



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 886 598**

⑮ Int. Cl.:

A61M 1/16 (2006.01)

A61G 11/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.03.2014 PCT/US2014/030277**

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014 WO14145494**

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.03.2014 E 14763073 (5)**

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.05.2021 EP 2968724**

⑪ Título: **Sistema de soporte vital extracorpóreo**

⑩ Prioridad:

15.03.2013 US 201361788052 P

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

20.12.2021

⑬ Titular/es:

**THE CHILDREN'S HOSPITAL OF PHILADELPHIA (100.0%)
3401 Civic Center Boulevard
Philadelphia, PA 19104, US**

⑭ Inventor/es:

**PARTRIDGE, EMILY;
FLAKE, ALAN y
DAVEY, MARCUS**

⑮ Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 886 598 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**Sistema de soporte vital extracorpóreo**

5 Esta solicitud reivindica la prioridad según el punto 119(e) de la Ley 35 del Código Legislativo de Estados Unidos respecto de la solicitud de patente provisional de EE.UU. n.º 61/788.052, presentada el 15 de marzo de 2013.

Campo de la invención

10 La presente invención se refiere al campo de los cuidados neonatales. Más específicamente, la invención proporciona aparatos para el mantenimiento de la homeostasis del feto previable fuera del útero.

Antecedentes de la invención

15 A lo largo de la memoria descriptiva se citan algunas publicaciones y documentos de patente para de describir el estado de la técnica a la cual esta invención pertenece. Se pueden encontrar citas completas de estas referencias a lo largo de la memoria descriptiva.

20 En casos de prematuridad extrema, la supervivencia fuera del útero es complicada por la inadecuada organogénesis, incluyendo un crecimiento y una maduración pulmonares insuficientes para permitir el intercambio de gases. Por otro lado, en el caso de anomalías congénitas que afectan el crecimiento y el desarrollo de los pulmones, tales como hernia diafragmática congénita y otras causas de hipoplasia pulmonar, una función pulmonar insuficiente puede limitar la supervivencia a largo plazo. El desarrollo de un sistema extracorpóreo para apoyar el crecimiento y el desarrollo fetal continuo sin las perturbaciones inducidas por la atención intensiva postnatal, ofrecería una oportunidad para la supervivencia de dichos bebés con reducida mortalidad y morbilidad prolongada. La capacidad de mantener la homeostasis del feto previable durante semanas o meses puede también alterar los estándares actuales para la evaluación de la viabilidad fuera del útero.

25 30 La solicitud de patente de Estados Unidos US5207639A divulga un aparato para oxigenar la sangre de un bebé nacido prematuramente sin respiración que sigue unido a su cordón umbilical. El aparato incluye un elemento de pulmón para oxigenar la sangre y un adaptador para conectar los vasos sanguíneos venosos y arteriales del cordón umbilical con la entrada y la salida de sangre de la máquina pulmonar.

35 35 La solicitud de patente de Estados Unidos US2007010005A1 se refiere a un sistema de soporte vital y a los dispositivos y sistemas y métodos relacionados para utilizar dichos dispositivos y sistemas. En algunas de estas realizaciones, la invención se refiere a un sistema de soporte para un neonato o feto y a los métodos de uso relacionados de dicho sistema.

Sumario de la invención

40 De acuerdo con la presente invención según se reivindica, se proporciona un aparato de incubación que comprende un sistema de oxigenación de membrana extracorpórea (placenta artificial). El sistema no tiene bomba y comprende un oxigenador de muy baja resistencia.

45 El aparato comprende además una cámara de incubación para mantener el sujeto y un líquido estéril en el que sumergir al sujeto. Se busca protección para la invención como se define en la reivindicación independiente 1. El sistema/aparato puede comprender además una bomba y un sistema de filtración para el líquido estéril. En las Figuras 1 y 7A se muestran ejemplos de un sistema/aparato de la presente invención.

50 55 De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporcionan métodos para la oxigenación extracorpórea de un sujeto (por ejemplo, mantener un feto en un escenario extrauterino para permitir el crecimiento y la maduración). En una realización particular, el método comprende conectar el sujeto al sistema de oxigenación de la membrana extracorpórea de la presente invención. El sujeto puede estar conectado al oxigenador mediante vasos en el cuello. En una realización particular, el sujeto es un feto prematuro, un feto prematuro extremo o un feto previable. En una realización particular, el oxigenador se ceba con sangre fetal. El sujeto puede también mantenerse sumergido en una cámara de incubación que comprende líquido estéril, particularmente cuando el líquido estéril se calienta y se bombea continuamente a través de un sistema de filtración.

Breve descripción de los dibujos

60 65 La Figura 1 proporciona una foto de un ejemplo de un aparato de la presente invención.

La Figura 2 proporciona una foto de un ejemplo de la cámara de incubación. Se identifican claramente cuatro puertos en la cámara. Dos de los puertos son para la circulación del líquido estéril en la cámara (etiquetados como "entrada amniótica" y "salida amniótica"). Los otros dos puertos son para hacer circular líquido caliente en una unidad cerrada dentro de la cámara para mantener la temperatura corporal del sujeto.

La Figura 3 proporciona una foto de una cámara seca que comprende un oxigenador.

5 La Figura 4 proporciona una foto de un sistema de filtración.

La Figura 5 proporciona una foto de un diseño de circuito con el oxigenador.

10 La Figura 6A proporciona una foto de un ejemplo de un cordero prematuro conectado al aparato de la presente invención. La Figura 6B proporciona una foto del cordero tras 5 días de crecimiento.

15 La Figura 7A proporciona diagrama esquemático de un ejemplo del aparato 10 de la presente invención. La Figura 7B proporciona una fotografía de un ejemplo del aparato 10 de la presente invención. La Figura 7C proporciona una fotografía de un ejemplo del circuito 70 del aparato 10 de la presente invención.

20 Las Figuras 8A-8F muestran la estabilidad de la bioquímica fetal y los parámetros hemodinámicos. Se muestra un muestreo de la arteria carótida para determinar el pH (Fig. 8A) y la presión parcial de CO₂ y O₂ (Fig. 8B). Adicionalmente, se muestran registros de la frecuencia cardíaca del feto (Fig. 8C), la presión arterial sistólica (Fig. 8D), la administración de FiO₂ al oxigenador 80 (Fig. 8E) y los caudales del circuito (Fig. 8F) durante de 300 horas. Las barras de error representan cinco experimentos independientes.

25 La Figura 9 proporciona un gráfico que muestra una relación lineal entre la presión arterial sistólica (mm de Hg) y los caudales del circuito (ml/min). Las barras de error representan cuatro experimentos independientes.

30 Las Figuras 10A-10D muestran el crecimiento y el metabolismo del feto con la presente invención. La Figura 10A muestra el aumento de peso durante el curso de la incubación del feto. La Figura 10B muestra la respuesta respiratoria del feto a los niveles de PaCO₂ arterial aumentados. La Figura 10C muestra la permeabilidad del conducto arterioso (flecha blanca) confirmada mediante una ecocardiografía del feto. La Figura 10D muestra el consumo de oxígeno fetal durante la incubación.

35 Las Figuras 11A-11D muestran el crecimiento y el desarrollo del cordero. La Figura 11A proporciona una fotografía del feto de cordero en el día 1 (GA 120 días). La Figura 11B proporciona una fotografía del feto de cordero en el día 14 (GA 134 días). La Figura 11C proporciona una imagen de la tinción de hematoxilina y eosina (H y E) del pulmón del feto incluido en parafina tras el día 14. La Figura 11D proporciona una fotografía del crecimiento y desarrollo normales del cordero 6 meses después de la incubación.

35 **Descripción detallada de la invención**

La insuficiencia respiratoria sigue siendo el mayor desafío a la supervivencia del bebé críticamente prematuro. El desarrollo de un sistema extrauterino para soportar el crecimiento y el desarrollo continuos del feto representaría un paradigma de cambio en la gestión de dichos pacientes. El concepto de placenta artificial se introdujo por primera vez hace 50 años, pero numerosos estudios que empleaban sistemas de oxigenación extracorpóreos han tenido un éxito limitado debido a la sobrecarga circulatoria y a la insuficiencia cardíaca. Durante mucho tiempo se ha especulado sobre un circuito de oxigenación sin bomba 70 que promete ventajas sobre la tecnología ECMO actual, incluyendo cebado y volúmenes de distribución reducidos, exposición más corta de la sangre a superficies trombogénicas, y conseguir una regulación innata del flujo y presión de la sangre por el propio corazón del feto.

40 Sin embargo, el desarrollo de dicho circuito 70 sigue siendo difícil de alcanzar, con algunos estudios bien diseñados que dan como resultado una rápida insuficiencia circulatoria. En el presente documento, se notifica un soporte fisiológico completo de fetos de cordero extrauterinos con una placenta artificial sin bomba, con una hemodinámica estable, mantenimiento de la circulación del feto, y crecimiento y metabolismo normales. Esta es la primera demostración satisfactoria del mantenimiento prolongado de un feto 20 en un entorno extrauterino con autorregulación de la circulación sistémica de una manera análoga a la del circuito fetal-placental.

45 55 Se puede producir un nacimiento prematuro debido a uno cualquiera de una multitud de motivos. Por ejemplo, se puede producir el nacimiento prematuro de forma espontánea debido a la ruptura pretérmino de las membranas (PROM), características estructurales del útero tales como acortamiento del cuello del útero, secundario a estímulos traumáticos o infecciosos, o debido a gestaciones múltiples. El parto prematuro aparece también frecuentemente en el contexto de la fetoscopía o cirugía fetal, donde la instrumentación del útero estimula a menudo un parto descontrolado a pesar de la máxima terapia tocolítica.

60 65 66 El Informe de estadísticas vitales nacionales de los CDC de 2010 indica que la tasa de nacimiento a una edad gestacional menor de 28 semanas en EE. UU. durante la pasada década había permanecido estables en aproximadamente un 0,7 %, o 30.000 nacimientos al año. Análogamente, la tasa de nacimiento a edades gestacionales de 28-32 semanas durante la pasada década en EE. UU. han estado estables en el 1,2 %, o 50.000 nacimiento al año. Los pacientes con hipoplasia pulmonar secundaria a hernia diafragmática congénita, oligohidramnios o defectos en la pared abdominal son también significativos. La National Birth Defects Prevention

Network notifica una incidencia anual de hernia diafragmática congénita entre 0,9 a 5,8 por 10.000 nacimientos vivos en los Estados Unidos, o aproximadamente 375-2.500 nacimientos al año. La incidencia de otras causas de hipoplasia pulmonar no está bien documentada.

- 5 La principal limitación fisiológica de la supervivencia que afecta a los bebés pretérmino es insuficiencia pulmonar debida al insuficiente crecimiento y maduración pulmonares para permitir el intercambio de gases. El desarrollo de un sistema para la oxigenación extracorpórea del feto 20 representaría un hito principal hacia una placenta artificial completa. Los intentos anteriores de conseguir una oxigenación adecuada del feto 20 en modelos animales han empleado una oxigenación de membrana extracorpórea (EMOC) tradicional con soporte de bomba, y han estado limitados por la sobrecarga circulatoria y la insuficiencia cardíaca en los animales tratados. Reoma *et al.* (J. Ped. Surg. 10 (2009) 44:53-59) describen un sistema de soporte vital extracorpóreo arteriovenoso que utiliza un oxigenador de resistencia muy baja 80 (MC3; Ann Arbor, MI). Sin embargo, el sistema sin bomba de Reoma *et al.* no dio buenos resultado ya que 2 de 7 fetos 20 murieron en un periodo de tres horas y el resto de los fetos 20 presentó inestabilidad hemodinámica con hipotensión fetal, bradicardia y acidosis en un periodo de 4 horas. Durante el periodo de cuatro 15 horas, Reoma *et al.* observaron un flujo del dispositivo reducido, una administración de oxígeno reducida, y un flujo aórtico reducido en el tiempo, y en última instancia concluyeron que la inclusión de una bomba era necesaria para adecuar un soporte prolongado.
- 20 El sistema de la presente invención permite mantener el soporte y el crecimiento y la maduración de órganos de manera continuada del feto 20 manteniendo a la vez la fisiología del feto en un escenario extrauterino. El sistema reduce sustancialmente la mortalidad, la morbilidad y los costes asociados con la prematuridad y las lesiones complejas del pulmón. De hecho, un informe de 2007 del Institute of Medicine (Behrman *et al.*, ed., Institute of Medicine (US) Committee on Understanding Premature Birth and Assuring Healthy Outcomes; Washington DC: National Academies Press; 2007) estima que el coste asociado con los nacimientos pretérmino fue superior a 26.200 miles de 25 millones solo en 2005, produciéndose la mayoría de costes durante la gestión médica inicial en el marco de cuidados intensivos.

30 Cualquier método definido en la siguiente de la presente divulgación no forma parte de la materia objeto para la cual se busca protección. De acuerdo con la presente invención, el corazón del feto se usa para impulsar el flujo a través del circuito 70 y el oxigenador 80 (es decir, es un sistema sin bomba). El uso de un sistema sin bomba evita la exposición del corazón del feto a la precarga excesiva que aparece en circuitos asistidos mediante bomba no pulsátil. El sistema sin bomba permite también la regulación intrínseca circulatoria del feto de la dinámica de flujo. El oxigenador 80 de la presente invención tiene una resistencia muy baja, puede tener un bajo volumen de cebado y baja caída de presión transmembrana, y proporciona un intercambio de gases eficaz. En una realización particular, el oxigenador 80 tiene una caída de presión menor de aproximadamente 50 mm de Hg o aproximadamente 40 mm de Hg a 1,5 l/min de flujo sanguíneo. En una realización particular, el volumen de cebado del oxigenador 80 es menos de aproximadamente 100 ml, particularmente menor de aproximadamente 85 ml. En una realización particular, el oxigenador 80 tiene un intervalo de flujo de sangre de hasta aproximadamente 2,0 l/min, aproximadamente 2,5 l/min, 35 aproximadamente 2,8 l/min, o mayor. En una realización particular, el oxigenador 80 tiene un índice de transferencia de gases de aproximadamente 150 ml/min, aproximadamente 160 ml/min, aproximadamente 180 ml/min, o mayor para el O₂. En una realización particular, el oxigenador 80 es un oxigenador 80 con membrana de fibra hueca (por ejemplo, un oxigenador con membrana de fibra hueca de polimetil penteno). En una realización particular, el oxigenador 80 está revestido con medidas/compuestos anticoagulantes (por ejemplo, un polipéptido inmovilizado y/o heparina). En una realización particular, el oxigenador 80 es el oxigenador pediátrico Quadrox-iD™ (Maequet; Wayne, 40 NJ).

45 Los sujetos de la presente invención pueden ser bebés, incluyendo bebés a término y pretérmino. Los bebés pretérmino pueden ser bebés prematuros (es decir, menos de 37 semanas de edad gestacional estimada, particularmente 28 - 32 semanas), bebés prematuros extremos (es decir, 24 - 28 semanas), o fetos 20 previables (por ejemplo, 20- 24 semanas). Se proporcionan los periodos de gestación para seres humanos, aunque se pueden usar las crías pretérmino de otros animales. En una realización particular, el bebé pretérmino no tiene enfermedad congénita subyacente. En una realización particular, los bebés a término o pretérmino tienen una capacidad limitada para el intercambio de gases pulmonares, por ejemplo, debido a la hipoplasia pulmonar o a una anomalía congénita que afecta el desarrollo del pulmón, tal como una hernia diafragmática congénita. En una realización particular, el sujeto es un neonato pretérmino o a término en espera de trasplante de pulmón, por ejemplo, debido a una enfermedad pulmonar congénita (por ejemplo, displasia broncoalveolar, deficiencia de proteína B tensioactiva, y similares). Dichas cirugías de trasplante se llevan a cabo raramente actualmente en los Estados Unidos (Huddleston *et al.* (2002) Ann Surg., 236:270-6). Sin embargo, el número de cirugías de trasplante aumentaría con el método más estable para el soporte pulmonar proporcionado por la presente invención. El sujeto puede ser también un candidato para la administración de un tratamiento intraparto fuera del útero (EXIT), incluyendo pacientes con graves lesiones de las vías respiratorias y evolución largo tiempo esperada antes de la resección definitiva. El sujeto puede ser también un feto quirúrgico o un paciente con un procedimiento fetoscópico, particularmente con el parto prematuro que precipita la administración temprana. El sujeto puede mantenerse en el aparato 10 de la presente invención siempre que sea necesario (por ejemplo, durante días, semanas o meses).

