

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 790628 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 790628

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
A61M

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 23.02.1979

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 23.02.1979

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 28.08.1979

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 12.06.2019

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

27.02.1978 US 881,684

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •Purdue Research Foundation, Graduate House East West Lafayette, Ind., USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Ash, Stephen Richard, United States, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Dialyysimateriaali ja menetelmä virtsamyrkytysaineiden poistamiseksi keinomunuaisessa.

Dialysmaterial och förfarande för avlägsnande av urinförgiftningsämnen i en konstnjure.

Purdue Research Foundation, Graduate House East, West Lafayette,
Indiana, Yhdysvallat

Dialyysimateriaali ja menetelmä virtsamyrkytysaineiden poistamiseksi
keinomunuaisessa - Dialysmaterial och förfarande för avlägsnande
av urinförgiftningsämnen i en konstnjure

Keksinnön kohteena on dialyysikoostumus, joka sisältää pinta-
adsorptioainetta, suspendointiainetta ja kationinvaihtajaa, sekä
menetelmä virtsamyrkytysaineiden eli ureemisten aineiden poistami-
seksi sen avulla, ja varsinkin materiaali ja menetelmä käytettäväk-
si keinomunuaisessa ureemisten aineiden poistamiseksi hemodialyy-
sin aikana.

Kun munuaiset eivät pysty suorittamaan eritystoimintaa
kehossa, niin pian useimmat muut elimet lakkaavat toimista. Seura-
uksena on virtsamyrkytyksenä tunnetut lukuisat oireet, kuten veren-
vuoto, pahoinvointi ja oksentelu, sydämen rytmihäiriöt ja kooma.
Näiden oireiden vakavuus on riippuvainen useiden tunnettujen kemi-
allisten yhdisteiden jäämisestä kehoon, ja keinomunuaiskäsittelyllä
saatu paraneminen on suhteessa näiden aineiden poistamiseen.

Tunnettuja aineita, jotka on poistettava, ovat esimerkiksi: Na^+ , H^+ , K^+ , Mg^+ , urea, kreatiniini, PO_4 = ja joukko erilaisia keskikokoisia molekyylejä so. polypeptidejä, fenoleja, guanidiineja, amiineja jne. Ureaa esiintyy runsaimmin näistä aineista: aikuinen ihminen tuottaa sitä vrk:ssa 15-30 g. Poistettava ainemäärä eli massasiirto täytyy voida suorittaa myös näiden aineiden suhteellisen alhaisilla pitoisuuksilla veressä, ts. "massasiirtokertoimen" on oltava korkea. Biologisesti ilmaistuna "massasiirtokerroin" tarkoittaa suunnilleen samaa kuin puhdistuma aikayksikössä eli poistettu ainemäärä jaettuna aineen pitoisuudella veressä; mitä suurempi puhdistuma on, sitä alhaisempi on näiden aineiden pitoisuus veressä ja sitä vähäisemmät virtsamyrkytysoireet.

Yleisesti nykyisin käytetty keinomunuaiskäsittely on samankaltainen kuin Kolff'in 1940-luvun alkupuolella kehittämä. Veri poistetaan kehosta ja painetaan suljetun systeemin lävitse, joka sisältää puoliläpäiseviä membraaneja, ja sitten ~~v~~äri palautetaan kehoon. Pienet molekyylit pääsevät näiden membraanien lävitse, kun taas suuret molekyylit, kuten proteiinit sekä verisolut eivät läpäise membraaneja. Virtsamyrkytystä aiheuttavat aineet ovat pieniä molekyylejä, jotka läpäisevät membraanit niin kauan kun niiden pitoisuus membraanien ulkopuolella pidetään alhaisena. Tätä prosessia nimitetään "dialyysiksi".

Alkuperäisessä keinomunuaisessa ja useimmissa nykyisin käytetyissä keinomunuaisissa ureemisten aineiden pitoisuus membraanien ulkopuolella pidetään alhaisena laimentamalla suurella määrällä vettä ns. "dialyysaatilla". Dialyysikäsittelyä kohti käytetään vettä 120-200 l. Vesi valmistetaan hauteessa tai jatkuvasti, ja siitä on poistettava hivenaineet, siihen on sekoitettava elektrolyyttiväkevoitettä ja glukoosia, ja se on lämmitettävä veren lämpötilaan. Dialyysaattiin, niiden liiallisen poistumisen estämiseksi lisättäviä elektrolyyttejä ovat Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ , Na^+ , (asetaattina) HCO_3^- ja Cl^- . Kalsiumia tulisi olla sellaisena pitoisuutena, että kalsiumin määrä potilaan veressä lisääntyy, koska munuaisvaurio-potilaan kehon kokonaiskalsiummäärä on usein alhainen, ja alhaisen kaliumin aiheuttama lisäkilpirauhashormonin liiallinen erittyminen on potilaan terveydelle haitallinen.

Sen lisäksi, että nykyiset keinomunuaiset vaativat suurta vesimäärää, on veden nopeuden oltava niissä suuri membraanien lähellä, jotta ureemisten aineiden pitoisuus voitaisiin pitää alhaisena. Tämä saadaan aikaan "uudelleenkierrättämällä" vettä suurella nopeudella, 10 l/min, membraanien lävitse "kierukka"-dialysaattorissa. "Levy"- tai "onttokuitu"-dialysaattorissa dialysaatin virtausnopeuden ei tarvitse olla yhtä suuri, koska dialysaatti on rajoitettu kapeaan tilaan lähelle membraaneja: tämä aiheuttaa suuren veden nopeuden membraanien lähellä. Jotta vettä voitaisiin poistaa verestä, on membraanien veren puolella oltava korkeampi paine kuin membraanien dialysaatin puolella. Kierukka-dialysaattorissa on 100-300 mm Hg positiivinen paine, ja levy- ja onttokuitu-dialysaattoreissa on dialysaatin puolella negatiivinen paine.

Tavanomaisen keinomunuaislaitteeseen tulee siis sisältyä seuraavaa: suuri vesimäärän saanti, mekanismi elintärkeiden aineiden lisäämiseksi, veripumppu, dialyysipumppu, membraanipakkaus, vedenlämmitin ja usein vedenkierrätyspumppu lähellä membraaneja olevaa vettä varten. Lisäksi käytetään mittalaitteita veren ja dialysaatin paineiden mittaamiseen, dialysaatin lämpötilan ja dialysaatissa olevien elintärkeiden elektrolyyttien pitoisuuden mittaamiseen. Myrkyllisten aineiden poistamiseen suuresta vesimäärästä tarvitaan vedenkäsittelylaite. Laitteisto on kokonaisuudessaan mutkikas, kallis ja kiinteä. Esimerkkejä keinomunuaisista on seuraavissa julkaisuissa: US-patenttijulkaisut 3 352 422, 3 362 540, 3 570 672, 3 682 817, 3 864 248 ja FR-patenttijulkaisu 2 263 017.

Hemodialyysiongelman toisenlaisessa ratkaisussa dialyysineeste regeneroidaan uudelleenkäytettäväksi. Tässä systeemissä dialyysineeste poistetaan hauteesta membraanien läheltä, pakotaan adsorboivia aineita sisältävä kolonnin lävitse ureemisten aineiden poistamiseksi ja palautetaan dialysaattihauteeseen. Adsorboivat yhdisteet ovat samoja, joita on vuosikymmeniä käytetty ureemisten aineiden poistamiseen:

a: Hiili, josta ensimmäiseksi 1964 Yatzidis ilmoitti, että sillä on kyky adsorboida useimpia ureemisia (kreatiniinia ja "keskimolekyylejä").

b. Ureaasi, joka on ollut kauan tunnettu pääasiallisena urean hajoittajaentsyyminä kasveissa, bakteereissa ja eläimissä. Se hajottaa urean NH_4^+ :ksi ja CO_3^{2-} :ksi.

c. Sirkoniumfosfaatti, joka on standardikationinvaihtaja, jolla kuten Maeck 1963 on kuvannut, on korkea affiniteetti kaksiarvoisten kationien suhteen ja alempi affiniteetti yksiarvoisten kationien suhteen. Sirkoniumfosfaatti on ainakin yhdessä tunnetussa systeemissä geelinä, joka on "varattu" 90 %:lla H^+ ja 10 %:lla Na^+ .

d. Sirkoniumoksidi, anioninvaihtajahartsin fosfaatin ja fluoridin poistamiseksi.

Nykyisissä systeemeissä nämä materiaalit on järjestetty peräkkäisiksi kerroksiksi kolonniin, joka painaa noin 5,4 kg ja jonka maksimikapasiteetti urean poistamiseksi on noin 30 g.

Ihanteellisessa tapauksessa dialysoitin regeneroinnista tulisi olla seurauksena yksinkertaisempi ja liikkuvampi dialyysisysteemi. Kuitenkin nykyisin käytetyt systeemit ovat mutkikkaampia ja vaikeasti liikuteltavia, koska ne painavat noin 20 kg. Lisäksi niiden käyttöön liittyy useita ongelmia:

a. Adsorbenttiyhdisteiden sarjakerrostaminen ei salli tiettyjen aineiden edullista keskenäistä vaikutusta. Esimerkiksi ureaasi inhiboituu omien tuotteittensa NH_4^+ :n ja CO_3^{2-} :n vaikutuksesta. Sirkoniumfosfaattia, joka adsorboi NH_4^+ :ää ja puskuroi CO_3^{2-} :a, ei ole läsnä ureaasikerroksessa. Ureaasia tarvitaan tämän johdosta suuria määriä inhibiition voittamiseksi.

b. Adsorbenttiyhdisteiden koon tulee olla huolella valittu, jotta välttyttäisiin dialysoattivirran aiheuttama aineiden pakkautuminen kolonnissa. Kuitenkin virtausnopeuksilla yli 300 ml/min tapahtuu pakkautumista ja kolonnin aiheuttama vastus suurenee. Siten regeneroidun dialysoitin virtausnopeus on pienempi kuin muissa keinomunuaisissa (600 ml/min).

c: Kationinvaihdossa sirkoniumfosfaatti, joka on geeli, hajoaa, jolloin vapautuu fosfaattia ja sirkoniumia. Sirkoniumoksidi toimii osaksi ylimääräisen fosfaatin poistajana.

d. Sirkoniumfosfaatista vapautuu H^+ ja Na^+ NH_4^+ :n tilalle. Sirkoniumfosfaatilla olevien H^+ - ja Na^+ -määrien tulee olla suurempi

kuin odotettu ureaasin tuottama MH_4^+ -määrä, jotta ureaasireaktio menisi täydellisesti. Tämän vuoksi sirkoniumfosfaattia alunperin ympäröivän pH:n tulisi olla alhainen, so. 6,1, ja dialyssaattiin olisi lisättävä H^+ -ioneja. Tämä H^+ -määrä on suurempi kuin ureaasi-reaktiossa syntynyt HCO_3^- -määrä. H^+ -ionit, kuten myös Na^+ -ionit ovat myrkyllisiä munuaisvaurioissa.

e. H^+ -ionien dialyssaattiin lisäämisen vastapainoksi on infusoitava asetaatti-ioneja ja varattava sirkoniumoksidi asetaatilla.

f. Na^+ -lisäyksen dialyssaattiin vastatoimenpiteenä dialyssaatti on laimennettava, jolloin alkuperäinen Na^+ -konsentraatio on alempi kuin veressä. Tarvitaan noin 5 l vettä, joka sisältää elintärkeitä elektrolyyttejä.

g. Sirkoniumfosfaatilla on, kuten useimmilla kationinvaihtajamateriaaleilla suurempi affiniteetti kationien suhteen, joiden varaustiheys on korkeampi, kuten Ca^{++} ja Mg^{++} . Affiniteetti monovalenssisiin kationeihin nähden, kuten NH_4^+ nähden on alhaisempi. Sirkoniumfosfaatin varaaminen Ca^{++} :lla ei sallisi NH_4^+ :n poistoa.

h. Ylimääräisen Ca^{++} :n Mg^{++} :n ja K^+ :n poiston vuoksi näitä kationeja on infusoitava yhdessä asetaatin kanssa dialyssaattiin.

i. Noin 5 litran dialyssaattimäärän käyttö vaatii systeemiin kuumennuslaitetta.

j. Koska regenerointi tapahtuu etäällä membraaneista, aineiden sopivaksi siirtämiseksi membraanien lävitse tarvitaan standardidialyysilaitteissa suuri veden nopeus membraanien lähettävillä.

Edellä olevien ongelmien vuoksi viime aikoina kehitetyt tämän tyyppiset systeemit ovat osoittautuneet mutkikkaiksi (joissakin tapauksissa mutkikkaammiksi kuin standardihemodialyysimenetelmät), ja koneet ovat suhteellisen suuria.

Dialyysinesteen regenerointiin on eräänä mahdollisuutena ehdotettu käytettäväksi zeoliitteja ammoniakkin poistamiseksi sekä hiiltä samaan tehtävään kuin edellä käsitellyssä systeemissä. Tämän systeemiin sisältyy :

a. Kierrätysysteemi, jossa zeoliitti on NH_4^+ -adsorboijana, jolla on etuna korkea $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$ -selektiivisyys ja ioninvaihtokapasiteetti noin 2 mekv/g (hieman korkeampi kuin sirkoniumfosfaatilla).

b. Systeemi, joka on erityisesti kehitetty käyttäen filippiinistä NH_4^+ -adsorboijana.

c. Toista zeoliittia "pH:n kontrolloimiseen" eli Na^+ :n vaihtamiseen H^+ :ksi, jolloin Na^+ on tullut ensimmäisen zeoliitin vaihdossa MH_4^+ :ään.

d. Ureaasia urean pilkkomiseksi NH_4^+ :ksi ja $\text{CO}_3^{=}$:ksi.

Zeoliitit ovat aluminiumsilikaatteja, joiden rakenteessa vuorottelee Al-O-Si-O. Ne ovat yleensä kiteisiä eivätkä hajoa helposti. Aluminiumosa on sähköpositiivinen ja piiosa negatiivinen. Kationinvaihto tapahtuu piiasemassa, ja kationinvaihtoon vaikuttavat kiderakenne, steeriset rajoitukset ja kationien koko ja muoto. Zeoliitit ovat niitä harvoja ioninvaihtomateriaaleja, jotka voivat asettaa etusijalle monovalenssiset kationit ennen divalenssisia. Näiden materiaalien selektiiviteetti on sellainen, että dialyysinesteen kalsium- ja magnesiumtasot saattavat pysyä NH_4^+ -poiston aikana muuttumattomina.

DE-patenttijulkaisussa 2 512 212 (Gambro AG) on ehdotettu, että NH_4^+ -vaihto suoritetaan Na^+ -varatulla zeoliitilla. Tähän vaihtoon on ehdotettu useita eri luonnon zeoliitteja, varsinkin klinoptiloliittia ja filipsiittiä. Zeoliittien selektiivisyyttä ja käyttöä on käsitelty perusteellisesti Donald Breck'in kirjassa Zeolites: Molecular Sieves, julkaistu 1972.

Zeoliittien käyttöön tällaisissa systeemeissä liittyy kuitenkin monia ongelmia.

a. Kun systeemissä käytetään nesteen regenerointiin kolonnia, esiintyy siinä pakkautumiseen, maksiminestevirtaan ja sellaisten komponenttien erottamiseen liittyviä ongelmia, jotka helposti häiritsevät, kuten ureaasi ja kationivaihtajat.

b. Kun tarvitaan toinen zeoliitti poistamaan ylimääräinen Na^+ , joka on muodostunut MH_4^+ -vaihdossa ensimmäisessä zeoliitissa, niin tämä toinen zeoliitti vaihtaa Na^+ :n H^+ :ksi. H^+ -määrän tällä zeoliitilla tulisi olla suurempi kuin urean pilkkoutumisesta aiheutuneen kokonais- NH_4^+ :n odotetaan olevan. Siten H^+ -määrä ylittäisi käytössä kehittyneen $\text{CO}_3^{=}$ -määrän, ja H^+ -varatun zeoliitin ympäristön pH olisi koko reaktion ajan alhainen. Jos pH on esim. alunperin 6,4, niin H^+ :n palautuessa potilaaseen, on tarpeen emäksen infusointi.

c. Toisen zeoliitin käyttäminen lisää tarvittavan zeoliitin painoa. Esitetyssä esimerkissä käytetään yhdessä 1000 g Na^+ -varattua

zeoliittia ja 800 g H^+ -varattua zeoliittia.

d. Kun kuvattu systeemi toimii siten, että dialyysaatissa on kalsiumpitoisuus vakio, niin kalsium ei joudu potilaaseen, vaikka tällainen kalsiumin lisääminen potilaaseen on erittäin toivottua.

e. Fosfaatin poistamiseksi tämän jälkeen ei ole tehty mitään.

f. Tarvitaan systeemi, jolla saadaan aikaan dialyysaatin suuri nopeus dialyysaattorin membraanien lähettyvillä, koska zeoliitit ja muut adsorboijat ovat etäällä membraaneista.

On siten olemassa sellaisen dialyysikoostumuksen ja -menetelmän tarve, jolla voidaan ratkaista kaikki tai ainakin useimmat edellä olevista ongelmista.

Keksinnön kohteena on uusi yhdisteseos, joka on käyttökel-poinen dialyysikoostumukseksi (so. tässä käytettynä koostumus, jossa dialyysi tapahtuu sopivien membraanien lävitse, jolloin koostumuksen ansiosta saadaan poistettua ureemiset aineet, so. munu-aisen toimintavajauksen aiheuttamat myrkylliset aineet) sekä uusi menetelmä ureemisten aineiden poistamiseksi. Kun keksinnön mukainen seos on sijoitettu keinomunuaisten membraanien yhdelle puolelle, se poistaa ureemiset aineet membraanin toisella puolella olevasta verestä, jolloin ei lainkaan tarvita vesihaudetta, annostyssysteemiä tai regenerointikolonnia, kuten nykyisin käytetyissä tunnetuis-sa keinomunuaisissa. Lisäksi potilas saa sopivan ionikorvauksen, erityisesti koska käytetään seosta, joka sisältää kalsium-varattua zeoliittikationinvaihtajaa suspendoituna suspendointiväliaineeseen.

Keksinnön tarkoituksena on saada aikaan dialyysikoostumus ureemisten aineiden adsorboimiseksi keinomunuaisessa, jossa koostumuksessa on ureemisten aineiden adsorboitumiseen pystyvää pinta-aktiivista ainetta, urean reaktioon käytettävää entsyymiä, suspendointiainetta ja kationinvaihtajaa, joka voidaan suspensoida suspendointiaineeseen sekä menetelmä tämän dialyysikoostumuksen käyttämiseksi keinomunuaisessa, jossa on puoliläpäisevät membraanit. Tällaisella koostumuksella on mahdollista suorittaa hemodialyysi ilman vesihaudetta, annostyssysteemiä, regenerointikolonnia tai elektrolyyttien infusointia. Tämä materiaali tekee mahdolliseksi pienemmän kiinteämmän keinomunuaisten.

