

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 640 383**

51 Int. Cl.:

A61K 38/38 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.07.2014 PCT/EP2014/063905**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.01.2015 WO15000871**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.07.2014 E 14735554 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.08.2017 EP 3016675**

54 Título: **Solución protectora para prevenir o reducir una lesión por reperfusión del cerebro y del organismo completo**

30 Prioridad:

05.07.2013 EP 13175243

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

02.11.2017

73 Titular/es:

**RESUSCITEC GMBH (100.0%)
Engesser Straße 4a
79108 Freiburg i.Br., DE**

72 Inventor/es:

**BENK, CHRISTOPH;
BEYERSDORF, FRIEDHELM y
TRUMMER, GEORG**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 640 383 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).

DESCRIPCIÓN

Solución protectora para prevenir o reducir una lesión por reperusión del cerebro y del organismo completo

- 5 La parada circulatoria súbita es frecuente con una incidencia de 60/100 000 residentes en la Unión Europea. La reanimación cardiopulmonar (RCP), incluyendo el masaje torácico externo, la desfibrilación, la ventilación mecánica y el tratamiento con fármacos, es la manera establecida de tratamiento. Sin embargo, a pesar de los esfuerzos crecientes en la formación del personal médico y de posibles observadores, del equipo mejorado y de las amplias directrices interdisciplinarias, la RCP sigue siendo una tarea difícil y algo improvisada. Además, el resultado respecto
- 10 a la supervivencia y la recuperación neurológica no es satisfactorio: Se presentan tasas de mortalidad de >70 % en pacientes que experimentan RCP en el hospital que tasas mucho mayores en escenarios fuera del hospital. Más allá de eso, es frecuente el daño cerebral en el caso raro de supervivencia.
- 15 El documento EP 1 362 511 A divulga una solución protectora para la prevención de los daños causados por isquemia. Dichas soluciones tienen una osmolalidad entre 290 mOsm/l y 350 mOsm/l y un valor de pH entre 6,8 y 7,4. La osmolalidad, así como el intervalo de pH están por debajo de los indicados en la presente solicitud. Además, la solución protectora no incluye la presencia de albúmina y no se refiere de forma explícita a la reducción de la lesión por reperusión del cerebro que se abarca en este momento.
- 20 El documento WO 2011/008695 se refiere a materiales y métodos para lavar abundantemente y la crioconservación o conservación en frío de los órganos, los tejidos y las células, reduciendo al mismo tiempo o minimizando los daños a los mismos. Sin embargo, difiere en el intervalo inferior de osmolalidad y en la ausencia de albúmina de la solución protectora de la presente solicitud.
- 25 El documento WO 2008/001096 divulga una solución de conservación de órganos para su uso en la conservación de órganos y/o tejidos antes del trasplante, incluyendo dicha solución también sulfato de magnesio y albúmina recombinante. Carecen de cualquier información acerca del valor crítico de la osmolalidad.
- 30 SUAREZ J I *et al.*: "Treatment of subarachnoid hemorrhage with human albumin: ALISAH study. Rationale and design", NEUROCRITICAL CARE, HUMANA PRESS, TOTOWA, NJ, EE. UU., vol. 13, n.º 2, 1 de octubre de 2010 (01-10-2010), páginas 263-277, informa sobre el tratamiento de la hemorragia subaracnoidea (SAH) con albúmina humana, incluyendo la evaluación del efecto del tratamiento con albúmina sobre la isquemia cerebral retardada en 15 días después de la aparición de los síntomas. El artículo no menciona nada sobre una solución protectora como se divulga en este momento y en su lugar enfatiza la dosificación tolerada de tratamiento de albúmina humana del
- 35 25 % basándose en la tasa de eventos adversos graves relacionados con el tratamiento durante el tratamiento.
- Trummer *et al.*, The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, mayo de 2010, pág. 1325-1332 informan de la reanimación satisfactoria después de periodos prolongados de parada cardíaca. De acuerdo con este informe fue posible reanimar en un modelo animal usando cerdos hasta 15 minutos después de la parada cardíaca. En los
- 40 experimentos se estableció una circulación extracorpórea de sangre usando solución de Ringer junto con heparina como solución de tratamiento previo.
- Un objetivo de la presente invención es proporcionar soluciones protectoras que pueden usarse en el proceso de reanimación después de parada cardíaca. Es deseable mantener los daños, en particular del cerebro al nivel más
- 45 bajo posible. Se ha observado en muchos casos donde los pacientes se han reanimado después de un periodo más largo tras la parada cardíaca, que se producían daños sustanciales del cerebro. Dichos daños tenían el efecto de que las personas se veían gravemente comprometidas en el ámbito mental y dichos pacientes no podían volver a la vida normal.
- 50 En este documento se divulgan soluciones protectoras que pueden usarse preferiblemente en procedimientos de reanimación que se describen en más detalle, por ejemplo, en el documento WO 2011/045011. En un periodo relativamente corto de tiempo después de una parada cardíaca, la circulación de sangre tiene que volver a establecerse. Cuando se produce parada cardíaca en un hospital, por ejemplo, en el curso de tratamientos quirúrgicos del corazón, las condiciones son más controlables en comparación con casos en que la parada cardíaca
- 55 repentina se produce fuera del hospital. Habitualmente hay un retardo de tiempo hasta que los médicos y observadores pueden volver a establecer la circulación sanguínea. El órgano que se ve más gravemente comprometido por la parada cardíaca es el cerebro. Las soluciones protectoras divulgadas en este documento evitan o reducen los daños que se causan por el reinicio de la circulación sanguínea después de una parada cardíaca.
- 60 Hasta la fecha, está generalmente aceptado que la función normal del cerebro y el miocardio puede recuperarse solamente cuando se emplea RCP convencional en los primeros 3 a 5 minutos después de la paralización circulatoria. Por lo tanto, como el tiempo es el factor más importante en la determinación del desenlace clínico del paciente después de la RCP, se hacen todos los intentos por empezar la RCP lo más pronto posible después de una
- 65 parada cardíaca para evitar el daño cerebral después de la reanimación. Sin embargo, desde un punto de vista fisiopatológico, la paralización circulatoria después de una parada cardíaca puede interpretarse como una isquemia del organismo completo seguida por lesión por reperusión cuando se vuelve a establecer el suministro de sangre.

