

Solubilidad de seis gases en sangre y en diversos medios líquidos

R. Guitart

Departamento de Farmacología y Toxicología
Facultad de Veterinaria
Universitat Autònoma de Barcelona
08193 Bellaterra (España)

(Recibido el 2 de junio de 1992)

R. GUITART. *Solubility of six gases in blood and in several liquid media*. Rev. esp. Fisiol., 49 (3), 195-202, 1993.

Sulfur hexafluoride, ethane, cyclopropane, enflurane, diethyl ether and acetone are six gases commonly used in the measurement of the distribution of ventilation-perfusion ratios. In order to obtain reference data, their liquid/gas partition coefficients (K) have been determined in water at three different temperatures and in several inorganic, organic and biologic media at 37 °C, by a headspace-gas chromatographic method. As expected, an increase in temperature and concentration of solutes in the liquid matrix reduces the solubility of the gases. All gases, except acetone, are more soluble in olive oil than in water. The solubility of SF₆, ethane, cyclopropane and enflurane in human and rat blood is greater than in water, the solubility of ether remains practically unchanged, and that of acetone is lower in blood than in water.

Key words: Static headspace analysis, Gas chromatography, Liquid/gas partition coefficients.

Es conocida la importancia del coeficiente de partición (K) sangre/gas y tejido/tejido en los procesos de absorción, distribución y excreción de sustancias inorgánicas y orgánicas gaseosas en los organismos animales (5, 14). Existen diversos métodos para el cálculo de K (10, 16, 22, 24, 25), y algunos de ellos se han aplicado para obtener valores de referencia de la solubilidad en sangre y en otros líquidos de ciertos compuestos gaseosos o volátiles de interés en toxicología, anestesiología o fisiología (7, 10, 16, 18, 30).

El objetivo fundamental del presente trabajo es la cuantificación de la variación de K de diferentes gases frente a condiciones cambiantes, gases seleccionados por su amplio margen de solubilidad en medio acuoso (10, 13, 26) y también porque su K en algunos medios, como sangre, plasma y solución glucosada, han sido previamente determinados. También se han seleccionado por tratarse de los gases empleados corrientemente en la cuantificación del cociente ventilación/perfusión pulmonar por la llamada técnica de eli-

minación de los gases inertes múltiples (21, 25, 26), utilizada en estudios de fisiopatología pulmonar experimental (21, 23) y clínica (1, 2).

Material y Métodos

Los seis productos estudiados han sido el hexafluoruro de azufre (SF_6), etano, ciclopropano, enflurano (2-cloro-1-(difluorometoxi)-1,1,2-trifluoroetano, Ethrane®), éter dietílico y acetona. Todos eran de calidad cromatográfica o médica, con una pureza igual o superior al 99 %.

Todas las muestras líquidas (o sólido-líquidas) utilizadas como matrices disolventes fueron valoradas previamente para asegurar la inexistencia de gases interferentes en las determinaciones (9, 21). Las muestras de sangre venosa fresca se obtuvieron de 13 varones voluntarios y de 17 ratas Wistar macho. La heparina (Upjohn), analizada y libre de acetona (19), se utilizó concentrada (10.000 U/ml) o diluida (1.000 U/ml) en solución salina isotónica como anticoagulante sanguíneo. El plasma de rata se obtuvo por centrifugación. La orina humana procedía de 6 voluntarios sanos que no habían tomado alcohol en las últimas 24 horas.

Los aspectos metodológicos para el cálculo de K, por la técnica del análisis del espacio en cabeza del tipo estático a presión constante, se han descrito con detalle en una publicación anterior (10). Brevemente, 3 ml de cada uno de los productos, a concentración conocida en N_2 , se equilibraban con 1 ml de la matriz líquida en

