



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 282 995**

51 Int. Cl.:
A61M 1/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **95941995 .3**

86 Fecha de presentación : **22.12.1995**

87 Número de publicación de la solicitud: **0799061**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **08.10.1997**

54

Título: **Tratamiento de las enfermedades cardiovasculares y relacionadas.**

30

Prioridad: **22.12.1994 AU PN0307/94**

73

Titular/es: **ARUBA INTERNATIONAL Pty. Ltd.**
14/1465 Ipswich Road
Rocklea, QLD 4106, AU

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.10.2007

72

Inventor/es: **Cham, Karim, Rouan y**
Cham, Bill E.

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.10.2007

74

Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 282 995 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

Tratamiento de las enfermedades cardiovasculares y relacionadas.

5 Esta invención se refiere a la deslipidación de suero o de plasma de sangre o fracciones de sangre de animal (término que indicará humanos).

En particular, se dirige a la eliminación del colesterol, los triglicéridos y otros lípidos, y las toxinas solubles en grasa -por ejemplo, insecticidas- del plasma de sangre o del suero de sangre de animal.

10 **Antecedentes de la técnica**

Las enfermedades cardiovasculares son responsables de un número significativo de muertes en la mayoría de los países industrializados.

15 Una enfermedad semejante es la aterosclerosis la cual se caracteriza por el engrosamiento grasoso local en aspectos interiores de los vasos grandes que proveen sangre al corazón, cerebro y otros órganos vitales. Estas lesiones obstruyen el lumen del vaso y resulta en isquemia del tejido suministrado por el vaso. La isquemia prolongada o repentina puede resultar en un ataque de corazón o accidente cardiovascular clínico del cual el paciente se puede o no se puede recuperar.

La relación entre el lípido en la dieta, el colesterol del suero y la aterosclerosis se ha reconocido bastante. En muchos estudios epidemiológicos se ha demostrado que una sola medida del colesterol del suero ha probado ser un pronosticador significativo de la ocurrencia de una enfermedad cardíaca coronaria.

25 De esta manera, la dieta es el elemento básico de toda terapia para la hiperlipidemia (cantidad excesiva de grasa en plasma). Sin embargo, el uso de la dieta como un modo primario de terapia requiere de un esfuerzo importante por parte de los médicos, nutricionistas, dietistas y otros profesionales de la salud.

30 Si la modificación dietética no es exitosa, la farmacoterapia es una alternativa. Varios medicamentos, utilizados solos o en combinación, están disponibles. Sin embargo, no hay evidencia directa de que algún medicamento que baja el colesterol pueda ser administrado durante un amplio periodo.

Una combinación de ambos el medicamento y la dieta puede ser requerida para reducir la concentración de lípidos del plasma. Los medicamentos *hipolipemiantes* por lo tanto se utilizan como un suplemento al control en la dieta.

40 Muchos medicamentos son eficaces en la reducción de lípidos en la sangre, pero ninguno trabaja en todos los tipos de hiperlipidemia y todos tienen efectos secundarios indeseables. No hay evidencia concluyente de que los medicamentos hipolipemiantes puedan causar la regresión de la aterosclerosis. De esta manera, a pesar del progreso en lograr bajar el colesterol del plasma para prevenir una enfermedad cardíaca mediante dieta, las terapias del medicamento, los procedimientos de revascularización quirúrgica y la angioplastia, la aterosclerosis sigue siendo la causa importante de muerte en Países Occidentales.

45 En vista de lo antedicho, nuevos acercamientos han sido intentados para reducir la cantidad de lípido en el plasma de homocigotos y la de los heterocigotos para los cuales los medicamentos orales no son eficaces.

50 La terapia de plasmaféresis (intercambio de plasma) ha sido desarrollada e involucra la reposición del plasma del paciente con plasma donante o más usualmente una fracción de proteína de plasma. Este tratamiento puede resultar en complicaciones debidas a la posible introducción de proteínas extrañas y la transmisión de enfermedades infecciosas. Además, el intercambio del plasma retira todas las proteínas del plasma así como lipoproteína de muy baja densidad (VLDL), lipoproteína de baja densidad (LDL), y lipoproteína de alta densidad (HDL).

