

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 811 354**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 31/555** (2006.01)

**A61K 33/00** (2006.01)

**A61P 7/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.07.2017 PCT/EP2017/068141**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.02.2018 WO18019663**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2017 E 17740398 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.05.2020 EP 3490526**

54 Título: **Solución acuosa cristalóide isotónica**

30 Prioridad:

**26.07.2016 ES 201631021**

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

**11.03.2021**

73 Titular/es:

**OLLER DUQUE, LARA (100.0%)  
C/ Cedros 81 bajo D  
28029 Madrid, ES**

72 Inventor/es:

**SHANDER, ARYEH y  
OLLER DUQUE, LARA**

74 Agente/Representante:

**GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo**

ES 2 811 354 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Solución acuosa cristaloides isotónica

La presente invención se refiere a una solución acuosa cristaloides isotónica.

**Antecedentes de la invención**

- 5 El choque hemorrágico es una causa muy significativa de mortalidad y la administración de soluciones cristaloides puede reducir la gravedad y la duración del choque.

Se conocen varias composiciones que pueden usarse en los casos de pérdidas de sangre como un sustituyente de la sangre.

- 10 Por ejemplo, el documento de Dubick M.A. y col., "Hypotensive resuscitation of casualties in the far forward combat environment: effects of select crystalloids and colloids on signal transduction mediators in a swine model of severe hemorrhage" publicado en Selected topics in electronic and systems (2006); Vol. 42: 394-400, describe tres soluciones, siendo una de dichas soluciones un coloide, Hextend, siendo otra HBOC (vehículos de oxígeno basados en hemoglobina), polyHeme y siendo otra un cristaloides. Estas soluciones no contienen iones nitrato, iones nitrito u otros elementos químicos como metales y metaloides en su composición.

- 15 El documento de Ozkän y col. "Comparison of the effect of hypertonic saline and crystalloid infusions on haemodynamic parameters during haemorrhagic choque in dogs" publicado en The Journal of International Medical Research, 2001, vol. 29:508-515, describe un ensayo comparativo sobre la efectividad de dos soluciones cristaloides en la recuperación de perros sometidos a choque hemorrágico. Los cristaloides comparados son, por un lado, una solución de lactato de Ringer como tratamiento convencional y por otro lado una solución salina hipertónica que  
20 consiste en una solución salina de cloruro sódico al 7,5 %. Ninguna de las soluciones descritas contiene iones nitrato, iones nitrito o elementos químicos como metales y metaloides.

Sería interesante desarrollar una nueva solución acuosa que proporcione mejores resultados que los de las soluciones ya conocidas.

**Descripción de la invención**

- 25 La presente invención describe una solución acuosa cristaloides isotónica que contiene iones nitrato o iones nitrito o una mezcla de los mismos y metales y metaloides.

En la presente descripción "solución acuosa cristaloides" se refiere a una solución de solutos iónicos usada para reponer fluidos, principalmente sangre, que no presenta presión oncótica en sí misma.

- 30 En la presente invención, la referencia a soluciones isotónicas se refiere a soluciones en las que la osmolaridad en dicha solución es similar a la del líquido extracelular del cuerpo, preferentemente sangre, y no altera el volumen de las células sanguíneas.

- Un primer aspecto de la invención se refiere a una solución acuosa cristaloides isotónica que comprenden iones Na<sup>+</sup> en un intervalo comprendido entre 50 y 200 mmol/l, iones K<sup>+</sup> en un intervalo comprendido entre 0,1 y 10 mmol/l, iones Cl<sup>-</sup> en un intervalo comprendido entre 50 y 200 mmol/l, teniendo iones nitrato o iones nitrito o una mezcla de  
35 los mismos en un intervalo comprendido entre 0,0001 mmol/l y 1 mmol/l y al menos un elemento químico seleccionado de: Li, Be, B, Al, Si, P, S, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Mo, Pd, Ag, Sn, Sb, I, Cs, Ba, Ce, Au, Tl, Pb, Bi, Th y U.

La solución de la presente invención no altera el equilibrio osmótico de las células.

- 40 Una ventaja de la presencia de los iones nitrato o iones nitrito o una mezcla de los mismos, es que cuando la solución se perfunde a un mamífero, estos iones tienen el potencial de generar óxido nítrico, un gas que genera vasodilatación. Esto da lugar a una perfusión y oxigenación mejoradas de los tejidos. Esto puede ser muy útil, por ejemplo, en la recuperación de los sujetos que están sufriendo un choque hemorrágico, que se asocia a hipotensión e hipovolemia que da como resultado el colapso de los capilares.

- 45 Otra ventaja de la presente invención es la presencia de metales y metaloides en el cristaloides. Estos elementos, cuando se infusionan por vía intravenosa, tienen un potencial redox sin efectos deletéreos en el organismo. Esta función es muy relevante debido a que los elementos químicos pueden comportarse como donadores de electrones (agente reductor) que pueden capturarse por los agentes oxidantes. Este procedimiento describe una reacción redox (oxidación-reducción). El colapso de los capilares da lugar a hipoxia celular e isquemia que dan como resultado una diversidad de cambios metabólicos y ultraestructurales celulares. Cuando el oxígeno se reintroduce durante la  
50 reperfusión, varios sistemas enzimáticos acelerarán la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en tejidos post-isquémicos (xantina oxidasa, NADPH oxidasa, la cadena de transporte electrónico mitocondrial y la óxido nítrico sintasa no acoplada) (Pathophysiology, clinical manifestations and prevention of Ischemia-reperfusion injury, Collard y col. Anesthesiology 2001, VOL. 94, 1133-1138). Las ROS pueden comportarse como agentes