60 65 En una realización particular de la presente invención, se colocaron cánulas en los vasos grandes del cuello (por

- ejemplo, la carótida) del sujeto para conectar el sistema circulatorio del sujeto al oxigenador 80. La colocación en los vasos grandes del cuello evita riesgos de vasoespasmo e inestabilidad de la cánula en los vasos umbilicales. El tubo conector (por ejemplo, silicona) entre el oxigenador 80 y las cánulas es preferentemente tan corto y estrecho como sea posible para reducir el volumen sanguíneo fuera del sujeto. Sin embargo, deberían considerarse los potenciales
- 5 movimientos del sujeto en la longitud del tubo. En una realización particular, el tubo tiene aproximadamente 30,48 cm (12 pulgadas) o menos desde la cánula al oxigenador 80. En una realización particular, el tubo está revestido con medidas/compuestos anticoagulantes (por ejemplo, un polipéptido inmovilizado y/o heparina) (es decir, el tubo es resistente a los coágulos). Como se ha explicado anteriormente en el presente documento, la parte externa de las
- 10 cánulas puede estar provista de un manguito (por ejemplo, para permitir un aumento de tensión de las suturas estabilizadas). El manguito puede fabricarse de silicona y puede tener, por ejemplo, aproximadamente 1-10 cm de longitud, en particular aproximadamente 3-5 cm de longitud. Las cánulas pueden estar suturadas al animal (por ejemplo, mediante el manguito provisto) para asegurarlas al cuello del animal.
- 15 En una realización particular de la presente invención, el dispositivo oxigenador se ceba con sangre. El dispositivo oxigenador puede cebarse con, por ejemplo, sangre materna y/o sangre fetal. El cebado del oxigenador 80 con hemoglobina fetal permite un intercambio de oxígeno óptimo a través de la membrana. De hecho, la curva de disociación del oxígeno fetal se desplaza hacia la izquierda, lo que significa que las presiones de oxígeno arterial fetal son menores que las presiones de oxígeno arterial en adultos. En una realización particular, la sangre comprende heparina.
- 20 En una realización particular, la entrada de gas en el oxigenador 80 se mezcla con aire médico y oxígeno.
- En una realización particular, el sujeto se coloca en una incubadora. La incubadora es una cámara 30 llena con un líquido estéril de tal manera que el sujeto se sumerge (por ejemplo, aproximándolo al entorno del útero). La cámara de incubación 30 puede sellarse para evitar la contaminación del líquido estéril del interior. En una realización particular, la parte superior de la cámara 30 es separable o es una tapa para permitir el acceso al sujeto. Sin embargo, la parte superior debe poderse sellar al resto de la cámara 30 (por ejemplo, mediante una junta). En una realización particular, la cámara 30 es una estructura rígida tal como una caja o cuenco de vidrio, metal o un plástico o silicona inerte de calidad médica. En una realización particular, la cámara 30 es una bolsa o saco (por ejemplo, fabricado de un plástico o silicona inerte de calidad médica; estanco), replicando de este modo el saco amniótico. La cámara 30 puede comprender una malla o hamaca colgante o suspendida para colocar al sujeto en el interior de la cámara 30 (véanse, por ejemplo, las Figs. 11A y 11B). La malla colgante/suspendida (por ejemplo, un cabestrillo o hamaca) reduce la ansiedad del feto, reduciendo de este modo el movimiento del feto y una posible alteración o desconexión de las sondas o cánulas unidas. La malla colgante/suspendida (por ejemplo, cabestrillo o hamaca) puede fabricarse de un material estéril e inerte de calidad médica tal como un metal o nailon. La cámara de incubación 30 puede comprender también puertos de guantes para permitir el acceso estéril al sujeto (por ejemplo, para envolver al sujeto para calmarlo o poder acceder a los objetos del interior de la cámara 30).
- 40 El líquido estéril dentro de la cámara de incubación 30 puede ser líquido amniótico, líquido amniótico artificial/sintético estéril, solución de Ringer lactada, o similares. El líquido estéril puede contener antibióticos (por ejemplo, penicilina) y/o lisozima. El líquido estéril y/o la incubadora puede calentarse para mantener la temperatura corporal del sujeto. El líquido estéril puede calentarse fuera de la incubadora y bombearse con una bomba (60) en caliente y/o puede calentarse dentro de la cámara 30. En una realización particular, un líquido caliente (por ejemplo, agua) se bombea al interior de una unidad cerrada (por ejemplo, un tubo (por ejemplo, de silicona), particularmente en una forma de bucle o enrollada) dentro de la cámara 30 y vuelve al calentador antes de bombearse de nuevo. En una realización particular, el líquido caliente se bombea a la bobina de calentamiento a aproximadamente 50 °C.
- 45 En una realización particular, el fluido dentro de la cámara incubadora 30 se conecta a una bomba y uno o más filtros (por ejemplo, para eliminar materia particulada excretada desde el sujeto a la cámara 30). En una realización particular, el aparato 10 comprende una serie de filtros que pueden opcionalmente tener manómetros de presión entre ellos para permitir la rápida identificación de cualquier obstrucción del filtro. El sistema de filtración puede comprender también un filtro del fluido UV. En la Figura 4 se muestra un ejemplo de un sistema de filtro. Se representa en la Figura 4 un filtro de residuos gruesos conectado consecutivamente a un filtro de 30 micrómetros, un filtro de 5 micrómetros y un filtro de 0,15 micrómetros. El sistema de filtración puede comprender cualquier número de filtros de tamaño de poro variable. Por ejemplo, el sistema de filtración puede comprender un filtro de residuos gruesos conectado consecutivamente a un filtro de 1 micrómetro, un filtro de 30 micrómetros, un filtro de 1 micrómetros, un filtro de 5 micrómetros, un filtro de 0,2 micrómetros y un filtro de 0,15 micrómetros. En la Figura 7A se muestra un ejemplo de otro sistema de filtro en donde se conecta una bomba a un filtro de 100 µm y una luz ultravioleta.
- 50 En una realización particular, el fluido dentro de la cámara incubadora 30 se intercambia de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 veces al día, en particular de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 veces al día o de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 veces al día. El fluido estéril se bombea al interior de la cámara 30 por al menos un puerto. El fluido se retira de la cámara 30 a través de al menos un puerto, en donde el fluido puede retirarse de la cámara 30 con la ayuda de una bomba. En la Figura 7A se muestra un ejemplo del sistema de intercambio, en donde una bomba 60 mueve el fluido estéril al interior de la cámara 30 en un primer puerto y una segunda bomba retira el fluido viejo de la cámara 30 a través de un segundo puerto. El aparato 10 de la presente invención puede usar
- 55

un intercambio de fluido en solitario o junto con una filtración para mantener la esterilidad del fluido (por ejemplo, se puede usar el intercambio del fluido sin filtración suplementaria, aunque el uso combinado aumentará la esterilidad).

5 En una realización particular, el sujeto recibe un soporte nutritivo a través de los tubos de alimentación o IV mientras está en la cámara de incubación 30. Se pueden administrar también al sujeto sedantes para limitar los movimientos, pero la presente invención no permite ciertos movimientos dentro de la cámara 30 por lo que puede que no sea necesario. Se pueden administrar también al sujeto antibióticos (por ejemplo, ampicilina, gentamicina, etc.). Se puede administrar también al sujeto un anticoagulante (por ejemplo, heparina). Se puede administrar también al sujeto una prostaglandina (por ejemplo, prostaglandina E1 o E2). Los signos vitales del sujeto, peso, función hepática y flujo sanguíneo se vigilan también normalmente.

10 Se pueden vigilar también los niveles de bilirrubina.

15 Las Figuras 1 y 7 muestran ejemplos del aparato de la presente invención. La Figura 7A proporciona un esquema de un ejemplo de un aparato 10 de la presente invención. El aparato 10 puede ser una única unidad o comprende unidades de alojamiento independientes con tubos de interconexión. Además, el aparato 10 muestra un tamaño adecuado para un cordero. El aparato 10 puede dimensionarse adecuadamente según el tamaño del sujeto. Por ejemplo, el aparato 10 puede tener aproximadamente 1/3 del tamaño de un sujeto humano.

20 La Figura 2 proporciona un primer plano de la cámara de incubación 30. La cámara de incubación 30 puede comprender cualquier número de entradas y salidas. La cámara 30 comprende al menos una entrada y una salida para que circule el líquido estéril por su interior. La cámara de incubación 30 puede comprender también puertos de guantes para permitir el acceso estéril al sujeto (por ejemplo, para envolver al sujeto para calmarlo o poder acceder a los objetos del interior de la cámara 30). La cámara 30 puede comprender también al menos un puerto para una línea IV al sujeto. La cámara 30 puede tener también varios puertos (por ejemplo, puertos resellables) para permitir el acceso para cualquiera de varios dispositivos de monitorización. Por ejemplo, la cámara 30 puede tener puertos para permitir el acceso de un dispositivo de ultrasonidos y/o unidad de diálisis. La cámara 30 puede comprender también una unidad de luz UV (por ejemplo, para tratar/inhibir la ictericia).

25 30 La Figura 3 proporciona una imagen del oxigenador 80 contenido dentro de una cámara seca 30 opcional. Las Figuras 5 y 7C muestran un ejemplo del diseño del circuito con el oxigenador 80 sin la cámara seca 30. Aunque esta cámara 30 se muestra como separada de la cámara 30 de la incubadora por un divisor en la misma unidad, las dos pueden estar separadas en unidades individuales (aunque conectadas por las conducciones necesarias y similares). Las cánulas procedentes del sujeto pueden conectarse directamente al oxigenador 80 dentro de la cámara seca o a través de puertos en la cámara seca. La cámara seca puede comprender también al menos un puerto para conectar el flujo de gas al oxigenador. El puerto puede conectarse al oxigenador 80 mediante un tubo dentro de la cámara seca. La Figura 3 muestra también puertos adicionales para la adición de un calentador (por ejemplo, mediante un líquido caliente y un tubo) a la cámara seca para ayudar a mantener la temperatura de la sangre que está circulando a través del tubo y el oxigenador 80. Adicionalmente, el tubo hacia y/o desde el oxigenador 80 puede unirse a los monitores (por ejemplo, monitores de temperatura, monitores de contenido de gases, etc.).

35 40 La Figura 7A proporciona un esquema de un ejemplo de un aparato 10 de la presente invención. Se representa la cámara 30 como un cuenco localizado dentro de un baño de agua para mantener la temperatura del sistema. Se representa la cámara 30 de incubación con dos puertos de guantes/manos en la parte superior de la cámara 30 (aunque los puertos podrían localizarse en cualquier parte, incluyendo los lados de la cámara 30) para el acceso estéril al interior de la cámara 30. La cámara 30 comprende un puerto de entrada 40 para el bombeo de líquido amniótico estéril y un puerto de salida 50 para la retirada del líquido amniótico usado/viejo. Se representa también la cámara 30 con un sistema de filtración que comprende una bomba, al menos un filtro y un filtro UV para la eliminación de bacterias y contaminantes. La cámara 30 representa también una malla sobre la cual se puede colocar el sujeto. La Figura 7A representa también el oxigenador 80 (Ox) en conexión de fluidos con el sistema sanguíneo del sujeto, en particular a través de cánulas en los vasos del cuello del sujeto. El oxigenador 80 se conecta a un mezclador de gases que extrae aire y el oxígeno. El tubo del sistema oxigenador puede comprender al menos un puerto para la introducción de compuestos (por ejemplo, nutrientes, antibióticos, fármacos, etc.) en el torrente sanguíneo del sujeto. Los monitores tales como para determinar la presión, el flujo y la temperatura pueden conectarse al sistema oxigenador y/o al sujeto directamente.

Definiciones

45 50 55 Las formas en singular "un", "uno/a", y "el/la" incluyen los referentes a los plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

Como se utiliza en el presente documento, los términos "hospedador", "sujeto", y "paciente" se refieren a cualquier animal, en particular mamíferos incluidos seres humanos.

60 65 Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar diversas realizaciones de la presente invención. Los ejemplos son ilustrativos y no se pretende que limiten la invención en forma alguna.

EJEMPLO 1

5 Un cordero pretérmino (28 semanas) se mantuvo en el aparato 10 usando los métodos de la presente invención. Se colocaron cánulas arteriales ECMO 8F a 10F en la arteria carótida y la vena yugular interna (tamaño seleccionado en el momento de la cirugía).

10 Se usaron aproximadamente 30,48 cm (12 pulgadas) de tubo ECMO a la salida y en la entrada para conectar las cánulas. El soporte nutritivo proporcionado fue Nutrición parenteral total. La Figura 6A proporciona una imagen del cordero conectado al aparato 10 y la Figura 6B muestra el cordero tras 5 días de crecimiento. El crecimiento del cordero prematuro durante cinco días demuestra la capacidad de la presente invención de mantener un feto 20 fuera del útero.

EJEMPLO 2

15 Las complicaciones del nacimiento pretérmino dan como resultado una morbilidad y mortalidad significativas, donde un tercio de todas las muertes de bebés se atribuye a la prematuridad y a secuelas crónicas que afectan a la mayoría de sistemas orgánicos principales en los supervivientes. En 2010, el 12,0 % de todos los nacimientos en Estados Unidos fueron pretérmino (menos de 37 semanas de gestación completadas), y 3,5 % fueron pretérmino tempranos 20 (menos de 34 semanas de gestación) (Martin *et al.* (2013) MMWR Surveill. Summ., 62 (Supl 3): 136-138). La insuficiencia respiratoria representa el problema más común y desafiante a que se enfrentan estos pacientes, ya que el intercambio de gases en neonatos críticamente pretérmino está deteriorado por la inmadurez estructural y funcional de los pulmones. Los avances en cuidados intensivos a neonatos que incluyen la administración de esteroides previa 25 al nacimiento, la sustitución de tensioactivos, la terapia vasodilatadora pulmonar y una ventilación oscilatoria de alta frecuencia, han conseguido una mejora de los resultados y han empujado los límites de la viabilidad a la transición de la fase canicular a la fase sacular de desarrollo del pulmón en las 22 a 24 semanas de gestación. Sin embargo, el desarrollo incompleto de la mayoría de sistemas orgánicos sigue siendo una limitación de la supervivencia y los resultados funcionales óptimos en muchos pacientes. El desarrollo de un sistema extrauterino para soportar el crecimiento y el desarrollo fetal continuos sin las perturbaciones inducidas por la atención intensiva postnatal ofrecería 30 una posibilidad para la supervivencia de los bebés críticamente pretérmino, con una mortalidad potencialmente reducida y una morbilidad a largo plazo.

35 El concepto de oxigenación de membrana extracorpórea (ECMO) del feto 20 es atractivo debido a las similitudes con la fisiología fetal innata, en la que el intercambio de gases extracorpóreo se lleva a cabo por la placenta. La placenta artificial ha sido sujeto de ensayos experimentales desde la década de los 60 del siglo pasado, con una serie de 40 experimentos cortos en los que fetos de cordero se canularon a través de los vasos umbilicales y se perfundieron con oxigenadores de membrana de burbuja de primera generación, con una perfusión soportada de 40 minutos a 2 días (Callaghan *et al.* (1963) Circulation 27:686-690; Zapol *et al.* (1969) Science 166:617618). Debido a sustanciales mejoras en la tecnología del oxigenador y la bomba durante las siguientes dos décadas, la duración del soporte vital 45 fetal extrauterino se ha aumentado usando circuitos ECMO accionados por bomba convencionales, con ciclos que duran hasta tres semanas antes del inicio de la insuficiencia circulatoria (Kuwabara *et al.* (1986) Artificial Organs 11:224-277; Kuwabara *et al.* (1989) Artificial Organs 13:527-531; Unno *et al.* (1993) Artificial Organs 17:996-1003; Unno *et al.* (1997) Artificial Organs 21: 1239-1246). A pesar de estas extensiones en el tiempo de supervivencia, estos estudios estuvieron limitados por la sobrecarga circulatoria y la insuficiencia cardíaca, dando como resultado el desarrollo de un estado sobrecargado de fluido y la muerte de los animales experimentales.

50 Se cree que algunas características del circuito ECMO arteriovenoso accionado por bomba convencional suponen un desafío a la aplicación de esta tecnología para soportar el feto 20. El gran volumen de cebado del circuito es sustancialmente mayor que el exceso de la reserva placentaria innata, dando como resultado un mayor volumen de 55 distribución. El flujo no pulsátil soportado por bomba representa una separación respecto de la fisiología fetal innata, con el potencial para aumentar significativamente la poscarga cardíaca y dando como resultado distensión miocárdica, además de una pérdida de la autorregulación innata del flujo. Por último, el gran área superficial de dichos circuitos da como resultado una necesidad de altos niveles de anticoagulación sistémica. Un circuito sin bomba 70 puede ofrecer ventajas sobre la tecnología ECMO actual que incluyen cebado y distribución de volúmenes reducidos, exposición más corta de la sangre a superficies trombogénicas, y conseguir una regulación innata del flujo y presión de la sangre por el propio corazón del feto.

