

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 009 882**

51 Int. Cl.:

A61M 1/34 (2006.01)

A61K 47/00 (2006.01)

A61M 1/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.07.2020** **PCT/EP2020/070919**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.02.2021** **WO21018758**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.07.2020** **E 20743701 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.12.2024** **EP 4003451**

54 Título: **Dispositivo para la reducción extracorpórea de los niveles de dimetilarginina asimétrica y monometilarginina en sangre humana**

30 Prioridad:

26.07.2019 EP 19188652

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

31.03.2025

73 Titular/es:

TECHNISCHE UNIVERSITÄT DRESDEN (100.00%)
Helmholtzstrasse 10
01069 Dresden, DE

72 Inventor/es:

RODIONOV, ROMAN N.;
TSELMIN, SERGEY y
BORNSTEIN, STEFAN R.

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 3 009 882 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

Dispositivo para la reducción extracorpórea de los niveles de dimetilarginina asimétrica y monometilarginina en sangre humana

5 La invención se refiere al campo del tratamiento sanguíneo extracorpóreo, en particular la reducción selectiva de los niveles de dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o monometilarginina (MMA) en la sangre o el plasma sanguíneo de un paciente, y los dispositivos y métodos relacionados.

10 La invención se refiere a un dispositivo de tratamiento sanguíneo configurado para reducir la cantidad de dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o monometilarginina (MMA) en la sangre o plasma sanguíneo de una persona que lo necesite en un circuito sanguíneo extracorpóreo, en donde el dispositivo comprende una matriz, y en donde dicha matriz comprende una enzima configurada para metabolizar ADMA y/o MMA. La invención se refiere además a un circuito sanguíneo extracorpóreo que comprende un dispositivo de tratamiento sanguíneo de la invención y al
15 dispositivo de tratamiento sanguíneo para su uso como medicamento en el tratamiento y/o prevención de un cuadro clínico asociado con niveles elevados de dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o monometilarginina (MMA) y/o un cuadro clínico asociado con una producción y/o biodisponibilidad de óxido nítrico (NO) deficiente.

Antecedentes de la invención

20 La ADMA es un derivado endógeno dimetilado de la L-arginina, que puede inhibir la producción de óxido nítrico (NO) *in vitro* e *in vivo*. Los niveles sistémicos de ADMA son elevados en las enfermedades cardiovasculares graves, patologías metabólicas y renales asociadas a una disminución de la biodisponibilidad del NO, como hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva, aterosclerosis, ictus, hipercolesterolemia, hiperhomocisteinemia, enfermedad
25 arterial periférica, preeclampsia, enfermedad renal crónica y diabetes mellitus [1]. La elevación de los niveles plasmáticos de ADMA en modelos animales conduce a una alteración de la producción de NO que provoca disfunción endotelial, aumento de la resistencia vascular sistémica y elevación de la presión arterial [2], lo que sugiere que la ADMA puede mediar el daño cardiovascular en las enfermedades asociadas a niveles elevados de ADMA.

30 La principal vía de catabolismo de la ADMA es la hidrólisis a citrulina y metilaminas catalizada por la enzima dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH). Existen dos isoformas de DDAH (DDAH1 y DDAH2) en los mamíferos, cada una codificada por un gen distinto. Se cree que DDAH1 es la principal isoforma metabolizadora de ADMA de DDAH [3]. La estimulación de DDAH1 ha demostrado ser protectora en múltiples modelos experimentales de patologías cardiovasculares. La sobreexpresión transgénica de DDAH1 en ratones reduce los niveles sistémicos de
35 ADMA, aumenta la producción básica y estimulada de NO [4], mejora la angiogénesis en el modelo de miembro posterior isquémico [5], aumenta la sensibilidad a la insulina [6] y protege de la lesión por isquemia-reperfusión miocárdica y renal [7,8]. Los ratones transgénicos DDAH1 (DDAH1 Tg) también están protegidos frente a aterosclerosis [9], lesión vascular inducida por hiperhomocisteinemia [10], lesión renal en un modelo murino de hipertensión [11] y remodelado miocárdico y aórtico inducido por la angiotensina-II.

40 Los diversos efectos protectores de la DDAH1 en modelos animales indican que la reducción posterior del nivel de ADMA en el plasma humano mediante la regulación de la actividad de la DDAH1 podría ser una estrategia terapéutica prometedora en enfermedades cardiovasculares, metabólicas y renales, entre otros.

45 Múltiples cribados de fármacos para activadores de DDAH1 han sido infructuosos, potencialmente, porque DDAH1 es una proteína pequeña, que podría no tener sitios para la regulación alostérica. En la actualidad, no se dispone de terapias reductoras selectivas de ADMA para el tratamiento de la enfermedad.

Aunque los métodos extracorpóreos disponibles actualmente pueden reducir de forma no selectiva la ADMA y el MMA en sangre, también disminuyen la L-Arginina, lo que contrarresta los efectos positivos de la reducción de ADMA y MMA. Por otra parte, la disminución no selectiva de ADMA y MMA no permite establecer el papel causal de estos
50 compuestos endógenos en el desarrollo de daños cardiovasculares, metabólicos y renales en humanos.

La falta de terapias reductoras selectivas de ADMA y MMA para restaurar la biodisponibilidad de NO en patologías cardiovasculares, metabólicas y renales es la necesidad clínica no cubierta, que abordará nuestra invención.
55

Sumario de la invención

60 A la luz de la técnica anterior, el problema técnico subyacente a la presente invención es proporcionar medios alternativos y/o mejorados y/o selectivos para tratar afecciones médicas asociadas con niveles elevados de dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o monometilarginina (MMA), o con producción y/o biodisponibilidad de óxido nítrico (NO) alteradas. Otro objeto de la invención es la provisión de medios alternativos, o mejorados, o más selectivos para disminuir las cantidades de ADMA y/o MMA en un sujeto. La presente invención pretende proporcionar tales medios, evitando al mismo tiempo los inconvenientes conocidos en la técnica anterior.

65 El problema se resuelve mediante las características de la reivindicación independiente que delimitan el alcance de la

presente invención. Las realizaciones preferidas de la presente invención se proporcionan en las reivindicaciones dependientes.

Por lo tanto, la invención se refiere a una enzima que metaboliza la dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o la monometilarginina (MMA), seleccionada entre dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH) y/o alanina-glioxilato aminotransferasa 2 (AGXT2), para su uso como medicamento en el tratamiento y/o prevención de un cuadro clínico asociado con niveles elevados de dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o monometilarginina (MMA) en la sangre o el plasma sanguíneo de un sujeto, en comparación con controles sanos, y/o para su uso en el tratamiento de un cuadro clínico asociado con una producción y/o biodisponibilidad deficiente de óxido nítrico (NO) y/o una cuadro clínico, en los que se espera que un aumento de la producción y/o biodisponibilidad de NO sea protector.

En un aspecto, por lo tanto, la invención se refiere a un dispositivo de tratamiento sanguíneo configurado para reducir la cantidad de dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o monometilarginina (MMA) en la sangre o plasma sanguíneo de una persona que lo necesite en un circuito sanguíneo extracorpóreo, en donde el dispositivo comprende una matriz, y en donde dicha matriz comprende una enzima configurada para metabolizar ADMA y/o MMA.

Los derivados metilados de la arginina, la dimetilarginina asimétrica (ADMA) y la monometilarginina (MMA) son inhibidores endógenos de la óxido nítrico sintasa (NOS). El óxido nítrico (NO) es el vasodilatador más potente que se sintetiza a partir del aminoácido L-arginina. La dimetilarginina asimétrica (ADMA) y la monometilarginina (MMA) son inhibidores competitivos naturales de la óxido nítrico sintasa endógena (NOS). La ADMA es más prevalente que el MMA y, por tanto, se ha evaluado preferentemente en los estudios clínicos. A menudo se observa un aumento de los niveles de ADMA en sujetos con factores de riesgo cardiovascular clásicos o nuevos, como hipercolesterolemia, resistencia a la insulina, diabetes mellitus, hipertensión y enfermedad renal crónica. La ADMA también ha demostrado ser un excelente predictor de la mortalidad en poblaciones de pacientes seleccionadas, así como en la población general.

En la actualidad, hasta donde saben los inventores, no existen técnicas médicas ni fármacos selectivos para reducir selectivamente los niveles de ADMA o MMA en el plasma sanguíneo humano. La presente invención es, por tanto, particularmente útil para lograr una reducción del riesgo cardiovascular primario, así como un tratamiento más eficaz de los pacientes con trastornos cardiovasculares agudos y crónicos ya desarrollados, por ejemplo, el infarto de miocardio en su fase aguda, por ejemplo, en una unidad de cuidados intensivos.

La disminución extracorpórea de los niveles de ADMA y MMA en plasma sanguíneo humano mediante una columna selectiva que contiene una enzima adecuada, tal como preferentemente DDAH (DDAH1 o DDAH2) y/o AGXT2, permite reducir los riesgos cardiovasculares, metabólicos y renales primarios y secundarios, además de proporcionar una opción terapéutica adicional para enfermedades cardiovasculares, metabólicas y renales agudas y crónicas.

Hasta donde saben los inventores, la presente invención representa el primer enfoque para la reducción selectiva de los niveles de ADMA o MMA en sangre o plasma humanos. El presente enfoque representa, por tanto, una técnica de aféresis novedosa y hasta ahora no sugerida, que no se basa en los mecanismos clásicos de adsorción, filtración o precipitación, sino que se basa en la eliminación/metabolismo químico de un sustrato diana por una enzima. Por lo tanto, este enfoque puede denominarse aféresis enzimática, o un dispositivo de tratamiento sanguíneo basado en el tratamiento enzimático de la sangre o el plasma.

