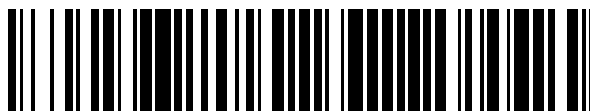


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 647 577**

51 Int. Cl.:

A61M 1/36 (2006.01)

A61K 31/60 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.05.2013 PCT/US2013/042377**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.12.2013 WO13188073**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.05.2013 E 13727750 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.08.2017 EP 2861273**

54 Título: **Uso de heparina y carbohidratos para tratar el cáncer**

30 Prioridad:

13.06.2012 US 201261659337 P

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

22.12.2017

73 Titular/es:

**EXTHERA MEDICAL CORPORATION (100.0%)
757 Arnold Drive, Suite B
Martinez, CA 94553, US**

72 Inventor/es:

**MCCREA, KEITH;
WARD, ROBERT y
LARM, OLLE**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 647 577 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

Uso de heparina y carbohidratos para tratar el cáncer

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método para retirar mediadores que contribuyen a la patogénesis del cáncer de la sangre poniendo en contacto la sangre con un sólido, esencialmente un sustrato no-microporoso que se ha tratado en su superficie con heparina, sulfato de heparano y, opcionalmente, otras moléculas o grupos químicos (el medio adsorbente o medio) que tiene una afinidad de unión para el mediador, y en el que el tamaño de los canales intersticiales en dicho sustrato están equilibrados con la cantidad del área de superficie intersticial del sustrato de manera que el paso de altos flujos de sangre por dicho sustrato crea un flujo de transporte que se caracteriza por transporte de convección más que transporte de difusión Browniano. La presente invención también proporciona un método para el tratamiento del cáncer retirando mediadores circulantes del cáncer de la sangre poniendo en contacto la sangre con un sustrato sólido revestido de heparina, sulfato de heparano, y/u otros carbohidratos y un dispositivo para llevar a cabo el método y el tratamiento. La presente invención también proporciona un método de tratamiento de cáncer con cirugía para eliminar cánceres malignos mientras se pone en contacto simultáneamente la sangre con el sustrato sólido revestido de heparina, sulfato de heparano, y/u otros carbohidratos o adsorbentes suplementarios para eliminar con seguridad los mediadores del cáncer de la sangre generada por la cirugía, y un dispositivo para llevar a cabo el método y tratamiento.

Antecedentes

El cáncer es una enfermedad muy compleja con muchos mediadores circulantes que contribuyen a la patogénesis o metástasis de los tumores. Ejemplos de dichos mediadores incluyen, pero no se limitan a, células tumorales circulantes responsables de la metástasis, factores de crecimiento circulantes que contribuyen a la angiogénesis de tumores, citocinas circulantes que contribuyen a la angiogénesis, heparanasas circulantes que degradan los segmentos de sulfato de heparano de las paredes de las células endoteliales que pueden dar lugar a la invasión de células tumorales, y la fibrina o trombina circulantes que dan lugar a la tromboembolia venosa.

La heparina es un glucosaminoglicano, que se aísla del tejido de mamíferos. Desde su descubrimiento en 1916 por el científico americano McLean, la heparina se ha reconocido por sus propiedades anticoagulantes de la sangre y la heparina se ha utilizado, durante más de 50 años, clínicamente como un anticoagulante sanguíneo y agente antitrombótico.

La heparina tiene una distribución muy particular en los tejidos de mamíferos. La heparina está presente solo en los gránulos basófilos de los mastocitos. Sin embargo, hoy día, además de su sitio establecido en la prevención y terapia de trastornos tromboembólicos, la heparina ha demostrado un amplio espectro de actividades diferentes independientes de la anticoagulación.

La heparina es muy similar al sulfato de heparano (HS) que se encuentra en sindecanos y glicanos de la matriz extracelular (ECM). El HS tiene un importante papel en la señalización celular en la superficie de la ECM y por lo tanto se une a muchas especies químicas diferentes.

Un gran número de proteínas de la sangre se unen, con alta afinidad, a la heparina y HS. Ejemplos son la antitrombina (AT), fibronectina, vitronectina, factores de crecimiento (por ejemplo, factores de crecimiento de fibroblastos, factores de crecimiento tipo insulina, etc.). Muchas citocinas y quimiocinas, tal como el TNF-, IL-8 y GRO-, también tienen una alta afinidad por la heparina o HS.

Recientemente, se han llevado a cabo varios estudios retrospectivos en pacientes de cáncer y los hallazgos indican que los pacientes tratados con heparina soluble sistémica, sea no fraccionada o fraccionada, parece que tenían una supervivencia mejorada. Smorenburg et al., Pharmacol. Rev. 53; 93-1005 (2001). Klerk et al., J. Clin. Oncol., v.23:10, páginas 2130-2135 (2005). Sin embargo, se desconoce cuál es el mecanismo de acción de la heparina que pueda disminuir la mortalidad en esta población de pacientes. Una hipótesis es que debido a muchos de los mediadores responsables del crecimiento tumoral y metástasis se unen a la heparina, la heparina sistémica puede interferir con la progresión de la enfermedad. De manera adicional, los estudios indican que la heparina sistémica puede promover efectos perjudiciales.

Se ha descubierto que las células tumorales circulantes contienen secuencias de unión a la heparina. Se han llevado estudios que indican que los segmentos HS de la ECM favorecen la adhesión de células tumorales de la sangre circulante. Vlodavsky et al., Rambam Maimonides Med. J., January 2011, v.2:1; e0019, páginas 1-17. Sasiskharan et al., Nature Reviews, Cancer, 2; 521-528, 525 (2002). Esto permite la metástasis del cáncer a lo largo del cuerpo. Una investigación previa hacía la hipótesis de que la heparina sistémica se podía unir a las células tumorales circulantes, bloqueando de esta manera los sitios que se unirían normalmente a los segmentos HS de la ECM.

