

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 476 258**

51 Int. Cl.:

A61K 9/107 (2006.01)

A61P 7/06 (2006.01)

A61P 7/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2008** **E 08865306 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.06.2014** **EP 2227222**

54 Título: **Fluido de reanimación**

30 Prioridad:

22.12.2007 US 16443

18.03.2008 US 64639

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

14.07.2014

73 Titular/es:

SIMPKINS, CUTHBERT O. (100.0%)
3060 NOTTINGHAM DR.
SHREVEPORT, LA 71115, US

72 Inventor/es:

SIMPKINS, CUTHBERT O.

74 Agente/Representante:

PONTI SALES, Adelaida

ES 2 476 258 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

5	DESCRIPCIÓN
	Fluido de reanimación
10	CAMPO TÉCNICO
	El campo técnico es el tratamiento médico y, en particular, las composiciones para el tratamiento de condiciones relacionadas con la falta de suministro de sangre, como por ejemplo el shock hemorrágico.
15	ANTECEDENTES
20	Cuando se pierde una gran cantidad de sangre, es de vital importancia reemplazar inmediatamente el volumen perdido con un expansor de volumen con el fin de mantener el volumen de circulación, de manera que los glóbulos rojos restantes puedan continuar oxigenando los tejidos corporales. En casos extremos, podría requerirse una infusión de sangre verdadera o un sustituto sanguíneo para mantener una oxigenación adecuada de los tejidos en la persona afectada. Un sustituto sanguíneo difiere de un simple expansor de volumen en que el sustituto sanguíneo posee la capacidad de transportar oxígeno como si se tratara de sangre verdadera.
25	Los sustitutos sanguíneos empleados en la actualidad usan perfluorocarbonos (PFC) o hemoglobinas como el portador de oxígeno. Los PFC son compuestos derivados de hidrocarburos mediante el reemplazo de los átomos de hidrógeno en dichos hidrocarburos por átomos de flúor. Los PFC pueden disolver concentraciones relativamente altas de oxígeno. Sin embargo, en las aplicaciones médicas se requieren perfluorocarbonos de gran pureza. Las impurezas con enlaces de nitrógeno pueden ser muy tóxicas. También deberán excluirse los compuestos que contienen hidrógeno (que pueden liberar fluoruro de hidrógeno) y los compuestos insaturados. El proceso de purificación es complejo y caro.
30	La hemoglobina es la metaloproteína de transporte de oxígeno que contiene hierro en los glóbulos rojos. Sin embargo, no puede emplearse la hemoglobina pura separada de los glóbulos rojos, ya que causa toxicidad renal. Se requieren varias modificaciones, tales como reticulación, polimerización y encapsulación, para convertir la hemoglobina en un portador de oxígeno artificial útil y seguro. Los productos resultantes, denominados frecuentemente HBOC (portadores de oxígeno que contienen hemoglobina), son caros y tienen un período de validez relativamente reducido.
35	Por lo tanto, aún existe la necesidad de un fluido de reanimación de bajo coste que funcione como expansor de volumen y que pueda además transportar una cantidad elevada de oxígeno.
40	CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCION
	En un primer aspecto, la presente invención ofrece un fluido de reanimación a base de lípidos que comprende:
45	a. una emulsión lipídica y un agente tampón; y/o
	b. un componente lipídico y un portador acuoso, en el que dicho componente lipídico forma una emulsión con dicho portador acuoso en forma de micelas lipídicas con una superficie polar externa y un espacio hidrofóbico interno, para su uso en un método de tratamiento del shock hemorrágico en un sujeto humano o animal, comprendiendo dicho método la administración a dicho sujeto de una cantidad efectiva del fluido de reanimación a base de lípidos.
50	En un segundo aspecto, la presente invención ofrece un equipo de reanimación que comprende el fluido de reanimación a base de lípidos de la presente invención y un equipo de oxigenación.
	DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS
55	La descripción detallada se refiere a los siguientes dibujos, donde números similares se refieren a elementos similares, y donde:
	La Figura 1 es un diagrama donde se muestra la presión sanguínea sistólica en ratones tratados con diferentes fluidos de reanimación después de un shock hemorrágico grave.
60	La Figura 2 es un diagrama donde se muestra la presión sanguínea diastólica en ratones tratados con diferentes fluidos de reanimación después de un shock hemorrágico grave.
	La Figura 3 es un diagrama donde se muestra la presión sanguínea sistólica en ratones tratados con un fluido de reanimación de volúmenes diferentes después de un shock hemorrágico grave.
65	La Figura 4 es un diagrama donde se muestra la presión sanguínea diastólica en ratones tratados con un fluido de reanimación de volúmenes diferentes después de un shock hemorrágico grave.
	La Figura 5 es un diagrama donde se muestra un porcentaje de la presión sanguínea sistólica en ratones tratados con fluidos de reanimación que contienen albúmina y ratones tratados con sangre derramada después de un shock hemorrágico grave.

5 DESCRIPCIÓN DETALLADA

Un aspecto de la presente invención se refiere a una composición de fluido de reanimación para el tratamiento de condiciones relacionadas con la falta de suministro de sangre con un fluido de reanimación a base de lípidos. El fluido de reanimación comprende un componente lipídico y un portador polar líquido. El componente lipídico está dispersado en el portador polar líquido formando una emulsión que contiene micelas lipídicas con una superficie polar externa y un espacio hidrofóbico interno. El fluido de reanimación puede usarse para aumentar la presión sanguínea y transportar oxígeno a los tejidos.

Componente lipídico

El componente lipídico puede ser cualquier lípido que pueda formar una emulsión con agua. En el presente documento, el término "lípido" se refiere a cualquier material adecuado que produzca una monocapa de micela lipídica en un entorno acuoso tal que la porción hidrofóbica del material lípido se oriente hacia la porción interna de la micela lipídica, mientras que una porción hidrofílica se orienta hacia la fase acuosa. Las características hidrofílicas se derivan de la presencia de grupos fosfato, carboxílico, sulfato, amino, sulfhidrilo, nitro y otros similares. La hidrofobicidad está proporcionada por la inclusión de grupos que incluyen, pero sin limitarse a ellos, grupos con cadenas saturadas largas e hidrocarburos alifáticos insaturados, con grupos tales como los que se han sustituido optativamente por uno o varios grupos aromáticos, cicloalifáticos o heterocíclicos.

