269, 1986.
379. Oster, J.R.; Perez, G.O.; Canterbury, J.M.; Alpert, H.C. and Vaamonde, C.A.. Plasma parathyroid hormone and divalent cation response to induction of acute metabolic acidosis. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 60:1505-1513, 1984.
380. Ott, S.M.; Maloney, N.A.; Coburn, J.W.; Alfrey, A.C. and Sherrard, D.J. The prevalence of bone aluminium deposition in renal osteodystrophy and its relation to the response to calcitriol therapy. *N. Engl. J. Med.*, 307: 709-713, 1982.
381. Ouseph, R.; Leiser, J.D. and Moe, S.M. Calcitriol and the parathyroid hormone-ionized calcium curve: a comparison of methodologic approaches. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 7: 497-505, 1996.

382. Paillard, M. and Bichara, M. Peptide hormone effects on urinary acidification and acid-base balance: PTH, ADH, and glucagon. *Am. J. Physiol.*, 256: F973- F985 , 1989.
383. Pappemheimer, A.M. and Wilens, S.L. Enlargement of parathyroid glands in renal disease. *Am. J. Pathol.*, 11: 73, 1935.
384. Parsons, J.A.; Rafferty, B. and Gray, D. Pharmacology of parathyroid hormone and some of its fragments and analogues. In: Talmage, R.V. and Belanger, L.F., eds. *Calcium regulating hormones: proceedings of the fifth parathyroid conference*, 34-39. Amsterdam, 1975.
385. Pei, Y.; Hercz, G.; Greenwood, C.; Segre, G.V.; Manuel, A.; Shaiphoo, C.; Fenton, S. and Sherrad, D.J. Renal osteodystrophy in diabetic patients. *Kidney Int.*, 44: 159-164, 1993.
386. Pellegrino, E.D. and Blitz, R.M. The composition of human bone in uremia. Observations on the reservoir functions of bone and demonstration of labile fraction of bone carbonate. *Medicine*, 44: 397-418, 1965.
387. Pento, J.T.; Glick, S.M.; Kagan, A. and Gorfein, P.C. The relative influence of calcium, strontium, and magnesium on calcitonin secretion in the rat. *Endocrinology*, 94: 1176-1180, 1970.
388. Peoples, J.B. The role of pH in altering serum ionised calcium concentration. *Surgery*, 104: 370-374, 1988.
389. Pierides, A.M.; Edwards, W.G.Jr.; Cullu, U.S.Jr.; McCall, J.T. and Ellis, H.A. Hemodialysis encephalopathy with ostomalacic fractures and muscle weakness. *Kidney Int.*, 18:115-124, 1980.
390. Pietrobon, D.; Di Virgilio, F. and Pozzan, T. Structural and functional aspects of calcium homeostasis in eukaryotic cell. *Eur. J. Biochem.*, 120: 599-622, 1990.
391. Pike, J.W.; Kesterson, R.A.; Scott, R.A.; Kerner, S.A.; McDonnell, D.P. and O'Malley, B.W. Vitamin D<sub>3</sub> receptors: molecular structure of the protein and its chromosomal gene. In: Norman, A.W.; Shaefer, K.; Grigoleit, H.-G. and Herrath, D.V., eds. *Vitamin D molecular, cellular and clinical endocrinology*, 215-224. Walter de Gruyter & Co., Berlin-New York, 1988.
392. Pillai, S. and Zull, J.E. Production of biologically active fragments of parathyroid hormone by isolated Kupffer cells. *J. Biol. Chem.*, 261: 14919-14923, 1986.

393. Pischl, R.L.; Toll, P.W.; Leith, D.E.; Peterson, L.J. and Fedde, M.R. Acid-base changes in the running greyhound: contributing variables. *J. Appl. Physiol.*, 73: 2297-2304, 1992.
394. Platts, M.M.; Goode, G.C. and Hislop, J.S. Composition of the domestic watersupply and the incidence of the fractures and encephalopathy in patients on home dialysis. *Br. Med. J.*, 2: 657-660, 1977.
395. Pocotte, S.L.; Ehrenstein, G. and Fitzpatrick, L.A. Regulation of parathyroid hormone secretion. *Endocr. Rev.*, 12: 219-301, 1991.
396. Portale, A.A.; Booth, B.E.; Halloran, B.P. and Morris, R.C. Effects of dietary phosphorus on circulating concentrations of 1,25 (OH)<sub>2</sub> cholecalciferol and immunoreactive parathyroid hormone in children with moderate renal insufficiency. *J. Clin. Invest.*, 73: 1580-1589, 1984.