estudio durante 30 minutos en un baño de agua termostatzado y con agitación continua. Al efecto se utilizaban jeringas de vidrio especiales (Becton Dickinson, Rutherford, NJ, USA), de 10 ml, acopladas a llaves de tres vías (B. Braun, Melsungen, Alemania). Tras la recuperación y el análisis del espacio en cabeza, la fase líquida se reequilibraba, esta vez con 3 ml de N_2 puro, tras lo cual el espacio en cabeza se recuperaba y analizaba nuevamente. Las determinaciones analíticas se llevaron a cabo en un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard modelo 5880A modificado, equipado con un inyector doble con bucle de volumen constante, y columnas Porapak T y Q acopladas a detectores de ionización de llama (FID) y de captura de electrones (ECD), en condiciones previamente descritas (9, 10). El cociente de concentración del espacio en cabeza antes y después de la primera equilibración contiene la información necesaria para el cálculo de K de gases solubles ($K > 3$), mientras que una comparación similar entre las concentraciones de la primera y segunda equilibración resulta suficiente para el cálculo de K para los gases de solubilidad intermedia o baja ($K < 3$).

El análisis numérico se llevó a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS/PC+. Los resultados se expresan en términos de media aritmética y desviación estándar.

Resultados

La tabla I muestra los coeficientes de partición de los seis gases en agua bides-

Tabla I. Coeficientes de partición de los seis gases estudiados, en agua destilada a distintas temperaturas (desviación estándar entre paréntesis; $n = 8$).

Temperatura	SF_6	Etano	Ciclopropano	Enflurano	Eter dietílico	Acetona
30 °C	0,0041 (0,0003)	0,0378 (0,0021)	0,240 (0,013)	0,922 (0,052)	22,6 (1,6)	317 (66)
45 °C	0,0034 (0,0003)	0,0309 (0,0010)	0,184 (0,005)	0,570 (0,023)	11,2 (0,4)	254 (54)

Tabla II. *Coefficientes de partición de los seis gases estudiados en diferentes medios líquidos a 37 °C (desviación estándar entre paréntesis).*

SF ₆	Etano	Ciclo- propano	Enflurano	Eter dietílico	Acetona
<i>Solución salina al 0,9 % (n = 8)</i>					
0,0031 (0,0002)	0,0303 (0,0007)	0,190 (0,005)	0,650 (0,023)	15,3 (0,7)	295 (56)
<i>Solución glucosada al 5 % (n = 8)</i>					
0,0032 (0,0003)	0,0310 (0,0004)	0,190 (0,005)	0,638 (0,030)	14,0 (1,1)	224 (67)
<i>Solución salina heparinizada (n = 8)</i>					
0,0034 (0,0004)	0,0292 (0,0019)	0,188 (0,003)	0,648 (0,020)	15,3 (0,5)	226 (76)
<i>Aceite de oliva (n = 9)</i>					
0,268 (0,023)	1,59 (0,05)	14,1 (0,5)	73,5 (10,8)	51,1 (8,7)	60,7 (11,0)

Tabla III. *Coefficientes de partición de los seis gases estudiados, en diferentes fluidos biológicos a 37 °C (desviación estándar entre paréntesis).*

SF ₆	Etano	Ciclo- propano	Enflurano	Eter dietílico	Acetona
<i>Orina humana (n = 6)</i>					
0,0026 (0,0003)	0,0283 (0,0022)	0,172 (0,008)	0,572 (0,025)	12,9 (0,6)	90,3 (20,3)
<i>Plasma de rata (n = 4)</i>					
0,0039 (0,0004)	0,0360 (0,0009)	0,235 (0,012)	0,989 (0,061)	14,5 (0,6)	159 (42)
<i>Sangre de rata heparinizada* (n = 10)</i>					
0,0072 (0,0006)	0,104 (0,005)	0,707 (0,032)	2,47 (0,20)	14,0 (1,2)	46,2 (10,5)
<i>Sangre de rata (n = 3)</i>					
0,0076 (0,0008)	0,109 (0,079)	0,765 (0,069)	2,81 (0,42)	14,1 (1,3)	38,0 (8,7)
<i>Sangre humana heparinizada (n = 10)</i>					
0,0050 (0,0002)	0,0617 (0,0038)	0,383 (0,032)	1,31 (0,10)	13,3 (0,9)	63,2 (19,8)
<i>Sangre humana (n = 3)</i>					
0,0051 (0,0007)	0,0692 (0,0025)	0,433 (0,009)	1,40 (0,08)	13,4 (1,7)	47,6 (24,1)

* «Sangre heparinizada» corresponde aproximadamente a 1 ml de sangre y a 0,23 ml de solución salina heparinizada (1.000 U/ml), mientras que «sangre» corresponde a sangre más una cantidad inferior al 1 % (v/v) de heparina concentrada (10.000 U/ml).