Entre los ejemplos de lípidos figuran (pero sin limitarse a ellos) acilios grasos, glicerolípidos, fosfolípidos como fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), ácido fosfatídico (PA), fosfatidilglicerol (PG), esfingolípidos, esteroles como el colesterol, prenol lípidos, sacarolípidos, poliquétidos, lípido o lípidos no naturales, lípido o lípidos catiónicos y mezclas de ellos. En una realización, el lípido es una mezcla de aceite de soja y fosfolípidos de yema de huevo, como los usados en Intralipid® (comercializado y vendido por Baxter International Inc., Deerfield, Illinois, Estados Unidos de América).

Portador polar líquido

El portador polar líquido puede ser cualquier líquido polar farmacéuticamente aceptable que pueda formar una emulsión con el lípido. El término "farmacéuticamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y composiciones que poseen la pureza y calidad suficiente para su empleo en la formulación de una composición o medicamento de la presente invención y que, cuando se administran apropiadamente a un animal o humano, no ocasionan una reacción adversa, alérgica u otra inadecuada. Ya que tanto el empleo humano (clínico y sin receta) como el veterinario se incluyen igualmente dentro del ámbito de la presente invención, una formulación farmacéuticamente aceptable incluirá una composición o medicamento para el uso tanto humano como veterinario. En una realización, el portador polar líquido es agua o una solución acuosa. En otra realización, el portador polar líquido es un líquido polar no acuoso como dimetilsulfóxido, polietilenglicol y líquidos de silicona polar.

En general, una solución acuosa comprende un vehículo electrolítico fisiológicamente compatible isoosmótico con la sangre entera. El portador puede ser, por ejemplo, una solución salina fisiológica, o una mezcla de solución salina y glucosa, solución de Ringer, solución lactada de Ringer, solución de Locke-Ringer, solución de Krebs-Ringer, solución salina equilibrada de Hartmann, solución heparinizada de citrato sódico-ácido cítrico-dextrosa y sustitutos poliméricos de plasma, como óxido de polietileno, polivinilpirrolidona, alcohol polivinílico y condensados de óxido de etileno y propilenglicol. El fluido de reanimación puede comprender además otros constituyentes tales como portadores, diluyentes, rellenos y sales farmacéuticamente aceptables, y su selección depende de la forma de dosificación utilizada, la condición bajo tratamiento, el objetivo particular a alcanzarse según la determinación del especialista ordinario en el campo y las propiedades de dichos aditivos.

Componente del plasma

El fluido de reanimación puede comprender además un componente de plasma. En una realización, el plasma es un plasma animal. En otra realización, el plasma es plasma humano. Aunque no deseamos estar limitados por cualquier teoría científica, se piensa que la administración de sustitutos sanguíneos puede diluir la concentración de factores de coagulación a un nivel indeseable. Es por esto que el empleo de plasma como diluyente del componente de transporte de oxígeno evita este problema. El plasma puede obtenerse mediante cualquiera de los métodos conocidos por los expertos en este campo, siempre y cuando se eliminen esencialmente los glóbulos rojos, los glóbulos blancos y las plaquetas. Preferentemente, se obtiene usando un aparato automático de plasmaforesis. Los aparatos de plasmaforesis pueden adquirirse comercialmente e incluyen, por ejemplo, los aparatos que separan el plasma de la sangre mediante ultrafiltración o por centrifugación. Un aparato de plasmaforesis por ultrafiltración como el fabricado por Auto C, A200 (Baxter International Inc., Deerfield, Illinois, Estados Unidos de América) es adecuado ya que elimina efectivamente los glóbulos rojos, los glóbulos blancos y las plaquetas, conservando los factores de coagulación.

El plasma puede obtenerse con un anticoagulante, muchos de los cuales son conocidos en este campo. Los anticoagulantes preferidos son aquellos que quelatan el calcio, como por ejemplo el citrato. En una realización se emplea citrato sódico como un anticoagulante en una concentración final de 0,2-0,5%, preferentemente 0,3-0,4% y

5 más preferentemente 0,38%. Puede usarse entre límites de [sic]. El plasma puede ser fresco, congelado, combinado y/o esterilizado. Aunque podría preferirse el plasma de fuentes exógenas, también estará conforme con la presente invención el uso de plasma autólogo obtenido del paciente antes de la formulación y administración del fluido de reanimación.

10 Además del plasma de fuentes naturales, también puede usarse plasma sintético. El término "plasma sintético" en la forma usada en el presente se refiere a cualquier solución acuosa que es al menos isotónica y que comprende además al menos una proteína del plasma.

Agente oncótico

15 En una realización, el fluido de reanimación contiene además un agente oncótico. El agente oncótico comprende moléculas cuyo tamaño es suficiente para prevenir su pérdida en la circulación al navegar las fenestraciones del lecho capilar hacia los espacios intersticiales de los tejidos corporales. Ejemplos de agente oncóticos incluyen, pero sin limitarse a ellos, albúmina tal como la albúmina del suero humano, polisacáridos como dextrano y derivados
20 polisacáridos como polímeros hidroximetil alfa (1, 4) o (1, 6), Herastarch® (McGaw, Inc) y ciclodextrinas. En una realización, el agente oncótico es un 5% (p/v) de albúmina. En otra realización, el agente oncótico es un polisacárido, como dextrano, con peso molecular de 30.000 a 50.000 daltons (D). En aún otra realización, el agente oncótico es un polisacárido como el dextrano, con un peso molecular de 50.000 a 70.000 D. Las soluciones de dextrano de alto peso molecular son más efectivas en la prevención de la inflamación de los tejidos gracias a sus
25 tasas menores de escape de los capilares. En otra realización la concentración del polisacárido es suficiente para alcanzar (cuando se toma conjuntamente con sales de cloruro de sodio, calcio y magnesio, ion orgánico de la sal orgánica de sodio y azúcar hexosa discutida anteriormente) una presión osmótica coloidal de aproximadamente la del suero humano normal, unos 28 mm Hg.

Agente cristaloide

El fluido de reanimación puede comprender además un agente cristaloide. El agente cristaloide puede ser cualquier cristaloide que, en la forma de la composición del fluido de reanimación, sea preferentemente capaz de alcanzar una osmolaridad mayor de 800 mOsm/l; es decir, hace que el fluido de reanimación sea "hipertónico". Ejemplos de
35 cristaloides adecuados y sus concentraciones en el fluido de reanimación incluyen, pero sin limitarse a ellos, 3% p/v NaCl, 7% NaCl, 7,5% NaCl, y 7,5% NaCl en 6% p/v dextrano. En una realización, el fluido de reanimación tiene una osmolaridad de 800 a 2400 mOsm/l.

