

Transporte de gases por medio de perfluorocarbonos

RESUMEN

Los perfluorocarbonos (PFCs) son alcanos donde a los átomos de hidrógeno se suman los de flúor o han sido sustituidos parcialmente por éstos. Los PFCs están caracterizados por fuerzas intramoleculares débiles, lo que concede a los PFCs una alta solubilidad a gases. Los PFCs y sus emulsiones pueden ser utilizados para la oxigenación de tejidos *in vivo* o *in vitro*, o para acarrear y distribuir otros gases o compuestos con alta facilidad. Este trabajo explora la aplicabilidad de los PFCs como transportadores de gases en diferentes modelos experimentales, confirmando que los PFCs proporcionan una solución farmacológica única para la entrega segura de los gases.

SUMMARY

Perfluorocarbons (PFC) are alkanes where hydrogen atoms have been added or replaced partially by fluorine atoms. PFC are characterized by weak intermolecular forces, which give the PFC high solubility to gases. PFC and their emulsions can be used to oxygenate tissues *in vivo* or *in vitro*, and to carry and distribute other gases or compounds with high facility. This work explores the applicability of PFC as a gas transporter in different experimental models. In this respect, the PFC provides a unique pharmacological solution for the safe delivery of gases.

Introducción

Los perfluorocarbonos (PFCs) son moléculas sintéticas, químicamente inertes, que contienen sobre todo átomos de carbono y de flúor; son líquidos claros e incoloros que tienen la capacidad de disolver de manera física cantidades significativas de muchos gases, incluyendo oxígeno (O_2), dióxido de carbono (CO_2), monóxido de carbono (CO) y óxido nítrico (NO). Los PFCs son hidrofóbicos y, por lo tanto, no solubles en agua, por lo que requieren ser emulsionados para su uso intravenoso. Con tecnología simple, es posible generar una emulsión estable de PFCs con las partículas excepcionalmente pequeñas (diámetro mediano $< 0.2 \mu m$). Los PFCs son químicamente inertes, y no se metabolizan *in vivo*. La permanencia intravascular de los PFCs depende de su peso molecular, con variaciones entre compuestos que oscilan entre horas y días.

Estos compuestos son eliminados, sin cambios, por los pulmones después de pasar a través del sistema reticuloendotelial.

Una cualidad única de los PFCs es disolver grandes volúmenes de gases respirables y otros no polares. Esta solubilidad de gases aumenta de manera lineal con la presión parcial, que aproxima a la ley de Henry. En general, la solubilidad de los gases en soluciones que contienen PFC disminuye en el orden $CO_2 > O_2 > CO > NO > N_2 > H_2 > He$. Las moléculas del gas ocupan fácilmente las cavidades moleculares dentro del PFC, como consecuencia de fuerzas cohesivas intermoleculares débiles propias de los compuestos fluorinados. Esta debilidad facilita la formación de los agujeros que pueden acomodar las moléculas del gas dentro del líquido en forma muy eficiente sin implicar ninguna reacción química en estos procesos, logrando el transporte limpio de los gases.

Palabras clave:

- ✓ oxigenación
- ✓ transporte de gases
- ✓ entrega de gases
- ✓ perfluorocarbonos

Key words:

- ✓ oxygenation
- ✓ gas transportation
- ✓ gas release
- ✓ perfluorocarbons

Oxígeno

La característica del transporte de oxígeno de las emulsiones de PFC es fundamentalmente diferente a la de la sangre. La sangre exhibe una curva sigmoidea de la disociación de oxígeno; en antítesis, las emulsiones de PFC son caracterizadas por una relación lineal entre tensión de oxígeno y concentración de oxígeno disuelta. Las elevadas presiones parciales arteriales de oxígeno son así beneficiosas para maximizar la capacidad del transporte de oxígeno de las emulsiones de PFC. La ventilación con oxígeno al 100 % puede generar preocupaciones con respecto al riesgo de toxicidad, misma que no ha sido observada con periodos de exposición de ocho horas;¹ las evidencias de toxicidad más tempranas se han registrado solamente después de 18 horas de exposición.² Los eritrocitos son células flexibles, en forma de disco con aproximadamente 7 a 8 μm de diámetro y se encuentran cargadas con hemoglobina altamente concentrada. Los eritrocitos ocupan la mayor parte del diámetro de arterias y arteriolas con una fase relativamente pequeña de plasma cerca de la pared del vaso donde se concentran células más pequeñas, tales como trombocitos (1 μm de diámetro) y partículas pequeñas de PFC. En los vasos sanguíneos más pequeños, la distancia en relación al diámetro entre eritrocitos y la pared del vaso aumenta, produciendo brechas significativas de plasma. Debido a que las partículas pequeñas de emulsión son de 0.2 μm de diámetro, se considera que las emulsiones fluyen principalmente en la capa periférica del plasma en vasos grandes.^{3,4} En la microcirculación, las partículas de la emulsión de PFC se encuentran en el plasma y pueden así inundar incluso los tubos capilares más minúsculos (4 a 5 μm de diámetro) donde los eritrocitos no pueden fluir. Precisamente es en estos tejidos donde las emulsiones de PFC ejercen sus mayores efectos, porque aumentan la entrega local de oxígeno a una tasa mayor que la de los eritrocitos, es decir, incrementan la capacidad de acarreo sistémico de oxígeno.⁴ Otro aspecto importante que determina la eficacia de las emulsiones de PFC es el hecho de que todo el oxígeno llevado por el PFC está disuelto, dando por resultado presiones parciales más altas

de oxígeno en la microcirculación y, de tal modo, aumentando la presión que conducía para la difusión del oxígeno disuelto en el tejido. Finalmente, las moléculas de PFC descargan oxígeno aproximadamente dos veces más rápido que las moléculas de la hemoglobina.⁵

Monóxido de carbono

El monóxido de carbono (CO), un agente contaminante del aire, ha estado presente en nuestro ambiente desde el principio de la vida. Evolucionistas afirman que la creación de aminoácidos, que vendrían a ser la espina dorsal fundamental de toda la vida, requería la presencia de CO junto con oxígeno y nitrógeno.⁶ Descubierto en la última parte del siglo XVIII, el CO se ha etiquetado como molécula tóxica, capaz de desplazar oxígeno en la sangre y causar hipoxia.⁷

La reputación mortal del CO ha sido desafiada por los descubrimientos recientes que indican que concentraciones bajas de CO pueden inhibir la inflamación y la apoptosis *in vitro* e *in vivo*.^{8,9} Los efectos protectores del CO exógeno han sido demostrados en numerosos modelos, incluyendo trasplante de órganos, enfermedades pulmonares, hepatitis, isquemia/reperfusión (I/R) y lesiones vasculares. Estas investigaciones demuestran la necesidad de moléculas que transporten y entreguen CO de forma eficiente para lograr conferir los efectos citoprotectores del CO en escenarios clínicos.

El CO tiene una elevada solubilidad en PFCs, por lo que éstos resultan candidatos excepcionales para realizar este acarreo y entrega. Adicionalmente, después de entregar el CO a los tejidos, el PFC retorna a su condición como facilitador del intercambio de gases. La labor del CO en la respuesta celular y su entrecruzada relación con el óxido nítrico representan elementos dominantes en estados patofisiológicos, lo que fortalece el empleo de emulsiones de PFC.

Óxido nítrico

El óxido nítrico (NO) es producido enzimáticamente por varios tipos de células y repre-

senta un mediador central dentro del sistema cardiovascular. Como todo radical libre, el NO es altamente inestable. Sus blancos primarios incluyen proteínas heme tales como hemoglobina, cGMP, citocromos y otras. El NO es oxidado fácilmente por el oxígeno en los medios acuosos y convertido principalmente en el anión del nitrito, porque se oxida sólo en parte al nitrito. El NO es una de las moléculas más simples con un número impar de electrones y, siendo un radical, puede reaccionar con otros compuestos y radicales libres. La reacción de NO con la hemoglobina (Hb) se limita solamente al momento en que se da la difusión de esta molécula diatómica al heme, donde reacciona con la hemoglobina oxigenada, formando metahemoglobina y nitratos.

