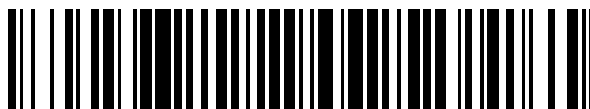


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 753 814**

51 Int. Cl.:

A61K 31/455 (2006.01)

A61K 31/198 (2006.01)

A61P 13/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.10.2013 PCT/IB2013/059821**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.05.2014 WO14068516**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.10.2013 E 13850286 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2019 EP 2914262**

54 Título: **Un procedimiento de tratamiento de urolitiasis y trastornos urológicos relacionados**

30 Prioridad:

02.11.2012 IN MM31992012

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

14.04.2020

73 Titular/es:

**INDUS BIOTECH PRIVATE LIMITED (100.0%)
1 Rahul Residency Plot No. 6 & 7, Off Salunke
Vihar Road, Kondhwa
Pune 411 048 Maharashtra, IN**

72 Inventor/es:

**BHASKARAN, SUNIL y
VISHWARAMAN, MOHAN**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 753 814 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

Un procedimiento de tratamiento de urolitiasis y trastornos urológicos relacionados

5 **Campo técnico**

La presente divulgación se refiere al tratamiento de urolitiasis y trastornos urológicos relacionados. En particular, la presente divulgación se refiere al tratamiento de urolitiasis y trastornos urológicos relacionados tales como hiperoxaluria, hipocitraturia, hiperuricosuria, trastornos renales, nefrolitiasis, ureterolitiasis, cistolitiasis, obstrucción de excreción de orina, aclaramiento de creatinina y recurrencia de la formación de cálculos, etc., mediante administración de una composición farmacéutica que consiste en trigonelina y 4-hidroxiisoleucina, de manera opcional, junto con otros excipientes.

15 **Antecedentes y técnica anterior de la divulgación:**

La urolitiasis es un procedimiento de formación de cálculos en cualquier parte del tracto urinario, a saber, en el riñón, la vejiga y/o los uréteres. Los cálculos en el riñón se incluyen entre los trastornos más comunes y dolorosos del tracto urinario. El término nefrolitiasis (o "cálculo renal") se refiere a cálculos que se localizan en el riñón. Los cálculos en el riñón afectan hasta aproximadamente el 5% de la población, con un riesgo de eliminar un cálculo en el riñón en la vida de aproximadamente el 8-10%.

La urolitiasis tiene lugar con la nucleación, agregación y retención de sales en la orina, en la que las sales se unen a matrices coloides en el riñón y el tracto urinario. En este proceso, se forman agregados de pequeños cristales de sales urinarias, que se denominan cálculos en el riñón o cálculos renales. Los cálculos en el riñón o los cálculos renales pueden clasificarse de acuerdo con el tipo específico de cristales que contienen como oxalato de calcio, fosfato de calcio, estruvita, ácido úrico y cisteína. Algunos de los factores que originan cálculos renales incluyen supersaturación de orina con sales formadoras de cálculos tales como oxalato de calcio, fosfato de calcio, ácido úrico, factores nutricionales y ambientales como deshidratación, exceso de proteína animal en la dieta, disminución del pH de orina, aumento en el nivel de cristaloideos y/o caída en el nivel de coloides, cambio en la proporción de magnesio/calcio en la orina, infección del tracto urinario, estasis urinaria, disminución de la excreción urinaria de citrato, deficiencia de vitaminas, hiperparatiroidismo e inmovilización prolongada. Estas anomalías metabólicas se describen mediante diferentes terminologías tales como hipercalcemia, hipocitraturia, hiperoxaluria, hiperuricosuria, etc. Cuando la orina se supersatura con iones de sal formadores de cálculos tales como calcio oxalato, estos se unen espontáneamente para formar cristales sólidos. Los pequeños cristales se unen formando grandes agregados que quedan retenidos en el riñón y continúan creciendo. Si los cálculos han crecido a un tamaño crítico, tal como 5-10 mm de diámetro, luego el pasaje de cálculos a través de los riñones a los uréteres puede obstruirse y provocar dolor e inflamación.

El efecto fisiológico de la urolitiasis depende del tamaño y la posición del cálculo. La presencia de cálculos puede producir obstrucción en el riñón que conduce a infección, metaplasia e isquemia parenquimatosa. En caso de cálculos renales de uno de los riñones, también se puede inducir hipertrofia compensadora debido al esfuerzo excesivo del otro riñón sano.

La complicación más común consiste en la recurrencia de cálculos en el riñón. Las personas que han eliminado un cálculo en el riñón tienen una probabilidad del 60-80% de tener otro en algún momento de su vida. La prevención de la recurrencia resulta en gran medida específica del tipo de cálculo (por ejemplo, cálculos de oxalato de calcio, fosfato de calcio, cistina, estruvita [fosfato amónico magnésico] y ácido úrico). Sin embargo, incluso cuando el cálculo no se puede recuperar, el pH de orina y la evaluación de orina de 24 horas en cuanto a diversos parámetros proporcionan información sobre los factores formadores de cálculos que pueden guiar la prevención de la recurrencia.

El tratamiento para la urolitiasis se decide en base a la ecografía de los riñones y el tracto urinario y analizando el tamaño y la ubicación de los cálculos. Los cálculos de pequeño tamaño se prueban para el tratamiento con una gran cantidad de tomas de agua para expulsar los cálculos del sistema urinario. Esto generalmente es compatible con la prescripción de diuréticos tales como tiazidas, citrato de potasio, etc., para aumentar la micción y los analgésicos para aliviar las molestias asociadas con la eliminación del cálculo. En EE. UU., aproximadamente el 80% de los cálculos renales se encuentran en este segmento. El 20% restante que se diagnostica con cálculos más grandes se tratan mediante litotricia extracorporel por ondas de choque (ESWL), nefrolitotomía percutánea o uteroscopia. Debido a la dificultad para expulsar cálculos de mayor tamaño, la ESWL se usa para descomponerlo de manera tal que pueda expulsarse en la orina. Sin embargo, la ESWL se asocia con efectos secundarios como dolor moderado, sangre en la orina, hematomas en la espalda o el abdomen por las ondas sonoras, sangrado alrededor del riñón y órganos adyacentes, etc. Además, la ESWL no tiene mucho éxito en el retiro de cálculos grandes que se retiran posteriormente mediante cirugía.

Países del Medio Oriente, África del Norte, las Regiones Mediterráneas, Estado Noroccidental de India, Estado del sur de EE. UU., y áreas alrededor de los grandes lagos han sido catalogados como áreas de alto riesgo y

denominados regiones del "cinturón de piedra" del mundo, donde un gran número de pacientes sufren cálculos renales. En estos países, el diagnóstico y la prevención de los cálculos renales no se toman en serio. Debido al miedo a los procedimientos quirúrgicos y a los efectos secundarios de la litotricia, muchos pacientes se niegan a someterse a estos procedimientos. En su lugar, intentan sobrevivir usando analgésicos en exceso.

Los procedimientos quirúrgicos, aunque efectivos en el tratamiento, implican un alto coste y conducen a otros efectos secundarios de infección del tracto urinario. Debido a las limitaciones que se asocian con procedimientos clínicos para retirar cálculos renales, existe una creciente necesidad en cuanto a medicamentos que pueden ayudar en el retiro completo de cálculos renales. Por lo tanto, es necesario desarrollar medicamentos que reducirán el coste del tratamiento del trastorno y proporcionarán salud al paciente mediante la prevención agresiva de la formación de cálculos. La divulgación inmediata tiene como objetivo abordar estas preocupaciones de la técnica anterior.

Bhaskaran et al (US2008/0221173A1) divulga una composición farmacéutica que tiene actividad dopaminérgica y otras actividades farmacéuticas relacionadas que comprende trigonelina o sus derivados y 4-hidroxiisoleucina o sus derivados, de manera opcional junto con excipientes y un proceso de preparación de la composición. Divulga además un procedimiento de tratamiento de los efectos secundarios causados por los antagonistas de los receptores de dopamina. Sin embargo, este documento no sugiere ni enseña el uso de dicha composición en el tratamiento de la urolitiasis y trastornos urológicos relacionados tales como hiperoxaluria, hipocitraturia, hiperuricosuria, trastornos renales, ureterolitiasis y obstrucción en la excreción de orina, aclaramiento de creatinina y recurrencia de formación de cálculos.

Laroubi *et al.* divulga el uso de *Trigonella foenum graecum* (Tfg) en ratas con nefrolitiasis como un agente preventivo contra el desarrollo de cálculos en el riñón, y el efecto inhibitor del extracto acuoso de semillas de Tfg se examina en la formación de cálculos renales de oxalato de calcio que se induce por etilenglicol (EG) con cloruro de amonio.

Declaración de la divulgación:

De acuerdo con esto, la presente divulgación se refiere a una composición que consiste en trigonelina y 4-hidroxiisoleucina, de manera opcional junto con un excipiente farmacéutico, para su uso en el tratamiento de urolitiasis o una enfermedad urológica relacionada que se selecciona a partir de hiperoxaluria, hipocitraturia, hiperuricosuria, acumulación de cristales de calcio en el túbulo renal, aclaramiento de creatinina baja, pH de orina bajo, recurrencia de cálculos y otros trastornos renales o cualquier combinación de estos.

Breve descripción de las figuras adjuntas:

Con el fin de que la divulgación pueda entenderse fácilmente y llevarse a la práctica, ahora se hará referencia a realizaciones de ejemplo según se ilustran con referencia a las figuras adjuntas. La figura junto con una descripción detallada a continuación, se incorporan y forman parte de la memoria, y sirven para ilustrar las realizaciones de manera adicional y explicar diversos principios y ventajas, de acuerdo con la presente divulgación, en la que:

La **Figura 1** muestra la sección del riñón de ratas normales que muestra estructura celular normal (H y E x 200, a saber, riñón que se tiñe de manera progresiva con hematoxilina y eosina Y con aumento de 200x), (H y E x 400, a saber, riñón que se tiñe de manera progresiva con hematoxilina y eosina Y con ampliación de 400x).