65

La angiogénesis es la formación de nuevos vasos sanguíneos y es necesaria para el crecimiento tumoral. La formación de los nuevos vasos sanguíneos también puede facilitar la liberación de células tumorales en la circulación sanguínea. Varios factores de crecimiento, tal como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) se liberan desde las células cancerosas junto con quimiocinas y citocinas tales como la IL-8. Cuando los factores de crecimiento se unen al HS, se estabilizan y se almacenan para la liberación posterior para ayudar a la angiogénesis. ES posible que la heparina sistémica se una al VEGF y bFGF lo que reduce su actividad. La IL-8 es una citocina importante en la angiogénesis y también se sabe que se une a la heparina o HS.

Las heparanasas también son liberadas por las células cancerosas y degradan el HS de la ECM hidrolizando las uniones glicosídicas. La degradación de HS da lugar entonces al compromiso del tejido huésped y podría facilitar la penetración de células tumorales. Vlodavsky et al., Rambam Maimonides Med. J., January 2011, v.2:1; e0019, páginas 1-17. Sasiskharan et al., Nature Reviews, Cancer, Julio 2002, v. 2 páginas 521-528, 525. Los estudios han demostrado que la heparina sistémica puede inhibir la actividad heparanasa y evitar la degradación de los segmentos HS de la ECM. Vlodavsky et al., página 9, col. 1.

La heparina sistémica también puede producir proteólisis y degradación de la ECM activando enzimas proteolítica. Se ha demostrado que la heparina sistémica puede estimular localmente la pro-uPA (proteína activadora del plasminógeno pro-urinario) y el plasminógeno en la superficie celular. La pro-uPA y plasminógeno activados puede entonces aumentar la invasión de células de melanoma humano. Los niveles de uPA elevados se correlacionan con un pronóstico peor en pacientes de cáncer.

La formación de trombina está implicada en la supervivencia de la célula cancerosa. La formación de trombina favorece la adhesión de las células cancerosas al endotelio estimulando la expresión de II 3 en las células cancerosas. La trombina también favorece la agregación de células cancerosas y plaquetas lo que puede dar lugar a la formación de trombos. La formación de trombina puede bloquear entonces el sistema microvascular en el que reside la célula cancerosa lo cual protege entonces la célula cancerosa de la tensión mecánica y la respuesta inmunitaria natural. La heparina sistémica inactiva la trombina y puede ayudar a evitar la metástasis. La heparina sistémica puede beneficiar, o dañar potencialmente a los pacientes de cáncer mediante múltiples modos de acción. Como se ha descrito anteriormente, muchos de estos mediadores se unen a la heparina. Muchos de los mediadores implicados en la progresión del cáncer se pueden encontrar en la sangre circulante y pueden afectar a la angiogénesis y metástasis. Los efectos secundarios potenciales de la heparina sistémica están el aumento de riesgo de hemorragias o la trombocitopenia inducida por heparina. Un método potencial para tratar pacientes con cáncer es eliminar estos mediadores circulantes capturándolos en un medio adsorbente con un área de superficie altamente modificada con heparina. En vez de unirse a los segmentos HS de la ECM del cuerpo, estos mediadores se unirán a la superficie modificada con heparina del cartucho de filtración por afinidad y retirados de la circulación. Además, los riesgos tales como la hemorragia, la trombocitopenia inducida por heparina, la activación de pro-uPA y plasminógeno se mitigan debido a que la heparina no se libera en la corriente sanguínea.

40 **Sumario de la invención**

Un objetivo de la presente invención es proporcionar un método para retirar mediadores del cáncer que contribuyen a la angiogénesis o metástasis tumoral de la sangre de un mamífero poniendo en contacto la sangre con un sustrato sólido revestido de heparina y/u otros carbohidratos.

Otro objetivo de la invención es proporcionar un método de tratamiento de la progresión del cáncer retirando los mediadores del cáncer de la sangre de un mamífero poniendo en contacto la sangre del mamífero con un sustrato sólido revestido de heparina y/u otros carbohidratos.

Otro objetivo de la invención es proporcionar un auxiliar a la cirugía del cáncer retirando los mediadores del cáncer de la sangre de un mamífero que se generan por la cirugía del cáncer, y que podrían producir de otra manera metástasis del cáncer que se trata por cirugía.

Los objetivos mencionados anteriormente no tienen la intención de limitar el alcance de la invención de ninguna manera. La invención se refiere a un sustrato sólido, revestido de heparina y/u otros carbohidratos, y se define en la reivindicación 1.

La invención también se refiere a un dispositivo que comprende un sustrato sólido en un recipiente, teniendo el sustrato sólido no o más adsorbentes polisacáridicos, y se define en la reivindicación 8. Un primer aspecto de la presente invención proporciona un método para la retirada de los mediadores del cáncer circulantes de la sangre, tal como sangre de mamífero, poniendo en contacto la sangre con un sustrato sólido, por ejemplo, revestido de heparina.

En este método, la heparina se inmoviliza en la superficie del sustrato. Se sabe que la heparina se une a muchos mediadores del cáncer y la heparina unida a una superficie puede ser eficaz para retirar una cantidad significativa de la sangre. Sin embargo, los flujos típicos de los circuitos extracorpóreos de sangre necesitan que el 'lecho'

adsorbente se diseña para permitir flujos relativamente altos para funcionar con seguridad. Esto es en parte debido a la tendencia universal a que la sangre en movimiento lento o estancada forme coágulos peligrosos. En la presente invención, el sustrato se diseña con unas dimensiones intersticiales suficientemente grandes para permitir un flujo alto de sangre sobre el sustrato sin una gran caída de presión. Es decir, como la sangre se toma de un paciente mamífero, se pasa sobre el sustrato a un flujo por el que el suministro de adsorbatos a la superficie del lecho adsorbente se caracteriza primariamente por convección forzada. Esto es lo contrario que el procedimiento mucho más lento de difusión molecular que se produce en el uso de medios adsorbentes altamente porosos (por ejemplo, sílice porosa, sephadex, poliestireno reticulado y otros medios de exclusión por tamaño) y muchos otros medios microporosos. La difusión molecular también es necesaria cuando se utilizan membranas de barrera permeable selectivas junto con el medio de adsorción, por ejemplo, para evitar el contacto del medio de adsorción con las células sanguíneas y/o los solutos de alto peso molecular durante la terapia de afinidad.