Cuando el fluido de reanimación comprende además un cristaloide y es hipertónico, el fluido de reanimación puede proporcionar una mejor funcionalidad para la recuperación rápida de los parámetros hemodinámicos en comparación con otras composiciones de sustitutos sanguíneos, que incluyen un componente coloidal. La infusión de cristaloide altamente hipertónica de bajo volumen (por ejemplo, 1-10 ml/kg) ofrece beneficios significativos en la recuperación rápida y sostenida de parámetros hemodinámicos aceptables en la hemorragia controlada (Véase, por ejemplo, Przybelski, R.J., E.K. Daily y M.L. Birnbaum, "The pressor effect of hemoglobin—good or bad?". En Winslow, R.M., K.D. Vandegriff y M. Intaglietta, eds. *Advances in Blood Substitutes, Industrial Opportunities and Medical Challenges*. Boston, Birkhauser (1997), 71-85). En otra realización, la emulsión lipídica usada es Intralipid®. En otra realización, la emulsión lipídica usada es 20% Intralipid®. En una realización, el lípido comprende lípidos antiinflamatorios como ácidos grasos omega-3.

Concentraciones de iones

En una realización, el fluido de reanimación de la presente invención incluye una concentración de iones de calcio, sodio, magnesio y potasio que se encuentra dentro de las concentraciones fisiológicas normales de dichos iones en el plasma. En general, la concentración deseada de estos iones se obtiene de las sales disueltas de cloruro de calcio, sodio y magnesio. Los iones de sodio pueden provenir también de una sal orgánica disuelta de sodio que también está en solución.

En una realización, la concentración de ion de sodio se encuentra entre 70 mM y aproximadamente 160 mM. En otra realización, la concentración de ion de sodio se encuentra entre 130 y 150 mM.

En una realización, la concentración de ion de calcio se encuentra entre unos 0,5 mM y 4,0 mM. En otra realización, la concentración de ion de calcio se encuentra entre unos 2,0 mM y 2,5 mM.

En una realización, la concentración de ion de magnesio se encuentra entre 0 y 10 mM. En otra realización, la concentración de ion de magnesio se encuentra entre aproximadamente 0,3 mM y 0,45 mM. Es mejor no incluir cantidades excesivas de ion de magnesio en el fluido de reanimación de la invención ya que las concentraciones altas de ion de magnesio afectan negativamente la potencia de la actividad contráctil cardíaca. En una realización preferida de la invención, la solución contiene cantidades subfisiológicas de ion de magnesio.

En una realización, la concentración de ion de potasio se encuentra entre los límites subfisiológicos de 0-5 mEq/l K⁺

(0-5 mM), preferentemente 2-3 mEq/l K^+ (2-3 mM). Por lo tanto, el fluido de reanimación permite la dilución de la concentración del ion de potasio en la sangre almacenada para la transfusión. Como resultado, podrían controlarse más fácilmente las altas concentraciones de ion de potasio y arritmias cardíacas potenciales y la insuficiencia cardíaca causada podría controlarse más fácilmente. El fluido de reanimación que contiene una cantidad subfisiológica de potasio también es útil en casos de sustitución sanguínea y mantenimiento a baja temperatura del sujeto.

En una realización, la concentración de ion cloruro se encuentra entre 70 mM y 160 mM. En otra realización, la concentración de ion cloruro se encuentra entre 110 mM y 125 mM.

Carbohidratos

El fluido de reanimación también puede contener un carbohidrato o una mezcla de carbohidratos. Los carbohidratos adecuados incluyen, pero sin limitarse a ellos, hexosa simple (por ejemplo, glucosa, fructosa y galactosa), manitol, sorbitol u otros conocidos por los expertos en este campo. En una realización, el fluido de reanimación incluye niveles fisiológicos de una hexosa. Los "niveles fisiológicos de una hexosa" incluyen una concentración de hexosa de entre 2 mM y 50 mM. En una realización, el fluido de reanimación contiene 5 mM de glucosa. Algunas veces es deseable aumentar la concentración de hexosa con el fin de disminuir la retención de fluidos en los tejidos de un sujeto. Por lo tanto, los límites de hexosa pueden aumentarse hasta unos 50 mM si fuese necesario para prevenir o limitar el edema en el sujeto bajo tratamiento.

Agente tampón

El fluido de reanimación de la presente invención puede además comprender un tampón biológico para mantener el pH del fluido dentro de los límites fisiológicos de pH 7-8. Ejemplos de tampones biológicos incluyen, pero sin limitarse a ellos, ácido N-2-hidroxietilpiperazin-N'-2-hidroxipropansulfónico (HEPES), ácido 3-(N-morfolino)propansulfónico (MOPS), ácido 2-[[2-hidroxi-1,1-bis(hidroximetil)etil]amino]etansulfónico (TES), ácido 3-[N-tris(hidroxi-metil)metilamino]-2-hidroxietil]-1-piperazin propansulfónico (EPPS), tris [hidroximetil]-aminoetano (THAM) y tris [hidroximetil]metil aminometano (TRIS).

En una realización, el agente tampón es histidina, imidazol, histidina sustituida o compuestos de imidazol que retienen el sitio anfotérico en el anillo de imidazol, oligopéptidos que contienen histidina, o mezclas de ellos. La histidina también puede reducir las especies de oxígeno reactivo (véase por ejemplo, Simpkins *et al.*, J. Trauma. 2007, 63:565-572). Se emplean histidina o imidazol típicamente en una concentración comprendida entre aproximadamente 0,01M y 0,5M.

En otra realización, el fluido de reanimación de la presente invención emplea componentes biológicos normales para mantener el pH biológico *in vivo*. Brevemente, algunos compuestos biológicos, como el lactato, pueden ser metabolizados *in vivo* y actúan con otros componentes biológicos para mantener un pH biológicamente apropiado en un animal. Los componentes biológicos son efectivos en el mantenimiento de un pH biológicamente apropiado aún a temperaturas hipotérmicas y en condiciones esencialmente sin sangre. Ejemplos de componentes biológicos normales incluyen, pero sin limitarse a ellos, ácidos carboxílicos, y sus sales y ésteres. Los ácidos carboxílicos tienen la fórmula estructural general $RCOOX$, donde R es un alquilo, alqueno o arilo, de cadena ramificada o lineal, que contiene 1 a 30 carbonos, cuyos carbonos pueden ser sustituidos, y X es hidrógeno o sodio u otro sustituyente iónico biológicamente compatible que puede enlazarse en la posición del oxígeno, o es un alquilo de cadena lineal o ramificada que contiene 1-4 carbonos, por ejemplo, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$. Ejemplos de ácidos carboxílicos y sales de ácidos carboxílicos incluyen, pero sin limitarse a ellos, lactato y lactato sódico, citrato y citrato sódico, gluconato y gluconato sódico, piruvato y piruvato sódico, succinato y succinato sódico, y acetato y acetato sódico.

