

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD FASE NACIONAL - PCT

1 Título de la Invención(200 caracteres o espacios máximos)

SOLUCIONES PARA INCREMENTAR LA ESTABILIDAD Y LA VIDA ÚTIL DE UN ÓRGANO, Y SOLUCIÓN DE CONSERVACIÓN DE TEJIDO

2 Datos del Solicitante

Nombre:	SOMAH LUTION, LLC	Dirección Electrónica:	clientes@cavelier.com
Dirección:	225 Chimney Corner Lane, Jupiter, Florida 33458, Estados Unidos de América	Domicilio/País de constitución:	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA - FLORIDA - JUPITER
Identificación: ☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☒ EMPRESA EXTRANJERA ☐ PASAPORTE ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ NIT			
Número:	900043954-		

3 Solicitantes

Apellidos - Nombres o Razón Social	Tipo	Identificación
1. SOMAH LUTION, LLC	EE	900043954

4 Datos del Inventor

Nombre:	Mahendra SURYAN	Dirección Electrónica:	clientes@cavelier.com
Dirección:	8066 Mariposa Grove Circle Wellington, Florida 33411, Estados Unidos de América	Domicilio/País de constitución:	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA - FLORIDA - WELLINGTON
Identificación: ☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ NIT ☐ PASAPORTE ☒ No Aplica Número: -			
5	Inventor(es)		
Apellidos - Nombres		Domicilio	
1. SURYAN Mahendra		ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	
6	Datos Inventor(es)		
País de Residencia	Departamento/Estado	Ciudad	Dirección
1. ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	FLORIDA	WELLINGTON	8066 Mariposa Grove Circle Wellington, Florida 33411, Estados Unidos de América
7	Datos del Representante Legal / Apoderado		
Nombre:	JOSE ANDRES RINCON USCATEGUI	Dirección Electrónica:	cavelier@cavelier.com
Dirección:	CARRERA. 4 No. 72-35	Domicilio/País de constitución:	COLOMBIA - BOGOTA D.C. - BOGOTA D.C.

Identificación:			
☒ CEDULA DE CIUDADANIA		☐ CEDULA DE EXTRANJERIA	
☐ EMPRESA EXTRANJERA		☐ NIT	
☐ PASAPORTE			
Número:		79780910-	
Presentación de Poder			
Año de Radicación			
Número de Radicación			
8	Datos Solicitud: PCT / WO		
Número Solicitud:		PCT/US2014/066054	Fecha Solicitud: 18/11/2014
Número Publicacion:		WOC 2015/077199 A1	Fecha Publicacion: 28/05/2015
9	Declaraciones de prioridad	☒ SI ☐ NO	
1.	(33) País de origen ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	Codigo del país US	(31) No. Solicitud 61/963,093
			(32) Fecha 22/11/2013
10	Reivindicaciones		
Número reivindicaciones:		31	Pago Reivindicaciones: No
11	Reducción de tasas.		
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i> ☐ SI ☒ NO			
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.			
☐ Micro, pequeñas y medianas empresas ☐ Universidades públicas o privadas ☐ Entidades sin ánimo de lucro			
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos			
12	Documentos Anexos		
☒ Reivindicaciones ☒ Descripción ☒ Dibujos y/o Figuras ☒ Resumen			

- ☐ Certificado Depósito Material Biológico
- ☐ Uso de Conocimiento tradicional
- ☐ Listado de secuencias
- ☐ Artes finales 12 x 12 cm
- ☒ Poderes, si fuere el caso
- ☐ Copia de la primera solicitud si se reivindica prioridad
- ☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad
- ☐ Otros Anexos

**SOLUCIONES PARA INCREMENTAR LA ESTABILIDAD Y LA VIDA ÚTIL
DE UN ÓRGANO, Y SOLUCIÓN DE CONSERVACIÓN DE TEJIDO**

5 **Solicitudes relacionadas.**

Esta solicitud reivindica el beneficio y la prioridad de la Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos pendiente previamente presentada, Acta Nro. 61/963.093, presentada el 22 de noviembre de 2013, cuya divulgación se incorpora en la presente solicitud por referencia en su totalidad.

10

Campo de la invención.

La presente invención se dirige a formulaciones para la conservación de tejido y la función de órganos, y más en particular, a formulaciones para la conservación de tejido y la función de órganos estables en almacenamiento, en particular, la función

15 de conductos vasculares, antes de la implantación.

Antecedentes de la invención.

Las descripciones de todas las referencias citadas en la presente solicitud se incorporan en su totalidad por referencia.

20

La Patente de los Estados Unidos Nro. 7.981.596 divulga soluciones para la conservación de tejido y órganos, generalmente denominadas GALA. Esta denominación se debe a tres componentes: glutatona, ácido ascórbico y L–Arginina. Las soluciones de GALA además incluyen una solución salina balanceada. Estas soluciones son especialmente útiles para la conservación de conductos vasculares

25 tales como arterias y venas. Los conductos vasculares se usan como injertos para una diversidad de procedimientos quirúrgicos de derivación, que incluyen, sin limitación, cirugía de derivación vascular periférica, y cirugía de derivación aortocoronaria (CABG, conforme a sus siglas en inglés). El injerto de derivación es un método en el cual se injerta un conducto vascular de modo tal de evitar una

30 arteria obstruida a fin de restaurar el flujo sanguíneo a un sitio objetivo. Durante las cirugías vasculares, se cosechan conductos vasculares, se inundan y se almacenan

temporariamente en una solución de conservación, antes de su injerto.

La disfunción endotelial es el determinante primario en la patogénesis interrelacionada que conduce a la insuficiencia vascular. La falla de injerto es precedida por la trombosis de injerto, hiperplasia intimal y aterosclerosis de injerto
5 acelerada, todas las cuales se predicen con el deterioro previo funcional y/estructural del endotelio de conducto vascular. Se ha reconocido que la elección de la solución de almacenamiento para segmentos de la vena safena cosechados intraoperativamente tiene un efecto significativo sobre la función y la estructura endoteliales y, por lo tanto, la permeabilidad del injerto. La incapacidad de estas
10 soluciones para conservar adecuadamente el conducto vascular ha sido demostrada por una cantidad de investigadores (Thatte HS, Biswas KS, Najjar SF, *et al. Multi-photon microscopic evaluation of saphenous vein endothelium and its preservation with a new solución, GALA. Ann Thorac Surg* 2003; 75: 1145–52 y Hussaini 2011). En un estudio de 2011 *ex vivo* conducido por Wilbring *et al* se demostró que la
15 función vascular era completamente anulada luego del almacenamiento de los conductos cosechados de pacientes en una solución salina regulada, utilizada comúnmente para el almacenamiento de conductos vasculares. Los datos revelaron que la función celular endotelial era también significativamente reducida, aunque estos conductos disfuncionales eran exitosamente utilizados como injertos para la
20 cirugía de derivación en este estudio.

El efecto de la solución de conservación GALA™ sobre segmentos de la vena safena humana se evaluó en estudios *ex vivo*. Si bien las soluciones en uso clínico en la actualidad condujeron a una profunda declinación en la viabilidad celular endotelial de los conductos vasculares (vena safena), GALA™ mantuvo la función
25 endotelial y la viabilidad estructural durante por lo menos hasta 24 horas (Thatte 2003, *Circulation* 2013: 127 e6–e245 Hussaini BE, Lu XG, Wolfe JA y Thatte S. *Evaluation of endoscopic vein extraction on structural and functional viability of saphenous vein endothelium. J Cardiothorac Surg* 2011; 6: 82–90). Los datos *ex vivo* en consecuencia demostraron que la mejor conservación de conductos vasculares
30 podría lograrse a través del uso de GALA™ como una solución de conservación de conductos vasculares. Sin embargo, la solución divulgada tiene una limitada vida útil,

debido a la inestabilidad de la solución.

Por lo tanto, existe la necesidad de producir soluciones mejoradas del tipo GALA de soluciones de conservación de órganos y tejidos a fin de mejorar la estabilidad y la vida útil de la solución.

5

Síntesis de la invención.

La presente invención se sustenta en el conocimiento de que la estabilidad de la formulación GALA puede ser mejorada mediante la separación de la formulación en una primera Solución A que tiene un pH de por lo menos 7, generalmente, 7,4–8, y una Solución B que tiene un pH inferior a 7, generalmente inferior. La Solución A incluye una solución salina balanceada. La Solución B incluye agua, un antioxidante tal como ácido ascórbico, un agente reductor, en particular, L–glutathione, un sustrato de óxido nítrico, tal como L–Arginina y un azúcar, tal como D–glucosa. Esta solución se mantiene a un pH inferior a 7, preferentemente, 5, 4 o 3, y preferentemente, con un contenido de oxígeno a cero partes por millón. En una forma de realización alternativa de la presente invención, se formulan las Soluciones A y B como se establece anteriormente, excepto que se agrega el azúcar a la Solución A y no a la Solución B. Además, en una formulación alternativa, puede agregarse eritropoyetina (EPO), preferentemente, a la Solución B.

20

Breve descripción de los dibujos.

La FIG. 1 es una vista en perspectiva de una bolsa de múltiples cámaras para el uso en la presente invención;

la FIG. 2 es una vista en perspectiva de un equipo que tiene un primer y un segundo recipientes para el uso con la presente invención;

las FIGS. 3A y 3B son gráficos que representan la concentración en función del tiempo en condiciones de almacenamiento aceleradas de glutathione, ácido ascórbico y Arginina;

la FIG. 4 son dos gráficos que representan el índice de degradación de L–glutathione en la Solución B; y

las FIGS. 5A–5D son representaciones diagramáticas del método de puesta

30

en práctica de la presente invención.

Descripción detallada.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos
5 utilizados en esta solicitud tienen el mismo significado que aquel comúnmente
entendido por el experto en la técnica a la cual pertenece esta invención. Si bien
pueden usarse cualesquiera métodos y materiales similares o equivalentes a los
descriptos en esta solicitud, en la puesta en práctica o la evaluación de la presente
invención, se describen los métodos y los materiales preferidos. Para los propósitos
10 de la presente invención, se definen a continuación los siguientes términos.