Se conoce que la HDL se correlaciona inversamente con la severidad de lesiones de arteria coronaria así como con la probabilidad de que estas progresaran. Por lo tanto, la eliminación del HDL no es ventajosa.

55 También existen técnicas de aféresis conocidas que pueden quitar la LDL del plasma. Estas técnicas incluyen absorción de LDL en perlas de heparinagarose (cromatografía de afinidad) o el uso de LDL-anticuerpos inmovilizados. Otros métodos disponibles actualmente para la eliminación de LDL involucran la absorción de filtración de cascada al sulfato de dextran inmovilizado y la precipitación de LDL a pH bajo en la presencia de heparina. Cada método específicamente retira la LDL pero no la HDL.

60 La aféresis de LDL tiene, sin embargo, desventajas. Cantidades significantes de otras proteínas de plasma se eliminan durante la aféresis y para obtener una reducción sostenida en LDL-colesterol, aféresis de LDL se puede realizar con regularidad (hasta una vez semanalmente). Adicionalmente, la eliminación de LDL puede ser ineficaz mientras que los niveles de LDL en sangre bajos pueden dar lugar al incremento de la síntesis del colesterol celular.

65 Para satisfacer la necesidad de un método que logre una reducción en colesterol del plasma en hipercolesterolemia familiar homocigótica, hipercolesterolemia familiar heterocigótica y pacientes con hiperlipidemia adquirida con ex-

ES 2 282 995 T3

cepción por dieta, farmacoterapia, aféresis de LDL, o una combinación de estos, un proceso de eliminación del lípido extracorporal, llamado "aféresis de colesterol", se describe en el oficio. En la aféresis de colesterol, la sangre se retira de un sujeto, el plasma separado de la sangre y mezclado con una mezcla de solventes que extraen el lípido del plasma, después de lo cual el plasma deslipidado se recombina con la células de sangre y se regresa al sujeto.

5 Más detalladamente, la aféresis de colesterol da lugar a la eliminación de grasas del plasma o el suero. Sin embargo, a diferencia de la aféresis de LDL, las proteínas que transportan la grasa (apolipoproteínas) permanecen solubles en el plasma o el suero tratado. De esta manera las apolipoproteínas de VLDL, LDL y HDL están presentes en el plasma o en el suero tratado. Estas apolipoproteínas, en particular las apolipoproteínas A1 de la HDL desengrasadas en el
10 plasma o el suero, son responsables de la movilización de cantidades excesivas de grasas depositadas tales como el colesterol en arterias, placas, o cantidades excesivas de triglicéridos, tejido adiposo, o toxinas solubles en grasa que están presentes en el tejido adiposo. Esta cantidad excesiva de grasas o toxinas se transfiere al plasma o al suero, unidas a las lipoproteínas ensambladas recientemente. De esta manera aplicando otro procedimiento de aféresis de colesterol, estas grasas o toxinas no deseadas se eliminan sucesivamente del plasma y de tal manera del cuerpo.

15 La principal ventaja de este procedimiento es que LDL y HDL no se eliminan de esta manera del plasma sino solamente el colesterol, algunos fosfolípidos y triglicéridos considerables. La Patente de Estados Unidos No 4, 895,558 describe tal sistema. Mientras la aféresis de colesterol ha superado las deficiencias en los tratamientos de dieta y/o medicamentos y otras técnicas de aféresis, los equipos existentes para la aféresis de colesterol no proporcionan un
20 proceso suficientemente rápido y seguro. Para el uso en un ajuste clínico, se requiere de equipos los cuales realicen la deslipidación más eficientemente. Adicionalmente, se requieren velocidades de flujo del orden de 70 ml/min. para la aféresis de colesterol de un sujeto humano.