oxidantes y son moléculas altamente reactivas e inestables. Con la reperfusión del tejido isquémico, se crea un desequilibrio entre la velocidad de generación de ROS y la capacidad del tejido de detoxificar estas especies reactivas, por lo tanto, seguirá el daño celular (Reperfusion injury and reactive oxygen species: the evolution of a concept. D Neil Granger, Peter R. Kvietys. Redox Biology 6 (2015), 524-551). Las ROS son deletéreas para las células, la microcirculación y el glucocáliz (la capa endotelial más interna) que son altamente sensibles a ellas (The mechanisms and physiological relevance of glycocalyx degradation in hepatic ischemia/reperfusion injury. Rowan F. Van Golen et al. Antioxidants & Redox signaling. Volumen 21, número 7, 2014). La capacidad de este cristaloides de neutralizar especies reactivas de oxígeno daría lugar a la conservación del glucocáliz, a la mejora de la microcirculación y, por lo tanto, a la atenuación de la lesión por isquemia reperfusión. Todo esto daría lugar a una mejora en la supervivencia en choque hemorrágico.

La liberación de las especies reactivas de oxígeno tendrá lugar después del reclutamiento capilar y la reperfusión, por lo tanto, es una clave que esta solución acuosa cristaloides isotónica presente no solo la capacidad de abrir capilares colapsados gracias a la presencia de iones nitrato y nitrito sino también el potencial de neutralizar especies reactivas de oxígeno. De esta manera, los nitratos y los nitritos tienen el potencial de abrir capilares colapsados a través de la ruta de nitrato-nitrito-óxido nítrico y los elementos químicos que componen la solución funcionarán juntos en la neutralización de las especies reactivas de oxígeno a través de su potencial redox. Explicado de manera sencilla, los nitratos y los nitritos "reconectarán" los capilares colapsados a la circulación sistémica y los elementos químicos "barrarán" los detritos generados durante el tiempo de "desconexión" de la circulación sistémica. La conservación de capilares es fundamental para la administración de oxígeno a las células y la captación de oxígeno por las células, pero también lo es la integridad del glucocáliz. Un glucocáliz dañado impedirá la difusión de oxígeno desde el vaso hacia las células y también dará lugar a un engrosamiento del intersticio, lo que puede colapsar los capilares o, al menos, hacer difícil que las células sanguíneas pasen a través de ellos. De esta manera, la administración de oxígeno a las células depende de una microcirculación correcta y de esta manera, a su vez, requiere un glucocáliz sano. La solución de la presente invención afecta a ambos aspectos clave; es la sinergia de ambas características lo que explica los buenos resultados obtenidos en las pruebas experimentales que los presentes inventores citan a continuación.

La sangre es el fluido usado de forma convencional para tratar aquellos pacientes que han experimentado una pérdida masiva de sangre, pero presenta muchos riesgos y no siempre es eficaz. La solución de la invención permite restaurar la microcirculación gracias a la presencia de nitratos o nitritos, que pueden convertirse en óxido nítrico (NO) tras su infusión en la circulación sistémica como resultado de la ruta nitrato-nitrito-óxido nítrico como se explica en múltiples artículos de divulgación científica, tales como el documento de Sruti Shiva "Nitrite: A physiological store of nitric oxide and modulator of mitochondrial function" publicado en Redox Biology 1 (2013) 40-44 o el artículo de Eddie Weitzberg y col.. Titulado "Nitrate-Nitrite-Nitric Oxide Pathway. Implications for Anesthesiology and Intensive Care" publicado en Anesthesiology 2010; 113:1460-75. La generación de óxido nítrico en un contexto de trastorno de vasos (capilares) pequeños da lugar a la restauración de los capilares colapsados, preservando de esta manera la perfusión y la densidad capilar y, por lo tanto, la oxigenación de los tejidos.

Por lo tanto, la solución de la presente invención tiene potencial de generar óxido nítrico, restaurar la microcirculación sin deterioro en la macrocirculación o cualquier otro efecto tóxico.

Un segundo aspecto de la invención se refiere a la solución de la invención para su uso como un fármaco.

Un tercer aspecto de la invención se refiere a la solución de la invención para su uso como un vasodilatador.

La solución descrita en la presente invención es preferentemente útil en casos de choque hemorrágico o hemodilución normovolémica aguda.

Por lo tanto otro aspecto de la presente invención es la solución de la invención para su uso en el tratamiento de choque hemorrágico o en la hemodilución normovolémica aguda.

Otro aspecto de la invención es la solución de la invención para su uso como reposición de fluido intravenoso.

La solución de la invención también puede ser útil en la prevención de la lesión provocada por un episodio de isquemia con reperfusión posterior (lesión por isquemia-reperfusión). La referencia en la presente invención a un episodio de isquemia con reperfusión posterior se refiere a, por ejemplo, trasplante de órganos, cirugía cardíaca cambiando de una circulación extracorpórea a circulación fisiológica, revascularización (restauración del flujo sanguíneo) de cualquier tejido después de un episodio isquémico (infarto, ictus, etc.) eliminando la DETENCIÓN en la circulación (angioplastia, trombectomía, fibrinólisis, etc.) o choque hemorrágico, en el que los vasos pequeños colapsados se reperfunden después del tratamiento adecuado.