La **Figura 2** muestra la sección del riñón de ratas que se tratan con EG + AC (etilenglicol + cloruro de amonio), que muestra cristales de oxalato de calcio dentro de los túbulos, dilatación del túbulo proximal junto con inflamación intersticial (H y E x 400).

La **Figura 3** muestra la sección del riñón de ratas que se tratan con EG (0,75%) + AC (1%) durante aproximadamente 3 días y solo etilenglicol (0,75%) hasta aproximadamente el día 28 y que se tratan con la composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg que comprende 35% de trigonelina y 18% de aminoácido 4-hidroxiisoleucina) a partir del día 15 en adelante, que muestra inflamación intersticial leve de los linfocitos y un cambio turbio leve en las células epiteliales tubulares con pocos cristales.

Descripción detallada de la divulgación

La presente divulgación se refiere a una composición que consiste en trigonelina y 4-hidroxiisoleucina, de manera opcional, junto con un excipiente farmacéutico, para su uso en el tratamiento de urolitiasis o una enfermedad urológica relacionada que se selecciona a partir de hiperoxaluria, hipocitraturia, hiperuricosuria, acumulación de cristales de calcio en el túbulo renal, tasa de aclaramiento de creatinina baja, pH de orina bajo, recurrencia de cálculos y otros trastornos renales o cualquier combinación de estos.

En una realización de la presente divulgación, la urolitiasis se selecciona a partir de un grupo que comprende nefrolitiasis, ureterolitiasis y cistolitiasis o cualquier combinación de estos.

En otra realización de la presente divulgación, el trastorno urológico relacionado se selecciona a partir de un grupo que comprende hiperoxaluria, hipocitraturia, hiperuricosuria, acumulación de cristales de calcio en el túbulo renal, tasa de aclaramiento de creatinina baja, BUN alto, nivel de creatinina sérica y de ácido úrico sérico, pH de orina bajo, recurrencia de cálculos y otros trastornos renales o cualquier combinación de estos.

En incluso otra realización de la presente divulgación, la trigonelina se encuentra a una concentración que varía del 30% p/p al 90% p/p; la 4-hidroxiisoleucina se encuentra a una concentración que varía del 10% p/p al 30% p/p y el excipiente farmacéutico se encuentra a una concentración que varía del 0,5% p/p al 30% p/p.

En otra realización más de la presente divulgación, el excipiente farmacéutico se selecciona a partir del grupo que comprende gomas, agentes de granulación, aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes, agentes edulcorantes, aditivos, disolventes, deslizantes, antiadherentes, agentes antiestáticos, tensioactivos, antioxidantes, potenciadores de la viscosidad, agentes colorantes de material celulósico vegetal, agentes aromatizantes, agentes de recubrimiento, plastificantes, conservantes, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, agentes antiestáticos y agentes de esferonización o cualquier combinación de estos.

En otra realización más de la presente divulgación, la composición se formula en formas de dosis que se seleccionan a partir del grupo que comprende formulación oral sólida, formulación oral líquida, formulación parenteral, fitocéutico, nutracéutico y alimentos o cualquier combinación de estos.

En otra realización más de la presente divulgación, la composición se administra a dosis que varían de 1 mg/kg a 100 mg/kg, preferiblemente que varían de 1 mg/kg a 25 mg/kg de peso corporal de dicho sujeto por día.

La trigonelina se presenta en muchas fuentes naturales como granos de café, fenogreco, guisantes, semillas de soja, etc. Se conoce ampliamente por su acción hipoglucemiante y tiene actividades hipolipídicas, neuroprotectoras antimigraña, sedantes, mejoradoras de la memoria, antibacterianas, antivirales y antitumorales. Se ha demostrado que reduce la neuropatía auditiva diabética y la agregación plaquetaria. La 4-hidroxiisoleucina se investiga ampliamente también por sus propiedades insulínótropas y antidiabéticas. Ambos compuestos se encuentran disponibles comercialmente como estándares de referencia.

En una realización de la presente divulgación, la urolitiasis y los trastornos urológicos relacionados incluyen hiperoxaluria, hipocitraturia, hiperuricosuria, trastornos renales y recurrencia de formación de cálculos, etc.

En otra realización de la presente divulgación, la trigonelina se obtiene de una fuente vegetal o animal. La trigonelina se obtiene de *Trigonella foenum-graecum* y *Coffea arabica*.

En incluso otra realización más de la presente divulgación, la 4-hidroxiisoleucina se obtiene de fuente vegetal, preferiblemente *Trigonella foenum-graecum*.

En otra realización más de la presente divulgación, los excipientes se seleccionan a partir del grupo que comprende agentes de granulación, agentes aglutinantes, agentes lubricantes, agentes disgregantes, agentes edulcorantes, deslizantes, antiadherentes, agentes antiestáticos, tensioactivos, antioxidantes, gomas, agentes de recubrimiento, agentes colorantes, agentes aromatizantes, plastificantes, conservantes, agentes de suspensión, agentes emulsionantes y agentes de esferonización.

En otra realización más de la presente divulgación, la composición se formula en formas de dosis que se seleccionan a partir del grupo de formulaciones orales sólidas, formulaciones orales líquidas, formulaciones parenterales, fitocéuticos, nutracéuticos y alimentos o cualquier combinación de estos. Dependiendo de la vía de administración, se usan diferentes excipientes/vehículos. En otra realización más de la presente divulgación, la formulación oral sólida se selecciona a partir del grupo que comprende comprimido, cápsula, tableta, pastilla, polvo dispersable, gránulo dispersable o cualquier combinación de estos.

En otra realización más de la presente divulgación, la formulación oral líquida se selecciona a partir del grupo que comprende suspensión acuosa u oleosa, emulsión, gotas, emulsión en cápsula de gel dura o blanda, jarabe, elixir o cualquier combinación de estos.

En otra realización más de la presente divulgación, la formulación parenteral se selecciona a partir del grupo que comprende inyección intravenosa, inyección intramuscular, depósito intramuscular, inyección subcutánea, inyección percutánea o cualquier combinación de estos.

En otra realización más de la presente divulgación, el tratamiento de urolitiasis y trastornos urológicos relacionados incluye reducir el coste del tratamiento de la condición de enfermedad, brindando salud al paciente mediante la prevención de la formación de cálculos, el retiro completo de cálculos para evitar procedimientos quirúrgicos y la provisión de alivio al paciente de los síntomas de cálculos en el riñón: cólico renal, hematuria, etc. y efectos secundarios tales como infección del tracto urinario, enfermedad renal crónica, insuficiencia renal y recurrencias de formación de cálculos.

En otra realización más de la presente divulgación, el término "composición inmediata" incluye una composición farmacéutica que consiste en trigonelina a una concentración del 30% al 90% y 4-hidroxiisoleucina a una concentración del 10% al 30%, de manera opcional junto con excipientes.

En otra realización más de la presente divulgación, el término "tratar" o "tratamiento" incluye la prevención, el tratamiento, la cura de una condición de enfermedad o trastorno o efectos adversos o efectos secundarios. El término abarca también el mantenimiento del estado óptimo y la prevención del progreso adicional de la condición de enfermedad o trastorno o efectos adversos o efectos secundarios. Por lo tanto, el término indica prevenir la condición de enfermedad, curar la condición de enfermedad y prevenir la recurrencia de la condición de enfermedad.

En otra realización más de la presente divulgación, la hiperoxaluria es exceso de oxalato en la orina. El oxalato constituye el compuesto formador de cálculos más común. El exceso de oxalato en la orina es responsable de hasta el 60% de los cálculos de calcio y resulta una causa más común de cálculos que el exceso de calcio en la orina. La hiperoxaluria puede ser primaria o secundaria. La excreción de oxalato ocurre principalmente por los riñones mediante filtración glomerular y secreción tubular. Como el oxalato puede unirse al calcio en el riñón, el aumento de la excreción urinaria de oxalato (hiperoxaluria) conduce a sobresaturación de CaOx urinario, lo que da como resultado la formación y la supuesta retención de cristales de CaOx en el tejido renal.

En otra realización más de la presente divulgación, la hipocitraturia consiste en niveles bajos de citrato en la orina. El citrato constituye la sustancia principal en el cuerpo que se encarga de retirar el exceso de calcio. También bloquea el procedimiento que convierte los cristales de calcio en cálculos. Se la reconoce como un importante inhibidor natural de la formación de cálculos renales que contienen calcio, el citrato puede reducir la saturación de calcio en la orina formando un complejo soluble con calcio e inhibiendo el crecimiento de cristales de fosfato de calcio y oxalato de calcio. La hipocitraturia aumenta el riesgo de cálculos de calcio, cálculos de ácido úrico. Lo más probable es que esta afección contribuya a aproximadamente un tercio de todos los cálculos en el riñón. La hipocitraturia es predominantemente de origen dietético. La hipocitraturia contribuye a la formación de cálculos de calcio al mejorar la saturación urinaria de calcio a través de la formación reducida del complejo citrato-calcio y promoviendo la nucleación espontánea y el crecimiento de cristales a través de la actividad inhibidora reducida.

En otra realización más de la presente divulgación, la hiperuricosuria consiste en exceso de ácido úrico en la orina. Desempeña un papel en la generación de cálculos en algunos formadores de cálculos de oxalato de calcio. La hiperuricosuria promueve la formación de cristales de urato de potasio y de sodio, los cuales pueden servir como un nido heterogéneo para la nucleación de otros cristales tales como oxalato de calcio.

En otra realización más de la presente divulgación, la composición inmediata se formula en una formulación de dosis adecuada para tratar la urolitiasis y trastornos urológicos relacionados, usando una dosis que varía de 1 mg/kg a 100 mg/kg de peso corporal del sujeto por día, preferiblemente que varía de 1 mg/kg a 25 mg/kg de peso corporal del sujeto por día, o una dosis de 300 mg dos veces al día o cualquier intervalo de dosis adecuado al que una persona experta en la técnica sepa llegar.