De acuerdo con esta solicitud, el término "paciente" incluye miembros del reino
animal que incluyen, sin limitación, seres humanos.

Según se emplea en esta solicitud, el término "órgano" incluye, sin limitación,
el corazón, las venas, arterias, los pulmones, el hígado, el páncreas, y los riñones.
15 Las porciones de órganos también se contemplan.

De acuerdo con esta solicitud, "agua estéril" incluye, sin limitación, (a) agua
estéril para inyección, USP (Farmacopea de los Estados Unidos, según su sigla en
inglés), (b) agua desionizada destilada estéril y (c) agua estéril para irrigación.

De acuerdo con esta solicitud, "cardioplegia" incluye, sin limitación, la parálisis
20 del corazón.

De acuerdo con esta solicitud, "hipotermia moderada" es alrededor de 10.
grados–21 grados C.

De acuerdo con esta solicitud, un "antioxidante" es una sustancia que, cuando
se presenta en una mezcla o estructura que contiene una molécula biológica de
25 sustrato oxidable, demora o evita la oxidación de la molécula biológica de sustrato.
Por ejemplo, el ácido ascórbico es un antioxidante.

"Solución salina balanceada" se define como una solución acuosa que es
osmóticamente balanceada a fin de evitar el daño tisular o celular agudo.

"Solución salina regulada" se define como una solución salina balanceada a la
30 cual se han agregado agentes químicos a fin de mantener un rango predeterminado
de pH fisiológico.

"GALA" se refiere a un tipo de solución de conservación de tejido que incluye glutatona, ácido ascórbico, L-Arginina y una solución salina balanceada.

"Injerto" se define como tejido que es trasplantado o implantado en una parte del cuerpo a fin de reparar un defecto.

5 "Conducto de derivación cosechado" se define como una vía alternativa quirúrgicamente instalada para que la sangre evite una obstrucción.

"Solución de cardioplegia" se define como una solución que ayuda en la conservación del corazón durante el transporte o la cirugía.

10 "Agente reductor celular" se define como una sustancia que pierde electrones con facilidad, de modo de producir la reducción química de otras sustancias.

Un "agente regulador" es un ácido o una base que se usa para mantener la acidez (pH) de una solución cerca de un valor seleccionado. Los agentes reguladores preferidos utilizados para producir las soluciones de la presente invención son HCl, 4 N, y 84% NaHCO₃.

15 *Una solución isotónica se refiere a dos soluciones que tienen la misma presión osmótica a través de una membrana semipermeable.* Una solución isotónica es una solución que tiene la misma concentración salina que las células.

Una solución fisiológica se define como una solución salina acuosa que es compatible con el tejido normal, en virtud de ser isotónica con el líquido intersticial normal.

20

La presente invención provee una formulación de conservación de tejido de tipo GALA compuesta por dos soluciones, la Solución A y la Solución B, que tiene una estabilidad inesperadamente más alta que las soluciones de conservación de tejido del tipo GALA previas de una sola solución.

25 De acuerdo con la presente invención, la primera solución, o Solución A, está compuesta por una solución salina balanceada. La solución salina balanceada está compuesta por agua y sales fisiológicamente aceptables. Una solución salina balanceada típica estará compuesta de agua, iones de calcio, iones de cloruro, iones de potasio, iones de fosfato, iones de magnesio, e iones de sodio.

30 La solución salina balanceada incluye sales seleccionadas de las siguientes: dihidrato de cloruro de calcio, cloruro de potasio, fosfato de potasio monobásico,

cloruro de magnesio hexahidrato, sulfato de magnesio heptahidrato, cloruro de sodio, bicarbonato de sodio, fosfato de sodio dibásico heptahidrato y sus combinaciones. La solución salina balanceada se provee en una concentración que logrará una solución isotónica cuando se mezclan la primera y la segunda soluciones entre sí. En una

5 forma de realización ejemplar, la solución salina balanceada incluye alrededor de 0,14 gramos/litro de cloruro de calcio dihidrato, alrededor de 0,4 gramos/litro de cloruro de potasio, 0,06 gramos/litro de fosfato de potasio monobásico, alrededor de 0,1 gramos/litro de cloruro de magnesio hexahidrato, alrededor de 0,1 gramos/litro de sulfato de magnesio heptahidrato, alrededor de 8 gramos/litro de cloruro de sodio,

10 alrededor de 0,36 gramos/litro de bicarbonato de sodio, y alrededor de 0,03 gramos/litro de fosfato de sodio dibásico heptahidrato.

Los componentes de la Solución A se disuelven juntos en agua, y el pH de la solución resultante se ajusta a alrededor de 7,4 – 8,0 mediante la adición de una base, tal como bicarbonato de sodio.

15 Opcionalmente, la Solución A puede contener agentes antiinflamatorios no corticoesteroides, tales como aspirina, naproxeno e ibuprofeno. Opcionalmente, pueden agregarse medicaciones anestésicas locales, preferentemente, en la Solución A o, alternativamente, la medicación anestésica puede agregarse en el punto de uso. Ejemplos de dichas medicaciones de anestesia local incluyen, sin

20 limitación, lidocaína, articaína/epinefrina, mepivacaína, bupivacaína, ropicavaína y cloroprocaína.

De acuerdo con la presente invención, los siguientes componentes de GALA se presentarán en una segunda solución, o Solución B: Glutaciona reducida, un agente reductor tal como ácido ascórbico; un azúcar tal como D-Glucosa, L-

25 Arginina, un agente regulador y agua, que se ha purgado con un gas inerte tal como argón, a fin de remover sustancialmente la totalidad del oxígeno disuelto (preferentemente, a menos de 0,1 p. p. m.). El pH de la resultante Solución B es inferior a 7 y generalmente, de 3 a 5. Como una alternativa, puede sustituirse con cisteinilglicina la Glutaciona reducida, o puede presentarse una mezcla de

30 cisteinilglicina y Glutaciona reducida en la Solución B. En una formulación de mayor preferencia, el pH de la Solución A es 8,0, y el pH de la Solución B es alrededor de

3,0.

Más específicamente, la Solución B es una solución de componentes orgánicos en un recipiente separado de la Solución A, y compuesta por L-glutamina, L-Arginina, Ácido L-ascórbico, D-glucosa y H₂O para la inyección a un pH de 3,0 – 5,0. Otros azúcares que pueden usarse en lugar de la glucosa son cualquier azúcar, si bien, preferentemente, cualquier monosacárido que incluye, sin limitación, fructosa, manosa y ribosa . Cuando se mezclan las Soluciones A y B en el punto de uso, el pH de la solución mezclada es $7,3 \pm 0,4$. El pH de las Soluciones A y B puede ajustarse usando muchos agentes reguladores conocidos. Los agentes reguladores preferidos son HCl, 4 N, y 84% NaHCO₃. En una formulación preferida, el pH de la Solución A es alrededor de 7,8, y el pH de la Solución B es alrededor de 4,0. En una formulación de mayor preferencia, el pH de la Solución A es 8,0, y el pH de la Solución B es 3,0.

Las sales en la solución tienen la intención de regular (mantener el pH) y de mantener la isotonicidad con respecto a los conductos vasculares. Los componentes orgánicos tienen la intención de mantener la capacidad reguladora adicional, la osmolalidad, y de proporcionar un entorno no oxidante para los conductos vasculares. Los cuatro componentes orgánicos: L-glutamina, Ácido L-ascórbico, L-Arginina y D-glucosa, son constituyentes normales de la sangre, y se incluyen por sus roles en la conservación y el mantenimiento del entorno extracelular de los conductos vasculares.

L-Glutamina y Ácido L-ascórbico son antioxidantes que evitan el daño oxidativo a las células, mediante la absorción de radicales libres. La función de estos antioxidantes en la solución de conservación de tejido es 1) estabilizar otros componentes de la solución mediante la prevención de la oxidación, de manera de mejorar la estabilidad y la vida útil del producto; y 2) evitar el daño oxidativo a las membranas celulares y las estructuras de matriz extracelular. El daño oxidativo ha demostrado romper la integridad estructural de la arquitectura extracelular, de modo de causar una membrana celular endotelial interrumpida. La membrana endotelial interrumpida es un indicador de injerto vascular dañado. El azúcar tiene la intención de proporcionar una fuente de energía para el tejido o el órgano.

Cuando la Solución A se combina con la Solución B, la concentración de L-

arginina debe ser de alrededor de 250 μ M a alrededor de 2000 μ M. La concentración de glucosa debe ser de alrededor de 50 mM a alrededor de 120 mM, de L-glutathione, 50 μ M a alrededor de 2000 μ M, y de Ácido L-ascórbico, 25 μ M a alrededor de 1000 μ M.

5 La primera o segunda formulaciones pueden incluir en forma opcional un anticoagulante en una cantidad suficiente para ayudar a evitar la coagulación de la sangre dentro de la vasculatura de un tejido u órgano. Ejemplos de anticoagulantes incluyen heparina e hirudina, si bien pueden usarse otros anticoagulantes tales como aspirina. Una forma de realización ejemplar incluye heparina en rangos de
10 concentración de alrededor de 50 unidades/ml a alrededor de 250 unidades/ml. La heparina además puede agregarse en forma separada luego de que las Soluciones A y B se han combinado y antes del uso.

 En una forma de realización ejemplar, la relación volumétrica entre la Solución A y la Solución B es alrededor de 19:1. Por ejemplo, en una forma de realización, se
15 mezclan 950 ml de Solución A con 50 ml de Solución B a fin de lograr la formulación final para la conservación de la función de un tejido u órgano.

 Si se agrega EPO o bien a la Solución A o B, la concentración de EPO debe ser de alrededor de 5 unidades/ml cuando se combinan la Solución A y la Solución B.