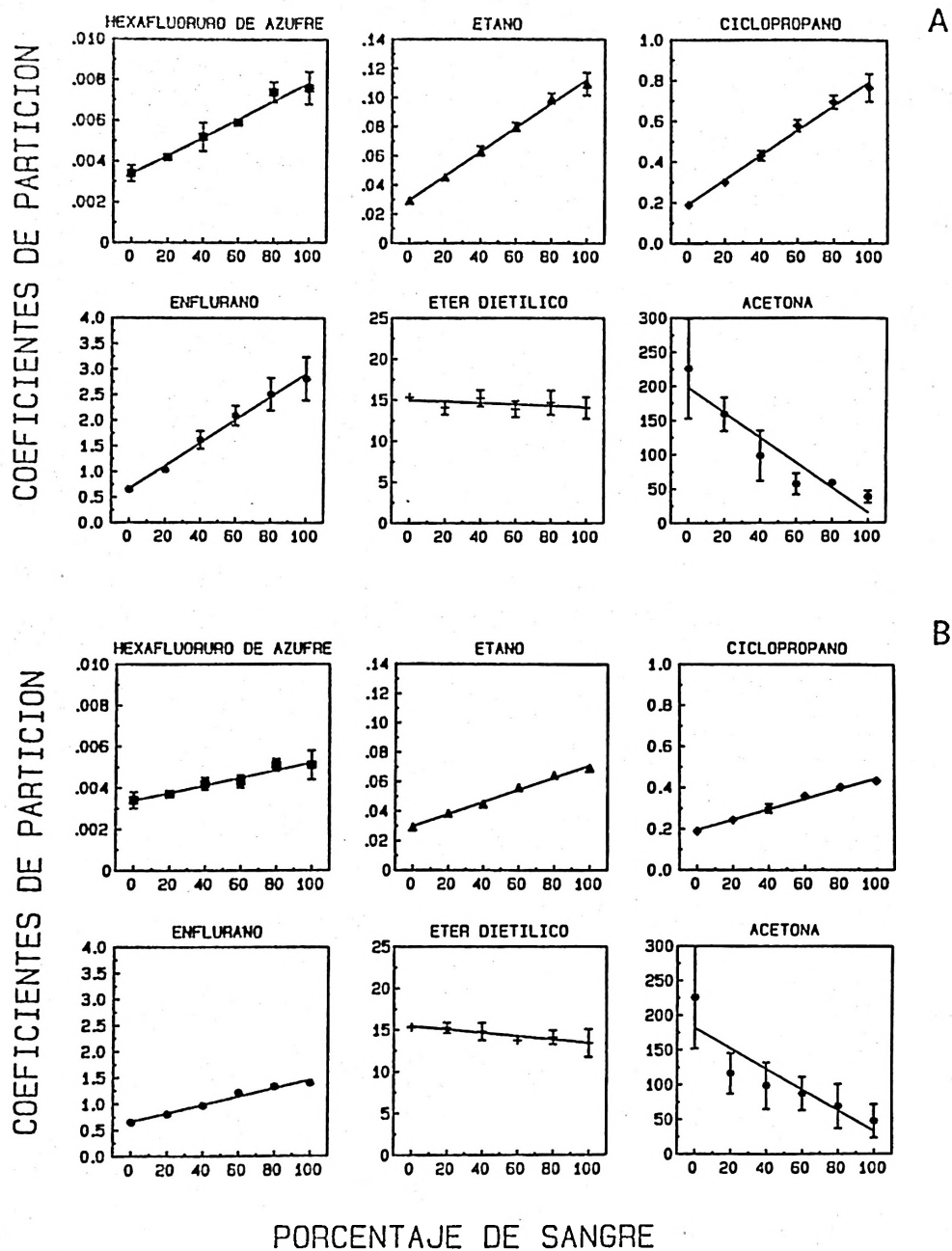


Fig. 1. Coeficientes de partición (a 37 °C) de los seis gases estudiados en función de la concentración de sangre de rata (A) y sangre humana (B) (agente diluyente: solución salina heparinizada). Cada punto es el valor medio de $n = 3$ determinaciones, se muestran también la desviación estándar y las líneas de regresión.

Tabla IV. Principales parámetros de las líneas de regresión trazadas entre los valores de solubilidad y las diferentes proporciones de sangre de rata y humana diluidas con solución salina heparinizada (1.000 U/ml).

	Correlación (r)	Pendiente	Interceptación
<i>Sangre de rata</i>			
SF ₆	0,89	$4,49 \times 10^{-5}$	$3,36 \times 10^{-3}$
Etano	0,99	$8,24 \times 10^{-4}$	$2,98 \times 10^{-2}$
Ciclopropano	0,98	$5,99 \times 10^{-3}$	$1,93 \times 10^{-1}$
Enflurano	0,95	$2,24 \times 10^{-2}$	$6,69 \times 10^{-1}$
Eter dietílico	-0,17	$-5,60 \times 10^{-3}$	$1,48 \times 10^1$
Acetona*	-0,88	$-1,62 \times 10^0$	$1,82 \times 10^2$
<i>Sangre humana</i>			
SF ₆	0,86	$1,84 \times 10^{-5}$	$3,38 \times 10^{-3}$
Etano	0,99	$4,09 \times 10^{-4}$	$3,01 \times 10^{-2}$
Ciclopropano	0,98	$2,47 \times 10^{-3}$	$1,98 \times 10^{-1}$
Enflurano	0,97	$7,90 \times 10^{-3}$	$6,66 \times 10^{-1}$
Eter dietílico	-0,61	$-2,10 \times 10^{-2}$	$1,55 \times 10^1$
Acetona*	-0,77	$-1,17 \times 10^0$	$1,58 \times 10^2$

* Se obtiene un mejor ajuste con una ecuación exponencial que con una recta.