La divulgación inmediata tiene como objetivo reducir el coste del tratamiento de la enfermedad y los trastornos relacionados proporcionando salud para el paciente mediante la prevención agresiva de la formación de cálculos, el retiro completo de cálculos para evitar procedimientos quirúrgicos y la provisión de alivio de los síntomas de cálculos en el riñón: cólico renal, hematuria, etc. y efectos secundarios como infección del tracto urinario, enfermedad renal crónica, insuficiencia renal y recurrencias de formación de cálculos. La divulgación inmediata se elabora de manera adicional con la ayuda de los siguientes ejemplos.

Ejemplos (no necesariamente parte de la invención)

Ejemplo 1: Formulación de la composición inmediata

La composición inmediata puede obtenerse y formularse posteriormente mediante diversas técnicas disponibles en la técnica. Dos de tales técnicas se han proporcionado a continuación.

Ejemplo 1.1:

Aproximadamente 1000 gramos de semillas de fenogreco que tienen un contenido de humedad inferior a aproximadamente 5% se desmenuzan en una trituradora de rodillos hasta alcanzar un espesor de aproximadamente 2 mm. El material desmenuzado se cierra en una columna que tiene una altura de lecho de aproximadamente 300 mm. Aproximadamente 5 litros de hexano se pasan a través de la capa de fenogreco y el eluyente que se recolecta del fondo se recicla a través de la capa de fenogreco durante un período de aproximadamente 10 horas a aproximadamente 35 °C. Después de aproximadamente 10 horas, la capa de fenogreco se drena libre de hexano. Se hace pasar una mezcla de disolvente (aproximadamente 8 litros) que comprende alcohol etílico y agua en una proporción de aproximadamente 3,5:1 a través de la capa durante un período de aproximadamente 8 horas a aproximadamente 35 °C reciclando el eluyente. Después de aproximadamente 8 horas, el lecho de fenogreco se

drena libre de extractos y todos los extractos que se recolectaron se concentran para formar una masa semisólida al vacío a aproximadamente 50 °C.

La masa concentrada se redisuelve en aproximadamente 5 litros de agua desionizada para obtener una solución transparente. La solución acuosa transparente se pasa a través de una columna que contiene aproximadamente 400 ml de resina de intercambio catiónico de ácido fuerte de tipo gel durante aproximadamente 2 horas. La detección por TLC de la ausencia de trigonelina se verifica en el eluyente de la columna usando un sistema que consiste en n-butanol:ácido acético:agua en la proporción de aproximadamente 12:8:4 como la fase móvil en placa precubierta de gel de sílice F254 (1.05554.007) y se observa bajo UV 254 nm. Después de la saturación de la columna, el lecho de resina se lava libre de colores y de impurezas de adhesión usando aproximadamente 4 litros de agua desionizada. La columna se desorbe con 800 ml de amoníaco acuoso de aproximadamente 5N de fuerza a una velocidad de aproximadamente 400 ml por hora. La mezcla eluida se concentra al vacío a aproximadamente 45 °C hasta formar una masa semisólida.

La masa seca se redisuelve en aproximadamente 150 ml de agua desionizada y se filtra libre de impurezas insolubles. La solución se concentra al vacío a aproximadamente 50 °C hasta formar un contenido sólido de aproximadamente 20% y se seca por atomización en un secador por atomización indirecto de aire caliente en cocorriente en las siguientes condiciones.

Temperatura de entrada: aproximadamente 160 °C

Temperatura de salida: aproximadamente 80 °C

RPM del atomizador: aproximadamente 12000

El rendimiento es de aproximadamente 10 gms. La HPLC mostró aproximadamente 35% de trigonelina y aproximadamente 18% de aminoácido 4-hidroxiisoleucina.

Ejemplo 1.2:

Aproximadamente 1000 gramos de semillas verdes de *Coffea Arabica* que tienen un contenido de humedad inferior a aproximadamente 15% se desmenuzan en una trituradora de rodillos hasta alcanzar un espesor de aproximadamente 2 mm. El material desmenuzado se cierra en una columna que tiene una altura de lecho de aproximadamente 500 mm. Se pasa la mezcla de disolvente (aproximadamente 8 litros) que comprende agua y alcohol etílico en la proporción de aproximadamente 9:1 a través de la capa durante un período de aproximadamente 8 horas a aproximadamente 35 °C mediante reciclado del eluyente. Después de aproximadamente 8 horas, el lecho de *Coffea arabica* se vacía libre de extractos y todos los extractos que se recolectaron se concentran para formar una masa semisólida al vacío a aproximadamente 50 °C.

La masa concentrada se redisuelve en aproximadamente 5 litros de agua desionizada para obtener una solución transparente. La solución acuosa transparente se pasa a través de una columna que contiene aproximadamente 400 ml de resina de intercambio catiónico de ácido fuerte de tipo gel durante aproximadamente 2 horas. La detección por TLC de la ausencia de trigonelina se verifica en el eluyente de la columna usando un sistema que consiste en n-butanol:ácido acético:agua en la proporción de aproximadamente 12:8:4 como la fase móvil en placa precubierta de gel de sílice F254 (1.05554.007) y se observa bajo UV 254 nm. Después de la saturación de la columna, el lecho de resina se lava libre de colores y de impurezas de adhesión usando aproximadamente 4 litros de agua desionizada. La columna se desorbe usando 800 ml de amoníaco acuoso de aproximadamente 5N de fuerza a una velocidad de aproximadamente 400 ml por hora. La mezcla eluida se concentra al vacío a aproximadamente 45 °C hasta formar una masa semisólida.

La masa seca se redisuelve en aproximadamente 150 ml de agua desionizada y se filtra libre de impurezas insolubles. La solución se concentra al vacío a aproximadamente 50 °C hasta formar un contenido sólido de aproximadamente 20% y se seca por atomización en un secador por atomización indirecto de aire caliente en cocorriente en las siguientes condiciones.

Temperatura de entrada: aproximadamente 160 °C

Temperatura de salida: aproximadamente 80 °C

RPM del atomizador: aproximadamente 12000

El rendimiento es de aproximadamente 5 gramos. La HPLC mostró aproximadamente 60% de trigonelina y aminoácidos restantes.

El material anterior se redisuelve en aproximadamente 200 ml de alcohol etílico, se filtra a través de 41 papeles de filtro Whatmann y se enfría a aproximadamente 0 °C. Se pasa una corriente seca de cloruro de hidrógeno gaseoso a

través de esta para precipitar el hidrocloreto de trigonelina. El precipitado se filtra en papel de filtro y se lava con alcohol etílico frío y se seca al vacío a aproximadamente 60 °C.

5 Ejemplo 2: Actividad de la composición inmediata en urolitiasis que se induce por etilenglicol en ratas

La urolitiasis se induce en ratas Wistar machos que pesan aproximadamente 150-250 g mediante administración de etilenglicol (EG) y cloruro de amonio (0,75% v/v de EG + 1% p/v de AC) por vía oral en agua durante aproximadamente 3 días y solo etilenglicol (0,75% v/v de EG) hasta aproximadamente el día 28. El modelo de urolitiasis que se induce por EG se encuentra bien validado y resulta clínicamente relevante. El EG metaboliza en monohidrato de CaOx (COM) y produce toxicidad mitocondrial renal similar a los cálculos renales clínicos de CaOx (McMartin y Wallace, 2005). En el presente estudio, la actividad terapéutica de la composición inmediata se evalúa en cálculos renales que se inducen por EG + AC en ratas macho. El AC se administra a ratas junto con EG para acelerar la litiasis.

Los animales se dividen en cuatro grupos que contienen aproximadamente seis animales en cada grupo. Todos los animales se tratan según grupos respectivos:

Grupo 1: Control normal: solución salina (10 ml/kg).

Grupo 2: Control de enfermedades: 0,75% v/v de etilenglicol (EG) + t 1% p/v de cloruro de amonio (CA) durante aproximadamente 3 días y solo etilenglicol (0,75% v/v) hasta aproximadamente el día 28.

Grupo 3: Composición inmediata: aproximadamente 30 mg/kg de composición inmediata (a saber, la composición según se indica en el Ejemplo 1.1 que comprende 35% de trigonelina & 18% de aminoácido 4-hidroxiisoleucina) + (0,75% v/v de EG + 1% p/v de AC) durante aproximadamente 3 días y solo etilenglicol (0,75% v/v) hasta aproximadamente el día 28.

Grupo 4: Composición inmediata: aproximadamente 60 mg/kg de composición inmediata (a saber, 35% de trigonelina & 18% de aminoácido 4-hidroxiisoleucina) + (0,75% v/v de EG t + 1% p/v de AC) durante aproximadamente 3 días y solo etilenglicol (0,75% v/v) hasta aproximadamente el día 28.

El tratamiento con la composición inmediata (aproximadamente 30 mg/kg y aproximadamente 60 mg/kg) se inicia aproximadamente el día 15 y continúa hasta aproximadamente el día 28. Se llevan a cabo análisis para controlar la función renal. Las muestras en un período de aproximadamente 24 horas (24 h) se recolectan los días 0, 14, 21 y 28 respectivamente. El suero se recolecta después de aproximadamente el día 28. Los animales se sacrifican después del día 28. Los riñones se retiran para estudio histológico.

Ejemplo 2.1:

La hiperoxaluria se define como la excreción urinaria de oxalato en exceso. Es un marcador diagnóstico significativo para urolitiasis de oxalatos de calcio debido a que el aumento de oxalato urinario promueve la cristalización del oxalato de calcio y la formación de cálculos.

El oxalato en la orina se estima mediante el siguiente procedimiento.

1. Aproximadamente 1 ml de orina se acidifica usando HNO₃ concentrado para solubilizar los cristales y luego se ajusta a un pH de aproximadamente 7 (color verde) por NaOH en presencia de azul de bromotimol.

2. El oxalato en las muestras se precipita agregando aproximadamente 2 ml de CaSO₄ saturado y aproximadamente 14 ml de etanol puro durante aproximadamente 18 h.

3. Las muestras se centrifugan a aproximadamente 2500 rpm durante aproximadamente 10 minutos y el precipitado de oxalato de calcio que se obtiene se separa y lava con solución de amoníaco diluida.

4. El precipitado que se obtiene se solubiliza en aproximadamente 10 ml de agua acidificada por aproximadamente 2 ml de H₂SO₄ concentrado.