Keksinnön kohteena on dialyysikoostumus ureemisten aineiden

adsorboimiseksi keinomunuaisessa, tunnettu siitä, että siinä on kationinvaihtaja suspendoituna suspensioaineeseen.

Keksinnön kohteena on lisäksi dialyysikoostumus käytettäväksi keinomunuaisessa, tunnettu siitä, että siinä on pinta-adsorboivaa ainetta ureemisten aineiden adsorboimiseksi,

entsyymiä ureareaktion katalysaattoriksi,

suspendointiainetta ja

kationinvaihtajaa, joka voidaan suspendoida mainittuun suspendointiaineeseen.

Keksinnön kohteena on lisäksi menetelmä ureemisten aineiden poistamiseksi hemodialyysin aikana, tunnettu siitä, että käytetään edellä määriteltä dialyysikoostumusta, ja että tämä dialyysikoostumus saatetaan kosketuksiin veren kanssa niin, että seos adsorboi ureemiset aineet verestä ja puhdistaa sen.

Liitteenä olevat piirrookset kuvaavat keksinnön toteutusta. Kuvioissa 1 ja 6 on poikkileikkaus keinomunuaisesta, jossa voidaan käyttää keksinnön mukaista dialyysimateriaalia. Kuviot 2-5 ja 8-10 kuvaavat keksintöä. Kuvio 7 esittää suurennettuna dialyysimateriaalia.

Kuviossa 1 ja 6 olevassa keinomunuaisen 7 poikkileikkauksessa on nähtävissä useita puoliläpäiseviä membraaneja 9, jotka on sijoitettu siten, että dialyysimateriaali 11 (sorbenttisuspensio) on membraanin toisella puolella ja veri 13 membraanin toisella puolella. Dialyysikoostumukselle on verelle sopivat tulojohdot 15 ja 17. Läpijuoksusysteemiin kuuluu samoin sopivat poistojohdot (joita ei ole esitetty), kuten alan ammattimies hyvin tietää. Membraanit (jotka voisivat olla muodoltaan myös esimerkiksi onttoja kuituja nyt esitettyjen sijasta) voivat olla tukikehysten 19 ja 20 tukemia tai muuten kiinnitettyjä. Keinomunuaislaitteet ovat hyvin tunnettuja, ja tällaisia laitteita on esimerkiksi esitetty edellä mainituissa patenteissa. Tällainen laite on sen vuoksi kuvattu tässä vain siinä määrin kuin on tarpeen keksinnön paremmaksi selventämiseksi.

Keinomunuainen, jossa on yksi verentulojohto ja poistojointo on kuvattu US-patenttijulkaisussa n:o 4 071 444 (jätetty 1976-10-12, keksijät: Stephen T. Ash, Philip G. Wilcox ja David P. Kessler), ja sillä on otsikko: "Portable Chemical Reactor of Use as an Artificial Kidney", Tässä US-hakemuksessa kuvattu laite sopii käytettä-

väksi esillä olevassa keksinnössä ja liitetään tähän hakemukseen viitteenä.

Esillä olevan keksinnön mukaan ureemisten aineiden poisto puoliläpäisevien membraanien 9 avulla voidaan suorittaa sijoittamalla adsorboivien aineiden suspensiota membraanien dialyysipuolelle. Näin sijoitettu adsorbenttiyhdistesuspensio korvaa tavanomaisessa keinomunuaisessa käytetyn membraanien lähellä korkealla nopeudella virtaavan dialyysaattinesteen sekä myös sorbenttikolonnin, jota käytetään dialyysinesteen regenerointiin. (Redy[®]-regenerointi tai Gambro Ab:n systeemi). Aineen siirto on erittäin tehokasta, koska ureemisten aineiden diffuusioetäisyys membraanin dialyysipuolella on erittäin pieni ja välittömästi membraanin lähellä olevan sorbentin kyllästyminen estyy sorbenttisuspension jatkuvan kierrätyksen ansiosta.

Seuraavilla aineilla on selviä etuja käytettäväksi tällaisessa adsorbenttisuspensiossa:

- a. Hiili tai muu pinta-absorboiva aine.
- b. Ureaasi liuoksena tai suspensiona tai immobilisoituina hiukkasina.
- c. Kationinvaihtaja, joka on joko luonnossa esiintyvä tai synteettinen ja joka on varattu kalsiumilla.
- d. Suspendointiaine, kuten metyyliiselluloosa, hydroksietyyli-tärkkelys tai dekstraani.

Tällä yksinkertaisella adsorbenttivalikoimalla pystytään adsorboimaan kaikki ureemiset aineet ja lisäksi palauttamaan potilaaseen sopiva Ca^{++} - ja HCO_3^- -ionivirta. Suspensio liikkuu sellaisella nopeudella, että komponenttien kyllästys membraanin lähellä estyy. Tämä liike voidaan saada aikaan joissakin dialyysatoripakkauksissa esiintyvällä membraaniliikkeellä tai toisissa dialyysatoripakkauksissa olevan pienen sekoituspumpun 22 avulla (joka on kuviossa 1 piirretty katkoviivoin). Käytettäessä onttokuiturakennetta (ei ole esitetty), jossa kaikki adsorbentit ovat lähellä sellofaanipintaa, saattaa olla mahdollista suorittaa dialyysi ilman adsorbenttisuspension liikettä.

Tässä kokeillut zeoliitit ovat synteettisiä zeoliitteja (Linde F-80) ja W-85), filipsiittiä ja klinoptiloliittia; voidaan kuitenkin hyvin käyttää monia muitakin zeoliitteja. Ureaasin ohella voidaan käyttää muitakin katalyysattoreita urean hajottamiseen. Hiili voidaan korvata suspensiossa muilla pinta-adsorptioaineilla.

Voidaan käyttää kahta tai useampaa kationinvaihtajaa ja samoin yhtä tai useampaa suspendointiainetta.

Kuviossa 2 on esitetty yhden ureemisen aineen, kreatiinin poisto selluloosamembraanien lävitse ajan funktiona. Pystyakselilla on membraanipakkauksesta poistuvan nesteen kreatiniinipitoisuuden ja sisään virtaavan nesteen pitoisuuden suhde. Tässä membraanipakkauksessa käytetään nesteen "sisään- ja ulosvirtausta" ja senvuoksi kreatiniiniliuoksen viipymisaika pakkauksessa on ilmoitettu "kiertoaikana". Voidaan havaita, että saadaan huomattavasti tehokkaampi kreatiinin poisto, kun membraaneja ympäröi adsorboivien yhdisteiden suspensio, kuin silloin kun siitä ympäröi vesi. Vaikka veden virtausnopeus tässä dialyssaattorimembraanipakkauksessa pidettiin erittäin korkeana, niin kreatiniinin poisto (massasiirtokerroin) ei tapahtunut yhtä tehokkaasti kuin käytettäessä suspensiota.

Zeoliittien selektiivisyys ammoniumin suhteen on merkitsevästi parempi kuin useimpien muiden kationinvaihtajien. Lisäksi zeoliittien kokonaiskationinvaihtokyky (maksimi) on korkeampi kuin useimmilla ioninvaihtajilla (7 mekv/g synteettisellä zeoliitilla, Linde F-80:llä Union Carbide'n teknisen tiedotteen mukaan, kun vastaava arvo sirkoniumfosfaatilla on 2,0 mekv/g CCI:n ilmoituksen mukaan). Tämän seurauksena ammoniumin poisto zeoliiteilla kustakin ammoniumin pitoisuudesta on korkeampi. Kuviossa 3 on esitetty ammoniumin sitoutuminen eri kationinvaihtajiin näiden ioninvaihtajien titrauksessa NH_4Cl :llä. Kaikki nämä ioninvaihtajat ovat Na^+ -varattuja, ainoastaan sirkoniumfosfaatti on H^+ - ja Na^+ -varattu. Kuten voidaan nähdä, niin Linde F-80 ja W-85 sitovat noin kaksinkertaisen määrän NH_4^+ :ää NH_4^+ :n alhaisilla pitoisuuksilla sirkoniumfosfaattiin tai filipsiittiin verrattuna. Zeoliitti sitoo jokaisella NH_4^+ -pitoisuudella noin 4 kertaa niin paljon NH_4^+ :ää kuin klinptiloliitti.

Zeoliittikationinvaihtajien kiderakenteella on taipumus jättää pois tietyn koon ja varaustiheyden omaavat ionit. Tästä syystä zeoliitit ovat niitä harvoja kationinvaihtajia, joilla on parempi selektiivisyys ammoniumin suhteen kuin divalenssisten ionien, kuten kalsiumin suhteen. Tämän ominaisuuden ansiosta zeoliitti voidaan ensin varata kalsiumioneilla, jotka voidaan vaihtaa sitten ammoniumioneihin. Tätä vaihtoreaktiota on käytetty jo vuosikymmenien ajan vedenpuhdistukseen jätevesikäsittelyssä. Kuviossa 4 on esitetty ammoniumin sitoutuminen zeoliitteihin Linde F-80 ja W-85 näiden materiaalien kalsiumvaraamisen jälkeen (50 % kalsiumia ja 50 % natriu-

mia). Alemmassa käyrässä on esitetty zeoliittien titraus NH_4Cl :llä. Vertaamalla tätä käyrää kuvion 3 vastaavanlaiseen käyrään nähdään, että zeoliitin kalsiumvaraus tai vastaavasti natriumvaraus alentaa ainoastaan hieman ammoniumin sitoutumista. Sensijaan sirkoniumfosfaatin varaaminen kalsiumilla estää lähes täysin ammoniumin vaihdon kalsiumiin, koska sirkoniumfosfaatilla on korkea selektiivisyys kalsiumfosfaatin suhteen.

Kuviossa 4 on esitetty myös zeoliittien Linde F-80 ja W-85 titraus ammoniumkarbonaatilla. Kuten nähdään, ammoniumkarbonaattiliuoksen korkeampi pH saa aikaan olennaisesti suuremman sitoutumisen kuin alemmassa pH:ssa ammoniumkloridilla saatu. Koska urean hydrolyysissä ureaasin vaikutuksesta syntyy ammoniumkarbonaattia, niin zeoliitin titrauksen ammoniumkarbonaatilla voidaan olettaa merkitsevän ammoniumin sitoutumista urean ja ureaasin läsnäollessa.

Koska zeoliiteilla on selektiiviteettiä, jonka ansiosta ammoniumionit voidaan vaihtaa kalsiumioneihin ja koska optimisitoutuminen tapahtuu korkeassa pH:ssa, niin kalsiumvaratut zeoliitit poistavat erittäin hyvin typpeä. Kuviossa 5 on esitetty ammoniumin sitoutuminen kalsiumvarattuun zeoliittiin urean lisäämisen jälkeen. Zeoliitti on varattu noin 20 %:lla Ca^{++} -ioneja suspendoimalla zeoliitti kaksi kertaa 0,4-m CaCl_2 -liuokseen, linkoamalla kaksi kertaa ja suspendoimalla sitten veteen. Ureaasia on läsnä alhaisena pitoisuutena, 0,5 g eli 200 Sumner-yksikköä/100 ml, ja reaktion suoritukseen käytetään 30 minuuttia. Tulokset osoittavat, että ammoniumin sitoutuminen on suunnilleen sama kuin titrattaessa zeoliitteja ammoniumkarbonaatilla; ammoniumpitoisuudella 2 mekv (ureasta) 100 ml:aa kohti supernatanttia sitoutuu 1,4 mekv ammoniumia 1 grammaa kohti zeoliittia Linde F-80 ja W-85 (alhainen kalsiumvaraus). Korkeampi Ca^{++} -varaus zeoliitille on mahdollinen käyttämällä zeoliitin synteesissä korkeampaa Ca^{++} -konsentraatiota. Tällaisilla korkeavaratuilla (50 %) zeoliiteilla suoritettuja kokeita kuvataan jäljempänä.

On tietenkin tärkeätä poistaa ureaa nopeudella, joka ylittää urean siirtymisen dialyysimembraanien lävitse. Siten zeoliitin tasapainossa oleva ammoniumin sitomiskyky ei ole niin merkitsevä kuin sitomisnopeus ureaasireaktion aikana. Kun kationinvaihtajaa on läsnä 10 g/100 ml, niin ureaasi toimii maksiminopeudella, joka vastaa valmistajan ilmoittamaa Sumner-yksikkömäärää. Käytettäessä ureaasia ylimäärin (5 mg/100 ml) urea sitoutuu samalla tavoin kuin tasapaino-

tilanteessa (kuvio 5) 2 minuutissa.

Zeoliittimateriaalien tiheys on huomattavasti alhaisempi kuin sirkoniumfosfaatin (ominaispaino 2,5). Tämän johdosta suspendointi on helpompaa, mikä on tärkeätä adsorboivien aineiden saamiseksi lähelle membraanipintaa. Liuokseen, joka sisältää 0,5 % metyylliselluloosaa (1500 cP), kaikki kokeillut zeoliitit (Linde F-80 ja W-85 filipsiitti ja klinoptiloliitti) suspendoituvat pysyviksi suspensioiksi. Suspensio on myös pysyvä hiilen ja ureaasin lisäämisen jälkeen. Sirkoniumfosfaattigeelisuspensio (CCI Life Systems) on pysyvä vain 10 minuuttia metyylliselluloosan tässä konsentraatiossa.

Koska absorbentit ovat suspendoituina dialyssaattiin, ne voidaan saada pysymään dialyysimembraanien vieressä ilman tavanomaisissa keinomunuaisissa tavallisesti käytettyä dialysaatin suurta virtausnopeutta. Suspension hidas virtaaminen tai liike membraanin pinnan lähellä riittää estämään absorbenttien kyllästymisen membraanin pinnalla. US-patenttijulkaisussa 4 071 444 esitettyssä yksineulalaitteessa veriosaston tilavuuden muutosten aiheuttama membraanien liike saa aikaan liikkuvan absorbenttisuspension riittävän kierron ja estää kyllästymisen.

Kuviot 2-4 osoittavat, että kalsiumvaratut zeoliitit voivat tehokkaasti poistaa ammoniumia ureaasireaktion aikana. Kuitenkin kuviossa 3 esitetty natriumvarattu zeoliitti näyttää toimivan yhtä hyvin. Monet selvät edut puoltavat kuitenkin kalsiumvarattujen zeoliittien käyttöä suspensiossa. Näiden etujen vuoksi tätä materiaalia on pidettävä erityisen toivottuna:

1. Kalsiumionit vapautuvat ammoniumionien absorboituessa, ja osa kalsiumioneista palaa potilaaseen dialyysimembraanien lävitse. Kalsiumionit ovat potilaalle hyödyksi, koska ne täydentävät kehon alentunutta kalsiumvarastoa ja alentavat lisäksi kilpirauhashormonin tasoa, joka on tavallisesti korkea dialyysipotilailla. Kalsium on yksi niistä harvoista kationeista, jotka eivät ole myrkyllisiä munuaisten toimintavajauksessa. Natrium, vety, kalium ja magnesium ovat kaikki voimakkaasti myrkyllisiä.

2. Urean hajotessa ureaasin vaikutuksesta syntyy $\text{CO}_3^{=}$:a. Se ei neutraloidu kationinvaihtajan H^+ -ioneilla, kuten H^+ - Na^+ -varatulla sirkoniumfosfaatilla tai zeoliitilla). Siten osa CO_3 :sta voi palata potilaaseen. Koska munuaispotilailla on asidoosi, niin $\text{CO}_3^{=}$ on kohtuullisena määränä potilaalle eduksi. $\text{CO}_3^{=}$ aiheuttaa esimerkiksi H^+ :n poistumista luista ja kalsiumin saostumista tilal-

le. Asidoosikorjaus vähentää myös lisäkilpirauhashormonimäärää.

3. Kalsiumia tai $\text{CO}_3^{=}$:a ei palaudu potilaaseen ylimäärin eikä poistettua NH_4^+ vastaavaa määrää, koska kalsiumkarbonaatti saostuu membraanin dialyysipuolella, kun sen liukoisuustulo on ylitetty, eikä saostunut CaCO_3 pysty kulkemaan membraanin lävitse takaisin potilaan verivirtaan. Suoritetuissa ureaasireaktion in vitro-kokeissa kalsiumvarattujen zeoliittien läsnäollessa kalsiumin pitoisuus supernatantissa tosiasiaassa laskee. Kun tämän reaktion aikana sidotaan esimerkiksi 2 mekv/g ammoniumioneja, niin supernatantissa kalsiumpitoisuus laskee 27 mmoolista/l 1 mmooliin/l. Tämä johtuu kalsiumin saostumisesta bikarbonaattina. Myös bikarbonaatin palautuminen potilaaseen vähenee tämän saostumisen vuoksi. Jos potilas tuottaa vuorokaudessa 18 g ureaa, niin virtsamyrkytyksen välttämiseksi on poistettava 18 g eli 300 mmoolia. Tämä vastaa ureaasireaktiossa muodostuvaa 600 mekv ammoniumia. Potilaaseen palautettuna 600 mekv kalsiumia tai 600 mekv $\text{CO}_3^{=}$:a olisi liikaa. On siten edullista, että kaliumin ja bikarbonaatin saostuminen rajoittaa näiden aineiden palautumista dialyysimembraanin lävitse.

4. NH_4^+ :n zeoliitista vapauttavat Ca^{++} -ionit reagoivat fosfaatin kanssa muodostaen kalsiumfosfaattisakan membraanin dialyysipuolella. Koska fosfaatti on poistettava dialyysiprosessin aikana, niin tämä saostuminen on edullista, sillä sen seurauksena veren fosfaattipitoisuus alenee. Erityistä fosfaattisitojaa, kuten esimerkiksi sirkoniumoksidia ei tarvitse. Ureemisella koiralla suoritettussa kokeessa todettiin, että fosfaatin poistuminen membraanipakkauksen lävitse oli sellainen, että sisään- ja ulosvirtaavan veren pitoisuus aleni 50 %. Tämä oli suunnilleen samaa luokkaa kuin kreatiniinin, urean ja kaliumin pitoisuuden lasku.

5. Käytettäessä natriumvarattuja tai vetyvarattuja zeoliitteja palautuu potilaaseen natriumia ja vetyä, jotka molemmat ovat munuaispotilaalle myrkyllisiä. Joissakin aikaisemmissa systeemeissä on H^+ :n neutraloimiseksi välttämätöntä infusoida emästä (tavallisesti asetaattipuskuria). Emäksen infusointi on välttämätöntä H^+ :n palautumisen ehkäisemiseksi, ja 5 litraa nestettä, jonka Na-konsentraatio on alhainen, tarvitaan vapautuneen Na^+ :n pitoisuuden alentamiseksi. Käytettäessä keksinnön mukaisesti suurella määrällä kalsiuminvarattua zeoliittia emäksen infusointi ja suuret dialyysaattitilavuudet eivät ole tarpeen.

6. Tarvitaan vain yksi vaihtajamateriaali, kun tunnetuissa uudelleenkierrätysysteemeissä niitä on kaksi tai useampia. Siten absorbenttien paino ja tilavuus alenevat.