Otros componentes

Además de los componentes discutidos anteriormente, el fluido de reanimación puede además comprender otros aditivos tales como antibióticos, vitaminas, aminoácidos, expansores de los vasos sanguíneos como alcoholes y polialcoholes, tensoactivos y anticuerpos contra citoquinas dañinas como el factor de necrosis tumoral (TNF) o interleucinas. Además, también pueden añadirse otros gases como por ejemplo el sulfuro de hidrógeno, que es un regulador de la presión sanguínea, o el monóxido de carbono, que posee propiedades citoprotectoras que pueden emplearse para prevenir el desarrollo de condiciones patológicas tales como lesiones por reperusión isquémica.

Preparación del fluido de reanimación

El fluido de reanimación puede prepararse mezclando el componente lipídico, el portador acuoso, y cualquier otro componente para formar una emulsión. Los métodos de mezclado usados comúnmente incluyen, pero sin limitarse a ellos, agitación, vibración y sonicación. En una realización, el fluido de reanimación se forma mezclando una emulsión pre-formada de lípidos, como Intralipid®, con el portador acuoso y otros componentes.

Con el fin de aumentar el contenido de oxígeno en el fluido de reanimación, dicho fluido podrá ser oxigenado

mediante el burbujeo de oxígeno puro o un gas con un contenido de oxígeno del 21% al 100% (v/v), preferentemente del 40% al 100% (v/v), más preferentemente del 60% al 100% (v/v), y aún más preferentemente del 80% al 100% (v/v), a través del fluido de reanimación durante un periodo de 30 segundos o más, preferentemente 1-15 minutos y más preferentemente 1-5 minutos. El tiempo de oxigenación para un fluido de reanimación con una composición particular puede determinarse experimentalmente. En una realización, el fluido de reanimación se oxigena inmediatamente antes de su empleo.

En una realización, el fluido de reanimación comprende una emulsión lipídica oxigenada. En la forma usada en el presente, la expresión "emulsión lipídica oxigenada" o "fluido de reanimación oxigenado" se refiere a un tipo específico de emulsión lipídica gasificada o fluido de reanimación gasificado que ha sido forzado a absorber oxígeno de manera que la concentración total de oxígeno contenido en él es mayor que el presente en el mismo líquido bajo condiciones atmosféricas en equilibrio.

Equipos

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un equipo de reanimación. En una realización, el equipo de reanimación comprende un fluido de reanimación oxigenado y al menos un aditivo. Ejemplos de aditivos incluyen, pero sin limitarse a ellos, agente oncótico, agente cristaloiide, expansor de vasos sanguíneos, agentes secuestrantes cardioplégicos o cardiotónicos de radicales libres o mediadores, moduladores de señalamiento celular, y agonistas y antagonistas de los receptores. En otro experimento el equipo contiene además un juego de infusión intravenosa (IV). En otra realización el fluido de reanimación oxigenado está contenido en una o más jeringas pre-cargadas para su uso en emergencias. En otra realización, el equipo contiene además un recipiente de oxígeno que puede emplearse para reoxigenar el fluido de reanimación inmediatamente antes de usarse. El recipiente de oxígeno puede contener oxígeno puro o una mezcla gaseosa de oxígeno con sulfuro de hidrógeno o monóxido de carbono o ambos. En otra realización el equipo contiene un fluido de reanimación y una bomba de aire para oxigenar el fluido de reanimación con aire ambiente inmediatamente antes del uso.

Métodos de tratamiento

El fluido de reanimación de la invención puede usarse para tratar condiciones relacionadas con la falta de suministro sanguíneo con un fluido de reanimación a base de lípidos. Las condiciones relacionadas con una falta de suministro sanguíneo incluyen, pero sin limitarse a ellas, hipovolemia, isquemia, hemodilución, trauma, shock séptico, cáncer, anemia, cardioplegia, hipoxia y perfusión de órganos. El término "hipovolemia", en la forma usada en el presente, se refiere a un volumen anormalmente disminuido de fluido en circulación (sangre o plasma) en el cuerpo. Esta condición puede ocurrir debido a "hemorragia" o escape de la sangre de los vasos sanguíneos. El término "isquemia", en la forma usada en el presente, se refiere a una deficiencia de sangre en una parte del cuerpo, causada generalmente por una constricción funcional y obstrucción real de un vaso sanguíneo.

El fluido de reanimación puede administrarse por vía intravenosa o intraarterial a un sujeto que requiere dicho tratamiento. La administración de un fluido de reanimación puede hacerse durante un periodo de segundos a horas dependiendo del objetivo del empleo del fluido de reanimación. Por ejemplo, cuando se emplea como expansor del volumen sanguíneo y un portador de oxígeno en el tratamiento de shock hemorrágico grave, el periodo normal de tiempo de administración es lo más rápido posible, lo que puede variar entre 1 ml/kg/hora hasta aproximadamente 15 ml/kg/min.

Cuando se emplea para la perfusión de órganos durante el trasplante de un órgano, el fluido de reanimación puede administrarse lentamente durante un periodo de horas.

Mientras el fluido de reanimación de la presente invención se administra y circula en un sujeto, pueden administrarse varios agentes cardioplégicos o cardiotónicos, ya sea directamente al sistema circulatorio del sujeto, directamente al miocardio del sujeto o añadirse al fluido de reanimación de la presente invención. Estos componentes se añaden para alcanzar los efectos fisiológicos deseados, como por ejemplo el mantenimiento de la actividad contráctil cardíaca regular, el paro de la fibrilación cardíaca o la inhibición completa de la actividad contráctil del miocardio o músculo cardíaco.

Los agentes cardioplégicos son materiales que pueden ocasionar el paro de la contracción miocárdica e incluyen anestésicos como la lidocaína, la procaína y la novocaína y cationes monovalentes como el ion de potasio en concentraciones lo suficientemente altas para alcanzar la inhibición contráctil miocárdica. Las concentraciones de ion potasio suficientes para obtener este efecto son generalmente superiores a 15 mM.

