

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 974 276**

51 Int. Cl.:

B01D 61/00 (2006.01)

A61M 1/16 (2006.01)

A61M 1/34 (2006.01)

B01D 69/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.02.2015 PCT/EP2015/053598**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.08.2015 WO15124716**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2015 E 15708755 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.01.2024 EP 3110532**

54 Título: **Sistemas para utilizar el contenido de agua en el líquido de un proceso de tratamiento de sustitución renal**

30 Prioridad:

24.02.2014 WO PCT/EP2014/053519
17.07.2014 DK 201400398

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.06.2024

73 Titular/es:

AQUAPORIN A/S (100.0%)
Nymøllevej 78
2800 Kongens Lyngby, DK

72 Inventor/es:

LARSEN, MARIANNE ELEONORA SPANGET;
JENSEN, PETER HOLME y
ABILDGREN, MICHAEL PADKJÆR

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 974 276 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

Sistemas para utilizar el contenido de agua en el líquido de un proceso de tratamiento de sustitución renal

Campo de la técnica

5 La presente invención se refiere a un sistema para reciclar al menos una parte del agua perdida durante diversos procesos de tratamiento de sustitución renal, por ejemplo, en la preparación de una solución de líquido de diálisis nueva o un líquido de sustitución o reconstitución nuevo para hemofiltración y diálisis por nefropatía, mediante la utilización del agua de los líquidos usados o residuales. Además, el sistema de la invención es útil en un tratamiento de sustitución renal continuo, tal como hemofiltración, así como en hemodiálisis y en diálisis peritoneal para reusar el agua de los filtrados y los líquidos usados. Adicionalmente, el sistema de la invención es útil en el desarrollo de un dispositivo de asistencia renal o riñón artificial. También se describen métodos y usos de los sistemas y membranas de la presente invención.

Antecedentes

15 La hemofiltración y la diálisis, incluidas la hemodiálisis y la diálisis peritoneal, son distintos tipos de tratamiento para pacientes que padecen insuficiencia renal. En la hemodiálisis, se utiliza la sangre del paciente para eliminar de este desechos, toxinas y exceso de agua. El paciente se conecta a una máquina de hemodiálisis y su sangre se bombea a través de la máquina. Se insertan catéteres en las venas y arterias del paciente para conectar el flujo de sangre a y desde la máquina de hemodiálisis. A medida que la sangre pasa a través de un dializador en la máquina de hemodiálisis, este elimina los desechos, toxinas y exceso de agua de la sangre del paciente y retorna dicha sangre para volver a infundirla en el paciente. En la hemofiltración también se eliminan toxinas y exceso de agua de la sangre del paciente. Sin embargo, en la hemofiltración, el paciente se conecta al sistema de hemofiltración, de manera intermitente o continua, y la sangre del paciente pasa a través de un sistema con un hemofiltro. A diferencia de la hemodiálisis, en la hemofiltración no se usa ningún líquido de diálisis, y el movimiento del disolvente y los solutos a través de la membrana se rige por convección, más que por difusión, lo que mimetiza el proceso de microfiltración de un riñón normal. Puede que sea necesario añadir a la sangre un líquido de sustitución isotónico, antes o después del hemofiltro, para sustituir las pérdidas de volumen de líquido y de electrolitos. En una hemofiltración continua pueden perderse entre 0 y 2.000 ml de agua cada hora. Esto supone que ha de sustituirse un volumen de agua considerable, dependiendo de las necesidades individuales del paciente. En la hemofiltración, la demanda de líquido de sustitución puede llegar a ser de 3 a 4 l por hora.

30 En cambio, para dializar la sangre se usa una gran cantidad de líquido de diálisis, por ejemplo, aproximadamente 120 l, durante un único tratamiento de hemodiálisis. El líquido de diálisis usado se descarta después. Esto significa que un paciente que se somete a un tratamiento de hemodiálisis tres veces a la semana podría requerir casi 600 l de agua purificada. Como comparación, un individuo sano ingeriría aproximadamente 2 l al día o 14 l a la semana. Además, para la diálisis peritoneal se usan grandes cantidades de agua purificada, por ejemplo, 12 l al día durante una diálisis peritoneal ambulatoria continua (CAPD) y hasta 25 l por noche durante una sustitución de líquido automatizada mientras el paciente duerme (diálisis peritoneal automatizada, APD). La diálisis es un tratamiento vital para pacientes con insuficiencia renal en estado terminal. Sin embargo, requiere un consumo a gran escala de agua altamente purificada para la preparación de los líquidos de sustitución, así como de las soluciones de líquido de diálisis.

40 En los documentos WO2010/146365 A1 y US2012/152841 A1 se ha propuesto recuperar el agua purificada perdida durante la hemodiálisis mediante la utilización de un sistema de membranas líquidas que comprende vesículas con una bicapa en la que se han incorporado canales biológicos, tales como canales de agua de acuaporina, y en donde las vesículas comprenden además una fase oleosa estabilizadora. Para lograr esto, se propuso crear un gradiente de sal y una contracorriente para imitar el funcionamiento normal del riñón a través de dicha membrana líquida, lo que entonces constituiría la fuerza impulsora necesaria para un proceso de ósmosis directa. Posteriormente, Talaat (*Saudi J. Kidney Dis. Transpl.*, 21(4): 748-749, 2010) propuso utilizar ósmosis directa (FO) para la regeneración del líquido de diálisis, en donde teóricamente puede recuperarse hasta el 50 % del agua del líquido de diálisis usado. Sin embargo, debido a las limitaciones de los solutos de extracción, tales como sales y glucosa, Talaat concluye que es necesaria la prescripción de un tratamiento de diálisis modificado, tal como un tratamiento diario prolongado, y propone además la utilización de un módulo de placa y marco multicapa para FO, que ha de construirse específicamente para probar las hipótesis. Por tanto, para la purificación del agua se necesitan diversos procesos que consumen energía, por ejemplo, filtración con carbón activado, intercambio iónico, ósmosis inversa, ultrafiltración y similares, para eliminar las sustancias no deseadas e incluso tóxicas de origen mineral u orgánico del agua purificada.

Resumen de la invención

55 Por consiguiente, la presente invención proporciona un sistema o aparato para utilizar el contenido de agua en el líquido usado (101), tal como un filtrado procedente de la sangre o el plasma de un paciente durante un proceso de tratamiento de sustitución renal, en donde dicho sistema o aparato proporciona un flujo de agua desde dicho líquido usado por ósmosis directa y se define en las reivindicaciones.

La presente invención logra esto con un sistema para reciclar al menos una parte del contenido de agua en el líquido residual (507) de un proceso de hemofiltración, lo que da como resultado un flujo de agua de dicho líquido residual a

5 un suministro de un concentrado de sustitución de electrolitos (509) o a una corriente de sangre concentrada resultante de dicha hemofiltración (505), en donde dicho sistema comprende una unidad de ósmosis directa (FO) (102, 506) que comprende una membrana de ósmosis directa (103) que comprende canales nanoporosos de agua, en donde dicha membrana tiene un lado de alimentación (104) y un lado de extracción (105), en donde el lado de alimentación está en comunicación de líquidos con dicho líquido residual (507) que es el filtrado es de un paciente sometido a dicha hemofiltración, y en donde el lado de extracción está en comunicación de líquidos con un suministro de dicho concentrado de electrolitos (509) o en donde el lado de extracción está en comunicación de líquidos con una corriente de sangre concentrada resultante de dicha hemofiltración (505).

10 Además, dicho sistema comprende una unidad de ósmosis directa (FO) (102) que comprende una membrana de ósmosis directa (103) con un lado de alimentación (104) y un lado de extracción (105), en donde el lado de alimentación está en comunicación de líquidos con el filtrado como líquido residual o el líquido usado de un paciente sometido a un tratamiento de sustitución renal; y en donde el lado de extracción está en comunicación de líquidos con un suministro de un concentrado de sustitución de electrolitos o con un flujo de sangre concentrada procedente de hemofiltración (106), y en donde dicha membrana de ósmosis directa tiene una capa activa que comprende canales nanoporosos de agua que son canales de agua de acuaporina. La unidad de FO puede estar convenientemente en forma de un cartucho filtrante que comprende un módulo de fibras huecas. Un módulo de este tipo tiene la ventaja de su compacidad y tiene un factor de forma bien conocido para su uso en aparatos de hemofiltración. Además, el módulo es fácil de sustituir después de su utilización en aplicaciones de un solo uso en tratamientos de sustitución renal continua.

20 En otro aspecto, el uso del sistema de la presente invención se destina a reciclar al menos una parte del contenido de agua en el líquido residual de un proceso de hemofiltración, lo que se traduce en un flujo de agua de dicho líquido residual a un suministro de un concentrado de sustitución de electrolitos o a una corriente de sangre concentrada resultante de dicha hemofiltración.

25 En otro aspecto no reivindicado, se proporciona una membrana de ósmosis directa que comprende canales nanoporosos de agua para uso en un método de tratamiento de un paciente sometido a hemofiltración en el curso de un tratamiento de sustitución renal, en donde la membrana es parte de una unidad de ósmosis directa (FO) y tiene un lado de alimentación y un lado de extracción, en donde el lado de alimentación está en comunicación de líquidos con un líquido residual que es un filtrado del paciente y el lado de extracción está en comunicación de líquidos con un suministro de dicho concentrado de electrolitos o dicha corriente de sangre concentrada resultante de la hemofiltración, de manera que se recicla una parte del contenido de agua en el líquido residual de la hemofiltración, lo que da como resultado un flujo de agua del líquido residual a un concentrado de sustitución de electrolitos o a una corriente de sangre concentrada resultante de dicha hemofiltración. Por consiguiente, en este uso de las membranas de ósmosis directa de la presente invención, las membranas con canales nanoporosos de agua son el componente del sistema que se consume y cambia entre el tratamiento de distintos pacientes o entre tratamientos separados temporalmente del mismo paciente.

35 En otro aspecto, se proporciona un método de uso de los sistemas y aparatos descritos en el presente documento para reciclar al menos una parte del contenido de agua en el líquido residual de un proceso de hemofiltración. En un aspecto, se proporciona un método para reciclar al menos una parte del contenido de agua en el líquido residual de un proceso de hemofiltración que da como resultado un flujo de agua de dicho líquido residual a un suministro de un concentrado de sustitución de electrolitos o a una corriente de sangre resultante de dicha hemofiltración, en donde el método comprende

- proporcionar un sistema de la presente invención;
- suministrar al sistema el líquido residual de un paciente sometido a dicha hemofiltración por un lado de alimentación de una unidad de ósmosis directa (FO) que comprende una membrana de ósmosis directa que comprende canales nanoporosos de agua;
- extraer el filtrado de un lado de extracción de la membrana de la unidad de ósmosis directa (FO), en donde el lado de extracción está en comunicación de líquidos con un suministro de dicho concentrado de electrolitos o en donde el lado de extracción está en comunicación de líquidos con una corriente de sangre concentrada resultante de dicha hemofiltración, con lo que se recicla al menos una parte del contenido de agua en el líquido residual del proceso de hemofiltración.

Otros objetivos de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la descripción detallada y los ejemplos siguientes.

55 El sistema de la invención para utilizar el contenido de agua pura en líquidos usados, tales como filtrados del tratamiento de hemofiltración, puede proporcionar además medios para la extracción de agua de filtrados y líquidos de diálisis usados mediante una solución de extracción, tal como una corriente de sangre concentrada y/o un líquido de sustitución nuevo o un concentrado de líquido de diálisis para el transporte de agua por ósmosis directa a través de una membrana semipermeable que, de manera ideal, solo permite el transporte de H₂O a través de nanoporos, por ejemplo, tales como los canales de agua de las proteínas de acuaporina. La membrana semipermeable de ósmosis

directa útil en el sistema de la invención tendrá preferiblemente alto rechazo de sales y alto flujo de agua, preferiblemente combinados con un bajo umbral de peso molecular (MWCO). Han surgido varios métodos de preparación de membranas para aplicaciones de ósmosis directa, tales como la preparación de membranas de película delgada compuestas (TFC) con un soporte a medida de polisulfona (Psf), un soporte electrohilado, membranas TFC sobre un soporte hidrófilo y membranas de fibras huecas, véase la revisión de Alsik y Hägg (2013), que describe varias membranas de FO con altas tasas de rechazo de cloruro de sodio de más de aproximadamente el 95 % y alto flujo de agua. Las ventajas del sistema de la presente invención pueden incluir: menor consumo de energía en la purificación de agua por ósmosis inversa (OI) y ultrafiltración (UF) y menor consumo de agua en el tratamiento de sustitución renal a través de la reutilización de agua del filtrado de hemofiltración y/o los líquidos de diálisis usados; asimismo una reducción del riesgo de exposición del cuerpo a toxinas externas tales como contaminantes orgánicos del agua y a endotoxinas. Además, el uso de las membranas de acuaporina descritas en el presente documento, que son altamente selectivas, puede reducir significativamente o eliminar el flujo inverso de metabolitos de bajo peso molecular y similares de los líquidos residuales durante los procesos de filtración (ósmosis), lo que permite el uso de dichas membranas de acuaporina en dispositivos de asistencia renal y riñones artificiales, así como para la reutilización de agua pura de dichos líquidos usados o residuales.

Breve descripción de los dibujos

Los dibujos siguientes ilustran diversos conceptos y realizaciones de la invención mostrando elementos funcionales a modo de ejemplo y no como limitación. Se entenderá que las implementaciones no se limitan a los componentes específicos descritos en el presente documento, ya que puede utilizarse virtualmente cualquier componente compatible con la operación prevista de un sistema orgánico de ósmosis directa.

Cuando se usa en el presente documento, "y/o" debe entenderse como una descripción específica de cada uno de los dos elementos o componentes con o sin el otro. Por ejemplo, "A y/o B" debe entenderse como la descripción específica de cada uno de (i) A, (ii) B y (iii) A y B, como si cada uno se expusiera individualmente en el presente documento.

A menos que el contexto establezca lo contrario, las descripciones y definiciones de los elementos expuestos anteriormente no se limitan a ningún aspecto o realización particular de la invención y se aplican por igual a todos los aspectos y realizaciones que se describen.

Dependiendo del material usado para las unidades de ósmosis directa (FO) y la membrana o membranas dentro de las mismas, la estructura de la membrana o membranas y la disposición de la membrana o membranas dentro de la unidad de FO, es posible aumentar o controlar la cantidad y la velocidad de transferencia del agua. Además, puede usarse una pluralidad de membranas y/o unidades de FO, que pueden funcionar en una configuración de flujo en paralelo o en serie. Asimismo, el sistema puede comprender la recirculación de las soluciones de alimentación y extracción dentro de una unidad de FO, con el fin de optimizar la extracción de agua.

La figura 1 muestra un diagrama esquemático de un sistema según la invención que utiliza el contenido de agua del líquido usado de un proceso de tratamiento de sustitución renal, en el que: (101) es el líquido usado; (102) es una unidad de ósmosis directa (FO), (103) es la membrana de ósmosis directa (FO); (104) es el lado de alimentación; (105) es el lado de extracción; (106) es un suministro de un concentrado de diálisis o de sustitución de electrolitos o un flujo de sangre procedente de hemofiltración; (107) es el líquido usado deshidratado; (108) es el concentrado o el flujo de sangre diluidos.

La figura 2 muestra un diagrama esquemático de un sistema según la invención para preparar un líquido de diálisis nuevo, en el que: (201) es el líquido de diálisis nuevo; (202) es el líquido de diálisis usado; (203) es un suministro de un concentrado de diálisis; (204) es un suministro de agua purificada; (205) es una unidad de ósmosis directa (FO), en la que (206) es la membrana de ósmosis directa (FO), (207) es el lado de alimentación y (208) es el lado de extracción; (209) es el líquido de diálisis usado deshidratado.