 De acuerdo con la presente invención, una segunda solución de conservación
20 de tejido alternativa incluye una solución A, que incluye un azúcar tal como glucosa, manosa, fructosa o similares, en combinación con una solución salina balanceada a un pH de 7,4 a 8, y una segunda solución, Solución B, comprende glutathione reducida, ácido ascórbico, L-Arginina, un agente regulador en agua a un pH inferior a 7, generalmente, 5, 4 o 3, que puede almacenarse en un entorno libre de oxígeno.

25 Generalmente, ni la Solución A ni la B en cualquiera de las formas de realización incluirá otros componentes orgánicos diferentes de aquellos específicamente citados, ya que estos serán innecesarios e incrementarán los costos de producción. En particular, los compuestos orgánicos diferentes de aquellos previamente citados que se encuentran en otros tipos de soluciones de conservación
30 de tejido no se incluirán en las Soluciones A o B, a fin de minimizar los costos y reducir las potenciales reacciones secundarias, que podrían ser nocivas para el

producto final.

El proceso de fabricación es resistente, y se lleva a cabo en las condiciones de buenas prácticas de fabricación actuales (cGMP, conforme a sus siglas en inglés). El producto es esterilizado por procedimientos de llenado aséptico, y la prueba de
5 estabilidad proporciona una vida útil propuesta de por lo menos 2 años.

La FIG. 1 y la FIG. 2 muestran formas de realización ejemplares de equipos o recipientes utilizados para el embarque, el almacenamiento y finalmente el uso de las soluciones de conservación de tejido de la presente invención. Estos son ejemplares, y pueden usarse otros recipientes a fin de proporcionar las Soluciones A y B
10 separadas, que se combinan en el punto de uso para la conservación de tejido.

La Figura 1 muestra una bolsa 10 que tiene dos cámaras 12 y 14 que están divididas o separadas entre sí mediante abrazadera, por la abrazadera 16. La cámara 12 contiene la Solución A, y la cámara 14 contiene la Solución B. Cuando la abrazadera 16 es removida, las cámaras 12 y 14 se tornan una cámara de la bolsa
15 10, y la Solución A se mezcla con la Solución B, de modo de lograr la solución de conservación de tejido y órganos completa en la bolsa 10. Ver la Patente de los Estados Unidos Nro. 5.257.985.

La Figura 2 muestra un equipo de conservación de órganos y tejido 20 que tiene dos recipientes, 22 y 24. La Solución A está contenida en el recipiente 22, y la
20 Solución B está contenida en el recipiente 24. En el punto de uso, los contenidos del recipiente 24 pueden volcarse en el recipiente 22, o los contenidos tanto del recipiente 22 como del recipiente 24 pueden volcarse en una vasija o un intestino donde puede colocarse un arteria o vena a fin de producir la solución de conservación de órganos y tejido completa.

25 En una forma de realización preferida como se muestra en la Figura 2, se llena preferentemente en forma aséptica con la Solución A una botella preesterilizada Nalgene, que es luego asegurada con una tapa a rosca preesterilizada de HDPE (polietileno de alta densidad, conforme a sus siglas en inglés).

Con la Solución B se llena asépticamente un vial de vidrio preesterilizado de
30 borosilicato, Tipoe I, que está asegurado con una tabique preesterilizado Stelmi, que se mantiene en su sitio con un sello de extracción por rotura. El sello de extracción

por rotura se dobla hacia adentro en la botella usando un proceso de doblado hacia dentro validado, en el sitio de doblado recomendado por el fabricante. La botella B puede ser desgaseada con gas argón durante la mezcla y el proceso de llenado a fin de reducir la presencia de oxígeno, si bien este desgaseado puede no ser necesario.

- 5 La botella que contiene la solución A y la botella que contiene la solución B se colocan entonces en una caja preimpresa de cartulina. Se coloca además el prospecto en la caja, en este momento. La caja luego es sellada y rotulada para la distribución.

10 En el punto de uso, las Soluciones A & B se mezclan entres sí, de manera de completar la Solución C final de GALA, y se ajustará el pH a alrededor de $7,3 \pm 0,4$. Si el pH de la Solución A es 8,0, el pH de la Solución B será de alrededor de 3,0. Si el pH de la Solución A es 7,8 el pH de la Solución B será de alrededor de 4,0. Y, si el pH de la Solución A es 7,6, el pH de la Solución B será de alrededor de 5,0.

15 El que sigue es un procedimiento recomendado para la puesta en práctica de la presente invención.

20 Se dejan entibiar las soluciones 22 y 24 hasta temperatura ambiente. Antes del uso, se controla cada recipiente, 22 y 24, para verificar que no haya pérdidas, mediante la inspección de los cierres. Si se halla una pérdida, se descarta el recipiente de la solución. Se realiza una inspección visual de la solución a fin de establecer la materia de partículas. No se utilizará la solución si son evidentes materia de partículas, precipitados o contaminación en la solución. Inmediatamente antes del uso, se realizan las siguientes etapas:

25 1. Se vierte el contenido entero de la Solución A del vial 22 en un recipiente estéril 26 (por ejemplo, una bandeja, una taza o una vasija pequeña) donde el conducto vascular 32 será almacenado antes del injerto, como se muestra en la FIG. 5A.

2. Con una jeringuilla estéril 28, se extraen asépticamente 12,5 ml de la Solución B del vial 24, y se agregan al recipiente 26 con la solución A (FIG. 5B) a fin de formar la solución GALA 34.

30 3. Se agregan 12.500 unidades de heparina al recipiente 26 que contiene las Soluciones A y B como se muestra en la FIG. 5C.

4. Se mezcla, mediante el suave torbellino en el recipiente 26.

La solución se usa para inundar el conducto vascular aislado 32 inmediatamente después de la extracción del paciente. Las soluciones A y B combinadas pueden además usarse en combinación con una jeringuilla a fin de
5 aplicar una presión hidrostática al conducto, con el objetivo de evaluar la pérdida del conducto antes del almacenamiento en la solución. El conducto vascular 32 es entonces almacenado en la solución 34 combinada en el recipiente 26, hasta que el conducto vascular pueda ser injertado en el paciente.

Las soluciones, los aparatos y los métodos de perfusión de la presente
10 invención no se limitan al uso con un tejido, órgano o tipo de célula particular. Por ejemplo, la invención puede usarse con vena safena cosechada, arterias epigástricas, arterias gastroepiploicas y arterias radiales usadas en la cirugía de derivación aortocoronaria (CABG). La presente invención además puede usarse para mantener órganos y tejido durante operaciones de trasplantes. La presente invención
15 no se limita a ningún tejido u órgano particular. Por ejemplo, se contempla que dichos órganos o tejidos pueden ser corazón, pulmones, riñón, cerebro, sangre, plaquetas, injertos musculares, piel, intestino, hueso, apéndices, ojos, etc., o sus porciones. Adicionalmente, la presente invención puede usarse como un conservante *in situ* de tejido u órganos. Se contempla que la solución de la presente invención sea usada
20 para lavar y bañar tejidos y órganos que no han sido extraídos del paciente. Por ejemplo, se contempla que la presente invención sea usada durante la cardioplegia. Se contempla además que la presente invención sea usada, por ejemplo, en procedimientos de emergencia donde puede ser necesario el baño de un tejido u órgano a fin de conservarlo hasta la cirugía, o hasta que pueda obtenerse otra
25 atención médica. En este sentido, la solución puede hacerse accesible al personal médico de emergencia tanto en contextos hospitalarios como "en el campo" (es decir, en ambulancias o en instalaciones médicas de emergencia temporarias).

La solución GALA (Soluciones A y B combinadas) además puede usarse como una solución de lavaje en cirugías, en particular, cirugía plástica o
30 reconstructiva. Esto incluye, sin limitación, la liposucción, la reconstrucción mamaria, la mastectomía u otras operaciones en las cuales será deseable una solución

isotónica, con pH balanceado, tal como GALA. La solución GALA puede usarse además para inundar o preparar una máquina de diálisis usando el procedimiento del fabricante para la preparación o la inundación. La solución GALA puede usarse, asimismo, en conjunto con un soporte externo venoso. Un ejemplo de dicho soporte
5 es el soporte externo venoso VestTM desarrollado por Vascular Graft Solutions de Tel-Aviv, Israel.

Los componentes de las soluciones de conservación de tejido y órganos además pueden ser incorporados en geles, cremas o hidrogeles. Ejemplos de hidrogeles se divulgan en la Patente de los Estados Unidos Nro. 6.339.074.

10 La Tabla 1 a continuación muestra una forma de realización de la presente invención en la cual el pH de la Solución A es de alrededor de 8,0, y el pH de la Solución B es de alrededor de 3,0.

TABLA 1.

Composición cualitativa y cuantitativa de las soluciones A y B de una forma de realización.

Componentes	*Concentración (± 5%)		
SOLUCIÓN A	g/l	g/237.5 ml	mM
Cloruro de calcio dihidrato	0.147	0.035	1.326
Cloruro de potasio	0.421	0.100	5.653
Fosfato de potasio monobásico	0.063	0.015	0.463
Sulfato de magnesio heptahidrato	0.105	0.025	0.432
Cloruro de magnesio hexahidrato	0.105	0.025	0.516
Cloruro de sodio	8.421	2.000	144.100
Bicarbonato de sodio	0.379	0.090	4.390
Fosfato de sodio dibásico anhidro	0.028	0.007	0.200
Agua para inyección	c. s. para 1 l	c. s. para 237.5 ml	–
Bicarbonato de sodio, 1,0 M/HCl, 1,0 M	Ajustar pH a 8.0		
Componentes	*Concentración (± 5%)		
SOLUCIÓN B	g/l	g/12.5 ml	mM
L–Glutationa	6.200	0.078	20.200
D–Glucosa	20.000	0.25	111.000
L–Arginina	3.000	0.038	17.200
Ácido L–ascórbico	1.800	0.023	10.200
Agua para inyección	c. s. para 1 l	c. s. para 12.5 ml	–
Bicarbonato de sodio, 1,0 M/HCl, 1,0 M	Ajustar pH a 3.0		

Los Componentes de la Solución A y Solución B combinadas se muestran en la Tabla 2:

5 **TABLA 2.**
Composición cualitativa y cuantitativa de las Soluciones A & B combinadas.