25 De esta manera la aféresis de colesterol descrita en la Patente US No 4, 895,558 antes mencionada se mejoró incorporando en el sistema un centrifugador para dispersar la entrada del plasma lateralmente en el solvente de extracción en la forma de gotitas finas para mejorar la eficiencia de la separación. Este sistema mejorado se describe en la Publicación de la Patente Internacional No. WO 9503840A.

30 Desafortunadamente, la práctica ha establecido que los sistemas de aféresis de colesterol descritos arriba todavía sufren de un número de desventajas.

35 La primera desventaja es la naturaleza explosiva de los solventes utilizados para la delipidación de este plasma. Estos solventes son, por la misma naturaleza de los sistemas continuos, en proximidad cercana al paciente y cuerpo médico. Este peligro está claramente presente para la duración del proceso de deslipidación que generalmente funciona durante varias horas.

40 La segunda desventaja es que, en los sistemas continuos precedentes, un procedimiento confiable no está disponible para eliminar totalmente todos los solventes utilizados en la deslipidación antes de que el plasma tratado se regrese al paciente.

45 Particularmente, el uso del solvente preferido el 1-butanol en la deslipidación es de preocupación mientras que se puede establecer que ese solvente puede estar presente como el 1% a 5% del plasma tratado que se regresa al paciente. Esto es porque los sistemas continuos pueden incluir solamente un solo lavado para retirar los solventes tales como el 1-butanol y actualmente se encuentra que un solo lavado es insuficiente. No es posible proporcionar multi-lavados
secuenciales en un sistema continuo porque el paciente tendría que proveer un volumen de sangre inaceptable para mantener cada etapa del sistema total y el paciente también sería sometido a un factor de peligro creciente por la exposición prolongada a los solventes.

50 La toxicidad a largo plazo del 1-butanol no se conoce, especialmente cuando se presenta directamente en la corriente sanguínea - puede cruzar la barrera del cerebro ciertamente, se conoce que el contacto externo con este solvente causa irritación de las membranas mucosas, dermatitis por contacto, dolores de cabeza, mareo y adormecimiento.

55 Una tercera desventaja es que los sistemas continuos descritos arriba no son apropiados para la deslipidación del suero. Si el suero se puede deslipidar, allí estaría la ventaja favorable de alterar la reología de la sangre en que la viscosidad disminuirá la siguiente deslipidación resulta en una mejor hemodinámica para la circulación de la sangre deteriorada originalmente.

60 No obstante una cuarta desventaja es que la deslipidación en un sistema continuo se abarca por varias horas. Aparte de la exposición prolongada a los solventes peligrosos según lo discutido arriba, el equipo y el personal están comprometidos a un solo paciente. Como la eliminación del plasma u otras fracciones de sangre y su subsiguiente regreso al paciente como etapas individuales cada una toma solamente unos pocos minutos, sería ventajoso si la etapa de deslipidación relativamente larga se pudiera realizar fuera del sitio, liberando así al paciente, el cuerpo médico y el equipo para otros asuntos.

65 Finalmente, en un sistema continuo, claramente es solamente la fracción de sangre propia del paciente la que se puede regresar al paciente. Sin embargo, por ejemplo, si el plasma del paciente o el suero se pueden eliminar y tratar alejados del paciente, entonces el suero o plasma autólogo o no-autólogo se podrían regresar al paciente en una fecha posterior.

ES 2 282 995 T3

De esta manera, existe una necesidad de un método eficiente para la eliminación extracorporeal de los lípidos del plasma animal.

Resumen de la invención

5

Es un objeto de la presente invención superar, o al menos mejorar, las desventajas mencionadas arriba en el suministro de un método para la delipidación no solamente del plasma sino también del suero y otras fracciones de sangre que reducen sustancialmente la exposición de la sangre a los solventes potencialmente peligrosos utilizados, el cual también puede retirar eficazmente todas las trazas del o los solventes utilizados en esta deslipidación.

