

(11) Número de Publicação: **PT 1534359 E**

(51) Classificação Internacional:  
**A61M 1/34** (2007.10) **A61M 1/16** (2007.10)

**(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2003.05.12**

(30) Prioridade(s): **2002.05.14 EP 02010185**

(43) Data de publicação do pedido: **2005.06.01**

(45) Data e BPI da concessão: **2009.04.29**  
**120/2009**

(73) Titular(es):

**HEPA WASH GMBH**  
**BOLTZMANNSTRASSE 11A 85748 GARCHING**  
**DE**

(72) Inventor(es):

**BERNHARD KREYMANN** **DE**

(74) Mandatário:

**ELSA MARIA MARTINS BARREIROS AMARAL CANHÃO**  
**RUA DO PATROCÍNIO 94 1399-019 LISBOA** **PT**

(54) Epígrafe: **DISPOSITIVO PARA A EXTRACÇÃO DE SUBSTÂNCIAS LIGADAS A PROTEÍNAS**

(57) Resumo:

## DESCRIÇÃO

### "DISPOSITIVO PARA A EXTRACÇÃO DE SUBSTÂNCIAS LIGADAS A PROTEÍNAS"

A presente invenção refere-se a um dispositivo para a extracção de substâncias ligadas a proteínas, a partir de um fluido biológico, em especial sangue ou plasma sanguíneo, que contém pelo menos um meio para a alteração da proporção de concentração do complexo toxina-proteína, em relação à toxina livre e à proteína livre no fluido biológico e, opcionalmente, no fluido de diálise. O conceito da toxina é tomado aqui de forma muito ampla e refere-se, de resto, a todas as substâncias ligadas a proteínas, que habitualmente não são designadas directamente como toxinas, como medicamentos, electrólitos, hormonas, gorduras, vitaminas, gases e produtos de decomposição metabólica, como a bilirrubina.

Numa série de doenças, às quais pertencem, em especial, a insuficiência renal aguda ou crónica, a insuficiência hepática aguda ou crónica ou intoxicações exógenas, têm de ser extraídas do sangue substâncias patogénicas que estão dissolvidas na água do plasma ou estão ligadas a proteínas. Por meio dos processos convencionais da hemodiálise, hemofiltração ou hemodiafiltração, as substâncias ligadas a proteínas podem ser eliminadas apenas em escala reduzida.

A eliminação deficiente de substâncias ligadas a proteínas desempenha actualmente apenas um papel secundário para a substituição da função renal. A esperança de vida de doentes com insuficiência renal aguda ou crónica pode ser normalizada

através de uma terapia de substituição do rim (com recuperação da função do órgão, em caso de insuficiência renal aguda) ou, pelo menos, ser prolongada durante anos (no caso de doentes que continuam a necessitar de uma terapia de substituição do rim).

Isto é completamente diferente no caso de insuficiência hepática aguda ou de um agravamento agudo de uma insuficiência hepática crónica. Aqui não se encontram actualmente à disposição métodos comparáveis à terapia de substituição do rim.

A função do fígado pode ser dividida, no essencial, em duas funções principais:

- a síntese de proteínas essenciais à vida e
- a eliminação de toxinas ligadas principalmente a proteínas.

Para uma substituição da função de síntese encontra-se actualmente à disposição, em princípio, apenas a transplantação do fígado. São conhecidas, de facto, células que assumem, pelo menos parcialmente, a função de síntese de células hepáticas normais, os chamados biorreactores, no entanto, estes actualmente podem ser utilizados apenas experimentalmente e não apresentam qualquer função suficiente. Em cerca de 20% dos doentes com insuficiência hepática aguda são realizadas transplantações do fígado, já que não existe qualquer processo adequado para assumir a função de desintoxicação e, por conseguinte, o tempo até à recuperação da função do fígado não pode ser superado.

As substâncias ligadas a proteínas podem ter um papel importante na patogénese da encefalopatia hepática, do prurido hepático e da síndrome hepato-renal. A estas substâncias patogénicas que estão ligadas predominantemente à albumina,

pertencem, em especial, compostos aromáticos como derivados fenólicos, derivados de indol, derivados de furano ou aminoácidos aromáticos, bilirrubina, ácidos carbólicos C<sub>4</sub> - C<sub>7</sub>, mercaptano, substâncias semelhantes à digitoxina e benzodiazepina, bem como catiões de metais, como catiões de cobre, catiões de alumínio ou catiões de ferro. A encefalopatia hepática representa, neste caso, uma das doenças mais importantes, uma vez que pode apresentar risco para a vida e/ou pode deixar lesões duradouras.

Para substituir a função de desintoxicação do fígado existem múltiplas aplicações, desde os anos setenta, que se orientam, na maior parte, pela técnica da diálise:

#### 1. Hemodiálise, hemofiltração ou hemodiafiltração

Estes processos convencionais são aplicados actualmente em muitos doentes com insuficiência hepática, uma vez que, no último estágio da doença hepática, na maioria dos casos, surge uma síndrome hepato-renal que leva também à insuficiência renal que obriga à hemodiálise. Através de utilização destes processos, no entanto, não é obtida qualquer desintoxicação suficiente de substâncias ligadas a proteínas, mas antes, no essencial, é realizada apenas a eliminação de substâncias solúveis na água, com peso molecular baixo ou médio.

#### 2. Hemoperfusão

Neste processo o sangue ou plasma é conduzido através de um adsorvente (carvão e/ou permutador de catiões ou aniões), para extrair as toxinas ligadas a proteínas (O'Grady JG, Gimson AE, O'Brien CJ, Pucknell A, Hughes RD, Williams R: "*Controlled*

*trials of charcoal hemoperfusion and prognostic factors in fulminant hepatic failure*". Gastroenterology 94:1186-1192, 1988). Este método contém a desvantagem de não ser específico e de, por conseguinte, serem também extraídas do sangue ou do plasma matérias importantes para a vida.

### 3. Albumina como adsorvente, com dois processos diferentes

#### A. Sistema MARS (*Molecular Adsorbents Recirculating System*)

No sistema MARS descrito no documento EP 0615780 é utilizada uma membrana especial de diálise, revestida com albumina. O fluido dialisado a recircular contendo albumina é conduzido através de 2 colunas adsorventes (carvão e resina), para eliminar as toxinas ligadas à albumina, extraídas ao doente através de diálise e preparar para toxinas os pontos de ligação da albumina no dialisado (Stange J, Hassaneln TI, Mehta R, Mitzner SR, Bartlett RH: *"The molecular adsorbents recycling system as a liver support system based on albumin dialysis: a summary of preclinical investigations, prospective, randomized, controlled clinical trial, and clinical experience from 19 centers"*. Artif. Organs 26:103-110, 2002).