Componentes	*Concentración (± 5%)		
	g/l	g/250 ml	mM
SOLUCIONES A + B			
Cloruro de calcio dihidrato	0.14	0.0348	1.26
Cloruro de potasio	0.40	0.0998	5.37
Fosfato de potasio monobásico	0.06	0.0148	0.44
Sulfato de magnesio heptahidrato	0.10	0.0248	0.41
Cloruro de magnesio hexahidrato	0.10	0.0248	0.49
Cloruro de sodio	8.00	1.9998	136.89
Bicarbonato de sodio	0.36	0.0900	4.17
Fosfato de sodio dibásico anhidro	0.026	0.0065	0.187
L–Glutaciona	0.31	0.0775	1.01
D–Glucosa	1.00	0.2500	5.55
L–Arginina	0.15	0.0375	0.86
Ácido L–ascórbico	0.09	0.0225	0.51
Rango de pH luego de la mezcla de A y B	7.3 ± 0.4		

Los siguientes ejemplos tienen la intención de ilustrar la invención, si bien no
10 de limitarla de modo alguno.

EJEMPLO 1

Se produjeron múltiples lotes de Solución A y Solución B de la Tabla 1. Se colocaron 21 conjuntos de recipientes de Solución A y B de tres lotes separados,
15 en una cámara de estabilidad calificada mantenida a 40°C con 75% de humedad relativa. Los recipientes de solución de cada uno de los lotes se tomaron periódicamente y se evaluaron en estas condiciones aceleradas. Los resultados de estos datos se extrapolaron a fin de determinar la vida útil del producto, si se hubiera almacenado a 2–8°C. La determinación de la vida útil se realizó sobre la
20 base de la evaluación de la mínima duración de tiempo que las soluciones de producto se mantuvieron dentro de las especificaciones establecidas. Se estudiaron el pH, la osmolalidad y la conductividad de las soluciones A y B. Las

ocho sales inorgánicas que constituyen la solución A son inertes, y permanecen estables en medios acuosos durante períodos de tiempo prolongados.

Dos de los componentes de la solución B, L–Arginina y D–Glucosa, se hallaron también estables durante períodos prolongados de tiempo, a pH de 3. Por lo tanto, con todas las especificaciones restantes cumpliendo con los criterios de aceptación, los dos componentes que afectaron el resultado final de la vida útil del producto fueron ácido L–ascórbico y L–glutathiona, debido a sus propiedades antioxidantes.

La razón fundamental para la propiedad de limitación de estabilidad general fue que la solución mantuviera las condiciones necesarias para un entorno reductor general. Cuando las soluciones dejaron de ofrecer este beneficio, cayeron fuera de especificación. Un entorno reductor se logró siempre que permaneciera algo de L–glutathiona y ácido L–ascórbico reducidos, aunque en pequeñas cantidades, en sus estados reducidos en redox (reducción–oxidación), equilibrio y solución; en otras palabras, siempre que permanecieran L–glutathiona y ácido L–ascórbico independientemente sobre los límites detectables del método analítico.

Los datos obtenidos con el almacenamiento de la solución a 40°C se extrapolaron a la temperatura de almacenamiento promedio de 5° de dichas soluciones, usando un factor Q10 de 2. Sobre la base de esta extrapolación, se predice que la estabilidad de almacenamiento de la Solución B es de alrededor de 900 días, de manera de proporcionar una vida útil de por lo menos dos años, lo que excede en gran medida los requerimientos en la industria y lo que excede también en gran medida la estabilidad de las formulaciones actuales. Los datos brutos obtenidos que muestran la concentración de glutathiona se exponen en la FIG. 3A, y la concentración en función del tiempo para ácido ascórbico y Arginina se muestra en la FIG. 3B.

EJEMPLO 2

De acuerdo con la Regla Q10, las relaciones entre la constante de velocidad, la temperatura y la vida útil puede expresarse como:

$$Q_{10} = \left(\frac{k_2}{k_1}\right)^{\frac{10}{T_2-T_1}} \quad \text{o} \quad \frac{k_2}{k_1} = Q_{10}^{\frac{T_2-T_1}{10}} \quad \text{o} \quad \frac{SL_1}{SL_2} = Q_{10}^{\frac{T_2-T_1}{10}}$$

donde k1 y k2 son las constantes de velocidad a temperaturas T1 y T2, con
vidas útiles SL1 y SL2. El valor del coeficiente de temperatura Q10 depende de la
energía de activación Ea para la reacción. Por lo tanto, Q10 puede calcularse usando
la ecuación anterior, si las constantes de velocidad son conocidas para por lo menos
dos diferentes temperaturas. Los valores de Q10 habitualmente son 2, 3, o 4, de
acuerdo con si las estimaciones deseadas de vidas útiles son a) conservadoras, b)
probables y razonables, o c) menos conservadoras pero posibles, respectivamente.
Como regla de oro, un Q10 de 2 corresponde a Ea de 12,2 kcal/mol, 3 para 19,4
kcal/mol, y 4, para 24,5 kcal/mol.

Durante las etapas tempranas de la presentación regulatoria del producto,
cuando aún puede no estar disponible una información cinética detallada
dependiente de la temperatura, debe hacerse una estimación conservadora de la
vida útil. Una baja energía de activación para la reacción de degradación, por lo
tanto, se asume con un valor Q10 de 2, para la determinación de una estimación
conservadora de la vida útil del producto. De acuerdo con esta Regla, la velocidad de
la reacción aproximadamente se duplicará por cada elevación de 10 grados en las
temperaturas de almacenamiento, asumiendo una “energía de activación más
probable” para la reacción.

La constante de velocidad de primer orden para la descomposición de L-
glutathiona en la Solución B a 40°C se determinó como de 0,0643 días⁻¹ a partir de los
estudios acelerados de dos lotes de Solución B– uno con argón en el espacio de
cabeza, y el otro, sin argón. Estos perfiles se muestran en conjunto en la Figura 4. La
caída exponencial de primer orden se muestra en el gráfico inferior, y el gráfico
logarítmico lineal correspondiente se muestra en el gráfico de la parte superior.
Además, a esta temperatura (40°C), la especificación del producto para L-glutathiona
se acercó a su límite de expiración en aproximadamente 73 días. Usando los
argumentos en la ecuación anterior, una estimación conservadora de la vida útil a
5°C de almacenamiento puede efectuarse mediante la extrapolación usando un valor
Q10 de 2, de la siguiente manera:

Vida útil @5°C = $73 * 2^{\frac{(40-5)}{10}}$ = $73 * 2^{3.5} \approx 800 \text{ días} \approx 27 \text{ meses}$

A partir de este cálculo, por lo tanto, puede inferirse que, como mínimo, puede predecirse que la vida útil de la Solución B será de 27 meses, cuando el producto se almacena a 5°C.

Los estudios en tiempo real detallados sobre la estabilidad de tres lotes de GMP de Solución B a 2–8°C luego de quince meses de datos recogidos, sin embargo, sugieren que la estimación de vida útil de 27 meses a partir de los estudios acelerados podría ser extremadamente conservadora. y el factor real Q10 es 2,94.

Los estudios de estabilidad en tiempo real a 5°C han avanzado durante alrededor de un año, hasta la fecha. Los datos cinéticos disponibles de 12–15 meses de la degradación de L–glutathione de estos lotes pueden adaptarse a una cinética de reacción de primer orden con una constante de velocidad de alrededor de $1,40 \times 10^{-3} \text{ días}^{-1}$. Con estas velocidades, la especificación de producto para L–glutathione se acercó a su límite de expiración en alrededor de 100 meses. De manera sorprendente, la vida útil determinada sobre la base de los estudios acelerados a 40°C usando la técnica de extrapolación de Q10 fue significativamente más corta (27 meses) que lo sugerido por los datos en tiempo real actuales. Esta discrepancia puede ser fundamentada sobre la base de las conjeturas hechas durante la extrapolación de Q10 como se describe a continuación.

Las velocidades observadas para la degradación de L–glutathione en la Solución B de la Solución B en condiciones aceleradas de 40°C/75% HR durante un período de 65 días se muestran en la Figura 4. Se han observado tendencias similares para varios otros lotes de Solución B. En todos los casos, la velocidad de esta reacción es de carácter puramente exponencial (primer orden), de modo de implicar que iguales tiempos transcurridos proporcionan iguales disminuciones fraccionales en la concentración de analitos, en este caso, la concentración de L–glutathione, durante el rango de tiempo estudiado. Las constantes de velocidad tanto a 40°C como a 5°C de los once lotes estudiados se resumen en la Tabla 3. Los valores de los exponentes en la ecuación derivados de la adaptación exponencial son la constante de velocidad de primer orden k1 (en unidades de días^{-1}). Estos valores se presentan además en la Tabla 3 a cada una de las temperaturas estudiadas.

Este valor derivado empíricamente de 2,94 para el coeficiente de temperatura Q10 es más alto que el valor de 2 usado en los cálculos previos de vida útil. Un valor de Q10 = 2 representa una estimación muy conservadora de la vida útil, que resulta de una energía de activación relativamente baja de 12 kcal/mmol. Una energía de activación más alta de 19 kcal/mmol con un valor de Q10 = 2,94, por otra parte, significa que la velocidad de reacción aproximadamente se triplicará por cada elevación de 10 grados en la temperatura de almacenamiento, con una correspondiente relación inversa respecto de la vida útil.

Con el valor revisado Q10 de 2,94, que es más representativo de la verdadera energía de activación de 19,0 kcal/mol para la descomposición de L–glutathione, la vida útil de la Solución B puede ser recalculada o bien mediante la extrapolación de los datos de vida útil a 40°C, y/o directamente a partir de la adaptación exponencial de los datos en tiempo real de un año a 5°C. Los valores revisados se tabulan en la Tabla 3.