397. Potts, J.T.Jr.; Tregear, G.W. and Keutmann, H.T. Synthesis of a biologically active N-terminal tetratriacontapeptide of parathyroid hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 68: 63-67, 1971.
398. Potts, J.T.Jr.; Kronenberg, H.M.; Rosenblatt, M. Parathyroid hormone: chemistry, biosynthesis, and mode of action. *Adv. Protein Chem.*, 35: 323-96, 1982.
399. Potts, J.T.Jr.; Bringhurst, F.R.; Gardella, T.; Nussbaum, S.; Segre, G.V. and Kronenberg, H. Parathyroid hormone: physiology, chemistry, biosynthesis, secretion, metabolism, and mode of action. In: DeGroot, L.J., ed. *Endocrinology*, 3rd ed., 920-966. W.B. Saunders Company. Philadelphia, 1995.
400. dePrecigout, V.; Combe, C.; Blanchetier, V.; Larroumet, N.; Pommereau, A.; Potaux, L. and Aparicio, M. Correction of chronic metabolic acidosis in haemodialysed patients by acetate-free biofiltration does not influence parathyroid function. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 10: 821-824, 1995.
401. Prencipe, L. and Brenna, S., eds. *El equilibrio ácido-básico aspectos teóricos y prácticos*. Izasa, S.A., 1980.
402. Pronicka, E.; Kulcycki, J.; Rowinska, E. and Wlodzimierz, K. Abolished phosphaturic response to parathormone in adult patients with Fhar disease and its restoration after propranolol administration. *J. Neurol.*, 235: 185-187, 1988.
403. Puschett, J.B. and Zurbach, P. Acute effects of parathyroid hormone on proximal bicarbonate transport in the dog. *Kidney Int.*, 9: 501-510, 1976.

404. Quarles, L.D.; Yohay, D.A.; Carroll, B.A.; Spritzer, C.E.; Minda, S.A.; Bartholomay, D. and Lobaugh, B.A. Prospective trial of pulse oral versus intravenous calcitriol treatment of hyperparathyroidism in ESRD. *Kidney Int.*, 45: 1710-1721, 1994.
405. Quinn, S.J.; Kifor, O.; Trivedi, S.; Díaz, R.; Vassilev, P. and Brown, E. Sodium and ionic strength sensing by the calcium receptor. *J. Biol. Chem.*, 273: 19579-19586, 1998.
406. Raisz, L.G.; Trummel, C.L.; Holick, L.E. and De Luca, H.F. 1,25(OH)<sub>2</sub>D: a potent stimulator fo bone reabsortion in tissue culture. *Science*, 175: 768-769, 1972.
407. Ramberg, C.F.Jr.; Mayer, G.P. and Kronfeld, D.S. Plasma calcium and parathyroid hormone response to EDTA infusion in the cow. *Am. J. Physiol.*, 213: 878-883, 1967.
408. Rasmussen, H. and Craig, L.C. The parathyroid polypeptide. *Rec. Prog. Horm. Res.*, 18: 269-274, 1962.
409. Rasmussen, H. Calcium messenger systems. *N. Engl. J. Med.*, 314: 1089-1107, 1986.
410. Reddy, G.S.; Jones, G.; Kooh, S.W. and Fraser, D. Inhibition of 25 hydroxyvitamin D<sub>3</sub> 1-hydroxylase by chronic metabolic acidosis. *Am. J. Physiol.*, 243: E265-E271, 1982.
411. Reeves, R.B. An imidazole alphastat hypothesis for vertebrate acid-base regulation: tissue carbon dioxide content an body temperature in bullfrogs. *Respir. Physiol.*, 14: 219-236, 1972.
412. Reiss, E.; Canterbury, M.J.; Bercovitz, M.A. and Kaplan, E.L. The role of phosphate in the secretion of parathyroid hormone in man. *J. Clin. Invest.*, 49: 2146-2149, 1970.
413. Richards, P.; Chamberland, M.J., and Wrong, O.M. Treatment of osteomalacia of renal tubular acidosis by sodium bicarbonate alone. *Lancet*, 2: 994-997, 1972.
414. Ritter, C.; Finch, J.; Slatopolsky, E. and Brown, A.J. The decrease in the calcium receptor in parathyroid glands of uremic rats is an early event in the development of secondary hyperparathyroidism. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 55: 1284-1292, 1999.
415. Ro, H-K.; Tembe, V.; Krug, T.; Yang, P-Y.; Bushinsky, D.A. and Favus, M.J. Acidosis inhibits 1,25 (OH) D<sub>3</sub> but not cAMP production in response to parathyroid hormone in the rat. *J. Bone. Miner. Res.*, 5: 273-278, 1990.