Kun absorbenttiyhdisteet saatetaan suspensiona lähelle dialyysikalvoja, kuten esillä olevan keksinnön mukaisessa menetelmässä, on ureemisten aineiden diffundoitumiseksi tarvittava etäisyys pieni ennen liuoksesta poistamista. Membraanien läpi syntyy erinomainen massansiirto, koska absorbentit pitävät ureemisten aineiden pitoisuudet alhaisina dialyysiosastossa. Näin ollen on tässä keksinnössä käytetyllä absorbenttiyhdisteiden suspensiolla hyvä teho jopa käytettäessä suspension alhaista virtausnopeutta ja sen teho alhaisia virtausnopeuksia käytettäessä on parempi kuin käytettäessä vedellä suuria virtausnopeuksia.

Vietäessä absorptioyhdisteiden suspensio dialyysimembraanien lähelle sen sijaan, että erotus suoritettaisiin niistä erillään olevissa kolonneissa, voidaan eliminoida useita tavanomaisissa dialyysilaitteissa tarvittavia piirteitä, kuten suuri veden tarve, ionien ja glukoosin sekoittaminen veteen, vesikäsitteily, veden kuumentaminen ja veden suuri virtausnopeus lähellä membraaneja (käyttämällä kapeita virtauskanavia tai suurinopeuksisia kiertopumppuja). Lisäksi absorbenttisuspensioilla on etuja kolonneissa käytettäviin absorbentteihin verrattuina: vältetään nimittäin hidas kanavointi ja kolonnin tilavuus saadaan mahdollisimman pieneksi. Edelleen ei myöskään tarvita dialyysimembraanien ja kolonnien välisiä pumppu- ja vesiliitoksia. Lisäksi vain hidas absorptioyhdisteiden liike on tarpeen suspensiossa, jotta vältettäisiin niiden kasaantuminen membraanien lähelle.

Yhteenvetona sanottakoon, että absorbenttisuspension saattaminen keino-omunaisen membraanien lähelle on edullista, koska dialyysilaitteisto saadaan yksinkertaisemmaksi ja maansiirto membraanien läpi tehokkaammaksi. Zeoliitti-aineet, jotka ovat absorbenttiseoksen eräänä aineosana, sopivat hyvin ureaasireaktiossa syntyvien ammoniumionien absorboimiseen. Kalsiumin lisääminen tällaisiin zeoliitti-aineisiin saa aikaan edullisen kalsium- ja karbonaattivirtauksen potilaaseen. Näin saatu kalsium rajoittaa myöskin fosfaattien paluuta potilaaseen. Kalsiumin ja karbonaatin virtaukset ovat vähäisempiä kuin urean virtaus potilaasta pois päin kalsiumfosfaatin ja kalsiumkarbonaatin saostumisen vuoksi dialyysikammiossa. Vältetään natriumin, asetaatin ja vedyn ylikuormittuminen potilaassa, mikä on

eräs ongelma muissa regenerointilaitteissa. Ca^{++} - ja Mg^{++} -häviöt myöskin vältetään. Absorbenttisuspensio kulkee kohti liikkuvaa dialyysifaasia, joka sekoittuu, kun molemminpuolinen membraani pumpun aktiivisena työntää verta dialyysiaattoriin tai poistaa sitä, estäen näin dialyysiaattiaineiden kyllästymisen ja dialyysiaattivirran kanavoitumisen.

Esillä olevien uusien dialyysiaattiyhdisteiden ja dialyysimenetelmien in vivo-koe suoritettiin seuraavasti. Käytetty dialyysiaattori esitetään kuviossa 6. Dialyysiaattori on US-patenttijulkaisussa 4 061 444 esitettyä tyyppiä. Kussakin dialyysiyksikössä on 8-10 membraanipakettia, joiden läpimitta on 12,7 cm. Kukin paketti käsittää Cuprophen-membraani (PM150)-parin ja keskustiivistein, jonka läpimitta on 1,9 cm ja paksuus 1,0 cm. Keskustiivisteet päästävät veren virtaamaan membraaniparien välillä. Kukin membraanipari on suljettuna kahden nailonverkon väliin. Kunkin paketin ympärys on tiivistetty kahdella selluloosa-asetaattitirenkalla. Kukin verkko on halkaisijaltaan 11,4 cm ja siinä on 2,0 cm:n aukko keskellä. Verkko koostuu kahdesta yhdensuuntaisten säikeiden muodostamasta kerroksesta. Näiden kahden kerroksen yhdensuuntaisten säikeiden muodostama kulma on 60° . Seulan yksityiskohdat ilmenevät kuviosta 7. Kunkin seulan tyhjä tila on täytetty n. 11 grammalla sorbenttimassaa. Sorbenttiseoksen yksityiskohdat kuvataan myöhemmin. Sorbenttiainetta sisältävät verkot kuivataan ilmakeivaksi huoneenlämmössä kahden tai kolmen tunnin ajan ennen yhteenliittämistä. Membraanien jännityslinjat (linjat, jotka kutistuvat kostuessaan) on suunnattu kohtisuoraan membraania peittäviä verkkolankoja vastaan (lukuunottamatta 19A:ssa, jossa ne ovat 45° kulmassa). Kunkin membraaniparin jännityslinjat ovat myös suunnatut kohtisuoraan toisiaan vasten. Pieni (0,02 cm) tila on jätetty kahden tukiverkon välille, jotta suurimman osan membraanipakettiin virtaavasta verestä on venytettävä membraaneja yhdensuuntaisten säikeiden välisiin tiloihin. Yllä mainittu järjestely on suunniteltu pienentämään membraanien venymistä täytettäessä ja helpottamaan veren täydellistä ulosvirtausta puolen ulosvirtausjakson aikana. Dialyysilaitteen mallilla 19 on laajempi (0,9 cm) aukko leikattuna Whatman-suodatinpaperiin ja ylimääräinen selluloosa-asetaattitiiviste, joka täyttää aukon.

Kussakin verkossa olevat sorbentit on kahlehdittu membraanin ja suodatinpaperin (Whatman n:o 1) väliin. Tämä suodatinpaperi päästää veden kulkemaan pois sorbenttisuspensiosta ja näin ollen tekee

mahdolliseksi membraanipaketin aukaisemisen ja sulkemisen. Kutakin suodatinpaperia kannattaa ruiskupuristettu polyetyleenikannatin, jossa on lukuisia 0,05 cm:n pyramidi-ulokkeita. Tässä pyramidi-kannattimessa on uria ulkoreunallaan veden poistamiseksi sorbenteista.

Sen jälkeen, kun paketit 8-19 on liitetty toisiinsa seula-kannattimiseen, suodatinpapereineen ja pyramidi-kannattimiseen, puristettiin yksikkö kahden alumiinilevyn väliin käyttäen kuutta ruostumatonta, kierteillä varustettua tankoa ulkoreunassa. Yksikkö tiivistettiin puristamalla käyttäen muttereita kierretangoissa.

Tiivistämisen jälkeen yksikkö sitten painekoestettiin 300 mmHg:ssä. Ilmatiivis liitos asetettiin veren sisään tulon ja elohopeamanometrin väliin. Elohopeapatsaan alenemisnopeus ilman läpikulunopeutta membraanipakettien läpi. Sopivaa tiiviyyttä kuvattiin patsaan alenemisella 300:sta 290:een mmHg 10 sekunnissa tai sitä pitemmässä ajassa. Mikäli tiiviys oli sopiva, pantiin yksikkö pleksilasilaatikkoon. Natriumkloridi- tai natriumbikarbonaattiliuos lisättiin laatikkoon. Yksikkö oli tällöin valmis seuraavassa esitettävään mekaaniseen kokeeseen.

Vesi lisättiin tavallisesti ennen käyttöä sorbenttien saatamiseksi suspensioon.

Zeoliitti- alhainen Ca-varaus

Käytetyt sorbentit valmistettiin seuraavasti: FSo- ja W85-zeoliitit saatiin Union Carbide-yhtiöltä. Aineet olivat alunperin natriumpitoisia, joskin myös kaliumia oli hiukan mukana. Nämä ioninvaihtoaineet saatettiin 0,5 molaariseen kalsiumkloridiliuokseen 5 %:n suspension aikaansaamiseksi (200 g zeoliittia 4 litraa kohti liuosta). Keskimäärin 1 tunnin kestäneen sekoittamisen jälkeen annettiin zeoliitin laskeutua ja pintaliuos dekantoitiin. Zeoliitti suodatettiin ja kuivattiin. Uudelleen tapahtuneen suspendoinnin jälkeen 0,7 %:seen natriumkloridiin seoksella oli seuraavat tasapainoväkevyudet: 150 mEq natriumia litraa kohti ja 3-15 mEq kalsiumia litraa kohti (keskimäärin 1,5 mEq kalsiumia oli sidottuna grammaa kohti zeoliittia).

Zeoliitti- W-85 -erittäin korkea Ca-varaus

W-85 zeoliitti valmistettiin kalsiumin läsnäollessa ja siinä havaittiin olevan 4,5 mg vaihtuvaa kalsiumia grammaa kohti. Tasapainotilassa oli veden, glukoosin ja hiilen kanssa muodostetussa seoksessa kalsiummäärä 122 ppm, Na-määrä 1 mEq mainittua zeoliittia

kohti.

Zeoliitti-W-85 - korkea Ca-varaus

Alkukokeet dialyysaattori 19A:lla osoittivat kalsium-natrium-vaihdon ylimäärää käytettäessä tätä korkeasti kalsiumpitoista zeoliittia. Sen vuoksi Ca-pitoisuutta vähennettiin saattamalla se koske-
tuksiin 0,4-% NaCl:n kanssa ja sitten NaHCO_3 :n kanssa. HCO_3^- sai aikaan tasapainotilassa olevan kalsiummäärän rajoittamista saostamalla. Na^+ , K^+ ja Ca^{++} -tasapainomäärät olivat kunkin lisäyksen jälkeen seuraavat:

Ensimmäinen lisäys: 400 g vahvasti kalsiumvarattua zeoliittia lisättiin 0,4-% NaCl-liuokseen yhteismäärän ollessa 4 litraa. Pintaliuoksen pitoisuudet olivat seuraavat:

Na	K	Ca	pH
(mEq/l)	(mEq/l)	(mEq/l)	
15-18	0-0,02	53	7,8-7,9

Toinen lisäys: Zeoliitti lisättiin 3,6 litraan NaCHO_3 -liuosta, joka sisälsi 2 mEq NaHCO_3 :ta grammaa kohti zeoliittia. Pintaliuoksen pitoisuudet olivat seuraavat:

Na	K	Ca	pH
(mEq/l)	(mEq/l)	(mEq/l)	
99-103	0	3,1-4	7-7,1

Ensimmäisen lisäyksen aikana sitoutuu keskimäärin 0,5 mEq Na:t kuhunkin zeoliittigrammaan. Toisessa lisäyksessä sitoutuu 1,1 mEq:ta Na:ta. Näin ollen modifioidun vahvasti kalsiumpitoisen zeoliitin vaihtuvat osuudet olivat yksi kolmasosa natriumia ja kaksi kolmasosaa kalsiumia.

Aktivoitu puuhiili

Jauhettua puuhiiltä USP saatiin Mallinkerodt-yhtiöltä. Tämä puuhiili on osoittautunut in vitro sopivaksi sitomaan kreatiniinia, virtsahappoa ja muita orgaanisia aineita.

Sirkoniumfosfaatti

Sirkoniumfosfaattina käytettiin samaa kuin Redy^R-systeemissä. Sitä saatiin CCI Life Systems'iltä (Oklahoma City, Okla), Organon Tecknikon'in osasto. Sirkoniumfosfaatti oli osittain varattu natriumilla ja osittain vedyllä.

Ureaasi, joka oli sidottu zeoliittiin F-SO tai W-85

Yllä kuvatun kalsium- tai natriumliuoksen lisäyksen jälkeen olivat sitten näytteet W-85 ja F-80 valmiita ureaasiin sidottaviksi. Voidaan käyttää normaaleja sitomismenetelmiä, kts. Iyengar and Rao, Biotech. & Bioeng., 21, 1333 (1979). Edullinen ureaasin sitomismenetelmä zeoliittiin on seuraava:

500 g kalsium-vaihdettua Ionsiv W (Union Carbide'n zeoliitti) jauhettiin hufmaressa ja kuivattiin lämpötilassa 55°C n. 48 tunnin ajan. Jauhettu zeoliitti suspendoitiin 2000 ml:aan 12-% (v/v) gamma-aminopropyylietoksisilaanin tolueeniliuokseen. Reaktioseosta sekoitettiin yön yli lämpötilassa 95°C ja suodatettiin sitten Whatman n:o 1 paperin läpi. Suodatettu zeoliitti pestiin kolmasti suspendoimalla suoduskakku 500 ml:aan tolueenia, liettämällä ja sitten jälleen suodattamalla. Suodatettu zeoliitti pestiin kahdesti vielä samalla tavalla 500 ml:lla asetonia paitsi, että suodatinkakku otettiin talteen Whatman n:o 4 paperilta. Suodatinkakku pestiin sitten kolmasti samalla tavalla 900 ml:lla 0,05 M natriumbikarbonaattiliuosta, joka sisälsi 0,001 M kalsiumkloridia, käyttäen Whatman n:o 4 paperia. Pesty zeoliitti suspendoitiin 1 litraan samaa bikarbonaatti-kalsiumkloridi-liuosta ja pidettiin yli yön lämpötilassa 4°C. Sitten lisättiin vielä 6500 ml yllä mainittua bikarbonaatti-kalsiumkloridi-liuosta lietteeseen. Riittävä määrä glutaraldehydiä lisättiin aikaansaamaan lopulliseksi pitoisuudeksi 2,5 % (v/v). Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämmössä n. kolmen tunnin ajan ja derivoitu zeoliitti erotettiin suodattamalla Whatman n:o 1 paperilla. Suoduskakku pestiin viidesti suspendoimalla 900 ml:lla samaa bikarbonaatti-kalsiumkloridi-liuosta ja sitten uudelleen suodattamalla käyttäen Whatman n:o 4 paperia. Tollens'in aldehydikoe näytti lievästi positiiviselta. Sitten raaka ureaasi liuotettiin 2000 ml:aan samaa bikarbonaatti-kalsiumkloridiliuosta riittävässä määrin, jotta väkevyydeksi saatiin 10 mg/ml. Ureaasiluos suodatettiin Cuno Zeta⁺-suodattimen läpi. Yllä mainitulla tavalla saatu, pesty zeoliitti suspendoitiin tähän liuokseen ja saatua seosta sekoitettiin kahden tunnin ajan huoneenlämmössä. Seosta pidettiin sitten yön yli lämpötilassa 4°C. Zeoliittia sisältävä ja siihen sidottu ureaasi kerättiin suodattamalla Whatman n:o 1 paperilla ja pestiin viidesti 900 ml:lla samaa bikarbonaatti-kalsiumkloridi-liuosta edellä kuvatun menetelmän mukaisesti ja zeoliitti kerättiin suodattamalla Whatman n:o 4 paperilla. Tollens'in aldehydikoe oli negatiivinen

toisen pesun jälkeen. Lopullisen pesun jälkeen kostea ureaasi-zeoliitti suspendoitiin riittävään määrään samaa bikarbonaattikalsiumkloridi-liuosta, jotta saatiin lopulliseksi tilavuudeksi 1400 ml. Suspensiolla oli seuraavat ominaisuudet: Kokonaiskiinteäainepitoisuus 0,3313 g/ml, ureaasi-aktiviteetti 110 mU/ml, kokonais-ureaasi-aktiviteetti-yksiköiden sitoutuminen zeoliitin vastaaviin yksiköihin oli 67 % lähtöyksiköiden kokonaismäärästä.

Zeoliitti, johon ureaasi on sidottuna, kerättiin suodattamalla ja kuivaamalla. Kokonaissaanto on 463,8 g.

Ureaasi on sidottuna zeoliittiin F80 ja W55, filipsiittiin tai klinoptiloliittiin saman menetelmän avulla saadussa kalsium-varatussa muodossa. Tällöin ureaasi-sidottu, kalsium-varattu zeoliitti on substituoitu koko tarvittavan kalsium-varatun zeoliitin osalta.

Zeoliitti, johon ureaasi on sidottu, pestiin sitten hyvin tislattulla vedellä ja zeoliitin ureaasi-aktiviteetti zeoliittiosasis- sa määrättiin. Aktiviteetti rajoittui välille 90-120 kansainvälistä yksikköä zeoliittigrammaa kohti (mitattuna BUN 90-100 mg %:na).

Ureaasi pitää ennen zeoliittiin sitomista liuottaa ja vähentää siitä myrkyllisten aineiden osuutta. Eräs ureaasin puhdistusmenetelmä on seuraava: Jack-papujauhoa uutettiin vedellä (400 g 20 litraan tislattua vettä). Seosta sekoitettiin huoneenlämmössä kolmekymmentä minuuttia ja sitten sentrifugoitiin 10 000 x g kolmekymmenen minuutin ajan lämpötilassa 4°C. Pintaliuos pakastekuivat- tiin ruostumattomassa terässpannussa vakuumikuivausuunissa lämpö- tilassa 30°C. Raak'än ureaasin saanto tästä jauhemäärästä on keskimää- rin 100 g spesifisen aktiviteetin ollessa keskimäärin 30 u/mg protei- iinia. Keskimääräinen entsyymisaanto on n. 3300 yksikköä jauhegram- maa kohti.

Sitten 30 g raakaa ureaasia liuotettiin 3,0 litraan steriiliä 0,1 M, pH 7 fosfaattipuskuria, joka sisältää 0,1 M NaCl ja 0,001 M Na₂EDTA. Samea liuos kirkastetaan painesuodattamalla Cuno Zeta-plus suodatinpatruunan läpi. Liuoksen kirkastamisen ohella tämä suodatin poistaa myös joitakin endotoksiineja, joita on mukana raakauuttees- sa. Tätä liuosta sekoitetaan sitten 90 minuutin ajan huoneenlämmössä 50 g:n kanssa aktivoitua tiolisefaroosi 4B kuivapaino-ekvivalenttia, joka oli etukäteen paisutettu ja tasapainotettu saman puskurin avul- la. Aktivoitu tiolisefaroosi 4B on disulfidiseos, joka on muodostu- nut 2,2'-dipyridyylidisulfidista ja glutathionista, jotka on kytket- ty CNBr-aktivoituun sefaroosi 4B:hen. Ureaasin sitomisen jälkeen

seos suodatettiin käyttäen imua ja keskihuokoista sintrattua lasi-suppiloa. Sefaroosi pestään sitten samalla suppilolla suspendoimalla uudelleen kolmasti käyttäen 250 ml pH 7-puskuria. Se tasapainotetaan sitten käyttäen steriiliä pH 8, 0,1 M fosfaattipuskuria, joka sisältää 0,1 M NaCl ja 0,001 M Na₂EDTA. Kokonaisuudessaan n. 1,0 litra puskuria käytetään lukuisissa pesuissa tehostamaan tasapainottumista. Ureaasi eluoidaan sitten sekoittaen 360 ml:n kanssa pH 8 puskuria, joka on tehty 0,025-molaariseksi L-kysteiinissä, huoneenlämmössä 30 minuutin ajan. Saatu seos suodatetaan sintratulla lasisuodatinsuppilolla ja eluoidaan toistuvasti kaikkiaan viisi kertaa. Ensimmäiset kolme eluaattia sisältää 96-98 % koko eluoituvan ureaasin määrästä ja niitä lisätään kunnes lopullinen väkevyys on 0,1 mg/ml edistämään ureaasin stabiloitumista. Tämä liuos dialysoidaan sitten Visking-putkessa 20 tunnin ajan sekoittaen lämpötilassa 4°C 25 tilavuusosaa 0,1 M NaCl vastaan kysteiinin, kystiinin ja fosfaatin suurimman osan poistamiseksi. Lopullinen dialysoitu eluaatti käytetään sitten ureaasilähteenä lietteessä umpinaisessa keinomunuaisessa tai zeoliitin sitomiseksi.