La presente invención está asociada a beneficios sorprendentes asociados al abordaje extracorpóreo inmovilizado. La invención se basa en aislar e inmovilizar la actividad enzimática deseada en un dispositivo de tratamiento sanguíneo, lo que supone un cambio significativo con respecto a los métodos tradicionales de aféresis. Una persona capacitada no podría haber supuesto que la inmovilización de las enzimas como se describe en el presente documento conduciría a una reducción significativa de los niveles de ADMA o MMA en sangre o plasma humanos.

La presente invención es beneficiosa, como incluso si alguna vez se desarrollan fármacos activadores de DDAH (DDAH1 o DDAH2)/AGXT2, el presente enfoque extracorpóreo es ventajoso debido a que evita los posibles efectos secundarios sistémicos de la activación endógena de DDAH (DDAH1 o DDAH2)/AGXT2. El abordaje extracorpóreo aísla y restringe el efecto médico activo fuera del cuerpo de forma localizada y eficaz, evitando así efectos secundarios no deseados, o efectos secundarios causados, por ejemplo, por la estimulación no deseada de la actividad enzimática en órganos o tejidos en los que la actividad no es deseada o es innecesaria.

En una realización, la invención se refiere a un dispositivo de tratamiento sanguíneo tal como se describe en el presente documento, en donde la enzima configurada para metabolizar la dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o la monometilarginina (MMA) es la dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH).

La dimetilarginina dimetilaminohidrolasa es una enzima, que tiene dos isoformas, en concreto, 1 y 2 (DDAH1 o 2), que están codificadas por 2 genes diferentes. DDAH1 se identificó inicialmente como la enzima que degrada ADMA y MMA. Los estudios han demostrado que las mutaciones DDAH1 con pérdida de función se asocian a un aumento de la aparición de cardiopatías coronarias, trombosis e ictus [13]. También se informó que DDAH2 tenía actividad enzimática para degradar ADMA y MMA *in vitro* que era similar a la de DDAH1 [14].

En una realización, la dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH) comprende o consiste en la isoforma 1 (DDAH1) y/o la isoforma 2 (DDAH2).

- 5 En las realizaciones preferidas, se emplea DDAH1, ya que se ha demostrado que DDAH1 es la enzima crítica para degradar el factor de riesgo cardiovascular ADMA *in vivo* [3]. No obstante, DDAH2 puede emplearse de forma alternativa o combinada, ya que la actividad *in vitro* requerida se ha detectado para la isoforma 2.

- 10 En una realización, la dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH) está inmovilizada a la matriz y configurada para hidrolizar dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o monometilarginina (MMA) por catabolismo de ADMA y/o MMA a L-citrulina en sangre o plasma sanguíneo.

- 15 El metabolismo de la ADMA se produce a través de la degradación hidrolítica a citrulina y dimetilamina por la DDAH. Por lo tanto, la enzima se inmoviliza utilizando cualquier medio adecuado para mantener esta actividad en el abordaje extracorpóreo descrito en el presente documento. A continuación se ofrecen ejemplos adicionales específicos y no limitantes de técnicas de inmovilización.

- 20 En una realización, la invención se refiere a un dispositivo de tratamiento sanguíneo tal como se describe en el presente documento, en donde la enzima configurada para metabolizar la dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o la monometilarginina (MMA) es alanina-glioxilato aminotransferasa 2 (AGXT2).

- 25 Se ha demostrado que AGXT2 metaboliza la dimetilarginina asimétrica (ADMA) mediante transaminación a ácido alfa-ceto-delta-(NN-dimetilguanidino) valérico (ADGV, también abreviado como DMGV). La implicación de AGXT2 en la regulación de la producción de NO, incluido su papel en la regulación de la presión arterial, se ha demostrado anteriormente [15], [16].

- 30 En una realización, la alanina-glioxilato aminotransferasa 2 (AGXT2) está inmovilizada en la matriz y configurada para metabolizar la dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o la monometilarginina (MMA) mediante transaminación a ácido alfa-ceto-delta-(NN-dimetilguanidino) valérico (ADGV) y ácido alfa-ceto-delta-(N-monometilguanidino) valérico (MGV), respectivamente, en sangre o plasma sanguíneo.

- 35 Por lo tanto, la enzima se inmoviliza utilizando cualquier medio adecuado para mantener esta actividad en el abordaje extracorpóreo descrito en el presente documento. A continuación se ofrecen ejemplos adicionales específicos y no limitantes de técnicas de inmovilización.

En algunas realizaciones, una secuencia preferida de DDAH1 es de acuerdo con SEQ ID NO 1.

En algunas realizaciones, una secuencia preferida de DDAH2 es de acuerdo con SEQ ID NO 2.

- 40 En algunas realizaciones, una secuencia preferida de AGXT2 es de acuerdo con SEQ ID NO 3.

- 45 La presente invención también abarca la variación en la longitud de las secuencias de aminoácidos descritas en el presente documento. Una persona experta es capaz de proporcionar variantes de secuencias de aminoácidos que sean más largas o más cortas que SEQ ID NO 1-3, que seguirán presentando suficiente similitud con las proteínas específicas descritas en el presente documento para proporcionar los resultados deseados. Por ejemplo, las variantes más cortas de SEQ ID NO 1-3 que comprenden 10, 20, 30, 40 o hasta 50 aminoácidos menos que la forma de longitud completa también pueden permitir un metabolismo eficaz de ADMA y/o MMA, como se describe en el presente documento. Por lo tanto, también se consideran los fragmentos de SEQ ID NO 1-3. Adicionalmente, las variantes más largas de SEQ ID NO 1-3 que comprenden 10, 20, 30, 40 o hasta 50 aminoácidos de cualquier secuencia adicional más que las secuencias naturales de SEQ ID NO 1-3 también pueden permitir resultados eficaces, como se describe en el presente documento.

- 55 En otras realizaciones de la invención, la proteína DDAH o AGXT2 empleada puede comprender o consistir en una secuencia de aminoácidos con al menos un 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO 1-3. Preferentemente, la variante de secuencia comprende al menos 80 %, 90 %, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO 1-3 y preferentemente presenta analogía funcional con las enzimas humanas específicas descritas en el presente documento. La analogía funcional se evalúa mediante la determinación del mismo o similar efecto enzimático de metabolizar ADMA y/o MMA como se describe en el presente documento. Los ensayos *in vitro* adecuados para determinar el metabolismo deseado alcanzado por cualquier enzima dada, preferentemente DDAH1, DDAH2 o AGXT2, son conocidos por un experto.

- 60 En una realización, la invención se refiere a un dispositivo de tratamiento sanguíneo tal como se describe en el presente documento, en donde la matriz comprende un soporte al que está unida la dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH) y/o la alanina-glioxilato aminotransferasa 2 (AGXT2), en donde el soporte comprende o consiste en un material seleccionado del grupo que consiste en una resina, perla, estera de fibra, material no tejido, espuma porosa y membrana, tal como una membrana tubular de fibra hueca o lámina plana.

Una persona experta en el campo del tratamiento sanguíneo extracorpóreo conoce diversos formatos y materiales de dispositivos que pueden aplicarse en el contexto de la presente invención. Los posibles formatos de dispositivo se refieren, por ejemplo, sin limitación, a dializadores de membrana y/o cartuchos de "adsorción". El cartucho de "adsorción", empleado en los métodos extracorpóreos tradicionales para unir y eliminar los componentes sanguíneos no deseados, normalmente comprende una matriz seleccionada entre una resina o un material no tejido, cualquiera de los cuales está funcionalizado con un ligando, y en el caso de la presente invención, con una enzima. Los materiales utilizados en el soporte de dichas membranas y/o cartuchos son conocidos por un experto y pueden seleccionarse en consecuencia. A continuación se ofrecen más detalles.

En una realización, el soporte y/o la matriz comprenden o están constituidos por al menos un polímero, preferentemente seleccionado del grupo que consiste en alginato, quitosano, quitina, colágeno, carragenina, gelatina, almidón, pectina, celulosa, agarosa, dextrosa y sefariosa; un material inorgánico, preferentemente seleccionado del grupo que consiste en cerámica, celita, sílice, vidrio, carbón activado y carbón vegetal; o un polímero sintético, como se describe con mayor detalle a continuación.

En una realización, el dispositivo de tratamiento sanguíneo descrito en el presente documento se caracteriza porque el soporte es una membrana de fibra hueca, estera de fibra o membrana de lámina plana, que está compuesto de al menos un derivado polisacárido o polímero sintético, ejemplos de los cuales se ofrecen a continuación.

En una realización, el dispositivo de tratamiento sanguíneo descrito en el presente documento se caracteriza porque el soporte es un material no tejido compuesto de al menos un biopolímero seleccionado entre los polisacáridos, ácido poliláctico (PLA) o policaprolactona (PCL), o de al menos un material inorgánico seleccionado del grupo formado por TiO_2 , SiO_2 o Al_2O_3 , o de al menos un polímero sintético, ejemplos de los cuales se ofrecen a continuación.