416. Rodman, J.S. and Heinemann, H.O. Parathyroid hormone and the regulation of acid-base balance. *Am. J. Med. Sci.*, 270: 481-489, 1975.

417. Rodríguez, M.; Felsenfeld, A.J.; Williams, C.; Pederson, J.A. and Llach, F. The effect of long term intravenous calcitriol administration on parathyroid function in hemodialysis patients. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2: 1014-1020, 1991.
418. Rodríguez, M.; Martín-Malo, A.; Martínez, M.E.; Torres, A.; Felsenfeld, A.J. and Llach, F. Calcemic response to parathyroid hormone in renal failure: role of phosphorus and its effects on calcitriol. *Kidney Int.*, 40: 1055-1062, 1991.
419. Roos, B.A.; Lindall, A.W. and Aron, D.C. Detection and characterization of small midregion parathyroid hormone fragment(s) in normal and hyperparathyroid glands and sera by immunoextraction and region- specific radioimmunoassays. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 53: 709-721, 1981.
420. Rorsman, P.; Eliasson, L.; Renstrom, E.; Gromadea, J.; Barg, S. and Gopel, S. The cell physiology of biphasic insulin secretion. *News Physiol. Sci.*, 15:72-77, 2000.
421. Rose, B.D., ed. *Clinical Physiology of acid-base and electrolyte disorders*. 4rd. ed. McGraw-Hill Inc. New York, 1994.
422. Rosenblatt, M.; Callahan, E.N.; Mahaffey, J.E.; Pont, A. and Potts, J.T. Jr. Parathyroid hormone inhibitors, design, synthesis and biological evaluation of hormone analoges. *J. Biol. Chem.*, 252: 5847-5851, 1977.
423. Rosenblatt, M.; Segre, G.V. and Tyler, G.A. Identification of a receptor-binding region in parathyroid hormone. *Endocrinology*, 107: 545-550, 1980.
424. Rosol, T.J.; Steinmeyer, C.L.; McCauley, L.K.; Grone, A.; DeWille, J.W. and Capen, C.C. Sequences of the cDNAs encoding canine parathyroid hormone-related protein and parathyroid hormone. *Gene*, 160: 241-243, 1995.
425. Ross, T.K.; Prah, J.M. and DeLuca, H.F. Overproduction of rat 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptor in insect cells using the baculovirus expression system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88: 6555-6559, 1991.
426. Rossing, T.H.; Maffeo, N. and Fencl, V. Acid-base effects of altering plasma protein concentration in human blood in vitro. *J. Appl. Physiol.*, 61: 2260-2265, 1986.
427. Rossing, T.H.; Boixeda, D.; Maffeo, N. and Fencl, V. Hyperventilation with hypoproteinemia. *J. Lab. Clin. Med.*, 112: 553-559, 1988.
428. Roth, S.I. and Raisz, L.G. The course and reversibility of the calcium effect on the ultrastructure of the rat parathyroid gland in organ culture. *Lab. Invest.*, 15: 1187-1211, 1966.



429. Roth, S.I.; Au, W. and Kunin, A.S. Effect of dietary deficiency in vitamin D, calcium, and phosphorus on the ultrastructure of the rat parathyroid gland. *Am. J. Pathol.*, 53: 631-638, 1968.
430. Roussanne, M.C.; Gogusev, J.; Hory, B.; Duchambon, P.; Souberbielle, J.C.; Nabarra, B., Pierrat, D.; Sarfati, E.; Druke, T. and Bourdeau, A. Persistence of Ca<sup>2+</sup>-sensing receptor expression in functionally active, long-term human parathyroid cell cultures. *J. Bone Miner. Res.*, 13: 354-362, 1998.
431. Rude, R.K. Parathyroid function in magnesium deficiency. In: Bilezikian, J.P.; Marcus, R. and Levine, M.A., eds. *The parathyroids: basic and clinical concepts*, 829-842. Raven Press. New York, 1994.
432. Rude, R.K. Magnesium deficiency: A cause of heterogeneous disease in humans. *J. Bone Miner. Res.*, 13: 749-758, 1998.
433. Russell, C.D.; Illickal, M.M.; Malloney, J.V.; Roehrer, H.D. and DeLand, E.C. Acute responses to acid-base stress in the dog. *Am. J. Physiol.*, 223: 689-694, 1972.
434. Russell, J.; Lettieri, D. and Sherwood, L.M. Direct regulation by calcium of cytoplasmic messenger ribonucleic acid coding for pre-parathyroid hormone in isolated bovine parathyroid cells. *J. Clin. Invest.*, 72: 1851-1855, 1983.