La disparidad en los resultados derivados por los dos enfoques se ilustra en la comparación de las vidas útiles a diversas temperaturas entre 5°C y 60°C, mediante la extrapolación de los datos empíricos a 40°C usando los valores Q10 2 (conservador) y 2,94 (empírico). Los resultados se muestran en la Tabla 4.

#	Tabla 3. Constantes de velocidad & vida útil de los estudios de estabilidad						
	Solución B espacio de cabeza	[GSH] g/l	k1, días ⁻¹	Temperatura °C	Vida útil, días		
					a 5°C*	a 20C*	Real**
1	con Argón	6.2	0.00143	5	3220	639	3220
2	con Argón	6.4	0.00143	5	3220	639	3220
3	con Argón	6.4	0.00140	5	3290	653	3290
4	sin Argón	6.2	0.05937	40	3390	631	73
5	sin Argón	6.2	0.06465	40	3100	622	72
6	sin Argón	6.2	0.06465	40	3100	622	72
7	con Argón	6.2	0.06378	40	3130	622	72
8	con Argón	6.2	0.06465	40	3100	622	72
9	con Argón	6.2	0.06465	40	3100	631	73
10	con Argón	6.2	0.05780	40	3400	691	80
11	con Argón	6.2	0.05608	40	3400	709	82
* extrapolado 40°C a 5°C y 20C usando Regla Q10 con un valor Q10 de 2,94							
** Curva de datos en tiempo real y acelerado real que se acerca a 1% [GSH]							

Tabla 4. Vidas útiles extrapoladas de Solución B sobre la base de los valores Q10 antiguos (conservadores) y nuevos (empíricos)		
Temperatura de almacenamiento, °C	Vida útil extrapolada, días	
	Q10 = 2	Q10 = 2.94
5	830	3300
20	290	640
25	200	367
40	73	73
50	35	23
60	18	7

Por lo tanto, la vida útil es significativamente mejorada mediante la separación de los Componentes de la solución GALA en una solución salina balanceada de más alto pH, que, en forma opcional, puede incluir Glucosa, y el almacenamiento de los Componentes orgánicos, en particular, la L-Arginina, ácido ascórbico y glutathione más, opcionalmente, un azúcar, a un pH mucho más bajo. Se ha descubierto, de manera inesperada, que mediante el aumento de la estabilidad de la glutathione reducida se incrementa además la estabilidad de ácido ascórbico y L-Arginina. La estabilidad de almacenamiento de las dos soluciones excede en gran medida las expectativas o necesidades comerciales, lo que hace a esta formulación mucho más práctica y adecuada para una amplia diversidad de entornos diferentes. Esto provee un resultado final de mejorado desempeño del injerto, de modo de mejorar la viabilidad celular del material de injerto.

Esta ha sido una descripción de la presente invención junto con el método preferido de puesta en práctica de la presente invención. Sin embargo, la invención en sí misma solo debe ser definida por las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un equipo de conservación de órganos compuesto por una primera solución acuosa contenida en un primer recipiente, y una segunda solución contenida en un
 5 segundo recipiente, donde la primera solución acuosa está compuesta por una solución salina balanceada, y dicha primera solución tiene un pH de por lo menos 7,0; y donde la segunda solución está compuesta por agua, glutatona reducida, ácido ascórbico, un azúcar, L-Arginina, y dicha segunda solución tiene un pH de alrededor de 5,0 o inferior.
 10
2. El equipo de la reivindicación 1, donde el primer y segundo recipiente son primera y segunda cámara dentro de un solo recipiente, y la primera y segunda cámara están divididas entre sí por una división, donde, con la eliminación de la división, la primera solución se mezcla con la segunda solución para formar la
 15 solución de conservación de tejido y órganos completa.
3. El equipo de la reivindicación 1, donde el pH de la primera solución es de alrededor de 7,8, y el pH de la segunda solución es de alrededor de 4,0.
- 20 4. El equipo de la reivindicación 1, donde el pH de la primera solución es de alrededor de 7,6, y el pH de la segunda solución es de alrededor de 5,0.
5. El equipo de la reivindicación 1, donde las Soluciones A y/o B se formulan en un gel, una pomada, una loción o un hidrogel.
- 25 6. Un método para la preparación de una solución de conservación de tejido u órganos, que comprende:
 la preparación de una primera solución que comprende la formación de una solución salina balanceada que tiene un pH de 7,6 a alrededor de 8,0;
 30 la preparación de una segunda solución compuesta por agua, D-Glucosa, L-Arginina; glutatona y ácido ascórbico, a un pH de alrededor de 3-5; y
 en el punto de uso, la mezcla de la primera solución junto con la segunda solución para formar una solución combinada que tiene un pH de 7,3
 35 $\pm 0,4$.
7. Un método para la conservación de un tejido u órgano compuesto que forma una solución de acuerdo con el método de la reivindicación 6, y el contacto del

tejido u órgano con dicha solución.

8. El método de la reivindicación 7, donde el tejido u órgano se selecciona del grupo que consiste en venas safenas, arterias epigástricas, arterias gastroepiploicas, arterias radiales, corazón, pulmones, riñón, cerebro, injertos musculares, piel, intestino, hueso, apéndices, ojos y porciones de dichos tejidos u órganos.
9. Un equipo de conservación de órganos y tejido compuesto por una primera solución acuosa contenida en un primer recipiente, y una segunda solución contenida en un segundo recipiente, donde la primera solución acuosa está compuesta por una solución salina balanceada y un azúcar, y dicha primera solución tiene un pH de alrededor de 7,6 a alrededor de 8,0; y donde la segunda solución está compuesta por agua, L-Arginina glutatona reducida y ácido ascórbico, y dicha segunda solución tiene un pH de alrededor de 3-5.
10. El equipo de la reivindicación 9, donde el pH de la primera solución es de alrededor de 7,6, y el pH de la segunda solución es de alrededor de 5,0.
11. El equipo de la reivindicación 9 donde las Soluciones A y/o B se formulan en un gel,
una pomada, una loción o un hidrogel.
12. Un método para la preparación de una solución de conservación de tejido u órganos, que comprende:
la preparación de una primera solución compuesta por una solución salina balanceada acuosa y un azúcar con un pH de alrededor de 7,6 a 8,0;
la preparación de una segunda solución compuesta por agua, L-Arginina glutatona y ácido ascórbico a un pH de alrededor de 3-5; y
la mezcla de la primera solución junto con la segunda solución.
13. El método de la reivindicación 12, donde el pH de la primera solución es de alrededor de 7,6, y el pH de la segunda solución es de alrededor de 5,0.
14. Un método para la elaboración de una solución que consiste en la mezcla de agua, glutatona, L-Arginina, un azúcar y un agente reductor, y la regulación de dicha solución con un agente regulador, de modo tal que la solución tiene un pH de 3,0 a alrededor de 5,0.

15. El método de la reivindicación 14, donde el azúcar es glucosa.
16. El método de la reivindicación 14, donde el agente reductor es ácido
5 ascórbico.
17. Una solución que consiste en agua, L-Arginina, glutatona, un azúcar, un agente reductor y un agente regulador.
- 10 18. La solución de la reivindicación 17, donde el azúcar es glucosa.
19. La solución de la reivindicación 17, donde el agente reductor es ácido ascórbico.
- 15 20. La solución de la reivindicación 17, donde el agente regulador es una solución de HCL.
21. Un órgano y equipo de conservación compuestos por una primera solución acuosa contenida en un primer recipiente y una segunda solución
20 contenida en un segundo recipiente, donde la primera solución acuosa está compuesta por una solución salina balanceada, y dicha primera solución tiene un pH de por lo menos 7,0; y donde la segunda solución está compuesta por agua, cisteinilglicina, ácido ascórbico, un azúcar, L-Arginina, y dicha segunda solución tiene un pH de alrededor de 5,0 o inferior
- 25 22. La conservación de órganos de la reivindicación 21, donde la segunda solución está adicionalmente compuesta por glutatona reducida.
23. Un método para la preparación de una solución de conservación de
30 tejido u órganos, que comprende:
 - la preparación de una primera solución que comprende la formación de una solución salina balanceada que tiene un pH de 7,6 a alrededor de 8,0;
 - la preparación de una segunda solución compuesta por agua, D-Glucosa, L-Arginina; cisteinilglicina y ácido ascórbico a un pH de alrededor de
35 3-5; y
 - donde una de dichas primera y segunda soluciones incluye un azúcar;
 - en el punto de uso, la mezcla de la primera solución junto con la segunda solución.
- 40 24. El método de la reivindicación 23, donde la segunda solución está

adicionalmente compuesta por glutatona reducida.

25. Un método para la conservación de tejido vivo, que comprende:
la combinación de una primera solución acuosa con una segunda
5 solución acuosa;
donde dicha primera solución acuosa está compuesta por una solución
salina balanceada y está a un pH de por lo menos 7;
en el que dicha segunda solución se compone de agua glutatión
reducido, ácido ascórbico, L-Arginina a un pH de 5,0 o menos para formar una
10 solución combinada, donde una de dichas primera y segunda soluciones
incluyen un azúcar; y
el contacto de dicho tejido con dicha solución combinada.
26. El método reivindicado en la reivindicación 25, donde dicho pH de dicha
15 primera solución es de alrededor de 8, y el pH de dicha segunda solución es de
alrededor de 3.
27. El método reivindicado en la reivindicación 25, donde dicho pH de dicha
primera solución es de alrededor de 7,6, y dicho pH de dicha segunda solución es de
20 alrededor de 5.
28. El método reivindicado en la reivindicación 25, donde dicha segunda solución
adicionalmente incluye cisteinilglicina.
- 25 29. El método reivindicado en la reivindicación 25, donde dicho azúcar es glucosa.
30. El método reivindicado en la reivindicación 25, donde dicha solución
combinada tiene un pH de alrededor de $7,3 \pm 0,4$.
- 30 31. Un método para la conservación de tejido vivo, que comprende:
la combinación de una primera solución acuosa con una segunda
solución acuosa;
donde dicha primera solución acuosa comprende una solución salina
balanceada que tiene un pH de 7,6 a alrededor de 8,0; y
35 donde dicha segunda solución consiste en agua, glucosa, L-Arginina,
glutatona reducida, ácido ascórbico y, opcionalmente, cisteinilglicina, a un pH
de 3-5, de modo de formar una solución combinada, y el contacto de dicho
tejido con dicha solución combinada.

