

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 751 767**

51 Int. Cl.:

**A01N 1/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.01.2017 PCT/EP2017/050881**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.07.2018 WO18133921**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.01.2017 E 17700817 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2019 EP 3448149**

54 Título: **Soluciones de conservación y/o perfusión de órganos**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**01.04.2020**

73 Titular/es:  
**XVIVO PERFUSION AB (100.0%)  
Box 53015  
40014 Göteborg, SE**

72 Inventor/es:  
**SJÖQVIST, ELIN y  
SIGVARDSSON, ANNE-LI**

74 Agente/Representante:  
**DURAN-CORRETJER, S.L.P**

**ES 2 751 767 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**

Soluciones de conservación y/o perfusión de órganos

**5 Sector de la invención**

La presente invención se refiere a soluciones de conservación y/o perfusión de órganos para un tejido u órgano aislado, comprendiendo las soluciones dextrano, glucosa, iones de calcio, un tampón y agua, que tiene un pH de 6,6 a 7,8, y que es estéril al haber sido sometida a esterilización con calor, así como a procedimientos de fabricación y utilización de dichas soluciones.

**Estado de la técnica anterior**

Se han utilizado soluciones de dextrano para distintos fines médicos durante más de 50 años. La solución de Perfadex® es una solución de dextrano esterilizada con calor que fue desarrollada para la perfusión de órganos en la década de 1970. Durante los últimos quince o veinte años se ha convertido en el producto predominante para la conservación de los pulmones antes del trasplante. La solución de Macrodex® y la solución de Rheomacrodex® se han utilizado durante incluso más tiempo como expansores del plasma durante la cirugía y en pacientes con traumatismos. La solución de PrimECC® (la Patente PCT/EP2011/069524) es otra solución de dextrano indicada como una solución de imprimación para máquinas de circulación extracorpórea. Todas estas soluciones se proporcionan comercialmente con un pH subfisiológico de aproximadamente 4 a 6. Las soluciones pueden estar ligeramente tamponadas con fosfato y/o bicarbonato, pero a medida que disminuye el pH durante la esterilización con calor debido a la hidrólisis del dextrano, el pH en el producto, tal como se proporciona en el mercado, está por debajo de 6,6 y, a menudo, por debajo de 6 a la temperatura de su utilización. Este pH subfisiológico no ha sido una preocupación principal para los productos que se infunden, tal como una solución de Macrodex® o una solución de PrimECC®, ya que la acidez es débil y el contenido del plasma, principalmente la albúmina de suero, se tampona al instante para mantener el pH fisiológico en el plasma.

Cuando se utiliza una solución de dextrano para lavar por descarga o perfundir un órgano aislado, no quedan muchos componentes del plasma, tales como la albúmina del suero, y, por lo tanto, se reduce la capacidad de tamponamiento en el órgano o tejido aislado. De este modo, en la práctica, los usuarios, en general, tamponan la solución de Perfadex® con tris(hidroximetil)aminometano (en los sucesivos TRIS, también denominado THAM) o tampones similares para alcanzar un pH fisiológico justo antes de la utilización. El tamponamiento de la solución de Perfadex® por los usuarios (también denominado tamponamiento previo a la utilización) ha sido aceptado, pero siempre existe el riesgo de cometer errores cuando un producto no se proporciona listo para su utilización. El usuario podría olvidar por completo tamponar la solución o el usuario podría utilizar un tampón incorrecto o una concentración incorrecta. Cualquiera de estas circunstancias podría afectar negativamente a la calidad del órgano aislado, por ejemplo, el pulmón o los pulmones. Por lo tanto, una solución de perfusión de órganos tamponada previamente lista para su utilización mejoraría la seguridad de la conservación de los órganos, así como la comodidad del usuario.

La Patente WO2012/142487 da a conocer una solución de perfusión para pulmones llamada solución OCS, que comprende dextrano 40, magnesio, potasio, sodio, nutrientes, tales como glucosa, hormonas, tampón, etc. La referencia da a conocer que el pH de la solución OCS se monitoriza durante la producción, que la solución OCS se esteriliza con calor, que la solución OCS se complementa con un medio celular antes de su utilización y que el pH del medio resultante se ajusta antes de su utilización, por ejemplo, con bicarbonato (párrafos [0010], [0035], [0045] y [0066]), lo que indica que la solución OCS se proporciona a un pH subfisiológico, lo que requiere un tamponamiento antes de su utilización.

Se han utilizado soluciones de dextrano filtradas estériles no sometidas a autoclave, tales como solución STEEN (la Patente PCT/SE01/02419, publicada como la Patente WO02/35929), así como las dadas a conocer en las Patentes WO97/22244 y WO01/54495, a pH fisiológico durante aproximadamente 15 años, pero para el conocimiento de los inventores de la presente invención, no hay disponibles soluciones de dextrano esterilizadas con calor con un pH entre 6,6 y 7,8 para utilización médica. La filtración estéril es aceptable para productos de bajo volumen, en general, con un bajo contenido de dextrano. En caso contrario, el dextrano obstruiría el filtro.

Otro problema con la esterilización con calor de las soluciones que comprenden glucosa, en particular, en especial, soluciones para diálisis peritoneal, es la degradación de la glucosa a productos de degradación tóxicos. Se han realizado intentos para reducir estos subproductos tóxicos, a través de una disminución adicional del pH en la solución hasta aproximadamente 3, durante la esterilización con calor, o a través de la separación de electrolitos y glucosa durante la esterilización (Ledebro et al., 2000, y Wieslander et al., 1995). La Patente US 5,654,266 da a conocer la utilización de citrato y cuerpos cetónicos, tales como  $\beta$ -hidroxibutirato, para reducir esta caramelización de la glucosa, así como los precipitados al someterse al autoclave.

El mismo problema de la degradación de la glucosa es conocido a partir de la producción de soluciones de dextrano para varios fines médicos, tales como la conservación de órganos. La respuesta principal a este problema ha sido

5 aumentar la cantidad de glucosa en la solución antes de la esterilización para asegurar suficiente glucosa en el producto final para utilizar para apoyar el metabolismo del órgano. Esta respuesta no tiene en cuenta ningún efecto tóxico potencial de los productos de degradación de la glucosa. En todo caso, la sobrecarga de glucosa durante la producción empeora el problema a través de la generación de mayores cantidades de productos de degradación de la glucosa potencialmente tóxicos.

**Características de la invención**

10 La presente invención da a conocer una solución de conservación y/o perfusión de órganos para un tejido u órgano aislado que afronta estos problemas y proporciona ventajas adicionales. La solución comprende dextrano, glucosa, iones de calcio, un tampón y agua, en la que el tampón comprende tris(hidroximetil)aminometano (TRIS) que está presente en la solución a una concentración de 1 mM a 15 mM.

