(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 761 308**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/28	(2006.01)	***A61P 3/10***	(2006.01)
A61K 31/30	(2006.01)	***A61P 13/12***	(2006.01)
A61K 31/59	(2006.01)	***A61K 38/28***	(2006.01)
A61K 33/04	(2006.01)	***A23L 33/16***	(2006.01)
A61K 33/06	(2006.01)	***A61K 45/06***	(2006.01)
A61K 33/14	(2006.01)	***A61K 31/555***	(2006.01)
A61K 33/24	(2009.01)	***A61K 33/00***	(2006.01)
A61K 33/34	(2006.01)		
A61K 35/60	(2006.01)		
A61P 9/00	(2006.01)		

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.03.2012** **PCT/NL2012/050136**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **13.09.2012** **WO12121596**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.03.2012** **E 12711031 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.09.2019** **EP 2683374**

(54) Título: **Uso de compuestos de vanadio para mantener la normoglucemia en un mamífero**

(30) Prioridad:

07.03.2011 US 201161449787 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.05.2020

(73) Titular/es:

CFM PHARMA HOLDING BV (100.0%)
Industrieweg 40 Unit B3
3401 MA Ijsselstein, NL

(72) Inventor/es:

MEIJERINK, HENDRIK JAN CORNELIS y CHANGOER, LEKHRAM

(74) Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 761 308 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

Uso de compuestos de vanadio para mantener la normoglucemia en un mamífero

Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere a una composición farmacéutica para usar en el mantenimiento de la normoglucemia en un paciente crítico que padece estrés agudo.

Antecedentes de la invención

[0002] Una alta proporción de pacientes que padece estrés agudo, por ejemplo, un derrame cerebral o un infarto de miocardio, desarrolla hiperglucemia, aunque a estos pacientes no se les haya diagnosticado diabetes previamente. Dicha hiperglucemia inducida por el estrés se asocia con un alto riesgo de mortalidad después de un ictus y de un infarto de miocardio. Además, la hiperglucemia inducida por el estrés puede ser un factor de riesgo de daño cerebral (cf. Sarah E. Capes et al., Stroke 2001, 32, página 2426).

[0003] Además, la hiperglucemia y la resistencia a la insulina son comunes en pacientes críticos en general, incluso cuando la homeostasis de la glucosa ha sido previamente normal (cf. US 2005/171503).

[0004] G. Van den Berghe et al. (N. Engl. J. Med. 2001, 345, 1359 - 1367) descubrieron que incluso la hiperglucemia moderada en pacientes críticos diabéticos y no diabéticos es directa o indirectamente perjudicial para órganos y sistemas vitales. La terapia intensiva con insulina redujo la mortalidad general en la UCI (Unidad de Cuidados Intensivos) del 8% al 4,6%, y del 20,2% al 10,6% entre los pacientes que requirieron cuidados intensivos durante más de cinco días. La terapia intensiva con insulina también redujo significativamente las infecciones del torrente sanguíneo, la inflamación prolongada, la insuficiencia renal aguda, la polineuropatía por enfermedad crítica y la necesidad de transfusiones. Por lo tanto, el mantenimiento estricto de la normoglucemia con terapia intensiva con insulina reduce la mortalidad y la morbilidad en hospitales y cuidados intensivos de pacientes adultos críticos en una UCI.

[0005] Sin embargo, la terapia intensiva con insulina requiere conocer los niveles de azúcar en la sangre del paciente, lo que implica la obtención frecuente de muestras de sangre (capilares). Esto requiere que los enfermeros o técnicos empleen un tiempo considerable y, además, muchos pacientes, en especial los no diabéticos, encuentran desagradable la repetición de muestras de sangre. Además, es posible que no se realicen muestras de sangre intermitentes con la suficiente frecuencia como para proporcionar una imagen precisa de los niveles de azúcar en la sangre. Otras desventajas de la terapia intensiva con insulina incluyen: un aumento del riesgo de hipoglucemia (se sabe en la técnica que la hipoglucemia aumenta el riesgo de infarto de miocardio y arritmia ventricular; cf. US 2005/171503), la sedación puede enmascarar la hipoglucemia y las diferencias de opinión sobre cuándo introducir insulina y en qué pacientes aplicar el protocolo.

[0006] Por lo tanto, aunque es cierto que la terapia con insulina tiene ventajas para los pacientes críticos como se ha mencionado antes, todavía existe la necesidad en la técnica de proporcionar un método para controlar la administración de insulina a pacientes críticos, en particular pacientes críticos que padecen de estrés agudo.

[0007] La insuficiencia renal aguda (IRA) es un síndrome clínico caracterizado por un rápido deterioro de la función renal que ocurre en unos días. La IRA es causada frecuentemente por necrosis tubular aguda (NTA), que resulta de lesiones isquémicas y/o nefrotóxicas. En la población mundial general, se producen anualmente alrededor de 200 casos de IRA grave por millón de habitantes. Se ha investigado la eficacia de varios fármacos, como los antioxidantes, los bloqueadores de los canales de calcio, los diuréticos, las sustancias vasoactivas, los factores de crecimiento y los agentes antiinflamatorios, en ensayos clínicos, pero se ha descubierto que tienen poco o ningún uso clínico.

[0008] Las patentes US 5.300.496, US 5.527.790, US 5.620.967, US 5.866.563 y US 5.888.993, divulgan el uso de compuestos de vanadio en el tratamiento de la diabetes mellitus, la hipertensión, la obesidad y afecciones similares relacionadas con niveles crónicamente elevados de azúcar en la sangre.

[0009] La patente US 5.885.980, describe una composición farmacéutica para el tratamiento de la diabetes, donde dicha composición farmacéutica comprende un compuesto generador de VO^{2+} y gliburida micronizada. El ejemplo 5 de la patente US 5.885.980 revela el tratamiento de una paciente con diabetes de tipo I que fue hospitalizada en una UCI por hiperglucemia crónica con una combinación de insulina, sulfato de vanadilo y gliburida, un medicamento antidiabético del tipo de las sulfonilureas que se usa más comúnmente para el tratamiento de la diabetes de tipo II. Sin embargo, la gliburida puede causar hipoglucemia y una hipoglucemia definida como glucosa en sangre por debajo de 0,3 mM/l aumenta el riesgo de infarto de miocardio y arritmia ventricular (cf. US 2005/171503).

[0010] La patente US 6.287.586, describe una composición farmacéutica de complejos particulares de biguanida de vanadio para el tratamiento de la hiperglucemia y trastornos relacionados.

[0011] La patente US 6.579.540, describe el uso de compuestos de vanadio fisiológicamente aceptables para el tratamiento profiláctico de una lesión secundaria del tejido, donde dicha lesión secundaria es el resultado de una lesión primaria y donde la lesión primaria es causada por un traumatismo, por ejemplo, reperfusión después de isquemia (infarto). La patente US 6.579.540 por lo tanto, no describe el uso de los compuestos de vanadio fisiológicamente aceptables en el tratamiento de la hiperglucemia o la isquemia-reperfusión renal en pacientes críticos.

[0012] La patente US 6.852.760, describe el uso de una combinación de un compuesto de sulfonilurea, una fuente de cromo biológicamente disponible y una fuente de vanadio biológicamente disponible para el tratamiento de la diabetes.

[0013] En consecuencia, el uso de compuestos de vanadio para controlar la hiperglucemia en pacientes diabéticos es conocido en la técnica. Sin embargo, la diabetes es una enfermedad crónica. Los pacientes críticos, por el contrario, son hospitalizados durante un período de tiempo relativamente corto, en particular de uno a varios días, y en particular en una unidad de cuidados intensivos (UCI). Por lo tanto, los pacientes diabéticos son una clase diferente de pacientes que los pacientes críticos.

[0014] P.A. McCullough, int. J. Nephrol., Volume 2011, Article ID 762590 (doi: 10.4061/2011 /762590) sugiere que existe una interrelación entre los trastornos cardiovasculares y los trastornos renales.
Esta relación se conoce como trastornos "cardiorrrenales".

[0015] Actualmente, la nefropatía inducida por contraste, preferiblemente inducida por contraste radiológico, se trata con N-acetilcisteína.