5. Las muestras se titulan con una solución de aproximadamente KMnO₄ 0,01 N a una temperatura que varía de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 70 °C y se calcula el oxalato.

Cálculo: 1,0 ml de KMnO₄ 0,01 N = 0,45 mg de ácido oxálico anhidro

El efecto de la composición inmediata en el nivel de oxalato en orina de 24 h durante un período de aproximadamente 28 días se estudia según se indica en el Ejemplo 2 anterior. Los resultados que se obtienen se tabulan en la Tabla 1 en la que n = 6; los datos se representan como media ± SEM. (n = 6), los datos se analizan mediante ANOVA bidireccional por separado continuando con Bonferroni Posttest para cada parámetro. ns- no

significativo, ###p <0,001 en comparación con el grupo normal, **p <0,01, ***p <0,001 en comparación con grupo (EG + AC) en días respectivos.

5

Tabla 1: Efecto de composición inmediata en nivel de oxalato en orina de 24 h

Tratamiento de oxalato en orina de 24 h (mg/ml)				
	Control normal	Control de la enfermedad	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 30 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15
Referencia a saber día 0	0,54 ± 0,02	0,53 ± 0,04	0,63 ± 0,07	0,61 ± 0,03
Día - 14	0,47 ± 0,05	4,1 ± 0,29###	3,72 ± 0,14	3,76 ± 0,11
Día - 21	0,52 ± 0,02	4,8 ± 0,25###	4,12 ± 0,26***	3,08 ± 0,09***
Día - 28	0,53 ± 0,06	5,96 ± 0,29###	4,27 ± 0,24***	2,41 ± 0,17***

Según se muestra en la Tabla 1, existe un aumento significativo en el nivel de oxalato en orina de 24 h en el grupo de control de la enfermedad cuando se compara con el grupo de control normal en el día 14. La composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) revirtió significativamente el aumento de oxalato en orina en comparación con el grupo de control de la enfermedad en el día 21 y en adelante según se observa en la Tabla 1. De este modo, al prevenir el aumento de oxalato en orina, la composición inmediata ayuda a prevenir la supersaturación de oxalato de calcio urinario que finalmente reduce las obstrucciones de excreción de orina. Este aspecto contribuye al tratamiento de urolitiasis y otros trastornos urológicos relacionados.

10

15 Ejemplo 2.2

La hipocitraturia, una baja cantidad de citrato en la orina, constituye un factor importante para la formación de cálculos en el riñón. Además desempeña un papel en la solubilidad del ácido úrico y en la formación de cálculos de ácido úrico. La cantidad de citrato en la muestra de orina se estima de la siguiente manera:

20

1. En aproximadamente 25 ml de tubo con tapón de cristal, que se marca como "B", se agregan aproximadamente 2 ml de agua y aproximadamente 2 ml de TCA al aproximadamente 10%.

25

2. En un tubo de centrifuga, se toman los siguientes: aproximadamente 1 ml de muestra de orina, aproximadamente 3 ml de agua y aproximadamente 4 ml de TCA al 10%. Los contenidos se mezclan y centrifugan si resulta necesario. Aproximadamente 4 ml (aproximadamente 0,5 ml de orina) de sobrenadante se transfieren a un tubo con tapón de cristal de aproximadamente 25 ml que se marca como "T".

30

3. En un tubo con tapón de cristal de aproximadamente 25 ml, que se marca como "S", se agregan aproximadamente 1 ml de solución estándar de trabajo, aproximadamente 1 ml de agua y aproximadamente 2 ml de TCA al aproximadamente 10%.

35

4. A todos los tubos, se agrega aproximadamente 1 ml de H₂SO₄ aproximadamente 9 N continuando con aproximadamente 0,25 ml de ácido metafosfórico al aproximadamente 40%, mezclando después de cada agregado.

40

5. Los tubos se mantienen en agua helada que se toma en un vaso de precipitación, a una temperatura inferior a aproximadamente 10 °C.

6. Después de aproximadamente 5 minutos, a cada tubo, se agregan aproximadamente 0,5 ml de KBr aproximadamente 2 M y aproximadamente 1,5 ml de KMnO₄ al aproximadamente 6,5 %, se mezclan y se dejan en el baño de agua helada durante aproximadamente 10 min. Esta constituye la reacción principal donde el ácido cítrico se oxida a pentabromoacetona (PBA).

45

7. El KMnO₄ se decolora luego en cada tubo con un agregado gota a gota de H₂O₂ al aproximadamente 6%.

8. Se retiran los tubos y se añaden aproximadamente 5 ml de éter de petróleo a cada tubo.

9. Los tubos se tapan y se agitan manualmente durante aproximadamente 2 minutos para extraer el PBA en el éter de petróleo. Se permite que las capas se separen.

10. Aproximadamente 4 ml de la capa de éter de petróleo se transfieren rápidamente a unos tubos de centrifuga con tapón de cristal de aproximadamente 15 ml.

11. Se agrega solución de tiourea-bórax (aproximadamente 6 ml) a cada tubo, se tapa y el contenido se agita durante aproximadamente 2 min.

12. Se desarrolla un color amarillo dorado en la capa acuosa en los tubos de ensayo y estándares. El blanco es claro.

13. Los tubos se centrifugan durante aproximadamente 5 min.

14. El éter de petróleo superior de cada tubo se aspira.

15. La absorbancia de las capas acuosas de color se lee en un espectrofotómetro a aproximadamente 445 nm.

Cálculo:

$\mu\text{g de ácido cítrico en 0,5 ml de orina} = (\text{absorbancia de ensayo}) / (\text{absorbancia de estándar}) \times 100$

El efecto de la composición inmediata en el nivel de citrato en orina de 24 h durante un período de aproximadamente 28 días se estudia según se indica en el Ejemplo 2 anterior. Los resultados que se obtienen se tabulan en la Tabla 2 en la que $n = 6$; los datos se representan como media $\pm$ SEM. ($n = 6$), los datos se analizan mediante ANOVA bidireccional por separado continuando con Bonferroni Posttest para cada parámetro. ns- no significativo, ### $p < 0,001$ en comparación con el grupo normal, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ en comparación con grupo (EG + AC) en días respectivos.

Tabla 2: Efecto de composición inmediata en nivel de citrato en orina de 24 h

Tratamiento	Tratamiento de citrato en orina de 24 h (mg/ml)			
	Control normal	Control de la enfermedad	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 30 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15
Referencia	12,27 $\pm$ 0,41	12,78 $\pm$ 0,16	13,37 $\pm$ 0,27	12,76 $\pm$ 0,65
Día - 14	12,48 $\pm$ 0,31	9,46 $\pm$ 0,26###	8,67 $\pm$ 0,51	9,33 $\pm$ 0,15
Día - 21	12,44 $\pm$ 0,07	8,33 $\pm$ 0,33###	9,49 $\pm$ 0,70	10,12 $\pm$ 0,32**
Día - 28	12,92 $\pm$ 0,46	7,68 $\pm$ 0,31###	8,88 $\pm$ 0,70	10,20 $\pm$ 0,08***

Según se muestra en la Tabla 2, existe una disminución significativa en el nivel de citrato en orina de 24 h en el grupo de control de la enfermedad cuando se compara con el grupo de control normal en el día 14. La composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) revirtió significativamente la disminución de citrato en orina en comparación con el grupo de control de la enfermedad en el día 21 y en adelante según se observa en la Tabla 2. De este modo, al prevenir la disminución de citrato en orina, la composición inmediata disminuye el riesgo de la formación de cálculos de ácido úrico, calcio. Este aspecto contribuye al tratamiento de urolitiasis y otros trastornos urológicos relacionados.

Ejemplo 2.3:

La acumulación de cristales de calcio en túbulos renales origina la obstrucción de excreción de orina. El efecto de la composición inmediata en excreción de orina de 24 h durante un período de aproximadamente 28 días se estudia según se indica en el Ejemplo 2 anterior. Los resultados que se obtienen se tabulan en la Tabla 3 en la que $n = 6$; los

datos se representan como media $\pm$ SEM. (n = 6), los datos se analizan mediante ANOVA bidireccional por separado continuando con Bonferroni Posttest para cada parámetro. ns- no significativo, ###p <0,001 en comparación con el grupo normal, **p <0,01, ***p <0,001 en comparación con grupo (EG + AC) en días respectivos.

5

Tabla 3: Efecto de composición inmediata en excreción de orina de 24 h

Tratamiento	Excreción de orina de 24 h (ml/día)			
	Control normal	Control de la enfermedad	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 30 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15
Referencia	12,27 $\pm$ 0,41	12,78 $\pm$ 0,16	13,37 $\pm$ 0,27	12,76 $\pm$ 0,65
Día 14	12,48 $\pm$ 0,31	9,46 $\pm$ 0,26###	8,67 $\pm$ 0,51	9,33 $\pm$ 0,15
Día 21	12,44 $\pm$ 0,07	t 8,33 $\pm$ 0,33###	9,49 $\pm$ 0,70	10,12 $\pm$ 0,32**
Día 28	12,92 $\pm$ 0,46	7,68 $\pm$ 0,31###	8,88 $\pm$ 0,70	10,20 $\pm$ 0,08***

Según se muestra en la Tabla 3, existe una disminución significativa de la excreción de orina de 24 h en el grupo de control de la enfermedad cuando se compara con el grupo de control normal en el día 14. La composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) revirtió significativamente la disminución de excreción de orina en comparación con el grupo de control de la enfermedad en el día 21 y en adelante según se observa en la Tabla 3. La composición inmediata muestra el retiro de obstrucciones de excreción de orina y la prevención de saturación adicional de sales urinarias tales como oxalato, citrato, etc. Este aspecto contribuye al tratamiento de urolitiasis y otros trastornos relacionados.