tilada a dos diferentes temperaturas: 30 y 45 °C. Los valores de K por encima de 300, como el caso de la acetona a 30 °C, están probablemente infravalorados (ver Discusión).

Las tablas II y III muestran los valores de K obtenidos en algunos medios y en diversos fluidos biológicos, respectivamente, todos ellos a 37 °C. Resulta claro que la composición de la matriz líquida juega un papel preponderante en la solubilidad de estos gases, como puede observarse al comparar los valores obtenidos en sangre ligeramente diluida (dilución inferior al 1 %) o fuertemente diluida (18,7 %) con heparina.

Este efecto se observa con más detalle, sobre un mayor margen de proporciones sangre/heparina (1.000 U/ml en solución salina isotónica), en la figura 1 donde los valores de K se representan individualmente para cada gas frente a la proporción sangre/solución salina heparinizada: 0/100, 20/80, 40/60, 60/40, 80/20 y 100/0. De esta manera, se observa una correlación lineal entre K y la proporción sangre/solución salina heparinizada para todos los gases, excepto para el éter dietílico

en sangre de rata, único en que la correlación de Pearson es inferior a 0,5. Los resultados de los parámetros de ajuste de la regresión lineal se muestran en la tabla IV. La acetona, sin embargo, se ajusta mejor con una exponencial negativa según las ecuaciones siguientes:

$$y = 214,2 e^{-(0,0244 x)} + 19,4$$

para sangre de rata;

$$y = 156,2 e^{-(0,0397 x)} + 59,0$$

para sangre humana.