Cuando un tejido ha experimentado una carencia de suministro de oxígeno (hipoxia-isquemia) debido a la falta de perfusión, tal como el corazón durante la circulación extracorpórea, se generan ROS en exceso. Una vez que los tejidos hipóxicos se reperfunden, las ROS se liberarán provocando daño a las células, la microcirculación y el glucocáliz (capa interna del endotelio) como se ha citado antes. Este es uno de los procedimientos subyacentes del fenómeno denominado "lesión por isquemia-reperfusión".

Por lo tanto sería útil infundir la solución de la invención durante la reperfusión del tejido que ha experimentado isquemia para atenuar la lesión por isquemia-reperfusión.

Por lo tanto, un aspecto final de la invención es la solución de la invención para su uso en la prevención de lesión por isquemia-reperfusión.

5 **Descripción de una forma de realización preferente**

En una **forma de** realización preferente del primer aspecto de la invención, la solución comprende además  $Mg^{2+}$  en un intervalo comprendido entre 1 y 20 mmol/l. En una segunda **forma de** realización preferente del primer aspecto de la invención, la solución comprende además  $Mg^{2+}$  en un intervalo comprendido entre 5 y 20 mmol/l.

10 En una tercera **forma de** realización preferente del primer aspecto de la invención, la solución comprende iones  $Ca^{2+}$  en un intervalo comprendido entre 1 y 20 mmol/l. En una cuarta **forma de** realización preferente del primer aspecto de la invención, la solución comprende además iones  $Ca^{2+}$  en un intervalo comprendido entre 1 y 10 mmol/l.

En una quinta **forma de** realización preferente del primer aspecto de la invención los iones nitrato o iones nitrito o mezclas de los mismos están comprendidos en un intervalo entre 0,0001 mmol/l y 1 mmol/l, preferentemente entre 0,0001 mmol/l y 0,06 mmol/l, más preferentemente entre 0,001 mmol/l y 0,06 mmol/l.

15 Más preferentemente el primer aspecto de la invención, la solución comprende además  $HCO_3^-$  en un intervalo comprendido entre 0,1 mmol/l y 2 mmol/l.

Más preferentemente el primer aspecto de la invención, la solución comprende además  $SO_4^{2-}$  en un intervalo comprendido entre 4 mmol/l y 8 mmol/l.

20 El pH de la solución está preferentemente entre 5 y 10, más preferentemente entre 6 y 9. En una **forma de** realización particular, el pH de la solución a 22 °C es de 6,9. En una **forma de** realización particular, la solución de la invención tiene un coeficiente de solubilidad de 0,006 mg de  $O_2/mmHg\ pO_2/dl$  a 36 °C.

En una **forma de** realización más preferente, la solución acuosa de la invención tiene elementos químicos seleccionados de: Li, Be, B, Al, Si, P, Sc, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Mo, Pd, Ag, Sn, Sb, I, Cs, Ba, Ce, Au, Tl, Pb, Bi, Th y U, adicionalmente de forma preferente Ho.

25 En una **forma de** realización preferente, la solución acuosa de la invención tiene al menos un elemento químico seleccionado de: Li, Be, B, Al, Si, P, Sc, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Mo, Pd, Ag, Sn, Sb, I, Cs, Ba, Ce, Au, Tl, Pb, Bi, Th y U.

30 En una **forma de** realización preferente, la solución acuosa de la invención tiene los elementos químicos siguientes: Li, Be, B, Al, Si, P, Sc, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Mo, Pd, Ag, Sn, Sb, I, Cs, Ba, Ce, Au, Tl, Pb, Bi, Th y U.

35 En una **forma de** realización particular, la solución acuosa tiene el siguiente elemento químico en las siguientes concentraciones:  $11,128 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Li,  $0,0177 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Be,  $144,73 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de B,  $0,82 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Al,  $84,11 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Si,  $0,39 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de P,  $8,0088 \cdot 10^{-6}$  mmol/l de Sc, 0,03866 mmol/l de V,  $8,46 \cdot 10^{-6}$  mmol/l de Cr,  $0,37 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Mn,  $0,31 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Fe,  $0,009 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Co,  $0,02 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Ni,  $0,969 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Cu,  $0,7576 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Zn,  $0,0072 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de As,  $348,699 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Br,  $0,459 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Rb,  $29,63 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Sr,  $0,00247 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Y,  $0,0003288 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Zr,  $0,0503 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Mo,  $0,09 \cdot 10^{-6}$  mmol/l de Pd,  $0,00129 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Ag,  $0,00193 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Sn,  $0,000082 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Sb,  $0,58 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de I,  $0,0012 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Cs,  $0,1054 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Ba,  $0,00014 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Ce,  $0,0040 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Au,  $0,00102 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Tl,  $0,022 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Pb,  $0,01119 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Bi,  $0,01267 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Th,  $0,0047 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de U, 170 mmol/l de Na, 17,17 mmol/l de Mg, 4,5 mmol/l de S, 4,6 mmol/l de K, 3,99 mmol/l de Ca y  $0,000060 \cdot 10^{-3}$  mmol/l de Ho.

Preferentemente los elementos químicos son: Li, Fe, Cu, Al, Mn, Zn, Sr, Sn, Pb, Br, S y P. Más preferentemente los elementos químicos son: Li, Fe, Cu, Al, Mn, Zn, Sr, Sn y Pb.