60 El desarrollo del sistema de oxigenación extracorpórea sin bomba sigue siendo elusivo. Solo se han notificado cinco intentos de conseguir la oxigenación fetal en un sistema sin bomba en la bibliografía, y todos fueron ensayos insatisfactorios en última instancia, con muerte del feto entre varios minutos con un máximo de 29 horas, secundario a una disminución en tasas de flujo sanguíneo y la necesidad de un soporte de presión para prolongar artificialmente la perfusión (Awad *et al.* (1995) J. Invest. Surg., 8:21-30, Reoma *et al.* (2009) J. Pediatr. Surg., 44:53-59; Mima *et al.* (2012) Pediatr. Res., 72:490-494; Schoberer *et al.* (2014) Artificial Organs 38:208-14).

65 Los recientes avances tecnológicos en la tecnología de membranas extracorpóreas han dado como resultado la generación de dispositivos de resistencia excepcionalmente baja con un bajo volumen de cebado y un intercambio de

gases muy eficaz, recapitulando mejor las propiedades de la propia placenta. En particular, el Oxigenador pediátrico MaquetQuadrox-ID apoya la posibilidad de conseguir la oxigenación sin bomba de la sangre fetal usando el corazón natural para impulsar el flujo a través del circuito. Este oxigenador 80 se ha aplicado como un pulmón artificial sin bomba en pacientes pediátricos con buen resultado (Boston *et al.* (2013) *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 146:e42-e43).

5 En el presente documento, se propuso una estrategia para mantener la oxigenación de la sangre fetal y la hemodinámica estable usando un circuito sin bomba modificado que permite al corazón fetal actuar como bomba, replicando la hemodinámica fetal innata. Los estímulos principales incluyeron conseguir una perfusión estable autorregulada por la circulación fetal innata, replicando el entorno intrauterino inmerso en fluido estéril, y facilitando un crecimiento y desarrollo fetal adecuado.

10 En el presente documento, la primera demostración del soporte vital fetal extrauterino sin bomba (PEFLS) ha dado como resultado una incubación prolongada estable del feto 20 de mamífero durante hasta tres semanas, proporcionando crecimiento normal, metabolismo y el mantenimiento de la circulación fetal autorregulada.

15 MÉTODOS

Procedimiento quirúrgico

20 Se utilizaron ovejas preñadas con marchamo de tiempo con edades gestacionales de 120 a 135 días (término = 145 días). Se trataron los animales de acuerdo con los protocolos homologados por el Institutional Animal Care and Use Committee del Children's Hospital of Philadelphia.

25 Se anestesieron las ovejas con 15 mg/kg de ketamina intramuscular, manteniendo la anestesia general con 2-4 % de isoflurano inhalado en O₂. La monitorización hemodinámica intraoperatoria incluyó pulsioximetría, con infusión constante de solución salina isotónica administrada mediante una línea venosa central colocada en la vena yugular derecha para mantener el equilibrio de fluidos maternos.

30 Se realizó una laparotomía en la línea media inferior para exponer el útero, con una pequeña histerotomía para exponer la cabeza y el cuello del feto de oveja. En el escenario de corderos gemelos, se extrajo la sangre fetal del animal donante para cebar el circuito. Los animales donantes se sometieron a la creación de una pequeña incisión en la parte derecha del cuello para exponer la vena yugular, y se administró una dosis intramuscular de buprenorfina (0,005 mg/kg) y una dosis intravenosa de heparina sódica (150 unidades USP, APP Pharmaceuticals, Schaumburg, IL), seguido por la realización de una pequeña incisión en la parte derecha del cuello para exponer la vena yugular y colocación de un catéter para permitir la extracción de la totalidad del volumen sanguíneo del animal. En el escenario de corderos individuales, se extrajo sangre materna para cebar el circuito. En todos los animales, se extrajo la sangre materna que se almacenó para las posteriores necesidades de transfusión durante el ciclo.

40 Los corderos del experimento se sometieron a la creación de una pequeña incisión en la parte derecha del cuello para exponer la arteria carótida y la vena yugular. Los animales recibieron una dosis intramuscular de buprenorfina (0,005 mg/kg) y una dosis intravenosa de heparina sódica (300 unidades USP). Tras la determinación del tamaño de cánula máxima adaptado a cada vaso, se colocaron cánulas ECMO (intervalo de tamaño 8-12Fr, Avalon Laboratories, LLC, Rancho Dominguez, California), con suturas estabilizantes colocadas a lo largo de la longitud externa de las cánulas del cuello. En un subconjunto de animales, la parte externa de las cánulas se equipó con un 'manguito' de silicona de 3-5 cm para permitir mayor tensión de las suturas estabilizantes. Un subconjunto de animales también se sometió a la colocación de electrodos de alambre de acero inoxidable multihebra aislados para medir las actividades de electromiografía ocular (EOG) y de electroencefalografía (EEG). Los electrodos de alambre EMG se implantaron por vía subcutánea en los márgenes superior e inferior del músculo que recubre la órbita de un ojo, y un par de electrodos EEG se colocaron en la dura sobre la corteza parietal parasagital y se aseguraron con pegamento de cianoacrilato, con un electrodo de referencia cosido sobre el occipucio.

50 Tras la construcción y el cebado con sangre del circuito oxigenador 70 como se describe a continuación, se llevó a cabo la conexión de las cánulas al circuito 70 bajo visualización ultrasonográfica continua del corazón del feto. Se llevó a cabo la oclusión del cordón umbilical inmediatamente después del establecimiento del flujo de sangre a través del circuito 70, con administración de un volumen de sangre adicional y/o atropina (0,1 mg) y/o epinefrina (0,1 mg) a un subconjunto de animales demostrando la baja contractilidad cardíaca inmediatamente después del establecimiento del flujo del circuito.

60 Tras la confirmación de estabilidad en la función cardíaca y el flujo sanguíneo del circuito, se colocaron suturas permanentes a lo largo de la longitud externa de las cánulas para asegurarlas al cuello del animal. Posteriormente los fetos de cordero se pesaron, se lavaron en un baño caliente de solución salina estéril y se transfirieron a una incubadora de fluido estéril para la gestión adicional como se ha descrito.

65 Para generar datos de los valores iniciales del feto 20 de ovino en el útero, dos ovejas preñadas con marchamo de tiempo en los días 1-18 de edad gestacional se sometieron a laparotomía para implante de catéteres vasculares y electrodos en el feto como se ha descrito (Crossley *et al.* (1997) *Reprod. Fertil. Dev.*, 9:767-73). En resumen, tras inducción de anestesia general y la exteriorización del feto 20, se implantaron los catéteres en la arteria carótida y la

vena yugular del feto, además de un catéter de referencia colocado en el saco amniótico, seguido por la colocación de electrodos de alambre EOG y EEG en la dura como se ha descrito anteriormente.

Adicionalmente para estos estudios, se colocaron electrodos de alambre EMG en los músculos de la nuca y el diafragma. Se accedió hasta el diafragma izquierdo posterior desde una incisión en la línea media de la axila con dos electrodos cosidos a 1,0 cm de distancia, se cosió a la vez un único electrodo a un músculo largo del cuello para registrar la actividad de la nuca. Los catéteres y electrodos fetales se exteriorizaron a través del flanco materno, y se cerraron el útero y el abdomen. Tras un periodo de recuperación de 48-72 horas, se transfirieron las ovejas a una jaula de mantenimiento para la monitorización del feto.

10

Circuito

El circuito 70 del soporte vital fetal extrauterino sin bomba (P-EFLS) consistió en un oxigenador de fibra hueca de baja resistencia (Quadrox-ID, Maquet, Rastatt, Alemania) conectado a las cánulas ECMO con tubo Medtronic 3/16" revestido con heparina BIOLINE (Medtronic, Mineápolis Minesota). Se establecieron conexiones como un circuito 70 de oxigenación extracorpórea arteriovenoso, con el flujo de salida de la arteria carótida bajo presión sistémica pulsada conectado al puerto de entrada del oxigenador y el flujo de retorno conectado al puerto de salida del flujo. El volumen de cebado fue de 81 ml, y se usó sangre fetal heparinizada cuando estuvo disponible, usándose sangre materna en embarazos únicos. Se midió el flujo del circuito con una sonda de flujo (Transonic Systems Inc, Ithaca NY), y el gas de barrido suministrado al oxigenador fue una mezcla combinada de aire médico y oxígeno valorado a los valores del gas sanguíneo del feto.

20

Incubación del fluido

25 Los diseños de la incubadora del ensayo incluyeron un depósito de acero inoxidable de 30 litros calentado de con fluido amniótico sintético estéril ("depósito inmóvil"), un tanque de policarbonato de 40 litros con recirculación continua de fluido a través de una serie de filtros estériles ("filtración recirculada") y, finalmente, un tanque de 60 litros con tubos de entrada y salida de flujo montados en una bomba peristáltica de doble cabezal para facilitar el intercambio continuo de fluido estéril ("intercambio continuo"). En el último sistema, el volumen total del tanque se sustituyó tres veces con 30 una entrada estéril desde un depósito de 180 litros durante un periodo de 24 horas. El fluido amniótico sintético estaba compuesto de una solución salina equilibrada que contenía Na⁺ (109 mM), Cl⁻ (104 mM), HCO₃⁻ (19 mM), K⁺ (6,5 mM), Ca²⁺ (1,6 mM), pH 7,0-7,1, osmolaridad 235,8 mOsm/kg de agua. Se añadieron antibióticos a una concentración final de 18 mg/l de gentamicina y 30 mg/l de ciprofloxacina, y se colocó una bomba sumergible del esterilizador UV en el depósito de fluido continuo recirculado y se llevó a cabo la esterilización a lo largo del ciclo.

35

Mantenimiento del feto de cordero en el circuito

Tras la estabilización y la transferencia de animales a la incubadora del fluido, se administraron por vía intravenosa una infusión continua de heparina (80-200 unidades USP por hora) y prostaglandina E1 (0,1 mcg/kg/min, Pfizer Inc, 40 Nueva York, NY). Se extrajo sangre cada 1-4 horas para determinar el gas en sangre, los electrolitos y los valores de coagulación usando un sistema i-Stat® (Abbott Point of Care Inc, Princeton, NJ), con la valoración de la infusión de heparina para obtener un tiempo de coagulación activado de 180-200 segundos (100-400 unidades USP por hora), y una valoración del gas de barrido del oxigenador para las presiones parciales del feto diana O₂ (PaO₂ 20-30 mm de Hg) y CO₂ (PaCO₂ 35-45 mm de Hg) (FiO₂ 21-55 %, gas de barrido 0,125-1,5 l/min). Se usó la sangre materna 45 completa almacenada para mantener los niveles de hemoglobina del feto por encima de 9 mg/dl. Analgésicos (buprenorfina, 0,005 mg/kg IV cada 3-5 horas según fue necesario) y ansiolíticos (midazolam, 0,4 mg/kg IV cada 3-5 horas según fue necesario) se administraron durante periodos de estés fetal percibido (movimientos fetales repetitivos inquietos, taquicardia, hipertensión). Se administró nutrición parenteral total durante la totalidad de la incubación del feto, con una dosificación de 3,5 g/kg de aminoácidos (TrophAmine® al 10 %), 5-10 % de dextrosa y 3 g/kg de lípidos (Intralipid® al 20 %).

50

Adquisición de datos

55 La presión arterial del feto, frecuencia cardíaca, caudales del circuito, presión diferencial transmembrana, caudales del gas de barrido y temperatura del fluido del baño se registraron de forma continua con un muestreo de entrada cada 0,1 segundos (LabChart 5, ADInstrumentsInc, Colorado Springs CO). Se calcularon diariamente el consumo de oxígeno y los cocientes respiratorios, midiendo el contenido del gas de escape del oxigenador para el oxígeno y el dióxido de carbono. Se usaron las siguientes fórmulas:

60 Contenido de oxígeno de la sangre (O₂C) = 1,34 x Hgb x SaO₂/100 + 0,003 x PaO₂ (mm de Hg) administración de oxígeno (OD) = O₂C postmembrana x flujo del circuito/100/consumo de oxígeno según el peso corporal (OC) = (O₂C postmembrana - O₂C premembrana) x flujo del circuito/100

65 Velocidad de extracción del oxígeno (OER) = (OC/OD) x 100. La monitorización de fetos de cordero cateterizados en el útero se inició 48-72 horas después de la cirugía y continuó en intervalos de 24 horas en días alternativos hasta la finalización del protocolo experimental a los 140 días de la edad gestacional. Registros poligráficos continuos de EEG,

EMG y las presiones arteriales se registraron con datos capturados cada 0,1 segundos (LabChart 5, ADInstrumentsInc, Colorado Springs CO).

Descanulación

- 5 Tras la finalización del periodo de incubación planificado, los animales pasaron pasar desde el baño de fluido, con intubación endotraqueal y succión para eliminar el fluido en exceso de los pulmones. Se mantuvo la anestesia general con 2-4 % de isoflurano inhalado en 100 % de O₂, y la monitorización hemodinámica intraoperatoria incluyó pulsioximetría, con infusión constante de solución salina isotónica administrada mediante cánula venosa periférica.
- 10 Las cánulas ECMO arteriales y venosas se retiraron con ligadura de los vasos, y se cerró la incisión del cuello una sutura absorbible continua. A continuación se revirtió la anestesia, con animales extubados tras el inicio de la respiración espontánea, demostrando los gases en sangre arterial un intercambio de gases adecuado (PaO₂ > 75 mm de Hg, PaCO₂ < 50 mm de Hg en aire médico inhalado, FiO₂ 21 %).

15 **RESULTADOS**

Estudios piloto

- 20 Se llevaron a cabo un total de 5 experimentos piloto para determinar la estabilidad del feto en el circuito PEFLS (Tabla 1). Las edades gestacionales de los fetos variaron de 120 a 140 días, con pesos que variaban de 3,20 a 4,89 kg. Todos los animales demostraron una estabilidad hemodinámica notable durante el soporte en el circuito, sin evidencias de acidosis o aumento del lactato, disminución del flujo del circuito, o insuficiencia circulatoria. De forma inesperada, dos animales presentaron bradicardia inmediatamente después de la apertura inicial de la circulación fetal en el circuito PEFLS, requiriendo la administración de epinefrina y atropina para restaurar la función cardíaca normal. Tras este evento inicial, los animales no requirieron soporte vasopresor en ningún momento del ciclo. Todos los animales se mantuvieron en anticoagulación sistémica y nutrición parenteral total.
- 25

Número de animales	Longitud del ciclo GA (peso, kg)	Cebado	Tamaño de la cánula	Caudal promedio (SD)	Sonda de flujo	pH promedio (SD)	Incubación del fluido	Supervivientes a la descanculación	Complicaciones durante el ciclo	Patología
1 - (3,62) (Junio)	140 23	Fetal	8 Fr (carótida), 8 Fr (yugular)	135,8 +/- MARCUS-check calibration?	Transsonic T201; preoxigenador	7,41 (7,28-7,62)	Depósito inmóvil	No	Parada cardíaca en la apertura del circuito, infección bacteriana del fluido	DA de cierre, inflamación pulmonar, hemorragia pulmonar
2 - (4,89) (Charlotte)	135 71	Materna	8 Fr (carótida), 8 Fr (yugular)	336,3 (297-396)	Transsonic T201; preoxigenador	7,24 (6,77-7,51)	Filtración recirculada	No	Parada cardíaca en la apertura del circuito, infección bacteriana del fluido	DA de cierre. Inflamación pulmonar difusa
3 - (3,49) (Lily)	135 96	Materna	12 Fr (carótida), 10 Fr (yugular)	492,5 (450-520)	Transsonic T201; preoxigenador	7,31 (7,10-7,56)	Filtración recirculada	Sí	Infección bacteriana del fluido	DA patente, inflamación pulmonar difusa
4 - (4,24) (Little Alan)	130 51	Fetal	10 Fr (carótida), 12 Fr (yugular)	435,6 (250-470)	Transsonic T201; postoxigenador	7,19 (6,60-7,46)	Intercambio continuo	No	Formación de coágulos en el tubo del circuito, arritmias cardíacas, acidosis	DA patente. Embolia difusa con patrón en ducha en los pulmones, corazón, hígado, intestino
5 - (3,20) (Eddie)	120 108	Materna	10 Fr (carótida), 12 Fr (yugular)	387,4 (290-430)	Transsonic H7XL; preoxigenador	7,38 (7,24-7,57)	Intercambio continuo	No	Descanulación traumática	Histología de órganos normales

Tabla 1: Animales del estudio.

Tabla 1: Animales del estudio.