Discusión

El efecto de la temperatura y de la presencia de solutos en la matriz líquida sobre K es bien conocido. No obstante, debe remarcarse la actuación de los seis gases utilizados frente a tales cambios. Los datos obtenidos para el ciclopropano y el éter a diferentes temperaturas concuerdan con los publicados por LOWE y HAGLER (16), con gases anestésicos y, aunque ni el medio líquido ni la temperatura son exactamente los mismos, nuestros resultados también son similares a los obtenidos por

WAGNER *et al.* (25) en solución glucosada al 5 %.

El cambio más drástico en la solubilidad se produce al variar significativamente la polaridad del medio de disolución, como al pasar de agua a aceite de oliva. En este caso, los gases más afectados son los cuatro más insolubles en medio acuoso. Debe señalarse que la acetona es la única que reduce su solubilidad al pasar de agua al medio lipídico (22), efecto característico de un compuesto polar que puede considerarse como una excepción al que presentan la gran mayoría de gases orgánicos o inorgánicos, generalmente más solubles en aceite o grasa que en agua (7, 16, 18, 22).

La sangre, desde el punto de vista fisi-químico, es un medio heterogéneo constituido por una fase líquida y otra sólida, en la que coexisten compuestos polares y apolares. Podría esperarse que, en términos de K, cada uno de los gases respondiera de una manera particular con la sangre, dada su compleja composición. Así, puesto que el incremento de la solubilidad debido a la presencia de lípidos es más marcada para el SF₆, etano, ciclopropano y enflurano que el descenso debido a la presencia de solutos electrolíticos o no electrolíticos en el medio, sus solubilidades respectivas debería esperarse que fueran superiores en sangre que en agua, lo cual se confirma experimentalmente. Para el éter dietílico el efecto final parece menos predecible, pero en la práctica se demuestra que su solubilidad es superior en agua ($K = 16,4 \pm 0,9$) (10) que en sangre, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Finalmente, actuando todos los factores modificantes del medio acuoso puro de manera que reducen significativamente la solubilidad de la acetona ($p < 0,05$ entre K a 37 °C de acetona en agua, que es de 308 ± 56 (10), y el resto de matrices estudiadas, excepto para la solución salina isotónica con la que no existen diferencias significativas), los resultados indicativos de un descenso marcado de su K en sangre parecen ser, inicialmente, lógicos.

Una confirmación de estas observaciones se muestra gráficamente en la figura 1. La pendiente de la recta es claramente positiva para SF₆, etano, ciclopropano y enflurano, siendo más pronunciadas en sangre de rata que en sangre humana (tabla IV). La pendiente de la recta para el éter dietílico en sangre de rata es prácticamente horizontal ($p > 0,05$), mientras que es débilmente negativa en sangre humana, lo que coincide con la distribución del éter entre glóbulos rojos y plasma (15). La solubilidad de la acetona decrece a medida que la concentración de sangre aumenta, aunque el significado de un mejor ajuste con una función exponencial no resulta claro. Las pendientes positivas y negativas obtenidas concuerdan con los datos publicados para los mismos seis gases en sangre humana y de perro a diferentes valores de hematocrito (29). De estos resultados puede inferirse que debe tenerse muy en cuenta el uso de ciertos productos conservantes y/o anticoagulantes en sangre cuando se pretenda emplearla como material de referencia (22).

Las diferencias de solubilidad de algunos gases en muestras de sangre procedentes de diversas especies animales (7, 23, 29), suelen explicarse por las diferencias en la concentración de lípidos. De acuerdo con ello, la solubilidad de todos los gases, excepto la acetona, es superior en sangre de rata que en sangre humana (tabla III) puesto que la primera posee una mayor concentración lipídica. El bajo valor de K para la acetona en sangre, que en nuestro caso es aproximadamente entre 6 y 8 veces inferior a los valores obtenidos por los métodos de WAGNER *et al.* (25) y SATO y NAKAJIMA (22), merece un comentario aparte.