En una realización, el dispositivo de tratamiento sanguíneo descrito en el presente documento se caracteriza porque el dispositivo de tratamiento sanguíneo es una columna, que contiene una enzima inmovilizada o una columna de adsorción, por ejemplo, un soporte sin membrana, preferentemente presente como resina, como perlas o como material no tejido, que es o está configurado para ser perfundido con sangre total o plasma sanguíneo separado. En algunas realizaciones, el dispositivo de tratamiento sanguíneo se presenta esencialmente en forma de, de dimensiones y/o materiales, conocido en el sector como cartucho de adsorción, pero sin función de adsorción. Más bien, las columnas utilizadas habitualmente como cartuchos de adsorción (por ejemplo, para unir anticuerpos no deseados u otras proteínas de la sangre) pueden emplearse aquí no para adsorber, sino para convertir enzimáticamente la dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o la monometilarginina (MMA).

Por lo tanto, el dispositivo puede ser o comprender una columna que comprenda una matriz seleccionada de un material adecuado o aquellos materiales divulgados en el presente documento, cualquiera de los cuales está funcionalizado con una enzima configurada para metabolizar ADMA o MMA, tales como las descritas en el presente documento. Un dispositivo de este tipo puede formar parte de un circuito extracorpóreo para el tratamiento sanguíneo extracorpóreo, configurado para proporcionar hemodiálisis o plasmáfesis. El dispositivo puede ser el único dispositivo de tratamiento sanguíneo dentro del circuito sanguíneo o puede estar ubicado, por ejemplo, aguas arriba o aguas abajo de un dializador en un circuito de hemodiálisis (hemofiltración) o, alternativamente, puede conectarse inmediatamente a un dializador, en donde el dispositivo está configurado para ser perfundido con sangre total. El dispositivo también puede formar parte de un circuito de plasmáfesis extracorpórea, en donde el dispositivo se perfunde con plasma sanguíneo.

En una realización, la dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH) y/o la alanina-glioxilato aminotransferasa 2 (AGXT2) está unida covalentemente a la matriz, por ejemplo, mediante reticulación.

Se prefiere la unión covalente para evitar el riesgo de lixiviación de la enzima de la matriz a la sangre o al plasma sanguíneo del paciente. Los métodos para la unión covalente de una enzima a la matriz se proporcionan a continuación y son conocidos por un experto. En algunas realizaciones, la enzima se une covalentemente a la matriz mediante el tratamiento de la matriz y/o la enzima utilizando, por ejemplo, un compuesto de carbodiimida, como la 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC). A continuación se presentan otros ejemplos de productos químicos de inmovilización.

En otras realizaciones, la dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH) y/o la alanina-glioxilato aminotransferasa 2 (AGXT2) está unida de manera no covalente a la matriz, por ejemplo mediante interacciones iónicas o mediante una etiqueta de afinidad.

La selección de materiales y métodos adecuados para la fijación no covalente son conocidos por un experto. La interacción iónica entre la matriz y/o el soporte y la enzima se configura preferentemente de tal manera que ADMA y MMA se metabolizan eficazmente, y la enzima se mantiene dentro del dispositivo de tratamiento sanguíneo, evitando así que la enzima libre entre en la sangre o el plasma del paciente. También pueden emplearse etiquetas de afinidad.

En una realización, la invención se refiere a un dispositivo de tratamiento sanguíneo como se describe en el presente

documento, en donde el dispositivo de tratamiento sanguíneo está ubicado en un circuito sanguíneo extracorpóreo por el que pasa la sangre del paciente, en donde dicho circuito comprende medios para transportar sangre desde el sistema vascular del paciente hasta el dispositivo de tratamiento sanguíneo a un caudal definido y para devolver la sangre tratada al paciente.

En una realización, el circuito sanguíneo extracorpóreo en el que se sitúa el dispositivo de tratamiento sanguíneo comprende además un separador de plasma, como un filtro de plasma o un sistema de separación de plasma basado en una centrifugadora o una combinación de los mismos (por ejemplo, un separador de disco), que permite separar el plasma de la sangre, y en donde el dispositivo de tratamiento sanguíneo está ubicado aguas abajo de una salida de plasma del separador de plasma.

Esta realización está diseñada para reducir eficazmente los niveles de ADMA y MMA en el plasma del paciente después de haber sido separados de la sangre total. En algunas realizaciones, el plasma se vuelve a unir con los componentes restantes de la sangre total o se reinfunde en el sujeto tras el tratamiento enzimático mediante la enzima inmovilizada en el dispositivo de tratamiento sanguíneo.

En una realización, el circuito sanguíneo extracorpóreo en el que se sitúa el dispositivo de tratamiento sanguíneo comprende además un hemofiltro, para la diálisis de la sangre, que se sitúa aguas arriba o aguas abajo del dispositivo de tratamiento sanguíneo, o en donde el dispositivo de tratamiento sanguíneo es un hemofiltro para la diálisis de la sangre.

En una realización, el dispositivo puede diseñarse como un lumen o un filtro de membrana de fibra hueca o dializador en donde la membrana constituye el soporte al que se une la enzima. La membrana puede ser una membrana de hemodiálisis como se conoce comúnmente en la técnica que se funcionaliza adicionalmente con una enzima para reducir los niveles de ADMA y/o MMA, bien en su cara interna del lumen o, alternativamente, en la cara externa de las fibras. En una realización, el dispositivo puede ser un filtro de hemodiálisis que comprende una resina, por ejemplo, en forma de esponja, que se funcionaliza con la enzima. En otras realizaciones, el dispositivo es un filtro separador de plasma, configurado para separar el plasma de la sangre total, en el que la enzima se inmoviliza en el filtro por el lado en el que el plasma se libera del filtro, tratando así inmediatamente el plasma de la forma deseada. En un aspecto adicional, la invención se refiere a un circuito sanguíneo extracorpóreo que comprende un dispositivo de tratamiento sanguíneo tal como se describe en el presente documento, en donde el circuito sanguíneo extracorpóreo comprende medios para transportar sangre o plasma sanguíneo desde el sistema vascular del paciente hasta el dispositivo de tratamiento sanguíneo a un caudal definido y medios para devolver la sangre o el plasma sanguíneo tratado al paciente.

En algunas realizaciones, el circuito sanguíneo extracorpóreo comprende componentes adicionales, como un punto de entrada intravascular, tubos, filtros, una bomba y monitores, como los que suelen estar presentes en un circuito de este tipo, y que son bien conocidos por un experto.

En un aspecto adicional, la invención se refiere al dispositivo de tratamiento sanguíneo tal como se describe en el presente documento para su uso como medicamento en el tratamiento y/o prevención de:

a. un cuadro clínico asociado con niveles elevados de dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o monometilarginina (MMA) en la sangre o el plasma sanguíneo de un sujeto, en comparación con controles sanos, y/o

b. un cuadro clínico asociado a una producción y/o biodisponibilidad de óxido nítrico (NO) alterada, en comparación con controles sanos.

De acuerdo con un aspecto de la divulgación que no forma parte de la invención la presente divulgación que no forma parte de la invención proporciona un método para tratar o mejorar al menos un síntoma de un trastorno de este tipo. En algunas realizaciones, el método comprende la reducción del riesgo de empeoramiento del cuadro del sujeto y/o de desarrollo de un cuadro médico como se divulga en el presente documento.

Por lo tanto, otro objeto de la presente divulgación que no forma parte de la invención es proporcionar un método de tratamiento, mejorar, reducir el riesgo de desarrollar y/o reducir el riesgo de desarrollar síntomas de empeoramiento de dicho trastorno en un paciente, en donde el método comprende el paso de reducir extracorpóreamente el nivel de ADMA y/o MMA del paciente haciendo pasar la sangre o el plasma sanguíneo del paciente sobre una matriz que está configurada para metabolizar ADMA y/o MMA, reduciendo así sus niveles o eliminándolos de la sangre del paciente.

En otra divulgación que no forma parte de la invención del uso médico o método de tratamiento, el cuadro clínico es:

a. una enfermedad vascular y/o cardíaca, preferentemente seleccionada del grupo formado por enfermedad arterial coronaria, enfermedad arterial periférica, enfermedad arterial cerebral, insuficiencia cardíaca, dislipidemias, hipertensión arterial, hipertensión pulmonar, eclampsia, úlcera digital, disfunción eréctil, migrañas, lesiones vasculares traumáticas, vasculopatías del trasplante, lesiones microvasculares, remodelación miocárdica y remodelación vascular, lesiones por isquemia-reperusión y/o enfermedades vasoespásticas,

- b. complicaciones vasculares y cardíacas de enfermedades metabólicas, tales como diabetes mellitus, dislipidemias, hiperhomocisteinemia y/o hiperuricemia, y/o
- c. una enfermedad hepática y/o renal.

5 Con respecto a lo anterior y a la descripción detallada de la invención, todas las características divulgadas con respecto al dispositivo de tratamiento de sangre, el circuito sanguíneo extracorpóreo, el uso médico se consideran divulgados en el contexto de cada aspecto, de manera que las características que describen un aspecto cualquiera pueden considerarse que describen otros aspectos de la invención.

10 Descripción detallada de la invención

La presente invención se basa en la idea de que la dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o la monometilarginina (MMA) pueden metabolizarse en la sangre o el plasma sanguíneo de un paciente que lo necesite mediante un enfoque extracorpóreo que emplee un dispositivo de tratamiento sanguíneo en el que se inmovilice una enzima adecuada para metabolizar la ADMA y la MMA.

A todos los términos se les da su significado técnico ordinario, a menos que se describa lo contrario en el presente documento.

20 Dimetilarginina asimétrica (ADMA), Monometilarginina (MMA) y óxido nítrico (NO):

La dimetilarginina asimétrica (ADMA) es una sustancia química presente de forma natural en el plasma sanguíneo. Es un subproducto metabólico de los procesos de modificación de proteínas en el citoplasma de las células humanas.