Las figuras 3A y 3B muestran un diagrama esquemático de un sistema para preparar un líquido de diálisis nuevo para hemodiálisis a partir de dos concentrados, en el que: (301) es el líquido de diálisis nuevo; (302) es el líquido de diálisis usado; (303) es el dializador; (304) es un suministro de agua purificada; (305) es el concentrado de bicarbonato; (306) es el concentrado ácido; (307) y (308) son unidades de FO; y (309) es el líquido de diálisis usado deshidratado. Véase el ejemplo 4 a continuación.

La figura 4 muestra un diagrama esquemático de un sistema para preparar un líquido de diálisis nuevo para diálisis peritoneal, en el que: (401) es el concentrado ácido; (402) es la unidad de FO; (403) es un suministro de agua purificada; (404) es una unidad de ultrafiltración; (405) es una columna de bicarbonato; (406) es una unidad de ultrafiltración; (407) es un depósito de líquido de diálisis nuevo; (408) es el paciente y (409) es un recipiente para el líquido de diálisis usado deshidratado. Para más detalles, refiérase al ejemplo 6 a continuación.

Las figuras 5A-5E muestran diagramas esquemáticos de sistemas para la reutilización del agua perdida a lo largo de la hemofiltración, en los que: (501) es el paciente sometido a hemofiltración; (502) es el hemofiltro que normalmente es una unidad de fibras huecas; (503) es la sangre procedente del paciente que pasa a través de la luz de las fibras huecas; (504) es la sangre que retorna al paciente; (505) es la sangre hemofiltrada; (506) es un módulo de ósmosis directa (FO) representado en forma de un módulo de fibras huecas; (507) es el filtrado del hemofiltro que pasa al lado

de la luz del módulo de FO; (508) es el filtrado del hemofiltro deshidratado. Cada uno de estos sistemas puede integrarse en un aparato de hemofiltración como se conocen en la técnica, véase la solicitud de patente de los EE. UU. n.º US2010/0121246.

5 En la figura 5A, el número de referencia (509) corresponde a un concentrado de sustitución de electrolitos que entra en el lado de la carcasa que rodea las fibras huecas en (506) y que aquí funciona como extracción; (510) es el concentrado de sustitución de electrolitos diluido (líquido de sustitución); (511) es un suministro opcional de líquido de sustitución, tal como un líquido de sustitución isotónico.

10 En la figura 5B, el número de referencia (503) corresponde a la sangre procedente del paciente; (505) es la sangre hemofiltrada (parcialmente deshidratada) que pasa aquí al lado de la carcasa del módulo de FO de fibras huecas (506) que actúa como extracción; (507) es el filtrado del hemofiltro que pasa al lado de la luz del módulo de FO; (504) es la sangre que retorna al paciente; (508) es el filtrado del hemofiltro deshidratado.

La figura 5C muestra adicionalmente una solución de sustitución de electrolitos opcional (512) para la predilución de la sangre.

15 La figura 5D muestra adicionalmente una solución de sustitución de electrolitos opcional (513) para la postdilución de la sangre.

La figura 5E muestra además un ejemplo de cómo bombas (514, 515, 516), tales como bombas peristálticas, pueden integrarse convenientemente en un sistema para la reabsorción del agua del filtrado que de otro modo se desecharía con el fin de proporcionar y mantener un flujo adecuado de los líquidos implicados.

20 La figura 6 muestra un esquema del principio de la microestructura de un material de membrana (605) del tipo TFC con la capa de película delgada compuesta formada sobre una membrana de acuaporina de fibras huecas o de lámina plana, en donde (601) se refiere a la capa TFC, (602) se refiere a la membrana de soporte; ((603) representa esquemáticamente la membrana bicapa de una vesícula; y (604) es la proteína de acuaporina en su forma tetramérica.

La figura 7 muestra una configuración experimental de ósmosis directa a escala de laboratorio. Para más detalles, refiérase a los ejemplos 8 y 9.

25 Descripción detallada de la invención

Más específicamente, el sistema de la presente invención se refiere a un sistema o aparato útil cuando dicho proceso de tratamiento de sustitución renal es hemofiltración, el líquido usado es el filtrado (plasma filtrado de un paciente) de la hemofiltración (507) y el lado de extracción de la unidad de FO está en comunicación de líquidos con un suministro de un concentrado de sustitución de electrolitos (509), véase la figura 5A; o cuando el lado de extracción de la unidad de FO está en comunicación de líquidos con un flujo de sangre procedente de hemofiltración (505) que ha perdido parte de su contenido de agua a través de la hemofiltración, véase la figura 5B. En ambos casos, la unidad de FO hace posible la reabsorción del agua perdida por la sangre durante la hemofiltración por el concentrado de sustitución de electrolitos (figura 5A) o la la sangre concentrada (figura 5B).

35 En el sistema de la presente invención, se prefiere que la membrana de ósmosis directa comprenda canales nanoporosos de agua, para así reducir o eliminar la reabsorción de todos o la mayoría de los demás solutos del líquido usado. Además, se prefiere que la unidad de FO del sistema comprenda una membrana con canales de agua de acuaporina, los cuales, debido a su naturaleza altamente selectiva, solo dejan pasar moléculas de agua pura.

40 La unidad de FO que comprende la membrana de FO con nanoporos, que son canales de agua de acuaporina, puede proporcionarse en forma de un cartucho filtrante que puede usarse como accesorio en un aparato como se describe en la solicitud de patente publicada US 2010/0121246 A1, que se refiere a un aparato de hemofiltración modular con instrucciones de operación y sistema de control interactivos. Las figuras 5 y 6 en ese documento muestran esquemáticamente los componentes del aparato configurado para diversos tratamientos. En la figura 5, el aparato está configurado para llevar a cabo CVVHDF; en la figura 6, el aparato puede estar configurado para llevar a cabo CVVHDF.

45 En el sistema de la presente invención, por ejemplo, como se muestra en la figura 2, el proceso de tratamiento de sustitución renal es diálisis; el líquido usado es el líquido de diálisis usado; y el lado de extracción de la unidad de FO está en comunicación de líquidos con un suministro de concentrado de diálisis; y se proporciona un sistema para preparar un líquido de diálisis nuevo (201) mediante la utilización del agua del líquido de diálisis usado (202), en donde dicho sistema comprende i) un suministro de concentrado de diálisis (203); ii) un suministro de agua purificada (204);
50 y (iii) una unidad de ósmosis directa (FO) (205) que comprende una membrana de ósmosis directa (206) con un lado de alimentación (207) y un lado de extracción (208), en donde el lado de alimentación está en comunicación de líquidos con el líquido de diálisis usado de un paciente sometido a diálisis; y en donde el lado de extracción está en comunicación de líquidos con el suministro del concentrado de diálisis. Estas realizaciones proporcionan la posibilidad de reciclar al menos una parte del contenido de agua de una solución de líquido de diálisis usada para la dilución
55 directa de concentrados de líquido de diálisis, en donde dicha agua es originalmente de una calidad altamente purificada para evitar la transmisión de sustancias tóxicas o pirógenas a la sangre de un paciente sometido a diálisis.

Además, el sistema de la invención puede ser útil para reciclar al menos parcialmente el agua purificada utilizada en la preparación de líquidos de diálisis para diálisis peritoneal.

Dicha membrana comprende

- una capa activa que comprende canales de agua de acuaporina inmovilizados y
- 5 - una capa de soporte, y

dicha capa activa es una capa de amida aromática reticulada formada por polimerización interfacial en la que hay incorporadas vesículas de acuaporina, en donde dichas vesículas se forman por autoensamblaje de compuestos formadores de matrices anfífilas en presencia de una preparación de proteínas de acuaporina. Las membranas preparadas de esta manera han resultado ser robustas, tener alta capacidad de transporte de agua y un flujo inverso de sal y sustancias de bajo peso molecular de bajo a muy bajo.

En ciertas realizaciones de la presente invención, los compuestos formadores de matrices anfífilas se seleccionan de entre un lípido anfílico, una hidrofobina, un copolímero de dibloques, un copolímero de tribloques o mezclas de los mismos, y dicho canal de agua de acuaporina se selecciona de entre acuaporinas de origen procariótico, por ejemplo, AqpZ; acuaporinas de mamíferos, por ejemplo, Aqp1 y Aqp2; acuaporinas de plantas que incluyen proteínas intrínsecas de la membrana plasmática (PIP), proteínas intrínsecas del tonoplasto (TIP), proteínas intrínsecas de tipo nodulina (NIP) y proteínas intrínsecas pequeñas (SIP), por ejemplo, SoPIP2, PttPIP2;5 y PtPIP2;2; acuaporinas de levadura, por ejemplo, AQY1 y AQY2; así como acuagliceroproteínas tales como GlpF e Yfi054.

En algunas realizaciones del sistema de la presente invención, el sistema comprende más de una unidad de ósmosis directa, por ejemplo, dos o tres. Esta configuración es útil cuando se necesita más de un concentrado de líquido de diálisis para preparar la solución de líquido de diálisis nueva final.

En otros aspectos, la presente invención proporciona un método para preparar una solución de líquido de diálisis nueva para diálisis mediante la reutilización de parte del líquido de diálisis usado, que comprende la extracción de agua extrapura por ósmosis directa del líquido de diálisis usado de un paciente sometido a hemodiálisis. En particular, esto puede suponer la utilización del líquido de diálisis usado como solución de alimentación en el proceso de ósmosis directa; y un concentrado del líquido de diálisis constituye la solución de extracción en el proceso de ósmosis directa. La utilización de agua altamente purificada, por ejemplo, en una o más etapas de ultrafiltración, así como en etapas de esterilización por filtración, para la preparación del líquido de diálisis nuevo se reducirá considerablemente con este método, lo que ahorra energía, dispositivos y espacio, entre otras ventajas.

Además, este método, en el que se utiliza el proceso de ósmosis directa para extraer agua pura, puede implicar el uso de un proceso de ósmosis directa asistida por presión, por ejemplo, para aumentar el flujo de agua o la velocidad de filtración. Esto puede lograrse incluyendo adicionalmente medios de presurización de dichas corrientes de alimentación en el sistema de la invención, por ejemplo, para hacer posible la aplicación de una ligera presión, tal como bombeo, uso de la gravedad o similar, en el lado de alimentación de la membrana que contiene acuaporina (utilizando el concepto de ósmosis directa asistida).

En otro aspecto, la presente invención también se refiere a una máquina de diálisis que comprende el sistema para preparar una solución de líquido de diálisis nueva como se describe anteriormente y un dispositivo de asistencia renal (506) como se muestra en las figuras 5C y 5D.

Definiciones, explicaciones y realizaciones de la invención

Las máquinas de hemofiltración, las máquinas de hemodiálisis, los dializadores y los líquidos, concentrados y soluciones de sustitución para hemofiltración, hemodiafiltración y diálisis son fabricados y comercializados por una serie de empresas que incluyen Omniflo (filial de Transvivo Inc, Napa, CA, EE. UU.), Fresenius Medical Care (fmc-ag.com), Gambro (gambro.com) (ahora parte de Baxter), Nipro (nipro.com), nxStage (nxstage.com) y Bellco (bellco.net).

En la hemodiálisis, el dializador funciona en parte como un riñón artificial. El dializador está normalmente en forma de un módulo de fibras huecas con un haz de fibras huecas (tal como de hasta 20.000 fibras). La luz de las fibras huecas forma el "compartimento de la sangre" del dializador y el espacio que rodea las fibras forma el "compartimento del líquido de diálisis".

En la diálisis peritoneal, el peritoneo en conexión con el líquido de diálisis infundido funciona en parte como un riñón artificial y la membrana peritoneal del paciente funciona como membrana semipermeable a través de la cual se intercambian los líquidos y sustancias disueltas de la sangre. Una solución de líquido de diálisis hiperosmótica nueva se introduce a través de un tubo permanente en la cavidad abdominal y el líquido de diálisis usado se expulsa cada noche, mientras el paciente duerme (diálisis peritoneal automática) o mediante cambios regulares a lo largo del día (diálisis peritoneal continua ambulatoria).

La composición concreta de un filtrado o ultrafiltrado de hemofiltración o de una solución de líquido de diálisis usada varía de un paciente a otro y de una vez a otra. En pacientes que padecen insuficiencia renal se producen cambios metabólicos que se traducen en elevadas concentraciones de urea en el plasma sanguíneo, junto con concentraciones elevadas de metabolitos tóxicos, tales como indoles, fenoles, hormonas, oxalato y productos de la degradación de proteínas, véase la tabla 1 a continuación.

5

Tabla 1: Residuos metabólicos en líquido de diálisis usado, Kupcinskas (2000)

Sustancias	Ejemplo (si procede)
Urea	
Guanidinas	metilguanidina, guanidina, ácido β-guanidinopropiónico, ácido guanidinosuccínico, ácido γ-guanidinobutírico, taurociamina, creatinina, creatina, ácido argínico, homoarginina, N-α-acetilarginina
Fenoles	o-cresol, p-cresol, alcohol bencílico, fenol, tirosina
Ácidos fenólicos	ácido p-hidroxifenilacético, ácido β-(m-hidroxifenil)hidracílico
Hipuratos	ácido p-hidroxihipúrico, ácido o-hidroxihipúrico, ácido hipúrico
Benzoatos	ácido benzoico
Polipéptidos	
β2-microglobulina	
Indoles	ácido indol-3-acético, sulfato de indoxilo, ácido 5-hidroindolacético, ácido indol-3-acrílico, 5-hidroxitriptofol, N-acetiltriptófano, triptófano
Amonio	
Alcaloides	
Trazas de metales	bromo
Ácido úrico	
AMP cíclico	
Aminoácidos	glicina, leucina, cisteína, arginina
Mioinositol	
Oxalato	
Glucuronato	
Glicoles	ácido glicólico
Lisozima	
Hormonas	parathormona, factor natriurético, glucagón, hormona del crecimiento, gastrina, prolactina, catecolaminas
Xantinas	xantina, hipoxantina
Ácido furanpropiónico	
Aminas	putrescina, espermina, espermidina, dimetilamina, poliaminas
Endorfinas	
Pseudouridina	

Las sustancias mencionadas en la tabla 1 pueden utilizarse individualmente o en combinación para la preparación de un modelo de "líquido de diálisis usado", véase el ejemplo 8.

- 10 Además, la hemofiltración es un tratamiento de sustitución renal utilizado en medicina intensiva, como en el caso de una insuficiencia renal aguda. Es un tratamiento continuo y lento en el que las sesiones duran normalmente entre 12 y 24 horas y preferiblemente se llevan a cabo diariamente. Durante la hemofiltración, la sangre del paciente se hace pasar mediante una máquina a través de una membrana semipermeable, normalmente una membrana de ultrafiltración, para eliminar los productos residuales y el exceso de agua. Los ejemplos de tratamientos de
- 15 hemofiltración que se usan en el presente documento incluyen CVVH (hemofiltración venovenosa continua) y CAVH (hemofiltración arteriovenosa continua), SCUf (ultrafiltración continua lenta), CVVHFD (diálisis continua de alto flujo), HVHF (hemofiltración de alto volumen), véase también Ronco, C. (2006) *Critical Care* 10: 123 (doi: 10.1186/cc4843). La utilización del sistema de la presente invención en una configuración de hemofiltración se describe a continuación en el ejemplo 7.
- 20 La hemofiltración se utiliza a veces en combinación con hemodiálisis, en lo que se denomina "hemodiafiltración", como se usa en el tratamiento CVVHDF de hemodiafiltración venovenosa continua. La sangre se bombea a través del compartimento de la sangre de un dializador de alto flujo y se usa una alta tasa de ultrafiltración, de manera que hay una alta tasa de movimiento de agua y solutos de la sangre al líquido de diálisis que deben ser sustituidos por el líquido de sustitución que se infunde directamente en la vía sanguínea. Sin embargo, la solución de diálisis también fluye a
- 25 través del compartimento del líquido de diálisis del dializador. La combinación es teóricamente útil porque da como resultado una buena eliminación de solutos tanto de alto como de bajo peso molecular.