Durante la reanimación, el sujeto podría recibir una reinfusión con una mezcla del fluido de reanimación descrito conjuntamente con sangre retenida del sujeto u obtenida de donantes de sangre. La sangre entera se infunde hasta que el sujeto alcanza un hematocrito aceptable, generalmente hematocritos superiores a un 30%. Cuando se alcanza un hematocrito aceptable, se interrumpe la perfusión y el sujeto se revive después del cierre de las heridas quirúrgicas usando procedimientos convencionales.

- 5 El fluido de reanimación de la invención puede emplearse para conservar la integridad biológica de los órganos de un organismo donador mamífero.

El órgano del sujeto se enfría y se realiza la perfusión al sujeto con el fluido de reanimación usando un equipo de circulación con bomba, como por ejemplo una bomba centrífuga, bomba de rodillo, bomba peristáltica u otra bomba circulatoria conocida y disponible. El equipo circulatorio se conecta al órgano del sujeto mediante una cánula insertada quirúrgicamente en las venas y arterias apropiadas. Cuando se administra el fluido de reanimación al órgano enfriado de un sujeto, generalmente se hace mediante una cánula arterial y se elimina del sujeto mediante una cánula venosa y se desecha o almacena.

15 EJEMPLOS

Se presenta el siguiente ejemplo para ofrecer a los expertos normales en este campo una revelación y descripción completas de la forma de realizar el método de la presente invención. Se ha tratado de asegurar la exactitud en cuanto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero deberán tenerse en cuenta ciertos errores y desviaciones de los experimentos. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes por peso, el peso molecular es el peso molecular promedio ponderado, la temperatura se expresa en grados centígrados y la presión es, o es casi, la atmosférica.

Ejemplo 1: Métodos y materiales

25 *Emulsión lipídica:* Se empleó 20% Intralipid (comercializado y vendido por Baxter International Inc., Deerfield, Illinois, Estados Unidos de América) como una emulsión lipídica modelo. Está compuesta por 20% de aceite de soja, 1,2% de fosfolípidos de yema de huevo, 2,25% glicerina, agua e hidróxido sódico para ajustar el pH a 8.

30 *Determinación del contenido de oxígeno de Intralipid:* Muestras de agua destilada, lactato de Ringer (RL) e Intralipid (20%) (1 ml de cada uno) se dejaron abiertas al aire en tubos de 2,0 ml durante 30 minutos antes de hacer el análisis de gases disueltos. Se inyectaron volúmenes de 50 µl tomados de cada uno de estos líquidos en un sistema de purga de Sievers a 37°C que contenía 36 ml de una solución ligeramente ácida formada por 32 ml de HCl 1M y 4 ml de ácido ascórbico 0,5M. La solución se purgó continuamente con helio de alta pureza para transportar cualquier oxígeno liberado de las muestras a un espectrómetro de masas (HP 5975) para el análisis directo de gases. Las señales generadas a m/z=32 después de la inyección de RL y las muestras de emulsión de lípidos se integraron usando Peakfit y se compararon con las obtenidas usando agua destilada.

40 *Animales y procedimientos animales:* Se emplearon ratones machos y hembras que pesaban 27-47 gramos. Las cepas fueron CD-1 o NFR2. En todas las comparaciones se usaron las mismas cepas. Se anestesiaron los ratones usando anestesia con cetamina/xilazina administrada por vía subcutánea. Con el fin de prevenir las desviaciones de los datos debido a los efectos cardiodepresores del agente anestésico, se abortó el experimento y se sacrificó el ratón en la rara ocasión en que se requirió más anestésico que la dosis calculada. Una vez que el ratón estaba bien anestesiado, se canalizó la arteria carótida. Se eliminó toda la sangre posible en un minuto. Esto causó la pérdida de 55% del volumen sanguíneo y una letalidad del 100% sin una infusión. Inmediatamente después de la toma de sangre, se administraron infusiones durante un minuto.

Se administró un volumen de RL o Intralipid igual a la cantidad de sangre eliminada. Se tomó la presión sanguínea en la arteria carótida usando un monitor BP-2 fabricado por Columbus Instruments (Columbus, Ohio, Estados Unidos de América). Este monitor determina la presión sanguínea como un voltaje. Se preparó una curva estándar. Los voltajes determinados se convirtieron a presión sanguínea (BP) usando la siguiente fórmula:

$$BP = [\text{Voltaje} - 0,1006] / 0,0107$$

55 No se usaron medidas de calentamiento de los ratones. No se usaron medidas para ayudar a la respiración.

Análisis estadístico: Los datos se analizaron usando la prueba t de Student para datos no apareados.

Ejemplo 2: Contenido de oxígeno del fluido de reanimación

60 Se usó emulsión grasa Intralipid® 20% I.V. (comercializada y vendida por Baxter International Inc., Deerfield, Illinois, Estados Unidos de América) como un fluido de reanimación de muestra (RF). La composición de Intralipid® es 20% de aceite de soja, 1,2% de fosfolípidos de yema de huevo, 2,25% de glicerina, agua e hidróxido de sodio para ajustar el pH a 8. El contenido de oxígeno en el RF se determinó usando espectrometría de masas. Como se muestra en la Tabla I, el contenido de oxígeno del RF fue casi el doble del contenido en el lactato de Ringer (RL), un fluido de reanimación estándar que se infunde cuando se pierde una gran cantidad de sangre. El contenido de oxígeno de RL fue equivalente al del agua. Como se muestra en la Tabla II, el contenido de oxígeno del RF aumentó cinco veces al burbujearse oxígeno a través de él durante aproximadamente 1 minuto. Después de cargarse con oxígeno, el contenido de oxígeno del RF se comparó favorablemente con el de la sangre con el nivel mínimo aceptable de la hemoglobina (es decir, 7,0 g/dl). En la Tabla III se muestra el contenido teórico de oxígeno en RF

5 con un contenido más alto de lípidos.

Tabla I. Contenido de oxígeno en el lactato de Ringer y en Intralipid® 20%

	Lactato de Ringer	Intralipid® 20%
Contenido de oxígeno*	0,91 ± 0,11*	1,78 ± 0,09*
*el contenido de oxígeno se expresa como la cantidad relativa al contenido de oxígeno en agua.		

