



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Int. Cl.<sup>3</sup>: A 61 M 1/03  
B 01 D 13/00

**Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein**  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978



**PATENTSCHRIFT** A5

626 256

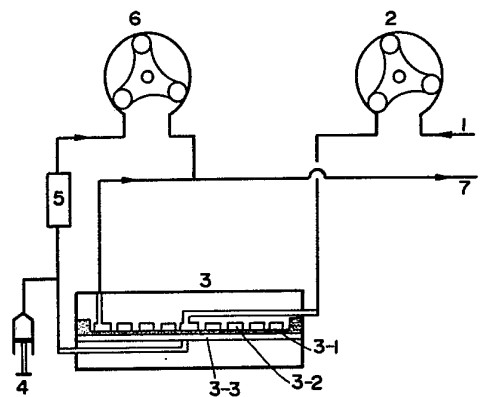
<p>① Gesuchsnummer: 7677/77</p> <p>② Anmeldungsdatum: 22.06.1977</p> <p>③ Priorität(en): 22.06.1976 JP 51-72827</p> <p>④ Patent erteilt: 13.11.1981</p> <p>⑤ Patentschrift veröffentlicht: 13.11.1981</p>	<p>⑦ Inhaber: Mitsui Toatsu Chemicals, Inc., Tokyo 100 (JP)</p> <p>⑧ Erfinder: Yoshinori Imaizumi, Mobara-shi/Chiba-ken (JP) Toshiaki Osawa, Itabashi-ku/Tokyo (JP) Shun-ichi Hirose, Nerima-ku/Tokyo (JP) Nobuyuki Okada, Mobara-shi/Chiba-ken (JP)</p> <p>⑨ Vertreter: Dr. A.R. Egli &amp; Co., Patentanwälte, Zürich</p>
---	---

**⑤4 Vorrichtung zur kontinuierlichen, extrakorporalen Abtrennung bestimmter Substanzen aus dem Blut.**

⑤7 Die Vorrichtung arbeitet mit deutlich verbesserter Wirkung, da nur das Blutplasma durch das Mittel zur Entfernung von unerwünschten Substanzen geleitet wird.

Die Vorrichtung umfasst Abtrennmittel (3) zur kontinuierlichen Trennung von Plasma und Blutkörperchen, Entfernungsmittel (5) zur Entfernung der bestimmten Substanzen aus dem abgetrennten Plasma, und Mittel (6) zur Rückvermischung des Plasmas.

Die Entfernungsmittel (5) können einen Adsorber aufweisen, der entweder unlösliche oder immobilisierte Substanzen zur Adsorption von bestimmten Stoffen enthält. Die Entfernungsmittel können auch einen Dialysator umfassen, wodurch die Vorrichtung als künstliche Niere eingesetzt werden kann.



## PATENTANSPRÜCHE

1. Vorrichtung zur kontinuierlichen, extrakorporalen Entfernung bestimmter Substanzen aus dem Blut, das vom Körper durch die Apparate und zurück zum Körper fliesst, gekennzeichnet durch

(a) Abtrennmittel zur kontinuierlichen Trennung von Plasma und Blutkörperchen,

(b) Entfernungsmittel zur Entfernung der bestimmten Substanzen aus dem abgetrennten Plasma,

(c) Mittel zur Rückvermischung des Plasmas, aus dem die bestimmten Substanzen entfernt worden sind, mit den vorher abgetrennten Blutkörperchen,

(d) eine Eingangsöffnung zum Eintritt von Blut in die Abtrennmittel und

(e) eine Auslassöffnung zur Rückführung des rückvermischten Bluts zum Körper.

2. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Entfernungsmittel einen Adsorber aufweisen.

3. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Entfernungsmittel einen Adsorber aufweisen, der unlösliche Substanzen enthält, die die bestimmten Substanzen aus dem Plasma adsorbieren.

4. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Mittel zum Abtrennen des Plasmas von den Blutkörperchen eine Filtriervorrichtung ist und dass das Mittel zur Entfernung der bestimmten Substanzen ein Adsorber ist, der insolubilisierte Substanzen enthält, die die bestimmten Substanzen aus dem abgetrennten Plasma adsorbieren.

5. Vorrichtung gemäss Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass der Adsorber unlöslich gemachte Enzyme, Antigene oder Antikörper enthält.

6. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Mittel zur Entfernung der bestimmten Substanzen einen Dialysator umfasst.

7. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Abtrennmittel eine Filtermembran zur Trennung des Plasmas von den Blutkörperchen enthält und dass der Porendurchmesser der Filtermembran zwischen 0,15 und 0,8  $\mu\text{m}$  beträgt.

8. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Abtrennmittel eine Filtermembran zur Trennung des Plasmas von den Blutkörperchen enthält und dass die Filtermembran eine wirksame Fläche von weniger als 1 m<sup>2</sup> aufweist.

9. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sie mindestens eine Blutpumpe aufweist, die den Kreislauf des Bluts durch die Apparate fördert.

10. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sie ein Mittel zur Injektion von Heparin in das Blut aufweist.

11. Vorrichtung gemäss Anspruch 1 zur Verwendung als eine künstliche Niere, welche zur Plasmadialyse verwendet wird, dadurch gekennzeichnet, dass sie einen Dialysator aufweist.

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur kontinuierlichen extrakorporalen Entfernung bestimmter Substanzen aus dem Blut. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung eine Vorrichtung zur kontinuierlichen Entfernung von bestimmten Substanzen aus dem Blut, wobei das Blut aus dem Körper entnommen und durch ein Filter gepumpt wird, in welchem das Blut in 1) Plasma und 2) Blutzellen getrennt wird.

In den letzten Jahren hat der bemerkenswerte Fortschritt der Immunologie detaillierte Informationen über verschiedene

Autoantikörper bei Autoimmunkrankheiten gebracht. Beispielsweise wurde vorgeschlagen, dass der Antinuklearfaktor (ANF), insbesondere Anti-DNA-Antikörper bei systemischen Lupus-Erythematosus-Patienten (SLE-Patienten) und der rheumatische Faktor (RF) bei Patienten mit rheumatoider Arthritis (RA) etiologische Funktionen ausübt.

Dr. D.S. Terman et al. (USA) berichtet über die selektive Entfernung von Anti-DNA-Antikörper durch immunologische Adsorbentien in der «Klinischen und experimentellen Immunologie» (1976) 24, 231–237. In ihrer Untersuchung verwendeten die Autoren DNA-Cellulose, eingebettet in Agar, als Adsorbens. Das für Versuche in vitro hergestellte Blut war Serum von SLE-Patienten und das für in-vivo-Experimente war das Gesamtblut von Kaninchen, die mit DNA und methyliertem Rinderserumalbumin gemischt mit Freund's vollständigem Adjuvans immunisiert worden waren.

Sie fanden, dass sowohl bei in-vitro- als auch in-vivo-Versuchen das verwendete DNA-Cellulose-Agar-Adsorbens wirksam zur selektiven Entfernung der zirkulierenden Anti-DNA-Antikörper war und dass erwartet werden konnte, dass das Adsorbens ein wirksames therapeutisches Mittel in der klinischen Medizin sein würde. Es wurde ausserdem festgestellt, dass die Versuchsperiode für diese Untersuchung verhältnismässig kurz war und weitere Untersuchungen durchgeführt werden sollten, in der Absicht, bessere Resultate zu erzielen.

Unter diesen Umständen stellt die Entwicklung eines neuen Apparates zur kontinuierlichen Entfernung spezifischer Faktoren aus dem Blut, wie es die vorliegende Erfindung liefert, einen beträchtlichen Fortschritt bei der Behandlung der erwähnten Krankheiten und der Aufklärung der Ursachen solcher Krankheiten dar. Ein wirksamer kompakter Apparat, der kontinuierlich und in grossen Mengen in vivo Plasma abtrennen und behandeln kann und der einen weiten Nützlichkeitsbereich hat, ist bisher nicht beschrieben worden. Sogenannte «künstliche Nieren», die nach der Ganzblutmethode arbeiten, können ein unerwünschtes Einfließen des Adsorbens in den Körper sowie Zerstörung von Blutzellen hervorrufen. Falls eine geeignete Umhüllung um den Adsorber angebracht wird, um solche Schwierigkeiten zu vermeiden, muss zwangsläufig die Wirksamkeit leiden.

Die erfindungsgemässe Vorrichtung zur kontinuierlichen, extrakorporalen Entfernung bestimmter Substanzen aus dem Blut ist im vorangehenden Patentanspruch 1 charakterisiert.

Die vorliegende Erfindung ist das Ergebnis extensiver Forschungsarbeit, die zur Entwicklung eines zufriedenstellenden Apparates unternommen wurde. Es wurde beispielsweise festgestellt, dass die Entfernung spezifischer Faktoren aus dem Blut mit deutlich verbesserter Wirksamkeit erzielt werden kann, wenn ein Filter vor einem Adsorber in einem Apparat angeordnet wird, worin das Blutplasma, das ausserhalb des Körpers zirkuliert, durch das Filter von den Blutzellen, enthaltend rote Blutkörperchen, weisse Blutkörperchen und Blutplättchen, abgetrennt und in dem Adsorber mit dem Adsorbens behandelt wird, das unlösliche gemachte Substanzen, wie beispielsweise Enzyme, Antigene und Antikörper, die die spezifischen Faktoren aus dem Plasma adsorbieren, enthält.