Se identificaron algunos obstáculos para la supervivencia fetal prolongada, observándose contaminación bacteriana del fluido de la incubadora en cuatro de cinco animales (Tabla 1). El estudio piloto inicial empleó una incubadora abierta calentada llena de líquido amniótico estéril que se llenó solo para compensar las pérdidas por evaporación, sin mezclado interno y sin antibióticos. En 12 horas, este fluido de la incubadora desarrolló un sobrecrecimiento bacteriano significativo, y después de 23 horas en el circuito, el animal desarrolló hemorragia pulmonar masiva. La histología confirmó cambios inflamatorios difusos significativos en la totalidad de los pulmones, consistentes con neumonía bacteriana grave. La incubadora de fluido se diseñó posteriormente para un sistema cerrado con recirculación del líquido amniótico que contenía antibióticos (Ciprofloxacina 30 mg/l, Gentamicina 18 mg/l) a través de una serie de filtros con tamaño de poro decreciente (1 mm, 10 µm, 5 µm, 2 µm, 0,2 µm) para eliminar los residuos gruesos y mantener la esterilidad. Se llevaron a cabo dos estudios con esta incubadora de fluido. En ambos casos, se confirmó el crecimiento bacteriano en el cultivo del fluido del baño muestreado a las 48 horas de la incubación. Un animal desarrolló crecientes requerimiento de FiO₂ durante la incubación y se descubrió en el ecocardiógrafo que tenía una restricción significativa del conducto arterial, dando como resultado una mezcla deteriorada de sangre oxigenada a través de la vena cava superior. El segundo animal no tuvo complicaciones durante el periodo de incubación de 96 horas y se administró y descansó a la edad gestacional de 140 días (a término), pero se encontró que tenía un intercambio de gases inadecuado a pesar del intenso esfuerzo respiratorio espontáneo. Se descubrió que ambos animales tenían una inflamación pulmonar significativa consistente con neumonía así como bacteremia. Se diseño un sistema cerrado estéril con intercambio de fluido continuo, con un fluido amniótico sintético que pasa a través de una serie de filtros de 0,22 µm para entrar en la incubadora, con la velocidad de entrada correspondiente a la velocidad de salida y un intercambio completo del volumen de 60 litros de la incubadora 2-4 veces al día (Figura 7).

Las limitaciones técnicas adicionales identificadas incluyeron el cierre prematuro del conducto arterial en dos animales expuestos a epinefrina, la formación de coágulos en un circuito incluyendo un segmento de tubo revestido sin antitrombógeno, y la descansulación traumática en un animal con muerte por la hemorragia resultante (Tabla 1). Estos hallazgos condujeron a la adición de una infusión continua de prostaglandina-E2 para el mantenimiento de las derivaciones del feto, implementación de un circuito que emplea exclusivamente tubo revestido con antitrombógeno, y la adición de un manguito de silicona estéril superpuesto en cada cánula para permitir una mayor estabilización de las suturas permanentes de anclaje. Bioquímica del feto y parámetros hemodinámicos

Tras la implementación de los refinamientos del sistema señalados anteriormente, se mantuvieron cinco animales experimentales en el circuito PEFLS durante 343,8 +/- 93,5 horas (Tabla 2). Las tendencias en gases sanguíneos fetales, hemodinámica y caudales del circuito durante cinco experimentos independientes se resumen en la Figura 8. El pH permaneció estable durante la totalidad del periodo de incubación (Figura 8A), y las presiones parciales de oxígeno y dióxido de carbono se mantuvieron en los niveles fetales diana durante la totalidad del experimento (Figura 8B). Aunque la frecuencia cardíaca basal fue estable durante la totalidad de la incubación (Figura 8C), la presión arterial sistólica de los animales aumentó continuamente (Figura 8D), consistente con las velocidades de crecimiento esperadas. Análogamente, los caudales del circuito aumentaron en proporción al aumento en la presión arterial (Figura 8E), y la concentración de oxígeno suministrado necesarios para mantener los niveles de oxigenación de la sangre arterial diana aumentaron también continuamente, reflejando un aumento en la demanda metabólica fetal (Figura 8F).

Número de animales	Longitud del ciclo GA (peso, kg)	Cebado	Tamaño de la cánula	pH promedio (SD)	Caudal promedio (SD)	GA en descanso (peso, kg)	Complicaciones durante el ciclo	Resultado y patología
1 - (3,17) (Willow)	125 209	Fetal	10 Fr (carótida), 10 Fr (yugular)	350,7 +/- 137,2	7,38 +/- 0,21	134 (1,9)	Hipotensión tras el inicio de una infusión de midazolam con un periodo de hipoxia resultante > 8 horas	Intercambio de gases adecuado sobre el soporte del ventilador con un esfuerzo respiratorio espontáneo bueno. DOL2 eutanizado - hipotonía generalizada. Patología: histología de órganos normales. Maduración pulmonar adecuada.
2 - (3,20) (Seinne)	120 360	Fetal	10 Fr (carótida), 10 Fr (yugular)	380,1 +/- 154,7	7,34 +/- 0,27	135 (4,2)	Sobrecrecimiento bacteriano en el fluido de la incubadora	Intercambio de gases adecuado sobre el soporte del ventilador con un esfuerzo respiratorio espontáneo bueno. DOL1 eutanizado debido a incapacidad de destetar desde el ventilador. Patología: inflamación pulmonar extensa, taponamiento de moco de las vías respiratorias distales. Maduración pulmonar adecuada.
3 - (3,30) (Bowie)	120 372	Materna	10 Fr (carótida), 12 Fr (yugular)	374,6 +/- 149,9	7,40 +/- 0,32	136 (4,5)	Sobrecrecimiento bacteriano en el fluido de la incubadora	Inicio abrupto de hipotensión tras el desarrollo de acidosis láctica asociada con infección en el fluido de la incubadora. DOL0 eutanizado debido a la gravedad de la acidosis. Patología: inflamación pulmonar leve. Maduración pulmonar adecuada.
4 - (3,20) (Iggy)	120 288	Materna	10 Fr (carótida), 10 Fr (yugular)	390,6 +/- 201,2	7,47 +/- 0,29	134 (3,7)	Sangrado pequeño de la cánula (trauma de la sutura)	Superviviente prolongado; IRM pecho/abdomen: estructuras de órganos normales
5 - 120 (2,9) (Manson)	490	Materna	10 Fr (carótida), 12 Fr (yugular)	334,2 +/- 121,2	7,48 +/- 0,17	140 (4,12)	Hemorragia GI tras anticoagulación sistémica, dando como resultado una obstrucción intestinal completa.	Intercambio de gases adecuado sobre el soporte del ventilador con un esfuerzo respiratorio espontáneo bueno. DOL4 eutanizado debido a incapacidad de destetar desde el ventilador. <i>Patología: Histología:</i>

Tabla 2: Animales del estudio.

Tabla 2: Animales del estudio.

Características del flujo en PEFLS

Los flujos fetales durante PEFLS están relacionados linealmente con la presión arterial sistólica del animal (Figura 9) y son pulsátiles y están directamente correlacionados con el gasto cardíaco medido. Se demostró de forma consistente la autorregulación del flujo del circuito en respuesta a la hipoxia, con aumentos compensatorios en la presión arterial sistólica y el flujo del circuito en respuesta al flujo de gas de barrido reducido hacia el oxigenador 80 y la normalización del flujo del valor inicial y la presión arterial tras la restauración del flujo de gas de barrido.

Crecimiento y metabolismo fetal en PEFLS

Durante cinco experimentos independientes que variaban de 209 a 490 horas, los animales ganaron un promedio de 930 +/- 278 gramos (Figura 10A). Se señalaron los movimientos respiratorios fetales regularmente durante la totalidad del periodo de incubación, y se correlacionaron con la presión parcial del dióxido de carbono medida en la circulación sistémica (Figura 10B). Se llevó a cabo una ecocardiografía para confirmar la permeabilidad de las derivaciones circulatorias fetales, incluyendo el conducto arterial (Figura 10C). El consumo total de oxígeno aumentó continuamente durante los cinco experimentos independientes (Figura 10D), consistente con el crecimiento y proporciona un aumento en la demanda metabólica fetal. Tras la normalización del peso fetal estimado según se extrapoló a partir de la curva de crecimiento generada a partir de los pesos pre-PEFLS y post-PEFLS, se descubrió que las velocidades de consumo de oxígeno permanecían estables en toda la incubación.

Se registraron los ciclos de sueño vigilia, los movimientos de la respiración y los movimientos totales del cuerpo en dos fetos de cordero cateterizados crónicamente mediante EEG, EOG y EMG, y se compararon con dos corderos mantenidos en la placenta artificial durante el mismo intervalo de gestación. Se realizaron los registros de un feto de cordero cateterizado en el útero y a la edad gestacional de 125 y 140 días, y se realizaron los registros de un feto de cordero en la placenta artificial a las mismas edades gestacionales. Es evidente una progresión de desarrollo del sueño desde fragmentado al consolidado entre las dos edades gestacionales en el útero y en los animales PEFLS.

Se observó de forma consistente el crecimiento y el desarrollo fetal durante el periodo de incubación, observando el progreso de los párpados desde fusionados a abiertos, un mayor crecimiento de la lana, y un nivel creciente de actividad y estado de alerta (Figura 11A y 11B). Se demostró de forma consistente la evidencia histológica de la maduración pulmonar, con el adelgazamiento de las paredes alveolares y septaciones secundarias adquiridas tras la finalización de los ciclos de PEFLS durante 200 horas en comparación con los pulmones del control de corderos en gestación de 120 días (Figura 11C, Tabla 2).

Un animal se mantuvo durante 288 horas en ausencia de infección, y se extrajo correctamente desde la placenta artificial y pasó a la vida postnatal (Figura 5D). La obtención de imágenes de resonancia magnética confirmó la estructura normal del cerebro, las vísceras torácicas y abdominales, y el animal presentó un crecimiento y desarrollo adecuados durante ocho meses antes del transporte a una instalación de adopción a largo plazo.

Un circuito sin bomba 70 para permitir un soporte prolongado del feto 20 extrauterino puede ser el diseño óptimo de una placenta artificial. Sin embargo, los esfuerzos anteriores han estado limitados por los caudales bajos y la mala perfusión. En el presente documento, se describe un sistema de soporte vital fetal extrauterino sin bomba (PEFLS) que da como resultado una incubación prolongada estable del feto 20 de mamífero durante hasta tres semanas o más. Empleando un oxigenador 80 superior con resistencia extremadamente baja y bajos volúmenes de cebado, se ha creado un circuito 70 que se aproxima más estrechamente a la propia placenta. El volumen de sangre placental notificado de la oveja es de 23,1 a 48,1 ml/kg (Creasy *et al.* (1970) Circ. Res., 27:487-494), con un flujo de sangre de placenta notificado de 199 +/- 20 ml/min/kg (Faber *et al.* (1972) J. Physiol., 223:375-393). El circuito 70 descrito en el presente documento requiere un volumen de cebado de 80 a 90 o 27 ml/kg de un feto de cordero promedio de 3 kg a 120 días, y caudales del sistema promediados de 120-140 ml/min/kg.

En aplicaciones de oxigenación extracorpórea al feto 20, el cebado del circuito 70 oxigenador con sangre fetal puede proporcionar ventajas con respecto a la descarga de oxígeno y mantener la perfusión periférica. Sin embargo, el cebado del circuito 70 se completó con sangre fetal en el caso de las gestaciones de gemelos y con sangre materna en el evento de corderos individuales (Tablas 1 y 2), y no se observaron diferencias en el contenido de oxígeno arterial, la producción de ácido láctico o la función cardíaca durante la incubación fetal prolongada.

Un circuito sin bomba 70 en el que se puede mantener la hemodinámica innata mediante autorregulación puede ser ventajoso para el desarrollo fetal normal. Antes de la presente invención, los experimentos de incubación fetal extrauterina más largos fueron con animales mantenidos en un circuito 70 que empleaba un oxigenador de membrana de fibra hueca de silicona y una bomba de cilindro y animales canulados a través de vasos umbilicales (Kuwabara *et al.* (1986) Artificial Organs 1:224-277; Kuwabara *et al.* (1989) Artificial Organs 13:527-531). En 6 animales mantenidos con la circulación fetal bajo regulación directa de la bomba de cilindro, la duración máxima de la incubación fue de 8 horas, con un rápido inicio de insuficiencia cardíaca que tiene en cuenta la muerte fetal en la mayoría de experimentos. Los tiempos de ciclo fueron significativamente prolongados en este estudio mediante la adición de un depósito de sangre, que se llenó pasivamente mediante la salida arterial umbilical, y que los caudales se regularon automáticamente a través de la bomba de acuerdo con la velocidad de llenado del depósito. Los caudales se

- mantuvieron entre 100 y 200 ml/min en todos los animales, manteniéndose los gases fetales dentro de los intervalos diana en todo el periodo de incubación. Aunque no es un sistema sin bomba, esta modificación permite caudales que reflejan mejor la circulación innata, y amplían el tiempo de supervivencia hasta 165 horas. Sin embargo, en última instancia, la insuficiencia cardíaca y el edema subcutáneo se desarrollaron en todos los animales que no sucumplieron a complicaciones iatrogénicas tales como hemorragia o embolia. En un estudio posterior, este circuito soportado por depósito se modificó mediante la adición de hemodiálisis para mejorar el equilibrio de fluidos y electrolitos, consiguiendo longitudes de incubación de hasta 236 horas con caudales entre 50 a 100 ml/min/kg. De nuevo, aunque tres animales murieron debido a un funcionamiento incorrecto de los catéteres, la insuficiencia cardíaca fue la causa de todas las muertes no técnicas, con una depresión circulatoria progresiva y una muerte eventual en el circuito.
- Basándose en la sospecha de que el movimiento fetal puede haber contribuido al desequilibrio del fluido, alteraciones del flujo y complicaciones de sangrado, un estudio de seguimiento que empleaba este circuito con la administración de paralizadores continuos dio como resultado un soporte estable de dos fetos 20 de cabra pretérmino durante 494 y 543 horas respectivamente, con caudales entre 80 y 180 ml/min/kg y la administración satisfactoria desde la incubadora a la ventilación mecánica (Unno *et al.* (1993) *Artificial Organs* 17:996-1003). Sin embargo, los animales no pudieron demostrar un esfuerzo respiratorio espontáneo adecuado y expiraron debido a la insuficiencia respiratoria. Análisis adicionales del comportamiento de este circuito, con modificaciones que incluían la colocación de un tubo de oclusión para crear un punto de resistencia fijo en la salida arterial, consiguieron tiempos de incubación de hasta 236 horas, pero todos los animales murieron debido a la insuficiencia circulatoria caracterizada por una disminución del flujo y la presión arterial así como arritmias recurrentes (Unno *et al.* (1997) *Artificial Organs* 21: 1239-1246).
- Estudios adicionales intentaron conseguir resultados circulatorios mejorados después de que una incubación fetal extrauterina prolongada diera como resultado hallazgos similares de desaparición debido a insuficiencia circulatoria. En 1998, se estudiaron cuatro fetos de cabra 20 canulados a través de los vasos umbilicales y mantenidos en un circuito que comprendía un oxigenador de fibra hueca y una bomba centrífuga (Yasufuku *et al.* (1998) *J. Pediatr. Surg.*, 33:442-448). Este circuito permite el suministro de flujo pulsátil a mayores tasas en comparación con los informes publicados anteriores, con caudales que varían de 113 a 193 ml/min/kg. La duración total del soporte varió de 87 a 237 horas, donde todos los animales sucumplieron a hidropia secundaria a fallo circulatorio. En 2002, se estudiaron 12 fetos de cabra 20 canulados a través de los vasos umbilicales y soportados mediante un circuito que utilizaba una bomba de rodillo con control manual del caudal, en un intento de aumentar la velocidad de drenaje de la arteria umbilical. En este estudio, 3 animales murieron debido a problemas de la cánula y uno debido a la hipoxia secundaria a la formación de coágulos en el circuito, mientras que los 8 animales restantes desarrollaron insuficiencia circulatoria. Los caudales variaban de 103,0 +/-17,0 a 176,0 +/-15,0 (ml/min/kg) y se consiguió un intercambio de gases adecuado, sin embargo, se observó que el drenaje de la arteria umbilical mediante la bomba de rodillo imponía una mayor poscarga sobre el miocardio.
- La demostración continuada de la sobrecarga circulatoria en un ECMO fetal con soporte de bomba sugiere una poscarga inaceptable impuesta por estos circuitos, dando como resultado una eventual insuficiencia cardíaca. Por otro lado, la placenta artificial ideal permitiría al feto 20 mantener una circulación análoga a la unidad fetal-placental, donde la perfusión se determina por el gasto cardíaco fetal. Sin embargo, los intentos anteriores para diseñar un sistema sin bomba para perfusión fetal habían proporcionado resultados poco estimulantes. Por ejemplo, se ha notificado el uso de un circuito sin bomba en una serie de corderos con hernias diafrágmáticas congénitas creadas quirúrgicamente (Awad *et al.* (1995) *J. Invest. Surg.*, 8:21-30). Los animales se perfundieron un máximo de 6 horas, pero los caudales del circuito no superaron los 75 ml/min y los niveles de oxigenación fueron insuficientes para sostener la incubación estable a largo plazo. En 2009, se notificó un circuito extracorpóreo sin bomba usando un oxigenador de fibra hueca y canulación umbilical en cuatro corderos a casi término (Reoma *et al.* (2009) *J. Pediatr. Surg.*, 44:53-59). Los animales se soportaron durante un máximo de cuatro horas en este sistema, con una disminución gradual en el flujo de circuito y presión arterial sistólica durante este ciclo de incubación corto. Se concluyó que un sistema accionado por bomba sería necesario para mantener un flujo y perfusión adecuados en el feto 20. En 2012, se notificó un circuito extracorpóreo sin bomba en corderos con una edad gestacional de 130 +/- 1,6 días, con canulación de una sola arteria umbilical y la vena umbilical (Mima *et al.* (2012) *Pediatr. Res.*, 72:490-494). Los 5 animales estudiados sobrevivieron un promedio de 18,2 +/- 3,2 horas, pero desarrollaron una acidosis láctica progresiva con resultado de insuficiencia cardíaca y muerte. La administración de presores para aumentar la contractilidad cardíaca y de ionotropos para reducir la vasodilatadores periférica no consiguió la supervivencia a largo plazo en este sistema. Por último, se notificó el desarrollo de un oxigenador de bajo volumen miniaturizado, con un volumen de cebado de 12 ml y área superficial de intercambio gaseoso de 0,12 m² (Schöberer *et al.* (2014) *Artificial Organs* 38:208-14).
- Los animales se canularon mediante los vasos umbilicales, pero se mantuvieron con ventilación mecánica además de la oxigenación extracorpórea. En este sistema, 6 de los 7 animales estudiados se mantuvieron con soporte extracorpóreo sin bomba durante 6 horas, el criterio de valoración definido, sin embargo, todos los animales desarrollaron una acidosis metabólica, niveles elevados de lactato en sangre y una disminución continua de la presión arterial, y finalmente los tres animales necesitaron catecolaminas para alcanzar el criterios de valoración final experimental. En el sistema de la presente invención, ningún animal necesitó soporte de presores en ningún momento para mantener la estabilidad hemodinámica y la perfusión durante las tres semanas de soporte.
- En este estudio se consiguió la esterilidad a largo plazo del sistema de incubación del líquido fetal. Los informes anteriores que utilizaban sistemas de inmersión en líquido no describieron ampliamente tasas de contaminación