15 La solución tiene un pH de 6,6 a 7,8 y es estéril al haberse sometido a esterilización con calor. El tejido u órgano aislado puede seleccionarse, por ejemplo, entre pulmón, corazón, hígado, riñón, páncreas y/o intestino. La solución se tampona a un pH fisiológicamente aceptable para la temperatura de su utilización antes de la esterilización con calor (también denominado tamponamiento previo) y se complementa con iones de calcio para mimetizar el fluido extracelular también antes de la esterilización con calor (también denominado complementación previa con calcio) y, a continuación, se somete a esterilización con calor. Por lo tanto, la solución resultante está lista para su utilización, ya que no requiere ningún tamponamiento adicional, ni ninguna complementación adicional, con calcio o cualquier otro compuesto, antes de su utilización. Además, la combinación de tamponamiento previo y la complementación previa con calcio antes de la esterilización con calor proporciona protección para la glucosa durante la esterilización con calor, manteniendo una concentración de glucosa más elevada en la solución y reduciendo, de este modo, la producción de productos de degradación potencialmente tóxicos.

25 La presente invención también da a conocer un procedimiento de preparación de la solución de conservación y/o perfusión para un tejido u órgano aislado. El procedimiento comprende una etapa de (1) combinar el dextrano, la glucosa, los iones de calcio, el tampón TRIS y el agua para obtener una solución inicial. El procedimiento comprende asimismo una etapa de (2) ajustar el pH de la solución inicial a de 7,0 a 7,8, si es necesario. El procedimiento comprende asimismo una etapa de (3) someter la solución inicial a esterilización con calor, obteniendo, de este modo, la solución de conservación y/o perfusión de órganos.

35 La presente invención también da a conocer un procedimiento para conservar y/o perfundir un tejido u órgano aislado. El procedimiento comprende una etapa de (1) obtener un volumen de la solución de conservación y/o perfusión de órganos para un tejido u órgano aislado desde un recipiente estéril en el que se ha almacenado la solución. El procedimiento comprende asimismo una etapa de (2) administrar el volumen obtenido de la solución al tejido u órgano aislado, conservando y/o perfundiendo de este modo el tejido u órgano aislado.

40 La presente invención también da a conocer un procedimiento para el lavado por descarga, el almacenamiento y/o el transporte de un pulmón aislado después de la extracción a partir de un donante en preparación para el eventual trasplante en un receptor. El procedimiento comprende una etapa de (1) lavar por descarga el pulmón aislado del donante con un volumen de lavado de una solución de conservación y/o perfusión de órganos para un tejido u órgano aislado. El procedimiento comprende asimismo una etapa de (2) llenar un recipiente de almacenamiento de órganos estéril, como mínimo, parcialmente, con un volumen de llenado de la solución y sumergir el pulmón aislado en el volumen de llenado de la solución.

Descripción

**Soluciones de conservación y/o de perfusión de órganos**

50 Tal como se ha indicado anteriormente, la presente invención da a conocer una solución de conservación y/o perfusión de órganos para un tejido u órgano aislado. La solución comprende dextrano, glucosa, iones de calcio, un tampón y agua, en la que el tampón comprende tris(hidroximetil)aminometano (TRIS) que está presente en la solución a una concentración de 1 a 15 mM. La solución tiene un pH de 6,6 a 7,8 y es estéril al haber sido sometida a esterilización con calor.

60 Las soluciones que contienen dextrano, por ejemplo, Dextrano 40, y bajos niveles de potasio, por ejemplo, niveles extracelulares, se han utilizado para la conservación de órganos desde los años 60, denominándose las soluciones de diversas maneras, por ejemplo, soluciones de dextrano, soluciones de Dextrano 40 y/o soluciones de LPD.

A finales de los 90 una solución de LPD llamada solución de Perfadex® se convirtió en la solución de conservación predominante para su utilización con órganos ricos en endotelio, tales como los pulmones. La composición de la solución de Perfadex® (proporcionada como masa/l) es la siguiente:

Dextrano-40	50 g
Cloruro de sodio	8 g

	Monohidrato de D-glucosa	1 g
	Cloruro de potasio	400 mg
	Sulfato de magnesio 7H <sub>2</sub> O	200 mg
	Fosfato disódico 12H <sub>2</sub> O	117 mg
5	Dihidrogenofosfato de potasio	63 mg

Pueden utilizarse composiciones de electrolitos alternativas, siempre y cuando que sean fisiológicamente aceptables y tengan una composición de electrolito relativamente próxima a la del plasma.

## 10 **Dextranos**

Tal como se ha indicado, la solución de conservación y/o perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, comprende dextrano. Los dextranos son polisacáridos con pesos moleculares mayores o iguales a 1.000 daltons (Da), que tienen una cadena principal lineal de unidades de repetición de D-glucopiranosilo unidas a  $\alpha$ , y que pueden agruparse en tres clases, clase 1, clase 2 y clase 3, en función de sus estructuras. Los dextranos que están disponibles en el mercado pueden clasificarse según la fuente y/o el peso molecular promedio en peso. Entre los dextranos disponibles en el mercado se incluyen, por ejemplo, dextranos obtenidos de *Leuconostoc* spp. o *Leuconostoc mesenteroides*. Entre los dextranos disponibles en el mercado también se incluyen, por ejemplo, dextranos con pesos moleculares promedio en peso de aproximadamente 20.000 Da, también denominado Dextrano 20, de aproximadamente 40.000 Da, también denominado Dextrano 40, de aproximadamente 60.000 Da, también denominado Dextrano 60 y de aproximadamente 70.000 Da, también denominado Dextrano 70, entre otros, así como mezclas de estos dextranos, y de otros.

Dextrano 40 es ideal para la conservación de órganos, debido al tamaño molecular óptimo, lo que proporciona suficiente presión oncótica en soluciones de dextrano sin aumentar la viscosidad de forma innecesaria, en particular, cuando se proporciona a una concentración de 40 g/l a 60 g/l, de manera preferente, de 50 g/l, en soluciones de dextrano. Sin embargo, Dextrano 60, Dextrano 70 o cualquier otro dextrano que tenga una distribución oncótica de tamaños moleculares entre los de Dextrano 20 y Dextrano 70 podría reemplazar a Dextrano 40 para proporcionar resultados aceptables.