#### B. Albuminodiálise

A albuminodiálise é um processo aparentado com a hemodiálise contínua. Uma característica da terapia de substituição renal contínua é a utilização de fluxos de dialisado lentos (1-2 L/h, em comparação com 30 L/h na diálise normal). Em oposição à terapia clássica de substituição renal contínua, na albuminodiálise o dialisado é misturado com albumina, de modo que resulta uma solução a 5% (Kreymann B,

Seige M, Schweigart U, Kopp KF, Classen M: *"Albumin dialysis: effective removal of copper in a patient with fulminant Wilson disease and successful bridging to liver transplantation: a new possibility for the elimination of protein-bound toxins"*. J Hepatol 31:1080-1085, 1999). A utilização de albumina assenta no facto de esta representar a principal proteína de transporte para toxinas ligadas à albumina no sangue.

Aos sistemas acima descritos com base na albumina são comuns elevados custos de terapia, para utilização com grande número de doentes (os custos diários da terapia com o sistema MARS ou a albuminodiálise situam-se actualmente em cerca de 2500 euros). Para além disso, estes sistemas apresentam uma eficiência de desintoxicação pouco satisfatória: em média, apenas uma redução de cerca de 10-30% do nível de bilirrubina, como marcador de substâncias ligadas a proteínas. De facto, os processos de diálise que se baseiam na albumina conduzem a uma melhoria dos sintomas da encefalopatia hepática, no entanto, não é possível conseguir uma normalização dos valores, também em consequência dos elevados custos da terapia.

Por conseguinte, é objectivo da presente invenção colocar à disposição um dispositivo para a diálise, com o qual, num passo, possam ser extraídas de um fluido biológico, a par de outras substâncias indesejadas dialisáveis, substâncias ligadas a proteínas, de maneira simples e com custos favoráveis.

De acordo com a invenção, este objectivo é resolvido através de um dispositivo de acordo com a reivindicação 1.

A solução do objectivo de acordo com a invenção consiste em ser alterada, com um meio adequado, a proporção de concentração

do complexo toxina-proteína em relação à toxina livre e à proteína livre, a favor desta última, num circuito do fluido de diálise e, opcionalmente, num circuito do fluido biológico e, em seguida, ser extraída a toxina. Analogamente, pode tratar-se também de uma proporção de concentração de toxina adsorvida, em relação à toxina livre e ao adsorvente.

Esta solução apresenta a vantagem de as substâncias, uma vez que são levadas para a solução, poderem ser extraídas de maneira fácil e eficiente do fluido biológico.

O pedido US N°. 2002/0019603 A1 divulga um dispositivo extra-corporal para a extração de substâncias de fluidos corporais. O dispositivo compreende dois circuitos, um circuito dos fluidos corporais e um segundo circuito, que contém agentes quelatizantes para as substâncias a extrair e pode ser separado do circuito dos fluidos corporais através de uma membrana. Ao segundo circuito (contendo os agentes quelatizantes) pode ser ligado opcionalmente um sistema de regeneração para os agentes, de modo que em caso de pH fracamente ácido (por exemplo, pH 4) ocorre uma dissolução do complexo de quelatos e, por conseguinte, uma regeneração dos agentes quelatizantes.

No âmbito desta invenção entendem-se por substâncias dissolvidas ou toxina livre, quer moléculas individuais que se apresentam solvatizadas pelo solvente, quer também aquelas que estão ligadas a substâncias dialisáveis. As toxinas que se apresentam ligadas a substâncias dialisáveis podem igualmente ser dialisadas como complexo.

Assim é possível não só uma diálise rápida, o que traz consigo uma vantagem considerável nos custos, mas também pode

ser conseguida uma depuração especialmente abrangente do fluido biológico.

No caso da depuração de sangue ou plasma sanguíneo, isso conduz, para além disso, a um modo de tratamento favorável ao doente, que, no âmbito da medicina de emergência, com estados agudos de risco de vida, pode ter um significado decisivo para o sucesso do tratamento.

O meio para a alteração da proporção de concentração do complexo toxina-proteína em relação à toxina livre e à proteína livre compreende um dispositivo para o ajuste do valor do pH dos fluidos que podem ser utilizados, um dispositivo para o ajuste da temperatura dos fluidos que podem ser utilizados, um dispositivo para a adição de substituinte para a diluição ou alteração da composição (como, por exemplo, a salinidade) dos fluidos que podem ser utilizados, um dispositivo para a adição de compostos dialisáveis que se ligam às substâncias a extrair e um dispositivo para a irradiação dos fluidos que podem ser utilizados, por meio de ondas. No âmbito da presente invenção, os diferentes dispositivos podem ser combinados uns com os outros como se quiser. De acordo com a invenção, é utilizado um dispositivo para o ajuste do valor do pH do fluido de diálise para  $\text{pH} = 8-13$ . Podem também ser utilizados pelo menos um dispositivo para o ajuste do valor do pH e pelo menos um dispositivo para o ajuste da temperatura num sistema de circuito.

Uma vantagem da presente invenção reside no facto de, com meios simples, ou seja, dispositivos convencionais para a adição de soluções de ácidos, bases e, opcionalmente, substituinte ou substâncias dialisáveis ou aparelhos convencionais de aquecimento, refrigeração ou ultra-sons ou outros geradores de

ondas luminosas, de infravermelhos, de ultravioletas ou electromagnéticas (seguidamente designadas por ondas), as substâncias a extrair poderem ser levadas para a solução, de uma maneira simples e com custos favoráveis, através de um enfraquecimento da ligação das substâncias ligadas às proteínas de transporte ou ao adsorvente. As substâncias dissolvidas (toxinas) podem ser dialisadas e, por conseguinte, extraídas de uma maneira simples.

Foi constatado, nomeadamente, que a afinidade de ligação de proteínas de transporte, como a albumina ou adsorventes, em relação a toxinas pode ser reduzida selectivamente através de algumas medidas, o que leva a que seja aumentada a concentração das toxinas livres na solução. As substâncias ligadas a proteínas no fluido biológico ou no fluido de diálise encontram-se, nomeadamente, equilibradas com uma quantidade reduzida de substâncias não ligadas. Através de redução da afinidade de ligação pode ser aumentada a concentração das substâncias não ligadas dialisáveis, sendo que as substâncias livres vão para a solução.

A essas medidas pertencem a elevação da temperatura do fluido, que contém toxinas ligadas, alteração do valor do pH (gama ácida ou básica), uma irradiação com ondas, diluição do fluido, alteração da salinidade e a alimentação de substâncias dialisáveis, que se ligam às toxinas. Esta última, conduz à formação de complexos dialisáveis.