Este fenómeno se conoce como "lesión por isquemia-reperusión" en el tejido de ciertos órganos. Sin embargo, estos órganos pueden recuperarse para intervalos mucho más largos si la reperusión inicial después de una lesión isquémica significativa se controla en términos de las condiciones de reperusión (presión, flujo, temperatura) y la composición del líquido de reperusión. Los efectos beneficiosos de este régimen de tratamiento se han demostrado en el músculo cardíaco, el músculo esquelético, el hígado, el pulmón y el tejido renal.

Asumiendo que una lesión por isquemia-reperusión grave del organismo completo y el cerebro después de una detención de la circulación es la causa subyacente de morbilidad y mortalidad después de la RCP, se dio especial atención a las condiciones de reperusión del organismo completo después de la RCP. La opción para conectar el paciente a través de canulación de los vasos arteriales y venosos a un sistema de oxigenación por membrana extracorpórea (OMEC) con estabilización posterior usando circulación extracorpórea se ha demostrado como una herramienta útil para mejorar la supervivencia después de la RCP. Como la restauración de la circulación y un suministro suficiente de sangre a los órganos como especialmente el cerebro, son los aspectos principales respecto a la RCP, el uso de OMEC durante y después de la RCP posibilita potencialmente el control de las condiciones de reperusión en términos de presión sanguínea, flujo y el líquido de reperusión. Sin embargo, las condiciones eficaces para la reperusión del organismo completo después de una parada cardíaca normotérmica aún no se han definido.

Aunque el objetivo en la reanimación es evitar daños graves del cerebro, otros órganos esenciales tampoco deben verse afectados de forma letal. En los procedimientos de reanimación tiene que tenerse cuidado de que los órganos esenciales como, en particular, el corazón, el hígado, el pulmón y el riñón no se dañen en un grado tal que el paciente no pueda sobrevivir a la reanimación. Como las mejores condiciones para cada órgano pueden no ser idénticas, a veces tiene que seleccionarse el mejor compromiso que evite daños graves del cerebro por un lado y daños irreversibles de los órganos esenciales como el corazón o el pulmón por otro lado.