Tabla II. Solubilidad del oxígeno en diversos líquidos a 1 atm

Contenido de oxígeno a 25 °C y presión al nivel del mar	
Sangre (hemoglobina de 7,0)	72,8 mg/l
Agua	8,3 mg/l
LM (20%)	15,1 mg/l
LM (20% después de la perfusión con oxígeno)	75,5 mg/l

Tabla III: Contenido teórico de oxígeno en RF con concentraciones de lípidos más altas

Contenido teórico de oxígeno a concentraciones más altas	
LM (40%)	24,9 mg/l
LM (40% después de la perfusión con oxígeno)	124,5 mg/l
LM (60%)	33,2 mg/l
LM (60% después de la perfusión con oxígeno)	166,0 mg/l

Ejemplo 3: El efecto del fluido de reanimación en el restablecimiento de la presión arterial en ratones con shock hemorrágico grave

Se determinó el efecto de RF sobre la presión sanguínea en el Ejemplo 2 en ratones. Los ratones se anestesiaron y se introdujo una cánula en la arteria carótida. Toda la sangre que pudo extraerse se extrajo por la arteria carótida. Después de la extracción de sangre, se introdujo un volumen de RL o RF igual a la cantidad de sangre extraída. Tanto en el grupo RF como en el RL se tuvieron seis ratones. El período de observación fue de una hora. Dos de los ratones que recibieron RL fallecieron en menos de diez minutos. Todos los ratones tratados con RF sobrevivieron durante el período completo de observación de una hora y hasta el momento en que se sacrificaron a las 1-4 horas. Se sacrificaron los animales cuando empezaron a despertar de la anestesia o al terminar el período de observación para prevenir el sufrimiento.

En las Figuras 1 y 2 se muestra la diferencia entre la presión sanguínea sistólica (Figura 1) y la presión sanguínea diastólica (Figura 2) después de la hemorragia y después de la infusión de RL o RF al tiempo = 0, 30 y 60 minutos. El eje Y representa la presión sanguínea alcanzada después de la infusión menos la presión sanguínea después de la hemorragia en mm de Hg. El eje X muestra el tiempo específico después de la infusión. Todos los datos fueron analizados por lo que respecta a su significancia estadística usando una prueba t de dos colas sin apareamiento. En estos gráficos se muestra que RF aumentó la presión sanguínea más que RL.

En otro experimento se administró un volumen de RF del doble de la cantidad de sangre extraída. Esto provocó un aumento aún mayor de la presión sanguínea, como se muestra en la Figuras 3 y 4. Los puntos del gráfico representan la media de 6 ratones ± DE. El eje Y muestra la diferencia entre la presión sanguínea sistólica (Figura 3) y la presión sanguínea diastólica (Figura 4) después de la infusión de RF a 1 x el volumen sanguíneo (diamante) o 2 x el volumen sanguíneo (cuadrado) menos la presión en la línea base antes de la hemorragia en mm de Hg. Por lo tanto, de acuerdo con este sistema, 0 representa la presión sanguínea al inicio del experimento antes de la hemorragia. El eje X muestra los tiempos específicos después de la infusión. 2 x el volumen sanguíneo aumentó la presión sanguínea por encima de la presión alcanzada después de la infusión de 1 x el volumen sanguíneo ($p < 0,01$). Más aún, la presión alcanzada después de la infusión de 2 x el volumen de la sangre extraída excedió la presión existente antes de la hemorragia.

En otro experimento, se preparó un fluido de reanimación que contenía Intralipid® 20% y 5% (p/v) albúmina disolviendo albúmina (Sigma Aldrich, 99% pura, sin ácidos grasos, fundamentalmente sin globulina, número de catálogo A3782-5G) en Intralipid® 20% hasta una concentración final de 50 mg/ml. El nuevo fluido de reanimación con albúmina (RFA) se ensayó usando el procedimiento experimental descrito anteriormente. Se emplearon como controles albúmina disuelta en solución salina normal (NSA) y lactato de Ringer (RLA) a 50 mg/ml, así como la sangre extraída (es decir, la sangre que había sido extraída de los ratones). En la Figura 5, el eje Y muestra el porcentaje de la presión sanguínea sistólica antes de la hemorragia alcanzado mediante la infusión de los diferentes fluidos. El eje X muestra los tiempos específicos después de la infusión. Los datos demuestran que RFA es superior en el mantenimiento de la presión sanguínea aún en el caso de la sangre extraída. También se obtuvieron resultados similares en el caso de la presión sanguínea diastólica (no se muestran). Para cada punto de tiempo, se mostró en el gráfico un promedio de 6-7 ratones. Las diferencias entre la sangre derramada y RFA fueron estadísticamente significativas ($P < 0,05$) a los 5, 15 y 30 minutos.

Estos resultados experimentales concuerdan con que las micelas lípidas en el fluido de reanimación pueden ejercer

- 5 una fuerza osmótica y absorber los mediadores de la potencia vascular, como por ejemplo las prostaglandinas, el óxido nítrico, los leucotrienos y los factores de activación de plaquetas.

5

REIVINDICACIONES

1. Fluido de reanimación a base de lípidos que comprende:
 - a. una emulsión lipídica y un agente tampón; y/o
 - b. un componente lipídico y un portador acuoso, en el que dicho componente lipídico forma una emulsión con dicho portador acuoso en forma de micelas lipídicas con una superficie polar externa y un espacio hidrofóbico interno, para su uso en un método de tratamiento del shock hemorrágico en un sujeto humano o animal, comprendiendo dicho método la administración a dicho sujeto de una cantidad efectiva del fluido de reanimación a base de lípidos.
2. Fluido de reanimación a base de lípidos para su uso, según la reivindicación 1, en el que dicho shock hemorrágico es un shock hemorrágico grave.
3. Fluido de reanimación a base de lípidos para su uso, según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, que comprende además un componente del plasma.
4. Fluido de reanimación a base de lípidos para su uso, según la reivindicación 3, en el que dicho componente del plasma es albúmina.
5. Fluido de reanimación a base de lípidos para su uso, según la reivindicación 1, en el que dicha emulsión lipídica comprende 20% de aceite de soja, 1,2% de fosfolípido de yema de huevo, 2,25% de glicerina, agua e hidróxido de sodio para ajustar el pH a 8.
6. Fluido de reanimación a base de lípidos para su uso, según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que comprende además al menos un aditivo seleccionado del grupo que consiste en agentes oncóticos, agentes cristaloides, agentes tampón, carbohidratos, sales, vitaminas, anticuerpos y tensoactivos.
7. Fluido de reanimación a base de lípidos para su uso, según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que dicho fluido de reanimación comprende histidina a una concentración entre 0,01 M y 0,2 M.
8. Fluido de reanimación a base de lípidos para su uso, según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, que comprende además sulfuro de hidrógeno o monóxido de carbono.
9. Fluido de reanimación a base de lípidos para su uso, según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que el método de tratamiento del shock hemorrágico en un sujeto humano o animal comprende además la oxigenación del fluido de reanimación a base de lípidos antes de la administración a dicho sujeto.
10. Fluido de reanimación a base de lípidos para su uso, según la reivindicación 9, en el que dicho fluido de reanimación a base de lípidos se oxigena burbujeando un gas que contiene oxígeno a través del fluido de reanimación a base de lípidos durante 1 a 5 minutos.
11. Fluido de reanimación a base de lípidos para su uso, según cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que la emulsión lipídica es una emulsión lipídica oxigenada.
12. Equipo de reanimación que comprende el fluido de reanimación a base de lípidos, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, y un dispositivo de oxigenación.
13. Equipo de reanimación, según la reivindicación 12, en el que el dispositivo de oxigenación es un recipiente que contiene un gas de oxigenación.
14. Equipo de reanimación, según la reivindicación 13, en el que:
 - a. el gas de oxigenación comprende 90-100% (v/v) de oxígeno; y/o
 - b. el gas de oxigenación comprende una mezcla de oxígeno, sulfuro de hidrógeno y monóxido de carbono.
15. Equipo de reanimación, según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, en el que el dispositivo de oxigenación comprende una bomba de aire.
16. Equipo de reanimación, según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15, que comprende además un equipo de infusión por vía intravenosa (IV).