El término "líquido usado" o "líquido residual", como se usa en el presente documento, incluye el líquido filtrado de la hemofiltración, el líquido de diálisis usado de la hemodiálisis y el líquido usado (de permanencia) de la diálisis peritoneal. Normalmente, el líquido usado se diluye durante los diversos tratamientos de sustitución renal con agua procedente de la sangre, el plasma, los tejidos y las células del paciente sometido a dicho tratamiento. El líquido usado

5 representa un líquido de drenaje acuoso que contiene residuos metabólicos y que se descarta continuamente durante la hemofiltración, la hemodiafiltración y la hemodiálisis, o que se descarta de manera discontinua después de una sesión de diálisis peritoneal.

Una "unidad de FO", como se usa en el presente documento, se refiere a un alojamiento cerrado que comprende una membrana semipermeable que separa dos compartimentos o regiones para i) una solución de alimentación preferiblemente acuosa con una osmolaridad o presión osmótica relativamente baja y ii) una solución de extracción preferiblemente acuosa con una osmolaridad o presión osmótica mayor que la de la solución de alimentación. La unidad de FO tiene entradas y salidas separadas para dichas soluciones de alimentación y extracción. La unidad de FO puede ser del tipo de láminas planas o del tipo de fibras huecas. Cuando la unidad de FO es del tipo de fibras huecas, los dos compartimentos o regiones se designan de diversas maneras como espacio de la luz y espacio del

10 lado de la carcasa (o espacio extracapilar) o como lado de la luz (o lado del tubo) y lado de la carcasa.

El término "ósmosis directa asistida" (AFO) (u ósmosis directa asistida por presión, PAFO), como se usa en el presente documento, se refiere al concepto de aplicar una presión mecánica (hidráulica) al lado de alimentación de la membrana para aumentar el flujo de agua mediante la sinergia de las fuerzas impulsoras osmótica e hidráulica. Esto puede lograrse aplicando una ligera presión en el lado de alimentación de la membrana que contiene canales nanoporosos de agua (usando el concepto de ósmosis directa asistida por presión). La fuerza impulsora adicional proporciona un aumento del flujo de permeación. El concepto de la AFO se describe más detalladamente, por ejemplo, en la publicación de Blandin *et al.* (2013), *Validation of assisted forward osmosis (AFO) process: Impact of hydraulic pressure, Journal of Membrane Science* 447: 1-11.

20

El término "compuestos formadores de matrices anfífilas", como se usa en el presente documento, comprende lípidos tales como fosfolípidos; copolímeros de bloques con bloques tanto hidrófilos (A, C) como hidrófobos (B), tales como los tipos A-B, A-B-A y A-B-C, e hidrofobinas (clase I y clase II) que son útiles en la preparación de membranas tales como membranas bicapa, y similares. Los compuestos formadores de matrices anfífilas forman preferiblemente membranas planas o vesiculares de tipo bicapa del tipo de la membrana lipídica o del tipo de los copolímeros de bloques A-B::B-A, A-B-A y A-B-C para la incorporación de proteínas transmembrana. Algunos compuestos formadores de matrices anfífilas pueden estar incluidos en pequeña cantidad en las membranas, por ejemplo, detergentes tales como poloxámeros e hidrofobinas.

25

30

"Agua purificada": la pureza del agua para diálisis es de importancia crítica para la salud del paciente. Por tanto, el agua utilizada según la presente invención para suplementar el agua utilizada del líquido de diálisis usado debe ser de la alta pureza usada normalmente en la preparación de soluciones de líquido de diálisis.

35

Concentrados de líquido de diálisis

En la técnica son bien conocidas diversas formulaciones de concentrados para preparar soluciones de líquido de diálisis para hemodiálisis o diálisis peritoneal. Estas formulaciones no solo varían con respecto a los constituyentes específicos, sino también con respecto a la concentración de estos constituyentes. En general, las formulaciones de concentrado incluyen cloruro de sodio como constituyente principal y cloruro de potasio, cloruro de calcio y cloruro de magnesio como constituyentes secundarios. También puede incluirse dextrosa (glucosa).

40

También se incluyen acetato de sodio y/o bicarbonato de sodio como fuentes tamponantes para corregir la acidosis metabólica. Con el tampón de acetato, todos los constituyentes pueden combinarse en un concentrado único. Con el tampón de bicarbonato, se necesitan dos concentrados para evitar la precipitación del calcio y el magnesio como sales de carbonato.

45

Las soluciones de diálisis convencionales en dos partes a base de bicarbonato se preparan mezclando un concentrado "ácido", un concentrado "básico" y agua. Normalmente, el concentrado ácido incluye todo el ácido, la dextrosa, el calcio, el magnesio, el potasio y alguna porción del cloruro de sodio requerido fisiológicamente, mientras que el concentrado básico incluye bicarbonato de sodio y el resto del cloruro de sodio requerido. En algunas formulaciones comerciales de concentrados de líquido de diálisis, el contenido de cloruro de sodio del concentrado básico es nulo. Dado que el ácido acético es líquido a temperatura ambiente, la mayoría de los concentrados ácidos que usan ácido acético son productos líquidos, mientras que los concentrados básicos se producen tanto como concentrados en polvo o como líquidos. Hay muchas otras combinaciones de concentrados ácidos y básicos comercialmente disponibles específicos para los métodos de preparación y el equipo de administración de la solución de diálisis.

50

Algunos ejemplos específicos de sistemas de concentrados de líquidos de diálisis son (entre paréntesis se mencionan las relaciones de dilución como volumen de concentrado ácido, volumen de concentrado básico y agua): la serie de concentrados para hemodiálisis a base de bicarbonato Renasol® (1:1,83:34) y la serie de concentrados para hemodiálisis Centrisol® (1:1,72:42,28) de Medivators (www-medivators.com) (anteriormente Minntech), la serie de concentrados ácidos líquidos NaturaLyte® (1:1,72:42,28) y la serie de concentrados a base de ácido cítrico Citrasate®

55

(1:1,72:42,28) de Fresenius Medical Care, la serie de concentrados ácidos líquidos RenalPure®/ SteriLyte® (1:1,83:34, 1:1,72:42,28 y 1:1,225:32,775) de Rockwell Medical (www-rockwellmed.com) y la serie BiCart Select® con citrato (1:aprox.2:197) de Gambro (www.gambro.com).

Concentrados para hemofiltración

- 5 Igualmente, en la técnica son bien conocidas las soluciones para hemofiltración y formulaciones de concentrados para preparar la solución de sustitución para hemofiltración. Además de la contribución a la eliminación de las toxinas urémicas y la corrección del estado de líquidos del paciente, las soluciones de hemofiltración también corrigen el equilibrio ácido-base del paciente. Dado que la insuficiencia renal da lugar a un agotamiento de los sistemas tamponantes y, en consecuencia, al desarrollo de acidosis metabólica, se necesita la administración neta de una base tamponante. Los ejemplos específicos son los concentrados de electrolitos Normocarb HF™ 25 y 35 de Dialysis Solutions Inc. (www.normocarb.com).

Material de la membrana que comprende canales de agua de acuaporina

- 15 Con referencia a la figura 6, el material de la membrana (605) comprende una capa activa (601) que comprende canales de agua de acuaporina, por ejemplo, como tetrámeros de la proteína en forma inmovilizada. El material de la membrana (605) comprende además una capa de soporte (602).

En algunas realizaciones, la capa activa que comprende los canales de agua de acuaporina inmovilizados es una película delgada de amida aromática reticulada en la que hay incorporadas vesículas que contienen acuaporina. Aquí se muestra una sección de una vesícula con un tetrámero de acuaporina incorporado en una bicapa lipídica.

- 20 En algunas realizaciones, las vesículas que contienen acuaporina se forman por autoensamblaje de lípidos anfífilicos o copolímeros de bloques o de una mezcla de los mismos, en presencia de una suspensión de proteínas de acuaporina.

La capa activa que comprende canales de agua de acuaporina inmovilizados comprende una capa de película delgada compuesta (TFC) que sirve para inmovilizar los canales de agua de acuaporina.

- 25 En algunas realizaciones, la capa activa que comprende los canales de agua de acuaporina es una película delgada de amida aromática reticulada en la que hay incorporadas vesículas que contienen acuaporina.

En algunas realizaciones, la capa de soporte es una membrana de soporte de polisulfona o polietersulfona.

- 30 Un "canal de agua de acuaporina", como se usa en el presente documento, se refiere a proteínas de canales de agua selectivas, tales como AqpZ y SoPIP2;1, preparadas según los métodos descritos por Maria Karlsson *et al.* (2003) (*FEBS Letters* 537: 68-72) o como se describe en el documento US 2012/0080377 A1 de Jensen *et al.*

La "capa activa que comprende canales de agua de acuaporina inmovilizados" es una capa en la que los canales de agua de acuaporina están inmovilizados, es decir, más o menos integrados o parcialmente integrados en dicha capa activa o incluso soportados en o sobre la misma. Dicha capa activa se crea preferiblemente en estrecho contacto con una capa de soporte, tal como una membrana de soporte típica de polisulfona o polietersulfona.

- 35 La formación de una capa de separación en forma de una capa de película delgada, como se conoce en la técnica, sobre la superficie de una membrana de soporte conduce a cambios en el mecanismo de transporte de agua. En lugar de que el transporte de agua tenga lugar por difusión normal a través de los poros de la membrana de soporte, tiene lugar otro tipo de transporte de agua a través de la capa de película delgada, como se conoce para este tipo de membranas de ósmosis inversa, donde la permeabilidad de la membrana está limitada. La naturaleza no porosa de la capa separadora de película delgada hace que el transporte de agua requiera una "difusión por saltos" como describen Kotelyanskii *et al.* (1998). Por tanto, la modificación de la película delgada de las membranas de agua tiene aplicación principalmente en ósmosis inversa, donde se requiere una presión hidrostática para forzar el agua a través de la membrana, y la ventaja obtenida radica en la mejor separación de los solutos no deseados en el agua que ha de filtrarse. Estas membranas convencionales para ósmosis inversa tienen efectivamente capas no porosas de 100-200 nm de espesor soportadas por un material poroso. La permeación de agua en estas membranas se produce como un proceso de difusión a través de la capa no porosa establecida por la aparición y desaparición de espacios intersticiales. La capa activa utilizada en la presente invención representa una mejora adicional en relación con las membranas de película delgada de la técnica anterior al tener canales de agua de acuaporina incorporados en la capa de película delgada, lo que la hace una capa de película delgada compuesta (TFC). La incorporación de acuaporinas tiene la ventaja adicional de proporcionar un transporte de agua selectivo a través de sus poros que tienen un diámetro de solo 2,4 Å en su paso más estrecho (poro de AqpZ, véase Wang *et al.*, 2005), donde tiene lugar un eficiente transporte de agua en fila única.

Una membrana "de película delgada compuesta" o (TFC), como se usa en el presente documento, se refiere a capa activa de membrana de película delgada, en donde dicha capa se prepara con un reactivo de amina, preferiblemente

una amina aromática tal como una diamina o triamina, por ejemplo, 1,3-diaminobenceno (*m*-fenilendiamina de más del 99 %, por ejemplo, como se adquiere de Sigma-Aldrich) en una solución acuosa, y un reactivo de haluro de acilo tal como un cloruro de di o triácido, por ejemplo, cloruro de benceno-1,3,5-tricarbonilo (n.º CAS 84270-84-8, cloruro de trimesoilo (TMC), del 98 %, por ejemplo, como se adquiere de Sigma-Aldrich) disuelto en un disolvente orgánico, en donde dichos reactivos se combinan en una reacción de polimerización interfacial, véase el documento US 4.277.344 que describe detalladamente la formación de una película delgada de poliamida formada sobre la superficie de un soporte de membrana porosa, por ejemplo, una membrana de polietersulfona. Más específicamente, el cloruro de benceno-1,3,5-tricarbonilo puede disolverse en un disolvente tal como un hidrocarburo C6-C12, por ejemplo, hexano (>99,9 %, Fisher Chemicals), heptano, octano, nonano, decano, etc. (hidrocarburos de cadena lineal o ramificada) u otro disolvente de hidrocarburo con bajo contenido de compuestos aromáticos, por ejemplo, Isopar™ G Fluid que se produce a partir de materias primas derivadas del petróleo tratadas con hidrógeno en presencia de un catalizador para producir un líquido de poco olor, cuyos principales componentes incluyen isoalcanos. Isopar™ G Fluid: nombre químico, hidrocarburos C10-C12, isoalcanos, menos del 2 % de compuestos aromáticos; n.º CAS 64742-48-9, nombre químico: nafta (petróleo), hidrot ratamiento pesado (de ExxonMobil Chemical). Las alternativas al reactivo 1,3-diaminobenceno incluyen diaminas tales como hexametildiamina, etc., y las alternativas al reactivo cloruro de benceno-1,3,5-tricarbonilo incluyen un cloruro de diácido, cloruro de adipoilo, etc., como se conocen en la técnica. Para que la capa activa sea una capa de película delgada compuesta, antes de que tenga lugar la polimerización interfacial se añade a las soluciones de los reactivos un componente adicional, en este caso canales de agua de acuaporina, que facilite el transporte de agua. Dicho componente puede participar o no en la reacción, pero preferiblemente es inerte en la reacción y queda inmovilizado en la película delgada formada.

Vesículas

En algunas realizaciones, los canales de agua de acuaporina se incorporan en vesículas antes de su incorporación en la capa activa, por ejemplo, la capa TFC. En algunas realizaciones, las vesículas en las que se incorporan los canales de agua de acuaporina son liposomas o polimerosomas.

En algunas realizaciones, la capa TFC se forma por polimerización interfacial de una solución acuosa de una di o triamina con una solución de un haluro de di o triácido en un disolvente orgánico y en donde las vesículas con los canales de agua de acuaporina están incorporadas en dicha solución acuosa.

A modo de ejemplo, la membrana puede producirse como describen Zhao, Y. *et al.* (2012).

Los liposomas se preparan a partir de lípidos tales como DPhPC, DOPC, lípidos mixtos de soja o lípidos mixtos de *E. coli*. Un ejemplo de una mezcla de lípidos de soja es asolectina. La "asolectina", como se usa en el presente documento, se refiere a una fracción de lecitina de soja [IV-S] que es un producto fosfolipídico altamente purificado que contiene lecitina, cefalina, fosfoinosítidos y aceite de soja (sinónimo: azolectina). Los "proteoliposomas", como se usan en el presente documento, son vesículas que normalmente tienen una relación de lípido a proteína (LPR, calculada en moles) de entre 25 y 500, tal como de aproximadamente 100 a aproximadamente 200.

En algunas realizaciones, los polimerosomas pueden comprender copolímeros de tribloques del tipo hidrófilo-hidrófobo-hidrófilo (A-B-A o A-B-C) o copolímeros de dibloques del tipo hidrófilo-hidrófobo (A-B). En algunas realizaciones, dichos polimerosomas pueden comprender una combinación de copolímeros de tribloques del tipo hidrófilo-hidrófobo-hidrófilo y copolímeros de dibloques del tipo hidrófilo-hidrófobo.

Los "proteopolimerosomas", como se usan en el presente documento, son vesículas que tienen normalmente una relación de polímero a proteína (POPR, calculada en moles) de entre 25 y 500, tal como de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 cuando se usa un copolímero de tribloques, y una relación de polímero a proteína de entre 25 y 500, tal como de aproximadamente 100 a aproximadamente 200 cuando se usa un copolímero de dibloques.