Quando no circuito do fluido de diálise está previsto pelo menos um meio para a alteração da proporção de concentração do complexo toxina-proteína, em relação à toxina livre e à proteína livre, nomeadamente, pelo menos um dispositivo para o ajuste do

valor do pH do fluido de diálise, para pH = 8-13, então o fluido de diálise que pode ser utilizado no dispositivo deveria conter um adsorvente para as substâncias a extrair do fluido biológico. Uma pequena parte das toxinas que se ligam a proteínas no fluido biológico existe livre na solução e esta pode difundir-se no dialisador, através da membrana semipermeável e ligar-se aos locais de ligação livres do adsorvente, no fluido de diálise. Em seguida é reduzida a afinidade de ligação entre o adsorvente e a toxina, pelo menos temporariamente, através de um meio para a alteração da proporção de concentração do complexo toxina-proteína, em relação à toxina livre e à proteína livre, nomeadamente, pelo menos um dispositivo para o ajuste do valor do pH do fluido de diálise, para pH = 8-13, pelo que as substâncias a extrair chegam à solução e através de diálise (difusão) ou filtração (convecção) ou uma combinação de ambos os processos, denominada seguidamente diafiltração, podem ser extraídas do circuito de diálise.

De acordo com a invenção, a separação do adsorvente e da toxina livre é possível também através de centrifugação, como é utilizada, por exemplo, na separação de plasma para a realização de uma plasmaférese. A centrifugação representa assim, no âmbito desta invenção, um método de separação alternativo à diálise (como método de separação).

Também no circuito do fluido biológico, que contém substâncias a extrair ligadas a uma proteína de transporte, pode estar previsto pelo menos um meio de acordo com a invenção para a alteração da proporção de concentração do complexo toxina-proteína, em relação à toxina livre e à proteína livre. Assim, por exemplo, o ajuste de uma temperatura elevada faz baixar a afinidade de ligação da proteína de transporte e as substâncias

passam para a solução. Deste modo as substâncias livres diluídas podem ser dialisadas.

Quer o circuito do fluido biológico, quer também o circuito do fluido de diálise pode conter pelo menos um meio para a alteração da proporção de concentração do complexo toxina-proteína, em relação à toxina livre e à proteína livre. Assim, o circuito do fluido de diálise contém pelo menos um dispositivo para o ajuste do valor do pH do fluido de diálise, para pH = 8-13.

Uma vantagem da invenção consiste em poderem ser extraídas substâncias com comportamento de ligação diferente, através dos diversos meios à disposição, em especial quando são combinadas medidas diversas umas com as outras.

O dispositivo para o ajuste do valor do pH dos fluidos representa um meio especialmente eficiente e de custos favoráveis. Através de ajuste do valor do pH dos fluidos na gama básica e, eventualmente, também ácida, a ligação de substâncias diferentes às proteínas de transporte ou adsorventes pode ser influenciada selectivamente. Assim, através de adição de um ácido pode ser baixado o valor do pH do fluido, pelo que a ligação de certas toxinas a proteínas é reduzida na gama ácida e, por conseguinte, é aumentada a concentração de toxinas livres no fluido.

Por exemplo, a ligação de iões de cobre à albumina pode ser enfraquecida de tal maneira que os iões de cobre livres dissolvidos podem ser eliminados no filtro que se segue, através de diálise, filtração, diafiltração ou centrifugação. Analogamente, o valor do pH do fluido pode ser ajustado na gama

básica, para, em seguida, eliminar do fluido as toxinas libertadas na gama alcalina, através de diálise, filtração ou diafiltração.

De acordo com a invenção, através de adição de uma base pode ser enfraquecida a ligação de certas toxinas a proteínas e, por conseguinte, ser aumentada a concentração de toxina livre no fluido de diálise. De acordo com a invenção, é utilizada aqui uma gama de pH de 8-13.

Após extracção das toxinas com meios da diálise, filtração, diafiltração ou centrifugação do fluido, o valor do pH é ajustado, eventualmente, para um outro valor vantajoso.

Isto pode representar uma vantagem, em especial, quando se trabalha com um adsorvente, por exemplo, albumina. Um outro valor vantajoso de pH é então escolhido de modo que a afinidade do adsorvente em relação à toxina seja aumentada novamente. Isto torna possível a reciclagem do adsorvente e, por conseguinte, uma vantagem decisiva nos custos.

Um sistema de circuito (para fluido de diálise ou para fluido biológico a depurar) pode conter dois dispositivos para o ajuste do valor do pH, de um modo muito especialmente preferido três dispositivos para o ajuste do valor do pH, para com o primeiro dispositivo ajustar o valor do pH na gama ácida ou básica, com o segundo na gama básica ou ácida e, com o terceiro dispositivo, ajustar o valor do pH novamente na gama original (em regra neutra). Além disso, um sistema de circuito (para fluido de diálise ou para fluido biológico a depurar) pode conter dois dispositivos para o ajuste da temperatura, de modo que o fluido utilizado seja, por exemplo, aquecido e, em seguida, através de

refrigeração, possa ser colocado novamente à temperatura anterior ou à temperatura respectivamente desejada. Um sistema de circuito pode também conter três dispositivos para o ajuste do valor do pH e dois dispositivos para o ajuste da temperatura.

Uma outra vantagem da invenção consiste em, por meio dos dispositivos previstos no circuito do fluido de diálise e/ou no circuito do fluido biológico para a diálise, filtração ou diafiltração, as substâncias dialisáveis dissolvidas poderem ser extraídas fácil e eficientemente dos fluidos (fluido de diálise ou fluido biológico a depurar), após dissolução das proteínas de transporte ou adsorventes. Neste caso podem ser utilizados aparelhos de diálise convencionais, como são conhecidos do especialista. Adicionalmente são utilizados, de um modo preferido, dispositivos para a alteração dos valores do pH/ temperatura e dispositivos para o correspondente controlo dessas alterações. De um modo vantajoso, no dispositivo de acordo com a invenção é ligado um dispositivo para a diálise, filtração, diafiltração ou centrifugação, atrás de um dispositivo para o ajuste do valor do pH/ temperatura do fluido a utilizar, para extrair directamente do fluido as substâncias livres dissolvidas. Especialmente vantajoso é um dispositivo no qual, no circuito do fluido de diálise e/ou no circuito do fluido biológico, estão previstos, em seguida, um dispositivo para a adição de ácido ou de base, um dispositivo para a diálise, diafiltração, filtração ou centrifugação, um dispositivo para a adição de base ou de ácido, um dispositivo para a diálise, filtração, diafiltração ou centrifugação e um dispositivo para a adição de ácido ou de base. Deste modo podem ser extraídas do fluido de diálise e do fluido biológico, muito eficientemente, diferentes substâncias ligadas a proteínas e o fluido de diálise depurado pode, por sua

vez, ser alimentado ao dialisador, para carregar o adsorvente, por sua vez, com substâncias ligadas a proteínas.