Por consiguiente, en algunas realizaciones de la solución de conservación y/o perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, el dextrano tiene un peso molecular promedio en peso de 20.000 Da a 70.000 Da, por ejemplo, de 30.000 Da a 50.000 Da, o de 33.000 Da a 42.000 Da. También, en algunas realizaciones, el dextrano comprende Dextrano 40. También, en algunas realizaciones, el dextrano está presente en la solución a una concentración de 40 g/l a 60 g/l, por ejemplo, de 45 g/l a 55 g/l, de 48 g/l a 52 g/l, o de 50 g/l. También, en algunos ejemplos, el dextrano comprende un dextrano obtenido a partir de *Leuconostoc* spp. o *Leuconostoc mesenteroides*.

## **Glucosa, iones de calcio y tampón**

Tal como se ha indicado, la solución de conservación y/o perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, comprende asimismo glucosa e iones de calcio.

Durante los últimos 15 años o aproximadamente, se ha utilizado la solución de Perfadex® en aproximadamente el 90 % de todos los injertos de pulmón antes del trasplante. La solución de Perfadex®, como otras soluciones comerciales de Dextrano 40, se ha dispuesto comercialmente a un pH bajo de aproximadamente 4 a 6 y, por lo tanto, ha requerido tamponamiento para obtener un pH más elevado, justo antes de la utilización. Este tamponamiento se ha realizado predominantemente con TRIS. La razón por la que la solución de Perfadex® se ha proporcionado a un pH bajo es aumentar la estabilidad del producto, en particular, la glucosa en la misma, sobre todo durante la esterilización con calor. Tal como se describe en detalle a continuación, los inventores de la presente invención han demostrado que, contrariamente al estado de la técnica anterior, en la solución de conservación y/o perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, un aumento del pH de 7,0 a 7,8, de manera preferente, de 7,4  $\pm$  0,2, antes de la esterilización con calor, estabiliza la glucosa durante el proceso de esterilización con calor.

Muchos usuarios también han complementado la solución de Perfadex® con una solución estéril de iones de calcio justo antes de la utilización, ya que se ha demostrado que esto es beneficioso para el endotelio (Ingemansson et al., 1996). Una razón por la que los iones de calcio no se incluyeron en la solución de Perfadex® hasta justo antes de su utilización fue que había la expectativa de que si se añadían los iones de calcio antes de la esterilización con calor de la solución Perfadex®, entonces el fosfato de calcio precipitaría durante la esterilización con calor y el almacenamiento posterior. De manera sorprendente, los inventores de la presente invención han demostrado que la solución de conservación y/o perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, no muestra la formación de precipitado durante la esterilización con calor o el posterior almacenamiento durante 24 meses después de la esterilización con calor. Además, contrariamente al estado de la técnica anterior, los inventores han demostrado que la complementación con iones de calcio, junto con un pH de 7,0 a 7,8, de manera preferente de 7,4  $\pm$  0,2, estabiliza de manera sinérgica la glucosa durante la esterilización con calor.

Por estas razones, se entendió que el tamponamiento con TRIS y la complementación con iones de calcio de la solución de Perfadex® eran beneficiosos o incluso necesarios para su utilización final, pero ni el TRIS ni los iones de calcio se proporcionaron previamente en la solución de Perfadex® hasta justo antes de su utilización debido a los problemas esperados durante la esterilización con calor y el almacenamiento. Una ventaja de la solución de conservación y/o perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, basándose en el tamponamiento previo y la complementación previa con calcio antes de la esterilización con calor, es que la solución de conservación y/o perfusión de órganos puede disponerse como un producto listo para utilizar. Un producto listo para utilizar proporciona una mayor comodidad para el usuario y mejora la seguridad, ya que existen menos riesgos implicados, en términos de tamponamiento y/u otros complementos incorrectos, cuando no se requiere más tamponamiento u otros complementos.

Por consiguiente, en algunas realizaciones de la solución de conservación y/o perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, la glucosa estaba presente en la solución a una concentración de 0,5 g/l a 5 g/l antes de la esterilización con calor, por ejemplo, de 0,6 g/l a 3 g/l, de 0,8 g/l a 2 g/l, de 0,9 g/l a 1,5 g/l, o 1 g/l. Por esto, se entiende que la glucosa estaba presente en una solución inicial a una concentración de 0,5 g/l a 5 g/l, antes de someter la solución inicial a la esterilización con calor para obtener la solución de conservación y/o perfusión de órganos y, por lo tanto, antes de la degradación parcial de la glucosa que se produce durante la esterilización con calor. De este modo, en algunos ejemplos, la glucosa puede añadirse a una solución inicial a una concentración de 0,5 g/l a 5 g/l y, a continuación, la solución inicial puede someterse a la esterilización con calor, proporcionando de este modo la solución de conservación y/o perfusión de órganos, en la que la glucosa estaba presente en la solución a una concentración de 0,5 g/l a 5 g/l.

También, en algunas realizaciones, la degradación de la glucosa durante la esterilización con calor fue inferior al 10 %, por ejemplo, inferior al 9,5 % o inferior al 9,0 %. Por esto, se entiende que la esterilización con calor de una solución inicial para obtener la solución de conservación y/o perfusión de órganos, da lugar a la solución de conservación y/o perfusión de órganos que tiene una concentración de glucosa que es menor que la concentración de glucosa que estaba presente en la solución inicial, siendo la disminución de nuevo debida a la degradación parcial de la glucosa que se produce durante la esterilización con calor, y siendo la disminución inferior al 10 % de la concentración de glucosa que estaba presente en la solución inicial.

Además, en algunas realizaciones de la solución de conservación y/o perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, los iones de calcio están presentes en la solución a una concentración de 0,3 mM a 1,5 mM, por ejemplo, de 0,4 a 1 mM, o 0,5 mM. También, en algunas realizaciones, la solución no da lugar a un precipitado durante 24 meses de almacenamiento a una temperatura de 5 °C a 25 °C. También, en algunas realizaciones, la solución comprende, además, iones fosfato. También, en algunas realizaciones, los iones fosfato están presentes en la solución a una concentración de 0,2 mM a 0,8 mM, por ejemplo, de 0,7 mM a 0,8 mM.

#### **Temperatura de la solución, elección del tampón y pH**

Tal como se ha indicado, la solución de conservación y/o perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, comprende asimismo un tampón TRIS. Además, la solución tiene un pH de 6,6 a 7,8 y es estéril al haberse sometido a la esterilización con calor.