No parece probable que nuestros valores de K para la acetona en sangre puedan ser meramente artefactuales. El método técnico y matemático usado para el cálculo de K para los gases solubles (por ejemplo para muchos gases cuando la matriz es aceite de oliva), dan resultados similares a

los publicados y determinados por otros métodos (7, 16, 18, 22). No obstante, nuestra técnica no es aplicable a gases extremadamente solubles ($K > 300$) (10), aunque en el presente caso no puede ser ésta una explicación válida puesto que K para la acetona en sangre está claramente por debajo de este límite. La posible explicación de que la acetona en sangre pueda perderse por metabolismo, como ha sido descrito para otros compuestos (4, 7), tampoco es válida aquí puesto que de producirse, nuestro método tendería a sobrevalorar K , no a infravalorarlo.

El problema de la medida de valores de K elevados se pone también de manifiesto al comparar los obtenidos por diferentes autores. Así, los valores de K aceite de oliva/aire de SATO y NAKAJIMA (22) son entre 1,2-1,5 veces superiores a los de GARGAS *et al.* (7). Por otra parte, el método de WAGNER *et al.* (25) es problemático para gases muy solubles (9); así la solubilidad de la acetona descende notablemente al pasar de agua a sangre, como indican nuestros datos y los de SATO y NAKAJIMA (22), siendo intermedios los de la solución de glucosa al 5 %; sin embargo, por aplicación del método de WAGNER *et al.* se obtienen valores de K a 37 °C prácticamente idénticos o incluso inferiores en solución glucosada (25) que en sangre humana (3, 9, 13, 25, 27), de perro (30) o de rata (23).

La aplicación de las ecuaciones de GARGAS *et al.* (7), basadas en datos de 55 gases, parece sustentar la validez de una K baja para la acetona (36,9 en sangre de rata y de 18,1 en sangre humana), valores ambos muy próximos a nuestros datos experimentales pero fuertemente infravalorados respecto a los obtenidos con otras técnicas (22, 25). Los problemas de la técnica de WAGNER *et al.* en la determinación de la distribución de la ventilación, puestos de manifiesto por ZWART *et al.* (31), podrían quizás explicarse por estar sobrevalorando la K de la acetona en sangre.

Como conclusión final, además de ha-

ber suministrado datos de referencia de la solubilidad de seis gases en diferentes medios y temperaturas, se cuestiona la validez de una cifra de solubilidad de la acetona en sangre tan elevada como la utilizada hasta ahora para cierto tipo de estudios de fisiopatología respiratoria.

Resumen

Los seis gases empleados habitualmente en la determinación de la distribución de los cocientes ventilación/perfusión pulmonares son: hexafluoruro de azufre, etano, ciclopropano, enflurano, éter dietílico y acetona. Con la intención de obtener valores de referencia, se determinan sus coeficientes de partición líquido/gas (K) en agua a dos diferentes temperaturas (30 y 45 °C) y en distintas matrices inorgánicas, orgánicas y biológicas, a 37 °C, empleando un método de análisis del espacio en cabeza-cromatografía de gases. Un incremento de la temperatura o de la concentración de solutos en la matriz líquida reduce la solubilidad de los gases. Todos los gases, excepto la acetona, son más solubles en aceite de oliva que en agua. La solubilidad del SF_6 , etano, ciclopropano y enflurano en sangre humana y de rata es mayor que en agua, la del éter permanece prácticamente igual, mientras que la de la acetona es inferior en sangre que en agua.

Palabras clave: Análisis del espacio en cabeza estático, Cromatografía de gases, Coeficientes de partición líquido/gas.

Agradecimientos

El autor desea agradecer los comentarios y sugerencias realizados a este manuscrito por el Dr. L. Palacios, cuya colaboración hizo posible el estudio experimental en ratas.

Bibliografía

1. Agustí, A. G. N., Barberá, J. A., Roca, J., Wagner, P. D., Guitart, R. y Rodríguez-Roisin, R.: *Chest*, 97, 268-275, 1990.