10

Sin embargo es otro objeto proporcionar un método por lo cual el plasma o el suero se puedan tratar alejados del paciente,

15

En un aspecto de la presente invención, se proporciona un método para la eliminación del colesterol, triglicéridos y otros lípidos del plasma animal, suero u otras fracciones de sangre apropiadas, como un sistema de flujo discontinuo, dicho método que comprende la separación de la fracción requerida de la sangre y la mezcla con una mezcla de solventes que extrae los lípidos indicados de la fracción, después de que la fracción deslipidada se puede recombinar con las células de sangre, caracterizado en que la etapa de extracción del solvente se realizan por separado y alejada del sujeto.

20

En particular, se proporciona un método para la eliminación extracorporeal de lípidos seleccionados de colesterol, triglicéridos y otros lípidos del plasma animal, suero u otras fracciones de sangre apropiadas, método indicado que comprende: suministro de plasma, suero u otra fracción de sangre apropiada, mezcla con un solvente de extracción o mezcla de solventes de extracción que extrae los lípidos indicados de la fracción, eliminación del solvente de extracción de la fracción deslipidada mezclando la fracción deslipidada con un absorbente específico para el solvente de extracción en la presencia de esferas sinterizadas, caracterizadas en que el absorbente está contenido en los poros de las esferas sinterizadas.

25

30

Preferiblemente, como parte de la etapa de extracción del solvente, las perlas se utilizan al mezclar las fracciones de sangre con el solvente. Más preferiblemente, las perlas tienen una densidad sustancialmente media entre la densidad de la fracción y la densidad de la mezcla de solventes. Esto asegura una mezcla eficiente con una gran área superficial, incrementando la eficiencia de la extracción y también sirviendo como un buen separador del plasma del solvente cuando la centrifugación se utiliza para aislar las fases después de la extracción.

35

Preferiblemente, las perlas contienen aire entrampado, para obtener una densidad sustancialmente media entre la densidad de la fracción y la densidad de la mezcla de solventes.

40

Más preferiblemente, como la densidad del plasma es aproximadamente 1.006 g/ml y los solventes utilizados generalmente tienen una densidad de aproximadamente 0.8 g/ml, la densidad de las perlas estará alrededor de 0.9 g/ml.

Las perlas se pueden producir de cualquier material aceptable tal como vidrio o plástico.

45

Una vez se ha aislado la fase que contiene la fracción deslipidada resultante, todas las trazas del solvente de extracción se puede eliminar antes de que la fracción se recombine con las células de sangre,

Una forma de eliminar este solvente es lavar con otro solvente, preferiblemente dietil éter, para quitar sustancialmente todo el solvente original utilizado en la etapa de extracción.

50

Más preferiblemente, se llevan a cabo cuatro (4) lavados.

De acuerdo con el método inventivo, la eliminación eficiente del solvente de extracción se puede lograr mezclando la fracción deslipidada con un absorbente específico por el solvente que se está eliminando.

55

El absorbente se contiene en los poros de las esferas sinterizadas.

Más preferiblemente, las esferas sinterizadas tienen un diámetro de aproximadamente 2 a 5 mm con los poros de las esferas que son inferiores a 50 Å en diámetro. Más preferiblemente, las esferas se fabrican de vidrio.

60

Preferiblemente, los absorbentes utilizados en las esferas sinterizadas son las perlas poliméricas macroporosas para absorber las moléculas orgánicas de las soluciones acuosas comercializadas por Bio-Rad Laboratories bajo la marca comercial Bio-Beads SM.

65

Si el solvente utilizado para delipidar la fracción es el 1-butanol, entonces el absorbente es preferiblemente Bio-Beads SM-2.

ES 2 282 995 T3

Preferiblemente, el absorbente se contiene en una cámara que se adapta para permitir que la fracción deslipidada pase a través o sobre el absorbente al menos dos veces en caso de que un solo paso sea insuficiente para retirar todo el solvente.

5 Preferiblemente, como parte del aislamiento la fase que contiene la fracción deslipidada, aquella fase posteriormente se lava con otro solvente, preferiblemente dietil éter, para quitar una cantidad sustancial del solvente original antes del tratamiento con el absorbente.