La perfusión y conservación de órganos por lavado con descarga se realiza a temperaturas subfisiológicas. Normalmente, se realiza un lavado por descarga a temperatura ambiente en el inicio del lavado del órgano, a continuación, se realizan un lavado en frío y conservación en frío a una temperatura de 2 °C a 15 °C. El pH de la solución de dextrano correspondiente depende de la temperatura. Esto es especialmente cierto cuando se utiliza un tampón, tal como TRIS, en la solución de dextrano. El pH de una solución tamponada de TRIS aumenta aproximadamente 0,01 unidades de pH por cada grado Celsius que se disminuye. De manera convencional, el pH se mide a temperatura ambiente, es decir, de 18 °C a 25 °C o, más en particular, 25 °C. La diferencia de temperaturas al pasar de 25 °C a 5 °C da lugar a un aumento del pH de aproximadamente 0,2 unidades de pH para una solución tamponada con TRIS.

Los tejidos, en especial los pulmones, son más sensibles al pH por encima de 7,4 y, en particular, por encima de 7,8, que a pH por debajo de 7,4. Por lo tanto, es beneficioso si el pH en la solución de dextrano no está por encima de 7,8 a cualquier temperatura de su utilización y, de manera preferente, no está por encima de 7,6. En el rango inferior, un pH tan bajo como 6,6, medido a 25 °C, sería aceptable para su almacenamiento a una temperatura de 2 °C a 15 °C, ya que el pH de la solución de dextrano sería algo superior a la temperatura inferior. El tejido pulmonar también aguantaría el corto período de lavado por descarga a temperatura ambiente con una solución con un pH tan bajo como 6,6, en especial, ya que existe más albúmina de suero presente en la vasculatura durante el lavado por descarga que durante la conservación, y ya que la albúmina de suero tamponará la acidez débil de la solución de dextrano.

Tal como se ha indicado, la solución de conservación y/o perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, se tampona previamente con TRIS. El tamponamiento previo con TRIS utiliza la dependencia con la

temperatura del tampón TRIS y, de este modo, mantiene un pH aceptable posterior a la esterilización con calor para su temperatura prevista de utilización y no es necesario el tamponamiento por el usuario. El pH de la solución antes de la esterilización con calor, es decir, el pH de una solución inicial que se esterilizará con calor para producir la solución de conservación y/o perfusión de órganos, debe ser, de manera preferente, de 7,0 a 7,8 a temperatura ambiente, o a 25 °C, antes de la esterilización con calor, de manera más preferente, de 7,2 a 7,6. El pH de la solución, en general, habrá disminuido en hasta 0,4 unidades de pH y, más en particular, en de 0,1 a 0,3 unidades de pH, después de la esterilización con calor debido a la degradación de la glucosa y el dextrano. Por consiguiente, mediante la preparación de una solución inicial con un pH de 7,0 a 7,8 a temperatura ambiente, o a 25 °C, de manera más preferente, de 7,2 a 7,6 antes de la esterilización con calor, la solución de conservación y/o perfusión de órganos tendrá un pH adecuado para la conservación y/o perfusión de órganos después de la esterilización con calor, por ejemplo, un pH de 6,6 a 7,8, un pH de 6,7 a 7,7, o un pH de 6,9 a 7,6, también a temperatura ambiente, o a 25 °C.

Tal como se apreciará, la solución de conservación y/o perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, también puede tamponarse previamente con tampones además de TRIS, por ejemplo un tampón orgánico o biológico distintos de TRIS o adicionalmente al mismo, basándose en principios similares a los expuestos para TRIS. Un ejemplo de dicho tampón alternativo es BIS-TRIS.

Tal como también se entenderá, la solución de conservación y/o perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, puede esterilizarse con calor basándose en esterilización con vapor en un autoclave a una temperatura adecuada durante un tiempo adecuado, por ejemplo, a 121 °C durante 20 minutos o más o con un tiempo y temperatura alternativos para alcanzar un F0 de 12-15.

Por consiguiente, en algunas realizaciones de la solución de conservación y/o perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, el tampón comprende un tampón orgánico o biológico, que comprende TRIS que está presente en la solución a una concentración de 1 mM a 15 mM, por ejemplo, de 1,5 mM a 10 mM, de 2 mM a 5 mM, o de 3 mM. También, en algunos ejemplos, el tampón orgánico o biológico comprende TRIS a una concentración de 1 mM a 5 mM, por ejemplo, de 1,5 mM a 4 mM, o de 3 mM.

Además, en algunas realizaciones, la solución de conservación y/o perfusión de órganos tiene un pH de 6,6 a 7,8 a temperatura ambiente, por ejemplo, a una temperatura de 18 °C a 25 °C, o a 25 °C. También, en algunas realizaciones, la solución tiene un pH de 6,7 a 7,7, o un pH de 6,9 a 7,6, también a temperatura ambiente, por ejemplo, a una temperatura de 18 °C a 25 °C, o a 25 °C.

Además, en algunas realizaciones, la solución de conservación y/o perfusión de órganos es estéril al haberse sometido a la esterilización con calor basada en esterilización con vapor en un autoclave, por ejemplo, a una temperatura de 115 °C a 130 °C, o de 118 °C a 123 °C, o a 121 °C, durante, como mínimo, 5 minutos, o, como mínimo, 10 minutos, o durante 20 minutos o más, para conseguir un F0 de, como mínimo, 10, o, como mínimo, 12, o, como mínimo, 15, o, como mínimo, de 12 a 15.

#### **Degradación de la glucosa durante la esterilización con calor**

Considerando la degradación de la glucosa con más detalle, la degradación de la glucosa durante la esterilización con calor se ha investigado principalmente en relación con soluciones de nutrición peritoneales y en soluciones para diálisis peritoneal. Estas soluciones contienen concentraciones relativamente elevadas de glucosa, habitualmente de aproximadamente el 1,5 %, y se utilizan a menudo de manera repetida sobre el mismo paciente. La cuestión de la degradación de la glucosa en soluciones de diálisis peritoneal, sus efectos tóxicos y las medidas preventivas adoptadas para evitar los efectos tóxicos, se han investigado a fondo por investigadores del Hospital Universitario de Lund junto con los investigadores de Gambro AB, en Lund (Suecia). Sus resultados han sido publicados en una serie de publicaciones, algunas de las cuales se referencian en el presente documento como (Nilsson Thorell et al., 1993, Ledebø et al., 2000, y Wieslander et al., 1995). En (Nilsson Thorell et al., 1993) se identificó una serie de productos de degradación de la glucosa, tales como acetaldehído, 5-HMF, glioxal, metilglioxal, formaldehído y 2-furaldehído. También se concluyó que había más productos de degradación no identificados presentes que podrían ser responsables de los efectos citotóxicos observados después de la esterilización con calor de soluciones de diálisis peritoneal.

Las respuestas para evitar la degradación de la glucosa, tal como ha propuesto (Ledebø et al., 2000, y Wieslander et al., 1995), se basan principalmente en evitar la esterilización con calor. Si una solución debe esterilizarse con calor, entonces esto debe realizarse a un pH bajo, de manera preferente, aproximadamente de 3 a 3,5, o la glucosa no debe esterilizarse junto con los electrolitos.