2. Ballester, E., Reyes, A., Roca, J., Guitart, R., Wagner, P. D. y Rodríguez-Roisin, R.: *Thorax*, 44, 258-267, 1989.
3. Dueck, R., Rathbun, M. y Wagner, P.D.: *Anesthesiology*, 19, 31-36; 1978.
4. Eriksson, C. J. P.: *Alcoholism: Clin. Exp. Res.*, 4, 22-29, 1980.
5. Farhi, L. E.: *Respir. Physiol.*, 3, 1-11, 1967.
6. Fiserova-Bergerova, V. y Díaz, M. L.: *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 58, 75-87, 1986.
7. Gargas, M. L., Burgess, R. J., Voisard, D. E., Cason, G. H. y Andersen, M. E.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 98, 87-99, 1989.
8. Gas Encyclopaedia, L'Air Liquide. Elsevier, Amsterdam, 1976.
9. Guitart, R.: Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Barcelona, 1988.
10. Guitart, R., Puigdemont, A. y Arboix, M.: *J. Chromatogr.*, 491, 271-280, 1989.
11. Hlastala, M. P., Colley, P. y Cheney, F.: *J. Appl. Physiol.*, 39, 1048-1051, 1975.
12. Johanson, G. y Näslund, P. H.: *Toxicol. Lett.*, 41, 115-127, 1988.
13. Kapitan, K. S., y Wagner, P. D.: *J. Appl. Physiol.*, 63, 861-868, 1987.
14. Kety, S. S.: *Pharmacol. Rev.*, 3, 1-41, 1951.
15. Lam, C. W., Galen, T. J., Boyd, J. F. y Pierson, D. L.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 104, 117-129, 1990.
16. Lowe, H. J. y Hagler, K.: En «Gas Chromatography in Biology and Medicine» (Porter, R., ed.), Ciba Symposium. Churchill, Londres, 1969, p. 86-103.
17. Marshall, B. E. y Wollman, H.: En «Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica» (Goodman Gilman, A., Goodman, L. S., Rall, T. W. y Murad, F., eds.). Panamericana. Madrid, 1986, pp. 276-299.
18. Perbellini, L., Brugnone, F., Caretta, D. y Maranelli, G.: *Br. J. Ind. Med.*, 42, 162-167, 1985.
19. Powell, F. L., López, F. A. y Wagner, P. D.: *J. Appl. Physiol.*, 58, 1143-1147, 1985.
20. Robertson, H. T., Whitehead, J. y Hlastala, M. P.: *J. Appl. Physiol.*, 61, 1162-1172, 1986.
21. Rodríguez-Roisin, R., Roca, J., Guitart, R., Agustí, A. G. N., Torres, A. y Wagner, P. D.: *Rev. esp. Fisiol.*, 42, 465-482, 1986.
22. Sato A. y Nakajima, T.: *Br. J. Ind. Med.*, 36, 231-234, 1979.
23. Truog, W. E., Hlastala, M. P., Standaert, T. A., McKenna, H. P. y Hodson, W. A.: *J. Appl. Physiol.*, 47, 1112-1117, 1979.
24. Vitenberg, A. G., Ioffe, B. V., Dimitrova, Z. St. y Butaeva, I. L.: *J. Chromatogr.*, 112, 319-327, 1975.
25. Wagner, P. D., Naumann, P. F. y Laravuso, R. B.: *J. Appl. Physiol.*, 36, 600-605, 1974.
26. Wagner, P. D., Saltzman, H. A. y West, J. B.: *J. Appl. Physiol.*, 36, 588-599, 1974.
27. Wagner, P. D., Smith, C. M., Davies, N. J. H., McEvoy, R. D. y Gale, G. E.: *J. Appl. Physiol.*, 59, 376-383, 1985.
28. Widmark, E. M. P.: *Acta Med. Scand.*, 52, 87-164; 1919.
29. Young, I. H. y Wagner, P. D.: *J. Appl. Physiol.*, 46, 240-248, 1979.
30. Young, I. H. y Wagner, P. D.: *J. Appl. Physiol.*, 46, 1207-1210, 1979.
31. Zwart, A., Luijendijk, S. C. M. y de Vries, W. R.: *Pflügers Arch.*, 407, 204-210, 1986.