Los copolímeros de bloques usados normalmente para la incorporación de proteínas en la membrana pueden ser copolímeros de tribloques tales como polimetiloxazolina-polidimetilsiloxano-polimetiloxazolina (PMOXA_n-PDMS_m-PMOXA_n), en donde n y m representan el número de bloques monoméricos. En solución acuosa, estos se autoensamblan en láminas bicapa que se cierran para formar esferas huecas denominadas vesículas o polimerosomas. El PMOXA, hidrófilico, queda enfrentado al agua, mientras que el PDMS, hidrófobo, se sitúa en el interior de la bicapa. Los parámetros más relevantes relacionados con los polímeros conocidos hasta ahora para la incorporación de proteínas transmembrana (proteínas TM), incluidas las acuaporinas, son: el peso molecular (M_w , el peso de un mol, 6×10^{23} moléculas, de polímero) y la relación volumétrica hidrofílica ($f_{\text{phil(vol)}}$, la relación entre el volumen de los bloques hidrofílicos, lo que incluye todos los bloques a ambos lados, y el volumen del polímero completo). El M_w de los copolímeros de tribloques PMOXA-PDMS-PMOXA para el que se ha observado la incorporación satisfactoria de proteínas, incluidas acuaporinas, en la membrana está en el intervalo entre 4.000 y 11.000 g/mol. Hasta ahora, se ha encontrado que la $f_{\text{phil(vol)}}$ está entre 0,15 y 0,45 (por encima y por debajo de estos valores no pueden formarse vesículas). Recientemente, los polímeros de funcionamiento satisfactorio incluyen: copolímeros de dibloques hechos de polibutadieno-poli(óxido de etileno) (PB_m-PEO_n), en donde PB es hidrófobo y PEO es hidrófilico y en donde dos moléculas forman una bicapa. El M_w de un polímero PB_m-PEO_n que incorpora satisfactoriamente proteínas transmembrana es de aproximadamente 1.200 g/mol y la $f_{\text{phil(vol)}}$ de aproximadamente 0,3.

Estos y otros polímeros que son capaces de autoensamblarse para formar polimerosomas se recogen en la tabla 2 a continuación.

Tabla 2. Polímeros capaces de autoensamblarse

Composición química	Fuente	Comentarios
PB-PEO (polibutadieno-poli(óxido de etileno))	Discher, 2002	Vesículas robustas en solución acuosa
PAA-PS (poli(ácido acrílico)-poliestireno)	Discher, 2002	Cadenas largas de PS (500) dan lugar a vesículas con selectividad de disolvente (espesor de bicapa = 20-40 nm)
PS-poli(isociano-L-alanina-L-alanina)	Discher, 2002 Discher, 2000	Vesículas y varillas en condiciones ácidas, diámetro d = 10-100 nm, espesor de bicapa = 16 nm
PEE-PEO (polietilenoetileno-poli(óxido de etileno))	Discher, 2002 Discher, 2000	Vesículas robustas en solución acuosa en coexistencia con micelas esféricas y vermiformes
PMOXA-PDMS-PMOXA (polimetiloxazolina-polidimetilsiloxano-polimetiloxazolina)	Nardin, 2000	Vesículas robustas en solución acuosa
PEO-PPS (poli(óxido de etileno)-poli(sulfuro de propileno))	Discher, 2002	
PEO-PLA (poli(óxido de etileno)-polilactida)	Discher, 2002	Solo micelas, potencialmente interesantes para la administración de fármacos
PEO-PS	Discher, 2000	Vesículas estables (espesor de bicapa = 20-25 nm) después de diálisis de disolvente orgánico a agua
PEO-PMPS (PEO-polimetilfenilsilano)	Discher, 2000	Vesículas formadas con el máximo PDI (1,6); espesor de la capa hidrofóbica = 8-12 nm
PCEMA (poli(metacrilato de 2-cinamoiletilo))	Discher, 2000	Nanosfera soluble en agua cargable con un tinte (espesor de bicapa = 20 nm)
PC-diC_18 (fosfocolina-diC_18)	Discher, 2000	
PIAA-PS (poli(éster metílico de isocianoalanil-alanilo)-PS)	Discher, 2000	
PSSH-PEE (poli(ácido estirenosulfónico)-PEE)	Discher, 2000	Las vesículas de mejor rendimiento en aprox. 30 kDa, vesículas (d = 100 nm) y micelas colapsadas en NaCl 0-1 M
PEO-PPO-PEO (PEO-poli(óxido de etileno)-PEO)	Discher, 2000	Vesículas pequeñas, durabilidad de pocas horas (espesor de bicapa de PEO = 3-5 nm, espesor de bicapa de PO = 25 nm)
PS-PB	Discher, 2000	Vesículas uni y multilaminares de tamaño submicrométrico
PS-PPI (PS-poli(propilimina))	Discher, 2000	Vesículas multilaminares en solución orgánica que precipitan en agua
PB-P2VP (PB-poli(2-vinilpiridina))	Discher, 2000	Vesículas multilaminares en solución acuosa, d = 150 nm
PPQ-PS (poli(fenilquinolina)-PS)	Discher, 2000	Vesículas colapsadas / agregados de vesículas (espesor de bicapa = 200 nm) en TFA/CHCl ₃
PBO-PEO (poli(óxido de butilo)-PEO)	Harris, 2002	Vesículas con una estructura bicapa casi perfecta

- 5 Otros ejemplos de copolímeros de dibloques y copolímeros de tribloques útiles se recogen en la tabla 3, en donde EO-bloque-DMS-bloque representa poli(dimetilsiloxano-bloque-óxido de etileno-bloque), EO-bloque-BO-bloque representa poli(óxido de butileno-bloque-óxido de etileno-bloque) y MOXA-bloque-DMS-bloque-MOXA-bloque representa poli(2-metiloxazolina-bloque-dimetilsiloxano-bloque-2-metiloxazolina).

Tabla 3. Copolímeros de di y tribloques (todos del proveedor Polymer Source)

Especie	Fórmula	n _(hidrofóbicos)	n _(hidrofílicos)
P7258	EO ₄₈ DMS ₇₀	70	48
P5809	EO ₁₅ BO ₁₆	15	16
P8365	EO ₂₅ DMS ₈	8	25
P7259	EO ₄₈ DMS ₁₄	14	48
P7261	EO ₁₁₄ DMS ₁₄	14	114
P3691B	MOXA ₆ DMS ₃₅ MOXA ₆	35	12
P8061	MOXA ₁₅ DMS ₆₇ MOXA ₁₅	67	30
P9548	MOXA ₁₅ DMS ₁₁₉ MOXA ₁₅	119	30

La “capa de soporte” o sustrato de soporte que funciona como soporte de membrana puede ser, por ejemplo, una membrana de polietersulfona tal como la membrana de soporte porosa PES, por ejemplo, una membrana MicroPES 1FPH o 2FPH de Membrana GmbH. Otros ejemplos de capas de soporte que pueden ser adecuadas incluyen, pero no se limitan a un sustrato de acetato de celulosa, un sustrato de nitrocelulosa, un sustrato de ésteres de celulosa, un sustrato de policarbonato, un sustrato de poliamina, un sustrato de poliimida, un sustrato de polisulfona, un sustrato de polietersulfona, un sustrato de poliacrilonitrilo, un sustrato de polietileno, un sustrato de polipropileno, un sustrato de politetrafluoroetileno, un sustrato de poli(fluoruro de vinilideno), un sustrato de poli(cloruro de vinilo), un sustrato de politereftalato, un sustrato de óxido de aluminio, un sustrato de óxido de titanio, un sustrato de dióxido de circonio, un sustrato de óxidos del tipo de la perovskita y mezclas de los mismos.

Los ejemplos de membranas de fibras huecas adecuadas como capa de soporte pueden ser las membranas capilares MicroPES® (tales como del tipo TF10, etc.) de Membrana GmbH.

Orientación de la membrana

En los procesos de ósmosis directa, la orientación de la membrana puede revestir importancia. Por tanto, en una realización del módulo de membrana de ósmosis directa de la invención la capa activa se enfrenta a la solución de alimentación. Esta orientación también se denomina modo FO. En otra realización del módulo, la capa activa se enfrenta a la solución de extracción. Esta orientación también se denomina modo PRO.

La “presión osmótica” es la presión que debe aplicarse para evitar el flujo neto de disolvente a través de una membrana semipermeable de una solución de menor concentración de solutos a una solución de mayor concentración de solutos.

La presión osmótica de una solución depende de la cantidad de partículas en la solución. En el caso de una solución ideal, la presión osmótica es directamente proporcional a la molalidad.

La “osmolalidad” es una medida de los moles (u osmoles) de solutos osmóticamente activos por kilogramo de disolvente, expresada como Osm/kg. La osmolalidad de una solución ideal de un compuesto no disociado es igual a la molalidad.

La osmolalidad se mide normalmente por la depresión del punto de congelación. Una solución acuosa de 1 Osm/kg tiene un punto de congelación de -1,858 °C. Como ejemplo: una solución de 1 mol, por ejemplo, de azúcar, en 1 kg de agua hace descender el punto de congelación en 1,858 °C, mientras que la depresión del punto de congelación se obtendrá con 0,5 mol en 1 kg de agua.

La “osmolaridad” es una medida de los osmoles de soluto por litro de solución.

La “presión osmótica” puede calcularse a partir de la osmolalidad mediante la fórmula:

$$\pi (\text{bar } (10^3 \text{ hPa})) = \text{osmolalidad} \left(\frac{\text{Osm}}{\text{l}} \right) \times R \times T(K)$$

en donde R es la constante de los gases (8,3144621 J·K⁻¹·mol⁻¹).

SECCIÓN EXPERIMENTAL

Ejemplo 1. Potenciales osmóticos de concentrados de líquido de diálisis frente a los líquidos de diálisis preparados

La presión osmótica de un ejemplo de un concentrado ácido y un concentrado básico (bicarbonato) y del líquido de diálisis listo para usar resultante se calculó mediante el programa OLI Analyzer Studio 9.0 (OLI Systems Inc. NJ, EE. UU.). En el ejemplo calculado, debe mezclarse 1 l del concentrado ácido líquido con 1,575 l del concentrado de bicarbonato y 42,425 l de agua purificada para obtener 45 l de líquido de diálisis listo para usar. La tabla 4 presenta las composiciones de los tres líquidos y la tabla 5 muestra las presiones osmóticas calculadas.

Tabla 4: Composición de los líquidos

Composición del líquido	Na ⁺ (mmol/l)	K ⁺ (mmol/l)	Ca ²⁺ (mmol/l)	Mg ²⁺ (mmol/l)	Cl ⁻ (mmol/l)	HCO ₃ ⁻ (mmol/l)	Acetato (mmol/l)	Glucosa (g/l)
Concentrado ácido	4.770	135	67,5	22,5	4.950		135	45
Concentrado de bicarbonato	1.000					1.000		
Líquido de diálisis listo para usar	138	3,0	1,5	0,5	110	32	3,0	1,0

Tabla 5. Presiones osmóticas estimadas

Líquido	Presión osmótica (bar (10 ³ hPa)) (a 37 °C)
Concentrado ácido	412
Concentrado básico	40
Líquido de diálisis listo para usar	8

- 5 El líquido de diálisis usado tendrá normalmente una presión osmótica ligeramente inferior a la del líquido de diálisis listo para usar, debido al exceso de agua corporal extraída de la sangre del paciente. Por tanto, como puede verse en la tabla 5, ambos concentrados, ácido y básico, proporcionan diferencias de potencial osmótico útiles con respecto al líquido de diálisis usado en un proceso de ósmosis directa que extrae agua del líquido de diálisis usado.

10 **Ejemplo 1b. Potenciales osmóticos de concentrados de líquido de sustitución frente a los líquidos de sustitución preparados**

Las presiones osmóticas de dos ejemplos de concentrados de líquido de sustitución y de los líquidos de sustitución listos para usar resultantes se calcularon mediante el programa OLI Analyzer Studio 9.0 (OLI Systems Inc. NJ, EE. UU.).

- 15 En los ejemplos calculados, deben mezclarse 0,240 l del concentrado con 3 l de agua purificada para obtener 3,24 l de la solución de infusión.

La tabla 4b presenta la composición de los tres líquidos y la tabla 5b muestra las presiones osmóticas calculadas.

Tabla 4b. Composición de los líquidos

Composición del líquido	NaCl (g/l)	MgCl ₂ ·6H ₂ O (g/l)	NaHCO ₃ (g/l)
Concentrado de bajo contenido de bicarbonato	90,73	2,06	28,35
Concentrado de alto contenido de bicarbonato	82,84	2,06	39,70

Líquido	Na ⁺ (mmol/l)	Mg ²⁺ (mmol/l)	Cl ⁻ (mmol/l)	HCO ₃ ⁻ (mmol/l)
Concentrado de bajo contenido de bicarbonato diluido	140	0,75	116,5	25
Concentrado de alto contenido de bicarbonato diluido	140	0,75	106,5	35

20

Tabla 5b. Presiones osmóticas estimadas

Composición del líquido	Presión osmótica (bar (10 ³ hPa)) (a 37 °C)
Concentrado de bajo contenido de bicarbonato	107,7
Concentrado de alto contenido de bicarbonato	108,4
Concentrado de bajo contenido de bicarbonato diluido	7,5
Concentrado de alto contenido de bicarbonato diluido	7,7

El líquido de drenaje de hemofiltración tendrá normalmente una presión osmótica similar a la del concentrado diluido. Por tanto, como puede verse en la table 5b, ambos concentrados proporcionan diferencias de potencial osmótico útiles en relación con el drenaje de hemofiltración en un proceso de ósmosis directa que extrae agua de un líquido de drenaje de hemofiltración.

Ejemplo 2. Preparación de vesículas que contienen canales de agua de acuaporina

Se preparan proteoliposomas de asolectina de 1 mg/l y una relación de lípido a proteína (LPR) de 200 con AqpZ de M_w 27.233 según el protocolo siguiente:

- 1) Poner 5 ml de una solución madre de 2 mg/ml de asolectina (M_w 786,11 g/mol, Sigma) en $CHCl_3$ en un vial de evaporación de 50 ml.
 - 2) Evaporar el $CHCl_3$ mediante un rotavapor durante al menos 2 h hasta sequedad total.
 - 3) Añadir 0,8 ml de solución tampón (octilglucósido (OG) al 1,3 % en PBS, pH 7,4) para rehidratar la película obtenida en el vial de evaporación en la etapa 2.
 - 4) Agitar el vial a las rpm máximas en una plataforma agitadora (plataforma agitadora orbital Heidolph Unimax 2010 o equivalente) hasta la disolución del lípido.
 - 5) Añadir 1,73 mg de AqpZ en un tampón de proteínas que comprende Tris pH 8, glucosa y 10 mg/ml de OG, y hacer girar el vial durante 15 min a 200 rpm, en donde la AqpZ se prepara según la descripción en el presente documento.
 - 6) Añadir lentamente 9,03 ml de PBS (pH 7,4 sin OG) y agitar el vial a 200 rpm.
 - 7) Congelar/descongelar tres veces la solución/suspensión combinada en hielo seco/baño de agua a 4 °C para eliminar las posibles estructuras multilaminares.
 - 8) Añadir 250 mg de perlas Biobeads (SM2 de Biorad) hidratadas y hacer girar el vial durante 1 h a 200 rpm a 4 °C para la adsorción del detergente (OG).
 - 9) Añadir otros 250 mg de perlas Biobeads hidratadas y hacer girar el vial durante 2 a 3 días a 200 rpm a 4 °C.
 - 10) Se retiran las perlas Biobeads con el OG adsorbido de la suspensión mediante pipeteo.
 - 11) Extruir la suspensión obtenida aproximadamente 11 veces a través de un filtro de policarbonato de 200 nm mediante una extrusora (tal como EmulsiFlex-C5 de Avestin, Canadá) al menos 1 vez y hasta aproximadamente 22 veces para obtener una suspensión uniforme de una suspensión de proteoliposomas (vesículas).
- Protocolo de preparación de proteopolimerosomas de 1 mg/ml con una relación de polímero a proteína (POPR) de 50
- 1) Copolímeros de tribloques a base de polioxazolina, poli(2-metiloxazolin-b-dimetilsiloxano-b-2-metiloxazolina), MOXA 12: DMS 35, M_w 3.510 (P3691 adquirido de Polymer Source™, Quebec, Canadá), AqpZ de M_w 27.233.
 - 2) Poner 5 ml de una solución madre de 2 mg/ml de P3691 en $CHCl_3$ en un vial de evaporación de 50 ml.
 - 3) Añadir 3,0 ml de solución tampón (OG al 1,3 %, sacarosa 200 mM, Tris 10 mM pH 8, NaCl 50 mM) para rehidratar la película obtenida en el vial de evaporación en la etapa 2.
 - 4) Agitar el vial a 200 rpm en una plataforma agitadora (plataforma agitadora orbital Heidolph Unimax 2010 o equivalente) durante 3 h para lograr la disolución del copolímero.
 - 5) Añadir 1,55 μ l de AqpZ en un tampón de proteínas que comprende Tris, glucosa y OG, y hacer girar el vial durante la noche a 200 rpm a 4 °C.
 - 6) Añadir lentamente 6,88 ml de tampón (Tris 10 mM pH 8, NaCl 50 mM) mientras se mezcla por pipeteo hacia arriba y hacia abajo.
 - 7) Añadir 180 mg de perlas Biobeads hidratadas y hacer girar durante 1 h a 200 rpm.
 - 8) Añadir 210 mg de perlas Biobeads hidratadas y hacer girar durante 1 h a 200 rpm.
 - 9) Añadir 240 mg de perlas Biobeads hidratadas y hacer girar durante la noche a 200 rpm a 4 °C.
 - 10) Añadir 240 mg de perlas Biobeads hidratadas y hacer girar durante la noche a 200 rpm a 4 °C.