En las soluciones de dextrano para la perfusión de órganos, la concentración de glucosa es, en general, de aproximadamente el 0,05 % al 0,5 %. Se ha reconocido que la glucosa se degrada durante la esterilización con calor y esto ha sido contrarrestado a través de la sobrecomplementación con la glucosa durante la producción en aproximadamente del 5 % al 10 %, hasta estar como mínimo más cerca del objetivo estimado en el producto final

después de la esterilización con calor. Habitualmente, del 10 % al 15 % de la glucosa se degradaría durante la esterilización con calor basada en la esterilización con vapor, tal como se ha descrito anteriormente, por ejemplo, para lograr un F0 de 12 a 15. Los efectos potencialmente tóxicos de los productos de degradación no se han considerado, probablemente porque la exposición posterior es corta y de una sola vez. Aunque no se ha observado dicha toxicidad directa con la utilización de soluciones de dextrano para la perfusión de órganos, una reducción de productos de degradación de la glucosa potencialmente tóxicos, tal como se consigue para la solución de conservación y perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, debe ser beneficiosa, ya que debería mejorar adicionalmente la seguridad del producto. Otra ventaja con la glucosa estabilizada durante la producción de las soluciones de conservación y/o perfusión de órganos es que garantiza mejor el contenido de glucosa importante en el producto final a niveles que apoyarán el metabolismo durante el almacenamiento de un tejido u órgano aislado.

### Estabilización de la glucosa

Considerando la estabilización de la glucosa con más detalle, tal como se muestra en el estado de la técnica de referencia (Ledebro et al., 2000, y Wieslander et al., 1995), un pH bajo se considera esencial para reducir la degradación de la glucosa y la formación de productos de degradación de la glucosa. Además (Wieslander et al., 1995) afirma que el  $\text{Ca}^{2+}$  es una sustancia catalítica para la degradación de la glucosa y sugiere que el  $\text{Ca}^{2+}$ , junto con los iones  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Na}^+$ , debe mantenerse separado de la glucosa durante la esterilización con calor.

Tal como se ha indicado anteriormente, los inventores de la presente invención han demostrado que, contrariamente al estado de la técnica anterior, un aumento del pH de 7,0 a 7,8, de manera preferente, de  $7,4 \pm 0,2$ , antes de la esterilización con calor, estabiliza la glucosa durante el proceso de esterilización con calor, de nuevo, basándose en la esterilización con vapor, tal como se ha descrito anteriormente, por ejemplo, para lograr un F0 de 12 a 15. También, tal como se ha indicado, contrariamente al estado de la técnica anterior, los inventores de la presente invención han demostrado que la complementación con iones de calcio, junto con un pH de 7,0 a 7,8, de manera preferente,  $7,4 \pm 0,2$ , estabiliza de manera sinérgica la glucosa durante la esterilización con calor. No se observa ningún efecto estabilizador cuando la solución se complementa con iones de calcio, pero sin el aumento de pH. Tal como se muestra en la tabla 2 del ejemplo 1, las dos soluciones sin ajuste del pH y sin un tampón orgánico o biológico estable para la esterilización con calor, tal como TRIS (es decir, LPD y LPD +  $\text{CaCl}_2$ ) pierden casi el 13 % de la glucosa debido a la degradación de la glucosa durante la esterilización con calor, mientras que en la solución tamponada con TRIS ajustada a un pH de  $7,4 \pm 0,2$  (LPD + TRIS), la degradación es inferior al 10 % y, también, con la complementación con iones de calcio (LPD + TRIS +  $\text{CaCl}_2$ ), la degradación es inferior al 9 %.

Tal como se ha descrito anteriormente, la solución de conservación y/o de perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, se tampona previamente hasta un pH fisiológicamente aceptable y se complementa con una concentración baja de iones de calcio, lo cual proporciona una matriz de electrolitos más similar al plasma para la solución. El tamponamiento con TRIS hasta un pH fisiológicamente aceptable tiene un efecto protector de la glucosa durante la esterilización con calor. Además, la combinación de iones de calcio y un pH fisiológicamente aceptable de la solución estabiliza adicionalmente de forma sinérgica la glucosa durante la esterilización con calor.

### Selección del tampón

Considerando los tampones con más detalle, los tampones para la solución de conservación y/o perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, destinados para la esterilización con calor, deben seleccionarse cuidadosamente, ya que muchos tampones, tales como MOPS y HEPES, podrían degradarse durante la esterilización con calor. Otro factor importante, cuando se selecciona un tampón para una solución fisiológica de electrolitos cercana, es el riesgo de precipitación entre el tampón y los cationes divalentes durante la producción y a lo largo de toda la vida útil del producto. El bicarbonato y el fosfato son ambos conocidos por precipitar con iones de calcio y magnesio cuando están presentes en concentraciones por encima de los límites de solubilidad. TRIS es un tampón ideal para soluciones esterilizadas con calor, aunque se podrían utilizar otros tampones que proporcionan las mismas dos propiedades de ser esterilizables con calor y no formar precipitado con cationes divalentes. Otro factor beneficioso para un tampón utilizado en una solución de perfusión y/o conservación para utilizar en hipotermia de menos de o igual a 25 °C o, de manera preferente, de menos de o igual a 15 °C, es la dependencia del pH de la temperatura. Tal como se ha indicado anteriormente, TRIS proporciona un aumento de pH de aproximadamente 0,01 por disminución de grado Celsius. Esto significa que la solución podría almacenarse a un pH ligeramente inferior a temperatura ambiente, proporcionando estabilidad al producto, sin comprometer el pH fisiológico aceptable requerido a la temperatura más baja de utilización.

La concentración del tampón debe ser suficiente para mantener un pH de 6,6 a 7,8 durante toda la vida útil del producto, pero no debe superar ningún nivel de toxicidad para el tejido. Para TRIS, una concentración en la solución final de 1 mM a 15 mM o, de manera preferente, de 1 mM a 5 mM, se considera suficiente y segura.

**Fuente de iones de calcio**

5 La fuente de iones de calcio para la solución de conservación y/o perfusión de órganos, tal como se describe en el presente documento, puede ser cualquier sal de iones de calcio soluble fisiológicamente aceptable, tal como lactato de calcio, gluconato de calcio o, de manera preferente, cloruro de calcio. La concentración de iones de calcio en la solución de conservación y/o perfusión de órganos debe ser similar a la concentración en el plasma humano, que es de aproximadamente 1,5 mM. Una concentración ligeramente inferior podría ser beneficiosa, ya que reduce el riesgo de precipitación con iones fosfato presentes en la solución. La concentración óptima de iones de calcio en la solución es, por tanto, de 0,3 mM a 1,5 mM.