Sorbenttiseos, jota käytetään esillä olevassa uudessa menetelmässä, valmistettiin seuraavasti: Puuhiilijauhe sekoitettiin 1:3 (paino/paino) suhteessa Ca⁺⁺-varatun zeoliitin ja ureaasi-sidotun zeoliitin kanssa. Kutakin tämän kuivan seoksen grammaa kohti lisättiin n. 1,7 ml vettä kiinteään pastan aikaansaamiseksi. Pasta levitettiin seulalle spatulan avulla. Taulukossa 1 esitetään tässä esitetyn kolmen dialysaattorin sorbenttikokoomukset. Dialysaattoreissa, joissa ureaasi ei ole sidottuna zeoliitteihin (7B ja 7D), puhdistettu liukoinen ureaasi lisättiin sen jälkeen, kun membraanipaketit oli liitetty yhteen. Membraaniparien edestakainen liike saa aikaan liukoisen ureaasin kosketuksen ja diffundoitumisen membraanien lähelle.

Suspendoivaa ainetta lisätään kuivaan seokseen niin paljon, että konsentraatio dialyysin aikana tulee olemaan n. 0,5 % metoksiselluloosaa. Vaihtoehtoisesti metoksiselluloosan 0,5-% liuos (1500 sentipoisea) voidaan lisätä yllä mainittuun kuivaan seokseen aikaansaamaan zeoliitin ja hiilen suspensio ja dialysaattisuspensio, jota lisättiin dialysaattoriin tarpeellinen määrä.

Taulukon 1 sorbenttisysteemit eivät olleet suspensiossa ja zeoliitin kyllästäminen voitiin havaita.

Lukemattomien kemikaalien virtauksen kokeilemiseksi dialyysin aikana päätettiin kokeilla dialysaattoria osittain anefriselle

eläimelle. Munuaisten toiminnanvajausta saatiin aikaan poistamalla kokonaan toinen munuainen ja sitomalla kahdesta valtimosta toinen toiseen munuaiseen itse toimenpidettä varten.

Terve sekarotuinen koira, joka painoi 26 kg, nukutettiin käyttäen natriumfenobarbitaalia. Sitä pidettiin nukutuksessa typpioksiduulin ja fluotaanin avulla. Kaula-alue valmisteltiin hyvin ja ajettiin karvat pois. 2 tuuman pituinen pystyavaus tehtiin sitten yhteisen päänvaltimon tupen alueelle. Valtimo-laskimo-sivukanava valmistettiin 0,32 cm sisäläpimittaisesta silikonikumiletkestä ja suoras- ta teflonliitännästä. Silikonikumiletkun ulkopinnalle kohtaan, joka tulee sijaitsemaan juuri ihon alla ulostulon kohdalla, liimattiin Dacron-veluuri käyttäen silikonikumimassaa. Sidekudoksen kasvu tähän dakronveluuriin saa aikaan kaksinkertaisen hyödyn, nimittäin katet- rin paikallaan pysymisen ja bakteerikasvun ehkäisemisen katetriaukon kautta. Teflonliitännät laitettiin sivukanavan sekä valtimo- että laskimo-osuuksiin ja silikoniletku työnnettiin tunneliin kohtaan, joka oli kaulan takaosassa. Tähän pisteeseen oli tehty ulostulo ja iho oli ommeltu katetrin ympärille. Valtimo- ja laskimokanyylit yh- distettiin suoralla liitännällä ja veren virtausta tarkasteltiin. Katetri sidottiin sitten kaulaan ja suojattiin polyetyleenikalvolla.

Valtimo-laskimosivukanavan muodostamisen jälkeen asetettiin koira selälleen ja vatsa valmisteltiin ja ajettiin karvat pois. Keskilinja-aukko tehtiin sitten n. 10-13 cm:n pituisena. Sitten eris- tettiin oikea ja vasen munuainen. Aikaisemmin suoritettu valtimon- kuvaus varmisti sen, että oikeassa munuaisessa oli kaksi munuais- valtimoa. Vasemman munuaisen poisto suoritettiin varsisidonnan (pedicle ligation) jälkeen. Vatsa suljettiin sitten kerrosten avul- la ja eläimen annettiin toipua. Leikkauksen jälkeen eläimelle annet- tiin antibiootteja (ampisilliinia suun kautta). Keflin[®] 250 mg annettiin IV kunkin dialyysin lopulla yhtenä annoksena. Antikoagu- laatio suoritettiin antamalla Ascriptin[®] iä (kukin tabletti sisäl- si 325 mg asetyyilisalisyylihappoa ja magnesium- ja alumiinioksidia). Hepariinia käytettiin 2-3 000 yksikköä laskimonsisäisesti joka 8. tunti, mikäli todettiin sivukanavan tukkeutumista.

Veren urea-typpi ja -kreatiniini mitattiin päivittäin viikon ajan ja sitten n. 3 kertaa viikossa. BUN nousi arvoon 60 ja kreati- niini arvoon n. 3,5, joihin arvoihin kumpikin stabiloituivat. Elektrolyytit olivat normaaleja. Valtimo-laskimo-sivukanava toimi n. 3 viikon ajan. Sen jälkeen se tukkeutui ja tukos poistettiin.

Silloin tällöin suoritetusta heparinisoinnista huolimatta tukkeutui sivukanava jälleen. Tässä kohdin laskimo-kanyyli korvattiin 0,16 cm sisämitan omaavalla silikoniletkulla, jossa oli 3 sivureikää. Silikoniletku pantiin ylempään onttolaskimoon. Ihonalainen kanava ja kalvosin (tract cuff) olivat samanlaisia kuin laskimokanyyli, jota käytettiin valtimo-laskimo-sivukanavassa. Laskimokanyyli täytettiin 3 cm^3 :lla hepariinia (itse kanyylin täyttötilavuus) päivittäin. Muuta hoitoa ei kanyyli tarvinnut.

Dialyysimenetelmän kulku in vivo

Dialyssaattori steriloidtiin panemalla n. 50 cm^3 Betadine R_1 a dialyssaattoriin 10 minuutin ajaksi ja sitten poistettiin betadiini ruiskulla. Muutamia ruiskullisia fysiologista keittosuolaliuosta (steriili huuhteluliuos) injektoitiin sitten dialyssaattoriin ja otettiin pois dialyssaattorista I_2 :n poistamiseksi. Menetelmää jatkettiin kunnes jodi-väri (vaaleankeltainen) oli kirkas.

Steriloinnin jälkeen lisättiin n. 50 cm^3 fysiologista keittosuolaliuosta dialyssaattoriin. Dialyssaattori ripustettiin sitten asteikolla varustettuun sylinteri-astiaan. Aikakytkin, sähköventtiili ja vakuumpumppu liitettiin. Säiliön paine vaihteli -100 ja +200 elohopeamillimetrin välillä. Sisääntulo-ulosmenojaksot säädettiin 42 sekunniksi ja vastaavasti 18 sekunniksi. Nämä kierrosajat oli havaittu aikaansaamaan n. 50 %:n tehon aiemmin suoritetuissa yksivaihe-erotuskokeissa. Steriili kumitulppa pantiin kokeiden ottoaukkoon 4-tieliihtokseen lähelle dialyssaattoria. Tämä tulppa lävistettiin 20 numeron neulalla joka kerta, kun näytteitä oli otettava sisääntuloulosmenokemikaalien määrittämiseksi. Paine saatettiin rajoihin, joka vastasi eläimen sydäntä. Koiran valtimo-laskimosivukanava oli huolellisesti esipuhdistettu betadiinilla. Käyttäen hansikkaita ja steriiliä tekniikkaa 3-tieliitin pantiin valtimo-laskimosivukanavaan siinä tavallisesti pidetyn suoran liittimen sijaan. Kolmitieliitin (polyetyleenin) liitettiin sitten dialyssaattoriin menevään letkuun. Kun tämä letku oli varustettu letkunpuristimella, injektoitiin 3000 yksikköä hepariinia kumitulpan läpi ja täten membraanipakettiin. Sitten letkupuristin poistettiin valtimo-laskimosivukanavan ja dialyssaattorin väliltä ja toinen letkupuristin pantiin väliaikaisesti juuri dialyssaattorikotelon ulkopuolelle sulkemaan veren sisääntulon dialyssaattoriin. Tällöin rekisteröitiin keskimääräinen sivukanavan paine fysiografian ja painemittarin avulla. Sen jälkeen, kun keskimääräinen sivukanavapaine oli rekisteröity, dialyssaattorin laskimopuoli varus-

tettiin letkupuristimella ja keskimääräinen valtimopaine rekisteröitiin. Pulssin nopeus mitattiin myöskin valtimopainetta seuraamalla. Eläimen lämpö mitattiin samoin kuin yleinen fyysinen tila ja hiussuonien uudelleentäyttöaika. Dialyysi aloitettiin sitten panemalla käyntiin aikamittari ja vaakumipumppu ja saattamalla paine vaikuttamaan dialyysikammiossa.

Kerran puolella tunnissa tehtiin sisään- ja ulostulon kemialliset määritykset dialyysin kuluessa. Sisääntulonäytteitä varten pysähdytettiin aikamittari sisääntulon päättyessä ja pantiin letkupuristin 4-tieliitoksen ja dialyysikammion väliin. Käyttäen neulaa ja ruiskua otettiin verinäyte dialyysaattoriletkusta (letku oli huuhtoutunut sisääntulon kuluessa useita kertoja sen tilavuusmäärällä verta). Näyte sekoitettiin hyvin ja valmistettiin heti seerumi. Ulostulonäytteet dialyysaattorista saatiin sulkemalla letkupuristimella 3-tie- ja 4-tie-sulkuhanojen välinen letku sisääntulon pääteosassa. Toista neulalla varustettua ruiskua käytettiin puhkaisemaan kumitulppa ja ottamaan ulostulonäyte. Dialyysaattorin dialyysipuoli avattiin ulkoilman paineeseen ja kaikki veri poistettiin dialyysaattorista ruiskulla. Tämä näyte sekoitettiin hyvin ja siitä otettiin osa heti suoritettavaa seeruminvalmistusta varten. Loput näytteestä injektoidiin takaisin koiraan. Kokeet tehtiin joka puolen tunnin kuluttua kalsiumin, natriumin, kaliumin, pH:n, P_{CO_2} ja kreatiniinin, BUN:n ja ammonium-ionien määrittämiseksi. BUN ja kreatiniini määrättiin kuten edellä, natrium ja kalium määrättiin liekkispektrofotometrin avulla, kalsium atomiabsorptioyksikön avulla ja ammoniumioni glutamiinisyntetisointimenetelmän avulla. Emäsyylimäärä laskettiin käyttäen standardeja P_{CO_2} :n ja pH:n kaavoja.

Yleinen kliininen kunto, verenpaine, pulssin nopeus ja lämpö mitattiin koiralta ainakin joka puolen tunnin välein kokeen aikana. Mitään muutoksia missään näissä arvoissa ei havaittu paitsi satunnaista sydämen tiheälyöntisyyttä (jotka havaittiin myöskin kontrollierien aikana ilman dialyysia).

Dialyysin aikana, jolloin käytettiin koiralla laskimokanyylia (asetettuna ylempään onttolaskimoon), havaittiin, että sisääntulo kanyyliin oli katkonaista. Kateetrin havaittiin olevan herkkä kaulan asennolle, jolloin virtauksen loppuminen vaihteli nopean virtauksen kanssa riippuen oliko koiran kaula koukussa vai ojennettuna. Edelleen kokeet osoittivat, että voitiin saada lisääntynyt

virtausnopeus matalammalla paineella, koska vastus näytti olevan jollain tavalla suhteessa nopeuteen. Tämän vuoksi vaakumipumpun voimakkuutta vähennettiin niin alas kuin -100 elohopeamillimetriä, väliaikaisesti, jolloin saatiin lisääntynyt ulosvirtaus laskimokanyylin kautta. Tilavuusmittaukset suoritettiin käyttäen asteikolla varustettua sylinteriä, (tapauksen mukaan). Virtausnopeus arvioitiin sen jälkeen ja tätä virtausnopeutta käytettiin määrittämään dialyssaattorin suorituskyky.

Kokoveren aktivoitua hyytymisaikaa käytettiin ilmaisemaan eläimen tarvitsemää hepariinia terapian kuluessa. Aktivoidun hyytymisajan mittaukset suoritettiin joka puolen tunnin tai tunnin kuluessa. Koiran aktivoitu alkuhyytymisaika oli keskimäärin 2 minuuttia, joskin kokemus osoitti dialyysissä käytettäessä lukuisia dialyssaattoreita (sorbenttikemikaalien kanssa tai ilman), että tarvittiin ainakin 3,5-4 minuuttia aktivoitua hyytymisaikaa takamaan koagulaation puuttuminen. 1-2000 hepariiniyksikköä injektoidiin eläimeen riippuen siitä, poikkesiko aktivoitu hyytymisaika 1 tai 2 minuuttia määrääjasta.

Verenpaine mitattiin joka puolen tunnin välein. Valtimopaineen mittaamisten välillä paineen arvot ilmaisivat ohimeneviä paineita veressä, jotka sattuivat sisään- ja ulosvirtauksen aikana. Nämä poikkeamat olivat apuna määritettäessä milloin virtausta tapahtui. Mikä tahansa virtauksen keskeytys dialyssaattorissa aiheutti mitattujen paineenvaihtelujen heikkenemisen. Sisääntulon estyminen sivukanavan tai laskimokanyylin kohdalla aiheutti painevaihtelujen korostumista kateetrissa. Painevaihtelujen analyysi varmisti tilavuusvaihtelut asteikolla varustetussa sylinterissä.

Koiran dialysoinnin kuluessa eivät ruumiinlämpö, verenpaine eikä yleiskunto muuttuneet. Molemmilla koirilla, joita oli käsitelty yllä mainitulla tavalla, pulssi näytti vaihtelevan hidaslyöntisyydestä (40-50) nopealyöntisyyteen (180). Koiria ei käsitelty rauhoittavilla aineilla ja nopealyöntisyyden esiintyminen ilmeni silloin, kun outo henkilö ilmestyi tai outo tapahtuma sattui. Aktivoidut hyytymisajat dialyysin aikana kohosivat alkuaan hepariinin alkulisäyksen mukana. Joskus tämä raja nousi vain hiukan yli 2 minuutin, joskus se nousi lähelle ääretöntä. Alla selostettava menetelmä sai aktivoidun hyytymisajan pysymään joka kerta rajojen 3 ja 4,5 minuutin välillä.

Sisääntulo-ulosvirtausmittaukset erilaisille veressä oleville aineille suoritettiin menetelmissä kuvatuilla tavoilla. Urean poisto kuvataan kuviossa 8a samoin kuin kreatiniinin poisto. Poisto-osa oli keskimäärin 40-60 %. Poisto-osa ei muuttunut ajan mukana osoittaen täten, ettei joko ureaa tai kreatiniinia kyllästynyt kokeen aikana. Veren virtausnopeus dialyssaattoriin oli jonkin verran vaihteleva. Kuitenkin kullakin dialyssaattorilla oli maksimitäyttilavuus n. 2-3 ml membraanipakettia kohti (1-1,5 ml 100 cm² pinta-alaa kohti).

Kuvio 8b kuvaa urean poistotehoa. Lukuunottamatta dialyssaattoreita 19A ja 19E (kummallakin vähäinen ureaasi-aktiivisuus) ureatehot ovat välillä 30-60 %. Mitään todisteita urean tai NH_4^+ :n kyllästymisestä ei havaittu edes 4 tunnin pituisen dialyysin aikana.

Kuvio 8c kuvaa kreatiniinin poistotehoa. Dialyssaattorissa 19B ei ollut puuhiiltä ja sillä oli sen vuoksi alhainen poistoteho (ja aleneva tehokkuus). Dialyssaattoreilla 19C ja 19E oli lievästi vähenevä tehokkuus (rajojen 20 ja 50 % välillä) 4 tunnin dialyysin aikana.

Dialyssaattorien ioni-tasapainon määrittämiseksi tarkoituksenmukaiseksi munuaisvajauksen hoitoon tehtiin kuvat 9a-9g.

Kuvio 9a kuvaa vaihteluita veren ioni-väkevyydessä yhden dialyssaattorin läpikulun kuluessa (sisäänvirtaus/ulosvirtaus). Tässä kokeessa käytettiin H^+ - Na^+ -varattua sirkoniumfosfaattia adsorbenttisuspensiossa. Urean poisto oli riittävää, mutta kuten oli odotettavissa tapahtui veren hapottumista (emäsyylimäärä laski). Ca^{++} poistettiin myös. Tällainen ionien vaihto ei olisi sopivaa ureemisen potilaan terveydelle.

Kuvio 9b kuvaa samankaltaista menetelmää, jossa kuitenkin käytettiin sirkoniumfosfaatin tilalla kalsium-varattua (20 %) zeoliittia. Jälleen urean poisto oli riittävä ja potilaaseen palaavan emäksen määrä oli tarkoituksenmukainen ureemisen potilaan terveydelle. Kuitenkin natriumylimäärä (potilaan terveydelle) oli palautunut ja siirtynyt takaisin vereen, koska zeoliitti oli pääasiallisesti varattu Na^+ :lla.

Kuvio 9c kuvaa aineiden vaihtoa (sisäänvirtaus/ulosvirtaus) in vivo-kokeiden aikana 19A dialyssaattorilla (korkea kalsium-varattu zeoliitti ja minimi ureaasi-aktiviteetti). Kuten kuvioista 9c

nähdään, kalsiumin kulku vereen ja natriumin poisto verestä oli suurin ioninvaihdosta. Urean poisto oli pieni. Lisäksi emäksen poistoa verestä havaittiin ja pH laski veressä. Oli jokseenkin selvää, että pH-muutos johtui kalsiumin saostumisesta bikarbonaatin kanssa dialysaatissa. Systeeminen veren (sisäänvirtaus) natrium putosi 7 mM/l käsittelyn aikana ja veren kalsium kohosi arvosta 8,5 arvoon 19,0 mg% käsittelyn kuluessa. Sykinnän epäsäännöllisyyttä havaittiin. pH-arvo putosi lievästi (7,35:sta 7,30:een pH-yksikköä).