En una serie amplia de experimentos en animales, se exploró la relevancia de estas condiciones en un modelo porcino establecido. Los resultados obtenidos con el mismo permiten una extrapolación fiable a seres humanos. El objetivo principal de esta investigación es proporcionar una reperusión controlada del organismo completo con prioridad para la demanda del órgano más sensible, el cerebro. Como se describe anteriormente, la lesión por isquemia-reperusión, expresada como el grado de edema cerebral, debe limitarse lo más posible. Más allá de la definición de condiciones físicas de reperusión (temperatura, presión/flujo sanguíneo) la composición del líquido de reperusión es objeto de la presente divulgación. En realizaciones preferidas, la hipocalcemia, hipermagnesemia e hiperosmolaridad son aspectos relevantes para evitar el edema en el tejido reperfusionado. Las soluciones protectoras descritas en este documento también se diseñan como soluciones de tratamiento previo.

Sin el deseo de limitarse a teoría alguna, el uso de estos elementos en un líquido de reperusión modificado se basa en las siguientes consideraciones:

Un aspecto principal de la solución de tratamiento previo es la hiperosmolaridad. La osmosis se produce cuando una sustancia en solución cruza la membrana desde un área de baja concentración hasta un área de mayor concentración para establecer el equilibrio. La concentración de partículas disueltas en solución expresada como moles de soluto por litro de disolvente se menciona como "osmolalidad". En plasma humano, la concentración de partículas disueltas es de aproximadamente 0,290 mol. Por lo tanto, su osmolalidad es 290 mOsm/l. El intervalo de plasma humano normal se extiende habitualmente de aproximadamente 250 a 310 mOsm/l.

Fluye agua desde un área de baja osmolalidad hasta un área de alta osmolalidad a una tasa directamente proporcional a la diferencia (gradiente) en la osmolalidad hasta que se alcanza el equilibrio. Las soluciones que contienen la misma concentración de partículas como la sangre son isosmóticas (isotónicas). En medicina, una solución de cloruro sódico al 0,9 % que es isosmótica con la sangre y el endotelio venoso se usa frecuentemente. Las soluciones con una osmolalidad inferior (una concentración inferior de las partículas disueltas) se denominan hipotónicas. Las soluciones con una mayor osmolalidad que la de la solución salina normal (cloruro sódico al 0,9 %) se denominan hipertónicas o de hiperosmolaridad.

Las soluciones protectoras de la presente invención son de hiperosmolaridad y tienen una osmolalidad que varía de 300 a 700 mOsm/l. Un intervalo preferido es de 400 a 600 mOsm/l y es particularmente preferida una osmolalidad de 440 a 550 mOsm/l. Todas las partículas disueltas en solución contribuyen a la osmolalidad.

Un componente preferido para aumentar la osmolalidad de las soluciones protectoras divulgadas en este documento es albúmina, preferiblemente albúmina humana. La albúmina humana se eligió como componente básico de la solución de tratamiento previo para generar un líquido de reperusión de hiperosmolaridad. La alta masa molecular comparable de la albúmina reduce potencialmente la transferencia de estas moléculas en el espacio extravascular y se une potencialmente al fluido intracelular evitando el edema celular.

Además de la albúmina humana, las propiedades hiperosmóticas de los alcoholes de azúcar, como el manitol, pueden usarse como auxiliar útil de la solución de tratamiento previo. En otras realizaciones, es posible usar también otras sustancias para aumentar la osmolalidad. Tiene que considerarse, sin embargo, que algunos de dichos componentes también tienen efectos secundarios cuando se usan como soluciones de infusión. El manitol tiene, por

ejemplo, un efecto diurético. Otros componentes adecuados son azúcares tales como, por ejemplo, glucosa. Cuando se seleccionan otros componentes, tienen que evitarse los efectos secundarios indeseados.

Un aspecto importante adicional de las soluciones protectoras descritas en este documento es el contenido aumentado de iones de magnesio en la solución. Se cree que la alta concentración de iones de magnesio (Mg^{2+}) tiene efectos protectores en particular con respecto a la prevención o reducción de daños causados por la lesión por reperfusión. Los efectos citoprotectores de la hipermagnesemia se han descrito en la respiración de mitocondrias aisladas del corazón. Además, la agregación de las plaquetas puede disminuirse con efectos potenciales sobre el fenómeno de "ausencia de reperfusión" que es otro síntoma de la lesión por reperfusión. Por lo tanto, preferiblemente se añade magnesio a las soluciones de tratamiento previo descritas en este documento. Los iones Mg^{2+} pueden introducirse en la solución en forma de una sal adecuada. Un componente preferido que contribuye a la alta concentración de Mg^{2+} es citrato de magnesio. En esta realización preferida, el anión citrato tiene propiedades ventajosas adicionales como se describe a continuación. Otras fuentes preferidas de iones Mg^{2+} son sulfato de magnesio o aspartato de magnesio.