Más preferiblemente, aquella fase se lava al menos tres (3) veces.

10

El plasma puede ser plasma humano o plasma de otros animales vivos. El plasma se puede obtener de sangre humana o de animal mediante técnicas conocidas de separación de plasma que incluyen la separación por centrifugación, filtración y similares.

15 De modo semejante, el suero u otra fracción que contiene lípidos se puede derivar de humano u otros animales vivos por técnicas conocidas.

Solventes apropiados para la extracción comprenden mezclas de hidrocarburos, éteres y alcoholes. Solventes preferidos son las mezclas de alcoholes inferiores con éteres inferiores. Los alcoholes inferiores apropiadamente incluyen aquellos que no son apreciablemente miscibles con el plasma y estos pueden incluir los butanoles (butan-1-ol y butan-2-ol). También se prefieren los éteres C₁₋₄ y estos pueden incluir los propil éteres (di-isopropil éter y propil éter). Otros solventes que puedan ser aplicables incluyen aminas, ésteres, hidrocarburos y mezclas que proporcionan que el solvente pueda (1) rápidamente y preferiblemente remover el colesterol del plasma; (2) ser sustancialmente inmisible con el plasma, (3) ser eliminado del plasma, y (4) no desnaturalizar las fracciones deseadas. Las composiciones de solventes preferidas son butanol con di-isopropil éter y estos pueden estar en una relación de 0% - 40% del alcohol a 100% - 60% del éter.

Los siguientes ejemplos adicionalmente ilustran el método inventivo que no es un tratamiento del cuerpo humano o de animal sino un método para la eliminación extracorporeal de los lípidos de la sangre o fracciones de sangre.

30

Materiales y Métodos

Animales

35

Los pollos utilizados en este estudio fueron de la cepa White Leghorn Hiline y se obtuvieron como pollitos de un día de edad. Todos los pollos de 8 semanas de edad se transfirieron a jaulas individuales. Se les suministro agua y alimento sin restricción. A las ocho semanas de edad, 15 aves control se alimentaron con una ración comercial de aves de corral por 31 días y otro grupo de 30 aves se inyectaron vía subcutánea cada día con 5 mg de dietilstilboestrol (DES) en aceite de ajonjolí por un periodo de 31 días. Además se alimentaron con la misma dieta comercial que se suplementó con 2.6% (w/w) de colesterol por un periodo de 31 días. Quince animales del grupo tratado con DES luego se sometieron a la aféresis del lípido (LA). Quince animales del grupo tratado con DES tuvieron tratamientos falsos. Una vez que los tratamientos LA o falsos comenzaron, todos los animales se alimentaron con la ración estándar de las aves de corral, excepto durante el tratamiento real por sí mismo cuando los animales se alejaron de su alimento por tres horas que seguían la reinfusión de su sangre autóloga. Los animales se sacrificaron a los dos días siguiendo el 4º tratamiento, LA o falso.

45

Procedimientos de Aféresis de Lípidos

Aproximadamente el 25% del volumen de sangre calculado se colectó de una vena braquial del animal con una aguja de calibre 21 y jeringa. El volumen de sangre total se estimó en 8 por ciento del peso corporal. La sangre se colectó en tubos heparinizados e inmediatamente fue centrifugada a 900 g por 5 minutos a temperatura ambiente. Las células de sangre se suspendieron en una cantidad de suero fisiológico equivalente al volumen del plasma y se administraron por infusión otra vez en el animal. El plasma se mantuvo refrigerado por doce horas y luego se deslipidó por 20 minutos con una mezcla de butanol y di-isopropil éter (DIPS), 25:75 (v/v), en una relación de un volumen de plasma para dos volúmenes de la mezcla butanol-DIPE (fase orgánica). Las perlas plásticas inertes con una densidad de 0.9 g/mL (1g) se adicionaron a la mezcla. Después de la extracción, la mezcla se centrifugó a 900 g por 2 min. para separar las fases del plasma y orgánica. Esta fase orgánica (capa superior) se eliminó, la fase de plasma libre, por aspiración cuidadosa con una pipeta pasteur bajo vacío. Las trazas de butanol en la fase de plasma se lavaron con cuatro volúmenes de dietil éter (DEE) por 2 min. por rotación de forma continua a 30 rpm. La mezcla luego se centrifugó a 900 g por 2 min. para separar las fases del plasma y el éter. La fase del éter posteriormente se eliminó por aspiración con una pipeta pasteur. El éter residual se eliminó por evacuación con un aspirador de bomba de agua a 37°C. El plasma luego se pasó a través una columna de 5 mL que contiene Bio-Beads SM-2.