Entre os dispositivos para o ajuste do valor do pH incluem-se, em especial, dispositivos para a adição de ácido ou de base, como, por exemplo, bombas doseadoras. Como ácidos ou bases adequam-se soluções aquosas de ácidos ou bases biologicamente assimiláveis. Em geral, de um modo preferido, são utilizados ácidos ou bases cujas bases ou ácidos conjugados representam iões que surgem naturalmente no organismo humano. Por exemplo, como ácidos podem ser utilizados ácido clorídrico, ácido sulfúrico ou ácido acético, de um modo preferido ácido clorídrico. Como bases podem ser utilizadas, por exemplo, soda cáustica ou potassa cáustica, de um modo preferido soda cáustica. O fluido de diálise é ajustado através de adição de uma base, para um pH = 8-13. O fluido biológico ou de diálise pode também ser ajustado, por exemplo, através de adição de ácido, para um valor do pH entre 1 e 7, de um modo vantajoso entre 2,5 e 5 e através de adição de base, para um valor do pH entre 7 e 13 ou entre 8 e 13. O valor do pH respectivamente desejado ajusta-se, no essencial, de acordo com a natureza do fluido utilizado, a natureza da proteína e as características das substâncias a extrair. Por exemplo, a afinidade de ligação do cobre à albumina na gama de pH é reduzida significativamente em aproximadamente dois. Observado inversamente, isto significa que, com um valor do pH maior que aproximadamente 3 existe uma afinidade de ligação do cobre à albumina especialmente elevada. Além disso, foi observado, por exemplo, que a afinidade de ligação da bilirrubina à albumina é reduzida significativamente num valor do pH de aproximadamente 12.

Entre os dispositivos para o ajuste da temperatura incluem-se, em especial, dispositivos de aquecimento, como aparelhos de aquecimento normais, aparelhos de micro-ondas ou mesmo aparelhos de infravermelhos ou grupos frigoríficos convencionais, como dispositivo para a refrigeração. No circuito do fluido de diálise e/ou no circuito do fluido biológico podem estar situados, respectivamente, um ou vários dispositivos para aquecimento/refrigeração. Em especial através de aquecimento ou refrigeração dos fluidos que podem ser utilizados, as substâncias a extrair podem ser levadas para a solução, enquanto que, por meio de refrigeração ou aquecimento, o fluido biológico ou o fluido de diálise pode ser levado novamente para a temperatura desejada. O tipo e a extensão do gradiente de temperatura utilizado depende do tipo do fluido, do adsorvente, bem como da toxina a extrair. Por exemplo, é possível aquecer primeiro e, em seguida, arrefecer novamente. Também a operação inversa pode ser vantajosa. Do mesmo modo, pode ser vantajoso proceder ao aquecimento/refrigeração de modo gradual.

Uma outra vantagem da invenção consiste em a afinidade de ligação do adsorvente poder ser aumentada selectivamente, através de um dispositivo para refrigeração/aquecimento do fluido de diálise que pode ser utilizado, pelo que as substâncias livres dissolvidas, que estão difundidas no fluido de diálise, podem ser ligadas através de adsorventes reciclados.

A temperatura desejada dos fluidos a utilizar depende, no essencial, da sua natureza. Se for utilizado como fluido biológico sangue ou subprodutos do sangue, como plasma sanguíneo ou fracções do mesmo, então pode ser aquecido a uma temperatura até cerca de 150 °C (associado a uma elevação de pressão correspondente, como é utilizada, por exemplo, na esterilização

de leite a quente), de um modo preferido até 45 °C. Um aquecimento para além do âmbito fisiológico é, portanto, igualmente possível. Em caso de utilização do dispositivo de diálise de acordo com a invenção num circuito extra-corporal a um doente, a temperatura pode ser reduzida novamente para um valor de temperatura ideal para o doente, na gama de 35 a 37 °C, no caso de doentes com encefalopatia hepática, cerca de 35 °Celsius.

Se o dispositivo para o ajuste da temperatura for utilizado no circuito do fluido de diálise, a temperatura, consoante a adição, por exemplo, de vapor ou de um aumento da pressão ou de outros estabilizadores (conhecidos a partir do tratamento de albumina para a pasteurização) pode ser aumentada também para mais de 150 °C.

O aquecimento do fluido a utilizar no sistema de circuito pode ser realizado através de um aquecimento directo do sistema de tubos flexíveis cheios de fluido, por meio de um aparelho de aquecimento ou por meio de irradiação com micro-ondas ou infravermelhos. Em virtude da permuta térmica entre o fluido a depurar e o fluido de diálise no dialisador pode ser suficiente, por exemplo, incluir dispositivos para aquecimento apenas no circuito do fluido de diálise, sendo que, apesar disso, ocorre um aquecimento do fluido biológico. De acordo com uma outra forma de realização, pode ser ligado a jusante um dispositivo para aquecimento, mesmo antes da entrada no circuito do fluido de diálise ou no circuito do fluido biológico de um dispositivo para o ajuste do valor do pH ou de um dispositivo para a adição de substituinte. Neste caso o fluido de diálise e/ou o fluido a depurar são aquecidos através de adição de soluções aquecidas.

Como dispositivo para a irradiação por meio de ondas pode ser utilizado, por exemplo, um aparelho de ultra-sons. Outros dispositivos adequados são os adequados para a produção de ondas luminosas, ultravioletas, infravermelhos, ondas de rádio e micro-ondas.

Como meio para a alteração da proporção de concentração do complexo toxina-proteína, em relação à toxina livre e à proteína livre, adequa-se também um dispositivo para a adição de compostos dialisáveis, aos quais se ligam substâncias a extrair. Neste caso pode tratar-se de bombas doseadoras convencionais, que alimentam soluções aquosas dos compostos dialisáveis. As substâncias dialisáveis, que estão em parte ligadas a toxinas, podem ser extraídas de maneira simples, através dos dispositivos convencionais para a diálise ou diafiltração.

Como compostos aglutinantes podem ser utilizados compostos dialisáveis com peso molecular baixo/médio, que se distinguem através de uma forte afinidade em relação às substâncias a extrair. Aos compostos preferidos pertencem a cafeína, que se liga à bilirrubina e formadores de quelatos correntes, como penicilamina, trientina, deferoxamina, preferiprona, HBED, vitamina C, BAL, DMPS ou DMSA, que se ligam a catiões de metais, como, por exemplo, iões de cobre ou iões de ferro. Os compostos dialisáveis podem ser adicionados quer ao fluido biológico, quer também ao fluido de diálise, mas a adição verifica-se, de um modo preferido, no fluido de diálise, para evitar complicações através de possíveis impurezas do fluido biológico, em caso de extracção incompleta através de diálise.