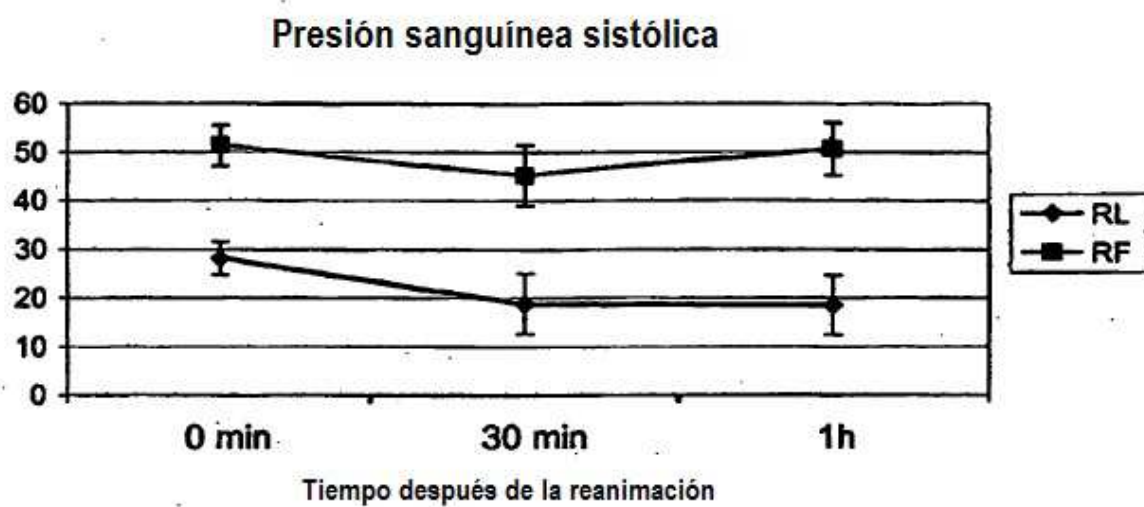


Figura 1

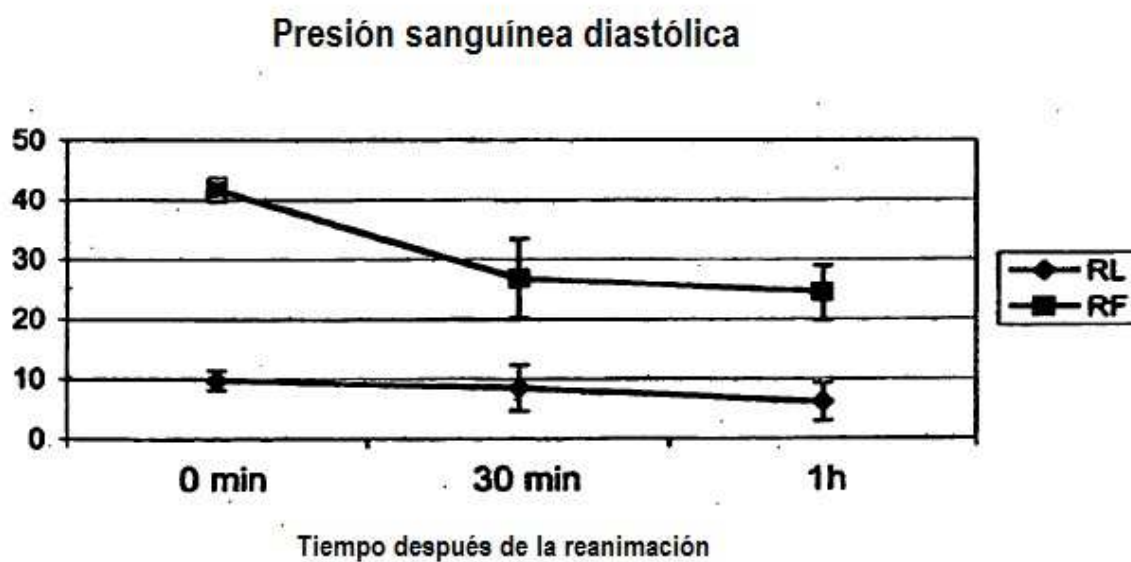


Figura 2

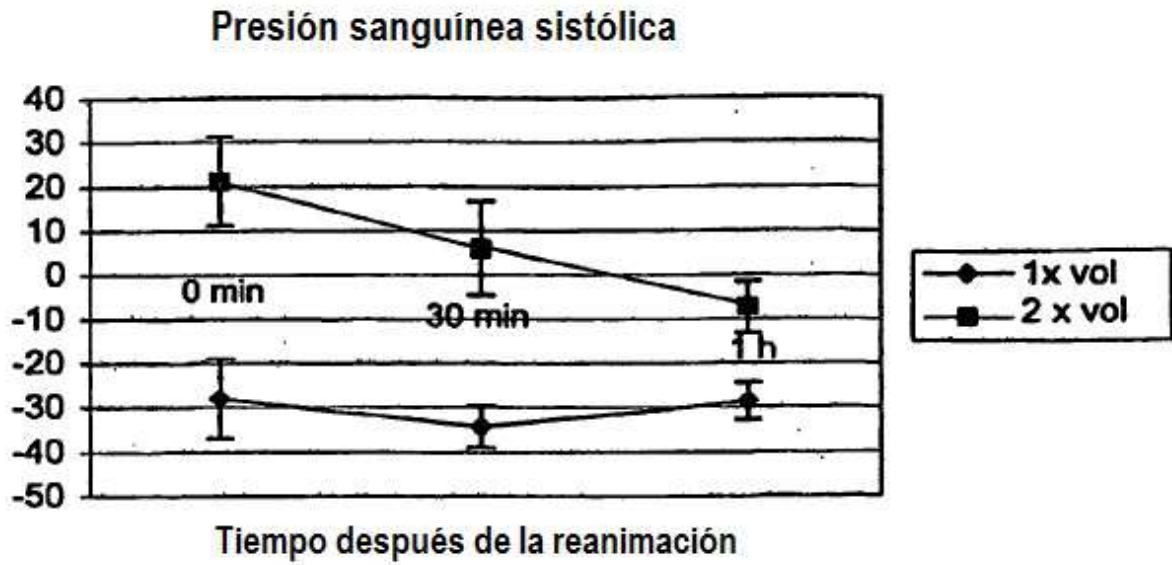