Resumen de la invención

[0016] La presente invención se refiere a una composición farmacéutica para usar en un método para mantener la normoglucemia en un mamífero que lo necesite, preferiblemente un paciente crítico que padece estrés agudo, en donde la composición farmacéutica comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable.

[0017] Además se describe un método para prevenir o limitar la isquemia-reperfusión renal (I/R) en un mamífero que lo necesite, preferiblemente un paciente crítico que padece estrés agudo, en el que una composición farmacéutica que comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable se administra a dicho mamífero.

[0018] Además, se describe un método para la prevención, la limitación o el tratamiento de trastornos cardiorrenales en un mamífero que lo necesite, preferiblemente un paciente crítico que padece estrés agudo, en el que una composición farmacéutica que comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable se administra a dicho mamífero.

[0019] La presente invención se refiere, por lo tanto, a una composición farmacéutica para su uso en el mantenimiento de la normoglucemia en un paciente crítico que padece estrés agudo.

[0020] Asimismo, se describe una composición farmacéutica que comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable para su uso en la prevención o limitación de la isquemia-reperfusión renal (I/R) en un paciente crítico que padezca estrés agudo.

[0021] Además, se describe una composición farmacéutica que comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico fisiológicamente aceptable, un vehículo farmacéuticamente aceptable y un segundo ingrediente, donde dicho segundo ingrediente se selecciona del grupo de magnesio, aceite de pescado, potasio, cobre, selenio, vitamina D, vitamina E, cromo y sus mezclas.

[0022] También se describe una composición farmacéutica que comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable para su uso en la prevención o el tratamiento de la nefropatía inducida por contraste en un mamífero que lo necesite.

[0023] Asimismo, se describe una composición farmacéutica que comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable para su uso en la prevención, la limitación o el tratamiento de trastornos cardiorrenales en un mamífero que lo necesite.

Descripción de las figuras

[0024]

La Figura 1 muestra la presión arterial media (art.) al inicio del estudio (BSLN) y después de 30 min de isquemia y 90 min de reperfusión (R 90 min).
La Figura 2 muestra la resistencia vascular renal (res. vasc.) (Fila superior), el flujo sanguíneo renal (fila media) y el suministro de oxígeno renal (fila inferior) al inicio del estudio (BSLN) y después de 30 min de isquemia y 90 min de reperfusión (R 90 min).
La Figura 3 muestra la tensión renal microvascular de oxígeno (μPO_2) en la corteza (fila superior) y la médula (fila inferior) al inicio del estudio (BSLN) y después de 30 min de isquemia y 90 min de reperfusión (R 90 min).
La Figura 4 muestra el consumo renal de oxígeno (fila superior), la cantidad de oxígeno requerida para la reabsorción de sodio (VO2/Tna +) (fila central) y el aclaramiento de creatinina (aclar. creat.) (Fila inferior) al inicio del estudio (BSLN) y después de 30 min de isquemia y 90 min de reperfusión (R 90 min).
La Figura 5 muestra la producción de orina al inicio del estudio (BSLN) y después de 30 min de isquemia y 90 min de reperfusión (R 90 min).
La Figura 6 muestra la expresión de IL-6 e iNOS (fila superior) y la aparición de leucocitos teñidos con MPO (fila inferior) después de 30 min de isquemia y 90 min de reperfusión (R 90 min).
La Figura 7 muestra la expresión de IL-6 e iNOS (fila superior) y la aparición de leucocitos teñidos con MPO (fila inferior) después de 30 min de isquemia y 90 min de reperfusión (R 90 min).

Descripción detallada de la invención

Definiciones

[0025] El verbo "comprender", como se usa en esta descripción y en las reivindicaciones, y sus conjugaciones se usan en su sentido no limitativo para significar que los elementos que siguen a la palabra están incluidos, pero los elementos no mencionados específicamente no están excluidos.
Además, la referencia a un elemento por el artículo indefinido "un" o "una" no excluye la posibilidad de que esté presente más de uno de los elementos, a menos que el contexto requiera claramente que haya uno y solo uno de los elementos. El artículo indefinido "un" o "una" generalmente significa "al menos uno/a".

[0026] En este documento, el término "paciente crítico" se refiere a un grupo de pacientes que están hospitalizados durante un período de tiempo relativamente corto, en particular de uno a varios días, más en particular de uno a siete días, en una unidad de cuidados intensivos (UCI). Preferiblemente, el término "paciente crítico" se refiere a este grupo de pacientes que padecen estrés agudo, en particular insuficiencia renal aguda (IRA), lesión renal aguda (LRA) o ambas. Se sugiere que la isquemia-reperfusión renal (I/R) al riñón, que puede ocurrir como resultado de, o durante, la cirugía cardíaca o vascular, el trasplante de riñón, la reparación electiva del aneurisma aórtico y el shock (por ejemplo, shock cardiogénico, hemorrágico o séptico), afecta a la microcirculación renal, lo que impide la reperfusión tisular adecuada. Esto puede conducir a efectos no deseados, como hipoxia renal, estrés oxidativo y daño irreversible con insuficiencia orgánica.

[0027] El término "trastornos cardiorrenales" se define como trastornos de órganos como el corazón y el riñón mediante los cuales la disfunción aguda o crónica en un órgano puede inducir disfunción aguda o crónica en el otro órgano. Se han descubierto varios mecanismos fisiopatológicos posibles para cada trastorno propuesto.

[0028] Por lo tanto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica para usar en un método para mantener la normoglucemia en un paciente crítico que padece estrés agudo, en donde la composición farmacéutica comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable.

[0029] La presente descripción se refiere además a un método para prevenir o limitar la isquemia-reperfusión renal (I/R) en un mamífero que lo necesite, preferiblemente un paciente críticamente enfermo que padece estrés agudo, en el que una composición farmacéutica que comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable se administra a dicho mamífero. Más en particular, la presente descripción se refiere además a un método para prevenir o limitar la isquemia-reperfusión renal (I/R) en un riñón de un mamífero que lo necesite, preferiblemente un paciente crítico que padece estrés agudo, en el que una composición farmacéutica que comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable se administra a dicho mamífero.

[0030] Sorprendentemente, se ha descubierto que la composición farmacéutica según la presente descripción aumenta significativamente la oxigenación microvascular en la corteza y en la médula renal de un mamífero que lo necesite, preferiblemente un paciente crítico, en el que esta oxigenación microvascular había disminuido previamente debido a una lesión por I/R.

[0031] También se ha descubierto sorprendentemente que la composición farmacéutica de acuerdo con la presente descripción aumenta la eficiencia de utilización de oxígeno renal en un mamífero que lo necesita, preferiblemente en un paciente crítico, que antes estaba reducida por una lesión I/R.

[0032] Además, sorprendentemente, se ha descubierto que la composición farmacéutica de acuerdo con la presente descripción disminuye significativamente la activación de la inflamación en un mamífero que lo necesite, preferiblemente en un paciente crítico, causada por una lesión I/R anterior.

[0033] Además, sorprendentemente, se ha descubierto que la composición farmacéutica de acuerdo con la presente descripción disminuye significativamente la lesión renal en un mamífero que lo necesite, preferiblemente en un paciente crítico, causada por una lesión I/R anterior.

[0034] La presente descripción se refiere además a un método para prevenir o tratar la nefropatía inducida por contraste, preferiblemente inducida por contraste radiológico, que es una forma de insuficiencia renal aguda (ARF), en un mamífero que lo necesite, en el que una composición farmacéutica que comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable se administra a dicho mamífero.

[0035] Según una forma de realización de la presente invención, el paciente crítico no es diabético.

[0036] De acuerdo con la presente invención, se prefiere que el estrés agudo sea inducido por un daño, una lesión, un traumatismo, un tratamiento médico, una infección, un ictus, cirugía de derivación vascular o coronaria, shock, preferiblemente shock cardiogénico, hemorrágico o séptico, o un tratamiento para el infarto de miocardio.

[0037] Preferiblemente, los niveles de glucosa en sangre se mantienen en el mamífero, preferiblemente en el paciente crítico, entre aproximadamente 80 y aproximadamente 110 mg/dl. (de aproximadamente 4,4 a aproximadamente 6,1 mmol/l). Preferiblemente, los niveles de glucosa en sangre se mantienen entre aproximadamente 85 y aproximadamente 100 mg/dl.