bacteriana y estrategias para mejorar la esterilidad. Especialmente, se había descrito una incubadora llena de líquido amniótico y antibióticos, con filtración diaria en línea e intercambio completo en días alternos (Kuwabara *et al.* (1989) Artificial Organs 13:527-531). En este estudio, la duración más larga de la incubación fetal fue de 236 horas. En el presente estudio, con el diseño final de la incubadora, la infección habitualmente no aparecía antes del día 12, o las 288 horas. La longitud prolongada de los períodos de incubación aumentan probablemente la dificultad de mantener la esterilidad.

Se realizaron varios refinamientos en el diseño de la incubadora a través de la serie de animales experimentales, incluyendo la adición de un guante montado para facilitar la manipulación y los cambios de posición del animal sin romper la esterilidad, así como la colocación de un dispositivo de succión fijado internamente y sellado para permitir la eliminación de los productos residuales y desechos. Además, un sistema de filtración UV para acuario se introdujo dentro del depósito de fluido para proporcionar un nivel adicional de protección antimicrobiana. Con estas modificaciones, se mantuvo la esterilidad durante un máximo de tres semanas de incubación fetal, lo que representa un periodo significativo para el crecimiento y desarrollo de un bebé críticamente pretérmino.

Una ventaja de un sistema sin bomba para perfusión fetal es el mantenimiento de la regulación del flujo sanguíneo cerebral mediante las rutas de autorregulación innatas. Garantizar la oxigenación adecuada de cerebro en desarrollo es una consideración clave en el diseño de una placenta artificial, donde se considera que la autorregulación cerebral representa un importante componente de la perfusión cerebral. La autorregulación cerebral se ha descrito bien en la población de bebés neonatos que requieren cuidados intensivos, pero es poco comprendida. Existe una variabilidad individual significativa con respecto a los intervalos medidos de flujo sanguíneo arterial cerebral, vasoreactividad y umbrales de autorregulación, en la medida que los valores normales de estos pacientes siguen sin definir (Vutskis, L. (2014) Pediatr. Anesth., 24:22-29). La autorregulación cerebral también se ha observado en el feto humano 20, con aumento de la velocidad sistólica máxima de la arteria cerebral media descrita en fetos 20 con restricción del crecimiento intrauterino (Hanif *et al.* (2007) Am. J. Perinatol, 24:501-505). Los efectos de un ECMO convencional soportado por bomba sobre la perfusión cerebral en neonatos han demostrado una pérdida bien documentada de autorregulación en respuesta a la hipoxia fetal en numerosos sistemas, incluidos modelos en cordero de ECMO venoarterial (Short *et al.* (1993) Pediatr. Res., 33:289-294; Stolar *et al.* (1988) J. Pediatr. Surg., 23: 1 163-1168), estudios en corderos recién nacidos soportados con ECMO venovenoso (Walker *et al.* (1996) Crit. Care Med., 24:2001-2006), así como en bebés soportados con ECMO venoarterial (Papademetriou *et al.* (2013) Adv. Exp. Med. Biol., 765:203-209), lo que sugiere alteraciones significativas en la perfusión cerebral en un escenario de flujo ECMO soportado por bomba. Especialmente, numerosos estudios indican que el impacto sobre el desarrollo neurológico a largo plazo de ECMO es el deterioro funcional en dichos pacientes (Kumar *et al.* (1994) Pediatrics 93:951-955; Iisselstiin *et al.* (2014) Semin. Perinatol., 38: 1 14-121). En el presente estudio, los estudios de EEG revelaron formas de onda consistentes con las observadas en corderos cateterizados de forma crónica en el útero.

El mantenimiento de la autorregulación cerebral probablemente consigue una perfusión cerebral y desarrollo óptimos en la placenta artificial, mejorando los resultados en esta población con secuelas para el desarrollo neuronal potencialmente destructoras cuando se sigue la gestión convencional.

Las implicaciones del sistema de soporte vital fetal extrauterino total (TEFLS) se extiende más allá de las innovaciones clínicas, y proporciona una base para abordar cuestiones fundamentales relativas al papel de la placenta en el desarrollo fetal. Por primera vez, se ha conseguido el mantenimiento estable a largo plazo de un feto de 20 extraído del eje maternoplacentario, permitiendo estudiar la contribución relativa de este órgano a la maduración fetal. El sistema también se puede usar como un puente en la transición de la vida fetal a la posnatal, que se puede aplicar a modelos de enfermedad pulmonar congénita para ampliar la ventana de oportunidad para intervenciones terapéuticas. De este modo, el sistema TEFLS representa una capacidad que anteriormente no estaba disponible para los investigadores sobre fisiología fetal, y representa un potente y nuevo recurso para numerosas aplicaciones clínicas traslacionales.

Aunque algunas de las realizaciones preferidas de la presente invención se han descrito e ilustrado específicamente en lo anterior, no se pretende que la invención se limite a dichas realizaciones. Se pueden realizar modificaciones a la misma sin separarse del alcance de la presente invención, tal como se define en las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un aparato incubador (10) para mantener un feto (20) en un escenario extrauterino para permitir el crecimiento y la maduración, comprendiendo el aparato incubador (10):
- 5 una cámara de incubación (30) para contener un volumen de líquido estéril y el feto (20), el volumen de líquido suficiente para que el feto (20) se pueda sumergir en el líquido de la cámara de incubación (30),
- 10 incluyendo la cámara de incubación (30) un puerto de entrada(40) y un puerto de salida (50), el puerto de entrada (40) configurado para proporcionar una ruta para la entrada de fluido estéril al interior de la cámara de incubación (30), el puerto de salida (50) configurado para proporcionar una ruta para la salida de fluido estéril desde la cámara de incubación (30);
- 15 **caracterizado por que**
una bomba (60) configurada para bombear el líquido estéril a través del puerto de entrada (40), al interior de la cámara de incubación (30), y a través del puerto de salida (50); y
un sistema de oxigenación de membrana extracorpórea que incluye un circuito de oxigenación sin bomba (70) y un oxigenador de resistencia muy baja (80), teniendo el oxigenador un puerto de entrada y un puerto de salida; el circuito (70) configurado para acoplarse al feto (20) de modo que el circuito (70) define una ruta que incluye: 1) una primera porción que proporciona una salida arterial desde el feto (20) bajo presión sistémica pulsátil hacia el puerto de entrada del oxigenador, y 2) una segunda porción que proporciona flujo de retorno desde el puerto de salida hacia el feto (20).
- 20
2. El aparato de incubación (10) de la reivindicación 1, en donde la bomba bombea líquido estéril a través del puerto de entrada (40) para intercambiar el líquido usado de la cámara (30) por líquido estéril.
- 25 3. El aparato de incubación (10) de las reivindicaciones 1 o 2, en donde el oxigenador (80) tiene una caída de presión menor de 40 mm de Hg a 1,5 l/min de flujo sanguíneo, según se mide entre el puerto de entrada y el puerto de salida.
- 30 4. El aparato de incubación (10) de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde cuando la cámara de incubación (30) mantiene el volumen del líquido estéril, el oxigenador (80) se coloca fuera del volumen de líquido estéril.
- 35 5. El aparato de incubación (10) de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el circuito de oxigenación sin bomba (70) permite mantener la hemodinámica innata mediante autorregulación.
6. El aparato de incubación (10) de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el circuito de oxigenación sin bomba (70) está configurado para proporcionar un flujo sanguíneo de aproximadamente 2,0 l/min o mayor.
- 40 7. El aparato de incubación (10) de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la cámara de incubación (30) está sellada para impedir la contaminación del volumen de líquido estéril dentro de la cámara de incubación (30).
8. El aparato de incubación (10) de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la cámara de incubación (30) comprende una bolsa o un saco.
- 45 9. El aparato de incubación (10) de la reivindicación 8, en donde la bolsa o el saco comprenden plástico inerte de calidad médica o silicona.
10. El aparato de incubación (10) de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que comprende un mecanismo de succión configurado para proporcionar acceso sellado al volumen de líquido estéril para permitir la retirada de productos residuales y desechos del volumen de líquido estéril de la cámara de incubación (30).
- 50 11. El aparato de incubación (10) de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde el líquido de la cámara (30) comprende líquida amniótico sintético.
12. El aparato de incubación (10) de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, que comprende un mezclador de gases para combinar una mezcla de aire y oxígeno para formar un gas de barrido, en donde el gas de barrido está conectado al oxigenador (80).
- 55 13. El aparato de incubación (10) de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el circuito de oxigenación (70) proporciona una velocidad de transferencia de aproximadamente 150 ml/min o superior.
14. El aparato de incubación (10) de cualquiera de las reivindicaciones 1-13, que comprende un sistema de filtración configurado para eliminar contaminantes del líquido estéril.
- 60 15. El aparato de incubación (10) de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, que comprende:
- 65 un tanque de suministro para almacenar un suministro de líquido estéril mayor que el volumen de líquido estéril dentro de la cámara de incubación (30); y

un drenaje para recibir líquido usado desde la cámara de incubación (30); en donde la bomba (60) está configurada para bombear el líquido estéril desde el tanque de suministro hacia la cámara de incubación (30).

- 5 16. El aparato de incubación (10) de la reivindicación 14, en donde el sistema de filtración incluye un filtro configurado para eliminar residuos del líquido estéril, y el sistema de filtración incluye una fuente de luz ultravioleta configurada para eliminar las bacterias del líquido estéril.