Kuviot 9d, e, f ja g kuvaavat sarjan 19 dialysaattoreita, joissa käytettiin korkeasti kalsium-varattua zeoliittia (korkea kalsium-varaus, joka osittain oli varattu Na:lla). Sisäänvirtaus-ulosvirtaus-väkevyysvaihtelut esitettiin ajan funktiona urealle ja eri ioneille. Kussakin tapauksessa Na^+ -poisto oli vähäisempi kuin käytettäessä erittäin vahvasti kalsium-varattua zeoliittia ja tuli minimaaliseksi dialyysin lopussa. Kalsiumin paluu vereen oli myös kohtuullista ollen 2-6 mM/l muutos. Kalium tuli poistetuksi samoin kuin urea ja kreatiniini. Bikarbonaatti-paluu oli tavallisesti suhteessa ureaasi-aktiviteettimäärään (5-10 meq/l HCO_3^-). Systeeminen veri (sisäänvirtaus) muuttui vain lievästi käsittelyn kuluessa: kalsium nousi 0,75-1,5 mg% ja Na laski 1,2-3,7 meq/l.

Dialysaattoreiden 19 sarjassa, joissa oli korkeasti kalsium-varattua zeoliittia, kalsiumarvot dialysaatissa kohosivat 11,5-22 mg% dialyysin kuluessa (arvosta 1,0 arvoon 7,2 mg%). Natrium kohosi arvoihin 61-96 meq/l arvoista 36-68 meq/l. Suurimmillaan käytettäessä korkeasti kalsium-varattuja zeoliitteja nousi kalsiumarvo dialysaatissa 91 mg%:iin ja natrium aleni arvoon 31 meq/l.

Kuvio 10 kuvaa ammoniumia, jota muodostui veren käsittelyn kuluessa käytettäessä dialysaattoreiden 19 sarjoja. Muodostunut $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$ -määrä jaettiin verestä erotetun urean mM-määrällä, jotta saatiin zeoliitin NH_4^+ -erotusteho. Ureatypen 100 % paluu eläimeen on merkittävä $\Delta\text{NH}_3\text{-NH}_4^+/\Delta$ urea kahdesta. Ammoniumin muodostuminen oli paljon korkeampi runsaasti ammoniumia muodostavilla dialysaattoreilla (19D,E), joissa E:llä oli jopa 6000 $\mu\text{M/l}$ ja 18000 $\mu\text{M/l}$ D:llä. 19E:llä pitemmät veren "viipymisajat" dialysaattorin sisällä (1,5-3,0 min.) johti matalampiin NH_4^+ arvoihin.

Sallittavat NH_4^+ /urea-arvot olisivat alle n. 0,6 (30 % urea-typpeä palaa takaisin $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$:nä). Systeemisen veren (sisäänvirtaava) arvot eivät koskaan kohonneet paljoa yli normaalin missään 19 sarjojen kokeissa, eikä mitään ammonium-myrkytysoireita havaittu.

Kuten voidaan nähdä yllä olevista tuloksista liikkuvalla sorbentilla varustetut suljetut dialysaattorit silloin, kun niitä käytetään vakioapaineella, ovat mekaanisesti käyttökelpoisia. Vaikkakin suhteellisen korkeita virtausnopeuksia esiintyy sisäänvirtauksen ja ulosvirtauksen alussa, nämä virtaukset ovat mahdollisia saada koiran laskimokäytävästä. Tällaisia virtauksia on mahdollista saada myöskin tavallisesta ihmisen fistelistä. Tällaisia dialysaattoreita voidaan käyttää ottamalla veri vain laskimokäytävästä (vaikkakin virtausnopeus tässä tapauksessa on hiukan vaihteleva). Käytetty sorbenttisysteemi on tehokas poistamaan urea ja kreatiniini käsitelystä verestä. Lisäksi in vivo ja in vitro funktionaaliset kokeet osoittivat, ettei urea ja kreatiniini konsentroitunut toistettaessa vaiheet jopa 4 tunnin aikana ja n. 50 % tehokkuus on helposti saavutettavissa.

Mitään akuuttia myrkyvaikutusta ei havaittu millään eläinkokeella, kun dialysoitiin jopa 3-4 tunnin ajan.

Dialysaattorit, joissa käytettiin matala-kalsiumvarattua zeoliittia, aiheuttivat vain vähäistä kalsiummuutosta ja palauttivat bikarbonaatin eläimeen. Lieviä määriä natriumia muodostui, mutta ei tarpeeksi kohottamaan merkittävästi eläimen seeruminatriumia. Tämä natriumin paluu aiheuttaisi vaikeuksia tehokkaampia dialysaattoreita käytettäessä potilaille, joilla esiintyy munuaisten vajaatoimintaa.

Erittäin vahvasti kalsium-varatut zeoliitit aiheuttavat myös vaikeuksia ioni-tasapainossa dialysaattoreissa. Vaarallista hyperkalsemiaa esiintyy eläimellä, jolla arvot ovat kaksinkertaiset normaaliin verrattuina (ureaasitapahtuman puuttuessa). Myöskin ureaasin puuttuessa huomattavaa emäksen poistoa tapahtuu bikarbonaatin saostuessa kalsiumin kanssa sorbenttisuspensiossa. Tapahtuu huomattavaa natriumin poistoa, joka johtaa 7 mM/l:n alenemista seerumin natriumissa.

Käytettäessä vahvasti kalsium-varattua zeoliittia (keskimäärin 50 % Ca^{++}) tuli ionitasapaino sopivaksi munuaisvajauksesta kärsivälle eläimelle. Natriumin poisto dialyysin aikana väheni ja

on vain kohtuullisen suuruinen. Kalsiumin paluu eläimeen on myös kohtuullista ja seerumin kalsiumin kohoaminen minimaalista. Emäksen paluu potilaaseen on sopivaa. Kalium tulee poistetuksi tehokkaasti.

Ureaasin sitoutuminen zeoliittiin näyttää aikaansaavan tehokkaan ureaasitehon eikä mitään siihen liittyviä myrkytysoireita esiintynyt.

Veriosastojen nestesterilointi betadiinilla ei vaikuta ureaasiaktiviteettiin eikä sorbenttitoimintaan ja näytti olevan tehokasta estämään infektiota.

Huippuvirtausnopeus, joka havaittiin olevan eläinkokeissa jopa 5 ml/sek, on ilmeisesti mahdollista saada laskimokäytävästä ja varmasti saatavissa käyttämällä yksinkertaista kateetria fistulassa. Mahdollisuus käyttää laskimokäytävää tässä dialyysimenetelmässä voi tehdä mahdolliseksi käyttää vaihtoehtoisesti verisuonikäytävää. Dialyssaattorin täyttötilavuus dialyysin kuluessa on vakio. Ultrasuodattuminen on, kuten on arveltu, lähellä Cuprophan[®] 'in ultrasuodatuskerrointa.

Bikarbonaatti-puskurin käyttö asetaatin sijaan on mahdollista käytettäessä suljettua (uudelleen kiertävää) keinomunuaista.

Patenttivaatimukset:

1. Dialyysikoostumus ureemisten aineiden adsorboimiseksi keinomunuaisessa, t u n n e t t u siitä, että se sisältää suspendointiaineeseen suspendoitua kationinvaihtajaa.

2. Dialyysikoostumus käytettäväksi keinomunuaisessa, t u n n e t t u siitä, että se sisältää pinta-adsorboivaa ainetta, joka pystyy adsoeboimaan ureemisia aineita, entsyymiä katalysaattoriksi urean hajottamiseen, ja kationinvaihtajaa, joka voidaan suspendoida mainittuun suspendointiaineeseen.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen dialyysikoostumus, t u n n e t t u siitä, että pinta-adsoeboiva aine on hiili.

4. Patenttivaatimuksen 2 mukainen dialyysikoostumus, t u n n e t t u siitä, että pinta-adsorboiva aine on ioninvaihtoharts.

5. Jonkin patenttivaatimuksen 2-4 mukainen dialyysikoostumus, t u n n e t t u siitä, että mainittu entsyymi on ureaasi.

6. Jonkin patenttivaatimuksen 1-5 mukainen dialyysikoostumus, t u n n e t t u siitä, että mainittu suspendointiaine on metyyli-selluloosa, hydroksietyylitärkkelys tai dekstraani.

7. Jonkin patenttivaatimuksen 1-5 mukainen dialyysikoostumus, t u n n e t t u siitä, että mainittu kationinvaihtaja on zeolittikationinvaihtaja.

8. Jonkin patenttivaatimuksen 1-6 mukainen dialyysikoostumus, t u n n e t t u siitä, että mainittu kationinvaihtaja on filippii, klinoptiloliitti tai synteettinen zeoliitti.

9. Jonkin patenttivaatimuksen 1-7 mukainen dialyysikoostumus, t u n n e t t u siitä, että mainittu kationinvaihtaja on kalsium-varattu.

10. Jonkin patenttivaatimuksen 1-8 mukainen dialyysikoostumus t u n n e t t u siitä, että mainittu kationinvaihtaja on varattu 30-80 mooli-%:lla kalsiumia, 20-50 mooli-%:lla natriumia ja 0-20 mooli-%:lla kaliumia.

11. Menetelmä ureemisten aineiden poistamiseksi hemodialyy-sin aikana, t u n n e t t u siitä, että käytetään jossakin pa-tenttivaatimuksen 1-10 määriteltä dialyysikoostumusta, ja saate-taan tämä dialyysikoostumus kosketuksiin veren kanssa niin, että

hoitomenetelmä

mainittu koostumus adsorboi verestä ureemiset aineet ja puhdistaa veren.

12. Patenttivaatimuksen 11 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että dialyysikoostumus on patenttivaatimuksessa 2 määritellyn mukainen.

13. Patenttivaatimuksen 11 tai 12 mukainen menetelmä ureemisten aineiden poistamiseksi hemodialyysin aikana keinomunuaisessa, jossa on membraaneja mainitun dialyysikoostumuksen ja puhdistettavan veren välissä, t u n n e t t u siitä, että dialyysikoostumus saatetaan kosketuksiin membraanien toisen puolen kanssa kun taas puhdistettava veri on kosketuksissa membraanien toisen puolen kanssa.

14. Jonkin patenttivaatimuksen 11-13 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että dialyysikoostumus on kosketuksissa membraanin kanssa ilman, että dialyysikoostumus on nopeassa liikkeessä.

15. Jonkin patenttivaatimuksen 11-14 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että dialyysikoostumusta sekoitetaan hitaasti, jotta estettäisiin sen kyllästyminen lähellä membraaneja.

16. Jonkin patenttivaatimuksen 11-15 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että käytetyssä dialyysikoostumuksessa on kalsiumvarattua kationinvaihtajaa.

17. Jonkin patenttivaatimuksen 11-16 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että dialyysikoostumus on suspensio, joka sisältää varattua kationinvaihtajaa, joka on varattu 30-80 mooli-%:lla kalsiumia, 20-50 mooli-%:lla natriumia ja 0-20 mooli-%:lla kaliumia.

18. Jonkin patenttivaatimuksen 11-17 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kalsium palautetaan dialyysikoostumuksesta vereen verta puhdistettaessa hemodialyysin aikana.

19. Patenttivaatimuksen 11 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että käytetään keinomunuaista, jossa on puoliläpäiseviä kalvoja ja jossa patenttivaatimuksessa 2 määritelty dialyysikoostumus on suspension muodossa kosketuksissa membraanien kanssa niiden toisella puolella ja membraanien toisella puolella on verta, joka sisältää ureemisia aineita, jolloin ureemiset aineet poistuvat verestä mainitun dialyysikoostumuksen avulla.

20. Patenttivaatimuksen 19 mukainen menetelmä, t u n n e t -
t u siitä, että mainitun dialyysikoostumuksen suspensio kestää
pitkiä ajanjaksoja ja että dialyysikoostumusta sekoitetaan hitaas-
ti sen ollessa kosketuksissa membraanien kanssa, jotta vältettäi-
siin kyllästys lähellä membraaneja.

21. Patenttivaatimuksen 19 tai 20 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että dialyysikoostumus sisältää hiiltä,
ureaasia ja kalsiumvarattua kationinvaihtajaa ja että mainitusta
yhdisteseoksesta palautetaan vereen hyödyllinen ionivirta, kun taas
ureemiset aineet poistetaan verestä.

22. Jonkin patenttivaatimuksen 19-21 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että dialyysikoostumus on suspensio, jossa
kationinvaihtaja on varattu 30-80 mooli-%:lla kalsiumia, 20-50
mooli-%:lla natriumia ja 0-20 mooli-%:lla kaliumia.

23. Jonkin patenttivaatimuksen 10-22 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että ureaasi-reaktion aikana syntyy
 $\text{CO}_3^{=}$:a ja että sekä kalsium että $\text{CO}_3^{=}$ palautetaan vereen, kun taas
ureemiset aineet poistetaan verestä.

7
hoitoaine-
keino

Patentkrav:

1. Dialyskomposition för adsorption av uremiska substanser i en konstgjord njure, k ä n n e t e c k n a d av en katjonbutare suspenderad i ett suspensionsmedel.

2. Dialyskomposition att användas i en konstgjord njure, k ä n n e t e c k n a d av ett ytadsorptivt medel som är kapabelt att adsorbera uremiska substanser; ett enzym för tjänstgöring som en katalysator för ureanedbrytning; ett suspensionsmedel; och en katjonbytare som kan suspenderas i nämnda suspensionsmedel.

3. Dialyskomposition enligt patentkravet 2, k ä n n e t e c k n a d därav, att nämnda ytadsorptiva medel är träkol.

4. Dialyskomposition enligt patentkravet 2, k ä n n e t e c k n a d därav, att nämnda ytadsorptiva medel är ett jonbytarharts.

5. Dialyskomposition enligt något av patentkraven 2-4, k ä n n e t e c k n a d därav, att nämnda enzym är ureas.

6. Dialyskomposition enligt något av patentkraven 1-5, k ä n n e t e c k n a d därav, att nämnda suspensionsmedel är metylcellulosa, hydroxietylstärkelse eller dextran.

7. Dialyskomposition enligt något av patentkraven 1-5, k ä n n e t e c k n a d därav, att nämnda katjonbytare är en zeolitkatjonbytare.

8. Dialyskomposition enligt något av patentkraven 1-6, k ä n n e t e c k n a d därav, att nämnda katjonbytare är någon av fiilipsit, clinoptilolit och syntetiska zeoliter.

9. Dialyskomposition enligt något av patentkraven 1-7, k ä n n e t e c k n a d därav, att nämnda katjonbytare är kalciumladdad.

10. Dialyskomposition enligt något av patentkraven 1-8, k ä n n e t e c k n a d därav, att nämnda katjonbytare är laddad med 30-80 % kalcium, 20-50 % natrium och 0-20 % kalium på molbasis.

11. Förfarande för avlägsnande av uremiska substanser under hemodialys, k ä n n e t e c k n a t därav, att mantillhandahåller en dialyskomposition enligt något av patentkraven 1-10; och utsätter nämnda dialyskomposition för blod så att nämnda komposition

adsoeberar uremiska substanser från nämnda blod för att rena detsamma.

12. Förfarande enligt patentkravet 11, k ä n n e t e c k n a t därav, att dialyskompositionen är som definierats i patentkravet 2.

13. Förfarande enligt patentkravet 11 eller 12 för avlägsnande av uremiska substanser under hemodialys i en konstgjord njure som inkluderar membran mellan nämnda dialyskomposition och nämnda blod som skall renas, k ä n n e t e c k n a t därav, att nämnda dialyskomposition bringas i kontakt med ena sidan av nämnda membran medan nämnda blod som skall renas står i kontakt med andra sidan av nämnda membran.

14. Förfarande enligt något av patentkraven 11-13, k ä n n e t e c k n a t därav, att förfarandet inkluderar kontaktande av nämnda dialyskomposition med nämnda membran i frånvaro av snabb rörelse hos nämnda dialyskomposition.

15. Förfarande enligt något av patentkraven 11-14, k ä n n e t e c k n a t därav, att nämnda dialyskomposition utsätts för långsam blandning för förhindrande av mättnings i nämnda dialyskomposition nära nämnda membran.

16. Förfarande enligt något av patentkraven 11-15, k ä n n e t e c k n a t därav, att nämnda tillhandahållna dialyskomposition inkluderar en suspenderad kalciumladdad katjonbytare.

17. Förfarande enligt något av patentkraven 11-16, k ä n n e t e c k n a t därav, att nämnda dialyskomposition är en suspension, i vilken nämnda katjonbytare laddats med 30-80 % kalcium, 20-50 % natrium och 0-20 % kalium på molbasis.

18. Förfarande enligt något av patentkraven 11-17, k ä n n e t e c k n a t därav, att kalcium från nämnda dialyskomposition återföres till blodet medan nämnda blod renas under hemodialys.

19. Förfarande enligt patentkravet 11, k ä n n e t e c k n a t därav, att i en konstgjord njure, som har semipermeabla membran, kontaktar en dialyskomposition enligt definitionen i patentkravet 2 ena sidan av nämnda membran och andra sidan av membranen står i kontakt med blod, varvid uremiska substanser i nämnda blod utdrages

från detsamma av nämnda dialyskomposition.

20. Förfarande enligt patentkravet 19, k ä n n e t e c k n a t därav, att suspension av nämnda dialyskomposition utsträcks över långa tidsperioder och att nämnda dialyskomposition utsätts för långsam blandning under kontakten med membranen för förhindrande av mättning hos föreningar nära nämnda membran.

21. Förfarande enligt patentkravet 19 eller 20, k ä n n e t e c k n a t därav, att nämnda dialyskomposition inkluderar tråkol, ureas, och en kalciumladdad katjonbytare, och att nyttig jonvädning från nämnda blandning av föreningar återföres till blodet medan nämnda uremiska substanser avförs från blodet.

22. Förfarande enligt något av patentkraven 19-21, k ä n n e t e c k n a t därav, att nämnda dialyskomposition är en suspension, vari nämnda katjonbytare är laddad med 30-80 % kalcium, 20-50 % natrium och 0-20 % kalium på molbasis.

23. Förfarande enligt något av patentkraven 19-22, k ä n n e t e c k n a t därav, att $\text{CO}_3^{=}$ utvecklas under ureasreaktionen och att både kalcium och $\text{CO}_3^{=}$ återföres till blodet medan nämnda uremiska lösningar avförs från detsamma.