[0038] De acuerdo con una forma de realización, la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la presente invención que comprende el compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable se administra por vía parenteral. Según otra forma de realización de la presente invención, la composición farmacéutica se administra por vía intravenosa.

[0039] Dado que el paciente crítico está hospitalizado en una unidad de cuidados intensivos (UCI), la composición farmacéutica según la presente invención se administra de uno a siete días, preferiblemente de uno a seis días, más preferiblemente de uno a cinco días, incluso más preferiblemente durante uno a cuatro días, aún más preferiblemente durante uno a tres días, aún más preferiblemente durante uno o dos días y en particular solo durante un día.

[0040] Se prefiere que se coadministre insulina o un análogo de insulina al paciente crítico.

[0041] Alternativamente, se administra un fármaco antiarrítmico al paciente crítico.

[0042] Alternativamente, un suplemento nutricional se administra conjuntamente al paciente crítico. En ese caso se prefiere que el suplemento nutricional se seleccione del grupo de magnesio, aceite de pescado, potasio, cobre, selenio, vitamina D, vitamina E y mezclas de estos.

[0043] De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, el compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable es bis(maltolato)oxovanadio (IV) (también conocido como BMOV). El BMOV y su síntesis son conocidos en la técnica (CAS 38213-69-3).

[0044] Por lo tanto, la presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable, un vehículo farmacéuticamente aceptable y un segundo ingrediente, donde dicho segundo ingrediente se selecciona del grupo que consiste en magnesio, aceite de pescado, potasio, cobre, selenio, vitamina D y mezclas de estos.

[0045] La presente invención se refiere, por lo tanto, a una composición farmacéutica que comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable para su uso en el mantenimiento de la normoglucemia en un paciente crítico que padece estrés agudo.

[0046] Se prefiere que el paciente crítico no sea diabético, como se ha descrito anteriormente.

[0047] Preferiblemente, el estrés agudo es inducido por un daño, una lesión, un trauma, un tratamiento médico, una infección, un ictus, una cirugía de derivación coronaria o un tratamiento para el infarto de miocardio.

[0048] Según un uso según la presente invención, se prefiere que la composición farmacéutica se administre en cantidades suficientes para que los niveles de glucosa en sangre se mantengan entre aproximadamente 80 y aproximadamente 110 mg/dl. (de aproximadamente 4,4 a aproximadamente 6,1 mmol/l), preferiblemente entre aproximadamente 85 y aproximadamente 100 mg/dl.

[0049] Preferiblemente, la composición farmacéutica para su uso según la presente invención se administra por vía parenteral o intravenosa.

[0050] Preferiblemente, la composición farmacéutica para uso según la presente invención se administra durante uno a siete días, preferiblemente durante uno a seis días, más preferiblemente durante uno a cinco días, incluso más preferiblemente durante uno a cuatro días, aún más preferiblemente durante uno a tres días, aún más preferiblemente durante uno o dos días y en particular solo durante un día.

[0051] La composición farmacéutica para su uso según la presente invención puede comprender además insulina o un análogo de insulina, un fármaco antiarrítmico, un suplemento nutricional o una combinación de estos. Preferiblemente, el suplemento nutricional se selecciona del grupo de magnesio, aceite de pescado, potasio, cobre, selenio, vitamina D, vitamina E, cromo y sus mezclas.

[0052] La presente descripción se refiere además a una composición farmacéutica que comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable para su uso en la prevención o limitación de la isquemia-reperfusión renal (I/R) en un paciente crítico que padece estrés agudo.

[0053] La presente descripción se refiere además a una composición farmacéutica que comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico fisiológicamente aceptable, un vehículo farmacéuticamente aceptable y un segundo ingrediente, donde dicho segundo ingrediente se selecciona del grupo de magnesio, aceite de pescado, potasio, cobre, selenio, vitamina D, vitamina E, cromo y sus mezclas.

[0054] La presente descripción también se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable para su uso en la prevención o el tratamiento de la nefropatía inducida por contraste en un mamífero que lo necesite. Preferiblemente, el mamífero es un paciente crítico que padece estrés agudo.

[0055] La presente descripción se refiere además a una composición farmacéutica que comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable para su uso en la prevención, la limitación o el tratamiento de trastornos cardiorrenales en un mamífero que lo necesite. Preferiblemente, el mamífero es un paciente crítico que padece estrés agudo.

Ejemplos

Materiales y métodos

Animales

[0056] Este protocolo de estudio fue revisado y aprobado por el Comité institucional de experimentación animal del Centro médico académico de la Universidad de Amsterdam. El manejo y cuidado de los animales se realizó de acuerdo con la guía para el cuidado y el uso de animales de laboratorio (Guide for Care and Use of Laboratory Animals) del Institute for Laboratory Animal Research.

[0057] En este estudio se utilizaron treinta y dos ratas Wistar macho (Harlan Netherlands BV, Horst, Países Bajos) con un peso corporal medio de 280 ± 30 gramos. Los animales se pusieron en cuarentena antes del inicio de la investigación durante 1 semana para permitir la aclimatación a su nuevo entorno y se alojaron por parejas en jaulas convencionales en una sala con luz controlada mantenida a 22 ± 1 °C con una humedad relativa de 55 ± 10%. Todos los animales recibieron comida estándar para ratas de laboratorio y agua para su consumo *ad libitum*.

Preparación quirúrgica

[0058] Todos los animales fueron anestesiados inicialmente con una mezcla de ketamina (Nimatek, Eurovet Animal Health BV, Bladel, Países Bajos; 90 mg/kg), dexmedetomidina (Dexdomitor, Pfizer Animal Health BV, Capelle aan den IJssel, Países Bajos; 0,5 mg/kg) y sulfato de atropina (Centrafarm BV, Etten-Leur, Países Bajos; 0,05 mg/kg) por inyección intraperitoneal. Una vez anestesiados, el área entre el manubrio esternal y la barbilla y el flanco izquierdo que cubre el riñón izquierdo se afeitó y se limpió antes de iniciar el procedimiento quirúrgico. Durante el resto de la preparación quirúrgica y los procedimientos experimentales, la anestesia se mantuvo mediante traqueotomía y ventilación mecánica con una fracción de oxígeno inspirado (FiO_2) de 0,4. La temperatura corporal se mantuvo a 37 ± 0,5 °C durante todo el experimento. La configuración del ventilador se ajustó para mantener una pCO_2 arterial entre 35 y 40 MmHg.

[0059] Para la administración de fármacos y fluidos y la monitorización hemodinámica, se canularon tres vasos sanguíneos con catéteres de polietileno (diámetro externo = 0,9 mm; Braun, Melsungen, Alemania). Se conectó un catéter presente en la arteria carótida derecha a un transductor de presión para controlar la presión arterial y la frecuencia cardíaca. La vena yugular derecha se canuló para la infusión continua de lactato de Ringer (Baxter, Utrecht, Países Bajos) a una velocidad de 15 ml/kg/h. La arteria femoral se canuló para extraer muestras de sangre

para el análisis de gases en sangre. Los animales se mantuvieron bajo anestesia general durante todos los experimentos y recibieron infusiones intravenosas continuas de analgésicos o ketamina diluidos. El riñón izquierdo fue expuesto, desencapsulado e inmovilizado en un recipiente para riñones Lucite (a saber, poli(metacrilato de metilo); PMMA) hecho a medida mediante una incisión de ~4 cm en el flanco izquierdo. La arteria y la vena renales se separaron cuidadosamente para preservar los nervios circundantes y la glándula suprarrenal. Se colocó una sonda de flujo de tiempo transitorio ultrasónica perivascular (tipo 0,7 RB; Transonic Systems, Ithaca, Nueva York, EE. UU.) alrededor de la arteria renal izquierda y se conectó a un medidor de flujo (T206; Transonic Systems, Ithaca, Nueva York, EE. UU.) para permitir una medición continua del flujo sanguíneo renal (FSR). El uréter izquierdo se aisló, ligó y canuló con un catéter de polietileno (diámetro externo = 0,9 mm; Braun, Melsungen, Alemania) para la recolección de orina. Se colocó un pequeño trozo de papel de aluminio (10 x 10 mm) en el sitio dorsal de la vena renal para evitar que la contribución de los tejidos yuxtapuestos y subyacentes interfiriera con la señal de fosforescencia en la medición venosa de pO_2. Después del protocolo quirúrgico (~ 60 min), se colocó una fibra óptica 1 mm por encima del riñón desencapsulado y otra fibra óptica 1 mm por encima de la vena renal para medir la oxigenación utilizando una técnica de tiempo de vida de fosforescencia (20). Se realizó una infusión de Oxyphor G2 (Oxygen Enterprises, Filadelfia, Pensilvania, EE. UU.; 6 mg/kg) posteriormente por vía intravenosa durante 5 minutos, seguido de 30 minutos de tiempo de estabilización.