Para além disso, no caso da utilização de dois meios para a alteração da proporção de concentração do complexo toxina-

proteína, em relação à toxina livre e à proteína livre, como, por exemplo, o aumento do valor do pH e a adição de um composto aglutinante (por exemplo, a cafeína) podem surgir também efeitos sinérgicos.

A um dispositivo para a adição de substituinte para a diluição ou alteração da salinidade dos fluidos que podem ser utilizados pertencem bombas doseadoras normais, com as quais pode ser adicionada uma solução de substituinte. De um modo preferido, um tal dispositivo é utilizado em combinação com um dispositivo para aquecimento, que está ligado a jusante daquele, de modo que é adicionado substituinte aquecido no circuito dos fluidos utilizados. Como solução de substituinte interessam soluções aquosas que podem conter diversos sais, bem como também ureia. Neste caso pode tratar-se de fluidos de diálise comerciais, que, consoante a necessidade, podem ser ajustados na concentração desejada através de adição de sais. Mas interessam também, como acima referido, estabilizadores, meios para a diluição do sangue, como heparina ou citrato, ou substâncias para a alteração do equilíbrio osmótico, como sais ou do equilíbrio electrofisiológico (efeito Donnan), como substâncias de carga negativa ou positiva. O substituinte não serve apenas para conduzir para a solução as substâncias a extrair, através de alteração da concentração de sais no fluido. A concentração de sais do fluido biológico, por exemplo sangue, pode ser ajustada através de adição de substituinte, correspondendo também exactamente ao estado do doente. Além disso, deste modo pode ser restabelecida no circuito de diálise a capacidade de ligação do adsorvente reciclado para as toxinas. Adicionalmente, pode ser necessária a adição de ureia, para uma melhor capacidade de ligação do adsorvente.

Como dialisador podem ser utilizados dialisadores convencionais, por exemplo, os utilizados actualmente para a hemodiálise. Mas também é concebível que interessem membranas com poros maiores que as utilizadas actualmente para a diálise. O dialisador está equipado com uma membrana de diálise convencional semipermeável, eventualmente a difusão pode ser apoiada por meio de filtração, através de transporte por convecção através da membrana. No essencial, o dialisador compreende duas câmaras que estão separadas através de uma membrana de diálise, a cada uma das quais está associado um sistema de circuito (sistema de tubos flexíveis) para os fluidos a utilizar. O fluido biológico a depurar e o fluido de diálise são conduzidos habitualmente pelo processo de contracorrente. Mas também é possível a realização de um processo em corrente paralela. As configurações habituais de um aparelho de diálise, como manómetros, detectores de ar, dispositivos de bombear, como bombas de heparina, bombas de sangue, etc. são compreendidas pelo dispositivo de acordo com a invenção. Com o dispositivo de acordo com a invenção podem ser conseguidos fluxos de dialisado quer lentos (1-2 L/h), quer normais (25-50 L/h), como também velocidades intermédias, consoante a necessidade.

Aos fluidos biológicos que podem ser utilizados no dispositivo de acordo com a invenção ou no processo de acordo com a invenção pertencem todos os fluidos corporais de pessoas ou animais, em especial sangue ou plasma sanguíneo, de um especialmente modo preferido de origem humana. A par da extracção de substâncias ligadas a proteínas dos fluidos biológicos utilizados verifica-se, ao mesmo tempo, uma eliminação de substâncias solúveis em água, que podem ser extraídas habitualmente pela diálise convencional, como por exemplo ureia ou iões diversos. As substâncias a extrair ligadas

a proteínas estão, de um modo preferido, ligadas à proteína de transporte albumina. O dispositivo de acordo com a invenção é adequado, em especial, para a depuração de sangue e de plasma no âmbito da medicina e pode ser utilizado, quer no âmbito do tratamento de reservas do sangue, quer também na diálise extracorporal em doentes.

Como fluidos de diálise podem ser utilizados fluidos de diálise convencionais, como são conhecidos do especialista. A concentração de iões pode ser adaptada em cada caso à necessidade do doente. Consoante a necessidade, podem ser utilizadas soluções aquosas com carga iónica usual ou água simples. Eventualmente, os fluidos de diálise convencionais são providos de um adsorvente para as substâncias a extrair ligadas a proteínas. Como adsorventes interessam, por exemplo, resinato e proteínas aceitadoras. Uma proteína aceitadora preferida é a albumina; esta pode ser seroalbumina humana, albumina animal ou mesmo albumina produzida por engenharia genética. De um modo especialmente preferido é utilizada seroalbumina humana. As soluções de seroalbumina podem eventualmente ser diluídas, com água ou fluidos de diálise convencionais ou outros fluidos. O fluido de diálise utilizado pode conter, de um modo preferido, seroalbumina humana, numa concentração de 0,1 a 25 g por 100 mL, de um modo preferido 2 a 10 g por 100 mL, de um modo especialmente preferido 4 a 6 g por 100 mL. De resto, como fluido de diálise podem também ser utilizados sangue, soro sanguíneo ou plasma congelado recentemente. No caso do fluido de diálise, pode tratar-se também de dialisado proveniente de um biorreactor. Actualmente são necessárias enormes quantidades de sangue para biorreactores (com sistemas para a terapia de substituição do fígado que funcionam com células hepáticas vivas); assim, deve ser extraído ao doente até um litro de

sangue do circuito, durante a circulação do biorreactor. Para o estímulo da função de síntese das células hepáticas do biorreactor pode, no entanto, ser também suficiente um sistema no qual é utilizado para o estímulo um dialisado que contém substâncias que são habitualmente descontaminadas no fígado. Correspondentemente, um dialisado como o descrito em 1 e 2 pode ser conduzido primeiro no circuito extra-corporal, através do biorreactor. Este dialisado é depois depurado como descrito em 2 e o dialisado é alimentado novamente ao doente. Para isso pode ser necessário alimentar albumina continuamente ao dialisado ou então utilizar um capilar ou uma membrana, que seja mais permeável à albumina que os filtros de diálise utilizados actualmente.

O dispositivo de acordo com a invenção pode estar equipado com um ou vários aparelhos convencionais de medição do pH e/ou aparelhos de medição da temperatura, para a monitorização das características correspondentes dos fluidos utilizados.

É descrito, além disso, um processo para a extracção de substâncias indesejadas de um fluido biológico, com depuração ex-vivo do fluido biológico, que compreende a diálise de um fluido biológico contra um fluido de diálise, através de uma membrana semipermeável, sendo que o fluido de diálise contém um adsorvente para as substâncias a extrair ligadas a proteínas e sendo que o fluido de diálise e, opcionalmente, o fluido biológico é ajustado através de adição de ácido, base ou substâncias dialisáveis, através de diluição, alteração da salinidade, irradiação por meio de ondas ou aquecimento, de modo que a afinidade de ligação da proteína de transporte em relação às substâncias a extrair ligadas é diminuída e, deste modo, é aumentada a concentração das substâncias indesejadas livres.