Como la isquemia causa un fallo del cotransportador bidireccional de Na^+/Ca^{2+} dependiente de energía y basado en membrana celular, la concentración de calcio en el citosol se aumenta excesivamente con posterior acumulación de fluido dentro de la célula. Este aumento de fluido es equivalente a un edema de la célula, que da lugar finalmente a disfunción y potencialmente fallo terminal de la célula. Por lo tanto, el suministro reducido de calcio a las células limita este efecto. La reducción del contenido de calcio se alcanza añadiendo citrato de magnesio o citrato de sodio a la solución de tratamiento previo. Como alternativa, pueden usarse otros agentes quelantes, tales como, por ejemplo, ácido 2,3-dimercapto-1-propano sulfónico (DMPS), ácido alfa lipoico (ALA) o ácido etilendiaminatetracético o metilamina. La selección del agente quelante adecuado depende de los otros componentes de la solución. Los agentes quelantes que se unen a Ca^{2+} mejor que a Mg^{2+} son particularmente preferidos.

Otro componente preferido de la solución protectora es lidocaína (2-dietilamino-N-(2,6-dimetilfenil)acetamida). La lidocaína está disponible, por ejemplo, con la marca registrada xilocaína y es bien conocida como un anestésico de acción local y agente antiarrítmico.

En una realización preferida, la solución protectora comprende una alta dosificación de lidocaína. Las dosificaciones varían de 1 a 20 mg/kg de peso corporal más preferiblemente de 5 a 15 mg de lidocaína por kg de peso corporal del paciente a tratar, y particularmente preferido se añaden aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal a la solución de tratamiento previo. La cantidad de lidocaína presente en la solución protectora depende un poco del peso corporal del paciente a tratar.

Habitualmente, la solución protectora tiene una concentración 0,05-1,0 g por l de solución. En realizaciones más preferidas, el contenido de lidocaína varía de 0,1-0,7 g por l de solución. Incluso más preferida es una cantidad de 0,3-0,7 g por l de solución. Como el peso corporal del paciente en un caso de urgencia no es conocido, la concentración de lidocaína puede calcularse sobre un peso corporal promedio de, por ejemplo, 70 kg. La lidocaína causa el bloqueo de los canales de sodio abiertos por voltaje, que da lugar finalmente a una estabilización de la membrana celular. Este efecto es beneficioso en células de miocardio y neuronas. Por lo tanto, la lidocaína es un componente preferido de la solución de tratamiento previo.

Un auxiliar preferido adicional de la solución de tratamiento previo es heparina. La heparina se usa para proporcionar suficiente anticoagulación, que es necesaria para ejecutar la circulación extracorpórea. Como muchos pacientes no se tratan con heparina en el momento de la RCP o el estado de coagulación no está claro, la adición de este fármaco en el tratamiento previo es concebible.

En una realización preferida, la solución protectora para prevenir o para reducir la lesión por reperfusión del cerebro tiene una osmolalidad de 350 a 600 mosm/l, un valor de pH de 6,8 a 7,8, preferiblemente de 7,4 a 7,6. El valor de pH fisiológico del organismo humano es de aproximadamente pH 7,4. En una realización particularmente preferida de la presente invención, las soluciones protectoras divulgadas en este documento tienen un valor de pH algo inferior. Por lo tanto, se prefiere usar un valor de pH de aproximadamente 7,0 a 7,4 que disminuye el valor de pH en el organismo.

Para el mantenimiento del valor de pH, las soluciones protectoras divulgadas en este documento también pueden contener un agente tamponante para permitir un pH alcalótico de la solución en ciertos momentos del proceso de perfusión para contrarrestar la acidosis celular. Un agente tamponante adecuado puede ser un sistema de fosfato, hidrogenofosfato o un sistema tamponante de bicarbonato. Dicho tampón puede administrarse en una dosificación de 0,1 mmol por kilogramo de peso corporal y hora hasta 3 mmol por kilogramo de peso corporal y hora. La concentración del agente tamponante comprende todos los iones que pueden contribuir al efecto tamponante. En una solución tamponante de fosfato todos los iones fosfato (PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , $H_2PO_4^-$ y H_3PO_4) se tienen en cuenta en el cálculo de la concentración del agente tamponante.