25 La ADMA interfiere con la L-arginina en la producción de óxido nítrico (NO), una sustancia química clave implicada en la función endotelial normal y la salud cardiovascular.

La monometilarginina (MMA), también conocida como N-metilarginina o N-monometil-L-arginina, es un inhibidor de la óxido nítrico sintasa. Es un derivado metílico del aminoácido arginina y se sabe que tiene un efecto inhibidor de la vasodilatación.

Las dimetilargininas son el resultado de la degradación de las proteínas metiladas. Los grupos metilo proceden de la S-adenosilmetionina, con implicación de las enzimas proteína arginina metiltransferasa tipo 1 y 2 (PRMT1, PRMT2). La PRMT-1 cataliza la formación de NG-monometil-L-arginina (LN MMA) y NG,NG-dimetil-L-arginina (ADMA), mientras que PRMT-2 metila las proteínas para liberar NG,N'-G-dimetil-L-arginina (dimetil-arginina simétrica; SDMA) y L-NMMA. Los residuos de arginina metilados asimétricamente (L-NMMA y ADMA), pero no la arginina metilada simétricamente (SDMA), son inhibidores competitivos de las óxido nítrico sintasas.

El óxido nítrico (NO) es uno de los vasodilatadores más potentes, que se sintetiza a partir del aminoácido L-arginina. El NO ejerce importantes funciones biológicas estimulando la guanilato ciclasa para generar GMPc, inhibir la respiración mitocondrial compitiendo con el oxígeno en la citocromo oxidasa, o inducir la S-nitrosilación para regular la estabilidad y la función de las proteínas. El endotelio también desempeña un papel crucial en el mantenimiento del tono y la estructura vasculares. Se sabe que la disfunción endotelial precede a la enfermedad arterial coronaria manifiesta. Una serie de factores de riesgo cardiovascular, así como las enfermedades metabólicas y la inflamación sistémica o local causan disfunción endotelial. El óxido nítrico (NO) es una de las principales sustancias vasoactivas derivadas del endotelio cuyo papel es de capital importancia en el mantenimiento de la homeostasis endotelial. Los niveles bajos de NO se asocian a un deterioro de la función endotelial. La producción de NO se ve restringida por los inhibidores endógenos de la óxido nítrico sintasa (NOS) dimetilarginina asimétrica (ADMA) y N-monometil-L-arginina (L-NMMA); MMA).

En animales intactos, la infusión de ADMA o MMA aumenta la resistencia vascular y la presión arterial. Las enfermedades cardiovasculares, incluidos hipertensión, enfermedad arterial coronaria, ictus, insuficiencia cardíaca congestiva, aterosclerosis y diabetes, se asocian a un aumento de los niveles plasmáticos de ADMA con una disminución de la relación entre L-arginina y ADMA. Por otra parte, el aumento de la ADMA plasmático es un potente factor predictivo independiente tanto de la mortalidad como de los principales acontecimientos cardiovasculares no mortales en pacientes tras un infarto de miocardio, enfermedad arterial coronaria e ictus.

Enzimas:

60 De acuerdo con la presente invención, el dispositivo comprende una matriz, en donde dicha matriz comprende una enzima configurada para metabolizar ADMA y/o MMA. Una persona experta es capaz de evaluar la actividad de cualquier enzima dada para determinar si ADMA y/o MMA se metabolizan adecuadamente. Los ensayos *in vitro* están a disposición de una persona experta, por ejemplo, los descritos en la referencia [3].

65 Por ejemplo, ADMA en plasma, MMA, dimetilarginina simétrica (SDMA) y L-arginina pueden medirse mediante un método de cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem, como se describe en [17]. Para determinar la

actividad de la DDAH puede emplearse una técnica basada en isótopos estables, por ejemplo en plasma o tejidos [18]. Estas técnicas permiten a un experto evaluar si una enzima muestra el metabolismo requerido de los metabolitos diana de la presente invención.

5 Dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH).

La dimetilarginina dimetilaminohidrolasa es una enzima que se encuentra en todas las células de mamíferos. Existen dos isoformas, DDAH I y DDAH II, con algunas diferencias en la distribución tisular de las dos isoformas. La enzima degrada las metilargininas, concretamente la dimetilarginina asimétrica (ADMA) y la monometilarginina (MMA).

10 La dimetilarginina dimetilaminohidrolasa 1 (DDAH1) puede identificarse bajo RefSeq NM_012137 o UniProt O94760.

La dimetilarginina dimetilaminohidrolasa 2 (DDAH2) puede identificarse bajo RefSeq NM_013974 o UniProt O95865.

15 A continuación, se presentan las secuencias preferidas.

Alanina-glioxilato aminotransferasa 2 (AGXT2):

20 La alanina-glioxilato aminotransferasa 2 (AGXT2) puede metabolizar la dimetilarginina asimétrica (ADMA) mediante transaminación a ácido alfa-ceto-delta-(NN-dimetilguanidino) valérico (DMGV). A diferencia de los DDAH, AGXT2, una aminotransferasa mitocondrial que se expresa principalmente en el riñón, puede metabolizar no solo ADMA sino también SDMA.

25 La alanina-glioxilato aminotransferasa 2 (AGXT2) puede identificarse bajo UniProtKB Q9BYV1 y las entradas RefSeq NP_001293102.1, NM_001306173.1, NP_114106.1, NM_031900.3, XP_016865237.1, XM_017009748.1.

Se conocen múltiples isoformas y variantes naturales, registradas en bases de datos públicas. Cualquier forma dada de AGXT2 capaz del metabolismo enzimático de ADMA y/o MMA como se describe en el presente documento está abarcada por la invención.

30 A continuación se presenta una secuencia preferida.

Secuencias preferidas de la invención:

35 DDAH1 (humano)
SEQ ID NO 1:

MAGLGHPAAFGRAHVVRLPESLGQHALRSAKGEEVDVARAERQHQLYVGVLGSKLGLQV
ELPADESLPDCVFVEDVAVVCEETALITRPGAPSRRKEVDMMEALEKLQLNIVEMKDENATLDG
GDVLTGREFFVGLSKRTNQRGAELADTFKDYAVSTVPVADGLHLKSFCSMAGPNLIAIGSSS
AQKALKIMQQMSDHRDYDKLTPDDIAANCIYLNIPNKGHVLLHRTPEEYPESAKVYEKLKDHMLIP
VSMSELEKVDGLLTCCSVLINKKVD

40 DDAH2 (humano)
SEQ ID NO 2:

MGTPEGLGRCSHALIRGVPESLASGEGAGAGLPALDLAKAQREHGVGGKLRQRLGLQLLEL
PPEESLPLGPLLGDTAVIQGDTALITRPWSPARRPEVDGVRKALQDLGLRIVEIGDENATLDGTDV
LFTGREFFVGLSKWTNHRGAEIVADTFRDFAVSTVPVSGPSHLRGLCGMGGPRTVAGSSDAA
QKAVRAMAVLTDHPYASLTLPDDAAADCLFLRPGLPGVPPFLLHRGGDLPNSQEALQKLSQVT
LVPVSCSELEKAGAGLSSLCLVLSTRPHS

45 AGXT2 (humano)
SEQ ID NO 3:

MTLIWRHLLRPLCLVTSAPRILEMHPFLSLGTSRTSVTKLSLHTKPRMPPCDFMPERYQSLGYNR
VLEIHKEHLSPPVVTAYFQKPLLLHQGHMEWLFDAEGSRYLDFFSGIVTVSVGHCHPKVNAVAQK
QLGRLWHTSTVFFHPPMHEYAEKLAALLPEPLKVIFLVNSGSEANELAMLMARAHSSNNIDIISFRG

AYHGCSPYTLGLTNVGTYKMEPLPGGTGCQPTMCPDVFRGPWGGSHCRDSPVQTIRKCSAPD
CCQAKDQYIEQFKDTLSTSVAKSIAGFFAEPIQGVNGVVQYPKGFLKEAFELVRARGGVCIADDEV
QTGFGRQLGSHFWGFQTHDVLDPDVTMAKGIGNGFMAAVITTPETAKSLAKCLQHFNTFGGNPM
ACAIGSAVLEVIKEENLQENSQEVGTYMLLKFAKLKRLDEFIVGDVRGKGLMIGIEMVQDKISCRPL
PREEVNQIHEDCKHMGLLVGRGSIFSQTFRAPSMCITKPEVDFAVEVFRSALTQHMERRAK

En algunas realizaciones, se puede emplear una proteína DDAH1, DDAH2 o AGXT2 con una secuencia de aminoácidos sustancialmente igual o similar a SEQ ID NO 1-3, o fragmentos de la misma. Algunos ejemplos son fragmentos de una proteína DDAH1, DDAH2 o AGXT2, tales como fragmentos de origen natural, homólogos o derivados con esencialmente las mismas propiedades o analogía funcional a los ejemplos de una proteína DDAH1, DDAH2 o AGXT2 como se describe en el presente documento.

Como se utiliza en el presente documento, el término "secuencia de aminoácidos sustancialmente igual o similar" incluye una secuencia de aminoácidos que es similar, pero no idéntica a, la secuencia de aminoácidos de referencia, tal como en SEQ ID NO 1-3. Por ejemplo, una secuencia de aminoácidos, es decir, un polipéptido, que tiene sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos que SEQ ID NO 1-3, y comprende una o más modificaciones, tales como adiciones de aminoácidos, deleciones o sustituciones relativas a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO 1-3, puede emplearse, siempre que el polipéptido modificado conserve sustancialmente al menos una actividad biológica como las descritas anteriormente, es decir, el metabolismo deseado de ADMA y/o MMA en la sangre o plasma de un paciente.