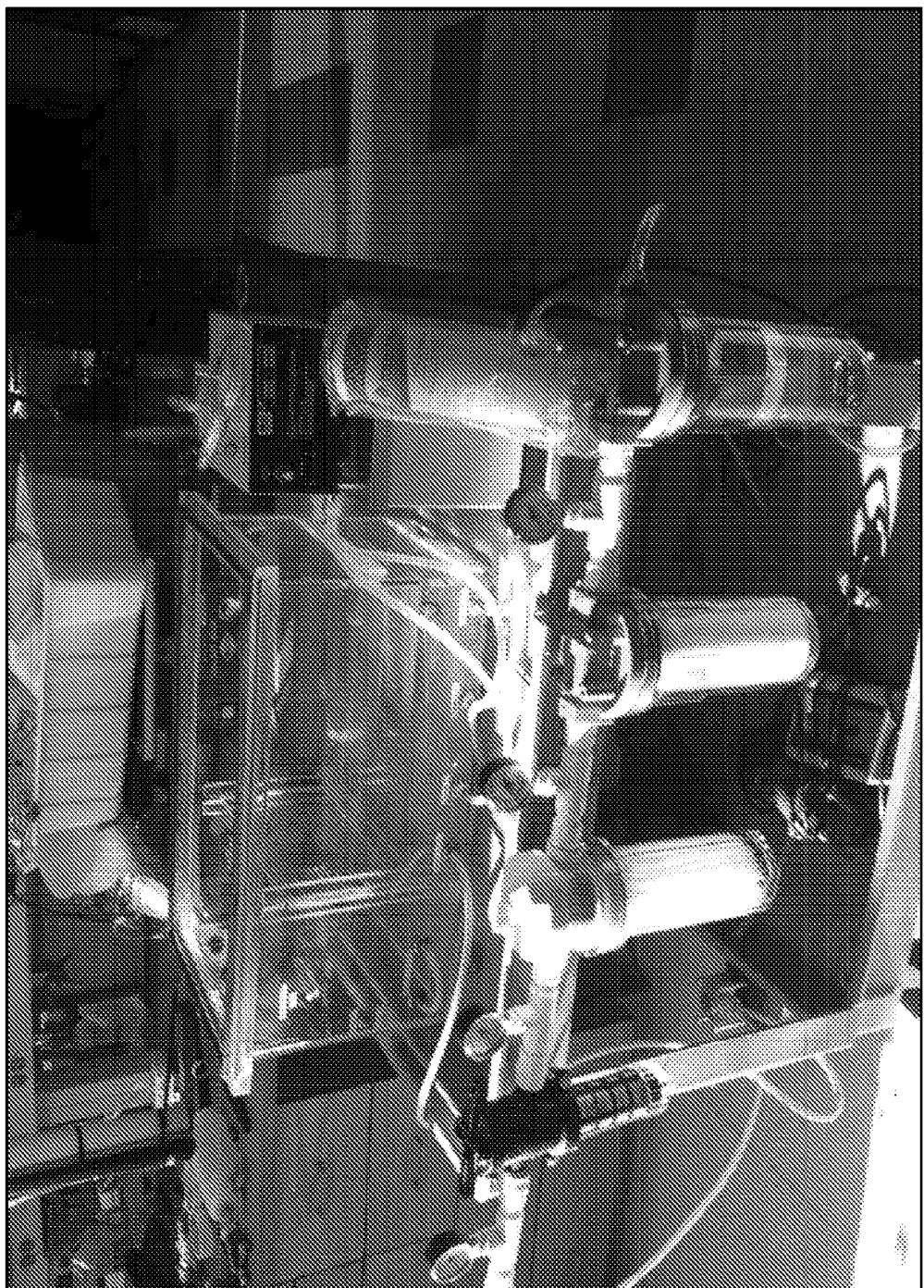


Figura 1

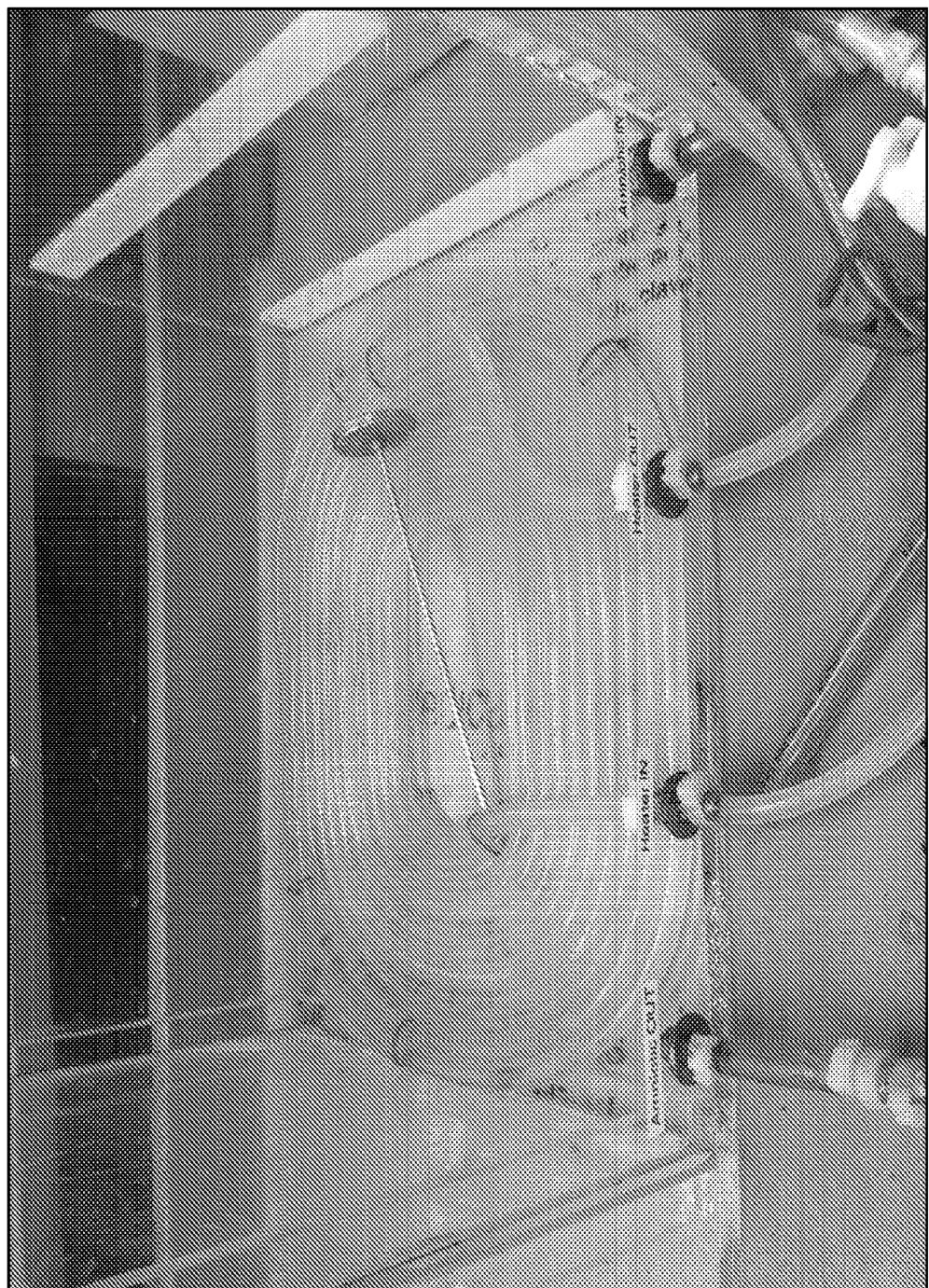


Figura 2

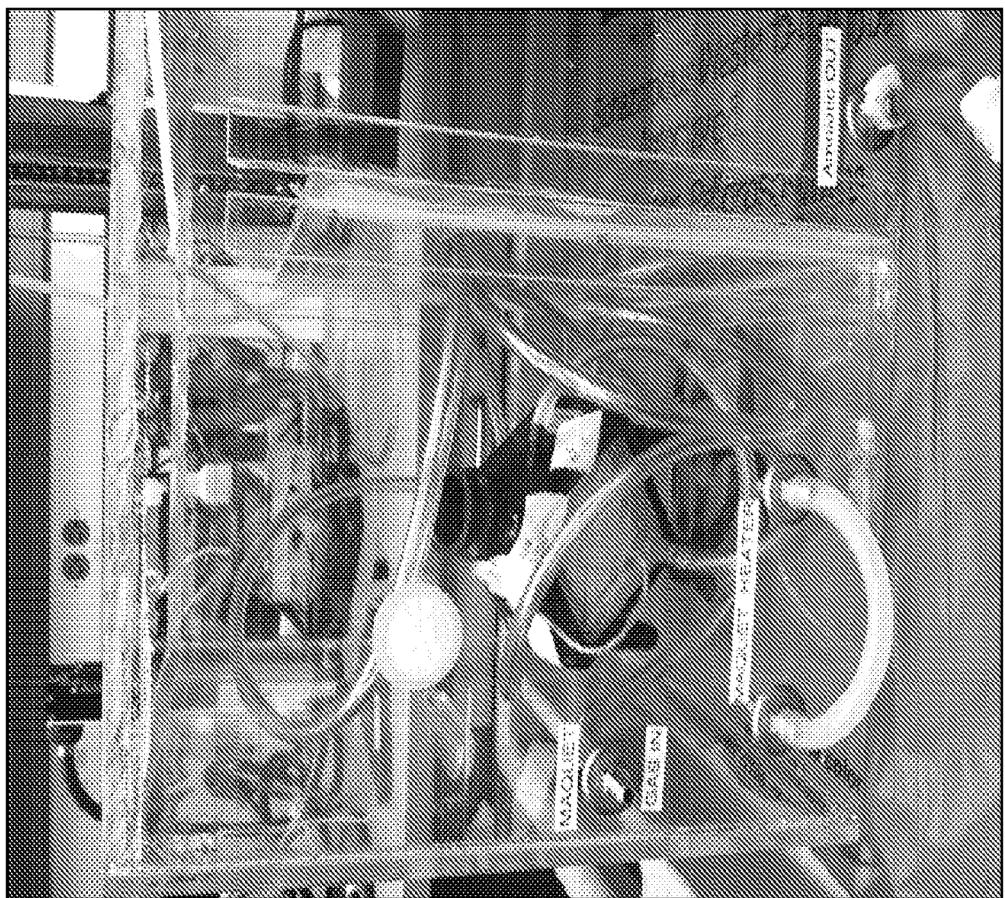
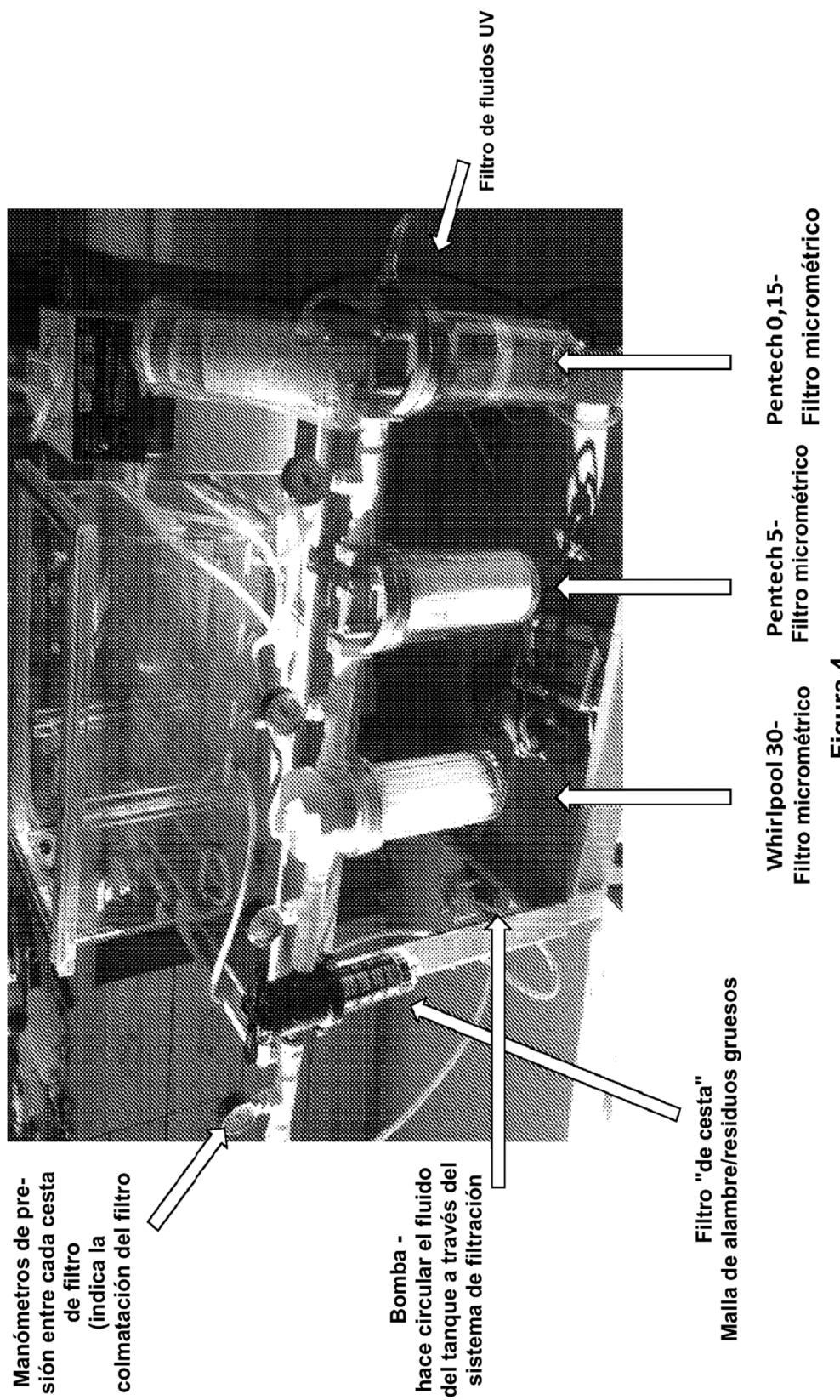