Uno de los componentes que contribuye principalmente a la hiperosmolaridad de la solución protectora es la albúmina, por lo que se usa preferiblemente seroalbúmina humana. La albúmina se añade a la solución protectora

en una cantidad de un 1-20 %, preferiblemente un 2-15 % y más preferiblemente un 5-10 % en peso basado en la solución. La albúmina está habitualmente disponible como solución con una alta concentración de albúmina, por ejemplo, un 20 % de albúmina humana en solución. Dicha solución con una alta concentración de albúmina se usa para la preparación de la solución protectora. Aunque también puede usarse albúmina de otras fuentes, se prefiere utilizar seroalbúmina humana ya que este material está disponible en grandes cantidades. La seroalbúmina humana a usar debe prepararse específicamente para aplicación a seres humanos. Esto significa que debe estar libre de virus contaminantes o de otros restos indeseables de componentes tóxicos.

En otra realización, la solución protectora contiene también un alcohol de azúcar adicional. Un alcohol de azúcar preferido es manitol. También es posible, sin embargo, usar eritritol.

Un aspecto esencial de la presente invención es que la solución protectora contiene un alto contenido de iones magnesio. La concentración de magnesio varía de 0,1-15 mmol/l, preferiblemente de 1,0-8,0 y más preferiblemente de 1,5-4,5 mmol/l.

Otro aspecto de la solución protectora es que la solución debe estar esencialmente libre de iones calcio. Para eliminar el calcio contenido en los vasos sanguíneos, la solución protectora contiene un agente quelante. Un agente quelante preferido es citrato. El citrato puede estar presente en una cantidad de 0,1-20 mmol/l, preferiblemente en una cantidad de 1,0-5,0 mmol/l. Es posible, en una realización particularmente preferida, que la solución protectora se prepare usando citrato de magnesio para conseguir una alta concentración de magnesio y para introducir los aniones citrato en la solución sin contraiones que pudieran alterar el efecto de la solución protectora.

En otra realización preferida, la solución protectora contiene una cantidad sustancial de heparina. Preferiblemente, la concentración de heparina varía de 5000 a 50.000 UI por litro de solución, más preferiblemente está en un intervalo de 15.000-40.000 UI por litro de solución y de forma particularmente preferible está en un intervalo de 20.000-30.000 UI por litro de solución.

Un aspecto importante de la presente invención es la viscosidad de las soluciones protectoras divulgadas en este documento. En los procedimientos de reanimación donde se usan las soluciones protectoras (soluciones de tratamiento previo), la solución y la mezcla de la solución y la sangre del paciente tienen que bombearse a través del organismo del paciente y a través de la máquina usada. La viscosidad de la solución, por lo tanto, desempeña una tarea esencial. Las viscosidades de las soluciones mezcladas son difíciles de describir de forma precisa. Además, la viscosidad depende de la temperatura de la solución. Es esencial que la solución protectora descrita en este documento tenga una viscosidad de menos de 3 mPa a 37 °C y menos de 5 mPa a 32 °C. Cuando las soluciones protectoras se mezclan con la sangre humana, la viscosidad de la solución protectora debe ser menor de 4 mPa a 37 °C y menor de 6 mPa a 32 °C. La viscosidad se determina por métodos bien conocidos para los expertos en la materia. Un método muy común para medir la viscosidad es un viscosímetro Brookfield. Como alternativa, sin embargo, la viscosidad también puede medirse por viscosímetro capilar o viscosímetro giratorio. Para la medición del plasma sanguíneo, se ha recomendado un viscosímetro capilar especializado (viscosímetro de dureza). Se describen otros métodos, por ejemplo, en Haidekker et al., Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002, H1609-H1614).

Las soluciones protectoras divulgadas en este documento se usan preferiblemente para la prevención o la reducción de la lesión por reperfusión del cerebro que se produce potencialmente después de reanimación cardiopulmonar. La expresión reanimación cardiopulmonar comprende eventos que pueden producirse en el hospital, por ejemplo, cirugía cardíaca o que pueden producirse espontáneamente en la vida diaria y también fuera de un hospital, por ejemplo, después de un infarto de miocardio o fibrilación ventricular espontánea.