CAVELIER**ABOGADOS**EDIFICIO SISKI
CARRERA 4a N° 72-35
BOGOTÁ, 8 - COLOMBIA

22000

REPRESENTACION**REPRESENTATION**

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

SOMAH LUTION, LLCdomiciliado (s) 225 Chimney Corner Lane Jupiter, FL
en/of 33458, Estados Unidos de América

Por el presente nombramos a CAVELIER ABOGADOS, sociedad colectiva constituida de conformidad con las leyes de la República de Colombia, mediante Escritura Pública No. 6233 del 10 de septiembre de 1974, otorgada en la Notaría Sexta del Círculo de Bogotá, domiciliada en Bogotá D.C., con matrícula mercantil No. 00820237 y NIT 860041367-3, domiciliada en la Carrera 4a N° 72-35, Bogotá, Colombia, como nuestra representante en todos los asuntos de Propiedad Industrial e Intelectual, con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales.

CAVELIER ABOGADOS también podrá representarnos, con las mismas facultades arriba indicadas, ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, autoridades administrativas o jurisdiccionales, tribunales de arbitramento, en asuntos de naturaleza civil, comercial, penal, constitucional, competencia, competencia desleal, administrativa, contencioso administrativa, protección del consumidor, variedades vegetales, nombres de dominio, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, acciones de tutela, la protección de secretos industriales, derecho regulatorio y en general para que nos represente en cualesquiera acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan.

La representante podrá, en nuestro nombre, designar apoderados para actuar ante autoridades administrativas y judiciales, p'or vía extrajudicial y también procesalmente en nuestro nombre, como

Do hereby appoint CAVELIER ABOGADOS, a general partnership organized under the laws of the Republic of Colombia by means of Public Deed No. 6233 of September 10, 1974, granted at Notary Sixth of the Bogota Circuit, domiciled in Bogota D.C., with Mercantile Registration No. 00820237 and Taxpayer Identification Number 860041367-3, domiciled at Carrera 4a N° 72-35, Bogota, Colombia, as our representative for all Industrial and Intellectual Property matters with faculty to receive notifications and appoint attorneys in and out of Court.

CAVELIER ABOGADOS may also represent us, with the same faculties stated above, before any entities or persons, with or without jurisdiction, administrative or jurisdictional authorities, courts of arbitration, in civil, commercial, criminal, constitutional, competition, unfair competition, administrative, administrative contentious, consumer protection, plant varieties, domain names, opposition or observation matters, administrative and Court cancellation, nullity, precautionary measures, licensing, action for writ mandamus, protection of trade secrets, regulatory law and in general represent us in any actions and suits instituted by us or against us.

The representative may, in our name, designate attorneys to act before administrative and judicial authorities, through out-of-court channels, and also procedurally in our name as plaintiff, defendant, joint

demandantes, como demandados, como litisconsortes, como agentes oficiosos, como terceros, por llamamiento en garantía o como intervinientes ad excludendum. Dentro de esta autorización, la representante podrá facultar a los apoderados que ella designe para transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar y sustituir el poder que se le otorgue. Así mismo, la representante tendrá la facultad para revocar el poder así otorgado en el momento que considere pertinente. La representante en todo caso podrá ratificar los actos de agentes oficiosos.

litigant, representative without power of attorney, third party, when summoned to appear in court or as intervener ad excludendum. Under this authorization, the representative may empower the attorneys appointed thereby to compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign and substitute the power of attorney granted thereto. Likewise, the representative shall have the faculty of revoking the power of attorney thus granted at any time it may deem convenient. The representative may in any case ratify the acts of representatives without a power of attorney.

Dado y firmado hoy/Given and signed this 29 June 2015

En/in Jupiter, Florida, USA

Por/by SOMAH LUTION, LLC

Firma/Signature

X Paul D. L...

Señor Director

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

Asunto : Solicitud de patente para **SOLUCIONES PARA INCREMENTAR LA ESTABILIDAD Y LA VIDA ÚTIL DE UN ÓRGANO, Y SOLUCIÓN DE CONSERVACIÓN DE TEJIDO**
 PCT/US2014/066054
Solicitante : **SOMAHLUTION, LLC**

ADRIANA ZAPATA GIRALDO mayor de edad, vecina de esta ciudad, identificada con cédula de ciudadanía No. 51.680.061 de Bogotá, en mi calidad de representante legal de la sociedad CAVELIER ABOGADOS domiciliada en la Carrera 4 No. 72-35, en desarrollo de la representación que le fue otorgada por **SOMAHLUTION, LLC**, confiero poder a los doctores ANDRÉS RINCÓN USCÁTEGUI, identificado con cédula de ciudadanía No. 79.780.910 de Bogotá, portador de la tarjeta profesional No. 114.908, LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, identificada con cédula de ciudadanía No. 35.456.344 de Usaquén, portadora de la Tarjeta Profesional No. 23.555, JORGE CHAVARRO ARISTIZABAL, identificado con la cédula de ciudadanía No. 16.209.380 de Cartago (Valle), portador de la Tarjeta Profesional No. 40.119 y EDNA DARMELY SARMIENTO CHARRY identificada con la cédula de ciudadanía No. 52.006.265 de Bogotá, portadora de la Tarjeta Profesional No. 65.794, para presentar la solicitud de registro de la patente indicada en la referencia.

Los apoderados quedan facultados para interponer recursos, transigir, conciliar, desistir, cancelar, recibir, renunciar, sustituir y revocar las sustituciones, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

Señor Director,


ADRIANA ZAPATA GIRALDO
C.C. No. 51.680.061 de Bogotá

Acepto:


ANDRES RINCÓN USCÁTEGUI
T.P.A. No. 114.908 del C.S. de la J
C.C. No. 79.780.910 de Bogotá

MMS\SDC\COLO-22000-841-003-1

"EXCELENCIA LEGAL EN UN MUNDO SIN FRONTERAS"

BOGOTÁ - Edificio Siski - Carrera 4 No. 72 - 35 - Tel: (57-1) 347 3611 - Fax (57-1) 211 8650 - Fax In U.S.A: (1-305) 675 7743 - COLOMBIA
MEDELLÍN - San Fernando Plaza - Carrera 43 A No. 1 - 50 - Torre Protección Oficina 652 - Tel: (57-4) 604 4794 Ext. 6729 / 6731 - Fax: (57-4) 604 4731 - COLOMBIA

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

RESUMEN

Se divulgan soluciones de conservación de tejido y órganos que tienen
5 mejorada estabilidad. Las soluciones están compuestas por dos soluciones
separadas. La primera solución, Solución A, está compuesta por una solución salina
balanceada que es estable en solución a un pH de 7,0 o superior. Una segunda
solución, Solución B, está compuesta por una solución acuosa que contiene L-
glutathiona y/o cisteinilglicina, un azúcar tal como D-Glucosa, L-Arginina, un agente
10 reductor tal como ácido ascórbico y agua, a un pH inferior a 7,0, preferentemente,
de alrededor de 3,0 a 5,0. Las dos soluciones luego se mezclan entre sí en el punto
de uso, y se ajusta el pH hasta alrededor de 7,3, de modo de lograr la solución de
conservación de tejido y órganos que tiene mejorada estabilidad. Preferentemente,
la solución A tiene un pH de alrededor de 7,6, y la solución B tiene un pH de
15 alrededor de 5,0. La presente invención además se compone de equipos 20 que
contienen las dos soluciones en dos recipientes separados, 22, 24. En una forma de
realización alternativa, el azúcar puede presentarse en la Solución A.