La unión de los mediadores del cáncer a la heparina durante el transporte de convección es particularmente eficaz en condiciones de un alto flujo relativo que se emplean normalmente en la operación (segura) de los circuitos extracorpóreos de sangre, por ejemplo, cuando se mide por velocidad de flujo lineal, ≥ 8 cm/min, preferentemente aproximadamente ≥ 24 cm/min, y más preferentemente aproximadamente 24-329 cm/minuto, o, cuando se mide por caudal, alrededor de > 50 ml/minuto y preferentemente > 150 ml/minuto pero menos de aproximadamente 2000 ml/minuto. La adsorción en los poros de los medios microporosos, por el contrario, pueden necesitar caudales mucho menores mediante lechos de adsorción de tamaño práctico con el fin de conseguir una separación o purificación adecuada, es decir, < 50 ml/min hasta tan bajos como < 1 ml/min.

Se reconoce que, hablando estrictamente, es el 'tiempo de residencia' en la columna de adsorción lo que necesita ser mucho más largo en un medio que necesita el transporte por difusión de los adsorbatos al sitio adsorbente del medio, cuando se compara con el menor tiempo de residencia necesario para conducir un adsorbato al sitio de unión (en un medio esencialmente no poroso) por convección forzada. Sin embargo, existen límites prácticos de las dimensiones de un cartucho, columna, filtro, etc. adsorbentes seguros y eficaces, especialmente con respecto al volumen máximo de sangre que puede contener, y la velocidad del flujo de sangre o suero que pasa por el medio de adsorción. Por esta razón, el caudal medio a través del dispositivo de adsorción se considera que es una importante variable de diseño.

Las cinéticas de convección y cinéticas de difusión se pueden comparar en la retirada de mediadores del cáncer de la sangre que fluye: El medio de adsorción que depende del transporte de difusión utiliza en general materiales muy porosos con un área de superficie interna extremadamente alta debido a la presencia de poros microscópicos. Los medios adecuados para el transporte de convección, por otra parte, se basa en general en "canales" macroscópicos o intersticios visibles entre el material esencialmente no poroso, tal como partículas, perlas, fibras, espumas reticuladas, u opcionalmente membranas densas enrolladas en espiral.

Los medios que se basan en el transporte por convección forzada generalmente son más adecuados para altos flujos, mientras que el medio que se basa en el transporte por difusión mucho más lento son mucho menos eficaces cuando se necesitan altos flujos y tiempo de residencia más cortos. Por esta razón, en un dispositivo extracorpóreo de purificación de sangre, es mucho más preferido un medio de adsorción que no necesite que el adsorbato se difunda lentamente dentro de los poros del medio adsorbente. Cuando la sangre se bombea a través de los circuitos fabricados de materiales hechos por el hombre es una práctica general emplear flujos de sangre relativamente altos con el fin de evitar el estancamiento y reducir el riesgo de coagulación. Por otra parte, los caudales extremadamente altos se deben evitar porque exponen a las células sanguíneas a tasas de cizallamiento altas y daños por pinzamiento que pueden romper o dañar de otra manera las células sanguíneas. La presente invención, por lo tanto, proporciona un método y dispositivo para retirar los mediadores del cáncer de la sangre utilizando las características preferidas del transporte de convección y sus cinéticas más rápidas, deseables. Esto se consigue pasando/fluyendo la sangre sobre un sustrato esencialmente no microporoso que se ha tratado en su superficie con moléculas adsorbentes, por ejemplo, heparina, y que por lo tanto es capaz de unirse a los mediadores del cáncer deseados para retirarlos de la sangre. También es posible utilizar un sustrato microporoso en la presente invención si el tratamiento de superficie hace al sustrato eficazmente no poroso.

Esto puede producirse intencionada o inadvertidamente, cuando los tratamientos de la superficie durante la fabricación del medio bloquean los poros. Esto convierte el sustrato microporoso en uno que no necesita la difusión del adsorbato en los poros para unirse al medio.

Se pretende que los métodos descritos se apliquen en primer lugar en terapias o procedimientos extracorpóreos, aunque también son posibles dispositivos implantables. "Terapias extracorpóreas" significan procedimientos que se llevan a cabo fuera del cuerpo, tales como las terapias en las que se puedan añadir productos como el oxígeno, anticoagulantes sanguíneos, anestésicos, etc., a los fluidos corporales. Por el contrario, se pueden también retirar productos no deseados como toxinas o venenos de origen natural de los fluidos corporales con tipos específicos de circuitos extracorpóreos. Ejemplos son la hemodiálisis y la hemofiltración que representan tecnologías por las que la sangre se vacía de productos de desecho. La adsorción en carbón activado se ha utilizado para retirar venenos cargados en la sangre, etcétera.

Se puede utilizar sangre completa y suero sanguíneo de mamíferos en la presente invención. La cantidad de sangre o suero sanguíneo que se puede utilizar en los métodos reivindicados no tienen la intención de limitarse. Puede variar de menos de 1 ml a por encima de 1 l, hasta e incluyendo el volumen de sangre completa del paciente cuando se emplea la recirculación continua de vuelta al paciente. Se puede utilizar uno o más 'pasajes' a través del lecho de adsorción si fuera necesario. La sangre puede ser sangre humana o animal.

El medio de adsorción con la superficie heparinizada para retirar los mediadores del cáncer de la sangre se optimiza de acuerdo con la presente invención para su uso en la circulación extracorpórea de sangre tradicional con caudales > 50 ml/min, y preferentemente entre aproximadamente 150 y 2000 ml/min. Si se mide por velocidad de flujo lineal, ≥ 8 cm/min, preferentemente aproximadamente ≥ 24 cm/in y más preferentemente aproximadamente 24-329 cm/min. Dichos flujos altos crean tiempos de residencia cortos en la columna de adsorción y el transporte de convección predomina sobre el transporte de difusión Browniano. Esto es particularmente importante para la unión a proteínas de alto PM o citocinas tales como el TNF- α y partículas mayores tales como células tumorales circulantes, debido a que se difunden muy, muy lentamente. En la presente invención los sitios de adsorción dominantes disparan llevar puestos para retirar mediadores del cáncer se sitúan en las superficies de los intersticios del lecho de medio a través de los cuales fluye la sangre o se suministra por convección forzada. Para tratar la sangre, los canales intersticiales tienen que ser lo suficientemente grandes para permitir el transporte de glóbulos rojos, que tienen una media de 6 micrómetros de diámetro. Para permitir que se coloque un cartucho de adsorción empaquetado en un circuito extracorpóreo con un caudal sanguíneo alto, los canales intersticiales deben ser varias veces mayores que el diámetro de los glóbulos rojos. Esto puede evitar las tasas de cizallamiento altas que dan lugar a hemólisis mientras se minimiza simultáneamente la caída de presión en la sangre que fluye a través del lecho o cartucho empaquetado. De manera adicional, el medio es preferentemente rígido para minimizar la deformación que podría obstruir el cartucho del filtro por compactación. Basándose en estas preferencias, un medio rígido optimizado equilibra el tamaño de canal intersticial y el área total de superficie, por ejemplo, para la retirada eficaz de mediadores del cáncer en circuitos de sangre extracorpóreos de alto flujo.