10 **Agua**

15 Tal como se ha indicado, la solución de conservación y/o perfusión de órganos tal como se describe en el presente documento comprende asimismo agua. Entre el agua adecuada se incluye agua de muy alta calidad, tal como agua para inyección.

**Procedimientos para la preparación de las soluciones de conservación y/o perfusión de órganos**

20 Tal como se ha indicado anteriormente, la presente invención también da a conocer un procedimiento para la preparación de la solución de conservación y/o perfusión de órganos para un tejido u órgano aislado.

25 El procedimiento comprende una etapa de (1) combinar el dextrano, la glucosa, los iones de calcio, el tampón y el agua para obtener una solución inicial. El procedimiento comprende asimismo una etapa de (2) ajustar el pH de la solución inicial de 7,0 a 7,8 o de 7,2 a 7,6, si es necesario. El procedimiento comprende asimismo una etapa de (3) someter la solución inicial a esterilización con calor, obteniendo de este modo la solución de conservación y/o perfusión de órganos.

**Procedimientos para conservar y/o perfundir un tejido u órgano aislado**

30 Tal como se ha indicado anteriormente, la presente invención también da a conocer un procedimiento para conservar y/o perfundir un tejido u órgano aislado.

35 El procedimiento comprende una etapa de (1) obtener un volumen de la solución de conservación y/o perfusión de órganos para un tejido u órgano aislado a partir de un recipiente estéril en el que se ha almacenado la solución. El procedimiento comprende asimismo una etapa de (2) administrar el volumen obtenido de la solución al tejido u órgano aislado, conservando y/o perfundiéndolo de este modo el tejido u órgano aislado. El recipiente estéril puede ser, por ejemplo, una bolsa de fluido estéril, tal como una bolsa de fluido estéril de 1.000 ml o una bolsa de fluido estéril de 3.000 ml, entre otros recipientes.

40 En algunas realizaciones del procedimiento, la obtención de la etapa (1) comprende insertar un tubo estéril en el recipiente estéril y dejar que el volumen de la solución fluya desde el recipiente estéril a través del tubo estéril, y la administración de la etapa (2) comprende administrar el volumen obtenido de la solución desde el tubo estéril al tejido u órgano aislado.

45 También, en algunas realizaciones, la administración de la etapa (2) se lleva a cabo en hipotermia de menos de o igual a 25 °C. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la administración de la etapa (2) se lleva a cabo en hipotermia de 2 °C a 15 °C.

50 También, en algunas realizaciones, el volumen obtenido de la solución no se complementa con ingredientes adicionales durante las etapas (1) y (2) o entre las mismas. Según estas realizaciones, el volumen obtenido de la solución no se complementa con tampón adicional, ni ácido o base, ni medios de cultivo, ni ningún otro ingrediente adicional, durante las etapas (1) y (2) o entre las mismas. Tal como se entenderá, según estas realizaciones, la solución se ha proporcionado lista para utilizar. Tal como también se entenderá, sin embargo, en otras realizaciones, el volumen obtenido de la solución puede someterse a una complementación adicional con ingredientes adicionales, dependiendo de las circunstancias de la conservación y/o perfusión.

60 También, en algunas realizaciones, el tejido u órgano aislado comprende uno o varios de pulmón, corazón, hígado, riñón, páncreas y/o intestino. El tejido u órgano aislado puede aislarse en circulación dentro de la cavidad del cuerpo del donante o después de la extracción del cuerpo del donante, o ambos en esta secuencia.

**Procedimientos para el lavado por descarga, el almacenamiento y/o el transporte de un pulmón aislado después de la extracción a partir de un donante, en preparación para eventual trasplante en un receptor**

65 Tal como se ha indicado anteriormente, la presente invención también da a conocer un procedimiento para el lavado por descarga, el almacenamiento y/o el transporte de un pulmón aislado después de la extracción a partir de un donante en preparación para un eventual trasplante en un receptor.



5 El procedimiento comprende una etapa de (1) lavar por descarga el pulmón aislado del donante con un volumen de lavado por descarga de una solución de conservación y/o perfusión de órganos para un tejido u órgano aislado. El procedimiento comprende asimismo una etapa de (2) llenar un recipiente de almacenamiento de órganos estéril, como mínimo, parcialmente, con un volumen de llenado de la solución y sumergir el pulmón aislado en el volumen de llenado de la solución.

10 Según este procedimiento, la solución de conservación y/o perfusión de órganos puede servir como una solución extracelular tamponada previamente que contiene Dextrano 40 y calcio que puede ser utilizada para el enfriamiento rápido, perfusión y almacenamiento de los pulmones en relación con el trasplante. La administración de la solución a las temperaturas recomendadas enfriará de manera eficaz el órgano para reducir sus necesidades metabólicas. Debe utilizarse una técnica aséptica.

15 También, según este procedimiento, las etapas (1) y (2) pueden llevarse a cabo en diversos órdenes. Por ejemplo, el lavado por descarga de la etapa (1) puede llevarse a cabo primero, seguido por el llenado de la etapa (2), a continuación, la inmersión de la etapa (2). También, por ejemplo, el llenado de la etapa (2) puede llevarse a cabo primero, seguido por el lavado por descarga de la etapa (1), a continuación, la inmersión de la etapa (2). También, por ejemplo, el lavado por descarga de la etapa (1) y el llenado de la etapa (2) pueden llevarse a cabo al mismo tiempo, seguidos por la inmersión de la etapa (2).

20 En algunas realizaciones del procedimiento, el lavado por descarga de la etapa (1) podría realizarse inicialmente a temperatura ambiente para extraer de manera más completa la sangre de la circulación, seguido de lavado en frío llevado a cabo a una temperatura de 2 °C a 8 °C. El lavado por descarga, de manera preferente, debe realizarse tanto anterógrado como retrógrado. El llenado, según la etapa (2), se realiza, de manera preferente, a una temperatura de 2 °C a 8 °C. Esto puede realizarse, por ejemplo, basándose en el volumen de lavado por descarga de la solución que se proporciona primero a temperatura ambiente, a continuación, a una temperatura de 2 °C a 8 °C, y por el volumen de llenado de la solución que se proporciona a una temperatura de 2 °C a 8 °C.