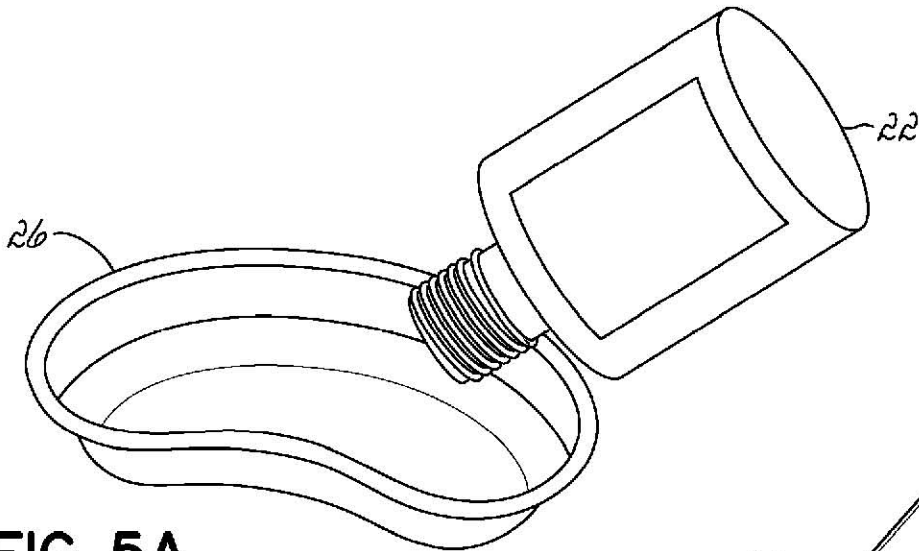


FIG. 5A

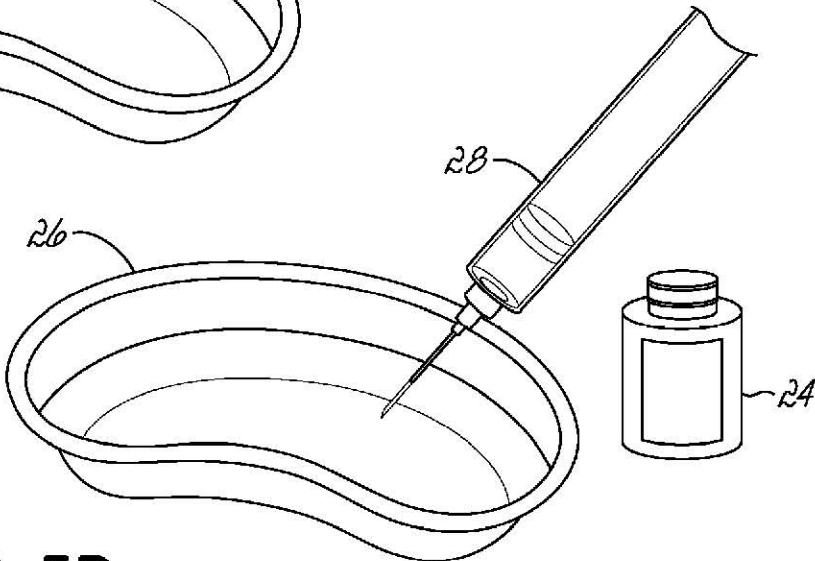


FIG. 5B

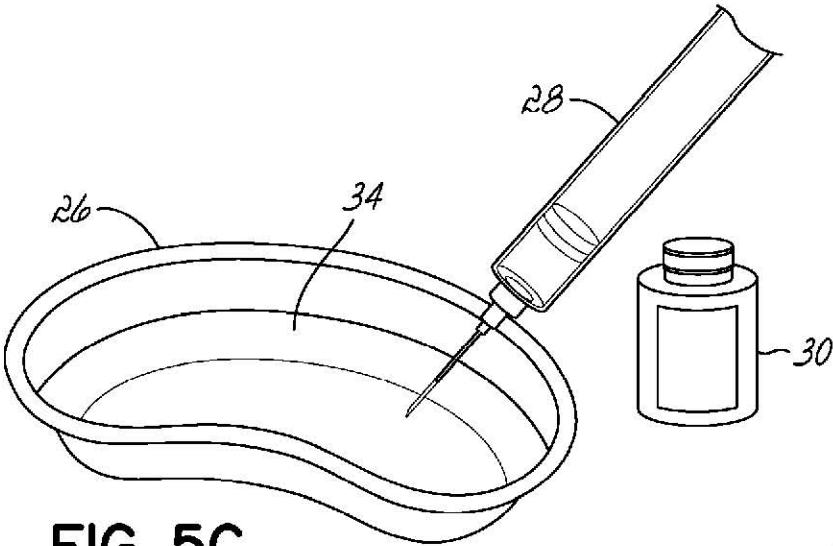


FIG. 5C

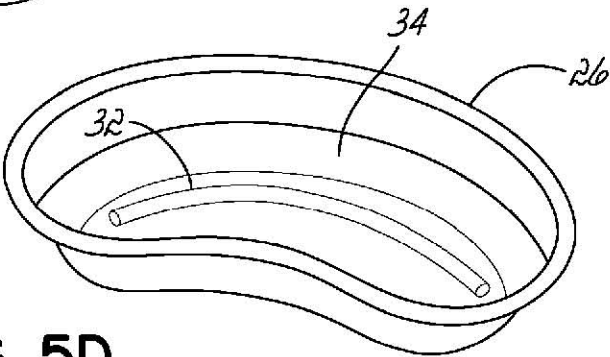


FIG. 5D



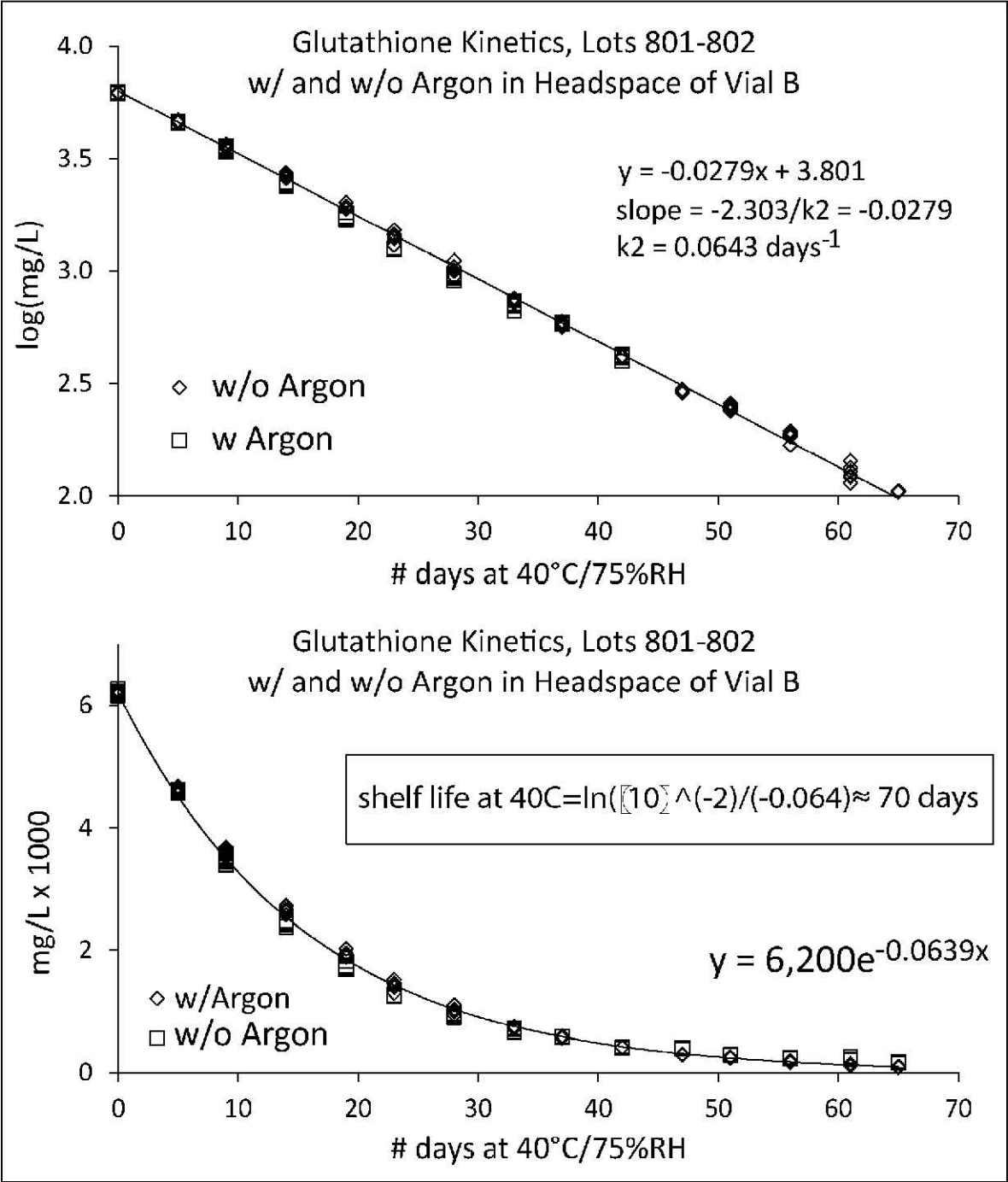