**Ejemplos**

45 En los ejemplos se usaron la solución de la invención, Plasmalyte y sangre completa (menos de 20 días de almacenaje). Las composiciones de las soluciones usadas se muestran a continuación.

La Tabla 1 muestra la composición de la solución de la invención usada en las pruebas.

	mmol/l
Na <sup>+</sup>	128,51
K <sup>+</sup>	2,7

(continuación)

	mmol/l
Mg <sup>2+</sup>	12,32
Ca <sup>2+</sup>	3,082
Cl <sup>-</sup>	164
SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	6,47
HCO <sup>3-</sup>	0,836
NO <sup>3-</sup>	<0,0484

5 También la composición contiene elementos químicos tales como: 11,128·10<sup>-3</sup> mmol/l de Li, 0,0177·10<sup>-3</sup> mmol/l de Be, 144,73·10<sup>-3</sup> mmol/l de B, 0,82·10<sup>-3</sup> mmol/l de Al, 84,11·10<sup>-3</sup> mmol/l de Si, 0,39·10<sup>-3</sup> mmol/l de P, 8,0088·10<sup>-6</sup> mmol/l de Sc, 0,03866 mmol/l de V, 8,46·10<sup>-6</sup> mmol/l de Cr, 0,37·10<sup>-3</sup> mmol/l de Mn, 0,31·10<sup>-3</sup> mmol/l de Fe, 0,009·10<sup>-3</sup> mmol/l de Co, 0,02·10<sup>-3</sup> mmol/l de Ni, 0,969·10<sup>-3</sup> mmol/l de Cu, 0,7576·10<sup>-3</sup> mmol/l de Zn, 0,0072·10<sup>-3</sup> mmol/l de As, 348,699·10<sup>-3</sup> mmol/l de Br, 0,459·10<sup>-3</sup> mmol/l de Rb, 29,63·10<sup>-3</sup> mmol/l de Sr, 0,00247·10<sup>-3</sup> mmol/l de Y, 0,0003288·10<sup>-3</sup> mmol/l de Zr, 0,0503·10<sup>-3</sup> mmol/l de Mo, 0,09·10<sup>-6</sup> mmol/l de Pd, 0,00129·10<sup>-3</sup> mmol/l de Ag, 0,00193·10<sup>-3</sup> mmol/l de Sn, 0,000082·10<sup>-3</sup> mmol/l de Sb, 0,58·10<sup>-3</sup> mmol/l de I, 0,0012·10<sup>-3</sup> mmol/l de Cs, 0,1054·10<sup>-3</sup> mmol/l de Ba, 0,00014·10<sup>-3</sup> mmol/l de Ce, 0,0040·10<sup>-3</sup> mmol/l de Au, 0,00102·10<sup>-3</sup> mmol/l de Tl, 0,022·10<sup>-3</sup> mmol/l de Pb, 0,01119·10<sup>-3</sup> mmol/l de Bi, 0,01267·10<sup>-3</sup> mmol/l de Th, 0,0047·10<sup>-3</sup> mmol/l de U.

10 La Tabla 2 muestra la composición de la solución de Plasmalyte usada en los ejemplos (datos extraídos de Lira y col. Ann Intensive Care, 2014).

	mmol/l
Na <sup>+</sup>	140
K <sup>+</sup>	5
Mg <sup>2+</sup>	1,5
Cl <sup>-</sup>	98
Acetato	27
Gluconato	23
Osmolalidad	294

15 Los ejemplos se realizaron con cerdos. Todos los animales son del mismo cruce genético, todas hembras y en un intervalo de peso concreto. El protocolo consiste en drenar entre el 40-60 % del volumen sanguíneo estimado según cálculos (el volumen sanguíneo es como promedio el 7 % del peso) para lograr un nivel de ácido láctico superior a 5 mmol/l, que se correlaciona con una deuda de oxígeno tisular de 75,2 ml/kg o más alto de acuerdo con Rixen y col. en su artículo "A pig hemorrhagic choque model: oxygen debt and metabolic acidemia as indicators of severity". Dado que la volemia circulante de cada animal va desde 55 ml/kg a 74 ml/kg y el volumen drenado no es tan determinante como la rapidez en que se extrae y la tolerancia del animal a la hipoxia, el objeto establecido fue lograr el grado de deuda de oxígeno tisular anteriormente indicado. Después se reemplazó el volumen de sangre extraído con la solución de la invención (se infundió tres veces el volumen de sangre extraído (relación 3:1), y se midió el lavado de ácido láctico en los minutos posteriores a la reposición (T0 = justo después de la reposición, T15 = 15 minutos después de la reposición, T30 = 30 minutos después de la reposición, T1h = una hora después de la reposición, T2h = dos horas después de la reposición) y se analizó la microcirculación intestinal con un microscan prestando especial atención a la proporción de vasos pequeños perfundidos expresada en porcentaje (small PPV: proportion of perfused small vessels, en castellano proporción de capilares perfundidos, expresado como un %). Los animales se observaron durante 72 h después del choque hemorrágico en un corral que tenía acceso libre a agua y comida.

30 Durante el choque se observó una caída de la PPV y se observó una PPV del 100 % en todas las áreas medidas 60 minutos después de la reposición, demostrando la capacidad de la solución de la invención para abrir aquellos capilares colapsados durante el choque hemorrágico y hacerlo de forma homogénea.