30 También, en algunas realizaciones, el lavado por descarga de la etapa (1) da lugar a un efluente del pulmón aislado y se lleva a cabo hasta que el efluente es transparente. Por ejemplo, el lavado por descarga puede llevarse a cabo mediante la administración del volumen de lavado por descarga de la solución mediante flujo continuo, dando lugar a un efluente del pulmón aislado. También, por ejemplo, el lavado por descarga puede llevarse a cabo hasta que el efluente presenta una claridad que es la misma que la de un volumen de referencia de la solución de conservación y/o perfusión de órganos que no se ha utilizado para el lavado por descarga.

35 También, en algunas realizaciones, el volumen de lavado por descarga de la solución corresponde a un volumen de 50 ml a 75 ml de la solución por kg de peso corporal del donante y/o de 3 l a 8 l de la solución, aunque, en otras realizaciones, el volumen de lavado por descarga puede ser mayor o menor que estos volúmenes.

40 También, en algunas realizaciones, el procedimiento comprende, además, las etapas de (3) sellar el recipiente de almacenamiento de órganos estéril, con el pulmón aislado contenido en el mismo, con un cierre estéril; y, a continuación, (4) mantener el recipiente de almacenamiento de órganos estéril a una temperatura de 2 °C a 8 °C durante hasta 12 horas, dependiendo de la calidad inicial del pulmón, antes del trasplante del pulmón aislado en el receptor, en el que las etapas (3) y (4) se llevan a cabo después de las etapas (1) y (2).

45 Según estas realizaciones, el mantenimiento de la etapa (4) puede llevarse a cabo, por ejemplo, colocando el recipiente de almacenamiento de órganos estéril, así sellado, dentro de una caja de cartón o de envío bien aislada a una temperatura de 2 °C a 8 °C. En estos ejemplos, puede utilizarse hielo para rodear el recipiente de almacenamiento de órganos estéril, pero no debe permitirse que el hielo entre en contacto directo con el pulmón aislado.

50 También, según estas realizaciones, el pulmón aislado puede almacenarse, basándose en su calidad inicial durante, de 1 a 12 horas, de 3 a 12 horas, de 6 a 12 horas, de 9 a 12 horas, de 10 a 12 horas o de 11 a 12 horas, antes del trasplante del pulmón aislado en el receptor. También, según estas realizaciones, aunque el pulmón aislado se almacena de este modo, el pulmón aislado puede transportarse al receptor, por ejemplo, transportado dentro de un centro de atención médica, tal como un hospital y/o un centro de trasplante de órganos, o entre centros de atención médica.

60 También, en algunas realizaciones, el volumen de lavado por descarga de la solución se obtiene a partir de uno o varios recipientes estériles, en los que se ha almacenado la solución. El uno o varios recipientes estériles pueden ser recipientes estériles, tal como se han descrito anteriormente, por ejemplo, una o varias bolsas estériles de 1.000 ml y/o una o varias bolsas estériles de 3.000 ml, entre otros. Según estas realizaciones, el volumen de lavado por descarga de la solución no se complementa con ingredientes adicionales antes o durante la etapa (1).

65 También, en algunas realizaciones, el volumen de llenado de la solución se obtiene a partir de uno o varios

recipientes estériles, en los que se ha almacenado la solución. El uno o varios recipientes estériles pueden ser recipientes estériles, tal como se han descrito anteriormente, por ejemplo, una o varias bolsas estériles de 1.000 ml y/o una o varias bolsas estériles de 3.000 ml, entre otros. Según estas realizaciones, el volumen de llenado de la solución no se complementa con ingredientes adicionales antes o durante la etapa (2).

También, en algunas realizaciones, la solución de conservación y/o perfusión de órganos no se complementa con ingredientes adicionales antes o durante cualquier etapa del procedimiento. Tal como se entenderá, según estas realizaciones, la solución se ha proporcionado lista para utilizar. Tal como también se entenderá, sin embargo, en otras realizaciones, algunos volúmenes de la solución pueden complementarse con ingredientes adicionales, dependiendo de las circunstancias del lavado por descarga, el almacenamiento y/o el transporte.

### Ejemplo 1

Se prepararon cuatro soluciones de ensayo según la tabla 1.

Tabla 1

Componente	LPD	LPD + TRIS	LPD + CaCl <sub>2</sub>	LPD + TRIS + CaCl <sub>2</sub>
Dextrano-40	50 g	50 g	50 g	50 g
Cloruro sódico	8 g	8 g	8 g	8 g
Monohidrato de D-glucosa	1 g	1 g	1 g	1 g
Cloruro de potasio	400 mg	400 mg	400 mg	400 mg
Sulfato de magnesio 7H <sub>2</sub> O	200 mg	200 mg	200 mg	200 mg
Fosfato disódico 12H <sub>2</sub> O	117 mg	117 mg	117 mg	117 mg
Dihidrogenofosfato de potasio	63 mg	63 mg	63 mg	63 mg
TRIS	no aplicable	74 mg	no aplicable	74 mg
Cloruro de calcio 2H <sub>2</sub> O	no aplicable		242 mg	242 mg
Agua (agua para inyección)	añadir a 1 litro	añadir a 1 litro	añadir a 1 litro	añadir a 1 litro
pH ajustado a	no aplicable	7,4 +/- 0,2	no aplicable	7,4 +/- 0,2

Las cuatro soluciones se trataron en autoclave de manera simultánea a 121 °C durante 20 min, que corresponde a un F0 de 15.

La degradación de la glucosa en cada solución después de la esterilización con calor se midió utilizando el análisis de glucosa mediante HPLC DRI según la Farmacopea de Estados Unidos para el Dextrano 40 en inyección de glucosa. Los resultados se resumen en la tabla 2.

Tabla 2

Solución	% de degradación de glucosa
LPD	12,84
LPD + CaCl <sub>2</sub>	12,84
LPD + TRIS	9,8
LPD + TRIS + CaCl <sub>2</sub>	8,75

Los iones de calcio por sí solos no proporcionaron un efecto estabilizador de la glucosa como sí hizo el tamponamiento previo. Sin embargo, la combinación de iones de calcio y tamponamiento previo proporcionó un efecto estabilizador sinérgico de la glucosa.

La formación de precipitado también se midió en dos soluciones. La tabla 3 resume los datos turbidimétricos, después de 24 meses de almacenamiento a dos temperaturas diferentes, de LPD y LPD + calcio + TRIS. La medición de la turbidez se realizó utilizando un procedimiento de la Farmacopea Europea, 2.2.1 Claridad y grado de opalescencia de los líquidos, con una turbidez expresada como unidades de turbidez nefelométrica (en lo sucesivo, NTU).

Tabla 3.