11) Las perlas Biobeads con el OG adsorbido se retiran de la suspensión por pipeteo.

12) Extruir la suspensión al menos 21 veces a través de un filtro de policarbonato de 200 nm mediante una extrusora, por ejemplo, al menos 1 vez y hasta aproximadamente 22 veces para obtener una suspensión uniforme de una suspensión de proteopolimerosomas (vesículas).

5 **Ejemplo 3. Preparación de un módulo de fibras huecas en donde la superficie interior de las fibras ha sido funcionalizada con vesículas inmovilizadas de AqpZ**

Utilizando un módulo de fibras huecas con membranas de polietersulfona, tal como un módulo a medida, por ejemplo, con 9 fibras que corresponden aproximadamente a 10 cm² de área exterior y 5 cm² de área interior, o con un área de membrana de hasta 0,5 m², lo que puede corresponder a varios cientos de fibras, dependiendo de la longitud del módulo (Membrana GmbH, Wuppertal, Alemania), en donde el módulo se prepara esencialmente como describen Sukipaneenit *et al.* (2011), se prepara una capa de película delgada compuesta en la superficie interior de las fibras mediante una polimerización interfacial que conlleva las etapas siguientes:

1) Obtener 4 ml de vesículas de AqpZ en forma de proteoliposomas o proteopolimerosomas como se preparan en el ejemplo anterior.

2) Disolver 250 mg de 1,3-diaminobenceno en 6 ml de agua MilliQ para obtener una solución de una concentración del 4,2 % (p/p).

3) Se disuelven 75 mg de cloruro de benceno-1,3,5-tricarbonilo en 50 ml de hexano para obtener una concentración final del 0,15 % (p/v).

4) Se prepara una mezcla de 1,3-diaminobenceno y vesículas de AqpZ disolviendo/mezclando 4 ml de las vesículas de la preparación de la etapa 1 con 6 ml de la solución de la etapa 2.

5) La mezcla obtenida en la etapa 4 se bombea constantemente a través del módulo durante 2 min utilizando la entrada terminal 1 (o la entrada 2), véase la figura 1.

6) El exceso de 1,3-diaminobenceno se elimina mediante purga constante con aire del lado de la luz de las fibras durante 2 min utilizando, por ejemplo, la entrada 1, véase la figura 1, preferiblemente con el módulo invertido.

7) A continuación, se inyecta un flujo constante de la solución de cloruro de benceno-1,3,5-tricarbonilo de la etapa 3 en el módulo a través de la entrada 1 durante aproximadamente 30 s mediante una bomba de jeringa de TSE Systems (www.tse-systems.com) para permitir que tenga lugar la reacción de polimerización interfacial.

8) Finalmente, el módulo se enjuaga, preferiblemente con agua MilliQ, aproximadamente 10 ml, por inyección a través de las entradas laterales 3 y 4.

Después de llenar el módulo de agua, se sella con los tapones de sellado blancos (5), véase la figura 1, para evitar que se seque (los tapones de sellado son parte del módulo y se incluyen en la entrega).

El módulo de ósmosis directa preparado según el protocolo anterior puede usarse en el método de la invención para la reutilizar agua pura de una solución de líquido de diálisis usada. Para más detalles sobre la preparación de módulos de fibras huecas con capas de fibras activas de película delgada compuesta, véase el documento WO 2014/108827, "A Hollow Fiber Module Having TFC-Aquaporin Modified Membranes", publicado el 17 de julio de 2014, cuyo contenido se incorpora en el presente documento por referencia.

Ejemplo 4. Sistema para utilizar agua del líquido de diálisis usado de hemodiálisis

Este ejemplo muestra el uso del sistema y método según la invención para preparar un líquido de diálisis nuevo para hemodiálisis, véanse las figuras 3A y 3B.

Al comenzar la preparación continua, el depósito para el líquido de diálisis nuevo y listo para usar (301) contiene un volumen inicial de líquido de diálisis preparado con anterioridad. El líquido de diálisis nuevo y listo para usar (301) entra en el dializador. Después de salir del dializador, el líquido de diálisis ahora usado (302) comprende iones (Na⁺, K⁺, lactato, acetato, bicarbonato, etc.), metabolitos de bajo peso molecular (por ejemplo, urea) y otros metabolitos (indoxilo, β2-microglobulina, etc.) y agua. Para utilizar el agua, el líquido de diálisis usado entra en la primera unidad de ósmosis directa (FO) (307) por el lado de alimentación de la membrana. Por el lado de extracción de la membrana de esta primera unidad de FO fluye el concentrado de bicarbonato (305). Durante el proceso de FO, el concentrado de bicarbonato se diluye con el agua absorbida a través de la membrana de FO del líquido de diálisis usado.

En la realización mostrada en la figura 3A, después de salir de la primera unidad de FO, el líquido de diálisis usado entra en la segunda unidad de ósmosis directa (308) por el lado de alimentación de la membrana. Por el lado de extracción de la membrana de esta segunda unidad de FO fluye el concentrado ácido (citrateo, lactado, acetato) (306). Durante el proceso de FO, el concentrado ácido se diluye con agua del líquido de diálisis usado.

Después de salir de la segunda unidad de FO, el líquido de diálisis usado y deshidratado (309) se descarta.

En la realización mostrada en la figura 3B, después de salir de la primera unidad de FO, el líquido de diálisis usado y deshidratado (309) se descarta. En paralelo, el líquido de diálisis usado (302) entra en la segunda unidad de ósmosis directa (308) por el lado de alimentación de la membrana. Por el lado de extracción de la membrana de esta segunda
5 unidad de FO fluye el concentrado ácido (citrato, lactato, acetato) (306). Durante el proceso de FO, el concentrado ácido se diluye con agua del líquido de diálisis usado. Después de salir de la segunda unidad de FO, el líquido de diálisis usado y deshidratado (309) se descarta.

El concentrado de bicarbonato diluido y el concentrado ácido diluido se mezclan y ajustan según sea necesario con agua purificada para obtener un líquido de diálisis nuevo con la concentración deseada de los componentes ácidos y
10 básicos.

Ejemplo 5. Sistema de extracción de agua para reciclar el agua de hemodiálisis de una solución de diálisis usada

Este ejemplo muestra el uso de una membrana de FO de gran permeabilidad al agua y esencialmente impermeable a sales y solutos de bajo peso molecular en un proceso de extracción de agua para el tratamiento posterior de soluciones
15 de líquido de diálisis usadas, véase la figura 1. Normalmente, la solución de líquido de diálisis es una solución acuosa diluida de iones minerales y glucosa, que normalmente fluye a contracorriente con la sangre de un paciente a través de un módulo de ultrafiltración de fibras huecas durante la hemodiálisis. Sam *et al.* (2006) describen la composición y el uso clínico de líquidos de hemodiálisis. La solución de líquido de diálisis mantendrá un gradiente de concentración suficiente a través de una membrana de ultrafiltración con respecto a los solutos que deben eliminarse de la sangre
20 tales como urea, productos de degradación tales como sulfato de indoxilo y *p*-cresol, así como excesos de potasio y fósforo, para así mantener eficientemente la diálisis. Para este fin, se necesitan grandes cantidades de agua ultrapura, por ejemplo, aproximadamente 400 l de agua a la semana. Los sistemas de extracción de agua descritos en el presente documento son útiles en sistemas para reciclar esta agua ultrapura, por ejemplo, en un circuito cerrado, en donde la solución de líquido de diálisis usada o gastada (diluida), después haberse utilizado en hemodiálisis, por ejemplo,
25 después de haber absorbido materiales residuales tales como urea y otros metabolitos de la sangre pasando a través de un filtro de hemodiálisis, puede funcionar como solución fuente o de alimentación (101) al pasar a través de un módulo de membrana de FO o una celda de flujo (102) que contiene una membrana de acuaporina preparada como se describe en el presente documento, y en donde una solución de líquido de diálisis nueva concentrada (concentrado de diálisis) puede funcionar como solución de extracción (106). De este modo, solo se extrae agua pura de la solución
30 de líquido de diálisis residual contaminada (101) y esta agua pura extraída se usa en sustitución de los nuevos suplementos de agua ultrapura que de otra manera se requerirían para la dilución del concentrado de diálisis (106). De manera ideal, el líquido de diálisis concentrado puede diluirse suficientemente para usarlo directamente para hemodiálisis continua (108). Opcionalmente puede usarse un suministro de agua purificada como fuente de agua adicional.

Una ventaja adicional resultaría de la concentración de la solución de líquido de diálisis usada al obtenerse un volumen menor para la eliminación de residuos.

Ejemplo 6. Sistema de extracción de agua para reutilizar el agua perdida en la diálisis peritoneal

La figura 4 muestra un sistema para la preparación continua de líquido de diálisis peritoneal, en el que se usa una
40 unidad de ósmosis directa para extraer agua pura del líquido de diálisis peritoneal usado. Esta es una alternativa al uso de múltiples bolsas de líquido de diálisis de gran volumen de llenado como se emplean actualmente y al uso de un suministro de agua purificada por ósmosis inversa y posterior ultrafiltración, véase la publicación de Brunkhorst *et al.* (1998), que estudiaron la viabilidad de la producción de un líquido de diálisis para diálisis peritoneal mediante una máquina Gambro AK 100 Ultra, desarrollada para la producción en línea de líquidos de sustitución intravenosos para hemofiltración.

En el sistema según la presente invención, el líquido de diálisis nuevo para diálisis peritoneal se prepara a partir de un concentrado ácido (401) que fluye a través del lado de extracción de la unidad de FO (402). Por el lado de alimentación de la unidad de FO fluye el líquido de diálisis usado del paciente (408). Opcionalmente, el concentrado diluido puede diluirse adicionalmente con un suministro de agua purificada (403), cuya agua ha sido sometida a ultrafiltración en una
45 unidad de ultrafiltración (404). El concentrado diluido fluye después a través de una columna de bicarbonato (405) y luego de una unidad de ultrafiltración (406) antes de entrar en un depósito de líquido de diálisis nuevo (407). Al comenzar la preparación continua, el depósito (407) contiene un volumen inicial de líquido de diálisis nuevo preparado con anterioridad.

La reutilización de agua pura obtenida mediante extracción por FO según la invención en el presente documento
55 añade beneficios adicionales a la producción de líquidos de diálisis nuevos, por la eliminación del uso de energía necesario para los procesos habituales de ósmosis inversa y ultrafiltración, además de otros beneficios tales como la reducción de los riesgos de contaminación por sustancias tóxicas, etc.

Ejemplo 7. Sistema de extracción de agua para reciclar el agua perdida en la hemofiltración

En este caso se describe cómo el sistema de la invención puede utilizarse en una configuración de hemofiltración para la preparación de líquido de sustitución para hemofiltración, en donde el líquido de sustitución es de composición similar a un líquido de diálisis para hemodiálisis, excepto porque es isotónico.

5 La hemofiltración es un tratamiento de sustitución renal utilizado en medicina intensiva, como en el caso de una insuficiencia renal aguda. Es un tratamiento continuo y lento en el que las sesiones duran normalmente entre 12 y 24 horas y habitualmente se llevan a cabo diariamente. Durante la hemofiltración, la sangre del paciente se hace pasar mediante una máquina a través de una membrana semipermeable (el hemofiltro), normalmente una membrana de ultrafiltración, para eliminar los productos residuales y el exceso de agua.

10 Para evitar la hipovolemia (disminución del volumen de plasma sanguíneo), debe añadirse a la sangre el agua eliminada durante la hemofiltración antes de retornar la sangre al paciente. Tasas de hemofiltración tales como de 1 l/h significan que se elimina 1 l de líquido de la sangre del paciente en el líquido de drenaje y se retorna 1 l de líquido de sustitución al circuito antes de que llegue al paciente.

15 El movimiento de solutos de la sangre se rige por convección, más que por difusión, con lo que se evita el uso del líquido de diálisis que es hipertónico. En su lugar, una presión hidrostática positiva impulsa el agua y los solutos a través de la membrana del hemofiltro desde el compartimento de la sangre al compartimento del filtrado, del que se drena. Los solutos pasan a través de la membrana a un ritmo similar por el flujo del agua impulsada por la presión hidrostática. De este modo, la convección supera la reducida tasa de eliminación de los solutos de gran tamaño debida a su baja velocidad de difusión que se observa en hemodiálisis. El líquido de sustitución isotónico se añade a la sangre para sustituir el volumen y los electrolitos perdidos en el drenaje. El líquido de sustitución debe ser de gran pureza, porque se infunde directamente en la vía sanguínea del circuito extracorporeal. Los líquidos de sustitución pueden retornarse antes o después del hemofiltro. Esto se denomina configuración predilución o postdilución. La predilución significa que la solución de sustitución se retorna a la sangre antes de llegar al filtro y la sangre se diluye en las fibras huecas. La postdilución significa que el líquido de sustitución se retorna a la sangre después del filtro (pero antes del lado de retorno del catéter de acceso). La predilución diluye la sangre en el filtro, con lo que se reduce la coagulación. 20 La postdilución concentra la sangre en el filtro, con lo que se aumenta el aclaramiento.

25 El sistema de la invención (en referencia a la figura 5A) es útil en la preparación de líquido de sustitución por la aplicación de una solución relativamente más concentrada (509) como solución de extracción y la aplicación del líquido de drenaje de hemofiltración (507) del paciente como alimentación en una unidad de ósmosis directa para obtener el líquido de sustitución isotónico adecuado con las mediciones de ajuste de la concentración que se necesiten y el paso a través de las etapas de esterilización que se necesiten. Opcionalmente, puede usarse un suministro de líquido de sustitución isotónico (511) como fuente de agua adicional. En la figura, el líquido de sustitución se retorna después del hemofiltro.

30 Un líquido de sustitución comercial de Gambro, Hemosol B0, consiste en una bolsa de PVC con dos compartimentos que contiene una solución de electrolitos en el compartimento pequeño (compartimento A) y la solución tampón en el compartimento grande (compartimento B).

35 Antes de la reconstitución, 1.000 ml de la solución de electrolitos (compartimento pequeño A) contienen como sustancias activas: 5,145 g de cloruro de calcio, 2H₂O, 2,033 g de cloruro de magnesio, 6H₂O y 5.400 g de ácido láctico. Y 1.000 ml de la solución tampón (compartimento grande B) contienen como sustancias activas: 3,090 g de hidrogenocarbonato de sodio y 6,450 g de cloruro de sodio.