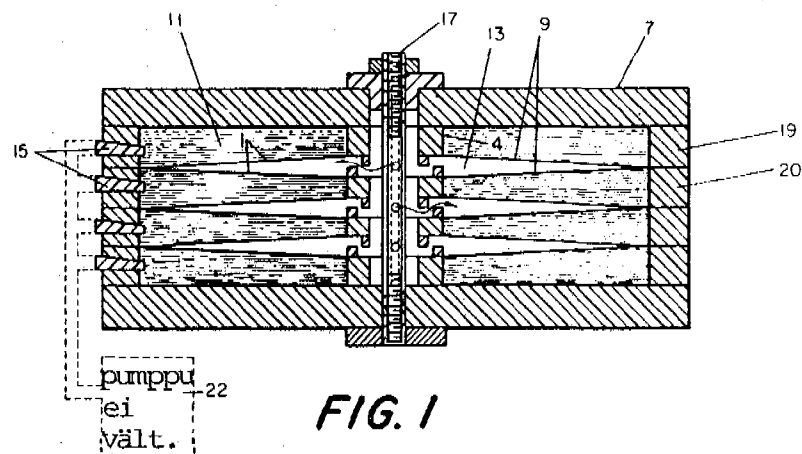
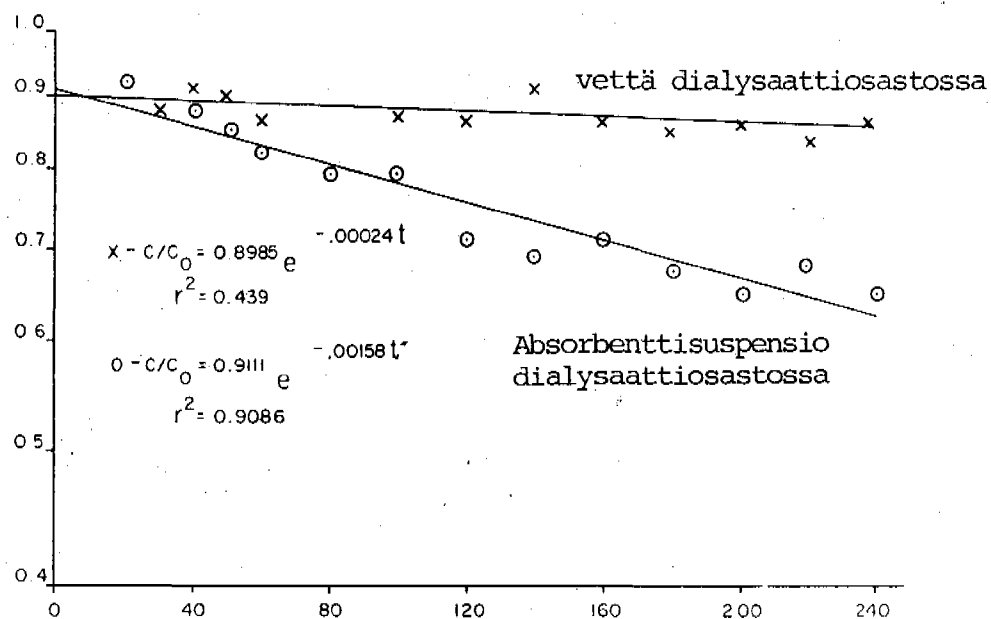


FIG. 1

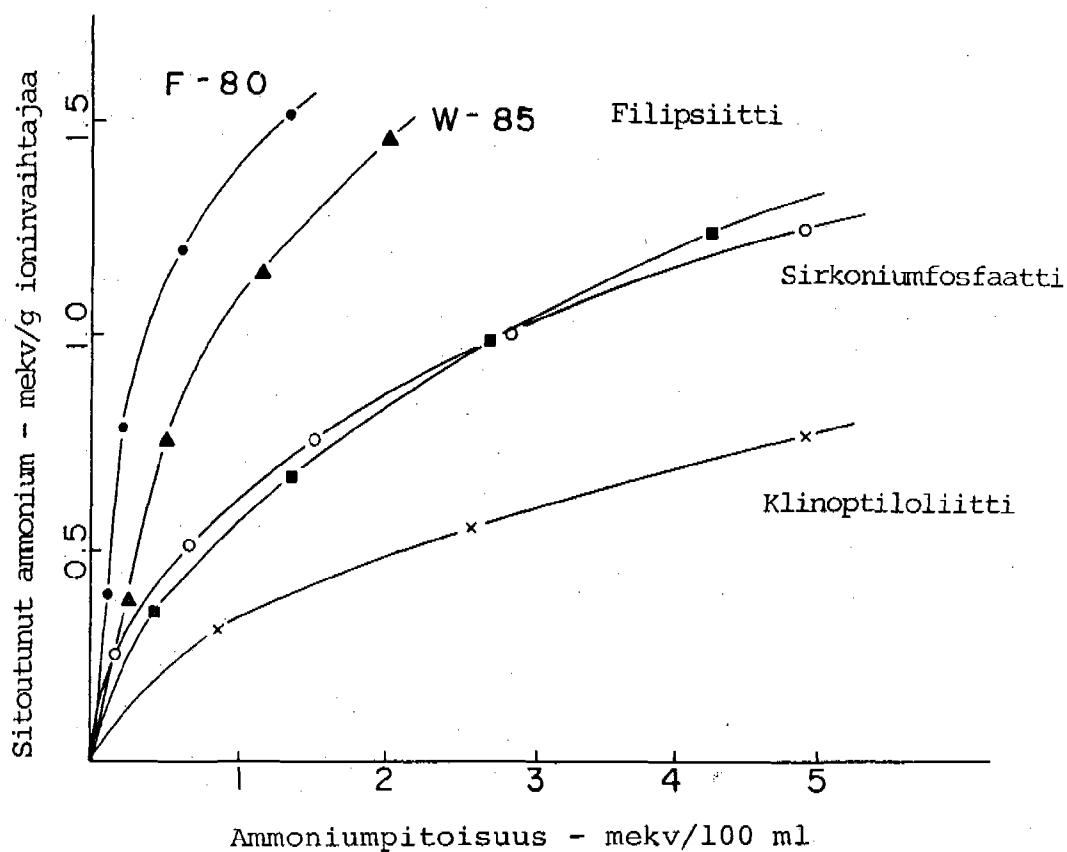
Kreatiiniinipitoisuus, ulostulo/sisääntulosuhde



Viipymisaika sekunteina

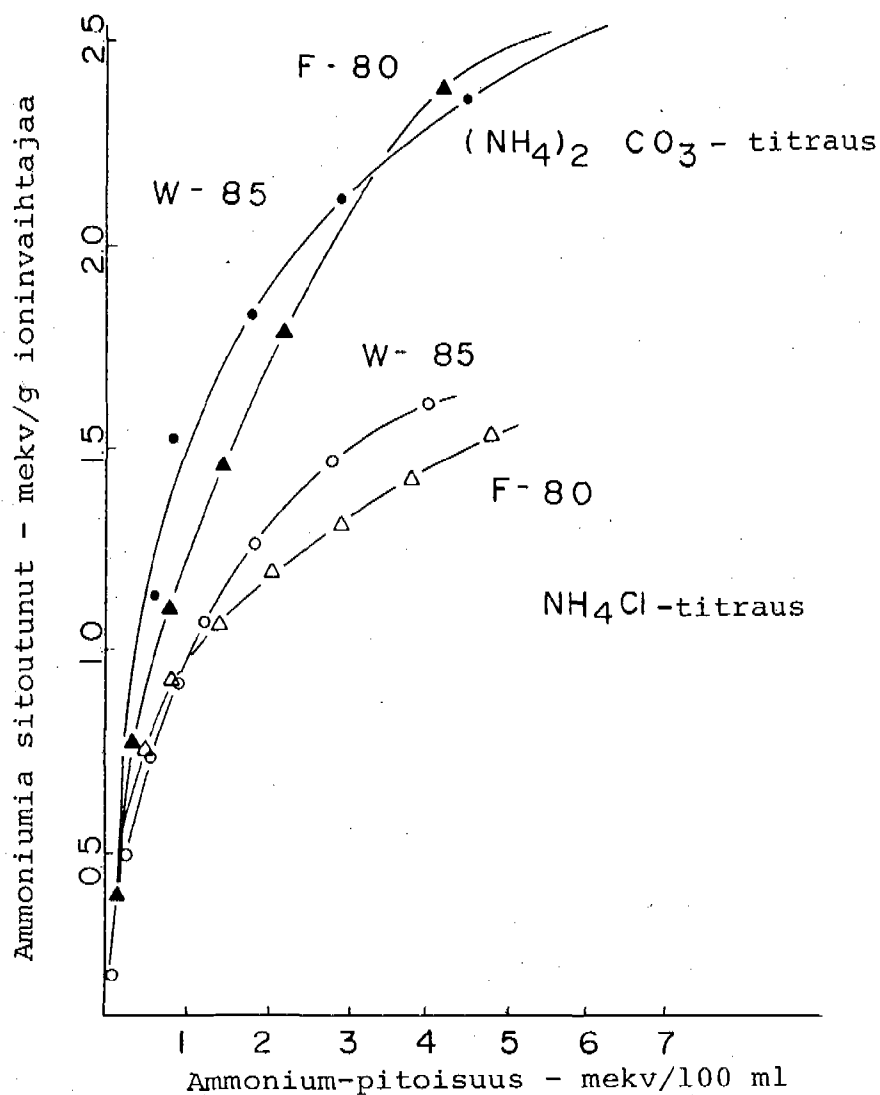
Kreatiiniinipitoisuuden aleneminen keinomunuaisen veriosastossa ajan funktiona. Aleneminen on nopeampaa kuin membraaneja ympäröi adsorbenttisuspensio kuin veden ympäröidessä membraaneja.

FIG. 2



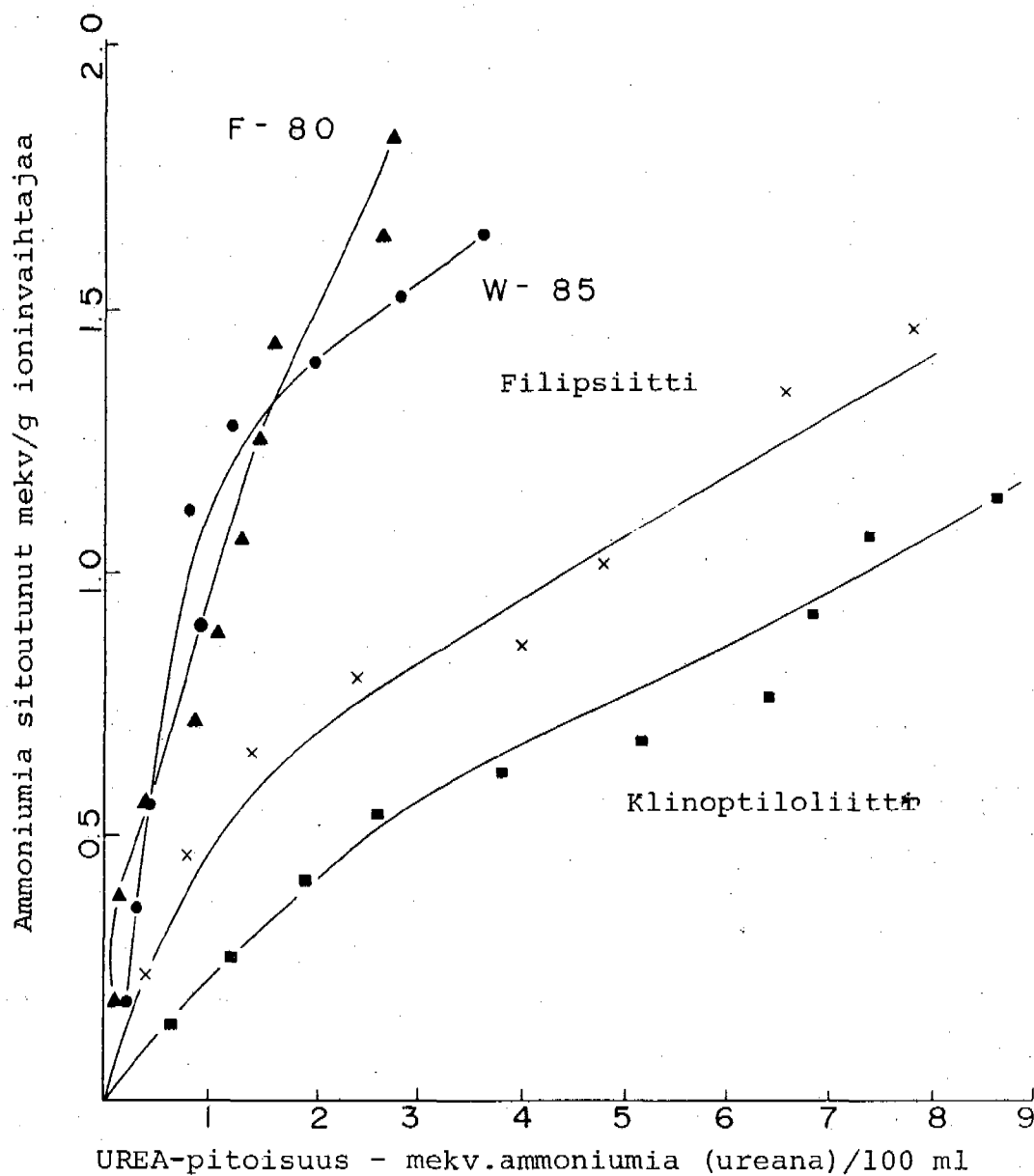
Zeoliittien ja sirkoniumfosfaatin titraus ammoniumkloridilla. Sitoutuneen ammoniumin määrä on laskettu vähentämällä suspensioon lisätystä ammoniummäärästä supernatantin sisältämä ammonium. Vaaka-suoralla akselilla on supernatantin ammoniumpitoisuus tasapainossa. Kaikki zeoliitit on varattu natriumilla, sirkoniumfosfaatti on varattu vedyllä - natriumilla.

FIG. 3



Zeoliittien titraus ammoniumkloridilla ja ammoniumkarbonaatilla. Sitoutuneen ammoniumin määrä on laskettu vähentämällä suspensioon lisätystä ammoniummäärästä supernatantin sisältämä ammonium. Vaakasuoralla akselilla on supernatantin ammoniumpitoisuus tasapainossa. Zeoliitit on varattu 50 %:lla kalsiumia.

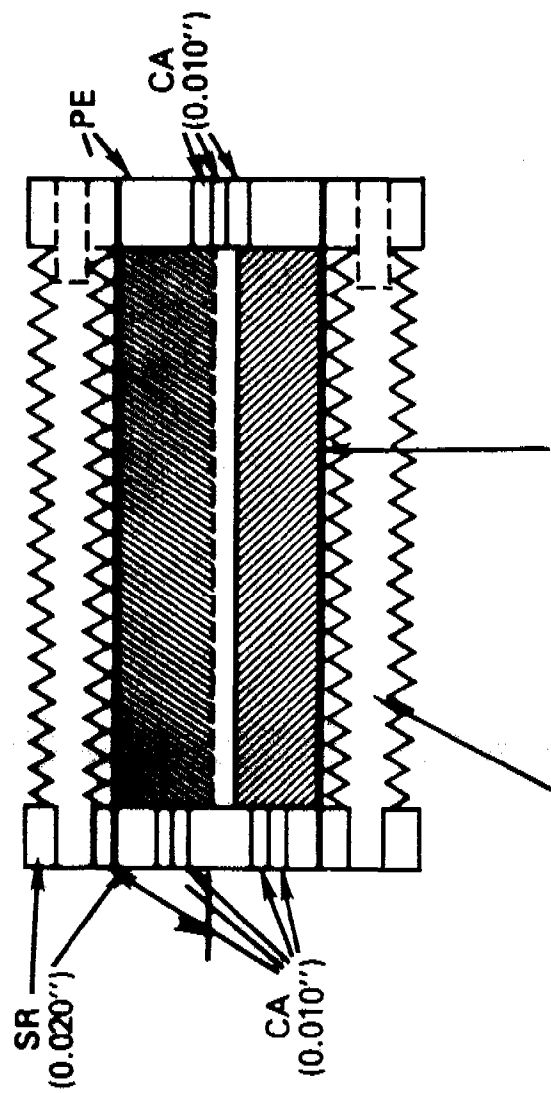
FIG. 4



Ammoniumin sitoutuminen zeoliitteihin ureaa ja ureaasia sisältävästä liuoksesta. Ureareaktion annetaan saavuttaa tasapainotila 30 minuutin kuluessa. Supernatantin ureapitoisuus on ilmoitettu ammoniumina (yhtä ureamolekyyliä kohti syntyy 2-ammoniumionia).