24 meses	Turbidez Farmacopea Europea 2.2.1 (almacenamiento a 5 °C)	Turbidez Farmacopea Europea 2.2.1 (almacenamiento a 25 °C)
LPD	1,84 NTU	1,76 NTU
LPD + TRIS 3 mM + Ca <sup>2+</sup> 0,5 mM	1,61 NTU	1,60 NTU

### Referencias

- 5
1. Heat sterilization of fluids for peritoneal dialysis gives rise to aldehydes. Nilsson-Thorell CB1, Muscalu N, Andrén AH, Kjellstrand PT, Wieslander AP. *Perit Dial Int.* 1993; 13(3): 208-13.
- 10
2. Heat sterilization of glucose-containing fluids for peritoneal dialysis: biological consequences of chemical alterations. Wieslander AP, Kjellstrand PT, Rippel B. *Perit Dial Int.* 1995; 15(suplemento 7): S52-9; discusión S59-60.
3. Can we prevent the degradation of glucose in peritoneal dialysis solutions? Ledebø I, Wieslander A, Kjellstrand P. *Perit Dial Int.* 2000; 20 suplemento 2: S48-51.
- 15
4. Importance of calcium in long-term preservation of the vasculature. Ingemansson R, Sjöberg T, Steen S. *Ann Thorac Surg.* abril de 1996; 61(4): 1.158-62.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Solución de conservación y/o perfusión de órganos para un tejido u órgano aislado, comprendiendo la solución dextrano, glucosa, iones de calcio, un tampón y agua, en la que la solución tiene un pH de 6,6 a 7,8 y es estéril al haberse sometido a esterilización con calor, en la que todos los componentes estaban presentes antes de la esterilización con calor, y en la que el tampón comprende tris(hidroximetil)aminometano (TRIS) que está presente en la solución a una concentración de 1 mM a 15 mM.
- 10 2. Solución, según la reivindicación 1, en la que el dextrano tiene un peso molecular promedio en peso (Mw) de 20.000 a 70.000 daltons.
3. Solución, según la reivindicación 2, en la que el dextrano comprende Dextrano 40.
- 15 4. Solución, según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que el dextrano está presente en la solución a una concentración de 40 g/l a 60 g/l.
5. Solución, según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que la glucosa estaba presente en la solución a una concentración de 0,5 g/l a 5 g/l antes de la esterilización con calor.
- 20 6. Solución, según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que los iones de calcio están presentes en la solución a una concentración de 0,3 mM a 1,5 mM.
- 25 7. Solución, según la reivindicación 1, en la que el tampón orgánico o biológico comprende tris(hidroximetil)aminometano (TRIS) a una concentración de 1 mM a 5 mM.
8. Solución, según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la que la solución comprende, además, iones fosfato a una concentración de 0,2 mM a 0,8 mM.
- 30 9. Procedimiento para la preparación de una solución de conservación y/o perfusión de órganos para un tejido u órgano aislado, según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que comprende las etapas de: (1) combinar el dextrano, la glucosa, los iones de calcio, el tampón y el agua para obtener una solución inicial; (2) ajustar el pH de la solución inicial a un pH de 7,2 a 7,6, si es necesario; y (3) someter la solución inicial a esterilización con calor, obteniendo, de este modo, la solución de conservación y/o perfusión de órganos.
- 35 10. Procedimiento para la conservación y/o perfusión de un tejido u órgano aislado, que comprende las etapas de (1) obtener un volumen de una solución de conservación y/o perfusión de órganos para un tejido u órgano aislado, según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, a partir de un recipiente estéril en el que se ha almacenado la solución; y (2) administrar el volumen obtenido de la solución al tejido u órgano aislado, conservando y/o perfundiendo, de este modo, el tejido u órgano aislado.
- 40 11. Procedimiento, según la reivindicación 10, en el que la obtención de la etapa (1) comprende insertar un tubo estéril en el recipiente estéril y dejar que el volumen de la solución fluya desde el recipiente estéril a través del tubo estéril, y la administración de la etapa (2) comprende administrar el volumen obtenido de la solución desde el tubo estéril al tejido u órgano aislado.
- 45 12. Procedimiento, según la reivindicación 11 o 12, en el que la administración de la etapa (2) se lleva a cabo a hipotermia de menos de o igual a 25 °C, de manera preferente, en el que la administración de la etapa (2) se lleva a cabo a hipotermia de 2 °C a 15 °C.
- 50 13. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 11-13, en el que el volumen obtenido de la solución no se complementa con ingredientes adicionales durante las etapas (1) y (2) o entre las mismas.
- 55 14. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 11-14, en el que el tejido u órgano aislado comprende uno o varios de pulmón, corazón, hígado, riñón, páncreas y/o intestino.
- 60 15. Procedimiento para el lavado por descarga, el almacenamiento y/o el transporte de un pulmón aislado después de la extracción a partir de un donante en preparación para un eventual trasplante en un receptor, comprendiendo el procedimiento las etapas de: (1) lavar por descarga el pulmón aislado del donante con un volumen de lavado de una solución de conservación y/o perfusión de órganos para un tejido u órgano aislado, según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, y (2) llenar un recipiente de almacenamiento de órganos estéril, como mínimo, parcialmente, con un volumen de llenado de la solución y sumergir el pulmón aislado en el volumen de llenado de la solución.

**REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN**

5 *Esta lista de referencias citada por el solicitante es únicamente para mayor comodidad del lector. No forman parte del documento de la Patente Europea. Incluso teniendo en cuenta que la compilación de las referencias se ha efectuado con gran cuidado, los errores u omisiones no pueden descartarse; la EPO se exime de toda responsabilidad al respecto.*

**Documentos de patentes citados en la descripción**

10

- EP 2011069524 W
- WO 2012142487 A
- SE 0102419 W
- WO 0235929 A
- WO 9722244 A
- WO 0154495 A
- US 5654266 A

**Literatura no patente citada en la descripción**

- **NILSSON-THORELL CB1 ; MUSCALU N ; ANDRÉN AH ; KJELLSTRAND PT ; WIESLANDER AP.** Heat sterilization of fluids for peritoneal dialysis gives rise to aldehydes. *Perit Dial Int.*, 1993, vol. 13 (3), 208-13
- **WIESLANDER AP ; KJELLSTRAND PT ; RIPPEL B.** Heat sterilization of glucose-containing fluids for peritoneal dialysis: biological consequences of chemical alterations. *Perit Dial Int.*, 1995, vol. 15 (7), 52-9
- **LEDEBO I ; WIESLANDER A ; KJELLSTRAND P.** Can we prevent the degradation of glucose in peritoneal dialysis solutions. *Perit Dial Int.*, 2000, vol. 20, 48-51
- **INGEMANSSON R ; SJÖBERG T ; STEEN S.** Importance of calcium in long-term preservation of the vasculature. *Ann Thorac Surg*, April 1996, vol. 61 (4), 1158-62

15