Wenn die unlöslich gemachten Substanzen, die in den Adsorber gepackt werden, in geeigneter Weise ausgewählt werden, kann der Apparat wegen der Insolubilisierung der DNA nicht nur zur Entfernung von Anti-DNA-Antikörpern aus Patienten mit systemischer Lupus erythematosus verwendet werden, sondern auch wegen der Insolubilisierung von aggregiertem  $\gamma$ -Globulin für solche Zwecke, wie Entfernung des rheumatoiden Faktors aus Patienten mit rheumatoider Arthritis, wegen der Insolubilisierung von Insulin Entfernung von Anti-Insulin-Antikörpern aus Patienten mit Diabetes mellitus, wegen der Insolubilisierung von Allergenen Entfernung von Reagins aus Allergiepatienten und Entfernung von Autoantikörpern.



Ergebnis der Elektrophorese zeigte, dass das Pulver hauptsächlich aus  $\gamma$ -Globulin mit einer kleinen Menge an  $\alpha$ -Globulin-Verunreinigung bestand. Die Menge an Antikörper in dem Pulver wurde mittels eines Radioallergosorbenstests (RAST) bestimmt, wobei gereinigter Anti-Eier-Albumin-Antikörper als Standard verwendet wurde. Zwei Meerschweinchen wurde intradermal 0,1 ml Antikörperlösungen verschiedener Stärke, 5, 1 und 0,2  $\mu\text{g/ml}$ , verabreicht. Nach vier Stunden wurde den Meerschweinchen intravenös 0,5 ml 10%ige Evan's Blaulösung und 0,5 ml 1%iges Eieralbumin injiziert. Nach 30 Minuten wurde das Ergebnis der PCA-Reaktion bestimmt, die Ergebnisse sind in Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1

	Konzentration des von Eier-Albumin-Sepharose 4B erhaltenen Antikörpers ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	5	1	0,2
Durchmesser der Reaktionsscheibe (mm)	13,8	7,9	2,5

Die Antigen-Werte, die durch Radioallergosorbens-Test gemessen wurden, sind in Fig. 2 angegeben. Dementsprechend wurde die Menge an Antikörper, die durch die Apparatur aus dem Plasma entfernt wurde, zu  $3,3 \times 40 \times (4,0 - 0,9) = 410$  (mg) berechnet, vorausgesetzt, dass die Plasmamenge 40 ml/kg ist. Der berechnete Wert ist fast gleich wie die Antikörpermenge, die in der Apparatur an Eier-Albumin-Sepharose 4B adsorbiert ist.

## Beispiel 2

Entfernung von Harnstoff und Kreatinin durch Dialyse 100 ml Kaninchenblut, das zur Verhinderung der Koagulation 2000 Einheiten Heparin enthielt, wurden für diesen Test verwendet.

Dem Blut wurden 20 mg Harnstoff und 6 mg Kreatinin zugegeben. Das Blut wurde dann nach der in Beispiel 1 beschriebenen Methode perfundiert. Der Adsorber wurde durch einen Dialysator vom Hohlfasertyp (hergestellt von Dow; Oberfläche 1000  $\text{cm}^2$ ; nominales Molekulargewicht abgeschnitten: 5000; Modellzahl b/HFD-1) ersetzt. Das Blut wurde unter Verwendung von Ringerlösung als äussere Dialyselösung perfundiert. Die Pumpen wurden so eingestellt, dass die Fließgeschwindigkeit des Gesamtbluts 5 ml/Min., dieje-

4

nige des Plasmas 1,6 ml/Min. und diejenige der äusseren Dialyseflüssigkeit 5 ml/Min. betrug.

Die Veränderungen in den Mengen an Gesamtprotein, Albumin, Kreatinin und Harnstoff sind in Fig. 3 dargestellt. Harnstoff und Kreatinin wurden rasch aus dem Blut entfernt. In der Figur bedeutet A Gesamtprotein, B Albumin, C Kreatinin und D Harnstoff.