10

15

Ejemplo 2.4:

La tasa de aclaramiento de creatinina (CCr o CrCl) consiste en el volumen de plasma sanguíneo que se depura de creatinina por unidad de tiempo y resulta una medida útil para aproximarse a la tasa de filtración glomerular (GFR). El aclaramiento de creatinina supera la GFR debido a la secreción de creatinina. La tasa de aclaramiento de creatinina se calcula mediante la siguiente fórmula:

20

$$\text{CrCl} = (\text{uCr} \times \text{uV}) / (\text{sCr} \times 1440)$$

25 Anotación

dónde: CrCl es aclaramiento de creatinina en ml/min,

uCr es creatinina en orina en mg/dl,

30

sCr es creatinina sérica en mg/dl,

uV es el volumen de orina de 24 horas en ml y

35

1440 representa el número de minutos en 24 horas

El efecto de la composición inmediata en el aclaramiento de creatinina de 24 h durante un período de aproximadamente 28 días se estudia según se indica en el Ejemplo 2 anterior. Los resultados que se obtienen se tabulan en la Tabla 4 en la que n = 6; los datos se representan como media $\pm$ SEM. (n = 6), los datos se analizan mediante ANOVA bidireccional por separado continuando con Bonferroni Posttest para cada parámetro. ns- no significativo, ###p <0,001 en comparación con el grupo normal, **p <0,01, ***p <0,001 en comparación con grupo (EG + AC) en días respectivos.

40

45

Tabla 4: Efecto de composición inmediata en aclaramiento de creatinina de 24 h

Tratamiento	Día-28			
	Control normal	Control de la enfermedad	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 30 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15
Creatinina en orina	62,56 ± 0,87	29,70 ± 0,22 ^{###}	31,34 ± 1,09	39,15 ± 0,39 ^{***}
Excreción de orina de 24 h	12,92 ± 0,46	7,68 ± 0,31 ^{###}	8,88 ± 0,70	10,20 ± 0,08 ^{***}
Creatinina sérica	1,32 ± 0,15	3,32 ± 0,60 ^{###}	3,10 ± 0,08	1,93 ± 0,95 ^{***}
Aclaramiento de creatinina	0,43 ± 0,05	0,05 ± 0,01 ^{###}	0,02 ± 0,01	0,19 ± 0,10 ^{***}

Según se muestra en la Tabla 4, existe una disminución significativa en la tasa de aclaramiento de creatinina en orina de 24 h en el grupo de control de la enfermedad cuando se compara con el grupo de control normal en el día 28. La composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) revirtió significativamente la disminución en la tasa de aclaramiento de creatinina en comparación con el grupo de control de la enfermedad según se observa en la Tabla 4. La composición inmediata mejora la tasa de filtración glomerular que contribuye a la reducción de las obstrucciones de orina, el aumento de la excreción urinaria y el mantenimiento de los niveles de oxalato, citrato, ácido úrico y la prevención de la saturación adicional de sales urinarias. La tasa de filtración glomerular (GFR) describe la tasa de flujo del fluido que se filtra a través del riñón. La tasa de aclaramiento de creatinina (CCr o CrCl) constituye el volumen de plasma sanguíneo que se depura de creatinina por unidad de tiempo y resulta una medida útil para aproximarse a la GFR. El aclaramiento de creatinina excede la GFR debido a la secreción de creatinina, que puede bloquearse con cimetidina. La tasa de filtración glomerular (GFR) equivale a la tasa de aclaramiento cuando cualquier soluto se filtra libremente y no se reabsorbe ni secreta por los riñones. Por lo tanto, la tasa que se mide es la cantidad de la sustancia en la orina que se originó a partir de un volumen de sangre que puede calcularse. Este ejemplo muestra que la composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) revierte significativamente la tasa de aclaramiento de creatinina cuando se compara con el grupo control de la enfermedad. De este modo, la composición inmediata resulta finalmente capaz de mantener la GFR y de reducir las obstrucciones de la orina previniendo la saturación adicional de sales urinarias. Este aspecto contribuye al tratamiento de urolitiasis y otros trastornos urológicos relacionados.

Ejemplo 2.5:

El nitrógeno ureico en sangre (BUN) consiste en un metabolito tóxico que se acumula en la sangre en estado enfermo. Los niveles de BUN y creatinina sérica son pruebas de detección de la función renal. Ya que son manejados principalmente por filtración glomerular con poca o ninguna regulación o adaptación renal en el curso de la disminución de la función renal, reflejan esencialmente la GFR.

El procedimiento para estimar el nitrógeno ureico en sangre en suero mediante el kit Accurex Autozyme es el siguiente: Se prepara una solución de trabajo mezclando un vial de enzima en aproximadamente 50 ml de líquido de dilución. Los reactivos de trabajo son estables hasta la fecha de caducidad que se indica en la etiqueta del frasco, cuando se almacena a temperatura ambiente (<30 °C). Aproximadamente 1 ml del reactivo de trabajo se pipetea en todos los tubos. Los tubos se etiquetan y se mantienen listos para el agregado de la muestra (aproximadamente 10 µl).

1. Se extrae sangre de las ratas y se recolecta en tubos de microcentrifugación de aproximadamente 1,5 ml.

2. El suero se separa en aproximadamente 30 min por centrifugación a una velocidad de aproximadamente 7000 rpm durante aproximadamente 15 min a aproximadamente 4 °C.

3. La solución de trabajo se precalienta a aproximadamente 300 °C.

4. Se transfieren aproximadamente 10 µl de muestra de suero a los tubos que contienen aproximadamente 1 ml de reactivo de trabajo.

5. La absorbancia de la muestra y el estándar se miden con respecto al blanco a aproximadamente 340 nm.

5 6. El resultado se determina mediante el uso del siguiente cálculo: Cálculo:

$$\text{Factor} = (\text{Conc. de estándar}) / (\Delta \text{ Abs. de estándar})$$

$$\text{Conc. de nitrógeno ureico en sangre (mg/dl)} = (\Delta \text{ Abs. de muestra}) / (\Delta \text{ Abs. de estándar})$$

10 x Factor

La creatinina en suero / orina se estima mediante el procedimiento Autozyme creatinine Jaffe de la siguiente manera:

- 15 1. Se extrae sangre de animales (conejos, ratas, ratones) y las muestras de sangre se recolectan en tubos de microcentrifugación de 1,5 ml.
- 20 2. El suero se separa en aproximadamente 30 min mediante centrifugación a una velocidad de aproximadamente 7000 rpm durante aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 4 °C.
- 25 3. Aproximadamente 50 µl de muestra (suero/orina) se transfieren a tubos de reactivos de trabajo.
4. La absorbancia de la muestra (AS) o el estándar (Astd) a aproximadamente 492 nm se mide utilizando un espectrofotómetro.

El resultado se determina de la siguiente manera:

Cálculo:

$$\Delta \text{ Absorbancia (Abs.)} = \text{Abs. en 90 seg} - \text{Abs. en 30 seg}$$

$$\text{Creatinina sérica (mg/dl)} = (\Delta \text{ Abs. de muestra}) / (\Delta \text{ Abs. de estándar}) \times 2$$

$$\text{Creatinina en orina (mg/dl)} = (\Delta \text{ Abs. de muestra}) / (\Delta \text{ Abs. de estándar}) \times 2 \times \text{factor de dilución}$$

El procedimiento para estimar el ácido úrico en suero es el siguiente:

- 40 1. Se extrae sangre del animal (conejos, ratas, ratones) y las muestras de sangre se recolectan en tubos de microcentrifugación de aproximadamente 1,5 ml.
2. El suero se separa en aproximadamente 30 min por centrifugación a una velocidad de aproximadamente 7000 rpm durante aproximadamente 15 min a aproximadamente 4 °C.
- 45 3. Se transfieren aproximadamente 25 µl de muestra de suero a los tubos de reactivos de trabajo que contienen aproximadamente 1 ml de reactivo.
4. La mezcla se incuba durante aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 37 °C durante aproximadamente 10 min a temperatura ambiente.
- 50 5. Después de completar la incubación, se mide la absorbancia de la mezcla de ensayo con respecto al blanco a aproximadamente 510 nm.

El resultado se determina de la siguiente manera:

$$\text{Cálculo: Conc. de ácido úrico en suero (mg/dl)} = (\text{Abs. de muestra}) / (\text{Abs. de estándar}) \times 6$$

El efecto de la composición inmediata en el nivel de nitrógeno ureico en sangre de 24 h, creatinina sérica y ácido úrico sérico durante un período de aproximadamente 28 días se estudia según se indica en el Ejemplo 2 anterior. Los resultados que se obtienen se tabulan en la Tabla 5 en la que n = 6; los datos se representan como media ± SEM. (n = 6), los datos se analizan mediante ANOVA unidireccional por separado continuando con la prueba de Dunnett para cada parámetro. ###p <0,001 en comparación con el grupo normal, **p <0,01, ***p <0,001 en comparación con (EG + AC).

65

Tabla 5: Efecto de composición inmediata en nivel de nitrógeno ureico en sangre de 24 h, creatinina sérica y ácido úrico sérico

Tratamiento	Día-28			
	Control normal	Control de la enfermedad	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 30 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15
Nitrógeno ureico en sangre (mg %)	8,07 ± 0,42	21,88 ± 0,71 ^{###}	21,88 ± 1,14	17,51 ± 0,66 ^{***}
Creatinina sérica (mg %)	1,31 ± 0,15	3,32 ± 0,60 ^{###}	3,10 ± 0,08	1,92 ± 0,95 ^{***}
Ácido úrico sérico (mg %)	3,37 ± 0,42	8,13 ± 0,73 ^{###}	7,27 ± 0,73	6,37 ± 1,42 ^{***}

Según se muestra en la Tabla 5, existe un aumento significativo en el nivel de BUN de 24 h en el grupo de control de la enfermedad cuando se compara con el grupo de control normal en el día 28. La composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) revirtió significativamente el aumento de BUN en comparación con el grupo de control de la enfermedad en el día 28 según se observa en la Tabla 5.

Según se muestra en la Tabla 5, existe un aumento significativo en el nivel de creatinina sérica de 24 h en el grupo de control de la enfermedad cuando se compara con el grupo de control normal en el día 28. La composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) revirtió significativamente el aumento de creatinina sérica en comparación con el grupo de control de la enfermedad en el día 28 según se observa en la Tabla 5.