En una realización particularmente preferida, la solución protectora para reducir la lesión por reperfusión del cerebro se usa en un dispositivo que se describe en detalle en el documento WO 2011/04011.

Una solución protectora preferida contiene lidocaína en una cantidad de 0,05-1,0 g por litro de solución, un alcohol de azúcar en una cantidad de 1,0-50 g/l, por lo que el alcohol de azúcar es preferiblemente manitol, magnesio que está presente en una concentración de 1,0 a 15 mmol/l, 5000 a 50.000 UI de heparina/l de solución e iones citrato en una cantidad de 20 a 100 mmol/l de solución.

La solución protectora se usa preferiblemente en la prevención o en la reducción de lesión por reperfusión del cerebro después de reanimación cardiopulmonar.

En otra realización preferida, la solución protectora se usa en la prevención o en la reducción de la lesión por reperfusión del cerebro después de reanimación cardiopulmonar con una solución que contiene 0,1-25,0 mmol de potasio por l de solución. En algunas realizaciones, puede ser preferible tener una concentración de más de 8 mmol/l de potasio en la solución. En dichas realizaciones, la concentración de potasio es de 8 a 25 mmol de potasio por litro de solución. El efecto de la alta concentración de potasio es que puede evitarse o realizarse menos frecuentemente la desfibrilación cardíaca. Añadiendo potasio a la solución, se reduce la actividad eléctrica y muscular consecutiva del corazón a casi cero. La ventaja de ello es que el proceso de consumo de sustrato y energía de la fibrilación ventricular puede terminarse. Lo que significa que después de la renovación de los sustratos puede iniciarse mejor el

latido del corazón. Además, se disminuye el riesgo de desplazamiento de las cánulas insertadas durante la desfibrilación potencial.

5 En una realización adicional, la solución protectora puede contener norepinefrina en una concentración de 0,05 µg-0,5 µg de norepinefrina por kg del paciente a tratar. Como las soluciones se preparan por anticipado, la concentración final en la solución protectora puede variar de 1 a 100 mg de norepinefrina por litro de solución.

10 La ciclosporina atenúa la abertura del poro de transición de permeabilidad mitocondrial y estabiliza la membrana mitocondrial interior en cardiomiocitos isquémicos. De ese modo, la ciclosporina A es un componente preferido de la solución protectora. En una realización adicional, la solución protectora puede contener una concentración de 1,0-17,5 mg de ciclosporina A por kg del paciente a tratar. Es más preferido un intervalo de 2,5-15,0 por kg del paciente y es particularmente preferido un intervalo de 4,0-12,0 de ciclosporina A por kg del paciente. La solución, por lo tanto, puede contener de 50 mg a 1300 mg de ciclosporina por litro de solución, preferiblemente de 250 mg a 850 mg de ciclosporina por litro de solución protectora.

15 Una solución de tratamiento previo especialmente preferida se prepara usando:

Albúmina humana al 20 %	500 ml
Manitol al 20 %	250 ml
Citrato sódico al 3,13 %	250 ml
Xilocaína al 2 %	25 ml
Magnesio al 10 %	20 ml
Heparina	15000 UI

20 El análisis de laboratorio revela la siguiente composición química de una solución de tratamiento previo particularmente preferida.

Potasio	Sodio	Cloruro	Calcio	Magnesio	Glucosa	Osmolalidad
mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mg/dl	mosm/kg
1	139,3	30,4	0,36	6,0	<1,0	527

25 Aunque se desea mantener el contenido de calcio lo más bajo posible, la solución final puede contener algo de calcio que habitualmente se lleva a la solución como impureza indeseada. Como la albúmina humana se obtiene de la sangre, puede suceder que se introduzcan restos de calcio en la solución como impureza. El contenido de calcio debe ser, sin embargo, inferior a 0,5 mmol/l.