Neste caso o valor do pH do fluido de diálise que pode ser utilizado é ajustado de um modo intermédio, para pH = 8-13.

Além disso, é vantajoso um processo no qual é utilizado um sistema de circuitos, sendo que o processo utiliza pelo menos uma adição dupla de ácido, base ou substâncias dialisáveis, diluição, alteração da salinidade, irradiação por meio de ondas ou aquecimento/refrigeração do fluido de diálise ou do fluido biológico.

Os processos e dispositivos descritos podem ser utilizados, em geral, para a depuração de fluidos biológicos. Aos fluidos biológicos pertencem todos os fluidos corporais de pessoas ou animais, em especial sangue ou plasma sanguíneo, de um modo especialmente preferido de origem humana. Neste caso é possível conduzir os fluidos extraídos, em especial sangue ou plasma sanguíneo, novamente ao corpo ou torná-los acessíveis para outras finalidades. Assim, por exemplo, podem ser depuradas reservas de sangue ou os fluidos biológicos depurados podem ser conduzidos para posteriores finalidades comerciais ou finalidades de investigação.

Para a realização dos processos é adequado o dispositivo acima descrito. Outras particularidades, características e vantagens do processo resultam da discussão anterior do dispositivo e das reivindicações.

Em seguida, são descritos em pormenor três exemplos de realização da invenção, tomando como referência as figuras. As figuras mostram formas de realização especiais do dispositivo de acordo com a invenção, em representação esquemática.

Mostram:

Figura 1 Uma representação esquemática simplificada de uma forma de realização do dispositivo de acordo com a invenção, com dispositivos para aquecimento e refrigeração e um dispositivo para a adição de substituinte, no circuito extra-corporal, sendo que apenas é mostrado o circuito do fluido biológico.

Figura 2 Uma representação esquemática simplificada de uma forma de realização do dispositivo de acordo com a invenção, com dispositivos para o ajuste do valor do pH, no circuito extra-corporal, sendo que apenas é mostrado o circuito do fluido biológico.

Figura 3 Uma representação esquemática simplificada de uma forma de realização do dispositivo de acordo com a invenção, com dispositivos para aquecimento e refrigeração, dispositivos para o ajuste do valor do pH e um dispositivo para a adição de substituinte, no circuito do fluido de diálise.

A figura 1 mostra um dispositivo para a hemodiálise, constituído, no essencial, por um dialisador (1), um circuito (2) do fluido de diálise (apenas sugerido na figura), um circuito (3) do sangue (assinalado na figura apenas de forma sugerida), aparelhos (6) de aquecimento e de refrigeração, um dispositivo (7) para a adição de substituinte e um aparelho (10) de medição da temperatura.

O sangue é misturado no circuito (3) do sangue, antes da entrada no dialisador (1), através do dispositivo (7) com o substituinte aquecido no aparelho (6) de aquecimento, proveniente, por exemplo, de uma solução de hemofiltração convencional. Em seguida, o sangue aquecido chega à câmara do sangue do dialisador (1). Em virtude da temperatura aumentada do sangue, ocorre uma libertação aumentada de substâncias ligadas a proteínas, a partir das proteínas de transporte e, por conseguinte, existe um teor aumentado de toxinas dialisáveis diluídas, que se difundem através da membrana de diálise para a câmara de diálise do dialisador (1). Depois de o sangue depurado de substâncias ligadas a proteínas ter deixado o dialisador (1), é arrefecido novamente, através do grupo (6) frigorífico, para uma temperatura fisiologicamente aceitável, que é comprovada por meio do aparelho (10) de medição da temperatura. Em alternativa, a temperatura do sangue e, por conseguinte, a temperatura do doente, pode também ser ajustada através do controlo da temperatura do dialisado. Em seguida, o sangue é conduzido novamente ao circuito (3) do sangue.

A figura 2 mostra um dispositivo para a hemodiálise, constituído, no essencial, por um dialisador (1), um circuito (2) do fluido de diálise (apenas sugerido na figura), um circuito (3) do sangue (assinalado na figura apenas de forma sugerida), bombas (4) doseadoras para a adição de ácido ou de base, dialisador (5) e um aparelho (9) de medição do pH.

O sangue é misturado no circuito (3) do sangue, antes da entrada no dialisador (1), por meio da bomba (4) doseadora, com solução HCl. Deste modo o valor do pH do sangue baixa e uma parte das toxinas vai para a solução. Em seguida, o sangue acidulado chega à câmara do sangue do dialisador (1). As

substâncias dialisáveis diluídas podem difundir-se através da membrana de diálise para a câmara de diálise do dialisador (1). Depois de o sangue libertado parcialmente de substâncias ligadas a proteínas ter deixado o dialisador (1), é misturado com uma solução de NaOH por meio da bomba (4) doseadora, pelo que o valor do pH é ajustado na gama básica e outras toxinas ligadas a proteínas vão para a solução. A jusante, o sangue chega a um outro dialisador (5). Ali é realizada novamente uma diálise, filtração ou uma diafiltração, para eliminar substâncias diluídas na gama alcalina, de outra forma ligadas a proteínas. Em seguida, o valor do pH é ajustado em cerca de 7,4 na gama neutra, com solução HCl, através de uma bomba (4) doseadora, o que é comprovado por meio do aparelho (9) de medição do pH. Depois disso, o sangue é conduzido novamente ao circuito (3) do sangue.

A figura 3 mostra um dispositivo para a hemodiálise, constituído, no essencial, por um dialisador (1), um circuito (2) do fluido de diálise, um circuito (3) do sangue (assinalado na figura apenas de forma sugerida), bombas (4) doseadoras para a adição de ácido ou de base, dialisadores (5), aparelhos (6) de aquecimento e de refrigeração, um dispositivo (7) para a adição de substituinte, um dispositivo (8) para a adição de cafeína, um aparelho (9) de medição do pH e um aparelho (10) de medição da temperatura.

O sangue é misturado no circuito (3) do sangue, antes da entrada no dialisador (1), através do dispositivo (7) com o substituinte aquecido no aparelho (6) de aquecimento, proveniente, por exemplo, de uma solução de hemofiltração. Em seguida, o sangue aquecido chega à câmara do sangue do dialisador (1). Em virtude da temperatura aumentada do sangue,

existe um teor aumentado de toxinas dialisáveis livres, que se difundem através da membrana de diálise para a câmara de diálise do dialisador (1). Além disso, o fluido de diálise contém albumina que se liga às toxinas, de modo que as substâncias livres no fluido de diálise são mantidas com um baixo teor, pelo que é reforçada a difusão das toxinas no fluido de diálise. Depois de o sangue depurado das substâncias ligadas a proteínas ter deixado o dialisador (1), é conduzido novamente ao circuito (3) do sangue.