60

Este procedimiento produjo el plasma deslipidado. El plasma deslipidado se re-mezcló con las células de sangre de una subsiguiente colección de sangre 25% la cual luego se administró por infusión de nuevo a través de una vena braquial de regreso a los animales donantes idénticos. La duración del procedimiento total, es decir, la eliminación de sangre del animal a la reinfusión de la sangre tratada de nuevo al animal fue aproximadamente de 1 hora. Después

65

ES 2 282 995 T3

del cuarto tratamiento de aféresis del lípido, los animales se sacrificaron y sus hígados y aorta se examinaron. Los procedimientos del tratamiento de LA se repitieron 3 veces después del primer tratamiento.

Procedimientos del Tratamiento Falso

Este fue esencialmente el mismo como el procedimiento de LA con excepción de la deslipidación del plasma con los solventes orgánicos. La sangre se colectó en tubos heparinizados e inmediatamente se centrifugaron a 900 g por 5 min. El plasma se separó de las células de sangre. Las células de sangre se mezclaron con suero fisiológico en el mismo volumen del plasma colectado y administrados por reinfusión de nuevo en el animal. El plasma se mantuvo refrigerado por doce horas y luego se mezcló otra vez con células de sangre de una subsiguiente colección de sangre del 25% después de la segunda y/o subsiguientes separaciones del plasma. Después del cuarto tratamiento de aféresis del lípido, los animales se sacrificaron y sus hígados y aorta se examinaron. Los procedimientos del tratamiento falso se repitieron 3 veces después del primer tratamiento.

Preparación del Lípido del Tejido

Los hígados se pesaron, picaron en trocitos con un hoja de bisturí y se homogenizaron en 0.9% de solución de cloruro de sodio por 10-12 movimientos de un homogenizador impulsado por motor de Teflón-vidrio (1900 rpm). La aorta se pesó y se adicionaron las perlas de vidrio de 3 mm de tres veces su peso en una botella de homogenización que contiene 0.9% de cloruro de sodio. Los contenidos luego se homogenizaron por un minuto. El lípido de las muestras de las muestras de hígado y aorta homogenizadas se extrajeron por el procedimiento Folch y se pesaron.

TABLA 1

Efecto de los tratamientos LA y falso en las concentraciones de lípido total en hígados y aorta de pollos hiperlipidémicos

	CONTROLES SIN TRATAR n = 15	APLICACIONES DE AFÉRESIS DE CUATRO PROCESOS	
		FALSO n = 15	LA n = 15
HÍGADO^a	3.65 ± 0.98	5.53 ± 1.50 ^b	3.72 ± 1.00 ^b
AORTA^a	6.01 ± 0.97	8.11 ± 2.15 ^c	6.12 ± 0.95 ^c
^a concentraciones de lípido total expresadas como g de lípido por 100 g de tejido, SD promedio			
^{b, c} los valores p fueron < 0.05 cuando los tratamientos falsos se comparan con los tratamientos LA.			

No hubo diferencias estadísticas entre los valores de los tejidos correspondientes en el grupo control sin tratar y el grupo tratado LA.

Todos los animales se sacrificaron dos días después del tratamiento de la aféresis final.