2. El sustrato utilizado en la invención

Se pueden utilizar distintos materiales, en forma y composición, como sustrato en la presente invención. Todos los sustratos adecuados proporcionan una gran área de superficie promoviendo el transporte de los adsorbatos a los sitios adsorbentes que se unen a ellos (primariamente) por transporte de convección forzada. El medio se proporciona normalmente empaquetada en un contenedor, tal como una columna, que se diseña para mantener el medio de manera que no se arrastre por el flujo de sangre (medio de migración a.k.a.) y permita que pase el flujo de sangre esencialmente por toda la superficie del medio. Los sustratos útiles parara crear el medio de adsorción incluyen perlas, partículas, o paquetes rígidos no porosos, espumas reticuladas, y un lecho monolítico rígido (por ejemplo formados a partir de perlas o partículas sinterizadas), una columna empaquetada con tela tejida o no tejida, una columna empaquetada con un hilo de fibras monofilamento densas sólidas o huecas (no microporoso), un cartucho enrollado en espiral formado a partir de una película plana o una membrana densa, o una combinación de medios tales como un cartucho mixto de perlas/tela. Un sustrato adecuado para su uso en la presente invención es uno que sea microporoso inicialmente pero que se convierte en esencialmente no poroso cuando se trata la superficie ante, durante o después de la creación de los sitios de adsorción, por ejemplo, mediante heparina unida en el extremo.

La columna tiene una estructura macroporosa que presenta una gran área de superficie a la sangre o el suero mientras que evita una gran caída de presión y tasas de cizallamiento altas. Además del potencial de daño a la sangre por la hemólisis, las grandes caídas de presión se deberían evitar debido a que pueden hacer que se detengan los circuitos extracorpóreos equipados con paradas automáticas que respondan a la caída de presión.

El sustrato también puede tener la forma de una membrana de barrera a.k.a. En este ejemplo, se modifica la superficie de una película porosa uniendo heparina y/o sulfato de heparano en conjunto con grupos adsorbentes opcionales no derivados de heparina o sulfato de heparano en la superficie de la membrana. De manera alternativa, una membrana microporosa se puede hacer no porosa o 'densa' antes, durante o después de la unión de los sitios de unión llenando los poros con un material esencialmente no poroso, por ejemplo, un polímero. La membrana en forma de láminas o fibras (huecas) se puede disponer en un bastidor para presentar una gran área de superficie para el contacto con la sangre que es adecuado para su uso en la práctica de la presente invención.

2.1. Perlas como sustrato

Un sustrato útil es en forma de perlas o partículas sólidas. Las 'perlas' se pueden fabricar con materiales que sean lo suficientemente rígido para resistir la deformación/compactación en los caudales que se encuentran. La resistencia a la deformación es necesaria para mantener el volumen libre y la posterior baja caída de la presión del lecho 'de contacto' empaquetado. La falta sustancial de poros accesibles en el volumen del sustrato elimina la necesidad de que los adsorbatos se difundan en los poros antes de la adsorción. Los sitios de adsorción de la presente invención están primariamente en la superficie del medio y por lo tanto se posicionan para que sean accesibles a los adsorbatos en la sangre suministrada en la superficie sobre todo por transporte de convección. Los sustratos adecuados no necesitan ser perfectamente lisos en su superficie ya que la rugosidad produce un aumento deseable

del área de superficie para el anclaje de los sitios de unión, por ejemplo, mediante el enlace covalente o iónico de heparina. Los poros internos accesibles con una dimensión molecular, por otra parte, se evitan en su mayoría para eliminar la necesidad de que los adsorbatos se difundan en los poros antes de unirse a los sitios de unión.

- 5 Se pueden utilizar distintos tipos de perlas en la invención. Las perlas útiles deberían tener un tamaño y rigidez suficientes para evitar la deformación/compactación durante su uso en el método, y tener un área de superficie que sea capaz de recubrirse con heparina para su uso en el método.

10 La evidencia de suficiente rigidez del sustrato es la ausencia de un aumento significativo de la pérdida de presión a lo largo del lecho de adsorción durante aproximadamente una hora de flujo de agua o solución salina a tasas típicas de uso clínico: por ejemplo, < 10-50 % de aumento respecto a la caída de presión inicial (medida en el primer minuto de flujo) cuando se mida a un caudal similar, por ejemplo, de solución salina.

15 Las perlas u otros sustratos de gran área de superficie se pueden fabricar a partir de varios materiales biocompatibles diferentes, tales como polímeros sintéticos o naturales o material no polimérico que incluye cristal, cerámica y metal que están esencialmente libres de impurezas filtrables. Algunos polímeros a modo de ejemplo incluyen poliuretano, polimetilmetacrilato, polietileno o co-polímeros de etileno y otros monómeros, polietilenimina, polipropileno, y poliisobutileno. Ejemplo de sustratos útiles incluyen PoliEtileno de ultra alto peso molecular (UHMWPE) no poroso. Otras perlas adecuadas son de poliestireno, polietileno de alta densidad y baja densidad, silice, poliuretano, y quitosano.

20 Los métodos para fabricar dichas perlas se conocen *per se* en la técnica. Las perlas de polietileno y otras perlas de poliolefina se producen directamente durante el procedimiento de síntesis y a menudo se pueden utilizar sin una reducción de tamaño adicional. Otros polímeros pueden necesitar que se muelan o se sequen por pulverización y se clasifiquen, o se procesen de otra manera para crear las perlas de la distribución de tamaños y formas deseados.