[0060] La zona de la operación se cubrió con una compresa de gasa humidificada durante todo el experimento para evitar el secado de los tejidos expuestos en la zona quirúrgica. Las mediciones de la vida útil de la fosforescencia se han descrito con más detalle en otro lugar (20). El experimento se terminó por infusión de 1 ml de cloruro de potasio 3 M. Finalmente, se extirpó el riñón, se pesó y se procesó para realizar una evaluación histológica. La correcta ubicación de los catéteres también se verificó *post mortem*. La correcta colocación de los catéteres también se controló *post mortem*.

Protocolo Experimental

[0061] Después de completar la preparación quirúrgica seguida de 30 minutos de tiempo de estabilización, cada animal se asignó aleatoriamente a los siguientes grupos: BMOV 7 mg/kg (n = 6); BMOV 15 mg/kg; (n = 6), control I/R (n = 8) y control de tiempo (n = 3). La infusión de BMOV se inició 15 minutos antes del período de isquemia de 30 minutos y la infusión se continuó durante todo el experimento.

Parámetros hemodinámicos y de gases en sangre

[0062] La presión arterial media (PAM) se monitorizó continuamente desde la arteria carótida común derecha. Además, el flujo sanguíneo de la arteria renal [FSR; ml/min] se registró continuamente utilizando una sonda de flujo de tiempo transitorio (tipo 0,7 RB; Transonic Systems Inc., Ithaca, NY). Se tomaron muestras de sangre arterial (0,5 ml) de la arteria carótida al inicio del estudio (BSLN) y 90 minutos después de la isquemia (R 90 min). Las muestras de sangre fueron reemplazadas por el mismo volumen de HES130/0,4 (Voluven®, 6% HES 130/0,4; Fresenius Kabi Nederland B.V., Schelle, Bélgica). Las muestras se usaron para determinar los valores de gases en sangre (analizador de gases en sangre ABL505; Radiómetro, Copenhague, Dinamarca), así como para determinar la concentración de hemoglobina, la saturación de oxígeno de la hemoglobina y las concentraciones de sodio y potasio (OSM 3; Radiómetro).

PO_2 renal microvascular y venosa

[0063] Se midió el tiempo de vida de la fosforescencia desactivada con oxígeno de un colorante fosforescente dirigido a la albúmina (y por lo tanto limitado a la circulación) (Oxyphor G2; Filadelfia, PA, EE. UU.) con infusión sistémica y se usó para detectar alteraciones en la pO_2 microvascular y venosa (μpO_2). Oxyphor G2 (un dendrímero de glutamato de dos capas de tetra-(4-carboxifenil) benzoporfirina) tiene dos picos de excitación (excitación $\lambda 1$ = 440 nm, excitación $\lambda 2$ = 632 nm) y un pico de emisión (emisión λ = 800 nm), lo que permite mediciones simultáneas del tiempo de vida en la corteza renal y la médula externa debido a las diferentes profundidades de penetración óptica de la luz de excitación. Para la medición de la pO_2 venosa renal ($PrvO_2$) se utilizó un fosforímetro de dominio de frecuencia de una única longitud de onda. La correlación entre los tiempos de vida medidos y los valores de la pO_2 fueron dados por la relación Stern-Volmer: $1/\tau = (1/\tau 0) + kq\ [O_2]$, dónde τ es la vida útil medida, $\tau 0$ es la vida útil a una concentración de oxígeno de cero mmHg y kq es la constante de desactivación conocida.

Función renal

[0064] Se recogieron muestras de orina del uréter izquierdo para analizar el volumen de orina y la concentración de creatinina. Se obtuvieron muestras de plasma para el análisis de la concentración de creatinina en el punto medio de cada período de recolección de orina. Las concentraciones de creatinina en orina y plasma se determinaron por métodos colorimétricos. El aclaramiento de creatinina (Clearcrea [ml/min]) se evaluó como un índice de la tasa de filtración glomerular.
Los cálculos del aclaramiento se realizaron utilizando la fórmula estándar:

$$\mathrm{Clear}_{\mathrm{crea}}=(U_{crea}\times V)/P_{crea},$$

dónde U_{crea} es la concentración de creatinina en la orina, V es el volumen de orina por unidad de tiempo y P_{crea} es la concentración de creatinina en plasma.

[0065] Además, todas las muestras de orina se analizaron para detectar la concentración de sodio (Na^+). La fracción de excreción de Na^+ (EF_{Na+} [%]) se utilizó como marcador de la función tubular y se calculó de la siguiente manera:

$$\mathrm{EF}_{\mathrm{Na+}}=(\mathrm{U}_{\mathrm{Na+}}\times P_{crea})/(\mathrm{P}_{\mathrm{Na+}}\times U_{crea})\times 100,$$

donde U_{Na+} es la concentración de Na^+ en orina y P_{Na+} es la concentración de Na^+ en plasma. $Clear_{crea}$ y EF_{Na+} se determinaron al inicio del estudio y después de la reperfusión.

Análisis inmunohistoquímico

[0066] Los tejidos renales se fijaron en formalina al 4% y se impregnaron en parafina. Las secciones de riñón (5 µm) se desparafinaron con xileno y se rehidrataron con porcentajes decrecientes de etanol y finalmente con agua. La recuperación del antígeno se realizó mediante el uso de portaobjetos en microondas en tampón de citrato (pH 6,0) (Thermo Scientific, AP-9003-500) durante 10 minutos. Los portaobjetos se dejaron enfriar durante 20 minutos a temperatura ambiente y luego se enjuagaron con agua destilada. Los alrededores de las secciones fueron marcados con un rotulador PAP pen. La actividad de peroxidasa endógena se bloqueó con H2O2 al 3% durante 10 minutos a temperatura ambiente y luego se enjuagó con agua destilada y PBS. El reactivo de bloqueo (Lab Vision, TA-125-UB) se aplicó a cada portaobjetos seguido de 5 minutos de incubación a temperatura ambiente en una cámara húmeda. Las secciones de riñón se incubaron durante la noche a 4 °C con anticuerpo policlonal iNOS de conejo (iNOS Ab-1, Rabbit PAb, RB-1605-P, NeoMarkers Fremont, CA) e IL-6 (Abcam, 6672), y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente con anticuerpos anti-mieloperoxidasa (MPO) (Mieloperoxidasa Ab-1, RB-373-A, NeoMarkers Fremont, CA), anticuerpo Lipocalin 2 (NGAL) (abcam 41105), anticuerpo policlonal contra L-FABP de rata (Hycult Biotect HP8010). Los anticuerpos se diluyeron en un gran volumen de diluyente UltrAb (Thermo Scientific, TA-125-UD). Las secciones se lavaron en PBS tres veces durante 5 minutos cada vez y luego se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente con anticuerpos biotinilados de cabra anti conejo (LabVision, TP-125-BN). Después de lavar los portaobjetos en PBS, se aplicó el reactivo marcador de estreptavidina peroxidasa (LabVision, TS-125-HR) durante 30 minutos a temperatura ambiente en una cámara húmeda. El producto coloreado se desarrolló por incubación con AEC. Los portaobjetos se contratiñeron con hematoxilina de Mayer (LabVision, TA-125-MH) y se montaron en Vision Mount (LabVision, TA-060-UG) después de lavarlos en agua destilada. Se puntuaron tanto la intensidad como la distribución de la tinción con iNOS, IL-6, L-FABP, NGAL y MPO. Para cada muestra, se obtuvo un valor de puntaje histológico (HSCORE) sumando los porcentajes de células que se tiñeron en cada intensidad multiplicado por la intensidad ponderada de la tinción [HSCORE = S Pi (i+1), donde i es el puntaje de intensidad y Pi es el porcentaje correspondiente de las células] (Senturk et. Al., 1999). Se evaluó la reacción de MPO en el glomérulo de 240 glomérulos seleccionados y en 240 áreas peritubulares seleccionadas bajo un microscopio óptico con un aumento de X400. Se puntuó 1 si se podían ver leucocitos en el glomérulo y 0 si no (Demirci et. Al., 2006; Legrand et. Al; 2009).