435. Russell, J.; Lettieri, D. and Sherwood, L.M. Direct suppression by calcium of transcription of the parathyroid hormone gene. *68th Annual Meeting of the Endocrine Society*, 1986.
436. Russell, J. and Sherwood, L.M. Nucleotide sequence of the DNA complementary to avian (chicken) preparathyroid hormone mRNA and the deduced sequence of the hormone precursor. *Mol. Endocrinol.*, 3: 325-331, 1989.
437. Rutherford, W.T.; Bordier, P.; Marie, P.; Hruska, K.; Harter, H.; Greenwalt, A.; Blondin, J.; Maddad, J.; Bricker, N. and Slatopolsky, E. Phosphate control and 25 (OH) Cholecalciferol administration in preventing experimental renal osteodystrophy in the dog. *J. Clin. Invest.*, 60: 332-341, 1977.
438. Sabatini, S. The effect of parathyroid hormone and other metabolic factors on extrarenal acid buffering. *Miner. Electrolyte Metab.*, 20: 53-59, 1994.
439. Sánchez, J.; Aguilera-Tejero, E.; Estepa, J.C.; Almadén, Y.; Rodríguez, M. and Felsenfeld, A.J. A reduced PTH response to hypocalcemia after a short period of hypercalcemia: a study in dogs. *Kidney Int.*, 50: S18-S22, 1996.

440. Sauer, R.T.; Niall, H.D. and Hogan, M.L. The amino acid sequence of porcine parathyroid hormone. *Biochemistry*, 13: 1994-1999, 1974.
441. Schluter, K.D.; Hellstern, H.; Wingender, E. and Mayer, H. The central part of parathyroid hormone stimulates thymidine incorporation of chondrocytes. *J. Biol. Chem.*, 264: 11087-11092, 1989.
442. Schwartz, W.B. and Relman, A.S. Acidosis in renal disease. *N. Engl. J. Med.*, 256: 1184-1186, 1957.
443. Schwartz, W.B.; Hall, P.W.; Hays, R.M. and Relman, A.S. On the mechanism of acidosis in chronic renal disease. *J. Clin. Invest.*, 38: 39-52, 1959.
444. Scott, D.; Loveridge, N.; Abu Damir H.; Buchan, W. and Milne, J. Effects of acute acid loading on parathyroid hormone secretion and on urinary calcium and cAMP excretion in the growing lamb. *Exp. Physiol.*, 78: 157-163, 1993.
445. Segre, G.V.; Habener, J.F.; Powel, D.; Tregear, G.W. and Potts, J.T. Jr. Parathyroid hormone in human plasma. Immunochemical characterization and biological implications. *J. Clin. Invest.*, 51: 3163-3172, 1972.
446. Segre, G.V.; Niall, H.D.; Saver, R.T. and Potts, J.T.Jr. Edman degradation of radiiodinated parathyroid hormone: application to sequence analysis and hormone metabolism in vivo. *Biochemistry*, 16: 2417-2427, 1977.
447. Segre, G.V.; D'Amour, P.; Hultman, A. and Potts, J.T. Jr. Effects of hepatectomy, nephrectomy and nephrectomy/uremia on the metabolism of parathyroid hormone in the rat. *J. Clin. Invest.*, 67: 439-448, 1981.
448. Segre, G.V.; Perkins, A.S.; Witters, L.A. and Potts, J.T. Jr. Metabolism of parathyroid hormone by isolated rat Kupffer cells and hepatocytes. *J. Clin. Invest.*, 67: 449-57, 1981.
449. Setoguti, T.; Takagi, M. and Kato, K. Ultrastructural localization of phosphatases in the rat parathyroid gland. *Arch. Histol. Jap.*, 43: 45-56, 1980.
450. Setoguti, T.; Kato, K. and Inoue, T. Electron microscopic studies on localization of phosphatases in the laying hen parathyroid. *J. Anat.*, 132: 223-233, 1981.
451. Severinghaus, J.W. Widespread sites of brain stem ventilatory chemoreceptors. *J. Appl. Physiol.*, 75: 3-4, 1993.
452. Sherrard, D.J.; Ott, S.M.; Maloney, N.A.; Andress, D.L. and Coburn, J.W. Uremic osteodystrophy: classification, cause and treatment. In: Frame, B. and Potts, J., eds.

- Clinical disorders of bone and mineral metabolism*, 254-259. Excerpta Medica. Amsterdam, 1984.