Humanos

Los pacientes tienen el procedimiento de plasmaféresis llevado a cabo utilizando técnicas transvenosas y sistemas de plasmaféresis conocidos.

Se realiza la plasmaféresis utilizando la fístula arteriovenosa o vena-a-vena en el antebrazo de los pacientes. La heparina se da al inicio del procedimiento como un bolo de 5,000 unidades, y luego por infusión continua a una velocidad de 700 unidades por hora sobre el curso del procedimiento. El acceso a través de las venas antecubitales deben proporcionar un velocidad de flujo del plasma de 25 a 40 mls por minuto.

La sangre tomada de un paciente inmediatamente se trata con ACD-A (anticoagulante) en un relación entre 1:8 y 1: 16 (ACD-A: sangre). El plasma se separa de esta solución utilizando una máquina de plasmaféresis convencional.

Veinticinco por ciento del plasma se elimina del paciente. Esto representa un porcentaje del peso corporal ideal.

Solo la primera colección del volumen de plasma se reemplaza con el fluido de reemplazo del plasma al paciente.

El plasma se mantiene refrigerado hasta doce horas antes de la reinfusión del plasma deslipidado en intercambio para otra colección del plasma del veinticinco por ciento (semanalmente o bisemanal).

ES 2 282 995 T3

El plasma es deslipidado y el plasma deslipidado se prueba para asegurar que todo el solvente ha sido eliminado antes de que plasma deslipidado limpio se intercambie por plasma nuevo sin tratar.

5 En una modalidad de la presente invención, el paso del sistema continuo de flujo de sangre descrito en la Patente US No 4, 895,558 se modifica a un sistema discontinuo sometiendo el volumen de sangre apropiado que se tratara en la deslipidación en un sitio alejado del paciente.

10 En otra modalidad de la presente invención, el sistema continuo de flujo de sangre descrito en la Publicación de la Patente Internacional No. WO 9503840 A se modifica a un sistema discontinuo dispersando el plasma en pequeñas gotitas dentro del solvente por los medios dispersantes alejados del paciente.

En cualquiera de las modalidades de arriba, la etapa de extracción puede incluir, de acuerdo con la presente invención, tanto el lavado múltiple de la fase extraída y/o el uso de un absorbente.

15 Por ejemplo, el plasma es deslipidado con una mezcla de solventes que comprende 1-butanol y di-isopropil éter. La fracción deslipidada luego se lava tres (3) o cuatro (4) veces con dietil éter. Después del lavado final, el dietil éter se elimina por centrifugación y extracción a vacío a 37°C. Las esferas sinterizadas que contienen Bio-Beads SM-2 luego se mezclan con el plasma deslipidado para quitar las trazas finales de 1-butanol.

20 *Conclusiones*

La administración de DES a los pollos resulto en una acumulación significativa de la cantidad de grasa (lípidos) en los hígados y la arteria aorta.

25 Los tratamientos de LA discontinuos correspondían a aproximadamente un volumen del plasma tratado por cuatro aplicaciones del 25% del volumen de plasma tratado por tiempo dieron lugar a disminuciones significantes de los lípidos hepáticos y aórticos en animales hiperlipidémicos. Por otra parte, los animales hiperlipidémicos tratados con LA terminaron con valores de lípidos que fueron similares a los animales control.

30 (i) Estos experimentos mostraron que cantidades excesivas de grasas corporales en la forma de tejido adiposo (triglicéridos) en el hígado pueden ser eliminados por LA; y

35 (ii) regresión de aterosclerosis ocurre en la arteria aorta por los tratamientos de LA.

Resultados similares se pueden esperar para pacientes humanos

40 Adaptando los métodos del oficio previo a los sistemas de flujo, la presente invención puede quitar o al menos reducir significativamente cualquier peligro para los pacientes y el cuerpo médico por la naturaleza explosiva de los solventes empleados.

45 Adicionalmente, utilizando los métodos mejorados de extracción del solvente de la presente invención, todos los solventes de extracción potencialmente tóxicos pueden ser eliminados.