Este análisis cuantitativo de la microcirculación se acompañó también de un lavado eficiente de ácido láctico, que es la expresión clínica de lo que se observó en la microcirculación.

Los niveles de láctico de hasta 10 descendieron hasta 4 mmol/l en dos horas y poco tiempo después el nivel de ácido láctico está en el intervalo de normalidad. Después de 24 h, 48 h y 72 h el animal está en pie, comiendo, teniendo movimientos intestinales y con buena diuresis, con buena oxigenación y ventilación, con niveles de ácido láctico de menos de o iguales a los niveles basales en todas las mediciones e iones en intervalo.

- 5 Se añadió un grupo control negativo con uno de los cristaloides que se usa habitualmente en la práctica, Plasmalyte®, una solución isotónica equilibrada. El nivel de ácido láctico en el animal se lleva a un nivel más alto que 5 mmol/l, como se establece en el protocolo, y después se realizó la infusión de Plasmalyte (relación 3:1). El ácido láctico se mantuvo elevado durante las 2 h de observación y después de 3 h aún seguía en 6 mmol/l.

Este resultado muestra una clara diferencia con respecto a la solución de la presente invención.

- 10 A nivel de la microcirculación, había áreas con un 17 % de PPV, lo que explica por qué los niveles de láctico no descendían como se observó con la solución de la presente invención. Después de 24h, el animal estaba en pie, con poco apetito y marcada debilidad. Se observaron un estridor inspiratorio, con dificultad respiratoria y tiraje abdominal. En la auscultación había una marcada hipofonesis bilateral. En la gasometría arterial la saturación de oxígeno por la hemoglobina era del 89 % y la pO<sub>2</sub> de 60 mmHg con un flujo de oxígeno de 5 litros. Todo ello pareció
- 15 indicar que el animal estaba sufriendo un edema agudo de pulmón. Tras sacrificar el animal, se extrajeron muestras de distintos órganos; a nivel intestinal se objetivó edema de asa no siendo así en el grupo de la solución de la presente invención y en el grupo de sangre completa. La superioridad de la solución de la presente invención con respecto al Plasmalyte® es obvia. Después de 24 h, el ácido láctico se mantuvo por encima del nivel del ácido láctico basal siendo un claro indicador de que la microcirculación no se restauró.

- 20 Se comparó la solución de la presente invención con la transfusión de sangre completa (menos de 20 días almacenada a 5 °C) aplicando una relación 1:1 para la reanimación, que sería el tratamiento ideal en casos de choque hemorrágico. Los resultados fueron similares en cuanto al análisis de la microcirculación y el lavado de ácido láctico. Durante el choque hemorrágico la PPV cayó y tras la reanimación con sangre se alcanzó una PPV del 100 % aunque este no fue el caso en todas las zonas medidas, en algunas persistía una PPV del 50 % después de una
- 25 hora, aunque esto era normal a las 2 h. El nivel de ácido láctico excedió los 5 mmol/l y también regresó a la normalidad en poco más de dos horas. El animal tenía buen aspecto a las 24 h, la oxigenación y ventilación eran adecuadas, el animal estaba comiendo, teniendo movimientos intestinales, orinando y tuvo una buena dinámica respiratoria.

- 30 Llama la atención el hecho de que el nuevo cristaloides no es inferior con respecto a la sangre completa en lo referente a la microcirculación. Los resultados no han sido meramente casos aislados, sino que se han repetido sucesivamente en todos y cada uno de los animales incluidos en la prueba.

La Tabla 3 muestra los resultados en un animal tratado con la solución de la invención. El animal pesaba 32 kg y tenía un volumen de sangre estimado de 2.200 ml. Se le extrajo el 40 % del volumen de sangre, excediendo el umbral de ácido láctico de 5 mmol/l.

	Basal	Extracción del 25 %	Extracción del 40 %	Choque	T0	T15	T30 FIO <sub>2</sub> 0,6	T1h FIO <sub>2</sub> 0,8	T1h FIO <sub>2</sub> 1
TAM	72	52	34	33	59	55	50	55	50
FC/ritmo	83 RS	172 RS	194	220	147	142	150	140	150
SpO <sub>2</sub>	100	100	100	No capta	100	100	100	100	100
EtCO <sub>2</sub>	33	30	26	24	35	35	33	32	30
FIO <sub>2</sub> /PEEP	0,4/5	0,4/5	0,4/5	0,4/5	0,4/5	0,4/5	0,6/5	0,8/5	1/5
pH	7,49	7,37	7,28	7,179	7,23	7,29	7,35	7,34	7,38
EB	3	3,1	-1,2	-11,4	-8,7	-7,9	-5,5	-3,7	-4,8
HCO <sub>3</sub>	26,3	26,2	21,6	16,4	18,4	19	17	21,5	20,6
pCO <sub>2</sub> ANV	33,4/39,8		/54	23,8/	40,6/47,9	38/46,9	35,4/43,9	36/42,7	34,1/43,7
pO <sub>2</sub>	191			206	215	360	368	520	550
Na/K	137/4	135/4,7	131/5,6	129/5,5	134/4	133/4,3	133/4,4	136/4,4	133/5,1
Ca <sup>2+</sup> /Cl	1,36	1,39/99	1,38/95	1,31/100	1,63/112	1,60/112	1,54/112	1,55/113	1,50/111
Hb/Hto	9,5	11,9	12,4	12,2	5,7	5,8	5,3	4,4	5,8
Lac	2,5	2,9	5,7	6,6	4,1	3,5	3,1	2,4	1,5
SatvcO <sub>2</sub> OER	79,5	64,5	12,2	12 %	67,7	66,6 %	74,8 %	80,6 %	53,6 %
PVC	5	3	4	4	7	5	6	6	6
MetHb	1,6 %	1,7 %	3,4 %	1,3 %	2,4 %	2,9	2,5 %		1 %
Cl	9,1	3,5	3,5	3	8	8,7	6,5	7,6	4,5
VVS %	11 %	18 %	26 %	24 %	27 %	24 %	26 %	24	24 %
RVSI	554	1262	727	784	473	442	553	456	704
VSI	108	20	18	19	55	55	43	53	30