30 Como se ha señalado anteriormente, para su uso en el método descrito, el tamaño de los canales o espacios intersticiales entre las perlas individuales para la filtración extracorpórea de sangre se debería optimizar para evitar una gran caída de la presión entre la entrada y la salida del cartucho, para permitir un pasaje seguro de las células sanguíneas entre las perlas individuales en un ambiente de alto flujo, y para proporcionar un área de superficie intersticial apropiado para la unión de la heparina a los mediadores del cáncer en la sangre. En un lecho empaquetado cerrado de 300 micrómetros, de perlas más o menos esféricas, un tamaño de poro intersticial apropiado es aproximadamente de 68 micrómetros de diámetro. Las perlas útiles tienen un tamaño que varía desde aproximadamente 100 a aproximadamente 500 micrómetros de diámetro. El tamaño medio de las perlas puede ser desde 150 a 450 micrómetros. Por ejemplo, las perlas de polietileno del Polymer Technology Group (Berkeley, USA) que tienen un diámetro de 0,3 mm son adecuadas. El poro intersticial es una función del tamaño de la perla.

Para su uso, las perlas adecuadas se albergan en un contenedor, tal como una columna.

40 Otras formas adecuadas de sustratos se describen posteriormente.

45 Las espumas reticuladas tienen celdas abiertas que se pueden fabricar, por ejemplo, a partir de poliuretanos y polietilenos. El control del tamaño de poro se puede conseguir controlando el método de fabricación. En general, las espumas reticuladas pueden tener entre 3 y 100 poros/2,54 cm y pueden presentar un área de superficie de $\geq 66 \text{ cm}^2/\text{cm}^3$.

50 Las perlas pueden sinterizarse en una estructura porosa monolítica mediante medios químicos o físicos. Las perlas de polietileno se pueden sinterizar calentando las perlas por encima de su temperatura de fusión en un cartucho y aplicando presión. El tamaño de poro intersticial resultante está ligeramente reducido respecto al tamaño de poro intersticial de un lecho empaquetado de perlas no sinterizadas de igual tamaño. Esta reducción se puede determinar empíricamente y utilizarse para producir el tamaño de poro intersticial final que se desee.

55 Una columna u otra forma de emplazamiento se puede empaquetar con una tela heparinizada tejida o no tejida o se pueden agregar los sitios de adsorción de heparina, sulfato de heparano u no heparina opcionales, por ejemplo, por enlaces covalentes, iónicos u otros enlaces físicos o químico, después de que se halla cargado el emplazamiento con el medio de sustrato. Controlando el denier y densidad de la tela durante el tejido o hilado o durante la creación de una red no tejida, se puede controlar el tamaño del poro intersticial. Las telas no tejidas pueden ser en forma de fieltros, "soplado fundido", o redes formadas electrostáticamente, que tienen una orientación aleatoria que se mantienen unidas por entrelazamiento de las fibras y/o adhesión o cohesión de fibras de intersección. Las telas tejidas útiles tienen una estructura más definida y no aleatoria.

60 Se puede empaquetar una columna con fibras o hilos hechos de fibras. El polietileno, u otras fibras, se pueden diseñar como fibras delgadas monofilamento huecas o sólidas o como hilos multifilamento, que se pueden empaquetar en cartuchos de la misma manera que las membranas de fibras huecas e instalarse en los cartuchos de hemodiálisis u oxigenadores de sangre convencionales. En la presente invención las fibras huecas originalmente porosas se convierten en densas o no porosas antes, durante o después de la unión de la heparina u otros

adsorbentes en las superficies externas y/o internas. La Dyneema Purity® de Royal DSM es una fibra sólida de alta resistencia fabricada de UHMWPE. La Dyneema se puede heparinizar y empaquetar en un cartucho para proporcionar un soporte de gran área de superficie para la retirada de mediadores del cáncer.

- 5 Un cartucho enrollado en espiral contiene una delgada película o membrana que está enrollada estrechamente con materiales espaciadores opcionales para evitar el contacto entre las superficies adyacentes. La membrana se puede fabricar con polímeros tales como poliuretano, polietileno, polipropileno, polisulfona, policarbonato, PET, PBT, etc.

2.1. Agregación de heparina

- 10 El medio de adsorción de la presente invención comprende preferentemente heparina unida covalentemente a la superficie del sustrato sólido. Se pueden utilizar varios métodos conocidos *per se* para agregar la heparina al sustrato deseado, tal como se describe en un artículo de revisión de Wendel y Ziemer. (H.P Wendel y G. Ziemer, European Journal of Cardio-thoracic Surgery 16 (1999) 342-350). En una realización, la heparina se une al sustrato sólido por un enlace covalente en el extremo. Este método aumenta la seguridad del dispositivo reduciendo o eliminando la liberación de heparina de la superficie del sustrato que podría entrar en la corriente sanguínea. La 'infiltración' de heparina por y en la sangre se tiene que evitar porque puede aumentar el riesgo de hemorragia y trombocitopenia inducida por heparina.

- 20 La unión covalente de heparina a un sustrato sólido proporciona un mejor control de los parámetros tales como la densidad y orientación de las moléculas inmovilizadas en la superficie en comparación con la unión no covalente. La concentración en superficie de heparina sobre el sustrato sólido puede estar en el intervalo de 1-10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. La unión covalente en el extremo significa que la heparina está unida covalentemente al sustrato sólido mediante el resto terminal de la molécula de heparina. La heparina también puede unirse en múltiples puntos. Se prefiere la unión en el extremo.

Si se utilizan perlas, se prefiere que estén hidrofílicas antes de la unión de la heparina u otro compuesto. Los métodos posibles para la preparación de perlas incluyen el grabado con ácido, tratamiento con plasma y exposición a fuertes oxidantes tales como el permanganato potásico.

30 *Cantidad de heparina/gramo de sustrato*

- La cantidad de heparina por gramo de sustrato puede variar. Si se utilizan perlas, la cantidad de heparina por gramo de perla se determina por el número de capas que se utilizan y también por el tamaño de las perlas. Cuanto mayor es la perla, menor es la heparina por gramo de perla que se consigue. Una cantidad preferida es $2,0 \pm 0,5$ mg heparina/g de perla por el método MBTH.