FIG. 5

FIG. 6



CA:
PE:
SR:

FIG. 7

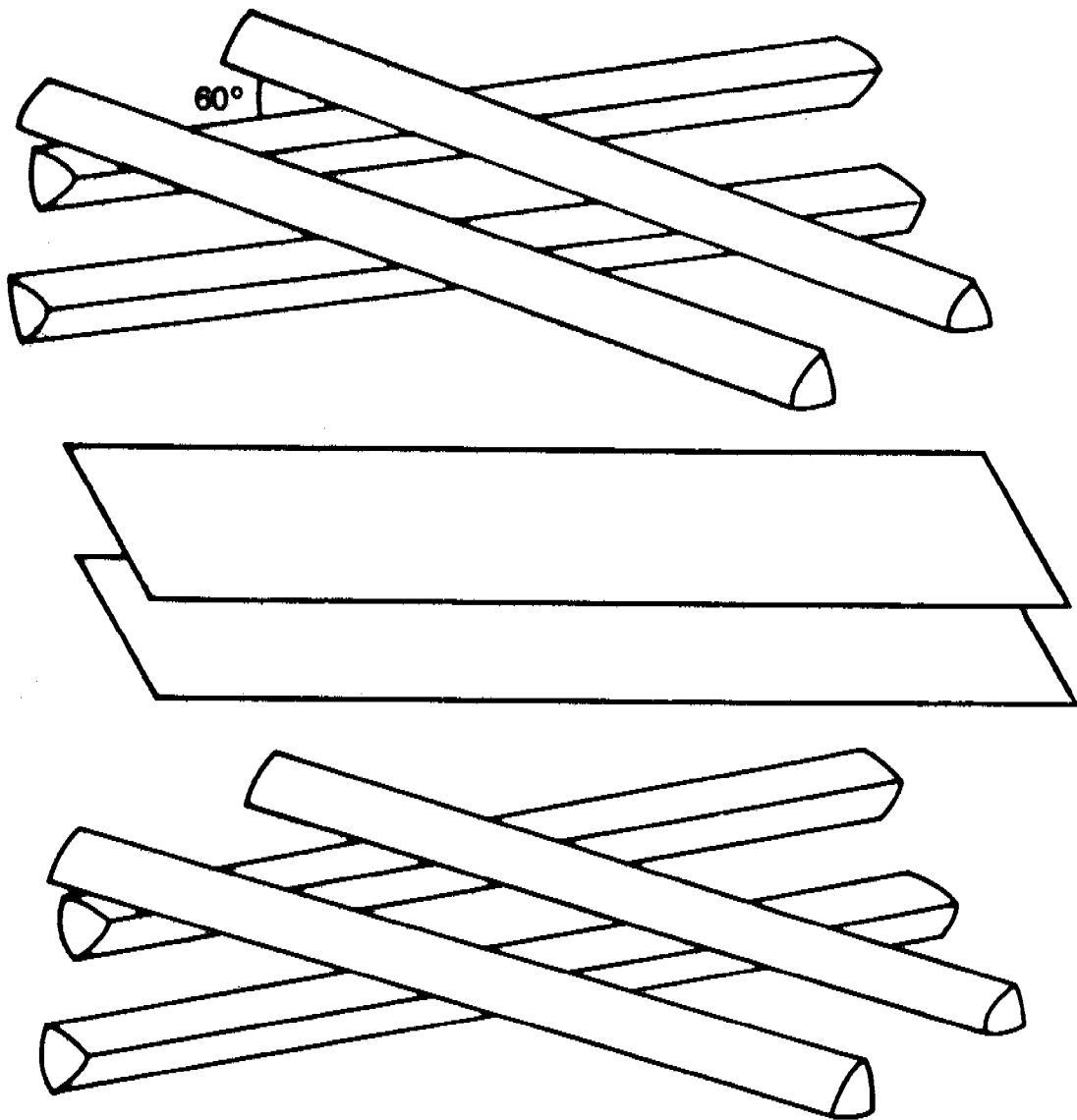


FIG. 8a

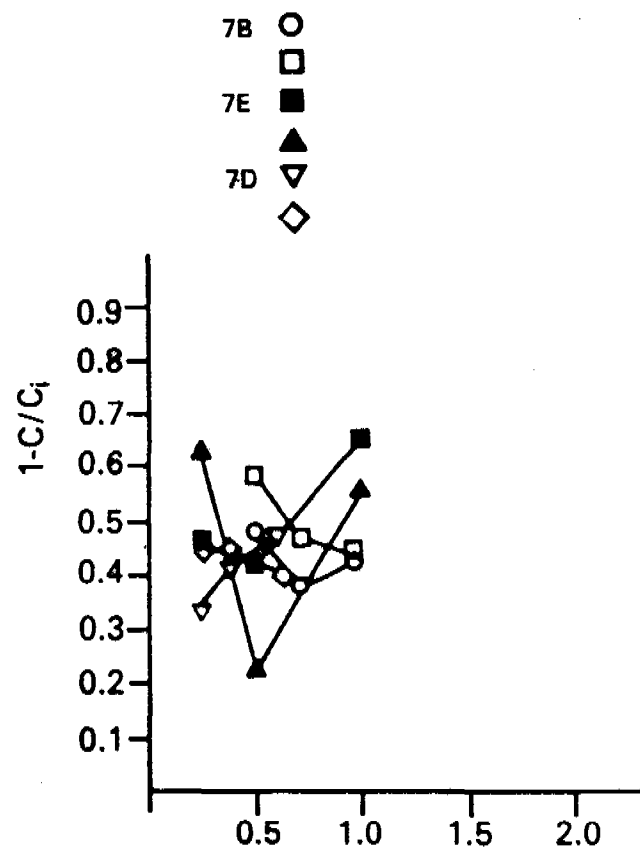


FIG. 8b

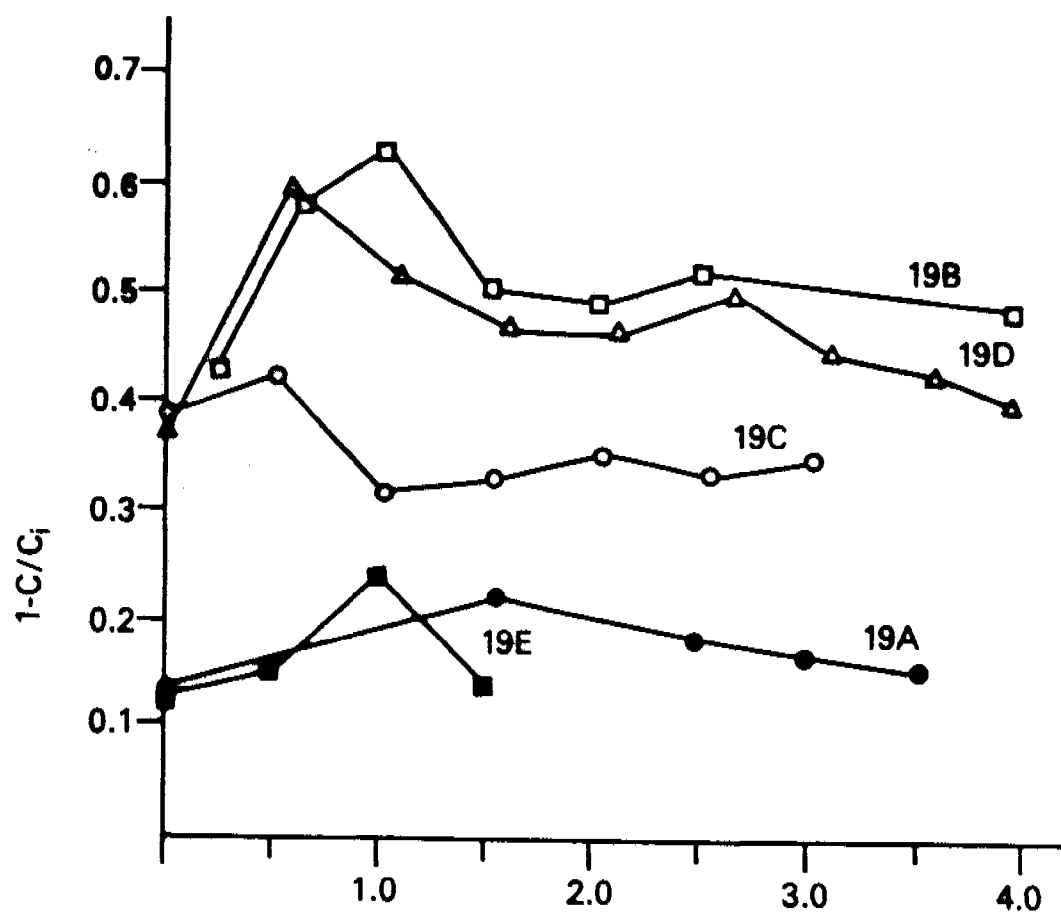


FIG. 8c

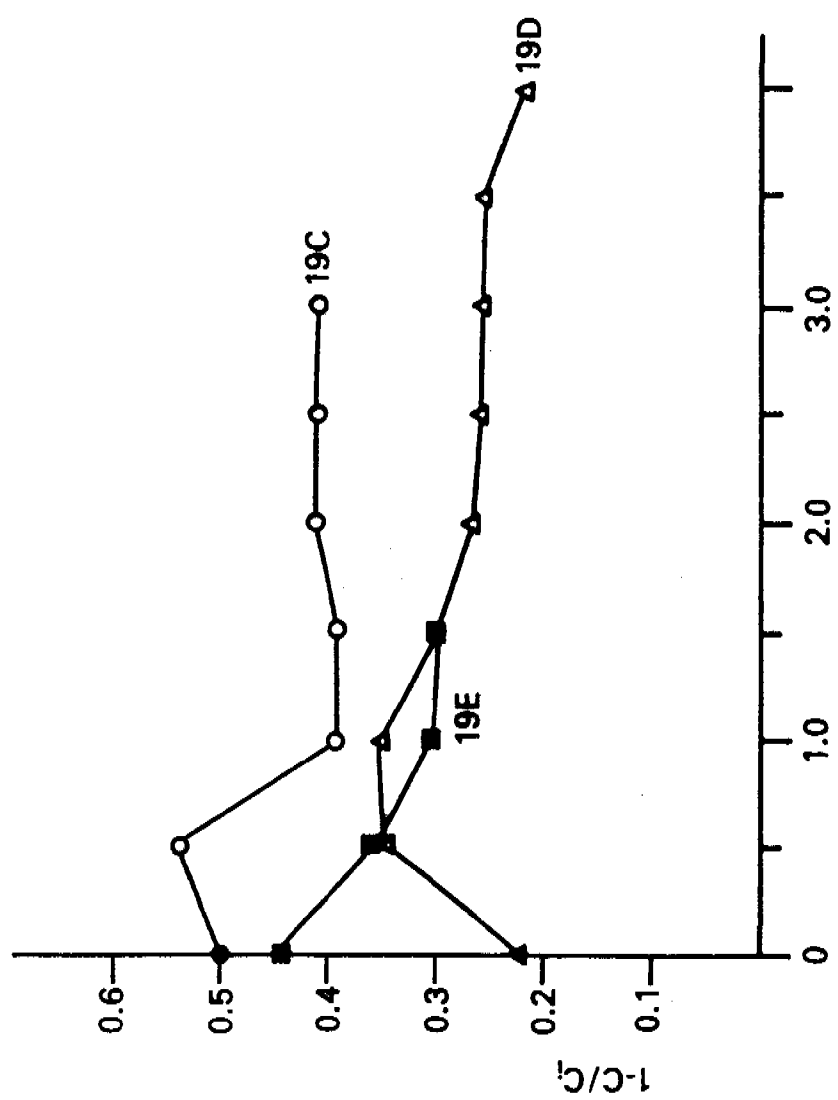


FIG. 9a

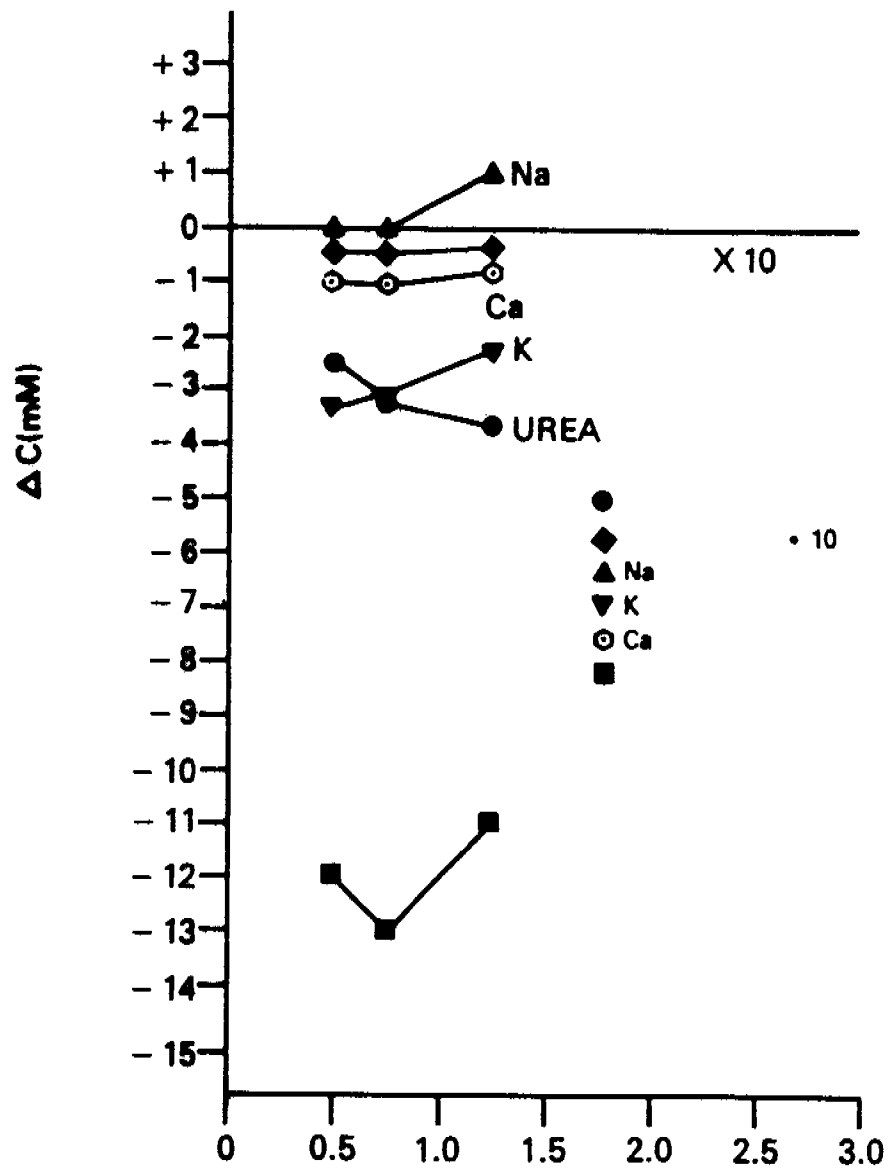


FIG. 9b

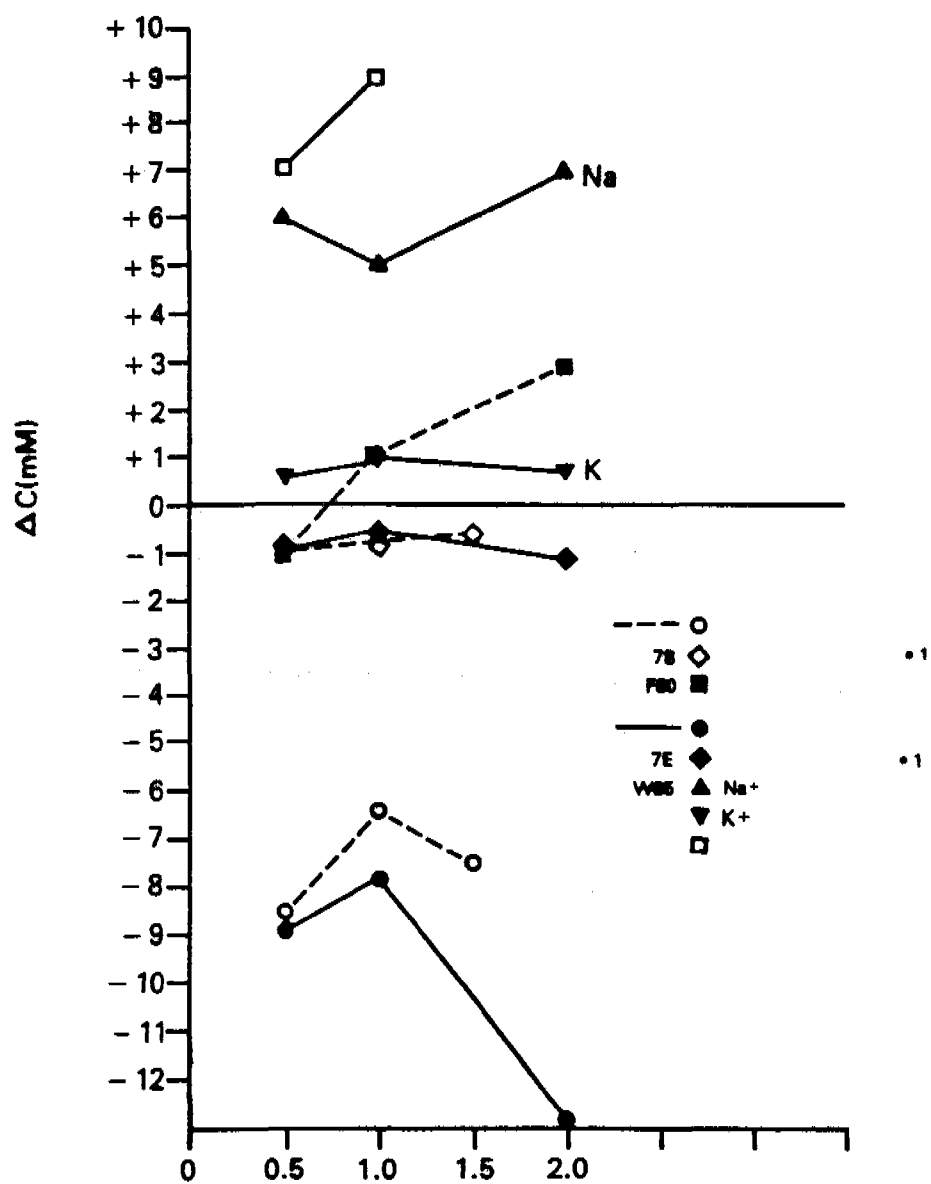


FIG. 9c

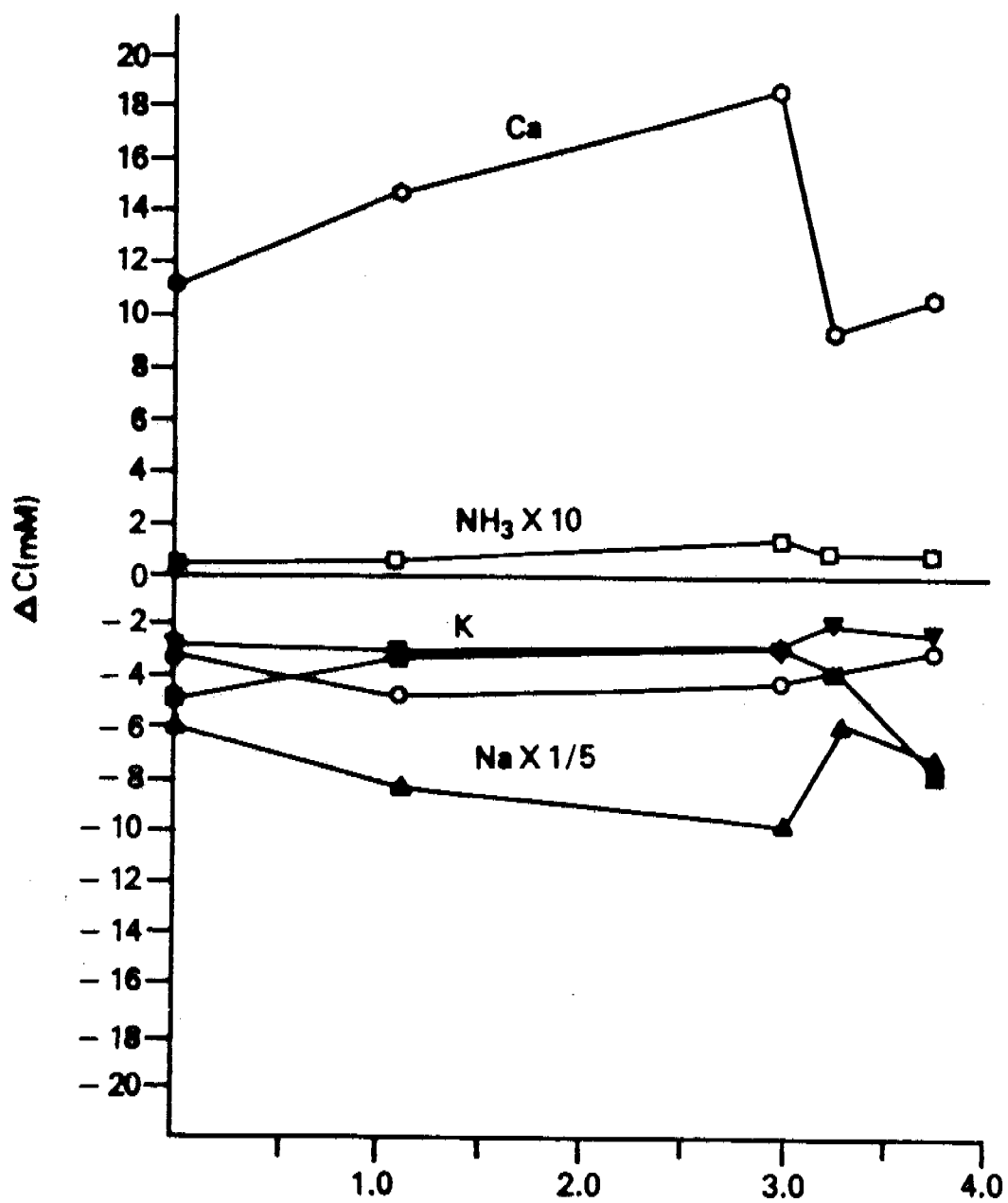


FIG. 9d

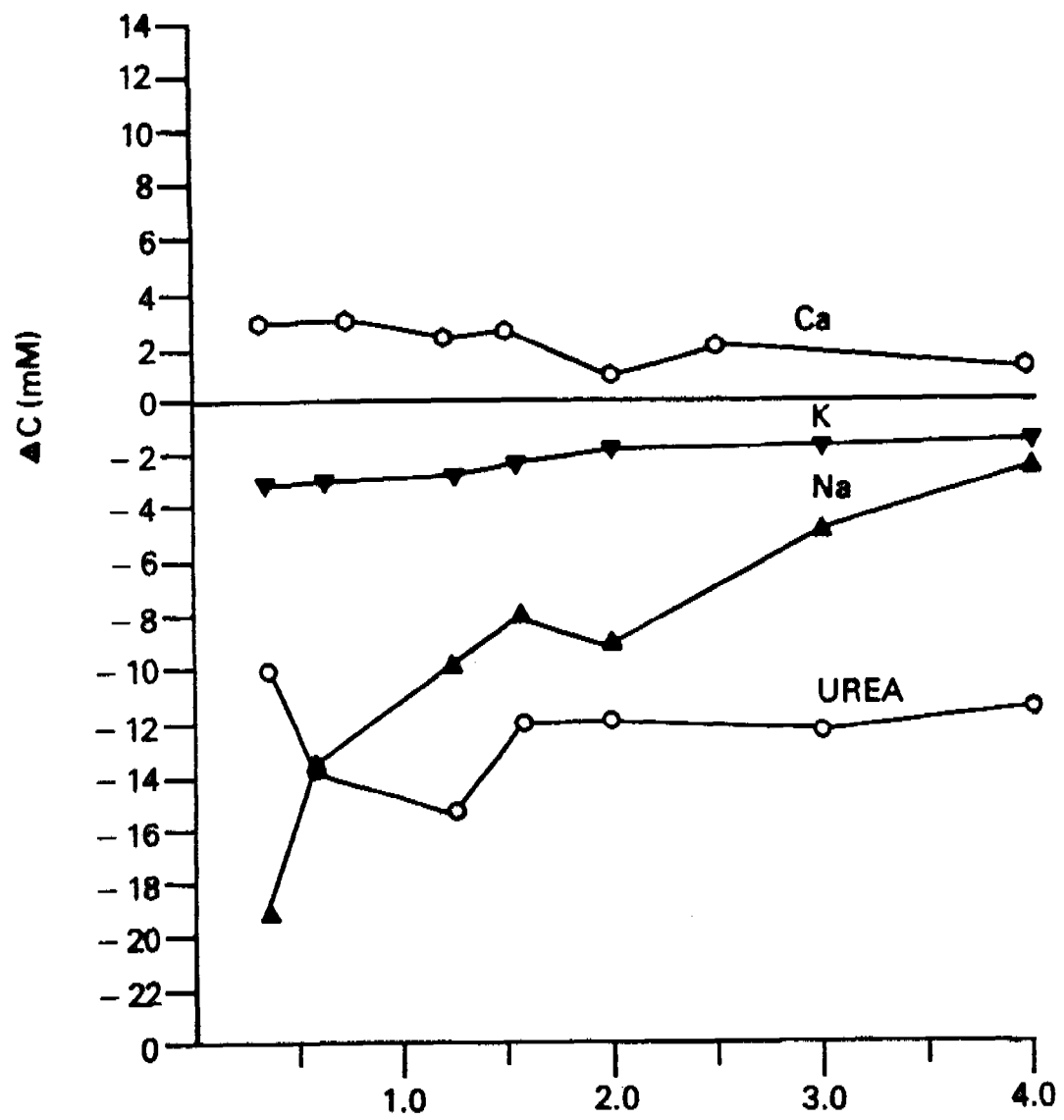


FIG. 9e

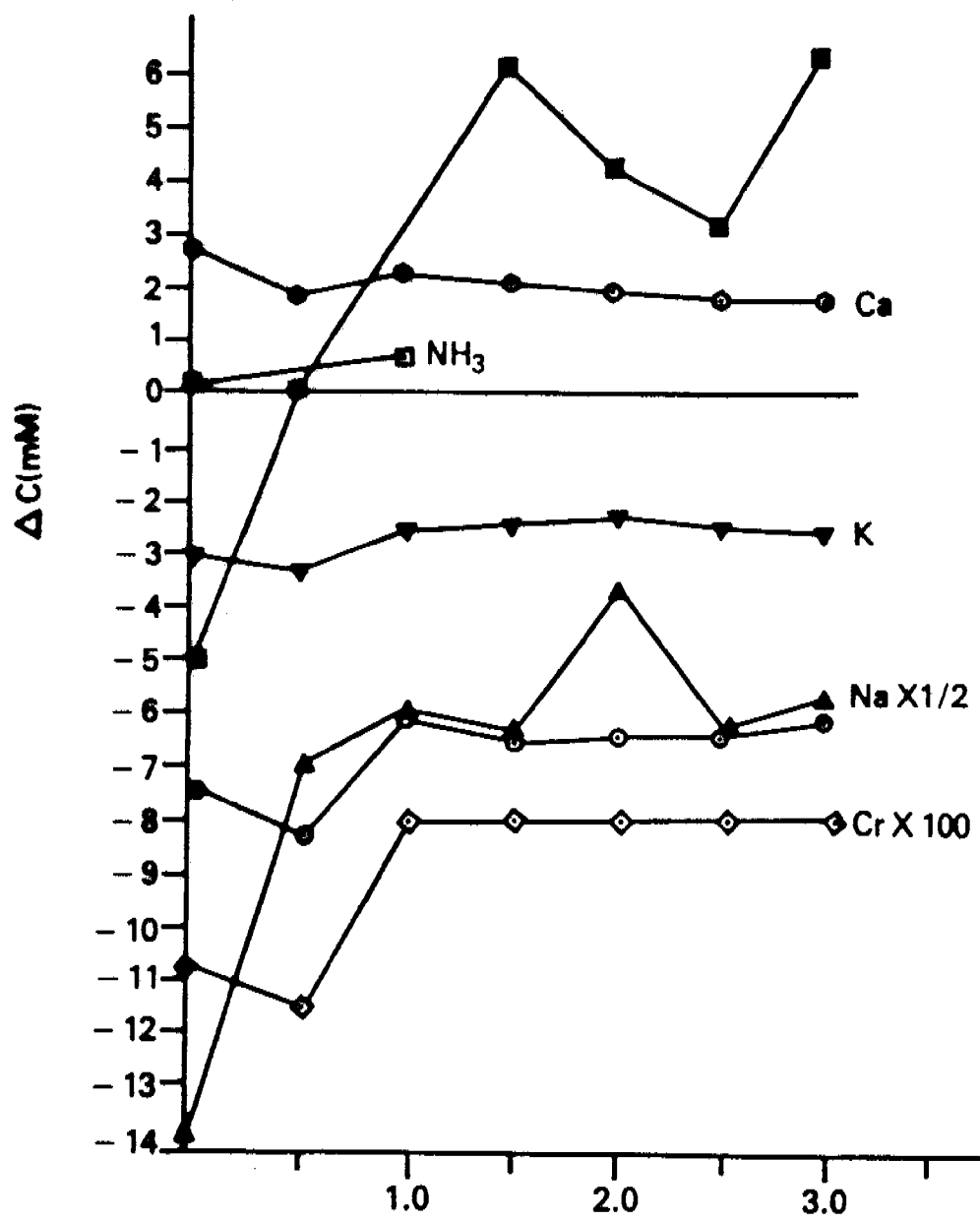


FIG. 9f

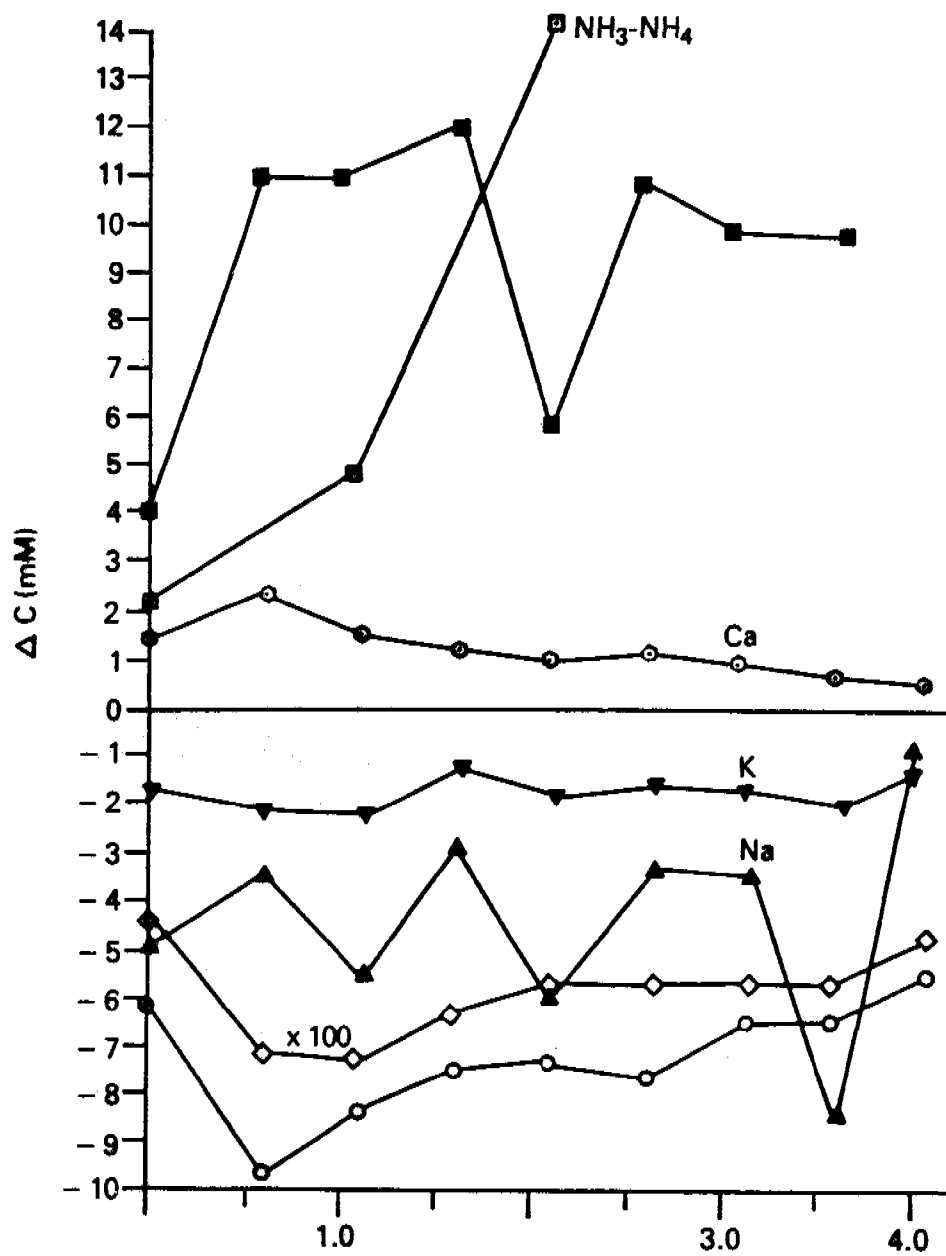


FIG. 9g

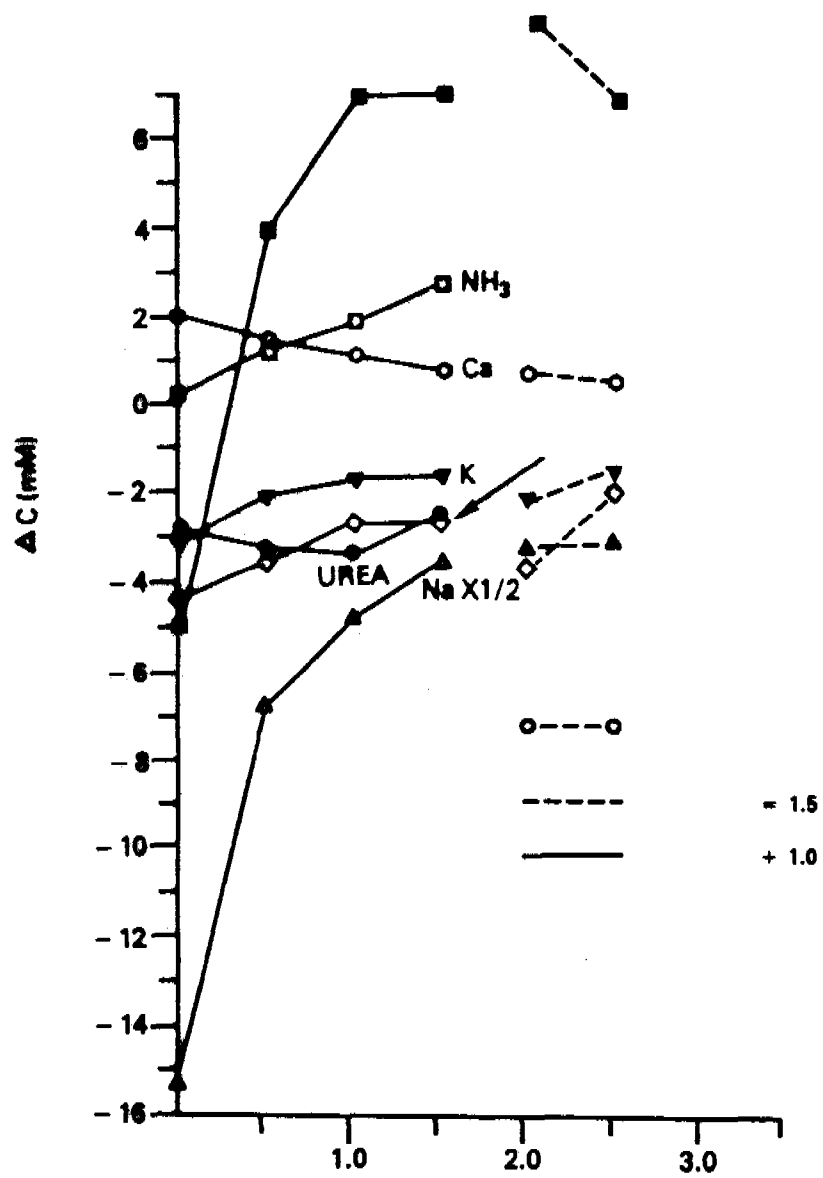
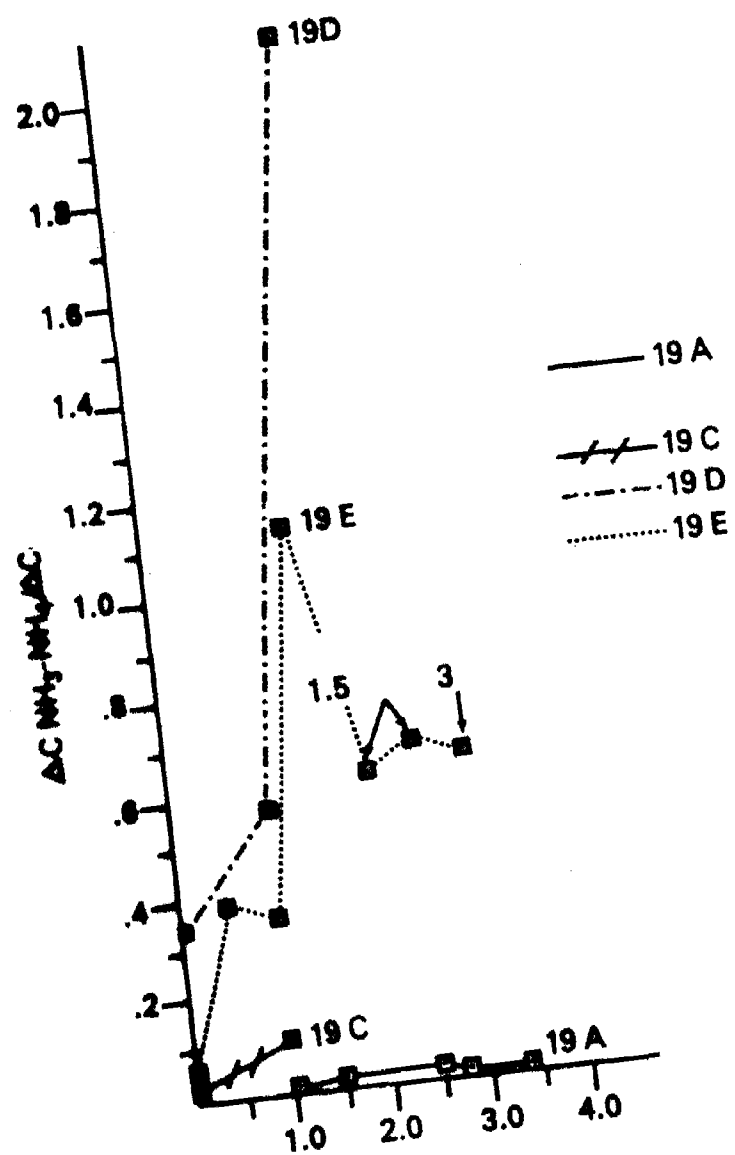


FIG. 10



Viitejulkaisu - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar:

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisu: - Ansökningspublikationer,
utläggnings- och patentskrifter:

FI P 51432 (A61M /03) (=45 8669880)

CH

DE 14 2512 212 , 14 2558363 (A61M /03),

DK

FR

GB

NO

SE

US P 3463728 (B01d 13/00) , P 3608729 (B01d 13/00)
P 3669878 (- -) , P 3742946 (A61m 5/00)
P 4071444 (B01D 3/00)

Merkitse hakemusjulkaisun (esim. saksal. Offenlegungsschrift) numeron eteen H ja vastaavasti kuulutus- ja patenttijulkaisun numeron eteen K ja P.

EP _____

WO _____

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

Pal. fan

EP 3914 A61M /03

16/3-84 AM

Allekirjoitus