Una modificación particularmente útil de un polipéptido de la presente invención, o un fragmento del mismo, es una modificación que confiere, por ejemplo, mayor estabilidad o reactividad. La incorporación de uno o más D-aminoácidos es una modificación útil para aumentar la estabilidad de un polipéptido o fragmento polipeptídico. De manera similar, la eliminación o sustitución de residuos de lisina puede aumentar la estabilidad protegiendo el polipéptido o fragmento de polipéptido contra la degradación.

Las secuencias de aminoácidos también pueden comprender de 0 a 100, de 2 a 50, de 5 a 20 o, por ejemplo, de 8 a 15, o cualquier valor comprendido entre 0 y 20, adiciones o supresiones de aminoácidos en los extremos N y/o C de las proteínas. Los terminales también pueden modificarse con secuencias enlazadoras adicionales o eliminando secuencias, siempre que se mantengan esencialmente las propiedades de la proteína.

En la técnica anterior, se han descrito diversas formas de preparar péptidos funcionalmente análogos. Los péptidos diseñados a partir de los péptidos de la invención utilizando tales métodos se incluyen en la enseñanza de acuerdo con la invención. Por ejemplo, una forma de generar péptidos funcionalmente análogos se ha descrito en PNAS USA 1998, 13 de octubre, 95(21), 12179-84; WO 02/38592; las enseñanzas anteriores se incorporan a la divulgación de la invención por la presente. Es decir, todos los péptidos, los fragmentos peptídicos o las estructuras que comprenden péptidos generados mediante los métodos mencionados anteriormente -a partir de los péptidos de la invención- son péptidos de acuerdo con la invención, siempre que cumplan el objeto de la invención.

Enfermedades que se desean tratar:

De acuerdo con la presente invención, esencialmente cualquier cuadro clínico asociada con niveles elevados de ADMA y/o MMA en comparación con controles sanos, es una indicación diana para el tratamiento con el dispositivo de tratamiento sanguíneo de la presente invención,

Enfermedad vascular y/o cardíaca:

Varios estudios han demostrado una relación entre las concentraciones elevadas de ADMA y las enfermedades cardiovasculares. Se han descrito concentraciones plasmáticas elevadas de ADMA en personas con enfermedad arterial coronaria (EAC), enfermedad arterial periférica, insuficiencia cardíaca crónica, hipertensión pulmonar, preeclampsia, ictus y miocardiopatía hipertrófica.

Las enfermedades vasculares y/o cardíacas, sin limitación, preferentemente seleccionada del grupo formado por enfermedad arterial coronaria, enfermedad arterial periférica, enfermedad arterial cerebral, insuficiencia cardíaca, dislipidemias, hipertensión arterial, hipertensión pulmonar, eclampsia, úlcera digital, disfunción eréctil, migrañas, lesiones vasculares traumáticas, vasculopatías de trasplantes, lesiones microvasculares, remodelación miocárdica y

remodelación vascular, lesiones por isquemia-reperfusión y/o enfermedades vasoespásticas, u otras enfermedades vasculares o cardíacas asociadas con ADMA y/o MMA.

Complicaciones vasculares y cardíacas de las enfermedades metabólicas:

5 Pueden surgir complicaciones vasculares y cardíacas de las enfermedades metabólicas, que a menudo se asocian a niveles elevados de ADMA y/o MMA. Se considera enfermedad metabólica cualquiera de las enfermedades o trastornos que alteran el metabolismo normal. Ejemplos de tales cuadros se seleccionan de diabetes mellitus, preferentemente de tipo 2, dislipidemias, hiperhomocisteinemia y/o hiperuricemia. Las enfermedades cardiovasculares a menudo se agrupan con trastornos metabólicos, o son una complicación asociada de enfermedades metabólicas, porque con frecuencia es consecuencia de la diabetes y la dislipidemia.

Enfermedad hepática y/o renal:

15 La síntesis de óxido nítrico (NO) está bloqueada por la dimetilarginina asimétrica (ADMA), que compite con la L-arginina por la NO-sintasa. La ADMA se metaboliza principalmente en el hígado, por la dimetilarginina dimetilaminohidrolasa. El riñón y el hígado intervienen en la excreción de ADMA. Existe una correlación entre los niveles plasmáticos de ADMA y el grado de disfunción hepática en pacientes con cirrosis hepática, hepatitis alcohólica e insuficiencia hepática aguda. Los niveles plasmáticos elevados de ADMA son relevantes porque se asocian al desarrollo de fallo multiorgánico (FMO). El aumento de la concentración plasmática de ADMA se identificó como un factor de riesgo de FMO en pacientes en estado crítico que causa una mayor mortalidad en la Unidad de Cuidados Intensivos.

25 Dado que la ADMA es una toxina urémica, la relevancia fisiopatológica de la ADMA se ha investigado ampliamente en la enfermedad renal crónica (ERC) y en la enfermedad renal terminal (ERT). Si bien se ha demostrado que la ADMA se correlaciona con los factores de riesgo cardiovascular, su concentración plasmática también aumenta en pacientes que padecen insuficiencia renal terminal y disfunción hepática. En particular, se ha demostrado una correlación significativa entre los niveles plasmáticos de ADMA y el grado de disfunción hepática en pacientes que padecen enfermedades hepáticas de etiologías diversas.

30 Particularmente, los niveles plasmáticos de ADMA aumentan en pacientes con cirrosis hepática, hepatitis alcohólica e insuficiencia hepática aguda, todas las cuales podrían abordarse mediante la presente solicitud.

35 El mecanismo por el que la disfunción hepática provoca un aumento de las concentraciones de ADMA se debe probablemente a un deterioro de la actividad de DDAH, que se expresa en gran medida en los hígados normales: procesos locales como inflamaciones graves, estrés oxidativo y daño directo a la proteína DDAH pueden subyacer a un deterioro significativo de la actividad de la DDAH en pacientes críticos con disfunción hepática que conduce a una elevación de las concentraciones de ADMA.

40 *Indicaciones adicionales:*

Supuestamente, una serie de factores de riesgo, incluida la obesidad, la hipertensión, hipercolesterolemia, tabaquismo, diabetes mellitus, la hiperhomocisteinemia y la inflamación vascular median potencialmente sus efectos negativos sobre la pared vascular a través de la disfunción de la vía endotelial L-arginina/NO. En cada uno de estos cuadros, en estudios de casos y controles se ha demostrado que los niveles plasmáticos de ADMA son elevados en comparación con controles sanos.

Dispositivos e inmovilización de la enzima en el dispositivo:

50 La "matriz", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un material dentro del dispositivo de tratamiento sanguíneo que proporciona un material o superficie interna a través o sobre la cual pasa la sangre o el plasma. La matriz, tal como se utiliza en el contexto de la presente invención, comprende preferentemente un soporte al que está unida la enzima. Por tanto, el soporte sirve de portador de la enzima, aunque pueda cumplir otras funciones.

55 El "soporte", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a la parte de la matriz que sirve de "sustrato" o "material de soporte" al que se unen las enzimas de acuerdo con la invención. Tal soporte o material de soporte a veces también se denomina "material de adsorción" o "adsorbente", tal como se utiliza en una "columna de adsorción" o "columna" o "cartucho de adsorción". Un soporte adecuado de acuerdo con la presente invención debe ser uniforme, hidrófilo, mecánica y químicamente estable en el intervalo de pH y temperatura pertinentes, sin lixiviación de la enzima o con una lixiviación insignificante durante su uso, tener buenas características de flujo para sangre total y/o plasma sanguíneo, y proporcionar una gran superficie para la fijación de enzimas.

65 El soporte puede ser, por ejemplo, una resina, una membrana o un material no tejido. Un material "no tejido" se refiere a un material que, en sentido amplio, se define como una lámina, tejido o estructura de banda unidos entre sí mediante el entrelazado mecánico de fibras o filamentos (y mediante la perforación de películas), térmica o químicamente, pero no mediante tejido o tricotado. Una "resina" se refiere a un material insoluble que puede adoptar la forma de geles o

perlas de gel o microporosas, o de una esponja. Tales resinas pueden ser naturales o biopolímeros, polímeros sintéticos y materiales inorgánicos. Las perlas de agarosa, dextrosa y celulosa son soportes naturales comúnmente empleados. Los soportes sintéticos poliméricos u orgánicos se basan principalmente en derivados de acrilamida, poliestireno y polimetacrilato, mientras que, la sílice porosa y el vidrio son algunos de los soportes inorgánicos más utilizados.