(continuación)

	Basal	Extracción del 25 %	Extracción del 40 %	Choque	T0	T15	T30 FIO <sub>2</sub> 0,6	T1h FIO <sub>2</sub> 0,8	T1h FIO <sub>2</sub> 1
T	35,4	35,4	35,2	35,1	35	35	35	34,7	34,5
PPV intestino (%)	100	100	100	70	100	100	100	100	100
rSO <sub>2</sub> cerebro/músculo esquelético	56/54	56/50	54/47	51/38	59/55	59/56	59/56	61/58	60/56
Diuresis									300cc

TAM: tensión arterial media  
 FC: frecuencia cardiaca  
 SpO<sub>2</sub>: saturación periférica de oxígeno  
 EtCO<sub>2</sub>: tidal espiratorio de CO<sub>2</sub>  
 FIO<sub>2</sub>: fracción inspirada de oxígeno  
 PEEP: presión al final de la espiración  
 EB: exceso de bases  
 Hb: hemoglobina  
 Hto: hematocrito  
 SatvcO<sub>2</sub>: saturación venosa central de oxígeno  
 PVC: presión venosa central  
 Methb: methemoglobina  
 Ci: índice cardiaco  
 VVS %: variación del volumen sistólico expresado en %  
 RVSí: resistencia venosa sistémica indexada  
 Vsi: volumen sistólico indexado  
 PPV: proporción de capilares perfundidos expresado en %  
 rSO<sub>2</sub>: saturación regional tisular de oxígeno. El primer número hace referencia a la cerebral y el 2º a la muscular  
 Diuresis: cantidad de orina expulsada por el animal al finalizar el procedimiento  
 RS: ritmo sinusal

5 Se midió el coeficiente de solubilidad del oxígeno en la solución de la invención a 36 °C y dicho coeficiente es de 0,006 mg O<sub>2</sub>/mm Hg/dl. Al compararlo con el coeficiente de solubilidad del oxígeno en Plasmalyte®, que es de 0,0041 mg O<sub>2</sub>/mm Hg/dl y con el coeficiente de solubilidad del oxígeno en el plasma sanguíneo (no diluido) que es de 0,0031 mg O<sub>2</sub>/mm Hg/dl todos medidos a 36 °C, se verificó que el coeficiente de solubilidad de la solución de la invención es superior a los otros. Esto es ventajoso ya que demuestra la capacidad más alta de esta nueva solución de disolver oxígeno. El oxígeno disuelto en el plasma sanguíneo es el oxígeno no unido a la hemoglobina y es muy importante en casos de anemia crítica (Hb menos de 3-4 g/dl).

La Tabla 4 muestra los resultados en un animal tratado con Plasmalyte®. El animal pesaba 21 kg, con un volumen de sangre drenada estimado del 55 %, excediendo el umbral de ácido láctico de 5 mmol/l estipulado en el protocolo.

	Basal	Extracción del 25 %	Extracción del 55 %	Choque	T0	T15	T30 FIO <sub>2</sub> 0,6	T1h FIO <sub>2</sub> 0,8	T1h FIO <sub>2</sub> 1
TAM	62	32	33	34	51	43	46	47	48
FC/ritmo	98 RS	179 RS	202 rs	200 rs	172 rs	184	192	202	197
SpO <sub>2</sub>	100	100	No	No	100	100	100	100	100
EtCO <sub>2</sub>	34	31	26	23	46	40	39	39	40
FIO <sub>2</sub> /PEEP	0,4/5	0,4/5	0,4/5	0,4/5	0,4/5	0,4/5	0,6/5	0,8/5	1/5
pH	7,56	7,56	7,499	7,46	7,6	7,35	7,33	7,36	7,39
EB	8,7	6,3	-0,8	-4,7	0,7	-0,1	-0,4	-0,1	1,9
HCO <sub>3</sub>	31,8	29,8	24	21,1	26,2	24,4	24,2	23,4	25,9
pCO <sub>2</sub> AN	33,9/43,5	31,1/45,6	28,8/46,3	26,6/54,2	22,4/57,2	45/54	47,8/54,2	43,6/55,2	43,7/54,5
pO <sub>2</sub>	204	199	174	149	150	161	237	328	462
Na/K	138/4,1	137/5,1	135/6,9	135/7,6	140/4	140/3,4	141/3,9	140/3,7	139/4,1
Ca <sup>2+</sup> /Cl	1,34/100	1,38/101	1,33/102	1,33/102	0,84/99	1,14/99	1,16/99	1,19/100	1,28/99
Hb/Hto	9,5/29	10,8/33,1	12,4	12,7/38,8	4,9/14,9	8,8/27	8,5/26,1	8,3/25,4	8,5/26,2
Lac	1	1,7	5	7,3	5,9	6,7	7,6	7,4	5,8
SatvCO <sub>2</sub> OER	54,6	45,2	15,4	13	63,7	51,7	52,9	58,7	60,7
PVC	5	5	4	7	6	6	5	4	6
Methb	1,9 %	1,6	-0,9	0,9	-0,4	1,1 %	0,5		3,3
Cl	10,2	2			15,2	8,4	9,2	7,9	3,7
VVS %	18	26	32		25	31	26	31	30
RVS <sub>i</sub>	449	1225			171	370	369	438	387
VSi	101	11	29		81	43	47	41	30