Según se muestra en la Tabla 5, existe un aumento significativo en el nivel de ácido úrico sérico de 24 h en el grupo de control de la enfermedad cuando se compara con el grupo de control normal en el día 28. La composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) revirtió significativamente el aumento de ácido úrico sérico en comparación con el grupo de control de la enfermedad en el día 28 según se observa en la Tabla 5. La composición inmediata muestra mejora de la función renal que conduce a la prevención de la insuficiencia renal.

Ejemplo 2.6:

La hiperuricosuria se define como la excreción urinaria de ácido úrico en exceso. Esto se asocia con la destrucción celular del tejido renal que conduce a daño renal marcado. Una mayor excreción de ácido úrico tiende a acidificar la orina, volviéndola más susceptible en cuanto a la formación de cálculos de cristal.

El procedimiento para estimar el ácido úrico en orina se estima de la siguiente manera:

1. Se recolectan muestras de orina de las jaulas metabólicas en las que se colocan los animales.
2. Se transfieren aproximadamente 25 µl de muestra de orina a los tubos de reactivo de trabajo que contienen aproximadamente 1 ml de reactivo (a saber, el Accurex Autozyme).
- 3) La mezcla se incuba durante aproximadamente 5-10 minutos a aproximadamente 37 °C a temperatura ambiente.
- 4) Después de completar la incubación, se mide la absorbancia de la mezcla de ensayo con respecto al blanco a aproximadamente 510 nm.

El resultado se determina de la siguiente manera:

$$\text{Cálculo: Conc. de ácido úrico en muestra de orina (mg/dl)} = (\text{Abs. de muestra}) / (\text{Abs. de estándar}) \times 6$$

El efecto de la composición inmediata en el nivel de ácido úrico de 24 h durante un período de aproximadamente 28 días se estudia según se indica en el Ejemplo 2 anterior. Los resultados que se obtienen se tabulan en la Tabla 6 en la que n = 6; los datos se representan como media ± SEM. (n = 6), los datos se analizan mediante ANOVA

unidireccional por separado continuando con la prueba de Dunnett para cada parámetro. ###p <0,001 en comparación con el grupo normal, **p <0,01, ***p <0,001 en comparación con (EG + AC).

5 **Tabla 6: Efecto de composición inmediata en nivel de ácido úrico en orina de 24 h**

Tratamiento	Ácido úrico en orina (mg %)			
	Control normal	Control de la enfermedad	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 30 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15
Referencia	0,92 ± 0,04	0,88 ± 0,02	0,85 ± 0,01	0,87 ± 0,01
Día 14	0,91 ± 0,01	1,35 ± 0,05###	1,57 ± 0,02***	1,55 ± 0,02***
Día 21	0,93 ± 0,03	1,68 ± 0,04###	1,51 ± 0,03**	1,28 ± 0,02***
Día 28	0,91 ± 0,02	1,87 ± 0,02###	1,53 ± 0,009***	1,12 ± 0,06***

Según se muestra en la Tabla 6, existe un aumento significativo en el nivel de ácido úrico en orina de 24 h en el grupo de control de la enfermedad cuando se compara con el grupo de control normal en el día 14. La composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) revirtió significativamente el aumento en el nivel de ácido úrico en orina en comparación con el grupo de control de la enfermedad en el día 21 y en adelante según se observa en la Tabla 6. La composición inmediata previene el aumento adicional de ácido úrico en la orina y, por lo tanto, contribuye a la reducción de las posibilidades de formación de cálculos de cristal. Esto muestra que la composición inmediata previene la acidificación de la orina y contribuye a la prevención de la recurrencia de formación de cálculos de cristal. Este aspecto contribuye al tratamiento de urolitiasis y otros trastornos urológicos relacionados.

15 Ejemplo 2.7:

La formación de cristales de oxalato causa acidificación de la orina, que se asocia con reducción significativa del pH de orina. El pH de orina bajo constituye el factor importante en la nefrolitiasis. El ácido úrico, la cistina y los cálculos de oxalato de calcio tienden a formarse en orina ácida, mientras que la estruvita (fosfato amónico magnésico) y cálculos de fosfato de calcio se forman en orina alcalina. Por lo tanto, resulta necesario controlar el pH de orina después de un ataque de cálculos en el riñón.

El efecto de la composición inmediata en el pH de orina de 24 h durante un período de aproximadamente 28 días se estudia según se indica en el Ejemplo 2 anterior. Los resultados que se obtienen se tabulan en la Tabla 7 en la que n = 6; los datos se representan como media ± SEM. (n = 6), los datos se analizan mediante ANOVA unidireccional por separado continuando con la prueba de Dunnett para cada parámetro. ###p <0,001 en comparación con el grupo normal, **p <0,01, ***p <0,001 en comparación con (EG + AC).

30 **Tabla 7: Efecto de composición inmediata en pH de orina de 24 h**

Tratamiento	pH de orina de 24 h			
	Control normal	Control de la enfermedad	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 30 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15
Referencia	7,13 ± 0,04	7,2 ± 0,02	7,16 ± 0,04	7,03 ± 0,07
Día 14	7,1 ± 0,06	6,63 ± 0,13###	6,75 ± 0,05	6,65 ± 0,07
Día 21	7,21 ± 0,06	6,2 ± 0,05###	6,75 ± 0,09***	6,98 ± 0,03***

(continuación)

Tratamiento	pH de orina de 24 h			
	Control normal	Control de la enfermedad	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 30 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15
Día 28	7,18 ± 0,07	6,28 ± 0,12 ^{###}	6,68 ± 0,12 ^{**}	7,05 ± 0,04 ^{***}

Según se muestra en la Tabla 7, existe una disminución significativa del pH de orina de 24 h en el grupo de control de la enfermedad cuando se compara con el grupo de control normal en el día 14. La composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) revirtió significativamente la disminución del pH de orina en comparación con el grupo de control de la enfermedad en el día 21 y en adelante según se observa en la Tabla 7. La composición inmediata controla la disminución del pH de orina y contribuye a la prevención de mayor recurrencia de cristales de ácido úrico, cisteína y oxalato de calcio. Este aspecto contribuye al tratamiento de urolitiasis y trastornos urológicos relacionados.

Ejemplo 2.8:

El magnesio es un inhibidor del crecimiento de cristales de fosfato de calcio y oxalato de calcio que se conoce bien. En concentraciones fisiológicas de oxalato, el magnesio disminuye ambas tasas de nucleación y crecimiento. Esto se asocia con la formación del complejo entre magnesio y oxalato que aumenta el producto de solubilidad de los cristales de oxalato de calcio. Por lo tanto, resulta necesario para mantener el nivel de magnesio en la orina.

El magnesio en la orina se estima mediante el siguiente procedimiento:

1. Aproximadamente un mililitro de orina se diluye con aproximadamente 5 ml de agua destilada.
2. Las proteínas se precipitan mediante el agregado de aproximadamente 2 ml de tungstato de sodio al aproximadamente 10% y aproximadamente 2 ml de H₂SO₄ aproximadamente 0,67 N, y la mezcla se centrifuga durante aproximadamente cinco minutos a aproximadamente 2.500 rpm.
3. A aproximadamente 5 ml del sobrenadante, se agregan aproximadamente 1 ml de agua destilada, aproximadamente 1 ml de solución de alcohol polivinílico al 0,1%, aproximadamente 1 ml de solución de titanio amarillo al aproximadamente 0,05% y aproximadamente 2 ml de solución de NaOH aproximadamente 4 N.
4. Usando aproximadamente 1 ml de solución de CaCl₂ en lugar de orina, un blanco se trata de manera similar a la prueba.
5. Para la lectura estándar, se preparan aproximadamente 2,5 ml del estándar de Mg de trabajo que contiene aproximadamente 12,5 µg de magnesio para formar aproximadamente 5 ml y se tratan como el sobrenadante libre de proteínas de prueba, reemplazando aproximadamente 1 ml de agua destilada con aproximadamente 1 ml de solución de CaCl₂.
6. La absorbancia del estándar y de la solución desconocida se leen con respecto al blanco a aproximadamente 520 nm.

El resultado se determina de la siguiente manera:

Cálculo:

$$\text{mg de magnesio en 1 ml de orina} = \frac{\text{Absorbancia de prueba}}{\text{Lectura de estándar}} \times 0,0125$$

El efecto de la composición inmediata en el nivel de magnesio de 24 h durante un período de aproximadamente 28 días se estudia según se indica en el Ejemplo 2 anterior. Los resultados que se obtienen se tabulan en la Tabla 8 en la que n = 6; los datos se representan como media ± SEM. (n = 6), los datos se analizan mediante ANOVA unidireccional por separado continuando con la prueba de Dunnett para cada parámetro. ^{###}p <0,001 en comparación con el grupo normal, ^{**}p <0,01, ^{***}p <0,001 en comparación con (EG + AC).

Tabla 8: Efecto de composición inmediata en nivel de magnesio en orina de 24 h

Tratamiento	Magnesio en orina (mg/ml)			
	Control normal	Control de la enfermedad	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 30 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15	Etilenglicol + composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) Tratamiento que se inicia en el día 15
Referencia	0,022 ± 0,0009	0,023 ± 0,0004	0,021 ± 0,0003	0,02 ± 0,0002
Día - 14	0,023 ± 0,001	0,006 ± 0,0004 ^{###}	0,0060 ± 0,0004	0,006 ± 0,0009
Día - 21	0,023 ± 0,0004	0,0004 ± 0,0001 ^{###}	0,005 ± 0,0003	0,007 ± 0,0002
Día - 28	0,023 ± 0,0005	0,004 ± 0,0002 ^{###}	0,005 ± 0,003	0,009 ± 0,0009 ^{**}

Según se muestra en la Tabla 8, existe una disminución significativa en el nivel de magnesio en orina de 24 h en el grupo de control de la enfermedad cuando se compara con el grupo de control normal en el día 14. La composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) protegió significativamente la disminución del magnesio en orina en comparación con el grupo de control de la enfermedad en el día 21 y en adelante según se observa en la Tabla 8. La composición inmediata contribuye a la inhibición de nucleación y crecimiento de cristal con respecto a los cálculos renales. Este aspecto contribuye al tratamiento de urolitiasis y trastornos urológicos relacionados.