30 La solución de tratamiento previo se usa para humedecer, lavar abundantemente y desgasificar el circuito extracorpóreo antes de conectar al paciente a un dispositivo que se describe, por ejemplo, en el documento WO 2011/045011. Después de la conexión con el paciente y el encendido de la bomba de sangre, la solución de tratamiento previo se mezcla con la sangre de retorno del paciente y se re-infunde en el paciente a través de la línea arterial. Dependiendo del análisis de la sangre de retorno, se modifica la sangre re-infundida. Parte de esta modificación puede ser la adición de fármacos a través de un sistema de dosificación que es parte de nuestro OMEC. El sistema de dosificación consiste en una línea principal que se lava abundantemente de forma continua con la solución de tratamiento previo o cualquier otra solución cristalóide o coloide intravenosa. Los fármacos pueden añadirse a través de líneas laterales diferentes a la línea principal dependiendo de las necesidades específicas del paciente. Por lo tanto, se puede describir una composición de fármaco dinámica al final de la línea principal del sistema de dosificación.

40 Ejemplo 1

Se ensayó la solución protectora en un modelo animal. Para los experimentos, se usó un modelo de cerdo que se describe en detalle en Trummer et al., Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery (2010), pág. 1325 y sig., al que se hace referencia de forma explícita. En los experimentos, se anestesiaron cerdos que tenían un peso de aproximadamente 55 kg con propofol. La anestesia y la parálisis muscular se mantuvieron con fentanilo. Se hicieron dos incisiones para el acceso vascular. Durante el experimento, se controló la presión sanguínea sistémica, se indujo parada cardiaca por fibrilación ventricular y se mantuvo la parada cardiaca durante 20 minutos. Después de 20 minutos se inició la reanimación usando diferentes soluciones de tratamiento previo. Después del tratamiento se hizo un seguimiento de los animales durante siete días. Después de ello, se realizó eutanasia. Se retiró el cerebro inmediatamente después de ello y se almacenó en solución de formalina para examen histológico.

El estado neurológico de los animales de ensayo se evaluó antes de la anestesia y cada 24 horas después de la reanimación cardiopulmonar. El examen neurológico consistía en cinco aspectos de ensayo que se resumen a continuación:

55 A. Función del nervio central (0-100 puntos): tamaño de pupila (0-10); posición del ojo (0-10); reflejo a la luz, del

párpado y de la córnea (cada uno 0-10); reflejo cilioespinal y oculocefálico (cada uno 0-10); reflejo auditivo y nauseoso (cada uno 1-10); reflejo carinal (0-10)

B. Respiración (0-100 puntos): normal (0), hiperventilación (25), anormal (50), ausente (100)

5 C. Función sensorial motora (0-100 puntos): reflejo de extensión (0-25), respuesta motora al dolor (0-25), orientación (0-25), tono muscular (0-25)

E. Nivel de consciencia (0-100 puntos): normal (0), desorientado (30), delirio (45), letargo (60), coma (100)

F. Comportamiento (0-100 puntos): beber, masticar, sentarse y levantarse (cada uno 0-15); deambular (0-40)

10 El valor total es la suma de todas las secciones (0, normal; 500, muerte cerebral). Los números en paréntesis indican los valores para cada parámetro.

Los cerdos se dividieron en cuatro grupos en los cuales se usó un grupo de control y tres grupos de ensayo.

15 Para el grupo de control, como solución de tratamiento previo se usó solución de Ringer. Los animales se trataron como se describe en Trummer et al., (Journal of Thoracic y Cardiovascular Surgery (2010), pág. 1325-1332). El periodo de tiempo entre la parada cardiaca y la reanimación cardiopulmonar fue de 15 minutos en el grupo de control.

20 Para demostrar que el periodo de tiempo entre la parada cardiaca y la reanimación puede prolongarse por las soluciones protectoras divulgadas en este documento, el tramo de tiempo entre la parada cardiaca y la reanimación fue de 20 minutos para los grupos de ensayo 1-3. La diferencia de 5 minutos es extraordinariamente importante ya que muy a menudo, a pesar de las mejores organizaciones, se necesita más tiempo hasta que puede iniciarse la acción de reanimación.

25 Como soluciones de acuerdo con la invención, se usaron tres soluciones de ensayo 1, 2 y 3.

La solución de ensayo 1 tenía una osmolalidad de 440 mosm/l. Era una solución que contenía además de manitol, lidocaína y también albúmina humana. Los animales se trataron de forma hipotérmica con el objetivo de una temperatura corporal de 32 °C durante 30 minutos.