También, el método mejorado de extracción del solvente de la presente invención no se limita a la deslipidación del plasma sino también es aplicable a la deslipidación del suero,

50 La presente invención es un sistema discontinuo.

Ya es conocido que el plasma o suero se pueden coleccionar y almacenar bajo condiciones estériles en un refrigerador o congelador por periodos prolongados.

55 Esta opción conduce a ventajas particulares tales como hacer posible un banco de plasma o suero que se conservará, el cual está libre de cualquier infección y de cualesquiera toxinas solubles en grasa que puedan ser deslipidada e intercambiar por el plasma o el suero según sea necesario.

60 Las modalidades se describen solamente a manera de ejemplos ilustrativos y varios cambios y modificaciones se pueden hacer a ellos sin salirse del alcance según lo definido en las siguientes reivindicaciones.

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para la eliminación extracorporal de lípidos seleccionados de colesterol, triglicéridos y otros lípidos de plasma animal, suero u otras adecuadas fracciones de sangre, dicho método que comprende:
- 10 suministro de plasma, suero u otra adecuada fracción de sangre,
- mezcla con un solvente de extracción o mezcla de solventes de extracción que extrae los dichos lípidos de la fracción,
- 15 eliminación del solvente de extracción de la fracción deslipidada mezclando la fracción deslipidada con un absorbente específico para el solvente de extracción en la presencia de esferas sinterizadas, **caracterizadas** en que
- el absorbente está contenido en los poros de las esferas sinterizadas.
2. Un método como se define en la reivindicación 1, por lo cual la fracción de sangre contiene apolipoproteínas, que no se extraen en la etapa de extracción y permanece en la fracción deslipidada.
- 20 3. Un método como se define en la reivindicación 1, en donde el solvente de extracción se elimina sustancialmente de la fracción deslipidada por el lavado al menos una vez con un segundo solvente.
4. Un método como se define en la reivindicación 3, en donde la fracción deslipidada se lava al menos tres veces.
- 25 5. Un método como se define en la reivindicación 3 o la reivindicación 4, en donde el segundo solvente es dietil éter.
6. Un método como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde los poros de las esferas tienen un diámetro inferior de 50 Å.
- 30 7. Un método como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el absorbente es una perla polimérica macroporosa para absorber las moléculas orgánicas de una solución acuosa.
8. Un método como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el absorbente se contiene en una cámara que se adapta para permitir que la fracción deslipidada pase a través o sobre el absorbente al menos dos veces.
- 35 9. Un método como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la etapa de extracción del solvente comprende:
- 40 (a) mezcla de solventes de extracción o mezcla de solventes de extracción que contiene el plasma, el suero u otra fracción de sangre adecuada con las perlas, dichas perlas que tienen una densidad sustancialmente media entre la densidad de la fracción y la densidad de la mezcla de solventes; y
- 45 (b) aislamiento de esta manera de la fase que contiene la fracción deslipidada.
10. Un método como se define en la reivindicación 9, en donde las perlas contienen aire atrapado para obtener la densidad sustancialmente media entre la densidad de la fracción y la densidad de la mezcla de solventes.
- 50 11. Un método como se define en la reivindicación 10, en donde la densidad de las perlas es aproximadamente 0.9 g/ml.
12. Un método como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el solvente de extracción se selecciona de hidrocarburos, ésteres, alcoholes, éteres, aminas, o mezclas de estos.
- 55 13. Un método como se define en la reivindicación 12, en donde el solvente de extracción comprende una mezcla de un alcohol y un éter.
14. Un método como se define en la reivindicación 13, en donde el alcohol comprende un butanol.
- 60 15. Un método como se define en la reivindicación 14, en donde el butanol comprende el 1-butanol o el 2-butanol.
16. Un método como se define en la reivindicación 12, en donde el éter comprende el di-isopropil o propil éter.
- 65 17. Un método como se define en la reivindicación 12, en donde el solvente de extracción comprende el 1-butanol y di-isopropil éter.