## Beispiel 3

## Einflüsse des Blutbilds und der Blutbiochemie

Ein Rüde mit einem Körpergewicht von 14 kg wurde für diesen Versuch verwendet. In die Femoralarterie wurde eine Perfusionskanüle eingesetzt, und eine Zirkulationskanüle wurde in die Femoralvene eingesetzt, beide wurden durch die in Fig. 1 dargestellte Apparatur miteinander verbunden, um Blut in vitro zirkulieren zu lassen. Die im Filter verwendete Filtermembran war eine Cellulosemembran mit einer wirksamen Fläche von 300  $\text{cm}^2$  und einem Porendurchmesser von 0,65  $\mu\text{m}$ . Das Blut wurde aus der Femoralarterie mit einer Fließgeschwindigkeit von 150 ml/Min. unter einem Druck von 50 Torr gewonnen. Das Plasma, spontan von der Filtermembran abgetrennt, wurde mit solcher Fließgeschwindigkeit gepumpt, dass das Plasma im Filter getrennt wurde (5 ml/Min.). Das Plasma wurde in der Nähe des Ausflusses des Filters mit den Blutzellen vermischt und durch die Femoralvene in den Körper zurückgeführt. Nach 90 Minuten dauernder Perfusion wurden die Einflüsse auf das Blutbild und die Blutbiochemie untersucht. Die Veränderung im Blutbild ist in Tabelle 2 angegeben und die in der Blutbiochemie in Tabelle 3. Die Behandlung hatte wenig Einfluss auf die zwei Eigenschaften. Das Elektrokardiogramm wurde ebenfalls untersucht, es zeigte sich durch die Behandlung unbeeinflusst.

Tabelle 2  
Hämatologische Untersuchungen

	Vor	Nach Zirkulation (Std.)		
		0	2	24
Ht (%)	40,4	39,5	39,0	39,7
Hb (g/dl)	14,3	13,6	13,3	13,8
RBC ( $10^4 \times \text{mm}^3$ )	624	601	596	586
WBC ( $10^2 \times \text{mm}^3$ )	96	87	138	158
Thrombozyten ( $10^4 \times \text{mm}^3$ )	38	38	36	37

Tabelle 3  
Ergebnisse der Blutbiochemie

	T.P. (g/dl)	Albumin (g/dl)	Gesamtcholesterin (mg/dl)	Harnstoff-N (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)	Harnsäure (mg/dl)
Vor	7,3	3,3	268	26,5	0,50	0,40
Nach	6,9	3,1	270	27,0	0,48	0,35

FIG. 1

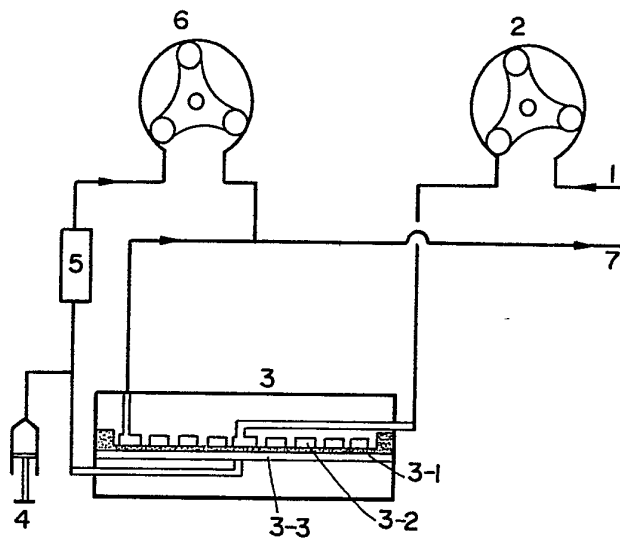


FIG. 2

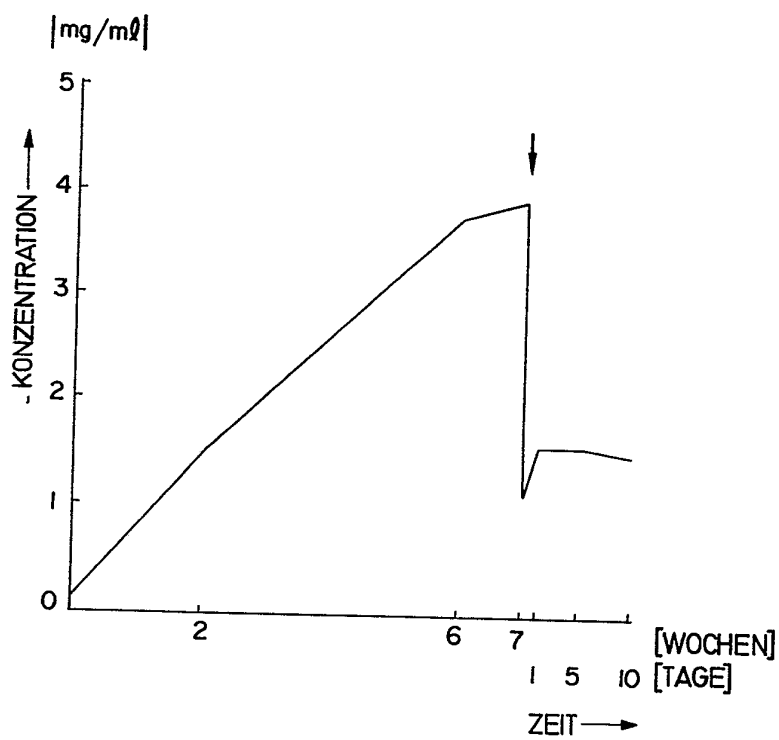


FIG. 3