453. Sherwood, L.M.; Potts, J.T. Jr.; Care, A.D.; Mayer, G.P. and Aurbach, G.D. Evaluation by radioimmunoassay of factors controlling the secretion of parathyroid hormone. *Nature*, 209: 52-55, 1966.
454. Sherwood, L.M.; Mayer, G.P.; Ramberg, C.F. Jr.; Kronfeld, D.S.; Aurbach, G.D. and Potts, J.T. Jr. Regulation of parathyroid hormone secretion: proportional control by calcium, lack of effect of phosphate. *Endocrinology*, 83: 1043-1051, 1968.
455. Sherwood, L.M.; Herman, I. and Bassett, C.A. Parathyroid hormone secretion in vitro: regulation by calcium and magnesium ions. *Nature*, 225: 1056-1057, 1970.
456. Shoback, D.M.; Thatcher, M.J.; Leombruno, R. and Brown, E.M. The relationship between PTH secretion and cytosolic calcium concentration in dispersed bovine parathyroid cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 3113-3117, 1984.
457. Shoback, D.M.; Chen, T.H. Effects of protein kinase C activation on inositol phosphate generation and intracellular  $Ca^{2+}$  mobilization in bovine parathyroid cells. *Endocrinology*, 127: 141-148, 1990.
458. Siggaard-Andersen, O.; Thode, J. and Fogh-Andersen, N. Nomograms for calculating the concentration of ionized calcium of human blood plasma from total calcium, total protein and/or albumin, and pH. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 43, suppl.165: 57-64, 1983.
459. Silver, J.; Russell, J. and Sherwood, L.M. Regulation by vitamin D metabolites of messenger ribonucleic acid for preproparathyroid hormone in isolated bovine parathyroid cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82: 4270-4273, 1985.
460. Silver, J.; Naveh-Many, T.; Mayer, H.; Schmelzer, H.J. and Popovtzer, M.M. Regulation by vitamin D metabolites of parathyroid hormone gene transcription in vivo in the rat. *J. Clin. Invest.*, 78: 1296-1301, 1986.
461. Silver, J.; Sela, S.B. and Naveh-Many, T. Regulation of parathyroid cell proliferation. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 6: 321-326, 1997.
462. Silverman, R. and Yalow, R.S. Heterogeneity of parathyroid hormone. Clinical and physiologic implications. *J. Clin. Invest.*, 52: 1958-1971, 1973.
463. Singer, F.R.; Segre, G.V. and Habener, J.F. Peripheral metabolism of bovine parathyroid hormone in the dog. *Metabolism*, 24: 139-144, 1975.

464. Slatopolsky, E.; Caglar, S.; Pennell, J.P.; Taggart, D.D.; Canterbury, J.M.; Reiss, E. and Bricker, N.S. On the pathogenesis of hyperparathyroidism in chronic experimental renal insufficiency in the dog. *J. Clin. Invest.*, 50: 492-499, 1971.
465. Slatopolsky, E.; Caglar, S.; Gradowoska, L.; Canterbury, J.; Reiss, E. and Bricker, N.S. On the prevention of secondary hyperparathyroidism in experimental chronic disease using "proportional reduction" of dietary phosphorus intake. *Kidney Int.*, 2: 147-151, 1972.
466. Slatopolsky, E.; Mercado, A.; Morrison, A.; Yates, J. and Klahr, S. Inhibitory effect of hypermagnesemia on the renal action of parathyroid hormone. *J. Clin. Invest.*, 58: 1273-1279, 1976.
467. Slatopolsky, E.; Bervoben, M.; Kelber, J.; Brown, A. and Delmez, J. Effects of calcitriol and non calcemic vit-D analogs on secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int.*, 42, supp 38: 543-549, 1991.
468. Slatopolsky, E.; Finch, J.; Denda, M.; Ritter, C.; Zhong, M.; Denda M.; Dusso A.; MacDonald, P.N. and Brown, A. Dietary phosphorus restriction suppresses pre-pro PTH mRNA independent of 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and ionised calcium in renal failure. (abstract). *J. Am. Soc. Nephrol.*, 5: 889, 1994.
469. Slatopolsky, E.; Finch, J.; Denda, M.; Ritter, C.; Zhong, M.; Dusso, A.; MacDonald, P. and Brown, A. Phosphate restriction prevents parathyroid cell growth in uremic rats and high phosphate directly stimulates PTH secretion in tissue culture. (abstract). *J. Am. Soc. Nephrol.*, 6: 971, 1995.