40 En la reconstitución, los dos compartimentos pequeño y grande se mezclan para dar una solución reconstituida cuya composición iónica tiene una osmolaridad teórica de 287 mOsm/l:

Sustancia	mmol/l	meq/l
Calcio, Ca ²⁺	1,75	3,50
Magnesio, Mg ²⁺	0,5	1,0
Sodio, Na ⁺	140	140
Cloruro, Cl ⁻	109,5	109,5
Lactato	3	3
Hidrogenocarbonato, HCO ₃ ⁻	32	32

45 Cualquiera de los dos concentrados, electrolitos y tampón, serán útiles en forma de concentrado como solución de extracción en combinación con el líquido de drenaje como alimentación. Con el ajuste adecuado del gradiente osmótico del concentrado usado como extracción y la adición final de agua altamente purificada para mezclar con el líquido de sustitución final para obtener isotonicidad, puede lograrse una utilización considerable de agua pura del líquido de drenaje del paciente sometido a hemofiltración.

50 Un ejemplo de concentrado de electrolitos para hemofiltración es la serie Normocarb HFTM de Dialysis Solutions Inc.: Normocarb HFTM 25 sin diluir contiene 90,73 g/l de cloruro de sodio, 2,06 g/l de cloruro de magnesio hexahidratado y 28,35 g/l de bicarbonato de sodio en agua para inyección; Normocarb HFTM 35 sin diluir contiene 82,84 g/l de cloruro

de sodio, 2,06 g/l de cloruro de magnesio hexahidratado y 39,70 g/l de bicarbonato de sodio en agua para inyección. Ambos concentrados deben diluirse 13,5 veces antes de su uso.

5 En otra realización, el filtrado, tal como un microfiltrado o ultrafiltrado, de la hemofiltración puede derivarse a través de un dispositivo de asistencia renal (RAD) para la reextracción del agua, véase la publicación de Issa *et al.* (2007), en donde dicho dispositivo está en forma de una unidad de fibras huecas con una capa activa que comprende canales de agua de acuaporina, por ejemplo, fibras huecas modificadas con una capa de película delgada compuesta que comprende canales de acuaporina como se describe anteriormente. Dicho dispositivo se muestra como (506) en las figuras 5B, 5C y 5D. Las figuras 5A a 5D están adaptadas de la publicación de Issa *et al.*

10 La figura 5B muestra una configuración de hemofiltración esquemática para la reextracción de agua del filtrado (507) procedente del hemofiltro (502), que en este caso es un módulo de fibras huecas en donde la corriente sanguínea fluye por dentro de las fibras huecas microporosas impulsada por presión hidrostática. Después del paso a través del hemofiltro, la sangre ahora concentrada fluye a través del espacio extracapilar o el lado de la carcasa de un módulo de fibras huecas (506) en equicorriente o contracorriente con el filtrado que fluye por el lado de la luz de las fibras huecas en condiciones de ósmosis directa o de ósmosis directa asistida por presión (por bombeo). De este modo, 15 tiene lugar la sustitución postdilución en la corriente sanguínea de agua, iones y sustancias de bajo peso molecular extraídas a la sangre concentrada a partir de la alimentación de filtrado, relativamente diluido, siempre que el módulo contenga fibras de nano o microfiltros convencionales. Sin embargo, en caso de que se use un módulo de fibras huecas con canales de agua de acuaporina inmovilizados en una capa activa de película delgada compuesta preparado como se describe anteriormente, la corriente sanguínea filtrada y concentrada que actúa como extracción 20 extrae solo agua pura del hemofiltrado. Por tanto, las sales, iones y solutos de bajo peso molecular sí se difunden a través de las fibras huecas y puede ser que el paciente tenga que ingerir sales en caso necesario o puede que haya que infundirle una solución salina isotónica por vía intravenosa en caso necesario.

La figura 5C muestra una configuración esquemática de hemofiltración comparable a la de la figura 5A, pero en donde una corriente de líquido de sustitución predilución (512) entra en el hemofiltro.

25 La figura 5D muestra una configuración esquemática de hemofiltración, en donde una corriente de líquido de sustitución postdilución (513) entra en la corriente sanguínea filtrada directamente después de la reextracción de agua del hemofiltrado.

Un ejemplo de una unidad de hemofiltración convencional es Prismaflex M150 Set de Gambro, que tiene un área de filtro activa de 1,5 m². El diámetro interno de las fibras huecas (en húmedo) es de 240 µm y el espesor de la pared es de 50 µm. 30

Otro ejemplo es el hemofiltro de fibras huecas UF-205 de Nipro, en donde la membrana de fibras interior es de triacetato, con un diámetro de 200 µm y un espesor de 15 µm. La cubierta exterior es de policarbonato y poliuretano, esterilizada con rayos γ. La unidad está diseñada para resistir presiones de hasta 500 mm Hg (666,61 hPa).

35 Para unidades de hemofiltración de fibras huecas pueden usarse fibras de polisulfona de alto peso molecular en membranas compuestas con un diámetro de poro de 0,005 µm a 0,05 µm. Estas y otras fibras huecas similares pueden usarse en módulos de FO para la reabsorción de agua de filtrados o líquidos usados de procesos de tratamiento de sustitución renal, y dichas fibras pueden modificarse con una membrana de película delgada compuesta con canales de agua de acuaporina incorporados para mayor flujo de agua y selectividad.

40 La figura 5E muestra cómo funciona un sistema similar al de la figura 5A con bombas (514, 515, 516) para bombear la sangre al hemofiltro (bomba 514), el filtrado a través del módulo de ósmosis directa (FO) (bomba 515) y el concentrado de sustitución que contiene electrolitos a través del módulo de FO (bomba 516). El sistema de la figura 5E funciona con predilución de la sangre. La bomba (516) puede producir también una presión hidráulica para proporcionar una ósmosis directa asistida en el módulo (506).

Ejemplo 8. Estudio de prueba de concepto de FO

45 En este ejemplo, se proporciona un protocolo para un estudio de extracción de agua por ósmosis directa para la preparación de un líquido de diálisis listo para usar con la utilización de tanto un concentrado de líquido de diálisis ácido como uno básico como solución de extracción y una solución de líquido de diálisis usada preparada artificialmente como solución de alimentación. Aquí se describen dos ciclos de configuración de la membrana de FO que simulan los sistemas de extracción de agua descritos en el ejemplo 4 (con los números de referencia de la figura 50 3B y con referencia a la figura 7 que muestra una configuración típica de laboratorio para ósmosis directa).

Ciclo 1: alimentación (302), cámara (307), alimentación concentrada (309), extracción (305), cámara de FO (307) y extracción diluida (301).

SOLUCIONES DE PRUEBA

55 La solución de alimentación es una solución de líquido de diálisis usada (302) preparada artificialmente que contiene urea, creatinina, *o*-cresol, *p*-cresol, acetato/sulfato de indoxilo y β-microglobulina. Se compone con una concentración

que da como resultado una concentración típica encontrada en la sangre de 0,3 Osm/l. La osmolalidad de la solución de alimentación se mide mediante un aparato Osmomat 030, Gonotec GmbH.

La solución de extracción básica concentrada (305) es una solución de bicarbonato de sodio de 1 mol/l. Se compone con una osmolalidad de 1,7 Osm/l, que corresponde a una presión osmótica de 40 bar (40.000 hPa).

5 Cámara de FO (307)

Los experimentos de FO se realizan con un sistema de membrana a escala de laboratorio consistente en una celda CF042 (Sterlitech, Kent, WA, EE. UU.) como unidad de filtración de membrana de flujo cruzado (figura 7). La membrana de FO (por ejemplo, una membrana de FO Aquaporin Inside™ (42 cm²)) se coloca con el lado activo enfrentado a la alimentación.

10 Un depósito de solución de alimentación de 500 ml y un depósito de solución de extracción agitada de 500 ml están conectados a la celda de la membrana. Las soluciones se bombean en flujo a contracorriente a 50 ml/min con una bomba peristáltica (BT100-1I, Longer Pump, China).

15 El depósito de alimentación está colocado sobre una balanza digital (Kern 572, Kern & Sohn GmbH, Alemania) y el circuito de alimentación tiene instalada una sonda de conductividad (medidor Orion 3-Star, sonda 013016MD, Thermo Scientific, Waltham, MA, EE. UU.).

20 Un ordenador monitoriza las mediciones para calcular el flujo directo de agua y el flujo inverso de sal. Se toman muestras de la solución de extracción manualmente para medir el rechazo de los compuestos orgánicos de la solución de alimentación, que se determinan mediante herramientas/ métodos analíticos habituales como HPLC después de una extracción en fase sólida. Resultados anteriores no publicados han demostrado un rechazo mayor del 95-99 % de creatinina en una configuración de FO similar, pero con el uso de un módulo de FO de fibras huecas Aquaporine Inside™.

Ciclo 2: alimentación (302), cámara (308), alimentación concentrada (309), extracción (306), cámara de FO (308) y extracción diluida (301).

SOLUCIONES DE PRUEBA

25 La solución de alimentación es la solución de líquido de diálisis usada preparada artificialmente que se describe anteriormente.

La solución de extracción (306) es un concentrado ácido, por ejemplo, compuesto según los compuestos y concentraciones indicados en la table 4.

Cámara de FO (308)

30 La conexión de la alimentación y la extracción, así como la monitorización del experimento se realizan de manera similar a la configuración de la cámara (307).

35 Finalmente, una vez que las soluciones ácida y básica de líquido de diálisis se han diluido con agua pura extraída de la alimentación durante los procesos de FO se combinan y se usa una fuente de agua purificada para ajustar la osmolalidad a la hipertonicidad deseada para usar en una configuración de hemodiálisis. Se espera que el análisis de las muestras de cada una de las dos soluciones de extracción diluidas demuestre un rechazo muy elevado de los analitos, por ejemplo, urea, creatinina, *o*-cresol, *p*-cresol acetato/ sulfato de indoxilo y β-microglobulina.

Ejemplo 9. Estudio de prueba de concepto de FO

40 En este ejemplo se proporciona un protocolo de un estudio de extracción de agua por ósmosis directa para la preparación de un líquido de sustitución listo para usar a partir de un concentrado de líquido de sustitución como solución de extracción y un líquido de drenaje de hemofiltración (efluente) como solución de alimentación. En este caso se describe un ciclo en una configuración de membrana de FO que simula los sistemas de extracción de agua descritos en el ejemplo 7 (con referencia a los números de la figura 5A y con referencia a la figura 7 que muestra una configuración de laboratorio típica para ósmosis directa).

45 Ciclo: alimentación (líquido de drenaje de hemofiltración) (507), alimentación concentrada (508), extracción (líquido de sustitución concentrado) (509), cámara de FO (506) y extracción diluida (510).

SOLUCIONES DE PRUEBA

La solución de alimentación es un líquido de drenaje de hemofiltración (507) obtenido de una unidad de cuidados intensivos. La osmolalidad de la solución de alimentación se mide mediante un aparato Osmonat 030, Gonotec GmbH.

50 El líquido de sustitución concentrado (509) es una solución que contiene 90,73 g/l de cloruro de sodio, 2,06 g/l de cloruro de magnesio y 28,35 g/l de bicarbonato de sodio. Corresponde a una presión osmótica de aproximadamente

108 bar (108.000 hPa), véase el ejemplo 1b.

Cámara de FO (506)

5 Los experimentos de FO se realizan con un sistema de membrana a escala de laboratorio consistente en una celda CF042 (Sterlitech, Kent, WA, EE. UU.) como unidad de filtración de membrana de flujo cruzado (figura 7). La membrana de FO (por ejemplo, una membrana de FO Aquaporin Inside™ (42 cm²)) se coloca con el lado activo enfrente a la alimentación.

Un depósito de solución de alimentación de 500 ml y un depósito de solución de extracción agitada de 500 ml están conectados a la celda de la membrana. Las soluciones se bombean en flujo a contracorriente a 50 ml/min con una bomba peristáltica (BT100-1I, Longer Pump, China).

10 El depósito de alimentación está colocado sobre una balanza digital (Kern 572, Kern & Sohn GmbH, Alemania) y el circuito de alimentación tiene instalada una sonda de conductividad (medidor Orion 3-Star, sonda 013016MD, Thermo Scientific, Waltham, MA, EE. UU.).

15 Un ordenador monitoriza las mediciones para calcular el flujo directo de agua y el flujo inverso de sal. Se toman muestras de la solución de extracción manualmente para medir el rechazo de los compuestos orgánicos de la solución de alimentación, que se determinan mediante herramientas/ métodos analíticos habituales como HPLC después de una extracción en fase sólida. Alternativamente, puede usarse un módulo de FO de fibras huecas Aquaporine Inside™.

Referencias

- Panu Sukitpaneent y Tai-Shung Chung (2012), *Environmental Science & Technology* 46: 7358-7365.
- 20 Brunkhorst *et al.* (1998), *Automated peritoneal dialysis with 'on-line'-prepared bicarbonate-buffered dialysate: technique and first clinical experiences*, *Nephrol. Dial. Transplant.* 13: 3189-3192.
- Discher, B. M., Hammer, D. A., Bates F. S. y Discher D. E. (2000), *Polymer Vesicles in Various Media*, *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 5: 125-131 (2000).
- Discher D. E. *et al.* (2002) *Polymer Vesicles*, *Science* 297: 967.
- 25 Sam R., Vaseemuddin M., Leong W. H., Rogers B. E., Kjellstrand C. M. e Ing T. S. (2006), *Composition and clinical use of hemodialysates*, *Hemodialysis International* 10: 15-28.
- Harris J. K., Gene D. Rose y Merlin L. Bruening (2002), *Spontaneous Generation of Multilamellar Vesicles from Ethylene Oxide/Butylene Oxide Diblock Copolymers*, *Langmuir* 18: 5337-5342.
- Nardin C., Thomas Hirt, Jörg Leukel y Wolfgang Meier (2000), *Polymerized ABA Triblock Copolymer Vesicles*, *Langmuir* 16: 1035-1041.
- 30 Alsvik y Hägg (2013), *Pressure Retarded Osmosis and Forward Osmosis Membranes: Materials and Methods*, *Polymers* 5: 303-327.
- Naim Issa, Jennifer Messer, Emil P. Paganini (2007), *Renal Assist Device and Treatment of Sepsis-Induced Acute Kidney Injury* in Intensive Care Units, en Ronco C., Bellomo R., Kellum J. A. (eds.): *Acute Kidney Injury, Contrib. Nephrol.*, Basel, Karger 156: 419-427.
- 35 WO 2014/075086: *Methods for reducing ion exchange and reverse salt flux phenomena in membranes for osmotically driven membrane processes* (Nagare Membranes LLC).
- US 2010/0121246 A1
- Ronco, C. (2006), *Critical Care* 10: 123 (doi: 10.1186/cc4843).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una máquina de hemofiltración que comprende un sistema para utilizar el líquido residual de un hemofiltro (502) para reciclar al menos una parte del contenido de agua en un líquido residual de un proceso de hemofiltración, en donde dicho sistema comprende un hemofiltro (502) con una salida de filtrado para un líquido residual (507) que es el filtrado del hemofiltro y una salida de concentrado para el concentrado del hemofiltro (505), una fuente de concentrado de sustitución de electrolitos (509) y una unidad de ósmosis directa (FO) (102, 506) que comprende una membrana de ósmosis directa (103) que comprende canales nanoporosos de agua, en donde dicha membrana tiene un lado de alimentación (104) y un lado de extracción (105), en donde la salida de filtrado del hemofiltro está en comunicación fluida con el lado de alimentación de la unidad de FO y en donde la fuente de dicho concentrado de sustitución de electrolitos (509) o la salida de concentrado del hemofiltro está en comunicación fluida con el lado de extracción de la unidad de FO, en donde dichos canales nanoporosos de agua son canales de agua de acuaporina, en donde la membrana comprende una capa activa que comprende canales de agua de acuaporina inmovilizados y una capa de soporte y en donde dicha capa activa comprende una membrana de película delgada compuesta (TFC).
- 15 2. La máquina de hemofiltración según la reivindicación 1, en donde dicho sistema comprende además medios para bombear dicho líquido residual (515, 507) y dicho concentrado de sustitución de electrolitos (516, 519).
- 20 3. La máquina de hemofiltración según la reivindicación 1, en donde dicha capa activa es una capa de amida aromática reticulada, preferiblemente formada por polimerización interfacial, en la que hay incorporadas vesículas de acuaporina, en donde dichas vesículas se forman por autoensamblaje de compuestos formadores de matrices anfífilas en presencia de una preparación de proteínas de acuaporina.
- 25 4. La máquina de hemofiltración según la reivindicación 1, en donde dichos compuestos formadores de matrices anfífilas se seleccionan de entre un lípido anfífilo, una hidrofobina, un copolímero de dibloques, un copolímero de tribloques o mezclas de los mismos.
- 30 5. La máquina de hemofiltración según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dicho canal de agua de acuaporina se selecciona de entre acuaporinas de origen procariótico, por ejemplo, AqpZ; acuaporinas de mamíferos, por ejemplo, Aqpq y Aqp2; acuaporinas de plantas que incluyen proteínas intrínsecas de la membrana plasmática (PIP), proteínas intrínsecas del tonoplasto (TIP), proteínas intrínsecas de tipo nodulina (NIP) y proteínas intrínsecas pequeñas (SIP), por ejemplo, SoPIP2, PttPIP2;5 y PtPIP2;2; acuaporinas de levadura, por ejemplo, AQY1 y AQY2; así como acuagliceroproteínas tales como GlpF e Yfi054.
6. La máquina de hemofiltración según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende además medios para presurizar dicho líquido residual, lo que da como resultado un proceso de ósmosis directa asistido por presión.