- El peso molecular de la heparina utilizada en los métodos reivindicados puede variar. Por ejemplo, la heparina nativa tiene un peso molecular medio de 22 kDa. La heparina degradada con ácido nítrico tiene un peso molecular de 8 kDa.

3. Dispositivo para su uso en los métodos descritos

- 45 Otro aspecto de la presente invención proporciona el uso de un dispositivo que comprende el sustrato sólido modificado con heparina, la heparina tiene una afinidad de unión por los mediadores del cáncer, para la retirada extracorpórea de los mediadores del cáncer de la sangre de un mamífero.

- Se hace referencia a un dispositivo para el uso y método de acuerdo con la invención puede comprender un dispositivo convencional para el tratamiento extracorpóreo de la sangre y el suero de paciente, por ejemplo, que padecen un fallo renal.

- Los patrones de flujo de sangre locales en la sangre que está en contacto con los dispositivos médicos para la circulación extracorpórea se sabe que tienen influencia en la formación de coágulos mediante la activación de cizallamiento y agregación de plaquetas en las zonas de estancamiento. En consecuencia, un dispositivo que se utiliza en distintos aspectos de la invención se debería diseñar de una manera que no cree estos problemas.

Un dispositivo como se utiliza en algunas realizaciones de la invención puede tener, por ejemplo, las siguientes propiedades:

- 60 Un flujo de sangre en el intervalo de 150-2000 ml/min, o si se mide por velocidad de flujo lineal de ≥ 8 cm/min. Baja resistencia al flujo. Gran área de superficie de un sustrato que tenga carbohidratos inmovilizados en el mismo, por ejemplo, aproximadamente un revestimiento estable de aproximadamente $0,1-1$ m^2 (sin infiltración clínicamente significativa del carbohidrato en la sangre que está en contacto con el mismo).
- 65 Propiedades hemodinámicas apropiadas en el dispositivo (sin zonas de estancamiento). Biocompatibilidad óptima.

Un ejemplo no limitante de dicho dispositivo, que se puede utilizar en un uso o método de acuerdo con la presente invención, es un dializador de hemoflujo pediátrico tal como el dispositivo extracorpóreo de filtración de sangre para retirar moléculas de citocinas que sea compatible con altos caudales de Exthera Medical. También se pueden utilizar otros modelos o tipos de dispositivos para el tratamiento extracorpóreo de la sangre o suero, tal como el hemofiltro/dializador Prisma M10 de Gambro AB, Suecia.

Las condiciones de alto flujo se pueden definir como el flujo sanguíneo por encima del límite de difusión.

4. Combinación de las invenciones con etapas de filtración/separación adicionales

En una realización del método de tratamiento relativo a la presente invención, la extracción y reintroducción de la sangre se puede llevar a cabo en un bucle continuo, cuyo bucle comprende una parte de la corriente sanguínea del sujeto.

En un aspecto adicional, los métodos descritos anteriormente se pueden combinar con otros métodos para filtrar o tratar la sangre de un mamífero. Por ejemplo, un cartucho que se basa en cinéticas de convección que se pueden utilizar en serie con circuitos extracorpóreos convencionales tales como CPB, hemodiálisis, y oxigenación.

5. Ejemplos

Los distintos aspectos de la invención se describen adicionalmente en los siguientes ejemplos. Estos ejemplos no tienen la intención de ser limitantes.

Ejemplo 1: Preparación de la columna de heparina

Se suministraron las perlas de polietileno (PE), con un diámetro medio de 0,3 mm (lote nº 180153), por el Polymer Technology Group (Berkeley, USA) y las columnas (Mobicol, 1 ml) se obtuvieron en MoBiTec (Alemania). La heparina y polietilenimina (PEI) se adquirieron en Scientific Protein Laboratories (Waunakee, Wisconsin, USA) y BASF (Ludwigshafen, Alemania), respectivamente. Todos los productos químicos utilizados eran de calidad analítica o mejor. La inmovilización de la heparina en las perlas se llevó a cabo como se describe por Larm et al. (Larm O, Larsson R, Olsson P. A new non-thrombogenic surface prepared by selective covalent binding of heparin via a modified reducing terminal residue. *Biomater Med Devices Artif Organs* 1983; 11: 161-173).

La superficie polimérica se heparinizó utilizando el procedimiento general descrito posteriormente.

La superficie polimérica se grabó con un agente oxidante (permanganato potásico, peroxodisulfato amónico) con el fin de introducir características hidrófilas junto con algunos grupos reactivos funcionales (-SO₃H, -OH, -C=O, -C=C-). La superficie se puede marcar también con plasma o corona. Por ejemplo, las perlas PE se graban con un agente oxidante (permanganato potásico en ácido sulfúrico). Estas perlas hidrofílicas, contienen *inter alia* grupos OH y enlaces dobles que se utilizan posteriormente como controles.

Las funciones reactivas amino se introducen por el tratamiento con una poliamina, polietilenimina (PEI) o quitosano. Para algunos fines las poliaminas se pueden estabilizar en la superficie por entrecruzamiento con reactivos bifuncionales, tales como crotonaldehído o glutaraldehído.

El revestimiento se estabilizó adicionalmente por entrecruzamiento iónico con un polisacárido sulfatado (sulfato de dextrano o heparina). Si fuera necesario estas etapas se repiten y se construye una estructura en sándwich. Se debería llevar a cabo un aclarado cuidadoso (con agua, tampones adecuados) entre cada etapa. Tras una última adición de PEI o quitosano, se hace la unión en el extremo (EPA) a la superficie aminada de la heparina nativa por aminación reductora, utilizando la función aldehído del resto terminal reductor de la heparina nativa.

Se puede conseguir una función aldehído reactiva en el resto terminal reductor, por degradación nitrosa parcial de la heparina. Esto acorta el tiempo de reacción, pero la heparina inmovilizada tendrá un peso molecular menor. El acoplamiento se lleva a cabo en solución acuosa, por aminación reductora (cianoborhidruro, CNBH₃⁻).