470. Slatopolsky, E.; Finch, J.; Denda, M.; Ritter, C.; Zhong, M.; Dusso, A.; MacDonald, P.N. and Brown, A.J. Phosphorus restriction prevents parathyroid gland growth. High phosphorus directly stimulates PTH secretion in vitro. *J. Clin. Invest.*, 97: 2534-2540, 1996.
471. Smith, J.B.; Dwyer, S.D. and Smith, L. Lowering extracellular pH evokes inositol polyphosphate formation and calcium mobilization. *J. Biol. Chem.* 264: 8723-8728, 1989.
472. Smith, W.L. and Borgeat, P. The eicosanoids: Prostaglandins, thromboxanes, leukotrienes and hydroxyeicosanoids acids. In: Vance, D.E. and Vance, J.E., eds. *Biochemistry of lipids and membrane*, 325-360. Menlo Park, C.A., 1985.
473. Somerville, P.J. and Kaye, M. Resistance to parathyroid hormone in renal failure: role of vitamin D metabolites. *Kidney Int.*, 14: 245-254, 1978.

474. Somerville, P.J. and Kaye, M. Evidence that resistance to the calcemic action of parathyroid hormone in rats with acute uremia is caused by phosphate retention. *Kidney Int.*, 16: 552-560, 1979.
475. Speake, T.; Yodozawa, S. and Elliott, A.C. Modulation of calcium signalling by intracellular pH in exocrine acinar cells. *Eur. J. Morphol.*, 36: Sup165-169, 1998.
476. Spiegel, A.M.; Gierschik, P.; Levine, M.A. and Downs, R.W.Jr. Clinical implications of guanine nucleotide-binding proteins as receptor-effector couplers. *N. Engl. J. Med.*, 312: 26-33, 1985.
477. Sprague, S.M. and Bushinsky, D.A. Mechanism of aluminium-induced calcium efflux from cultured neonatal mouse calvariae. *Am. J. Physiol.*, 258: F583-F588, 1990.
478. Sprague, S.M.; Krieger, N.S. and Bushinsky, D.A. Aluminium inhibits bone nodule formation and calcification in vitro. *Am. J. Physiol.*, 264: F882-F890, 1993.
479. Sprague, S.M.; Krieger, N.S. and Bushinsky, D.A. Greater inhibition of in vitro mineralization with metabolic than respiratory acidosis. *Kidney Int.*, 46: 1199-1206, 1994.
480. Steward, P.A. Modern quantitative acid-base chemistry. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 61: 1444-1461, 1983.
481. Stewart, A.F. and Broadus, A.E. Mineral metabolism. In: Felig, P.; Baxter, J.D.; Broadus, A.F. and Frohman, L.A., eds. *Endocrinology and metabolism*, 2nd ed., 1317-1453. McGraw Hill. New York, 1987.
482. Stim, J.A.; Bernardo, A.A. and Arruda, J.A.L. The role of parathyroid hormone and vitamin D in acid excretion and extrarenal buffer mobilization. *Miner. Electrolyte Metab.*, 20: 60-71, 1994.
483. Sugimoto, T.; Ritter, C.; Morrisey, J.; Hayes, C. and Slatopolsky, E. Effects of high concentrations of glucose on PTH secretion in parathyroid cells. *Kidney Int.*, 37:1522-1527, 1990.
484. Sun, F.; Ritchie, C.K.; Hassager, C.; Maercklein, P. and Fitzpatrick, L.A. Heterogeneous response to calcium by individual parathyroid cells. *J. Clin. Invest.*, 91: 595-601, 1993.
485. Sun, F.; Maercklein, P. and Fitzpatrick, L.A. Paracrine interactions among parathyroid cells. Effect of cell density on cell secretion. *J. Bone Miner. Res.*, 9: 971-976, 1994.

486. Sutton, R.A.L.; Wong, N.L.M. and Dirks, J.H. Effects of metabolic acidosis and alkalosis on sodium and calcium transport in the dog kidney. *Kidney Int.*, 15: 520-533, 1979.
487. Swan, R.C. and Pitts, R.F. Neutralization of infused acid by nephrectomized dogs. *J. Clin. Invest.*, 34: 205-212, 1955.
488. Szabo, A.; Merke, J.; Beier, E.; Mall, G. and Ritz, E. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> inhibits parathyroid cell proliferation in experimental uremia. *Kidney Int.*, 35: 1049-1056, 1989.
489. Tallon, S.; Berdud, I.; Hernández, A.; Concepción, M.T.; Almadén, Y.; Torres, A.; Martín-Malo, A.; Felsenfeld, A.J.; Aljama, P. and Rodríguez, M. The relative effects of PTH and dietary phosphorus on calcitriol production in normal and azotemic rats. *Kidney Int.*, 49: 1441-1446, 1996.