Figura 3



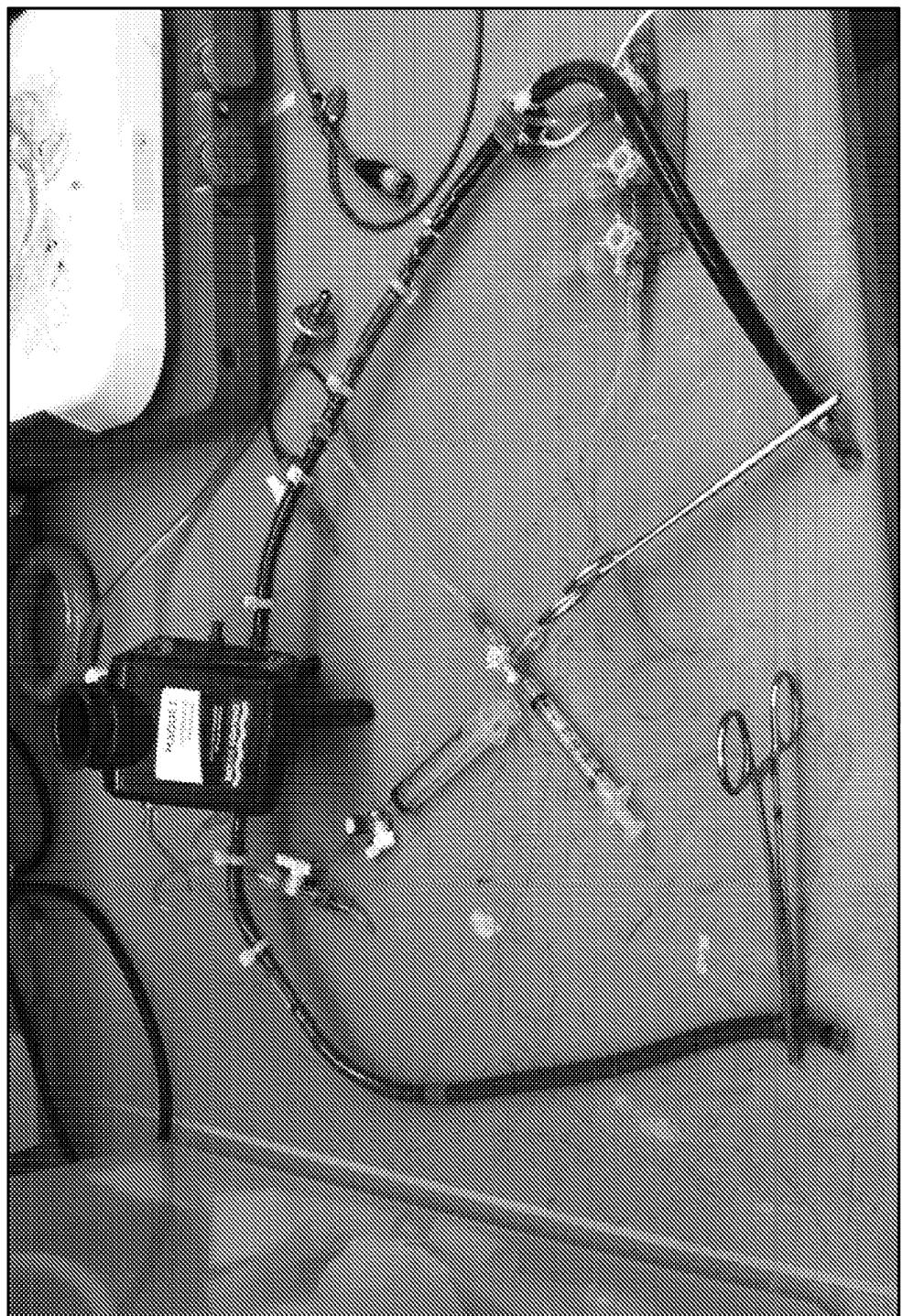


Figura 5

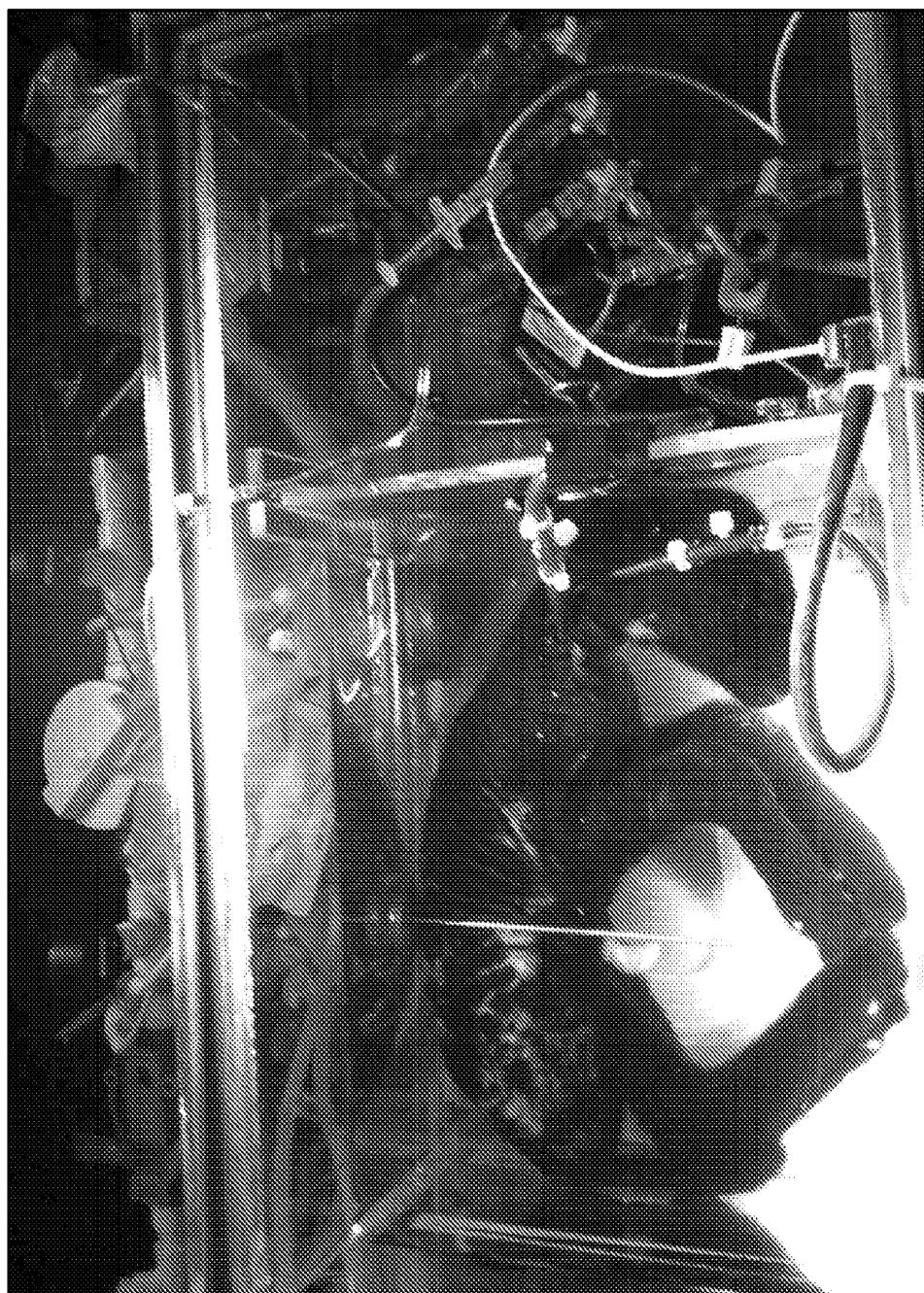


Figura 6A

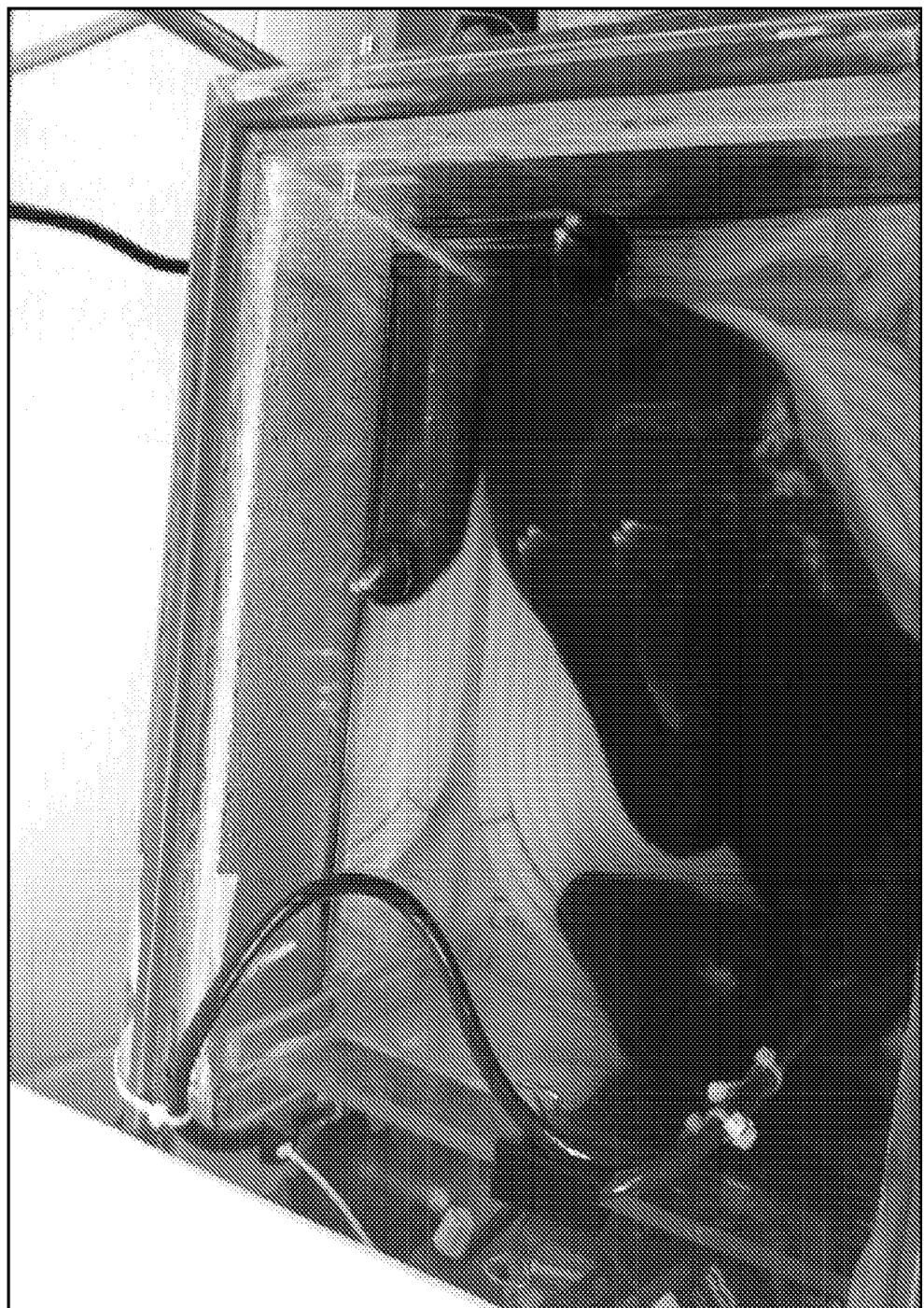


Figura 6B

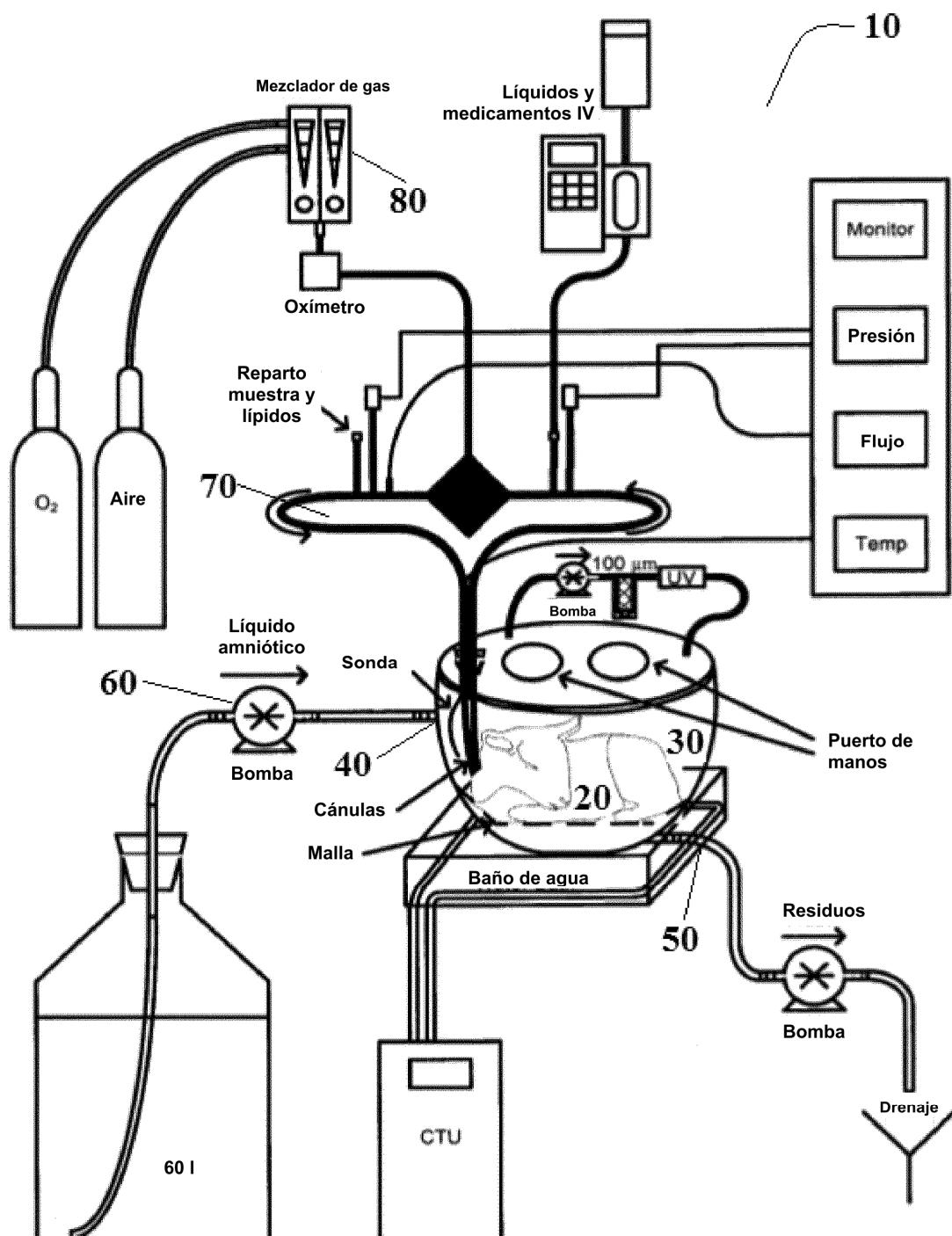


Figura 7A

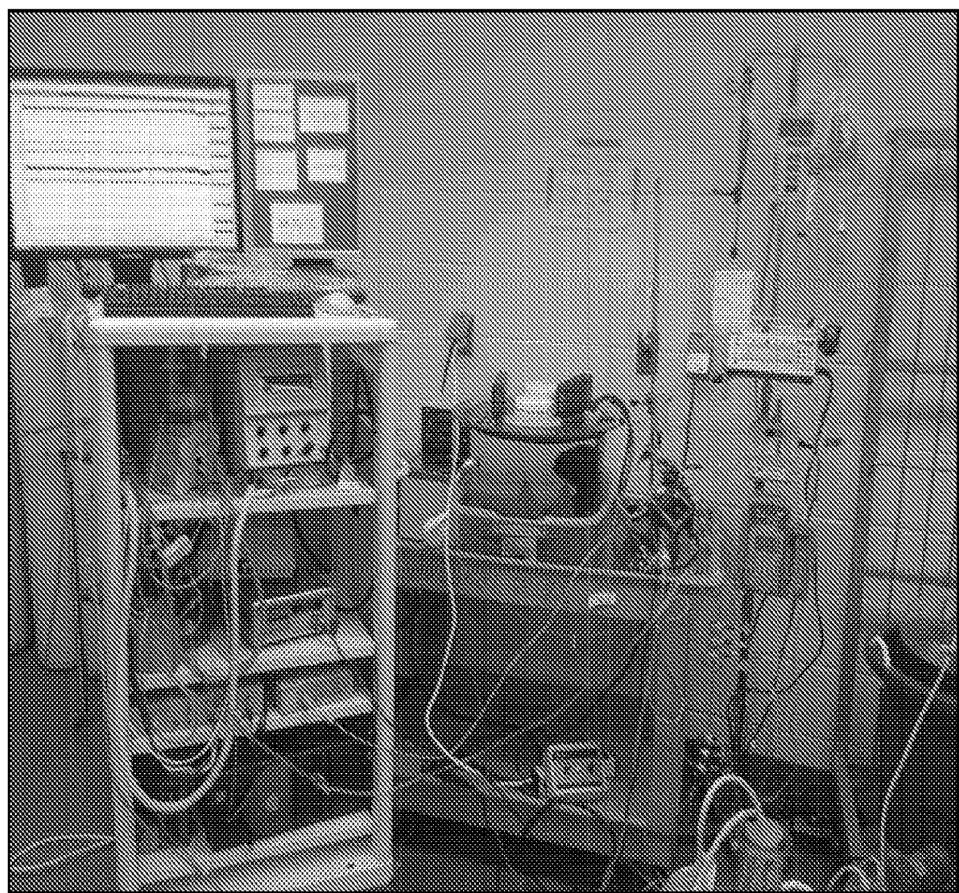


Figura 7B

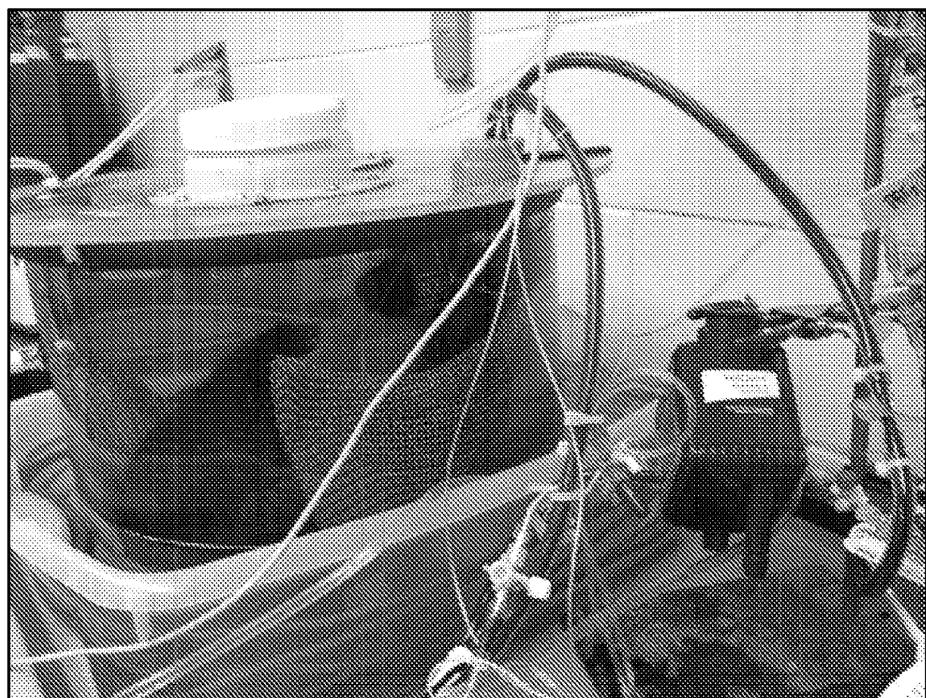


Figura 7C

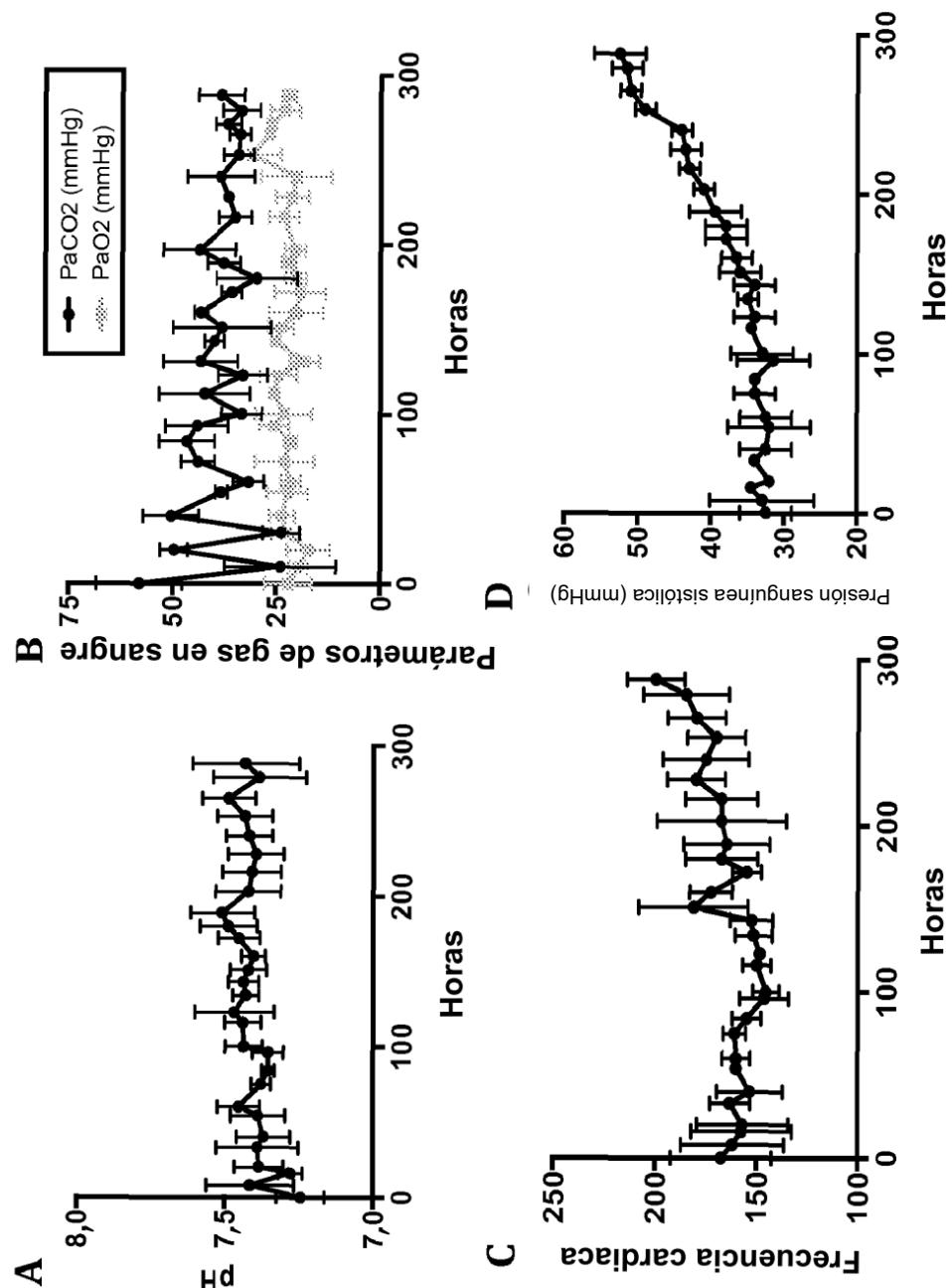