En este método alternativo, los medios aminados se suspenden en tampón de acetato (800 ml, 0,1 M, pH 4,0) y se añaden 4,0 g de heparina degradada de ácido nitroso (heparina de Pharmacia, Suecia). Tras agitarse durante 0,5 h, se añadió NaBH₃CN (0,4 g). La mezcla de reacción se agitó durante 24 y después se procesó como anteriormente, dando lugar al medio heparinizado.

Se pueden acoplar 1-10 µg/cm² de heparina a todas las superficies hidrófilas como cristal, celulosa, quitina, etc., y más o menos todos los polímeros hidrofóbicos como el cloruro de polivinilo, polietileno, policarbonato, poliestireno, PTFE, etc.

Las perlas PE resultantes, con la heparina unida covalentemente en el extremo, se esterilizaron con óxido de etileno (ETO) y se aclaró con una solución de cloruro sódico al 0,9 % y agua ultra pura. Se determinó que la cantidad de

heparina era de 2,0 mg de heparina/ g de perlas con el método MBTH. (Larm O, Larsson R, Olsson P. A new non-thrombogenic surface prepared by selective covalent binding of heparin via a modified reducing terminal residue. *Biomater Med Devices Artif Organs* 1983; 11: 161-173 y Riesenfeld J, Roden L. Quantitative analysis of N-sulfated, N-acetylated, and unsubstituted glucosamine amino groups in heparin and related polysaccharides. *Anal Biochem* 1990; 188: 383-389).

Las perlas de polietileno tenían un diámetro medio de 0,3 mm y se heparinizaron con una tecnología que garantizaba que las moléculas de heparina estaban unidas covalentemente en el extremo a la superficie, haciendo de esta manera que las cadenas de carbohidratos estén más accesibles para las proteínas con afinidad para la heparina/sulfato de heparano. El peso molecular medio de la heparina inmovilizada era aproximadamente de 8 kDa, mientras que se acoplaban 2 mg (igual o aproximadamente 360 UI) a cada gramo de perlas. La integridad de esta superficie se verificó por la esperada retirada de un 75 % de las concentraciones de antitrombina (AT) de la sangre que se pasaba sobre perlas heparinizadas, sino no heparinizadas.

Estos datos se corresponden bien con las observaciones previas de la asistencia pulmonar extracorpórea (EC-LA) en pacientes sépticos utilizando oxigenadores con superficie heparinizada publicados por Bindslev et al. (Bindslev L, Eklund J, Norlander O, Swedenborg J, et al. Treatment of acute respiratory failure by extracorporeal carbon dioxide elimination performed with a surface heparinized artificial lung. *Anesthesiology* 1987; 67: 117-120).

Mezcla de perlas con diferentes funcionalidades de superficie

La heparina se conoce bien por ser un carbohidrato biológicamente activo que se puede unir a citocinas, agentes patógenos y muchas otras proteínas. Además, la heparina tiene la ventaja de ser segura ya que se conoce también como anticoagulante. Los fabricantes han revestido dispositivos médicos con heparina durante años para mejorar su seguridad. Por lo tanto, la superficie heparinizada en los cartuchos de adsorción descritos en el presente documento proporciona tanto seguridad como eficacia al dispositivo para retirar sustancias perjudiciales de la sangre y otros fluidos biológicos.

Además de la heparina y el sulfato de heparina, hay otros carbohidratos biológicamente activos que pueden retirar diferentes tipos de sustancias perjudiciales de la sangre y fluidos biológicos. Otros carbohidratos de interés incluyen ácido siálico, sulfato de heparano, sulfato de condroitina, sulfato de dermatan, y ácido hialurónico. Sin embargo, estos carbohidratos de superficie pueden ser significativamente menos compatibles que las superficies heparinizadas y pueden dar lugar a un aumento de trombogenicidad. Un cartucho que contiene como adsorbente bioactivo estas superficies de carbohidratos adicionales se podría ensamblar para retirar diferentes mediadores del cáncer de la sangre, sin embargo, debido al riesgo de coagulación del dispositivo, el paciente necesitaría una alta dosis de anticoagulante sistémico que podría dar lugar a un riesgo de hemorragia.

Agregando un cartucho de adsorción con superficies heparinizadas y de química de carbohidratos, se pueden retirar muchos mediadores del cáncer diferentes de la sangre o fluido biológico mientras que se mantiene la seguridad del dispositivo.

Uso de un cartucho heparinizado durante la cirugía de la extirpación tumoral

Cuando se extirpa un tumor, existe un alto potencial de liberación de células cancerosas metastáticas en la circulación sanguínea que pueden diseminar el cáncer a partes adicionales del cuerpo. Se utiliza un cartucho heparinizado para retirar células circulantes durante y después del procedimiento quirúrgico. El caudal de sangre a través del circuito se mantiene a 150 ml/min. Tras completar la cirugía, el cartucho continúa limpiando la sangre durante 2 o más horas para retirar las células tumorales.

Uso de un cartucho heparinizado para las células tumorales circulantes

En combinación con un ensayo que detecte las células tumorales circulantes en pacientes con cáncer, se utiliza un cartucho heparinizado para retirar selectivamente el tumor circulante. La filtración se inicia cuando un biosensor o bioensayo, sensible a las células tumorales, detecta la presencia de células tumorales en la sangre. Un ejemplo de una tecnología de detección de células tumorales circulantes aprobada por la FDA es el ensayo Cell-Search® Circulating Tumor Cell (CTC) de Veridex.

Uso de cartucho heparinizado para retirar heparanasas circulantes

Las heparanasas también están implicadas en la metástasis del cáncer degradando los segmentos HS en la ECM lo que compromete entonces las células endoteliales para la invasión de células tumorales. Se utiliza un cartucho heparinizado para retirar selectivamente las heparanasas para proteger la ECM. La filtración se inicia cuando un biosensor o bioensayo, sensible a la heparanasa, detecta la presencia de heparanasa.

Uso de un cartucho heparinizado en combinación con radiación y quimioterapia

5 Los factores de crecimiento tales como VEGF y factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) están implicados en la angiogénesis cancerosa. Se utiliza un cartucho heparinizado para retirar selectivamente factores de crecimiento para evitar la angiogénesis. La filtración se inicia cuando un biosensor o bioensayo, sensible a los factores de crecimiento, detecta la presencia de factores de crecimiento.