30 La solución de ensayo 2 tenía una osmolalidad de 550 mosm/l. Contenía albúmina humana, manitol, lidocaína, altas concentraciones de magnesio y citrato sódico. Los animales se trataron de forma hipotérmica con el objetivo de una temperatura corporal de 32 °C durante 30 minutos.

35 La solución de ensayo 3 tenía una osmolalidad de 550 mosm/l. Contenía albúmina humana, manitol, lidocaína, altas concentraciones de magnesio y citrato sódico. Además, se disminuyó la concentración de sodio. Los animales se trataron en condiciones térmicas normales. No se hicieron intentos por controlar la temperatura en este grupo. La temperatura corporal de los cerdos permaneció a ~36 °C.

40 Los resultados de ensayo se proporcionan en la siguiente tabla:

Tiempo entre la parada cardiaca y la reanimación	Soluciones de ensayo	Número total de cerdos usados en este experimento	Cerdos que muestran buenos resultados sobre el valor de deficiencia neurológica
15 minutos	control 1	6	4
20 minutos	solución de ensayo 1	9	6
20 minutos	solución de ensayo 2	9	6
20 minutos	solución de ensayo 3	10	9

Los experimentos muestran claramente que las soluciones protectoras descritas en este documento reducen sustancialmente

45 a) la mortalidad en estos animales y

50 b) los daños del cerebro y permiten una recuperación después de un periodo de tiempo increíblemente largo entre la parada cardiaca y la reanimación cardiopulmonar (20 minutos). La recuperación neurológica se ha cuantificado con el sistema de valoración mencionado anteriormente (NDS). "Buena recuperación" incluye consciencia completa, levantarse, deambular, capacidad de comer y beber de los animales.

55 Este ejemplo comparativo muestra claramente que las soluciones de ensayo divulgadas en este documento permiten una prolongación del periodo de tiempo entre la parada cardiaca y el inicio de los procedimientos de reanimación. Los resultados del valor de deficiencia neurológica padecida en el control después de 15 minutos son muy comparables a la solución de ensayo. La diferencia importante es, sin embargo, la diferencia de tiempo entre 15 minutos y 20 minutos. Además, el experimento muestra que un tratamiento hipotérmico mejora adicionalmente los

resultados.

5 Con las soluciones de control, también fue posible evitar el daño cerebral en varios casos. Cuanto más largo es el periodo de tiempo después del cual los animales usados en los experimentos no padecían daños neurológicos graves, mejor se pueden usar dichas soluciones en seres humanos para evitar los daños en el cerebro en casos de choque cardiogénico, insuficiencia circulatoria grave o reanimación cardiopulmonar.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Solución protectora para prevenir o reducir la lesión por reperfusión del cerebro, que contiene iones magnesio, tiene una osmolalidad de 350 a 600 mosm/l, un valor de pH de 7,5 a 7,8 y albúmina en una cantidad del 1 al 20 % en peso.
2. Solución protectora de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada por que** la albúmina es seroalbúmina humana.
- 10 3. Solución protectora de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, **caracterizada por que** contiene lidocaína en una cantidad de 0,05-1,0 g por l de solución.
- 15 4. Solución protectora de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, **caracterizada por que** contiene un alcohol de azúcar en una cantidad de 1,0-50 g/l.
- 20 5. Solución protectora de acuerdo con la reivindicación 4, **caracterizada por que** el alcohol de azúcar es manitol.
6. Solución protectora de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, **caracterizada por que** el magnesio está presente en una concentración de 0,1 a 15 mmol/l.
- 25 7. Solución protectora de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, **caracterizada por que** contiene de 10.000 a 50.000 UI de heparina por litro de solución.
8. Solución protectora de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, **caracterizada por que** contiene iones citrato en una concentración de 20 a 100 mmol/l de solución.
- 30 9. Solución protectora de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, **caracterizada por que** contiene ciclosporina en una cantidad de 50 mg a 1300 mg por litro de solución protectora.
- 35 10. Solución protectora de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, para su uso en la prevención o la reducción de una lesión por reperfusión del cerebro después de reanimación cardiopulmonar.
11. Solución protectora de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, para su uso en la prevención o la reducción de una lesión por reperfusión del cerebro después de reanimación cardiopulmonar, que se usa junto con una solución que contiene 0,1-25,0 mmol de potasio por l de solución.