O fluido de diálise proveniente do dialisador (1), que contém toxinas ligadas à albumina, chega ao circuito (2) do fluido de diálise. Através da bomba (4) doseadora, é adicionada solução HCl ao fluido de diálise. Deste modo o valor do pH do fluido de diálise baixa e o teor de toxinas diluídas livres no fluido sobe. A jusante, está situado no circuito (2) do fluido de diálise um aparelho (6) de aquecimento que aquece o fluido de diálise a 41-45 °C, pelo que o teor de toxinas diluídas livres aumenta ainda mais e a percentagem de toxinas ligadas a proteínas baixa. Em seguida, é introduzida no circuito (2) uma bomba (8) doseadora de cafeína. Através da adição de cafeína é ligada, em especial, a bilirrubina e deste modo se reduz a percentagem da bilirrubina ligada a proteínas no fluido de diálise. A jusante, o fluido de diálise chega a um dialisador (5). Ali é extraída ao sistema uma parte do fluido de diálise, para manter a concentração do adsorvente na gama desejada. Adicionalmente, através de diálise, filtração ou diafiltração é realizada uma depuração do dialisado, em especial de substâncias livres ligadas a proteínas e bilirrubina ligada à cafeína. A albumina, em virtude da sua massa molecular elevada, pode não passar no filtro. Após a saída do dialisador (5), está situada no circuito (2) do fluido de diálise uma bomba (4) doseadora

para a adição de solução de NaOH, sendo que antes da entrada no circuito está situado um aparelho (6) de aquecimento. A jusante segue-se, por sua vez, um dialisador (5), que extrai o fluido alimentado ao sistema e elimina substâncias diluídas na gama alcalina, através de diálise, filtração ou diafiltração. Em seguida é instalado no circuito (2) um dispositivo (6) de refrigeração, com o qual a temperatura do fluido de diálise pode ser ajustada, correspondendo à temperatura desejada para o doente. Através da bomba (4) doseadora que se segue, a solução HCl é adicionada ao fluido de diálise, para ajustar o valor do pH do fluido de diálise no neutro, de modo que a capacidade de ligação da albumina é aumentada novamente e não surge no dialisador qualquer influência negativa do valor do pH do sangue. Em seguida estão situados no circuito (2) um aparelho (9) de medição do pH e um aparelho (10) de medição da temperatura, para comprovar o valor do pH e o valor da temperatura do fluido de diálise purificado, antes da reentrada no dialisador (1).

Lisboa, 17 de Junho de 2009

## REIVINDICAÇÕES

1. Dispositivo para a diálise de um fluido biológico, que contém substâncias a extrair ligadas a proteínas, com
  - um circuito (3) do fluido biológico e
  - um dialisador (1), sendo que no circuito (2) do fluido de diálise está previsto
    - pelo menos um meio (4; 6; 7; 8; 9) para a transferência para a solução das substâncias a extrair ligadas a proteínas e
    - pelo menos um dispositivo (5) para a diálise, filtração ou diafiltração,

sendo que um fluido de diálise que pode ser utilizado no dispositivo contém um adsorvente para as substâncias a extrair do fluido biológico, caracterizado por o meio (4; 6; 7; 8; 9) para a transferência para a solução das substâncias a extrair ligadas a proteínas compreender pelo menos um dispositivo (4) para o ajuste do valor do pH do fluido de diálise que pode ser utilizado, para pH = 8-13.

2. Dispositivo de acordo com a reivindicação 1, compreendendo pelo menos um outro meio (4; 6; 7; 8; 9) para a transferência para a solução de substâncias a extrair ligadas a proteínas, escolhido do grupo
  - dispositivo (4) para o ajuste do valor do pH dos fluidos que podem ser utilizados, para pH = 2,5-5,
  - dispositivo (6) para o ajuste da temperatura dos fluidos que podem ser utilizados,

- dispositivo (7) para a adição de substituinte para a diluição ou variação da salinidade dos fluidos que podem ser utilizados,
  - dispositivo (8) para a adição de compostos dialisáveis que se ligam às substâncias a extrair,
  - dispositivo (9) para a irradiação dos fluidos que podem ser utilizados, por meio de ondas.
3. Dispositivo de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado por estar previsto no circuito (3) do fluido biológico pelo menos um meio (4; 6; 7; 8; 9) para a transferência para a solução das substâncias a extrair ligadas a proteínas.
  4. Dispositivo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado por o dispositivo (4) para o ajuste do valor do pH dos fluidos que podem ser utilizados compreender um dispositivo para a adição de base e um dispositivo para a adição de ácido.
  5. Dispositivo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado por o dispositivo (6) para o ajuste da temperatura compreender dispositivos para o aquecimento ou refrigeração.
  6. Dispositivo de acordo com a reivindicação 5, caracterizado por o dispositivo (6) para o aquecimento compreender um aparelho de aquecimento, um aparelho de micro-ondas ou um aparelho de infravermelhos e o dispositivo (6) para a refrigeração representar um grupo frigorífico.

7. Dispositivo de acordo com a reivindicação 2, caracterizado por o dispositivo (9) para a irradiação compreender um aparelho de ultra-sons.
8. Dispositivo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado por estar previsto no circuito (3) do fluido biológico pelo menos um outro dispositivo (5) para a diálise, filtração ou diafiltração.
9. Dispositivo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado por estarem previstos no circuito (3) do fluido biológico um dispositivo (6) para o aquecimento do fluido biológico até 45 °C e um dispositivo (6) para a refrigeração dos fluidos que podem ser utilizados.
10. Dispositivo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado por o dispositivo (6) para o aquecimento ser ligado a jusante de um dispositivo (4) para o ajuste do valor do pH ou de um dispositivo (7) para a adição de substituinte, antes da entrada no circuito (2) do fluido de diálise ou no circuito (3) do fluido biológico.
11. Dispositivo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado por o adsorvente compreender albumina.
12. Dispositivo de acordo com a reivindicação 11, caracterizado por o fluido de diálise conter seroalbumina humana, numa concentração de 1 a 25 g por 100 mL, de um modo preferido 2 a 10 g por 100 mL, de um modo especialmente preferido 4 a 6 g por 100 mL.

13. Dispositivo para diálise de um fluido biológico, que contém substâncias a extrair ligadas a proteínas, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-10, sendo que o fluido de diálise que pode ser utilizado no dispositivo não contém qualquer adsorvente para as substâncias a extrair do fluido biológico.