Análisis estadístico

[0067] El análisis de los datos se realizó con GraphPad Prism versión 5.0 para Windows (GraphPad Software Inc., La Jolla, California, EE. UU.). Todos los datos se presentan como media ± DE. El análisis comparativo de parámetros entre grupos y puntos temporales se realizó mediante análisis de varianza de dos vías (ANOVA) con pruebas *post hoc* de Bonferroni. Las diferencias con un valor *P* de menos de 0,05 se consideraron estadísticamente significativas. La Tabla 1 muestra los resultados del control temporal. Estos resultados muestran que la presión arterial media se redujo por lesión I/R, que el BMOV no afectó a la presión arterial media y que los efectos del BMOV no fueron dependientes de la dosis. La Tabla 1 muestra los resultados del control temporal. Estos resultados muestran que la tensión arterial media fue reducida por lesión de I/R, que el BMOV no afectó a la presión arterial media y que los efectos del BMOV no fueron dependientes de la dosis.

Tabla 1

	BSLN	R 90 (min)	valor p
Presión arterial media	103,5±4,2	98,5±4,5	>0,05
Resist. Vasc. renal	22±2	22±2	>0,05
Flujo sanguíneo renal	4,7±0,6	4,6±0,5	>0,05
DO_2 renal	1,2±0,2	1,2±0,1	>0,05
$C\mu PO_2$	65±7	60±6	>0,05

$M\mu PO_2$	52±6	49±7	>0,05
VO_2 renal	0,13±0,07	0,19±0,06	>0,05
Volumen de orina	0,0022±0,0007	0,0020±0,0007	>0,05

Presión arterial media

[0068] Como se ve en la Figura 1, el BMOV no afectó a la presión arterial media (la Figura 1 muestra la presión arterial media (art.) al inicio del estudio (BSLN) y después de 30 min de isquemia y 90 min de reperfusión (R 90 min). Nsp> 0,05 (no significativo), * p <0,05, ** p <0,01 y *** p <0,001 vs BSLN).

Hemodinámica renal y suministro de oxígeno

[0069] Los datos muestran que la resistencia vascular renal no se vio afectada por la lesión I/R, pero el flujo sanguíneo renal y el suministro de oxígeno se redujeron significativamente. Los datos también muestran que el BMOV no afectó al flujo sanguíneo renal y al suministro de oxígeno y que los efectos del BMOV no fueron dependientes de la dosis.

[0070] Como se observa en la Figura 2, el BMOV no afectó a la hemodinámica renal y al suministro de oxígeno (la Figura 2 muestra la resistencia vascular renal (vasc. res.) (fila superior), el flujo sanguíneo renal (fila media) y el suministro de oxígeno renal (fila inferior) en el inicio (BSLN) y después de 30 min de isquemia y 90 min de reperfusión (R 90 min). nsp> 0,05 (no significativo), * p <0,05, ** p <0,01 y *** p <0,001 vs BSLN).

Oxigenación microvascular renal

[0071] Los datos muestran que la oxigenación microvascular en la corteza y la médula renal se redujo significativamente por la lesión I/R. Los datos también muestran que el BMOV aumentó significativamente la oxigenación microvascular en la corteza y la médula renal y que los efectos del BMOV no fueron dependientes de la dosis.

[0072] Como se observa en la Figura 3, el BMOV aumentó significativamente la oxigenación microvascular (la Figura 3 muestra la tensión renal microvascular de oxígeno (μPO_2) en la corteza (fila superior) y la médula (fila inferior) al inicio del estudio (BSLN) y después de 30 min de isquemia y 90 min de reperfusión (R 90 min). nsp> 0,05 (no significativo), * p <0,05, ** p <0,01 y *** p <0,001 vs BSLN).

Función renal

[0073] Los datos muestran que el consumo de oxígeno renal y el aclaramiento de creatinina no se vieron afectados por la lesión I/R, pero la cantidad de oxígeno requerida para la reabsorción de sodio (VO2/Tna +) aumentó, lo que indica una menor eficiencia de utilización de oxígeno renal. Los datos también muestran que el BMOV aumentó la eficiencia de utilización de oxígeno renal y que los efectos del BMOV no fueron dependientes de la dosis.

[0074] La Figura 4 muestra que el BMOV aumentó la eficiencia de utilización de oxígeno renal (la figura 4 muestra el consumo de oxígeno renal (fila superior), la cantidad de oxígeno requerida para la reabsorción de sodio (VO2/Tna +) (fila central) y el aclaramiento de creatinina (creat. clear.) (fila inferior) al inicio del estudio (BSLN) y después de 30 min de isquemia y 90 min de reperfusión (R 90 min). nsp> 0,05 (no significativo), * p <0,05, ** p <0,01 y *** p < 0,001 vs BSLN).

[0075] La Figura 5 muestra la producción de orina al inicio del estudio (BSLN) y después de 30 min de isquemia y 90 min de reperfusión (R 90 min). nsp> 0,05 (no significativo).

Biomarcadores de activación inflamatoria

[0076] Los datos también muestran que la lesión I/R condujo a la activación inflamatoria. Los datos muestran además que el BMOV disminuyó significativamente la activación inflamatoria y que los efectos del BMOV fueron dependientes de la dosis, es decir, la expresión de iNOS fue significativamente menor en el grupo tratado con la dosis alta de BMOV en comparación con los niveles en el grupo tratado con la dosis baja.

[0077] Como se observa en la Figura 6, el BMOV disminuyó significativamente la activación inflamatoria (la Figura 6 muestra la expresión de IL-6 e iNOS (fila superior) y la aparición de leucocitos teñidos con MPO (fila inferior) después de 30 min de isquemia y 90 min de reperfusión (R 90 min) .nsp> 0,05 (no significativo), *p <0,05, **p <0,01 y ***p <0,001 vs control I/R).

Biomarcadores de lesión renal

[0078] Los datos muestran que la I/R provocó una lesión renal. Los datos también muestran que el BMOV disminuyó significativamente la lesión renal y que los efectos del BMOV fueron dependientes de la dosis, es decir, los niveles de NGAL fueron significativamente más bajos en el grupo tratado con la dosis alta de BMOV en comparación con los niveles en el grupo tratado con la dosis baja. Como se observa en la Figura 7, el BMOV disminuyó significativamente la lesión renal (la Figura 7 muestra la expresión de IL-6 e iNOS (fila superior) y la aparición de leucocitos teñidos con MPO (fila inferior) después de 30 min de isquemia y 90 min de reperfusión (R 90 min) .nsp> 0,05 (no significativo), * p <0,05, ** p <0,01 y *** p <0,001 vs control I/R y + p <0,05 vs BMOV 7 mg/kg).

Conclusiones

[0079] La I/R renal provocó:

1) una disminución de la presión arterial media;
2) una disminución del flujo sanguíneo y del suministro de oxígeno renales;
3) una disminución de la oxigenación microvascular en la corteza y la médula renal;
4) una disminución de la eficiencia de utilización de oxígeno renal;
5) una activación inflamatoria; y
6) una lesión renal

[0080] El BMOV no afectó a:

1) la presión arterial media; y
2) la hemodinámica y el suministro de oxígeno renales.

[0081] El BMOV:

1) aumentó la oxigenación microvascular;
2) aumentó la eficiencia de utilización de oxígeno renal
3) disminuyó la activación inflamatoria; y
4) disminuyó la lesión renal.

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica que comprende un compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable para su uso en el mantenimiento de la normoglucemia en un paciente crítico que padece estrés agudo.

2. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, en la que el paciente crítico no es diabético.

3. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el estrés agudo es inducido por un daño, una lesión, un traumatismo, un tratamiento médico, una infección, un ictus, una cirugía de derivación coronaria o un tratamiento de infarto de miocardio.

4. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que los niveles de glucosa en sangre se mantienen entre aproximadamente 80 y aproximadamente 110 mg/dl (aproximadamente 4,4 a aproximadamente 6,1 mmol/l).

5. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que la composición farmacéutica se administra por vía parenteral o intravenosa.

6. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que la composición farmacéutica se administra durante uno a siete días.

7. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 6, en la que el paciente crítico está hospitalizado en una unidad de cuidados intensivos (UCI).

8. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende además insulina o un análogo de insulina.

9. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que comprende además un fármaco antiarrítmico.

10. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que comprende además un suplemento nutricional.

11. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 10, en la que el suplemento nutricional se selecciona del grupo que consiste en magnesio, aceite de pescado, potasio, cobre, selenio, vitamina D, vitamina E, cromo y sus mezclas.

12. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en la que el estrés agudo es insuficiencia renal aguda (IRA), lesión renal aguda (LRA) o ambas.

13. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en la que el compuesto o complejo de vanadio orgánico y/o inorgánico fisiológicamente aceptable es bis(maltolato)oxovanadio (IV) (BMOV).

Fig. 1

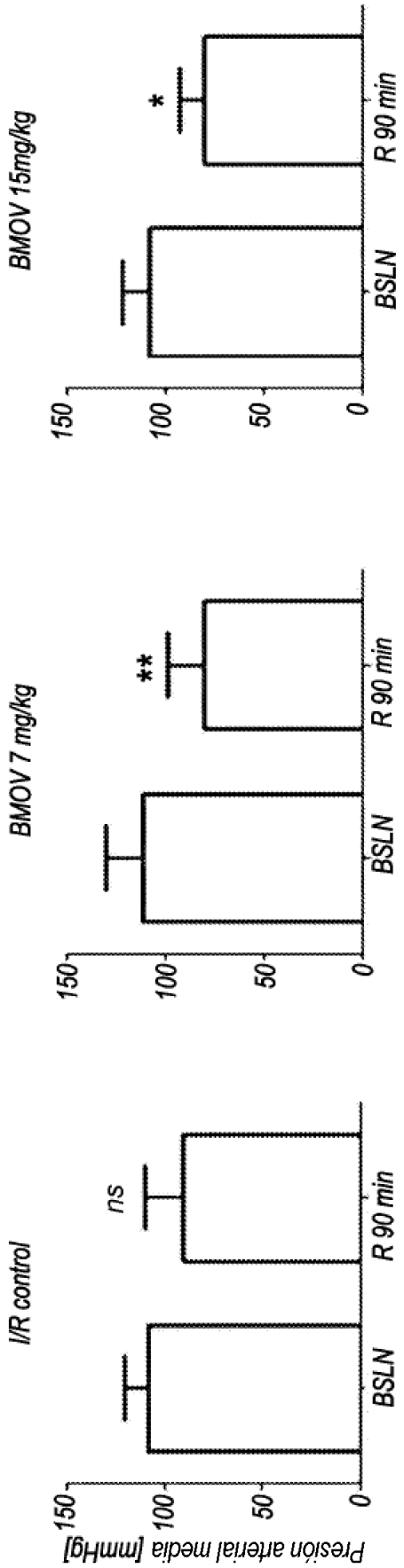

I/R control
BMOV 7 mg/kg
BMOV 15mg/kg
Presión arterial media [mmHg]
150
100
50
0
ns
**
*
BSLN
R 90 min

Fig. 2

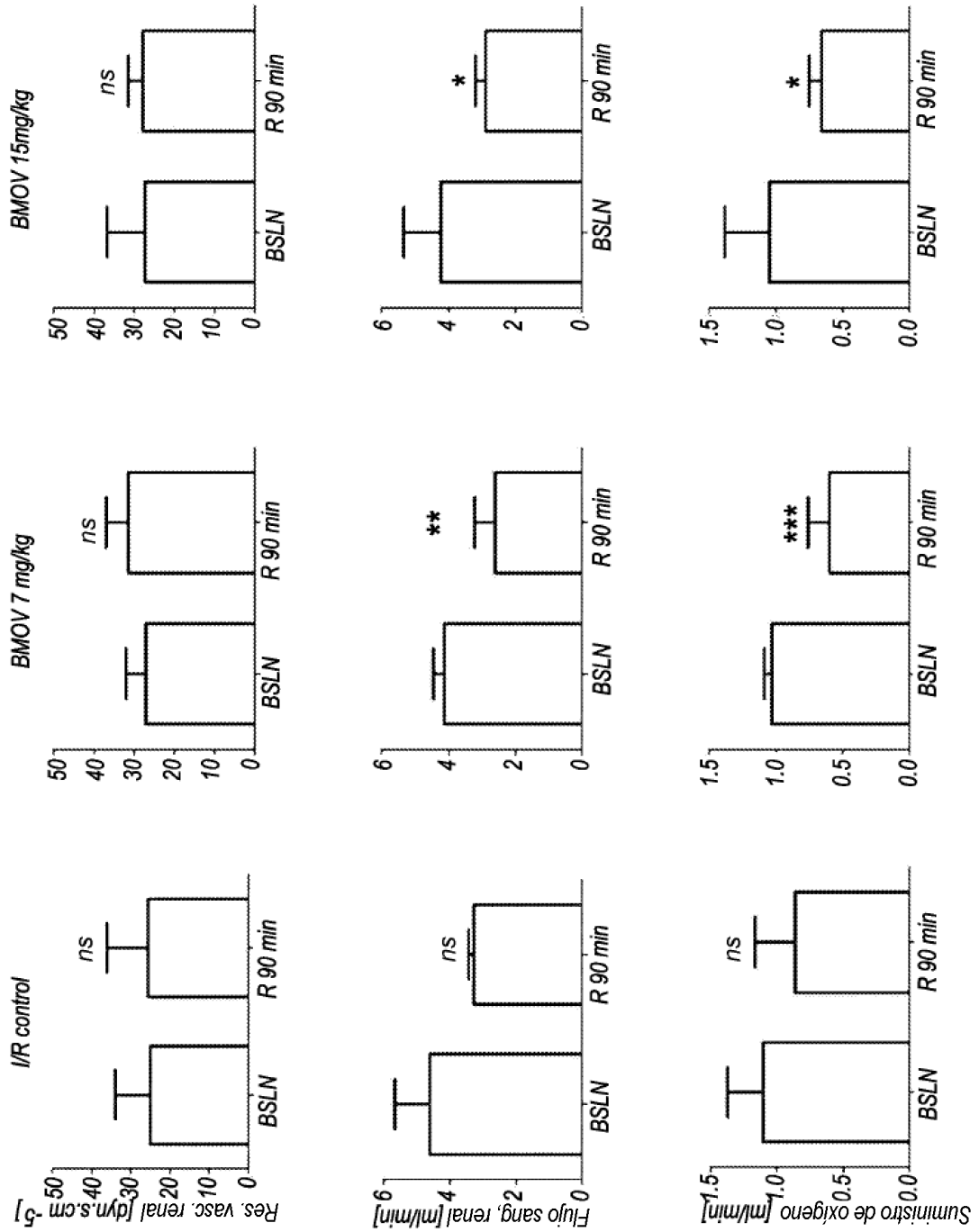
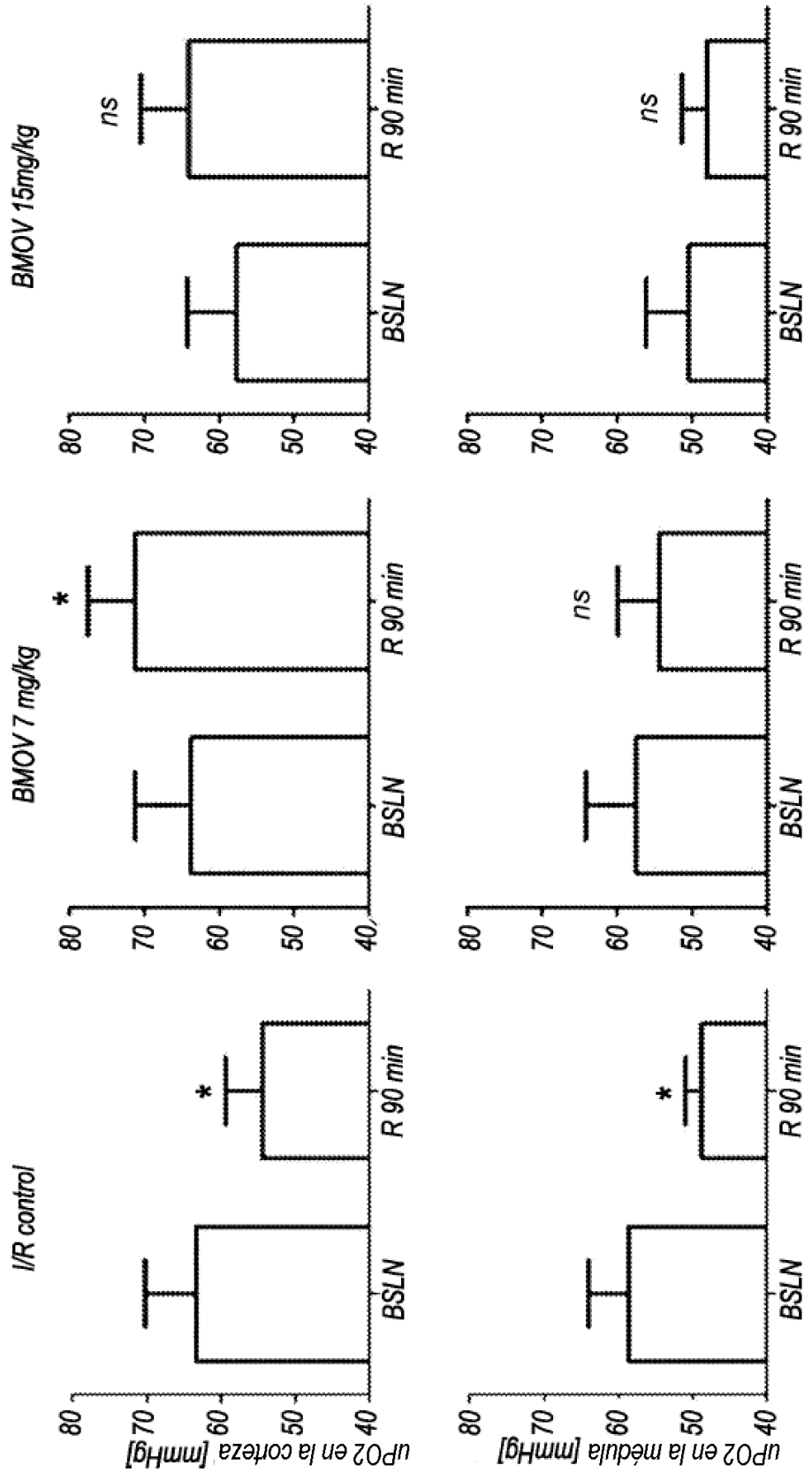