De acuerdo con una realización de la invención, la resina está compuesta de polímeros seleccionados del grupo que consiste en alginato, quitosano, quitina, colágeno, carragenina, gelatina, celulosa, almidón, pectina y sefarsa; materiales inorgánicos seleccionados del grupo de las zeolitas, cerámica, celita, sílice, vidrio, carbón activado y carbón vegetal; o polímeros sintéticos seleccionados del grupo formado por el polietileno (PE), polioximetileno (POM), polipropileno (PP), cloruro de polivinilo (PVC), acetato de polivinilo (PVA), cloruro de polivinilideno (PVDC), poliestireno (PS), politetrafluoroetileno (PTFE), poliácido (PAA), polimetilmetacrilato (PMMA), poliácido, poliglicidil metacrilato (PGMA), acrilonitrilo butadieno estireno (ABS), poliácido, poliacrilonitrilo (PAN), poliéster, policarbonato, tereftalato de polietileno (PET), poliamida, poliaramida, polietilenglicol (PEG), polivinilpirrolidona (PVP), polisulfona (PS), polietersulfona (PES), poliariléteresulfona (PEAS), etileno acetato de vinilo (EVA), alcohol vinílico de etileno (EVOH), poliamidaimida, poliarilétercetona (PAEK), polibutadieno (PBD), polibutileno (PB), tereftalato de polibutileno (PBT), policaprolactona (PCL), polihidroxialcanoato, poliéter éter cetona (PEEK), poliéter cetona cetona (PEKK), poliéterimida (PEI), poliimida, poli(ácido láctico) (PLA), polimetilpenteno (PMP), poli(éter de p-fenileno) (PPE), poliuretano (PU), estireno acrilonitrilo (SAN), ácido polibutenoico, poli(ácido 4-alil-benzoico), poli(acrilato de glicidilo), poliglicidil metacrilato (PGMA), acrilonitrilo butadieno estireno (ABS), polidivinilbenceno (PDVB), poli(éter glicidílico de alilo), poli(vinil glicidil éter), poli(vinil glicidil uretano), polialilamina, polivinilamina, copolímeros de dichos polímeros y cualquiera de estos polímeros modificados mediante la introducción de grupos funcionales.

Se pueden utilizar varios métodos conocidos para inmovilizar la enzima al soporte y/o matriz de acuerdo con la invención. Tal inmovilización preferentemente es específica o selectiva en el sentido de que inmoviliza la enzima mientras que otras proteínas y componentes presentes en la sangre o plasma sanguíneo o una muestra de los mismos (*in vitro*) no se inmovilizan en un grado significativo.

La "inmovilización" de una enzima al soporte para proporcionar una matriz que pueda utilizarse en un dispositivo de acuerdo con la invención se refiere a una interacción no covalente o covalente que mantiene unidas dos moléculas. De acuerdo con una realización de la invención, la expresión se refiere a una interacción covalente, es decir, a enzimas unidas covalentemente. Las interacciones no covalentes incluyen, pero sin limitación, enlaces de hidrógeno, interacciones iónicas entre grupos cargados, interacciones de van der Waals e interacciones hidrófobas entre grupos no polares. Una o varias de estas interacciones pueden mediar en la unión de dos moléculas entre sí. Por lo demás, la unión puede ser específica o selectiva, o inespecífica.

De acuerdo con una realización, la enzima comprende etiquetas de afinidad para inmovilizarla en el soporte. Las etiquetas de afinidad pueden utilizarse para purificar la proteína durante la producción y/o para inmovilizarlas en el soporte de la matriz de la presente invención. Las etiquetas de afinidad pueden ser secuencias polipeptídicas cortas o proteínas enteras, co-expresadas como socias de fusión con las enzimas. Diferentes tipos de etiquetas de afinidad son bien conocidos en la técnica, en donde la polihistidina o las etiquetas Hiss, las etiquetas C-myc y las etiquetas FLAG están especialmente bien descritas y son opciones para unir las enzimas de acuerdo con la invención al material de soporte. La unión no covalente de biotina a estreptavidina o avidina también puede utilizarse para inmovilizar la enzima a un soporte.

De acuerdo con otra realización de la invención, las enzimas se unen covalentemente al soporte como se detalla más adelante y/o como se describe en la técnica anterior. El acoplamiento covalente generalmente incluye la unión covalente no dirigida al sitio de la proteína o la unión dirigida al sitio de la proteína. El soporte que constituye la base para la generación de una matriz debe proporcionar o facilitar la activación química, permitiendo así el acoplamiento químico de la enzima. Muchos métodos de acoplamiento para inmovilizar enzimas son bien conocidos en la técnica.

Por ejemplo, la química de activación debe ser estable en un amplio rango de pH, las condiciones tampón y la temperatura dan lugar a una lixiviación insignificante de las enzimas. El método de acoplamiento debe evitar una orientación inadecuada, fijación multisitio o impedimento estérico de la enzima. La densidad de enzimas por volumen de matriz puede optimizarse para favorecer la accesibilidad a la diana y la reacción.

El acoplamiento covalente puede realizarse mediante grupos funcionales comunes, incluidas aminas, alcoholes, ácidos carboxílicos, aldehídos y grupos epoxi. Los compuestos de carbodiimida pueden utilizarse para activar los grupos carboxílicos de las proteínas y conjugarlos directamente con las aminas primarias de la superficie del soporte mediante enlaces amida. Las carbodiimidas más utilizadas son la EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida) soluble en agua para la reticulación acuosa y la DCC (N', N'-diclohexil carbodiimida) para métodos de síntesis orgánica no acuosa.

Alternativamente, los soportes pueden llevar grupos funcionales específicos para acoplar a ellos un enlazador y/o una enzima. Por ejemplo, las resinas funcionalizadas están disponibles en el mercado y son conocidas por los expertos en la materia. Una amplia gama de productos químicos de acoplamiento, que implican aminas primarias, sulfhidrilos,

aldehídos, hidroxilos y ácidos carboxílicos están disponibles en dichos soportes comerciales. Algunos ejemplos de resinas activadas disponibles en el mercado son la resina de acoplamiento CarboLink, resina de epóxido Profinity™, Affi-Gel 10 y 15, Sepharose™ 6B activada con epoxi, agarosa activada con cloruro de tresilo y polímeros de metacrilato Purolite® de Lifetech™ funcionalizados con grupos epoxi.

De acuerdo con una realización de la invención, el material de soporte debe ser poroso, en donde el tamaño de los poros oscila entre 10 y 200 nm. De acuerdo con otra realización de la invención, el soporte adopta la forma de perlas. De acuerdo con otra realización más, el soporte de acuerdo con la invención comprende perlas magnéticas. Las perlas magnéticas se preparan atrapando magnetita en agarosa u otro material polimérico, en el que se inmoviliza la enzima de acuerdo con la invención.

De acuerdo con otra realización de la presente invención, el soporte es una membrana. Las membranas como componentes de las matrices de afinidad se han utilizado en la purificación de proteínas, debido a su simplicidad, facilidad de manejo, superficie reducida y menores limitaciones de difusión en comparación con los geles, resinas y perlas. Las membranas pueden adoptar la forma física de una fibra hueca o, como alternativa, de una membrana de lámina plana. De acuerdo con una realización, el soporte comprende un dializador de membrana de fibra hueca para hemodiálisis, en donde el filtro es un hemodializador.

Las membranas de fibra hueca o de lámina plana para su uso como soportes en un dispositivo de acuerdo con la invención pueden estar compuestas de celulosa, éster de celulosa (acetato de celulosa y triacetato de celulosa), poli(metilmetacrilato) (PMMA), poliamida (PA), otros polímeros que contienen nitrógeno (polibenzimidazol, poliácilonitrilo (PAN), poliglicidil metacrilato (PGMA), polivinilpirrolidona (PVP), polisulfona (PS), polietersulfona (PES) o poliariletersulfona (PAES). Una membrana de fibra hueca que puede utilizarse ventajosamente para proporcionar un dispositivo de acuerdo con la invención tiene preferentemente un diámetro interior del orden de 100 a 500 µm. De acuerdo con otra realización de la invención, específicamente cuando el soporte de membrana es una membrana de hemodiálisis como la descrita anteriormente, las membranas de fibra hueca se funcionalizan adicional o alternativamente con una enzima de acuerdo con la invención en el lado del lumen de las fibras donde pueden interactuar directamente con el metabolito diana en la sangre o plasma sanguíneo que perfunde el lumen de la membrana de fibra hueca. La enzima puede también o alternativamente estar inmovilizada en el exterior de la membrana.

Métodos de tratamiento sanguíneo extracorpóreo:

La invención incluye dispositivos que están configurados para ubicarse en un circuito sanguíneo extracorpóreo a través del cual pasa la sangre de un paciente y que comprende medios para transportar sangre desde el sistema vascular del paciente hasta un dispositivo de tratamiento sanguíneo a un caudal definido y luego devolver la sangre tratada al paciente, y en donde el dispositivo está configurado además para reducir los niveles de ADMA y/o MMA en la sangre.

De acuerdo con la invención, la expresión "purificación extracorpórea de la sangre" se refiere preferentemente al proceso de eliminación de sustancias de los fluidos corporales mediante su eliminación de la sangre que fluye en un circuito desviado fuera del cuerpo del paciente (extracorpóreo). Dichas sustancias pueden incluir toxinas endógenas (es decir, toxinas urémicas), venenos exógenos (es decir, etilenglicol o toxina fúngica), fármacos administrados, virus, bacterias, anticuerpos, metabolitos y proteínas (es decir, IMHA, miastenia grave), células anormales (es decir, leucemia) y el exceso de agua. Los procedimientos terapéuticos incluyen la hemodiálisis, incluida la hemodiálisis intermitente (HD, HDF, HF) y terapia renal sustitutiva continua (CRRT); hemoperfusión; recambio plasmático y aféresis terapéutica. Tales métodos son conocidos por un experto y el dispositivo de la invención puede incorporarse en consecuencia.