Figura 8

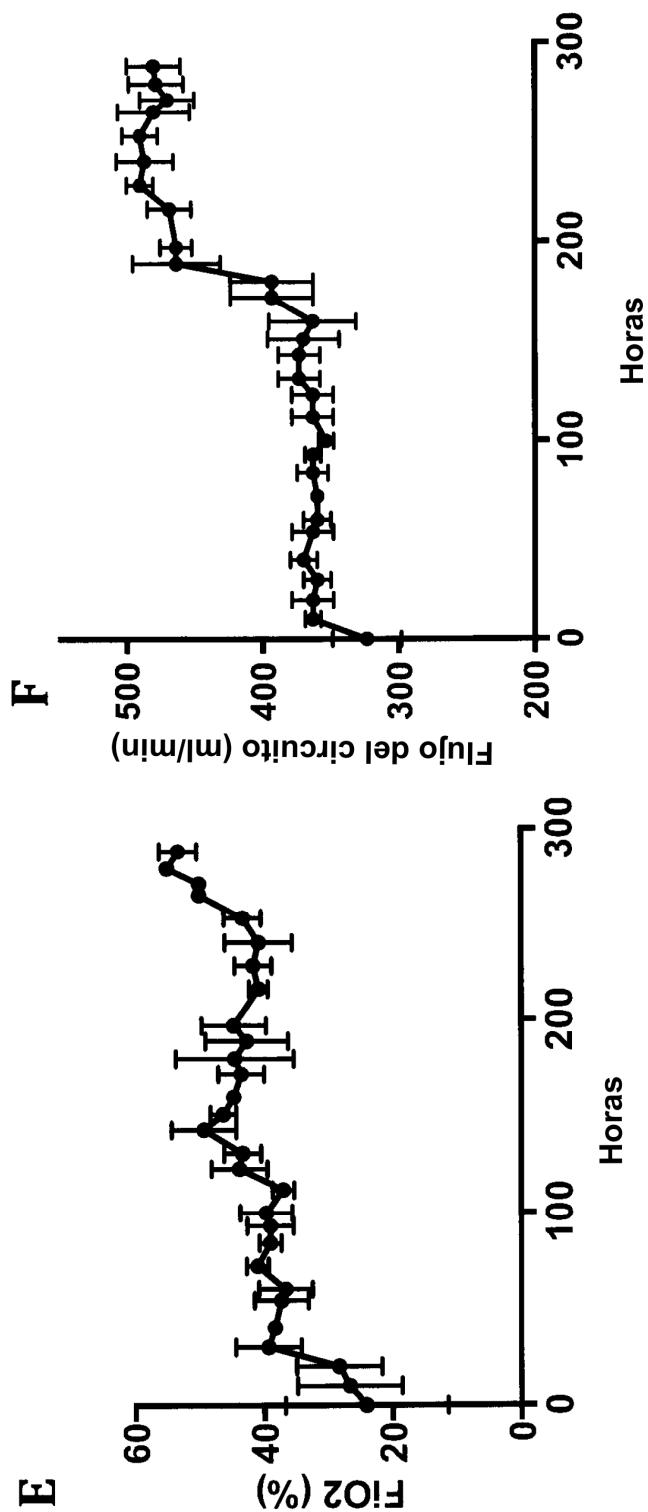


Figura 8

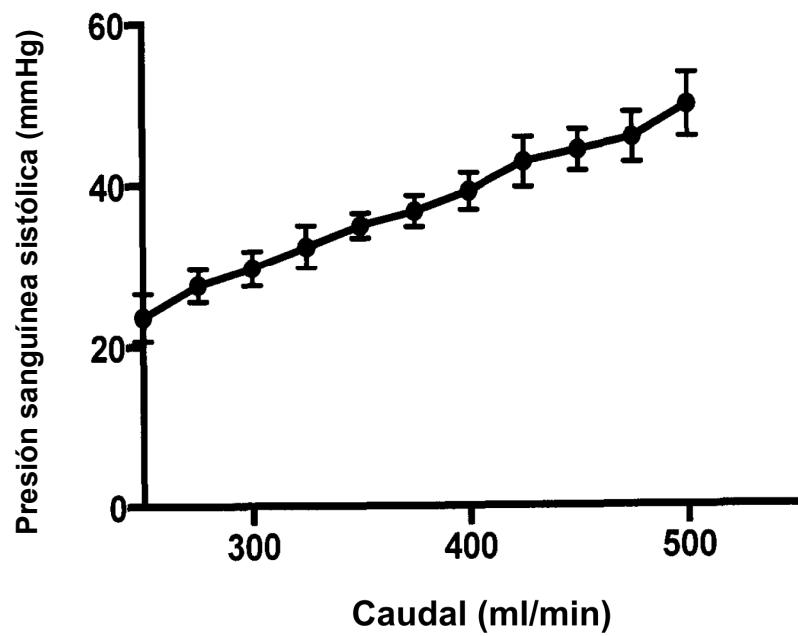


Figura 9

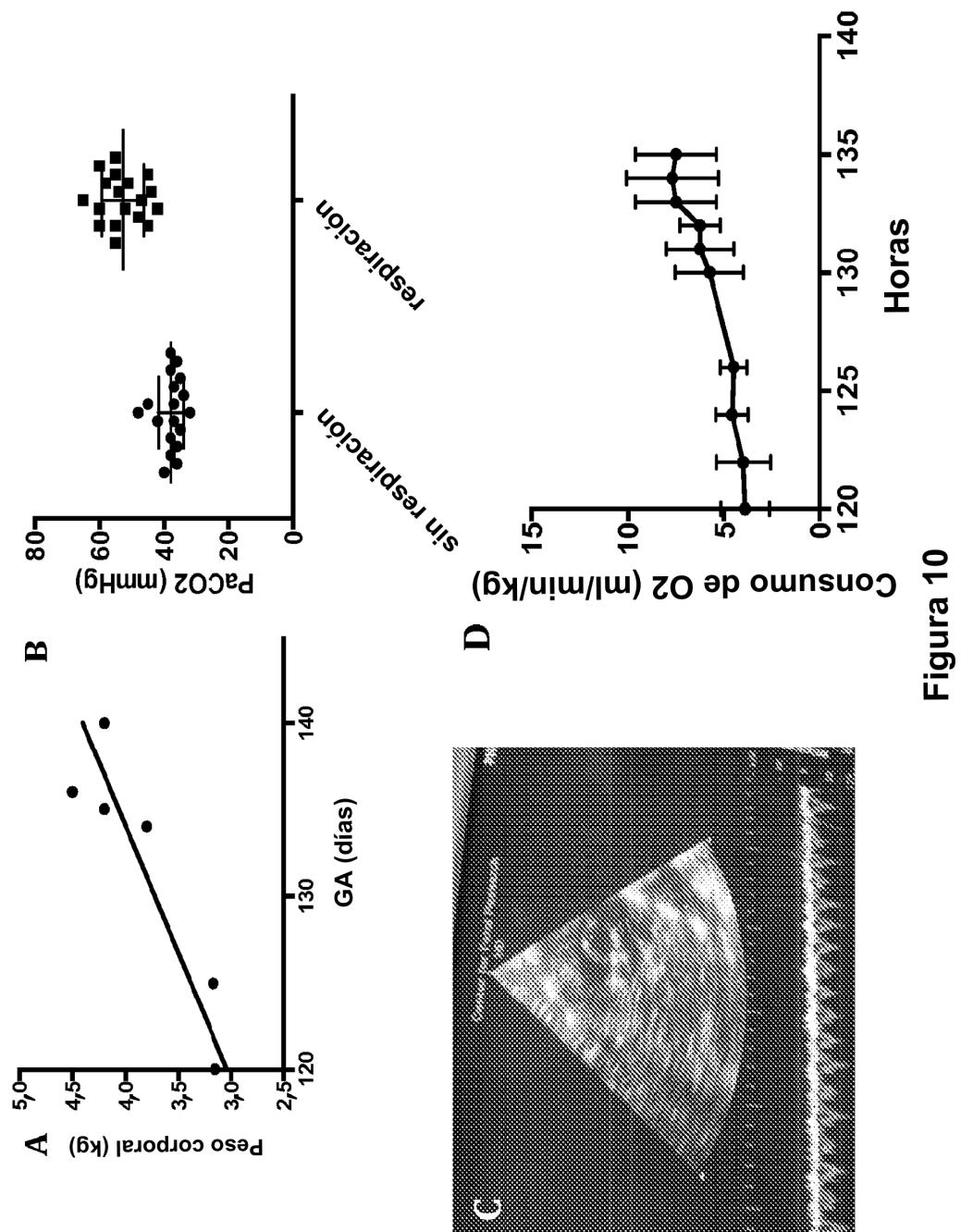


Figura 10

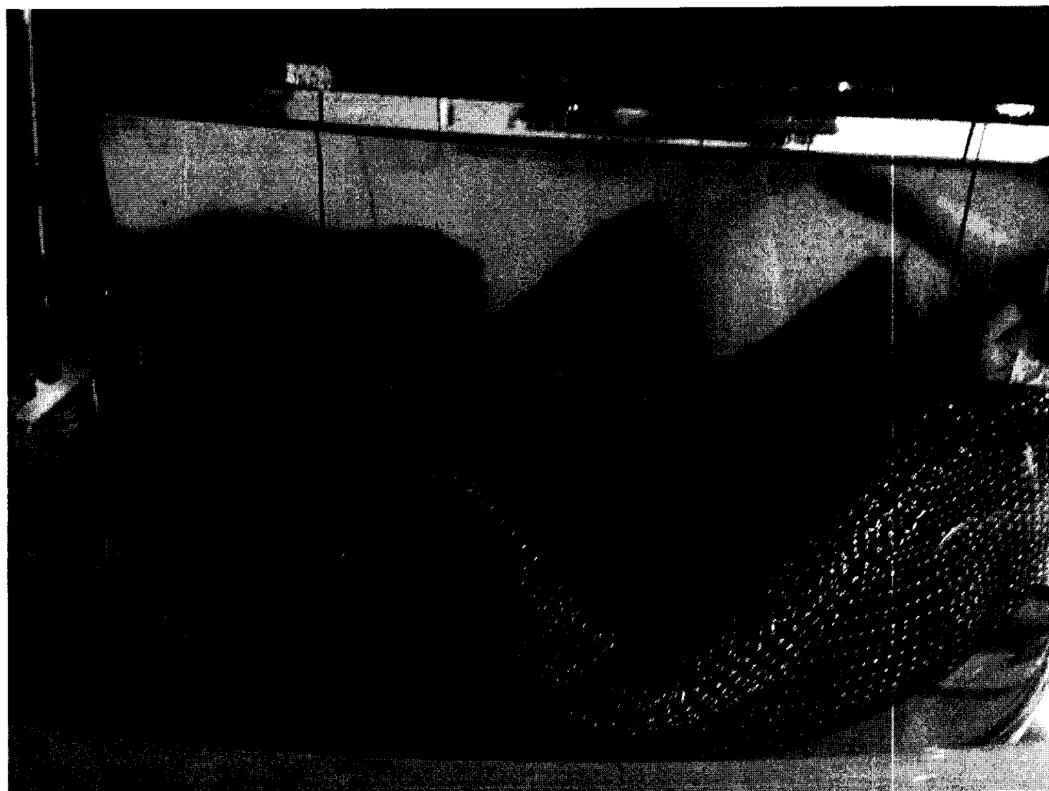


Figura 11A



Figura 11B

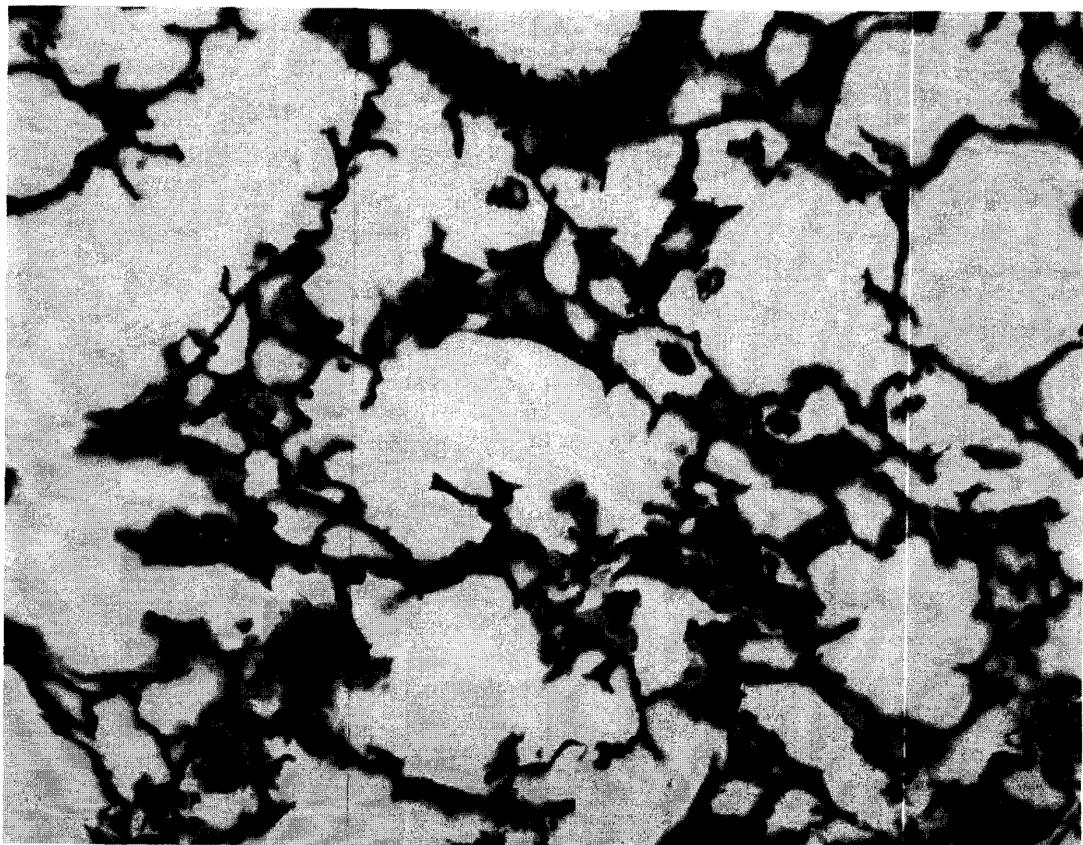


Figura 11C

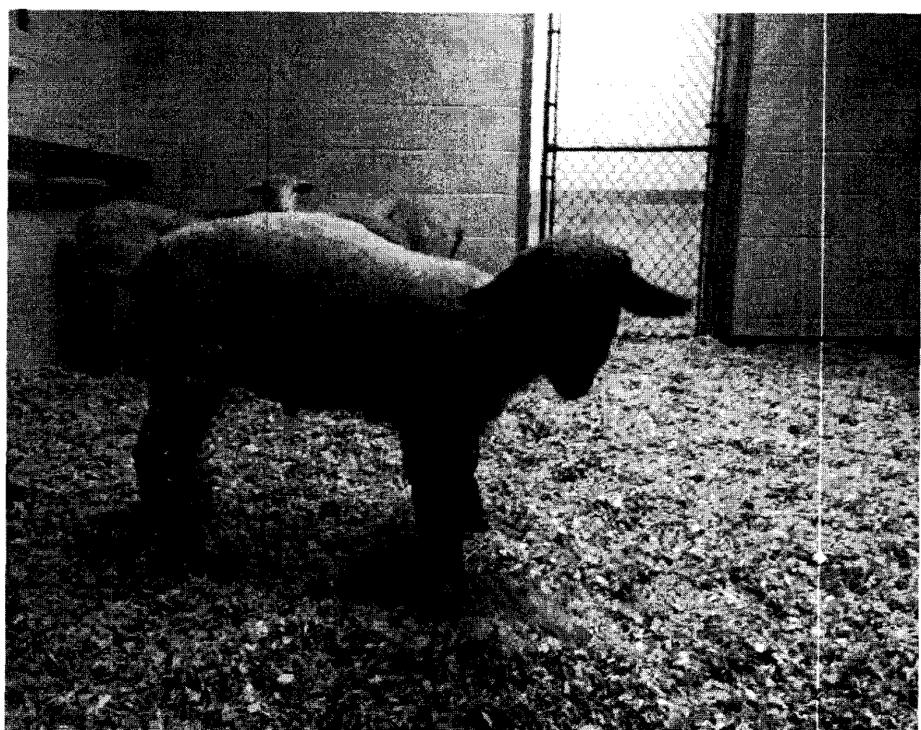


Figura 11D