(continuación)

	Basal	Extracción del 25 %	Extracción del 55 %	Choque	T0	T15	T30 FIO <sub>2</sub> 0,6	T1h FIO <sub>2</sub> 0,8	T1h FIO <sub>2</sub> 1
T	35,2	35,6	35,9		35,5	35,6	35,8	35,9	36,2
PPV intestino (%)	100	100	95	95	62	87	100	72	97
rSO <sub>2</sub> cerebro/músculo esquelético	50/61	48/57	47/42	48/39	53/54	55/61	54/62	56/58	46/53
Diuresis									300cc

La Tabla 5 muestra los resultados en un animal tratado con sangre completa, con el 60 % del volumen sanguíneo drenado, excediendo el umbral del ácido láctico de 5 mmol/l.

	Basal	Extracción del 25 %	Extracción del 60 %	T0	T15	T30 FiO <sub>2</sub> 0,6	T1h FiO <sub>2</sub> 0,8	T2h FiO <sub>2</sub> 1
TAM	75	50	35	62	60	80	73	84
FC/ritmo	100 RS	163	Mayor 200	156	176	169	119	87
SpO <sub>2</sub>	100	100	No capta	100	100	100	100	100
EtCO <sub>2</sub>	31	32	33	43	41	39	35	34
FiO <sub>2</sub> /PEEP	0,4/5	0,4/5	0,4/5	0,4/5	0,4/5	0,6/5	0,8/5	1/5
pH	7,48	7,515	7,46	7,329	7,4	7,41	7,49	7,53
EB	6,1	4,8	-3	-1,4	1,4	3,4	6,6	10,5
HCO <sub>3</sub>	29,5	28,3	22,4	23,2	25,6	26,7	29,9	33,9
pCO <sub>2</sub> A/V	38,8/45,4	34,3/44,3	28,5/47,8	46,6/56,7	41,4/63	43,5/49,7	38,7/47	38,8/43,7
pO <sub>2</sub>	233	217	150	197	194	280	331	317
Na/K	138/4,6	135/4,9	131/6	136/4,7	137/4,7	137/4,5	137/4,4	136/4,6
Ca <sup>2+</sup> /Cl	1,39/100	1,36/99	1,26/100	0,89/94	2,31/99	1,27/96	1,32/97	1,40/95
Hb/Hto	9,8/30	9,1/28	13/39,8	11,2	10,5	10,1	10,1	10,1
Lac	3,3	4,2	6,4	6,7	6,3	4,9	3,1	1,7
SatvcO <sub>2</sub> OER	71,7 %	49,5	33,7	77,3		89,5 %	88,2 %	79,2
PVC	7	4	3	4	6	7	6	7
MetHb	2 %	1,4 %	0,7 %	1,1 %	0,9 %	0,8 %	0,3 %	1,3 %
Cl	7,3	3,8	3,7	13,3	16,2	11	10,7	8
VVS %	8 %	14 %	17 %	10 %	5 %	8 %	9 %	10 %
RVSi	896	1029	1106	371	325	376	454	659
VSi	73	21	19	82	119	68	88	85
T	36	35,6		36	35,8	35,6	35,8	35,6
PPV intestino (%)	100	100	92	67	79	95	100	100
rSO <sub>2</sub> cerebro/músculo esquelético	70/60	80/54	66/44	60/64	65/67	65/69	64/70	58/64
Diuresis								90cc

5 Los datos muestran que la solución de la invención tiene mejores resultados que la solución de Plasmalyte. Esto es evidente en cuanto a la gestión metabólica y hemodinámica, así como a la gestión del estado clínico de los animales en los experimentos. En comparación con la sangre fresca, claramente no es inferior, posicionándolo en una situación muy ventajosa. Debe señalarse que la sangre usada para los experimentos es sangre completa de menos de 20 días de almacenamiento. La sangre que se transfunde a los pacientes se almacena habitualmente durante hasta 42 días. Esta sangre almacenada se denomina "sangre vieja" y su estado bioquímico y estructural difiere en gran medida de aquel de la sangre fresca. Esto puede tener impacto clínico puesto que la sangre almacenada "vieja" sufre una serie de cambios bioquímicos (descenso del ATP, descenso del 2,3 DPG) y cambios morfológicos (la transformación de eritrocitos en equinocitos que no son adaptables a la microcirculación). La sangre almacenada tiene una capacidad de transporte de oxígeno limitada y lejos de restaurar la perfusión, frecuentemente la empeora.