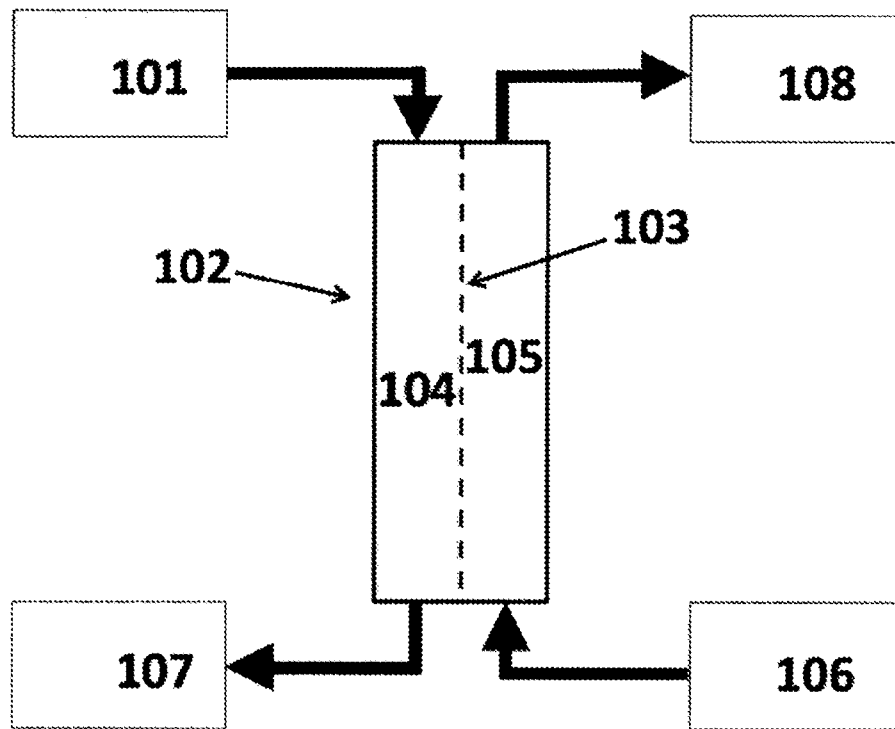


Fig. 1

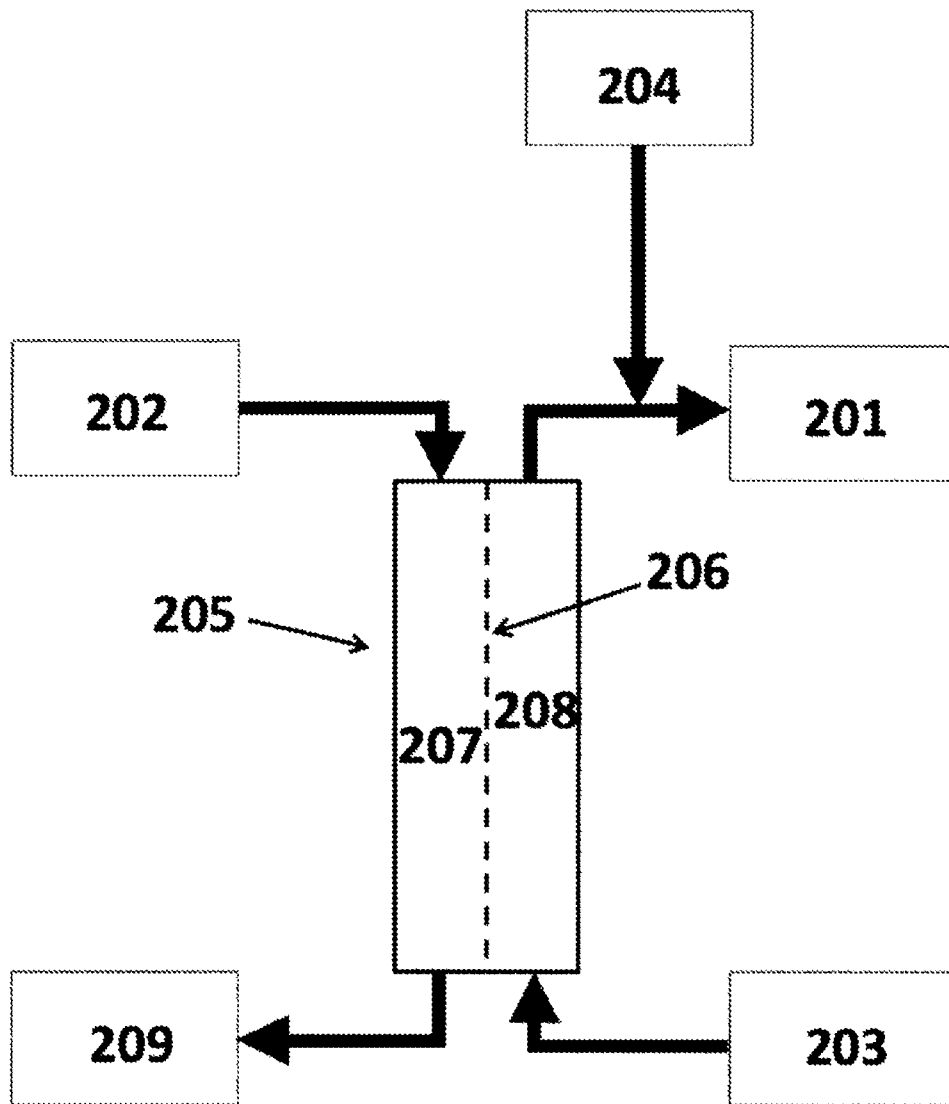


Fig. 2

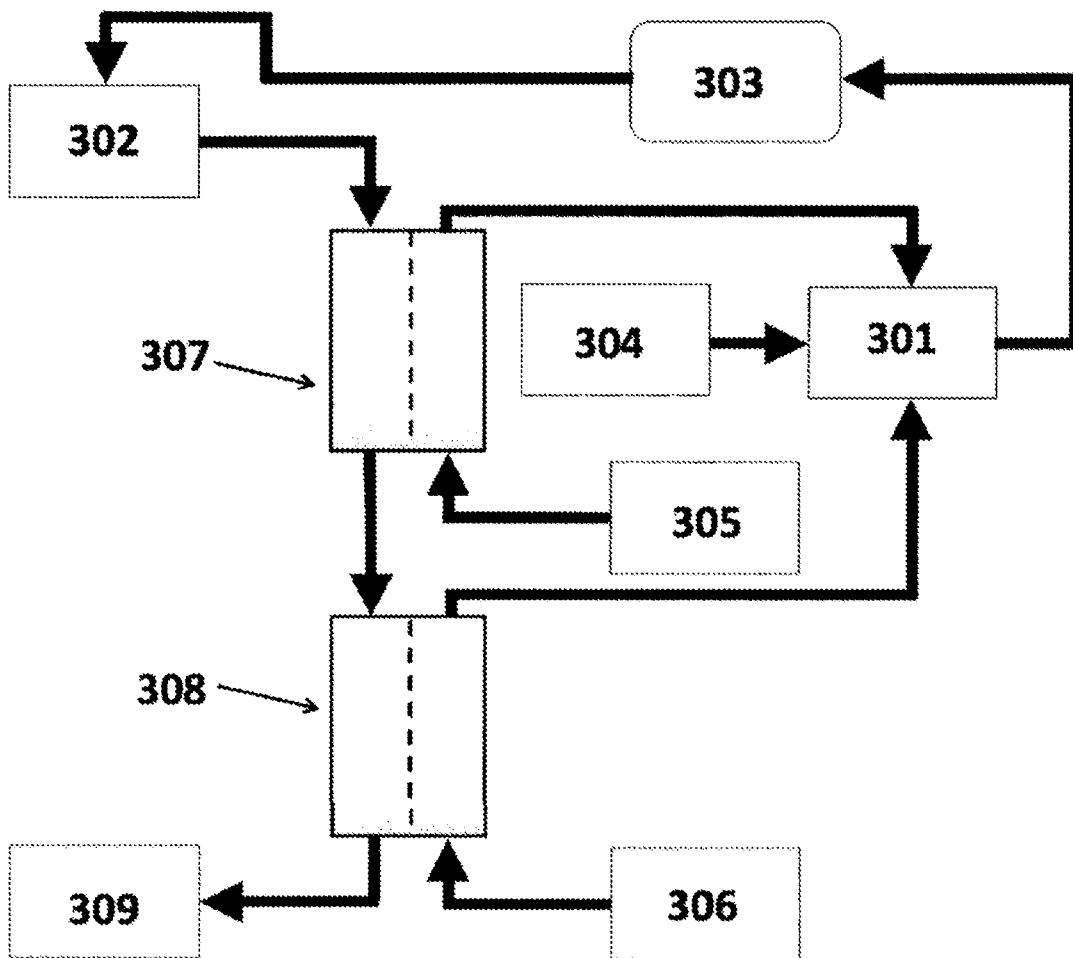


Fig. 3A

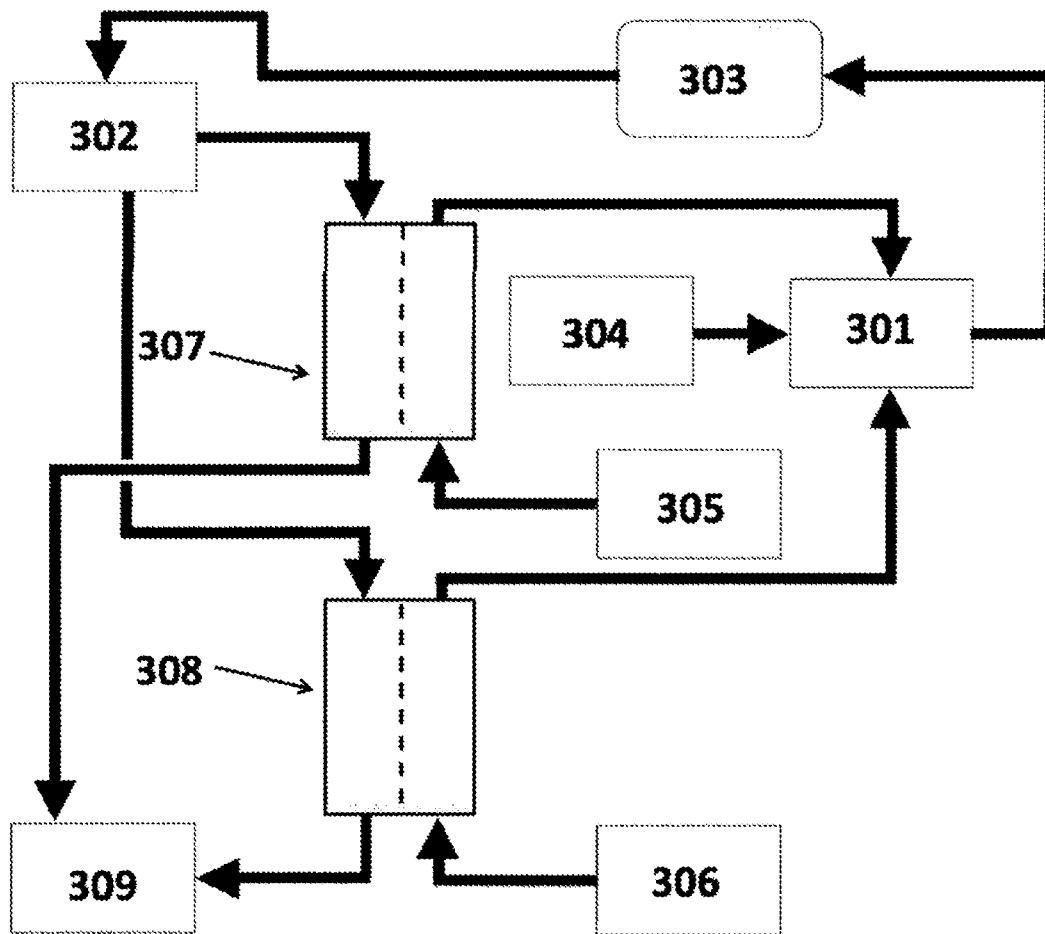


Fig. 3B

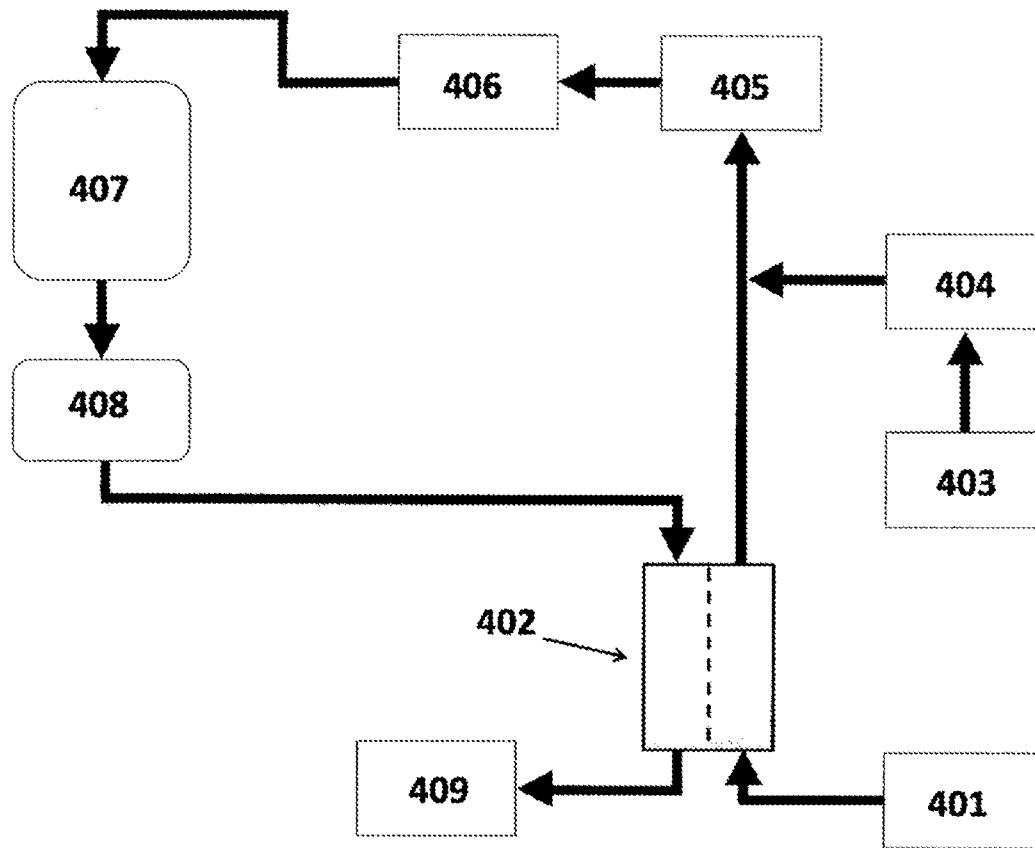


Fig. 4

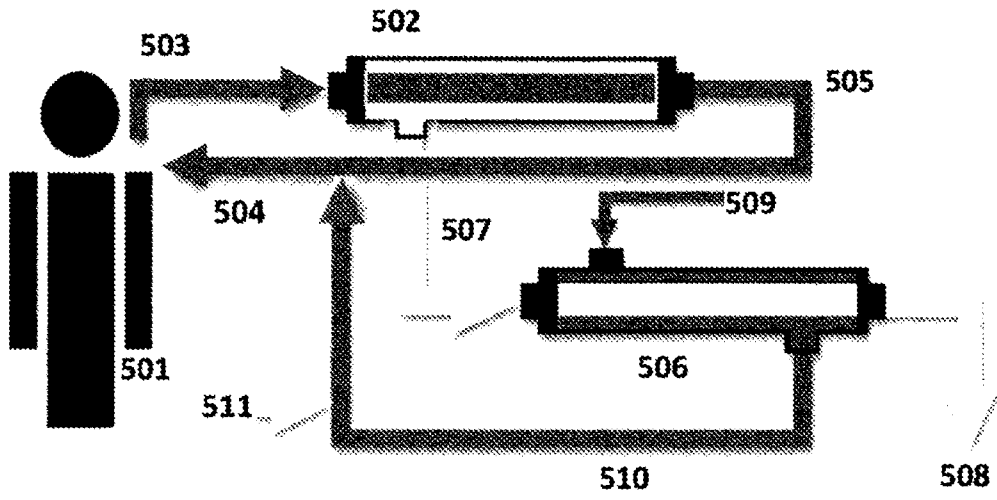


Fig. 5A