I/R control
BMOV 7 mg/kg
BMOV 15mg/kg
Res. vasc. renal [dyn.s.cm -5]
Flujo sang. renal [ml/min]
Suministro de oxígeno [ml/min]
BSLN
R 90 min
ns
**
***
*

Fig. 3


I/R control
BMOV 7 mg/kg
BMOV 15mg/kg
uPO2 en la corteza [mmHg]
uPO2 en la médula [mmHg]
80
70
60
50
40
BSLN
R 90 min
*
ns

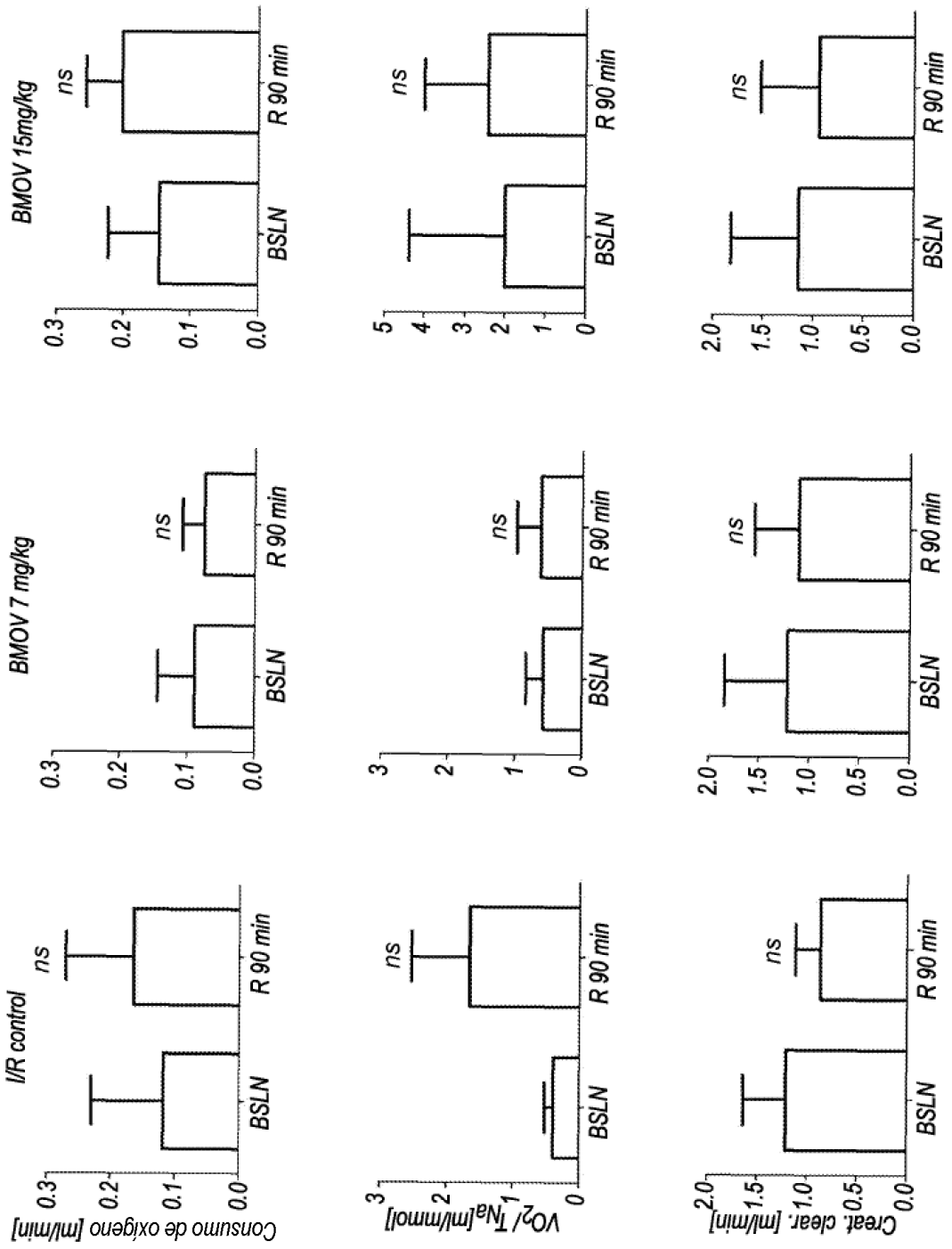
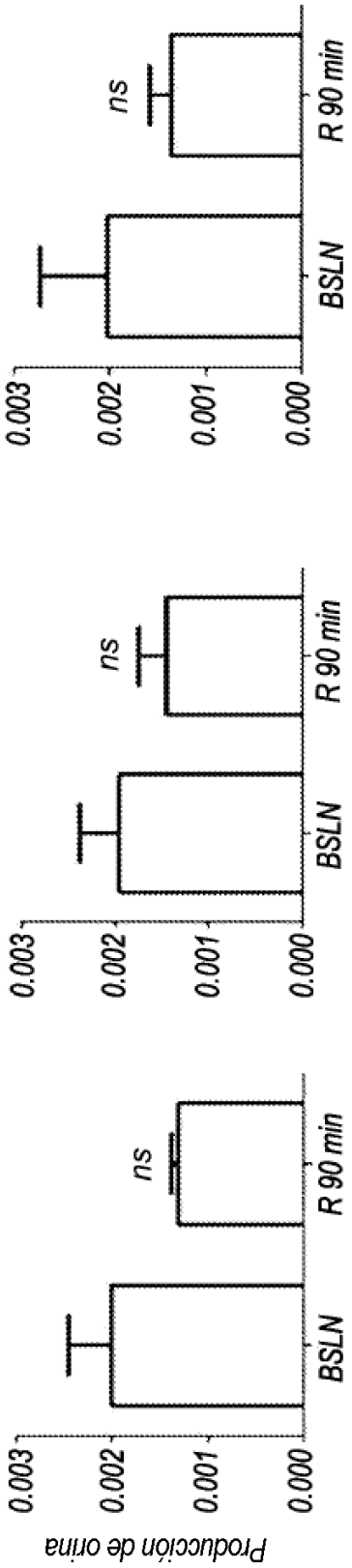