Ejemplo 3: Evaluación histológica:

Los animales que se inducen por urolitiasis se sacrifican después del día 28. Los riñones se retiran para estudio histológico. Para microscopía óptica, los cortes de riñón de rata se tiñen con reactivo de hematoxilina y eosina.

Observaciones histopatológicas:

Las observaciones histopatológicas del riñón de ratas normales mostraron una estructura normal y una integridad arquitectónica sin ningún daño aparente (Figura 1).

El riñón de ratas urolíticas que se inducen por etilenglicol mostró una marcada inflamación intersticial de linfocitos y monocitos. Se observa también fibrosis intersticial y cambio turbio en las células epiteliales tubulares. Se observan también moldes intratubulares y células epiteliales exfoliadas. Se observa más cantidad de cristales en el grupo de control de la enfermedad (Figura 2).

Las ratas que se trataron con la administración de composición inmediata (aproximadamente 60 mg/kg) mostraron un número mínimo de cristales y daño mínimo, se observan además inflamación intersticial leve de linfocitos y cambio turbio leve en células epiteliales tubulares en este grupo (Figura 3).

La composición inmediata muestra la prevención del daño del tejido renal ya que reduce la inflamación y fibrosis intersticial y la inhibición del crecimiento de cristales con respecto a cálculos renales mostrando el retiro completo de mayor número de cálculos en el riñón en comparación con el grupo de control de la enfermedad.

Ejemplo 4: Efecto de la composición inmediata en pacientes que padecen de urolitiasis

Se lleva a cabo un estudio para evaluar la eficacia de la composición inmediata en pacientes que se diagnostican con cálculos renales. En este estudio, dos pacientes que padecen de cálculos renales unilaterales con síntomas de cólico renal agudo, distensión muscular y sangre en orina reciben comprimidos de composición inmediata. El paciente 1 tiene aproximadamente 57 kg de peso corporal mientras el paciente 2 tiene aproximadamente 78 kg de peso corporal. La ecografía del abdomen se lleva a cabo antes de iniciar el tratamiento y después de completar el tratamiento. El paciente 1 se diagnostica con la presencia de cambios obstructivos leves en riñón derecho debido al cálculo de la unión UV derecha de aproximadamente 6,3 mm con edema y cálculos de cálices renales bilaterales de aproximadamente 2-3 mm. El informe se presenta en la Tabla 10.

Tabla 10: Informe de ecografía de paciente 1 antes del tratamiento

USG: ABDOMEN & PELVIS	
El hígado es normal en tamaño, forma y muestra ecopatrón normal. No se observa lesión focal. Radical biliares intrahepático y radicales de la vena porta parecen normales. El CBD parece normal.	
La vesícula biliar se encuentra bien distendida con espesor de pared normal. El páncreas parece normal en cuanto a tamaño, forma y ecopatrón. No se observa lesión focal. El bazo tiene tamaño, forma & ecopatrón normales. No se observa lesión focal.	
Riñón derecho: 99 x 43 mm.	Riñón izquierdo: 98 x 42 mm.
Ambos riñones parecen normales en cuanto a tamaño, forma, posición & ecopatrón con mantenimiento de diferenciación C-M.	
<u>El riñón derecho muestra cambios obstructivos leves debido a cálculo de la unión U V derecha de 6,3 mm con edema. Ambos riñones muestran cálculos de cálices de aproximadamente 2-3 mm.</u>	
La vejiga urinaria se encuentra bien distendida & muestra pared normal con contenido claro. La próstata tiene tamaño, forma y ecopatrón normales. No se observa lesión focal. Sin líquido libre evidente en abdomen o pelvis. Sin linfadenopatía abdominopélvica evidente.	
No se observa dilatación intestinal anormal.	
<u>CONCLUSIÓN:</u>	
• Cambios obstructivos leves en riñón derecho debido a cálculo de la unión UV derecha de 6,3 mm con edema. • Cálculos de cálices renales bilaterales de aproximadamente 2-3 mm.	

5 El paciente 2 se diagnostica con la presencia de cálculo de aproximadamente 3,8 mm en el riñón derecho. Se presenta el informe en la Tabla 11.

Tabla 11: Informe de ecografía de paciente 2 antes del tratamiento

Perfil clín. - dolor en la parte inferior del pecho. Sin molestias intestinales o urinarias.
Ecografía Abdominal
El hígado tiene tamaño normal - muestra ecotextura normal. No se observa patología parenquimatosa focal. IHBR no dilatado. PV & CBD son WNL.
La vesícula biliar se encuentra bien distendida & tiene contornos suaves. No se observa ningún cálculo evidente.
El bazo tiene tamaño & ecogenicidad normales.
El páncreas es normal.
Ambos riñones tienen tamaño y ecogenicidad normales. Espesor cortical normal. Se observa un cálculo de 3,8 mm en el polo inferior del riñón derecho No se observa HN. No se observa cálculo o HN en el lado izquierdo.
Aorta, IVC y áreas paraaórticas son claras. Sin linfadenopatía evidente. Sin ascitis.
La vejiga urinaria se encuentra bien distendida. Las uniones UV son claras. No se observan cálculo o alguna patología de vejiga intrínseca.
* Sin sensibilidad con respecto a la sonda al momento actual.
Impresión: cálculo de 3,8 mm en riñón derecho. De lo contrario, dentro de los límites normales.

10 Los dos pacientes reciben un comprimido dos veces al día que contiene aproximadamente 300 mg de la composición inmediata. Con tratamiento continuo de los pacientes con la composición inmediata, se realiza nuevamente la ecografía de abdomen. El paciente 1 mostró retiro completo de cálculos dentro de aproximadamente 27 días de tratamiento continuo y el paciente 2 mostró retiro completo de cálculos dentro de aproximadamente 38 días de tratamiento continuo. Los informes se presentan en las Tablas 12 y 13 para los pacientes 1 y 2, respectivamente.

15

Tabla 12: Informe de ecografía de paciente 1 después de completar el tratamiento

SE REALIZÓ USG MODO D EN TIEMPO REAL DE TODO EL ABDOMEN. El hígado tiene normal tamaño, forma normales y muestra un ecopatrón parenquimatoso normal. No se observa anormalidad parenquimatosa focal o difusa. HBR e IHPR parecen normales. La vena porta y el conducto biliar común son normales en curso y calibre. La vesícula biliar se encuentra óptimamente distendida y parece normal con espesor de pared normal. No se observa cálculo móvil o lesión de masa evidente. El páncreas parece normal en cuanto a tamaño, forma y ecopatrón. No se observa lesión focal. El bazo parece normal en cuanto a tamaño, forma y ecopatrón. No se observa lesión focal. El riñón derecho parece normal en cuanto a tamaño, forma y ecopatrón con mantenimiento de diferenciación C-M. Sin cálculos renales o hidronefrosis evidentes. El riñón izquierdo parece normal en cuanto a tamaño, forma y ecopatrón con mantenimiento de diferenciación C-M. Sin cálculos renales o hidronefrosis evidentes. La vejiga urinaria se encuentra opcionalmente distendida y parece normal con espesor de pared normal. No se observa cálculo vesicular móvil o lesión de masa evidente. La próstata parece normal en cuanto a tamaño, forma y ecopatrón. No se observa lesión focal. No se observa líquido libre o linfadenopatía evidente en el abdomen. CONCLUSIÓN La ecografía abdominal se encuentra dentro de los límites normales. Correlación clínico-patológica sugerida.
--

Tabla 13: Informe de ecografía de paciente 2 después de completar el tratamiento

Perfil clín. - Sin molestias intestinales o urinarias. Ecografía abdominal El hígado tiene tamaño normal - muestra una ecotextura normal. No se observa patología parenquimatosa focal. IHBR no dilatado. P V & CBD son WNL. La vesícula biliar se encuentra bien distendida y tiene contornos suaves. No se observa cálculo. El bazo tiene tamaño y ecogenicidad normales. El páncreas es normal, no se observa lesión focal. MPD no se encuentra dilatado. Se conservan los planos grasos peripancreáticos. Ambos riñones tienen tamaño y ecogenicidad normales. No se observa cálculo o hidronefrosis evidente en ambos lados. Aorta, IVC y áreas paraaórticas son claras. Sin linfadenopatía evidente. Sin ascitis. La vejiga urinaria se encuentra bien distendida. Las uniones UV son claras. No se observa cálculo o alguna patología intrínseca de la vejiga evidente. La orina residual no es significativa. La próstata tiene tamaño y ecogenicidad normales. Sin sensibilidad con respecto a la sonda en el RIF al momento actual. Sin líquido libre en el <i>cul de sac</i>. Impresión - Estudio normal.

Tabla 14: Informe de ecografía de paciente 2 después de interrumpir el tratamiento

CONCLUSIONES:
El hígado tiene tamaño, forma y ecopatrón normales. No se observa evidencia de lesión focal. Confluencia de vena porta y hepática es normal. No se observa dilatación de IHBR.
La vesícula biliar se encuentra bien distendida y normal. No se observa cálculo o masa. CBD es normal en calibre.
El páncreas tiene tamaño y ecopatrón normales. No se observa lesión focal.
El bazo tiene tamaño normal con ecopatrón homogéneo. No se observa lesión focal.
Ambos riñones son homogéneos en cuanto a ecopatrón. No se observa hidronefrosis en ambos lados. Ambos uréteres no se encuentran dilatados.
La vejiga urinaria se encuentra bien distendida y muestra espesor de pared normal. No se observa masa o cálculo.
La próstata tiene tamaño y ecopatrón normales.
La aorta, la ICV y el retroperitoneo son normales.
No se observa dilatación intestinal evidente. No se observa engrosamiento anormal de la pared intestinal.
IMPRESIÓN: - No se detectó ninguna anomalía

5 Los dos pacientes no mostraron reincidencia en cuanto a la formación de cálculos durante un período de aproximadamente 8 meses después de interrumpir el tratamiento (Tabla 14).