La expresión "sangre", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a la sangre total que contiene todos los componentes de la sangre de un organismo, incluidos los glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas suspendidos en plasma. La expresión "plasma sanguíneo" se refiere a este fluido, compuesto por aproximadamente un 92 % de agua, 7 % de proteínas tales como albúmina, gammaglobulina, fibrinógeno, factores complementarios, factores de coagulación y un 1 % de sales minerales, azúcares, grasas, electrolitos, hormonas y vitaminas que forma parte de la sangre total pero ya no contiene glóbulos rojos y blancos ni plaquetas. En el contexto de la presente invención, la expresión "plasma sanguíneo" o "plasma" se refiere a fracciones específicas del plasma sanguíneo anteriormente definido en su acepción estándar, tal como, por ejemplo, suero sanguíneo.

De acuerdo con un aspecto, los caudales sanguíneos en un circuito extracorpóreo de purificación de la sangre se sitúan entre 20 ml y 700 ml/min. Los caudales típicos de dializado en un circuito extracorpóreo que comprende un hemodializador para el tratamiento de la insuficiencia renal, ya sea además del dispositivo de tratamiento sanguíneo de acuerdo con la invención o en los casos en que el hemodializador además esté configurado para metabolizar ADMA y/o MMA, en el intervalo entre 0,5 l/h y 800 ml/min.

En la aféresis terapéutica se puede tratar la sangre entera o separarla en las fracciones que la componen, por ejemplo, por centrifugación o mediante una membrana plasmática o un filtro, y la fracción que contiene el soluto que se eliminará, se trata específicamente antes de devolverlo al paciente.

La presente invención prevé un tratamiento de aféresis en el que se extrae sangre total o plasma (que contiene las proteínas diana) de la sangre corriente del paciente y, después de haber estado en contacto con un dispositivo o matriz de acuerdo con la invención se devuelve al paciente. Los caudales típicos de sangre o plasma en un circuito extracorpóreo en donde el dispositivo de tratamiento sanguíneo se perfunde con sangre total o plasma se sitúan entre 30 ml/min y 200 ml/min, o 7 ml/min y 50 ml/min respectivamente.

De acuerdo con un aspecto, el circuito sanguíneo extracorpóreo de acuerdo con la invención está configurado para realizar hemodiálisis. En este caso, el dispositivo de acuerdo con la invención es, por ejemplo, un hemodializador que adicionalmente ha sido configurado para inmovilizar una proteína diana de acuerdo con la invención. El circuito puede funcionar en distintos modos de tratamiento en función de las necesidades médicas, entre los que se incluyen el modo de hemodiálisis, hemodiafiltración, hemofiltración.

Figuras

La invención se describe, así mismo, mediante las siguientes figuras. Se pretende representar una ilustración más detallada de una serie de realizaciones preferidas no limitantes o aspectos de la invención sin limitar el alcance de la invención descrita en el presente documento.

Figura 1: Esquema de una realización preferida de la invención.

Se extrae sangre del paciente a través de un acceso venoso, se anticoagula y se separa en sus componentes líquidos y celulares mediante una centrifugadora o un filtro. El plasma separado se perfunde a través de una columna de eliminación de ADMA, como se describe en el presente documento, que contiene moléculas de DDAH1, DDAH2 y/o AGXT2 activas (en la figura se muestra la DDAH1 preferida), unidas en la matriz de la columna (preferentemente gel de agarosa) que da lugar al metabolismo de ADMA y MMA, preferentemente a través del catabolismo de ADMA a L-citrulina. El plasma agotado se reúne con los componentes celulares de la sangre y se devuelve al paciente a través de la línea de retorno sanguíneo.

Ejemplos

La invención se describe, así mismo, mediante los siguientes ejemplos. Estos pretenden presentar apoyo a la viabilidad de una serie de realizaciones preferidas no limitantes o aspectos de la invención sin limitar el alcance de la invención descrita en el presente documento.

Ejemplo 1: Ensayo *in vitro*

La proteína recombinante DDAH-1 y/o-2 se acopla a perlas de agarosa. La actividad de la enzima DDAH inmovilizada para el catabolismo de ADMA y MMA se prueba incubando plasma humano con las microesferas DDAH *in vitro* durante periodos de tiempo variables y midiendo posteriormente la concentración de L-citrulina como producto de la degradación hidrolítica de ADMA y/o MMA por DDAH. Las mediciones de L-citrulina a partir de muestras de plasma se realizan utilizando kits adecuados disponibles en el mercado (por ejemplo, kits ELISA de L-citrulina, ALPCO 30-6600, ensayos colormétricos, Immundiagnostik AG K6600).

Los experimentos iniciales demuestran una elevada actividad de DDAH *in vitro* tras el acoplamiento a perlas de agarosa. Este resultado representa un cuadro previo importante para el desarrollo de una columna con una enzima inmovilizada para la eliminación extracorpórea de ADMA y/o MMA.

Ejemplo 2: Producción de la columna de ADMA

Para el agotamiento de ADMA, DDAH-1 y/o-2 recombinante se acopla a una resina de agarosa siguiendo un protocolo establecido. Primero, se lava y equilibra la resina. La solución de acoplamiento que contiene la proteína DDAH se añade a la agarosa equilibrada. La mezcla se agita suavemente durante varias horas. Después del acoplamiento, la resina se lava varias veces y se resuspende en solución salina tamponada con fosfato (PBS). Para probar la resina, la resina se introduce en columnas de plástico disponibles en el mercado.

Ejemplo 3: Modelo animal

Los experimentos en columna de ADMA para mostrar la actividad de la proteína DDAH tras el acoplamiento de resina utilizando muestras de plasma se llevan a cabo utilizando modelos mini porcinos apropiados con infarto de miocardio inducido. En la técnica existen modelos adecuados (por ejemplo, Schuleri *et al.*, Comp Med. diciembre 2008;58(6):568-79. Mizuno *et al.*, Eur J Pharmacol. 2018 834:103-108), Hirano *et al.*, Translational Medicine Communications 2017 2:1). El tamaño de la cicatriz y el rendimiento cardíaco antes, inmediatamente y en 24 horas tras el inicio del infarto se miden. Las mediciones se llevan a cabo en muestras de plasma obtenidas de múltiples minicerditos con infarto de miocardio inducido con o sin tratamiento mediante columnas de DDAH.

Ejemplo 4: Ensayos clínicos

Los primeros ensayos están previstos en pacientes con infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST (IAMCEST), que tengan una hemodinámica estable y no presenten arritmias en la unidad de cuidados intensivos. Se utilizará el sistema de aféresis terapéutica disponible en el mercado (ADAsorb®). Se tratarán entre 3000-6000 ml de plasma con una columna de ADMA a través de un acceso venoso periférico. Depende del valor de reducción de ADMA, las sesiones de aféresis se realizarán de 1 a 3 veces en las primeras 72 horas tras el ingreso del paciente, teniendo en cuenta todos los procedimientos convencionales (PTA, endoprótesis vascular, etc.). Las mediciones de laboratorio de los marcadores de daño miocárdico, la electrocardiografía y la ecocardiografía se realizarán de acuerdo con las directrices convencionales. El tamaño de la cicatriz se determinará mediante resonancia magnética utilizando técnicas establecidas en las primeras 6 horas y en los dos días siguientes al ingreso del paciente en el hospital. En los pacientes de control se realizará una aféresis simulada.

Referencias:

1. Boger RH. Asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, explains the "l-arginine paradox" and acts as a novel cardiovascular risk factor. *J Nutr.* 2004;134:2842S-2847S; sección 2853S
2. Leiper J, Nandi M, Torondel B, Murray-Rust J, Malaki M, O'Hara B, Rossiter S, Anthony S, Madhani M, Selwood D, Smith C, Wojciak-Stothard B, Rudiger A, Stidwill R, McDonald NQ, Vallance P. Disruption of methylarginine metabolism impairs vascular homeostasis. *Nature medicine.* 2007;13:198-203
3. Hu X, Atzler D, Xu X, Zhang P, Guo H, Lu Z, Fassett J, Schwedhelm E, Boger RH, Bache RJ, Chen Y. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1 is the critical enzyme for degrading the cardiovascular risk factor asymmetrical dimethylarginine. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* 2011;31:1540-1546
4. Dayoub H, Rodionov RN, Lynch C, Cooke JP, Arning E, Bottiglieri T, Lentz SR, Faraci FM. Overexpression of dimethylarginine dimethylaminohydrolase inhibits asymmetric dimethylarginine-induced endothelial dysfunction in the cerebral circulation. *Stroke.* 2008;39:180-184
5. Jacobi J, Sydow K, von Degenfeld G, Zhang Y, Dayoub H, Wang B, Patterson AJ, Kimoto M, Blau HM, Cooke JP. Overexpression of dimethylarginine dimethylaminohydrolase reduces tissue asymmetric dimethylarginine levels and enhances angiogenesis. *Circulation.* 2005;111:1431-1438
6. Sydow K, Mondon CE, Schrader J, Konishi H, Cooke JP. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase overexpression enhances insulin sensitivity. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* 2008;28:692-697
7. Stuhlinger MC, Conci E, Haubner BJ, Stocker EM, Schwaighofer J, Cooke JP, Tsao PS, Pachinger O, Metzler B. Asymmetric dimethyl l-arginine (adma) is a critical regulator of myocardial reperfusion injury. *Cardiovascular research.* 2007;75:417-425
8. Nakayama Y, Ueda S, Yamagishi S, Obara N, Taguchi K, Ando R, Kaida Y, Iwatani R, Kaifu K, Yokoro M, Toyonaga M, Kusumoto T, Fukami K, Okuda S. Asymmetric dimethylarginine accumulates in the kidney during ischemia/reperfusion injury. *Kidney international.* 2014;85:570-578
9. Jacobi J, Maas R, Cardounel AJ, Arend M, Pope AJ, Cordasic N, Heusinger-Ribeiro J, Atzler D, Strobel J, Schwedhelm E, Boger RH, Hilgers KF. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase overexpression ameliorates atherosclerosis in apolipoprotein e-deficient mice by lowering asymmetric dimethylarginine. *The American journal of pathology.* 2010;176:2559-2570
10. Rodionov RN, Dayoub H, Lynch CM, Wilson KM, Stevens JW, Murry DJ, Kimoto M, Arning E, Bottiglieri T, Cooke JP, Baumbach GL, Faraci FM, Lentz SR. Overexpression of dimethylarginine dimethylaminohydrolase protects against cerebral vascular effects of hyperhomocysteinemia. *Circulation research.* 2010;106:551-558
11. Sydow K, Schmitz C, von Leitner EC, von Leitner R, Klink A, Atzler D, Krebs C, Wieboldt H, Ehmke H, Schwedhelm E, Meinertz T, Blankenberg S, Boger RH, Magnus T, Baldus S, Wenzel U. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase is an organ-specific mediator of end organ damage in a murine model of hypertension. *PLoS One.* 2012;7:e48150
12. Kinan Rifai, Stefanie M. Bode-Boeger, Jens Martens-Lobenhoffer, Thomas Ernst, Ulrich Kretschmer, Carsten Hafer, Danilo Fliser, Michael Peter Manns & Jan T. Kielstein, Removal of asymmetric dimethylarginine during artificial liver support using fractionated plasma separation and adsorption. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2010; Early Online, 1-6
13. Ding H, Wu B, Wang H, Lu Z, Yan J, Wang X, Shaffer JR, Hui R, Wang DW. A novel loss-of-function DDAH1 promoter polymorphism is associated with increased susceptibility to thrombotic stroke and coronary heart disease.