Lisboa, 17 de Junho de 2009

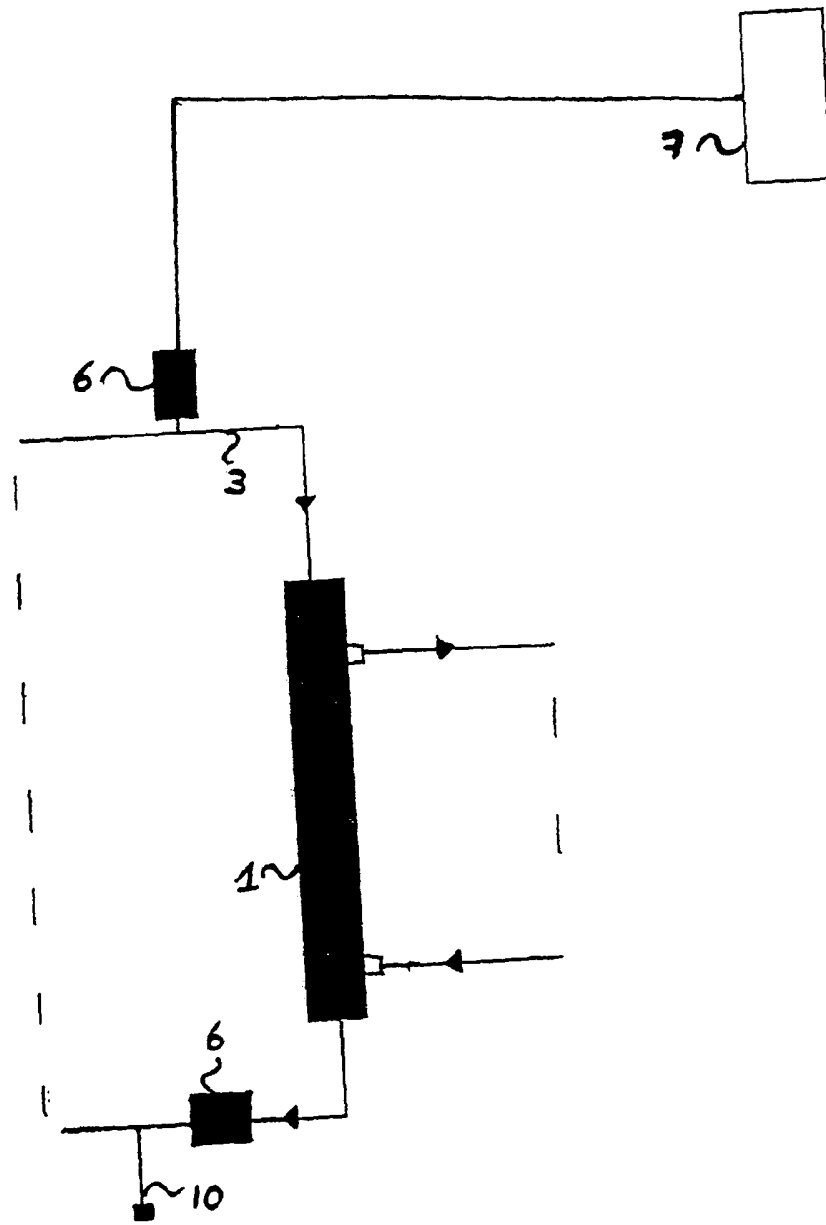


Figura 1

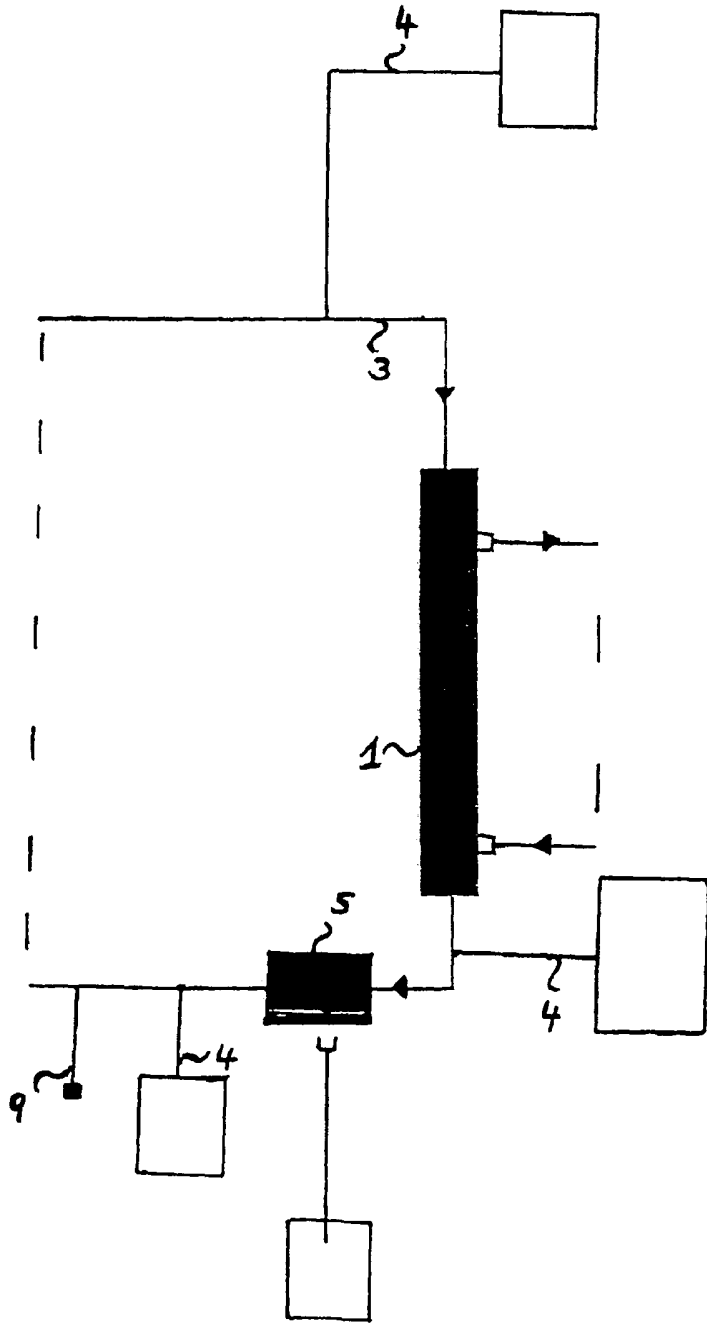


Figura 2



## RESUMO

### **"DISPOSITIVO PARA A EXTRACÇÃO DE SUBSTÂNCIAS LIGADAS A PROTEÍNAS"**

A presente invenção refere-se a um dispositivo de diálise para a extracção de substâncias ligadas a proteínas, a partir de um fluido biológico, em especial sangue ou plasma sanguíneo, que contém pelo menos um meio para a transferência para a solução de substâncias a extrair ligadas a proteínas no fluido biológico e/ou no fluido de diálise, bem como um processo para a extracção de substâncias ligadas a proteínas, a partir de um fluido biológico.