490. Tanaka, Y. and DeLuca, H.F. The control of 25 (OH) cholecalciferol metabolism by inorganic phosphorus. *Arch. Biochem. Biophys.*, 154: 566-574, 1973.
491. Tatsumi, S.; Segawa, H.; Morita, K.; Haga, H.; Kouda, T.; Yamamoto, H.; Inoue, Y.; Nii, T.; Katai, K.; Taketani, Y.; Miyamoto, K. and Takeda, E. Molecular cloning and hormonal regulation of PiT-1, a sodium dependent phosphate cotransporter from rat parathyroid glands. *Endocrinology*, 139: 1692-1699, 1998.
492. Thode, J.; Fogh-Andersen, N.; Wimberley, P.D.; Moller-Sorensen, A. and Siggard-Andersen, O. Relation between pH and ionised calcium in vitro and in vivo in man. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 43, suppl. 165: 79-82, 1983.
493. Torrance, A.G. and Nachreiner, R. Intact parathyroid hormone assay and total calcium concentration in the diagnosis of disorders of calcium metabolism in dogs. *J. Vet. Int. Med.*, 3: 86-89, 1989.
494. Torrance, A.G. and Nachreiner, R. Human-parathormone assay for use in dogs: validation, sample handling studies, and parathyroid function testing. *Am. J. Vet. Res.*, 50: 1123-1127, 1989.
495. Treagear, G.W.; Van Rietschoten, J. and Greene, E. Bovine parathyroid hormone: minimum chain length of synthetic peptide required for biological activity. *Endocrinology*, 93: 1349-1353, 1973.
496. Tsuchiya, T. and Tamate, H. Ultrastructural localization of alkaline phosphatase activity in sheep parathyroid gland. *Histochemistry*, 65: 321-323, 1980.
497. Tsunoda, Y. Cytosolic free calcium spiking affected by intracellular pH change. *Exp. Cell. Res.*, 188: 294-301, 1990.

498. Vaes, G. Cellular biology and biochemical mechanism of bone resorption. A review of recent developments on the formation, activation, and mode of action of osteoclasts. *Clin. Orthop. Rel. Res.*, 231: 239-271, 1988.
499. Vasicek, T.J.; McDevitt, B.E.; Freeman, M.W.; Fennick, B.J.; Hendy, G.N.; Potts, J.T. Jr.; Rich, A. and Kronenberg, H.M. Nucleotide sequence of the human parathyroid hormone gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80: 2127-2131, 1983.
500. Vicenti, L.; Hattner, R.; Amend, W.J.C.Jr.; Feduska, N.J.; Duca, R.M. and Salvatierra, O.Jr. Decreased secondary hyperparathyroidism in diabetic patients receiving hemodialysis. *J.A.M.A.*, 245: 930-933, 1981.
501. Vicenti, L.; Arnaud, S.B.; Recker, R.; Genant, H.; Amend, W.J.C.Jr.; Feduska, N.J. and Salvatierra, O.Jr. Parathyroid and bone response of the diabetic patients to uremia. *Kidney Int.* 25: 677-682, 1984.
502. Wachman, A. and Berstein, D.S. Parathyroid hormone in metabolic acidosis: its role in pH homeostasis. *Clin. Orthop. Rel. Res.*, 69: 252-263, 1970.
503. Wahl, M. and Carpenter, G. Regulation of epidermal growth factor-stimulated formation of inositol phosphates in A-431 cells by calcium and protein kinase C. *J. Biol. Chem.*, 263: 7581-7590, 1988.
504. Wallfelt, C.; Lindh, E.; Larsson, R.; Johansson, H.; Rastad, J.; Akerstrom, G. and Gylfe, E. Kinetic evidence for cytoplasmic calcium as an inhibitory messenger in parathyroid hormone release. *Biochem. Biophys. Acta*, 969: 257-262, 1988.
505. Wang, F.; Butler, T.; Rabbani, G.H. and Jones, P.K. The acidosis of cholera. Contributions of hyperproteinemia, lactic acidemia and hyperphosphatemia to an increased serum anion gap. *N. Engl. J. Med.*, 315: 1591-1595, 1986.
506. Wang, Q.; Palnitkar, S. and Parfitt, A.M. Parathyroid cell proliferation in the rat: Effect of age and phosphate administration and recovery. *Endocrinology*, 137: 4558-4562, 1996.
507. Watchko, J.; Bifano, E.M. and Bergstrom, W.H. Effect of hyperventilation on total calcium, ionized calcium, and serum phosphorus in neonates. *Crit. Care Med.*, 12: 1055-1056, 1984.