Figura 3

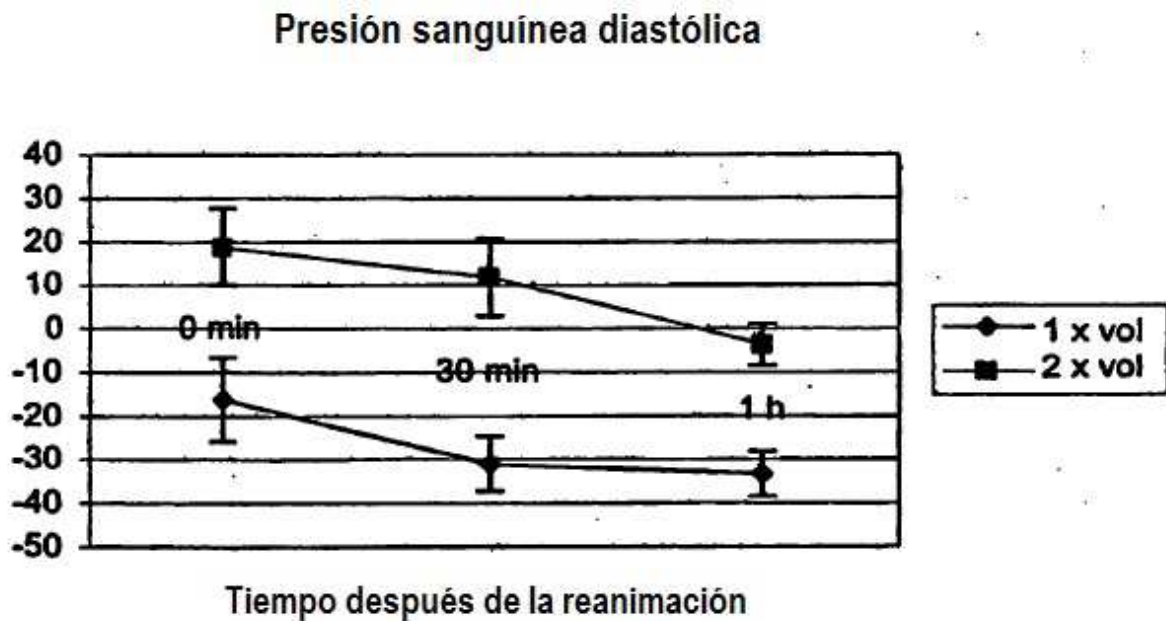


Figura 4

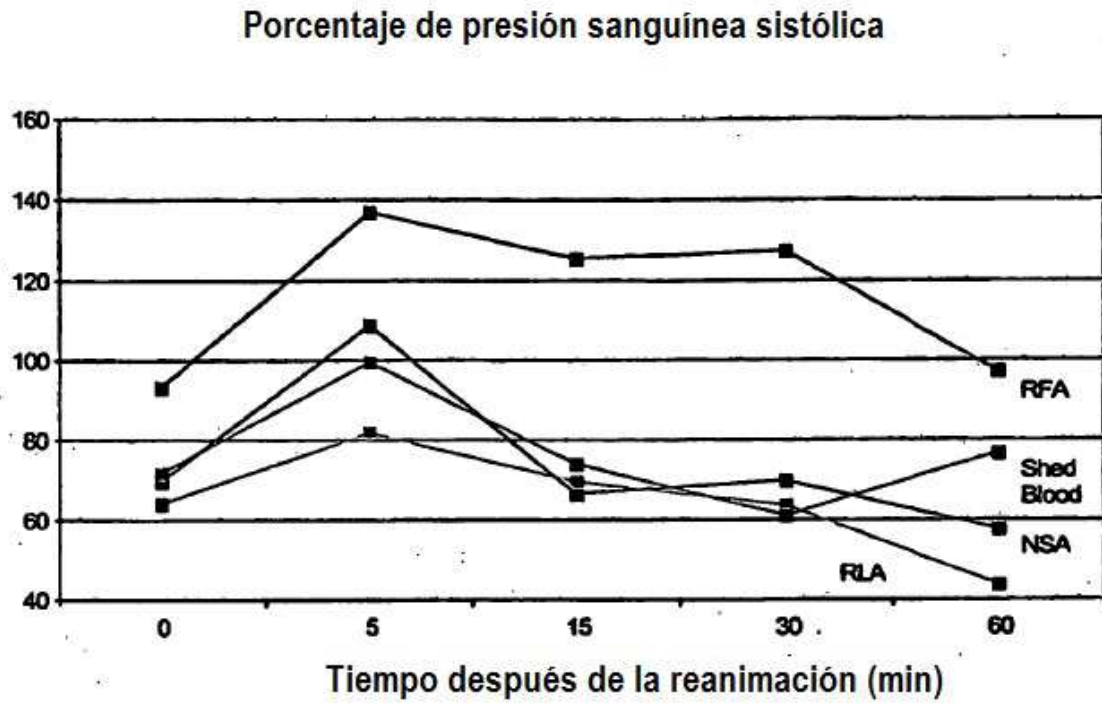


Figura 5