La entrega endógena de NO tiene un período biológico corto.^{10,11} La tasa de la reacción en soluciones acuosas de NO con oxígeno y con hemoglobina sigue una cinética de segundo orden y, por lo tanto, el índice de desaparición de NO es proporcional al cuadrado de su concentración de NO.¹² En una solución acuosa, altas concentraciones de NO (300 μ M) existen por periodos inferiores a un segundo; mientras que en concentraciones más bajas, de 0.01 a 1 μ M (compatibles con concentraciones biológicas), pueden existir por una hora.¹³

La distribución preferencial de ambos NO y oxígeno en el lípido de las membranas se ha reconocido como potencialmente importante en la regulación de los efectos de NO.¹⁴ El NO es ocho veces más soluble en membranas que en agua, mientras que el oxígeno es tres veces más soluble. Puesto que el NO es un gas hidrofóbico que puede ser concentrado por las micelas de PFCs, estos compuestos acarrean y entregan NO de manera eficiente. La alta concentración local de NO y del oxígeno dentro de la micela de PFC acelera la formación de las especies relacionadas con NO asociado a lípidos, aminoácidos y proteínas.¹⁵

Conclusiones

Los perfluorocarbonos se encuentran lejos de ser los sustitutos perfectos de la sangre debido a su corto periodo de permanencia en circulación, que es menor de 24 horas. Sin embargo,

podrían ser una valiosa alternativa a la sangre alogénica cuando la capacidad de transporte de oxígeno se requiere solamente por algunas horas. La posibilidad de emplear los PFCs como acarreadores de gases abre un sinnúmero de posibilidades experimentales y clínicas que requieren ser exploradas. Ventajas adicionales de los PFCs son la capacidad de producción a gran escala y bajo costo, así como los tiempos de almacenamiento prolongado (años), sin riesgo infeccioso o inmunogénico. Estas características de los PFCs, y en especial la alta solubilidad del gas, los hacen extremadamente útiles en la clínica.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido apoyado por las concesiones federales R24-64395, R01-62354 y R01-62318 al profesor Marcos Intaglietta.

Referencias

1. Van De Water JM, Kagey KS, Miller IT et al. Response of the lung to six to 12 hours of 100 per cent oxygen inhalation in normal man. *N Engl J Med* 1970; 283: 621-626.
2. Tinitis P. Oxygen therapy and oxygen toxicity. *Ann Emerg Med* 1983; 12: 321-328.
3. Keipert PE, Otto S, Flaim SF et al. Influence of perflubron emulsion particle size on blood half-life and febrile response in rats. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1994; 22: 1169-1174.
4. Eckstein EC, Koleski JF, Waters CM. Concentration profiles of 1 and 2.5 microns beads during blood flow. Hematocrit effects. *ASAIO Trans* 1989; 35: 188-190.
5. Faithfull NS. Oxygen delivery from fluorocarbon emulsions-aspects of convective and diffusive transport. *Biomater Artif Cells Immobil Biotechnol* 1992; 20: 797-804.
6. Miyakawa S, Yamanashi H, Kobayashi K et al. Prebiotic synthesis from CO atmospheres: implications for the origins of life. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 14628-14631.
7. Weaver LK, Hopkins RO, Elliott G. Carbon monoxide poisoning. *N Engl J Med* 1999; 340: 1290. (author reply 2).
8. Ryter SW, Otterbein LE, Morse D, Choi AM. Heme oxygenase/carbon monoxide signaling pathways: regulation and functional significance. *Mol Cell Biochem* 2002; 234-235: 249-263.
9. Otterbein LE, Soares MP, Yamashita K, Bach FH. Heme oxygenase-1: Unleashing the protective

- properties of heme. *Trends Immunol* 2003; 24: 449-455.
10. Archer S. Measurement of nitric oxide in biological models. *Faseb J* 1993; 7: 349-360.
 11. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *Faseb J* 1992; 6: 3051-3064.
 12. Ignarro LJ. Nitric oxide-mediated vasorelaxation. *Thromb Haemost* 1993; 70: 148-151.
 13. Wink DA, Darbyshire JF, Nims RW et al. Reactions of the bioregulatory agent nitric oxide in oxygenated aqueous media: determination of the kinetics for oxidation and nitrosation by intermediates generated in the NO/O₂ reaction. *Chem Res Toxicol* 1993; 6: 23-27.
 14. Liu X, Miller MJ, Joshi MS, et al. Accelerated reaction of nitric oxide with O₂ within the hydrophobic interior of biological membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 2175-2179.
 15. Rafikova O, Sokolova E, Rafikov R, Nudler E. Control of plasma nitric oxide bioactivity by perfluorocarbons: physiological mechanisms and clinical implications. *Circulation* 2004; 110: 3573-3580. 