I/R control
BMOV 7 mg/kg
BMOV 15mg/kg
Consumo de oxigeno [ml/min]
VO2/ TNa[ml/mmol]
Creat. clear. [ml/min]
ns
BSLN
R 90 min
0.0
0.1
0.2
0.3
0
1
2
3
4
5
0.5
1.0
1.5
2.0

Fig. 4

Fig. 5


Producción de orina
0.003
0.002
0.001
0.000
BSLN
ns
R 90 min
0.003
0.002
0.001
0.000
BSLN
ns
R 90 min
0.003
0.002
0.001
0.000
BSLN
ns
R 90 min

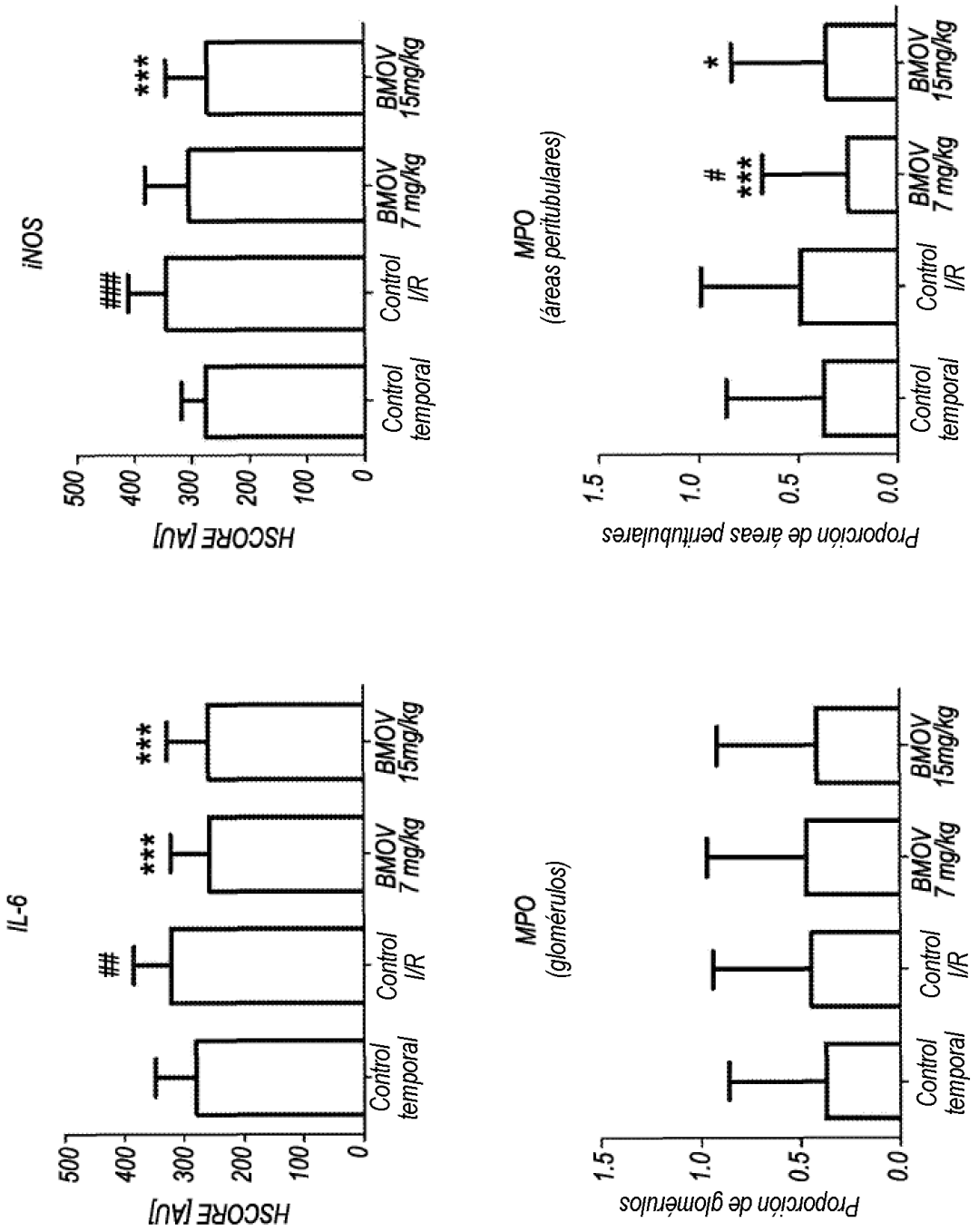
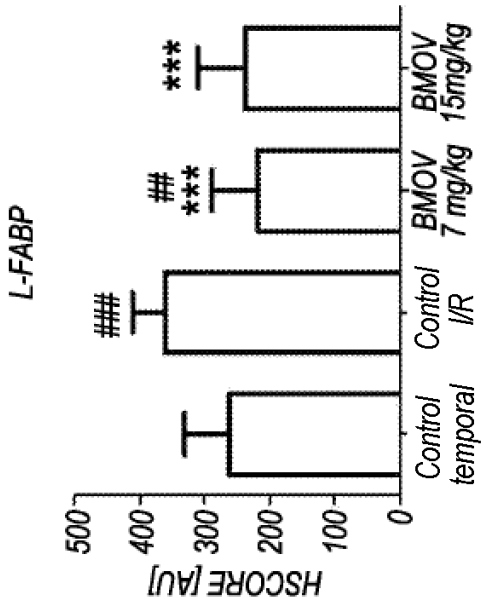

iNOS
HSCORE [AU]
500
400
300
200
100
0
###
***
Control temporal
Control I/R
BMOV 7 mg/kg
BMOV 15mg/kg
MPO (áreas peritubulares)
Proporción de áreas peritubulares
1.5
1.0
0.5
0.0
#
***
*
IL-6
##
***
***
MPO (glomérulos)
Proporción de glomérulos

Fig. 6


L-FABP
HSCORE [AU]
500
400
300
200
100
0
###
##
***
***
Control temporal
Control I/R
BMOV 7 mg/kg
BMOV 15mg/kg

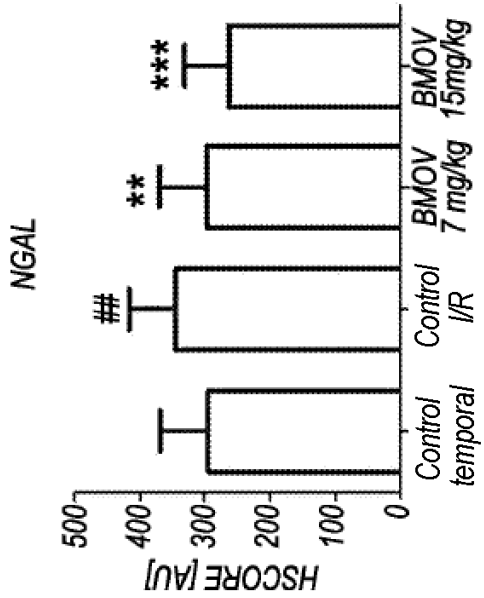

NGAL
HSCORE [AU]
500
400
300
200
100
0
##
**
***
Control temporal
Control I/R
BMOV 7 mg/kg
BMOV 15mg/kg

Fig. 7