FIG. 4

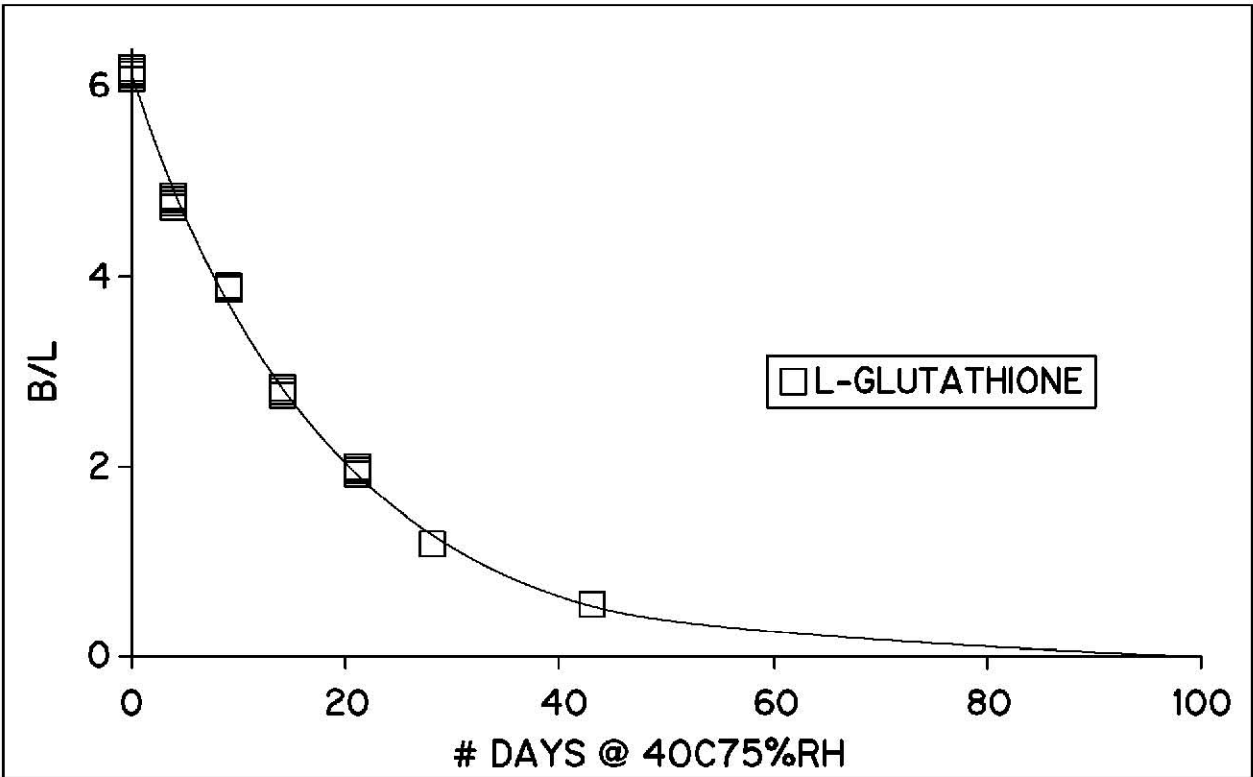


FIG. 3A

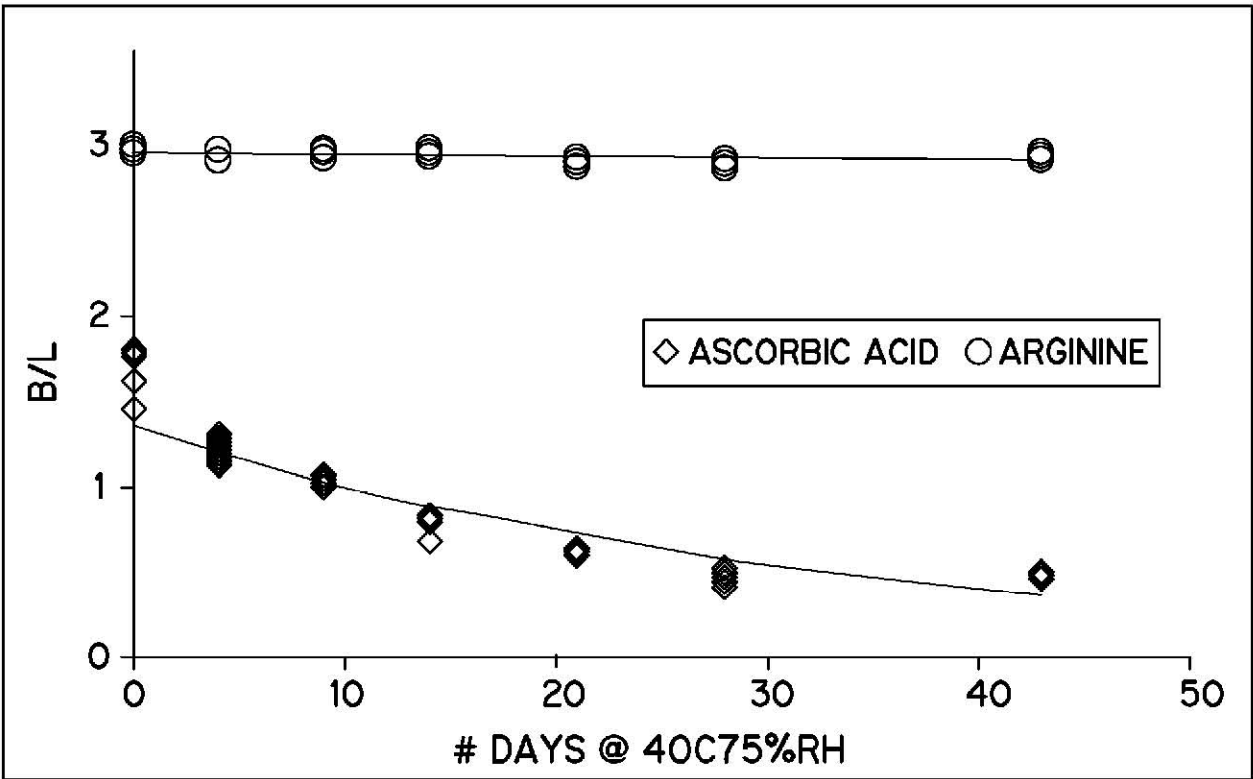


FIG. 3B

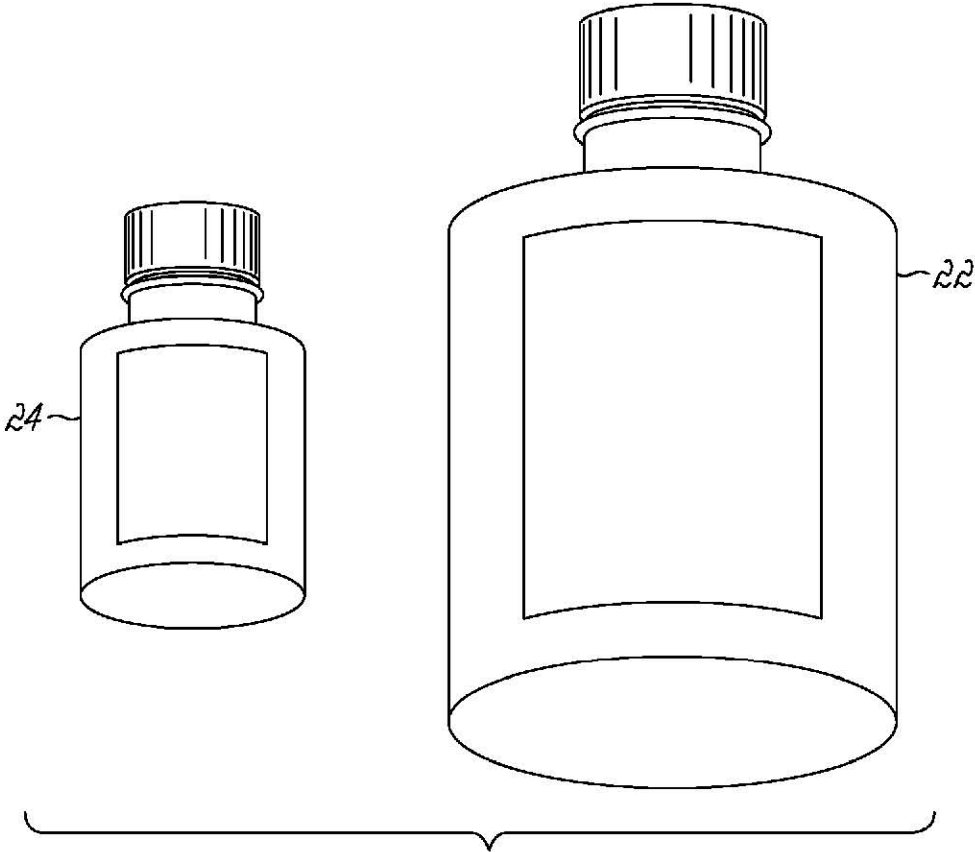


FIG. 2



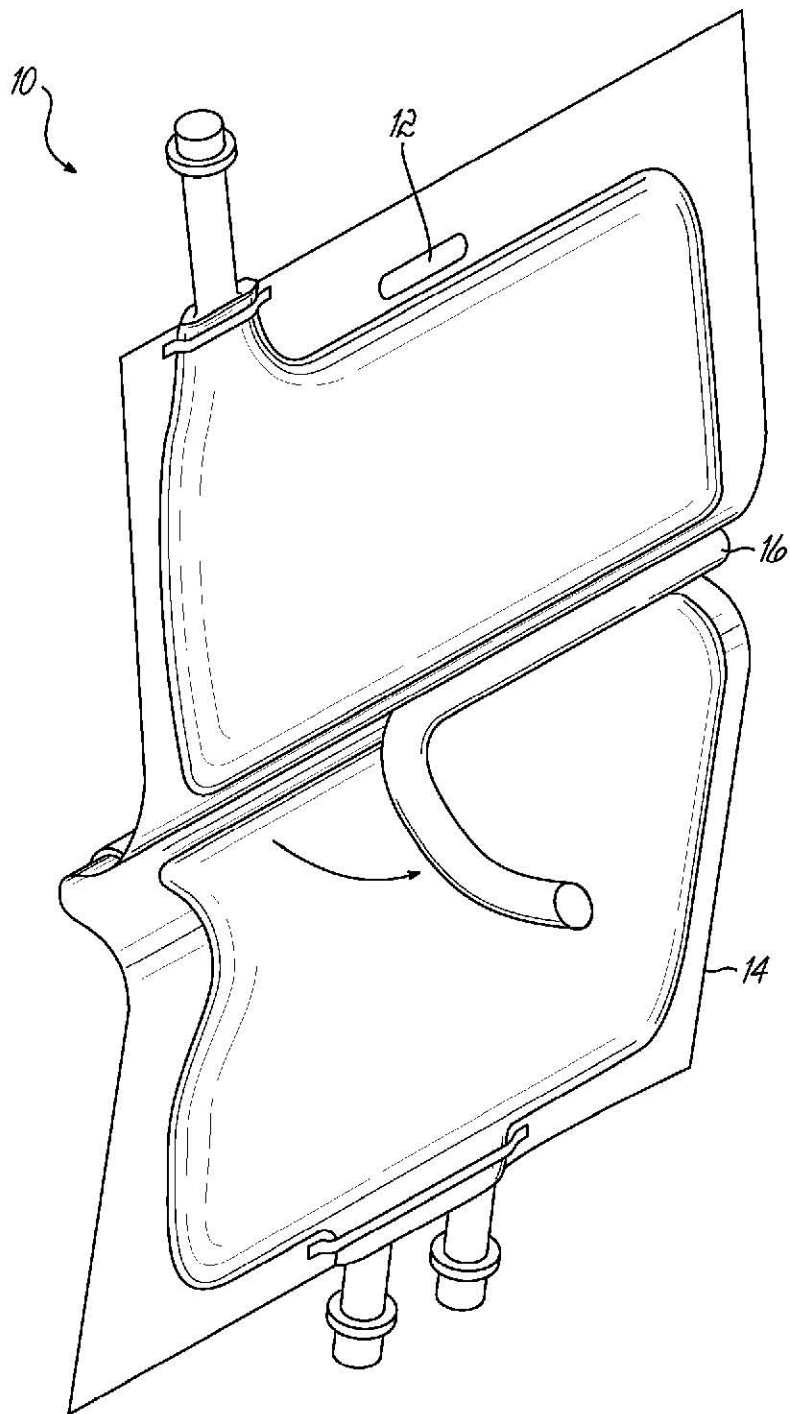


FIG. 1