15 Una carta de lactatos como una comparación de resultado a 24 h, 48 h y 72 h muestra resultados elocuentes. Cuando se comparan los lactatos del resultado con los lactatos basales, puede verse que los animales tratados con la solución de la presente invención tuvieron un lactato que era inferior o el mismo que el lactato basal. Esto no fue el caso en el grupo de Plasmalyte y el de Sangre completa. En el grupo de Plasmalyte muchos lactatos en 24 h/48 h/72 h fueron superiores al Lactato basal y en el grupo de Sangre algunos de los lactatos fueron superiores al lactato

basal. El lactato es el mejor marcador que se tiene actualmente para probar la microcirculación ya que es un marcador de recuperación tisular (recuperación de la deuda de oxígeno) y está fuertemente relacionado con las tasas de supervivencia después del choque hemorrágico.

La Tabla 6 muestra la comparación de lactatos a 24 h, 48 h y 72 h

	Lac basal	Lac 2 h después de la reanimación	Lac 24 h	Lac 48 h	Lac 72 h
Ox2	3	4,4	1	0,7	3
Ox4	2,5	1,5	1,9	1,2	1,7
Ox6 muerto	2,3	4,3			
Ox7	2,7	1,4	1,7	2,1	1
Ox8	1,5	1,8	0,6	0,9	0,8
Ox10	1,5	1,9	1,2	1,5	1,6
S1 muerto	2	2,4			
S2	3,3	1,7	1,3	1,5	4,9
S3	2,3	2	1	2,3	0,3
S4	1,4	5,1	1,4	1,3	1
S5	3,8	2	1,9	8,5	3,5
S6	1,8	1,9	0,8	1,5	3,4
P1	0,8	1,3	2,5	1,3	1,5
P2	1	5,8	1,9	0,8	0,6
P4	1,6	1,4	2,8	4,4	1,1
P5	1,1	2,3	2,3	1,9	1,3
P6	2,7	2,5	2,3	3,6	3,1
P7	2,2	1,5	0,7	4,2	1,5
Ox significa la solución de la presente invención. S significa grupo de Sangre Completa P significa grupo de Plasmalyte Los animales se numeran Lac se refiere a niveles de Lactato expresados en mmol/l					

- 5 Debe señalarse que en el grupo de animales tratados con la solución de la presente invención, se observó un consumo de bases (bicarbonato) más alto cuando se compara con los grupos de sangre completa y Plasmalyte. Esto podría estar relacionado con el reclutamiento de capilares que colapsaron durante el choque hemorrágico y la liberación en la circulación sistémica (macrocirculación) de metabolitos ácidos que resulta de la hipoxia tisular. El consumo de bases más alto en el grupo de animales tratados con la solución de la presente invención está correlacionado con valores lácticos óptimos a 24/48/72 horas, por lo tanto, la solución de la presente invención mejora la gestión metabólica en pacientes que se desangran ya que la microcirculación está "limpia" de metabolitos ácidos. Todo esto, de nuevo, mejoraría las tasas de supervivencia en el choque hemorrágico.

- 15 Después de administrar una dosis de cloruro potásico letal bajo sedación a cada animal, se realizó un análisis histológico comparativo de los tres grupos. Se analizaron el atrio, el ventrículo, la aorta, la vena cava, el pulmón, el hígado, el bazo, el intestino, el ganglio linfático mesentérico y el riñón. En el grupo de animales tratados con la presente invención, no se observaron signos de toxicidad o ningún depósito de elemento químico en ninguno de los tejidos analizados.

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Solución acuosa cristaloides isotónica, que comprende iones  $\text{Na}^+$  en un intervalo comprendido entre 50 y 200 mmol/l, iones  $\text{K}^+$  en un intervalo comprendido entre 1 y 10 mmol/l, iones  $\text{Cl}^-$  en un intervalo comprendido entre 50 y 200 mmol/l, **caracterizada porque** tiene iones nitrato o iones nitrito o mezclas de los mismos en un intervalo comprendido entre 0,0001 mmol/l y 1 mmol/l y al menos un elemento químico seleccionado de: Li, Be, B, Al, Si, P, Sc, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Mo, Pd, Ag, Sn, Sb, I, Cs, Ba, Ce, Au, Tl, Pb, Bi, Th y U.
2. Solución acuosa cristaloides isotónica de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende iones  $\text{Mg}^{2+}$  en un intervalo comprendido entre 1 y 20 mmol/l.
- 10 3. Solución acuosa cristaloides isotónica de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende iones  $\text{Mg}^{2+}$  en un intervalo comprendido entre 5 y 20 mmol/l.
4. Solución acuosa cristaloides de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende iones  $\text{Ca}^{2+}$  en un intervalo comprendido entre 1 y 20 mmol/l.
5. Solución acuosa cristaloides de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende iones  $\text{Ca}^{2+}$  en un intervalo comprendido entre 1 y 10 mmol/l.
- 15 6. Solución acuosa cristaloides de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el intervalo de iones nitrato o iones nitrito o mezclas de los mismos está comprendido entre 0,0001 mmol/l y 0,06 mmol/l.
7. Solución acuosa cristaloides de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 que comprende los siguientes elementos: Li, Be, B, Al, Si, P, Sc, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Mo, Pd, Ag, Sn, Sb, I, Cs, Ba, Ce, Au, Tl, Pb, Bi, Th y U.
- 20 8. Solución de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso como un medicamento.
9. Solución de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso como un vasodilatador.
10. Solución de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en el tratamiento de choque hemorrágico o en hemodilución normovolémica aguda.
- 25 11. Solución de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso como reposición de fluido intravenoso.
12. Solución de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en la prevención de lesión por isquemia-reperfusión.