Tabla 15: Análisis de retiro de cálculos renales usando ecografía de abdomen y pelvis

	Riñón y Vejiga	
	Antes del tratamiento con composición inmediata	Después del tratamiento con composición inmediata
Paciente 1	Cambios obstructivos leves en riñón derecho debido a cálculo de la unión UV derecha de aproximadamente 6,3 mm con edema.	Sin cálculo
Paciente 2	Cálculo de aproximadamente 3,8 mm en riñón derecho	Sin cálculo

10 El tratamiento mostró retiro completo de cálculos con todos los resultados normales para hígado, riñón, bazo, vesícula biliar y vejiga urinaria lo que indica el efecto de la composición inmediata con respecto a la urolitiasis.

Ejemplo 5: Efecto de la composición inmediata en pacientes que padecen de ureterolitiasis

15 Se realiza un estudio para evaluar la eficacia de la composición inmediata en pacientes que se diagnostican con cálculos ureterales.

20 En este estudio, un paciente (es decir, el paciente 3) que se diagnostica con cálculo ureteral e hidronefrosis recibe comprimidos de composición inmediata. El paciente 1 tiene aproximadamente 72 kg de peso corporal. La ecografía del abdomen se realiza antes de iniciar el tratamiento y después de completar el tratamiento. Los informes se presentan en las Tablas 16 y 17.

Tabla 16: Informe de ecografía de paciente 3 antes del tratamiento

5

USG K.U.B. Riñón derecho – 10,5 x 4,5 cm de tamaño, normal en cuanto a tamaño / forma / ecogenicidad. Sin hidronefrosis / hidrouréter / cálculo evidente Riñón izquierdo – 10,5 x 4,5 cm de tamaño, normal en cuanto a tamaño / forma / ecogenicidad. Hidronefrosis leve evidente con hidrouréter, ducto de 10 mm de tamaño, cálculo uretérico terminal Vejiga urinaria – distendida normal Impresión – cálculo uretérico terminal izquierdo, que causa hidronefrosis leve con hidrouréter

Tabla 17: Informe de ecografía de paciente 3 después de completar el tratamiento

Examen: ECOGRAFÍA DEL TRACTO URINARIO Informe Se llevó a cabo ecografía en tiempo real del tracto urinario Ambos riñones tienen tamaño, forma, posición & ecotextura normales. Sin hidronefrosis, cálculo o masa evidente en ambos riñones. El espesor cortical se mantiene bien en ambos riñones. El riñón derecho mide 10,6 x 3,9 cm El riñón izquierdo mide 10,2 x 4,5 cm La vejiga urinaria se encuentra bien distendida con paredes normales. No se observa cálculo o masa en la vejiga. La próstata tiene tamaño & ecotextura normales, con medidas de 2,7 x 2,7 x 2,6 cm. Su peso es 10 g Opinión: Resultados normales en la ecografía del tracto urinario

10 El tratamiento mostró retiro completa de cálculos ureterales, lo que indica el efecto de la composición inmediata en cuanto a ureterolitiasis.

15 La presente divulgación se refiere a una composición que consiste en trigonelina y 4-hidroxiisoleucina, de manera opcional, junto con un excipiente farmacéutico, para su uso en el tratamiento de urolitiasis, hiperoxaluria, hipocitraturia, hiperuricosuria, acumulación de cristales de calcio en el túbulo renal, tasa de aclaramiento de creatinina baja, pH de orina bajo, recurrencia de cálculos y otros trastornos renales o cualquier combinación de estos.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que consiste en trigonelina y 4-hidroxiisoleucina, de manera opcional, junto con un excipiente farmacéutico, para su uso en el tratamiento de urolitiasis o una enfermedad urológica relacionada seleccionada de hiperoxaluria, hipocitraturia, hiperuricosuria, acumulación de cristales de calcio en el túbulo renal, tasa de aclaramiento de creatinina baja, pH de orina bajo, recurrencia de cálculos y otros trastornos renales o cualquier combinación de estos.
- 10 2. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la urolitiasis se selecciona a partir de un grupo que comprende nefrolitiasis, ureterolitiasis y cistolitiasis o cualquier combinación de estos.
- 15 3. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la trigonelina se encuentra a una concentración que varía de aproximadamente 30% p/p a aproximadamente 90% p/p; la 4-hidroxiisoleucina se encuentra a una concentración que varía de aproximadamente 10% p/p a aproximadamente 30% p/p.
- 20 4. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el excipiente farmacéutico se selecciona a partir del grupo que comprende gomas, agentes de granulación, aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes, agentes edulcorantes, aditivos, disolventes, deslizantes, antiadherentes, agentes antiestáticos, tensioactivos, antioxidantes, potenciadores de la viscosidad, agentes colorantes de material celulósico vegetal, agentes aromatizantes, agentes de recubrimiento, plastificantes, conservantes, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, agentes antiestáticos y agentes de esferonización o cualquier combinación de estos.
- 25 5. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición se formula en formas de dosis que se seleccionan a partir del grupo que comprende formulación oral sólida, formulación oral líquida, formulación parenteral, fitocéutico, nutracéutico y alimento o cualquier combinación de estos.
- 30 6. La composición para para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición se administra a un sujeto que la necesita en una dosis que varía de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, preferiblemente que varía de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg del peso corporal de dicho sujeto por día.
- 35 7. La composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 y 6, en la que el sujeto es un mamífero, incluyendo el ser humano.

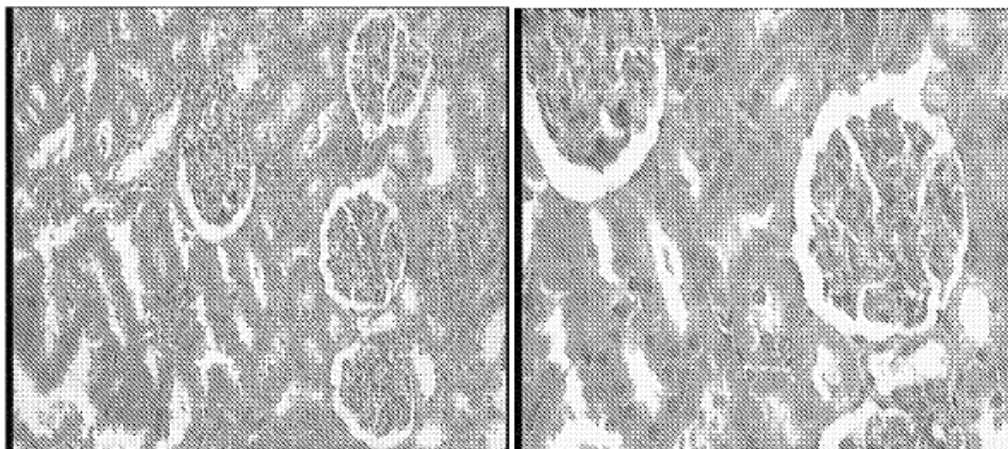


Figura 1

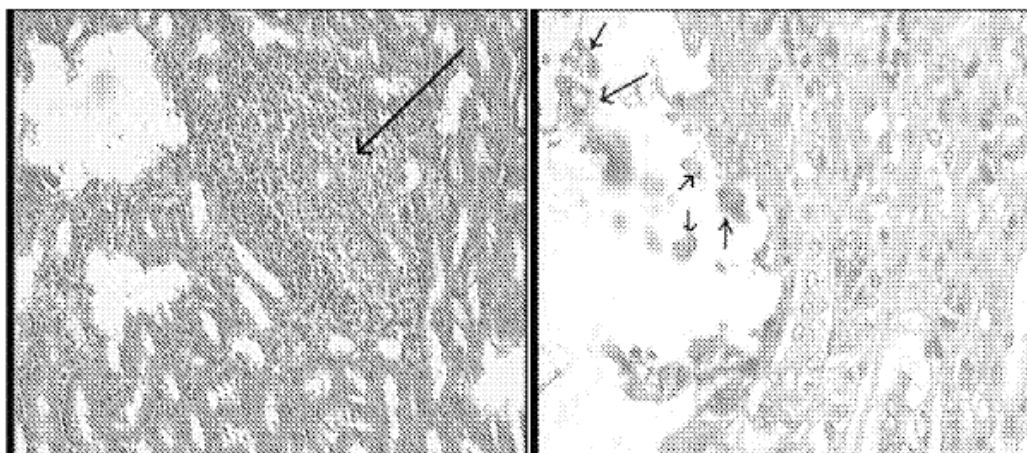


Figura 2

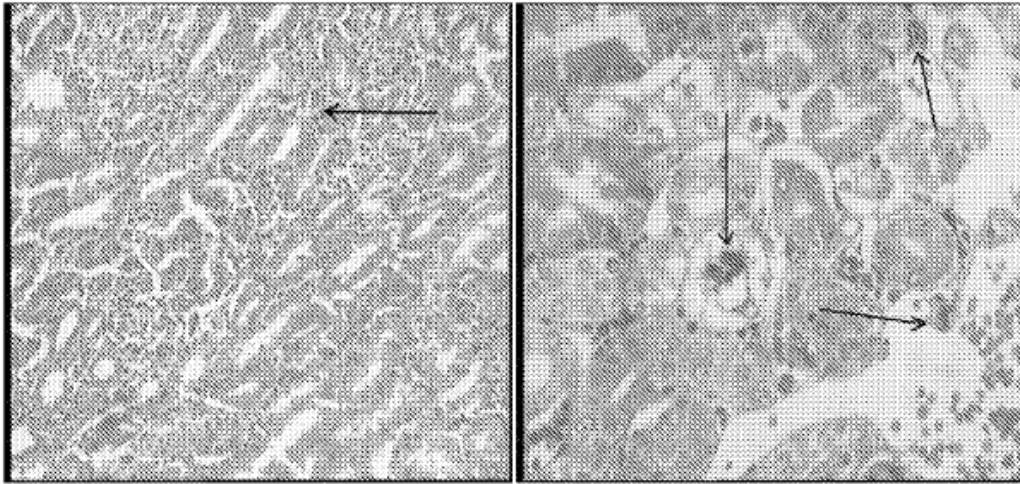


Figura 3