508. Webb, R.K.; Woodhall, P.B.; Tisher, C.C.; Glaubiger, G.; Neelon, F.A and Robinson, R.R. Relationship between phosphaturia and acute hypercapnia in the rat. *J. Clin. Invest.*, 60: 829-837, 1977.

509. Weber, H.P.; Gray, R.W.; Domínguez, J.H. and Lemann, J. The lack of effect of chronic metabolic acidosis on 25 (OH) vitamin D metabolism and serum parathyroid hormone in humans. *J. Clin. Endocrinol. and Metab.*, 43: 1047-1055, 1976.
510. Weinreich, T. Prevention of renal osteodystrophy in peritoneal dialysis. *Kidney Int.*, 54: 2226-2233, 1998.
511. West, J.B., ed. *Respiratory physiology: the essentials*. Williams & Williams. Baltimore, 1990.
512. Widdowson, E.M.; McCance, R.A. and Spray, C.M. The chemical composition of the human body. *Clin. Sci.*, 10: 113-125, 1951.
513. Widdowson, E.M. and Dickerson, J.W.T: Chemical composition of the body. In: Comar, C.L. and Bronner, F., eds. *Mineral metabolism*, 1-247. Academic Press. New York, 1964.
514. Wild, P.; Birterli, D. and Becker, M. Quantitative changes of membranes in rat parathyroid cells related to variations of serum calcium. *Lab. Invest.*, 47: 370-374, 1982.
515. Wild, P.; Schraner, E.M. and Eggenberger, E. Quantitative aspects of membrane shifts in rat parathyroid cells initiated by decrease in serum calcium. *Biol. Cell.*, 50: 263-272, 1984.
516. Wild, P.; Gloor, S. and Vetsch, E. Quantitative aspects of membrane behavior in rat parathyroid cells after depression or elevation of serum calcium. *Lab. Invest.*, 52: 490-496, 1985.
517. Wild, P. and Schraner, E.M. Parathyroid cell polarity as revealed by cytochemical localization of ATPases, alkaline phosphatase and 5'-nucleotidase. *Histochemistry*, 94: 409-414, 1990.
518. Wild, P. and Setoguti, T. Mammalian parathyroids: morphological and functional implications. *Microscopy Res. and Tech.*, 32: 120-128, 1995.
519. Willard, M.D.; Tweden, H. and Turnwald, G.H., eds. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. 2<sup>d</sup> ed., W.B. Saunders. Philadelphia, 1994.
520. Williams, A.J.; Dittmer, I.D.; McArley, A. and Clarke, J. High bicarbonate dialysate in haemodialysis patients: effects on acidosis and nutritional status. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 12: 2633-2637, 1997.



521. Wills, M.R. Fundamental physiological role of parathyroid hormone in acid-base homeostasis. *Lancet, ii*: 802- 804, 1970.
522. Wilson, L.; Felsenfeld, A.; Drezner, M.K. and Llach, F. Altered divalent ion metabolism in early renal failure: role of 1,25 (OH)<sub>2</sub> cholecalciferol. *Kidney Int.*, 17: 565-573, 1985.
523. Yamamoto, M.; Igarashi, T.; Muramatsu, M.; Fukagawa, M.; Motokura, T. and Ogata, E. Hypocalcemia increases and hypercalcemia decreases the steady-state level of parathyroid hormone messenger RNA in the rat. *J. Clin. Invest.*, 83: 1053-1056, 1989.
524. Yi, H.; Fukagawa, M.; Yamato, H.; Kumagai, M.; Watanabe, T. and Kurokawa, K. Prevention of enhanced parathyroid hormone secretion, synthesis and hyperplasia by mild dietary phosphorus restriction in early chronic renal failure in rats: possible direct role of phosphorus. *Nephron*, 70: 242-248, 1995.
525. Zaladek-Gil, F.; Costa-Silva, V.L. and Malnic, G. Effects of parathyroid hormone on urinary acidification in the rat. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 24: 1063-1066, 1991.
526. Zaloga, G.P. and Chernow, B. The multifactorial basis for hypocalcemia during sepsis. Studies of the parathyroid hormone-vitamin D axis. *Ann. Intern. Med.*, 107:36-41, 1987.
527. Zivin, J.R.; Gooley, T.; Zager, R.A. and Ryan, M.J. Hypocalcemia: a pervasive metabolic abnormality in the critically ill. *Am. J. Kidney Dis.*, 37: 689-698, 2001.
528. Zull, J.E. and Lev, N.B. A theoretical study of the structure of parathyroid hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 77: 3791-3795, 1980.