Circ Res. 2010;106:1145-1152.

14. Leiper JM, Santa Maria J, Chubb A, MacAllister RJ, Charles IG, Whitley GS, Vallance P. Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deiminases. *Biochem J.* 1999;343:209-214.

15. Rodionov R.N., Murry D.J., Vaulman S.F., Stevens J.W., Lentz S.R. Human alanine-glyoxylate aminotransferase 2 lowers asymmetric dimethylarginine and protects from inhibition of nitric oxide production. *J. Biol. Chem.* 285:5385-5391(2010)

16. Caplin B., Wang Z., Slaviero A., Tomlinson J., Dowsett L., Delahaye M., Salama A., Wheeler D.C., Leiper J. Alanine-Glyoxylate aminotransferase-2 metabolizes endogenous methylarginines, regulates NO, and controls blood pressure. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 32:2892-2900(2012)

17. Schwedhelm E, Maas R, Tan-Andresen J, Schulze F, Riederer U, Böger RH. High-throughput liquid chromatographic-tandem mass spectrometric determination of arginine and dimethylated arginine derivatives in human and mouse plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007;851:211-219.

18. Maas R, Tan-Andresen J, Schwedhelm E, Schulze F, Böger RH. A stable-isotope based technique for the determination of dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) activity in mouse tissue. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007;851:220-228.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo de tratamiento sanguíneo configurado para reducir la cantidad de dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o monometilarginina (MMA) en la sangre o plasma sanguíneo de una persona que lo necesite en un circuito sanguíneo extracorpóreo, en donde el dispositivo comprende una matriz, y en donde dicha matriz comprende dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH) y/o alanina-glioxilato aminotransferasa 2 (AGXT2).
2. Un dispositivo de tratamiento sanguíneo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde:
 - a. la dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH) está inmovilizada a la matriz y configurada para hidrolizar dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o monometilarginina (MMA) por catabolismo de ADMA y/o MMA a L-citrulina en sangre o plasma sanguíneo, y/o
 - b. la alanina-glioxilato aminotransferasa 2 (AGXT2) está inmovilizada en la matriz y configurada para metabolizar la dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o la monometilarginina (MMA) mediante transaminación a ácido alfa-ceto-delta-(NN-dimetilguanidino) valérico (ADGV) y ácido alfa-ceto-delta-(N-monometilguanidino) valérico (MGV), respectivamente, en sangre o plasma sanguíneo.
3. Un dispositivo de tratamiento sanguíneo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH) comprende o consiste en la isoforma 1 (DDAH1) y/o la isoforma 2 (DDAH2).
4. Un dispositivo de tratamiento sanguíneo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la matriz comprende un soporte al que está unida la dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH) y/o la alanina-glioxilato aminotransferasa 2 (AGXT2), en donde el soporte comprende o consiste en un material seleccionado del grupo que consiste en una resina, perla, estera de fibra, material no tejido, espuma porosa y membrana, tal como una membrana tubular de fibra hueca o lámina plana.
5. Un dispositivo de tratamiento sanguíneo de acuerdo con la reivindicación anterior, en donde el soporte y/o la matriz comprenden o consisten en al menos un polímero, preferentemente seleccionado del grupo que consiste en alginato, quitosano, quitina, colágeno, carragenina, gelatina, almidón, pectina, celulosa, agarosa, dextrosa y sefarosa; un material inorgánico, preferentemente seleccionado del grupo que consiste en cerámica, celita, sílice, vidrio, carbón activado y carbón vegetal; o un polímero sintético.
6. Un dispositivo de tratamiento sanguíneo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH) y/o la alanina-glioxilato aminotransferasa 2 (AGXT2) está unida covalentemente a la matriz, tal como, por ejemplo, mediante reticulación, o se une de manera no covalente a la matriz, por ejemplo, mediante interacciones iónicas o una etiqueta de afinidad.
7. Un dispositivo de tratamiento sanguíneo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el dispositivo de tratamiento sanguíneo está ubicado en un circuito sanguíneo extracorpóreo por el que pasa la sangre del paciente, en donde dicho circuito comprende medios para transportar sangre desde el sistema vascular del paciente hasta el dispositivo de tratamiento sanguíneo a un caudal definido y para devolver la sangre tratada al paciente.
8. Un dispositivo de tratamiento sanguíneo de acuerdo con la reivindicación anterior, en donde el circuito sanguíneo extracorpóreo en el que se sitúa el dispositivo de tratamiento sanguíneo comprende además un separador de plasma, como un filtro de plasma o un sistema de separación de plasma basado en una centrifugadora o una combinación de los mismos (por ejemplo, un separador de disco), que permite separar el plasma de la sangre, y en donde el dispositivo de tratamiento sanguíneo está ubicado aguas abajo de una salida de plasma del separador de plasma.
9. Un dispositivo de tratamiento sanguíneo de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el circuito sanguíneo extracorpóreo en el que se sitúa el dispositivo de tratamiento sanguíneo comprende además un hemofiltro para la diálisis de la sangre que se sitúa aguas arriba o aguas abajo del dispositivo de tratamiento sanguíneo, o en donde el dispositivo de tratamiento sanguíneo es un hemofiltro para la diálisis de la sangre.
10. Un aparato de tratamiento sanguíneo de acuerdo con las reivindicaciones 7 o 9, en donde el dispositivo de tratamiento sanguíneo es una columna y se perfunde con sangre total.
11. Un circuito sanguíneo extracorpóreo que comprende un dispositivo de tratamiento sanguíneo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el circuito sanguíneo extracorpóreo comprende medios para transportar sangre o plasma sanguíneo desde el sistema vascular del paciente hasta el dispositivo de tratamiento sanguíneo a un caudal definido y medios para devolver la sangre o el plasma sanguíneo tratado al paciente.
12. Un dispositivo de tratamiento sanguíneo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso como medicamento en el tratamiento y/o la prevención de:

- a. un cuadro clínico asociado con niveles elevados de dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o monometilarginina (MMA) en la sangre o el plasma sanguíneo de un sujeto, en comparación con controles sanos, y/o
- b. un cuadro clínico asociado con una producción y/o una biodisponibilidad de óxido nítrico (NO) deficiente en comparación con controles sanos.

5 13. El dispositivo de tratamiento sanguíneo para su uso como medicamento de acuerdo con la reivindicación 12, en donde el cuadro clínico es:

- 10 a. una enfermedad vascular y/o cardíaca, preferentemente seleccionada del grupo formado por enfermedad arterial coronaria, enfermedad auricular periférica, enfermedad arterial cerebral, insuficiencia cardíaca, dislipidemias, hipertensión arterial, hipertensión pulmonar, eclampsia, úlcera digital, disfunción eréctil, migrañas, lesiones vasculares traumáticas, vasculopatías de trasplantes, lesiones microvasculares, remodelación miocárdica y remodelación vascular, lesiones por isquemia-reperfusión y/o enfermedades vasoespásticas.
- 15 b. complicaciones vasculares y cardíacas de enfermedades metabólicas, tales como diabetes mellitus, dislipidemias, hiperhomocisteinemia y/o hiperuricemia
- c. una enfermedad hepática y/o renal

20 14. Una enzima que metaboliza la dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o la monometilarginina (MMA), seleccionada entre dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH) y/o alanina-glioxilato aminotransferasa 2 (AGXT2), para su uso como medicamento en el tratamiento y/o la prevención de un cuadro clínico asociado con niveles elevados de dimetilarginina asimétrica (ADMA) y/o monometilarginina (MMA) en la sangre o el plasma sanguíneo de un sujeto, en comparación con controles sanos, en donde dicha enzima se inmoviliza en una matriz de un dispositivo de tratamiento sanguíneo.

Fig. 1