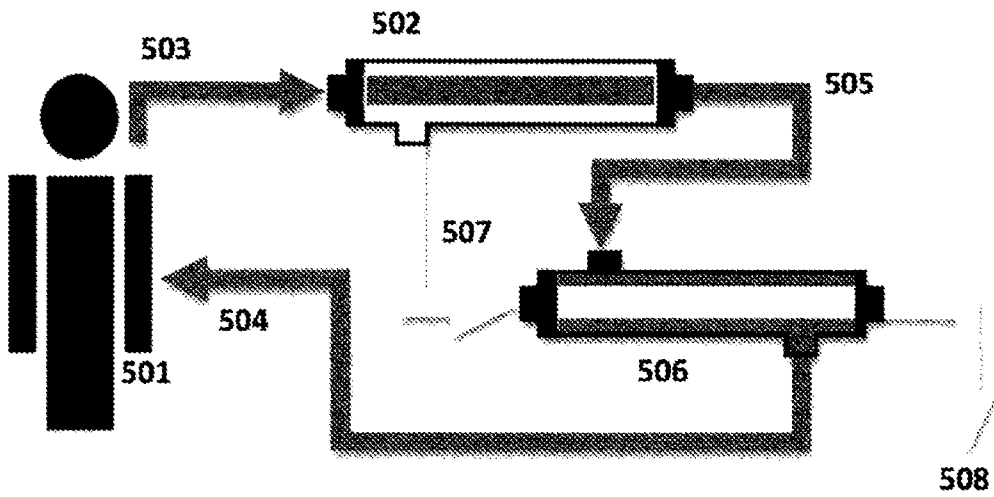


Fig. 5B

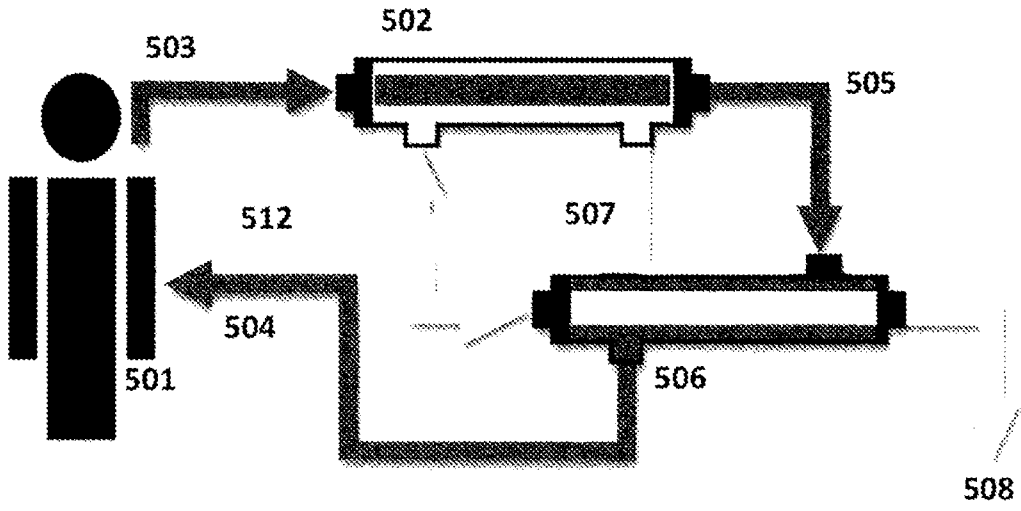


Fig. 5C

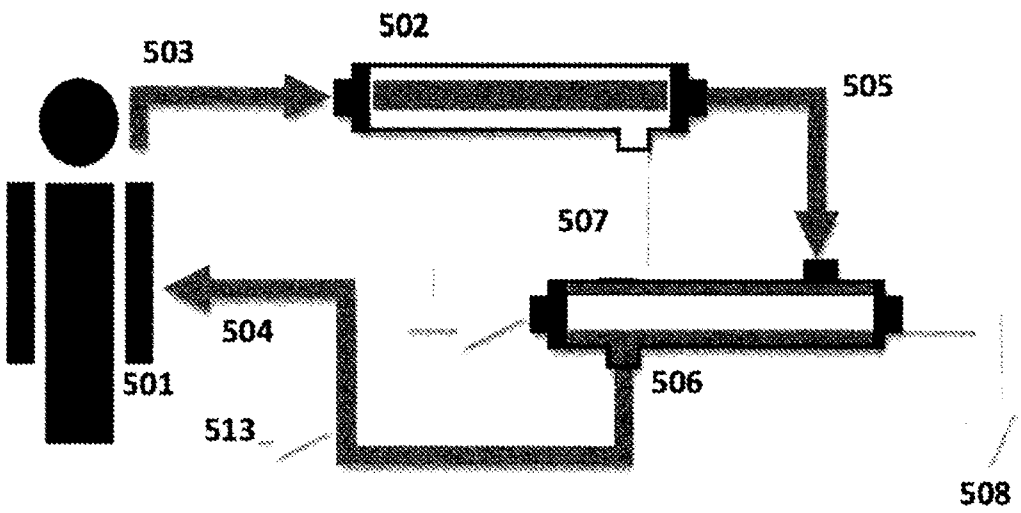


Fig. 5D

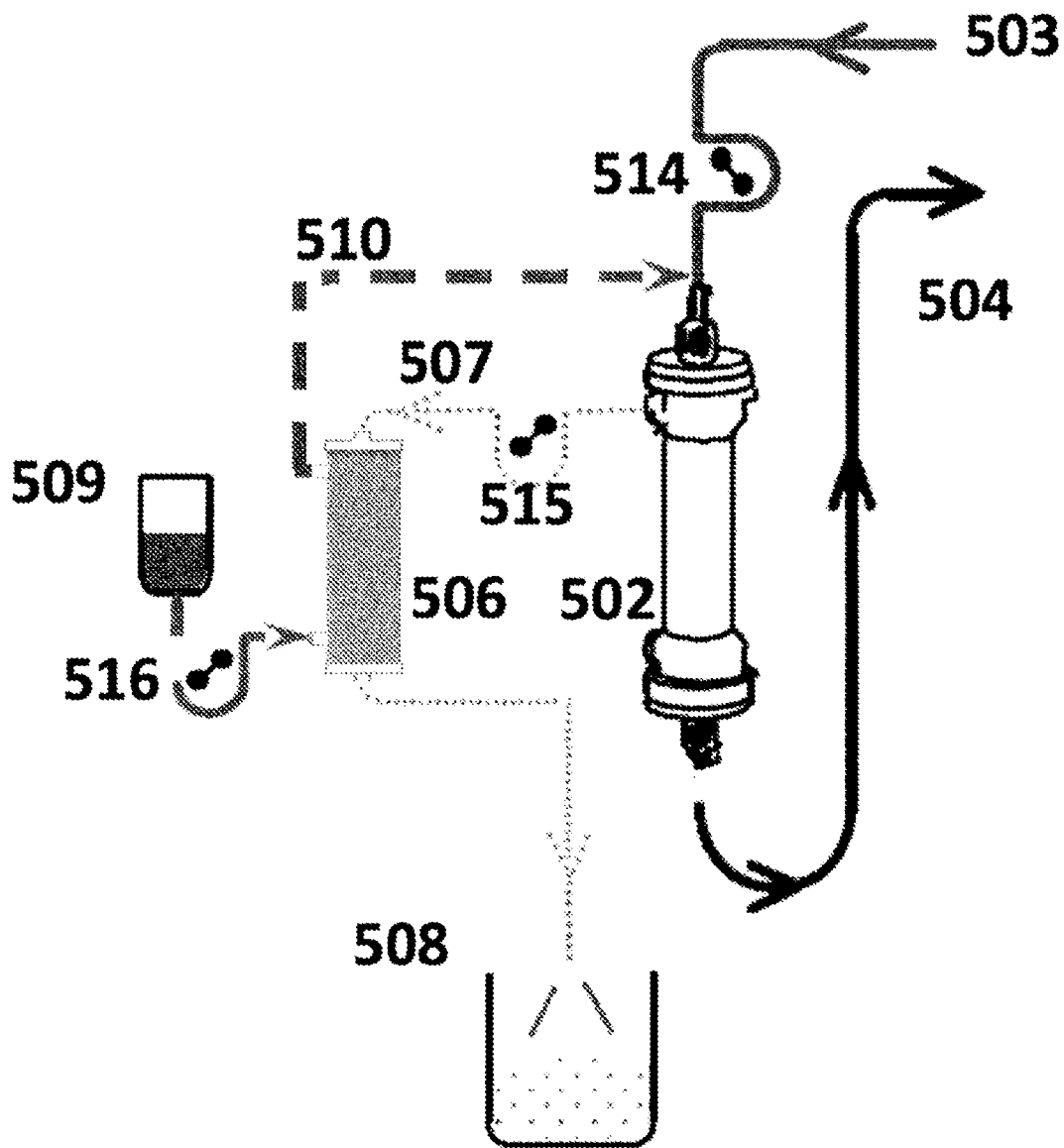


Fig. 5E

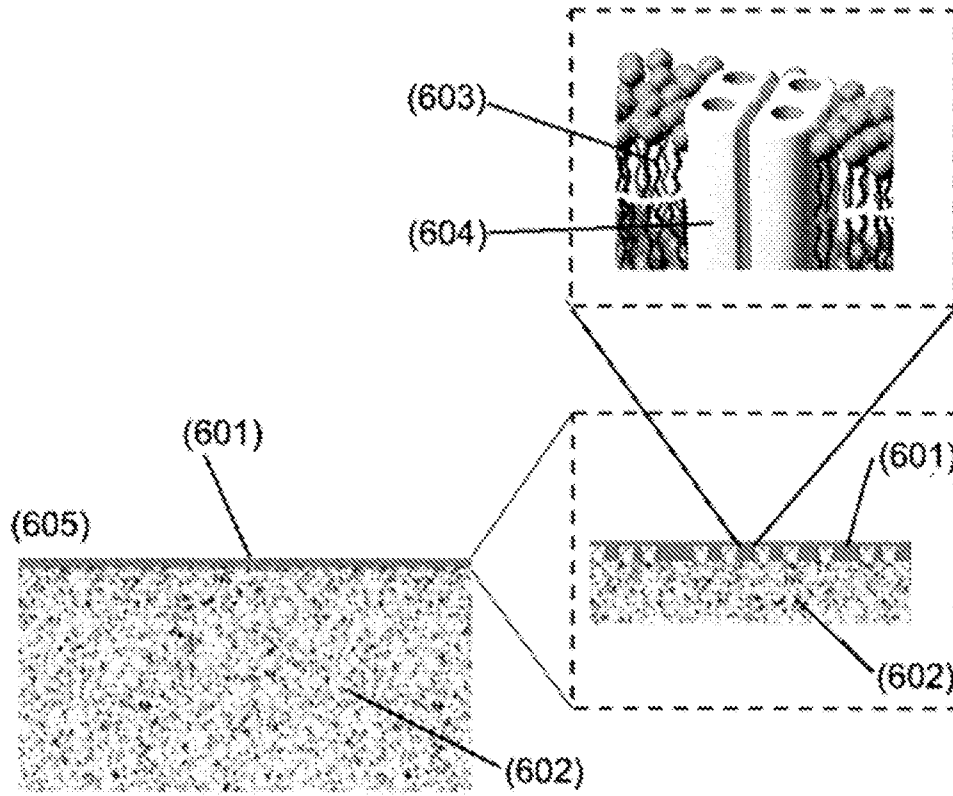


Fig. 6

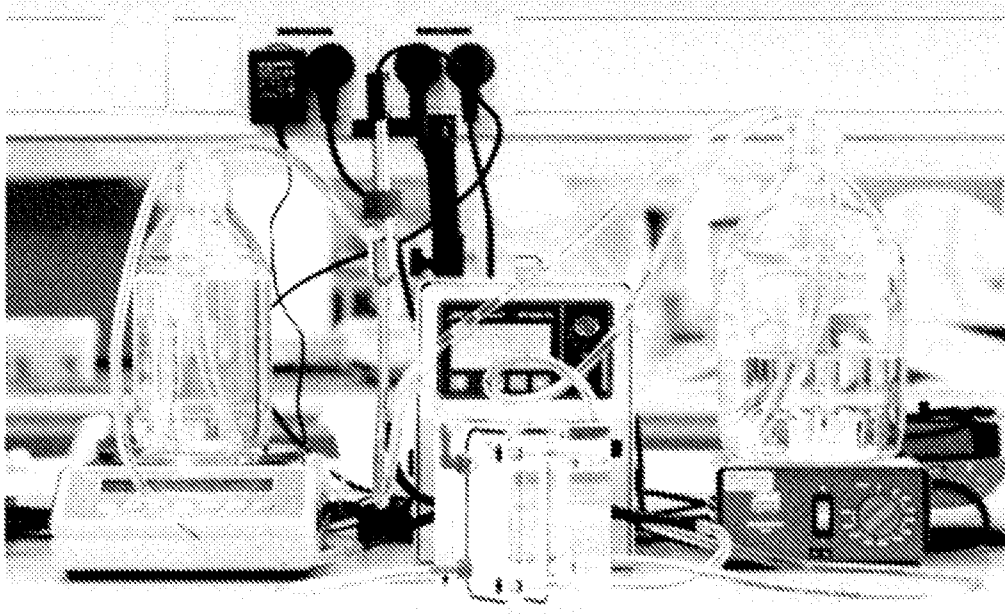


Fig. 7