Uso del cartucho heparinizado en combinación con radiación y quimioterapia

10 El cartucho de adsorción heparinizado puede unirse a mediadores del cáncer circulantes en la sangre, sin embargo no puede tratar el tumor o células cancerosas que no están circulando en la sangre. El cartucho heparinizado se puede utilizar en combinación con la terapia del cáncer tradicional tal como radiación y quimioterapia. La radiación o quimioterapia puede tratar los tumores no circulantes y las células cancerosas mientras que el cartucho heparinizado retira los mediadores del cáncer circulante.

15 *Otros ejemplos*

20 Un dispositivo de acuerdo con la presente invención también puede tener otras formas, dependiendo del ambiente específico en que se utilice el dispositivo:

1) Dispositivos para llevar puestos y portátiles integrados, tales como:

- 25
- a. Cartucho heparinizado optimizado para baja caída de la presión impulsado por la presión arterial.
 - b. Para llevar puesto durante una duración prolongada cuando el riesgo de metástasis es alto.
 - c. Sistema de intercambio de cartucho simple para su uso en casa.
 - d. Sensores para cerrar válvulas en caso de formación de coágulos.
 - e. Diagnóstico sobre la marcha.

30 El método a que se refiere la invención permite acceder a la sangre del sistema vascular, por ejemplo, antes, durante y/o después de la cirugía tumoral, permitiendo de esta manera la captura inmediata de mediadores liberados en un sitio tumoral.

35 Siendo la invención descrita de esta manera, será evidente para un experto habituado en la técnica que se pueden hacer distintas modificaciones de los materiales y métodos para la práctica de la invención. Dichas modificaciones se tienen que considerar en el alcance de la invención según se define en las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un sustrato sólido revestido de heparina y/u otros carbohidratos para su uso en i) la retirada de células cancerosas circulantes de la sangre de un mamífero; o ii) en el tratamiento de la progresión del cáncer retirando mediadores del cáncer de la sangre de un mamífero; extrayendo la sangre de un mamífero y poniendo en contacto la sangre de un mamífero con el sustrato sólido revestido de heparina y/u otros carbohidratos de manera que los mediadores del cáncer y/o las células cancerosas circulantes se unan a un sitio de unión de la heparina y/u otros carbohidratos, en donde los mediadores del cáncer se seleccionan de entre el grupo que consiste en factores de crecimiento circulantes que contribuyen a la angiogénesis de tumores, heparanasas circulantes que degradan los segmentos de sulfato de heparano en las paredes celulares endoteliales que pueden dar lugar a la invasión celular tumoral, y la fibrina o la trombina circulantes que dan lugar a tromboembolia venosa, en donde la sangre del mamífero se devuelve al mamífero después de ponerla en contacto con el sustrato sólido revestido de heparina y/u otros carbohidratos.
2. El sustrato sólido revestido de heparina y/u otros carbohidratos para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende:
- retirar los mediadores del cáncer y/o las células cancerosas circulantes de la sangre de un mamífero que se ha sometido a cirugía, en donde los mediadores del cáncer y/o células cancerosas circulantes han sido generados por la cirugía, poniendo en contacto la sangre de un mamífero con el sustrato sólido revestido de heparina y/u otros carbohidratos y devolviendo la sangre al mamífero.
3. El sustrato sólido revestido de heparina y/u otros carbohidratos para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde uno o más mediadores del cáncer se seleccionan de entre el grupo que consiste en factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF), heparanasas, pro-uPA (proteína activadora del plasminógeno pro-urinario), plasminógeno y trombina.
4. El sustrato sólido revestido de heparina y/u otros carbohidratos para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde dicho contacto de la sangre de un paciente se lleva a cabo durante y/o después de una cirugía para retirar un tumor.
5. El sustrato sólido revestido de heparina y/u otros carbohidratos para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde las células cancerosas circulantes generadas por la cirugía del tumor se retiran de la sangre del mamífero.
6. El sustrato sólido revestido de heparina y/u otros carbohidratos para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicho sustrato revestido se utiliza en combinación con radiación o quimioterapia.
7. El sustrato sólido revestido de heparina y/u otros carbohidratos para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde se lleva a cabo un ensayo diagnóstico para detectar células tumorales circulantes.
8. Un dispositivo que comprende un sustrato sólido en un recipiente, teniendo el sustrato sólido uno o más adsorbentes polisacarídicos para su uso en i) la retirada de células cancerosas circulantes de la sangre de un mamífero; o ii) en el tratamiento de la progresión de un cáncer retirando uno o más mediadores del cáncer de la sangre, extrayendo sangre de un mamífero y poniendo en contacto la sangre de un mamífero con dicho sustrato sólido que tiene uno o más adsorbentes polisacarídicos en la superficie del mismo con un sitio de unión que tiene una afinidad de unión por uno o más mediadores del cáncer, en donde dicho sustrato es lo suficientemente rígido para que la sangre no pase a través de poros en dicho sustrato, en donde el tamaño del poro intersticial entre partes individuales de dicho sustrato y la cantidad de área de superficie intersticial del sustrato es de tal manera que cuando la sangre está en el flujo en contacto con dicho sustrato a una velocidad de flujo lineal a través de dicho dispositivo de al menos 24 cm/min, dichos uno o más mediadores del cáncer se unen a dichos uno o más adsorbentes polisacarídicos para separarlos de dicha sangre y el transporte de flujo de dicha sangre a través de dicho dispositivo por el que pasa dicho sustrato es por transporte de convección más que por transporte de difusión browniana, en donde el uno o más mediadores del cáncer se seleccionan de entre el grupo que consiste en células cancerosas circulantes, factores de crecimiento circulantes que contribuyen a la angiogénesis de tumores, heparanasas circulantes que degradan los segmentos de sulfato de heparano de las paredes celulares endoteliales que pueden dar lugar a la invasión de células tumorales, y la fibrina o la trombina circulantes que dan lugar a tromboembolia venosa, en donde la sangre del mamífero se devuelve al mamífero después de ponerla en contacto con el sustrato sólido.
9. El dispositivo para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dicho sustrato comprende una columna empaquetada de perlas o partículas rígidas no porosas, una columna empaquetada con una espuma reticulada rígida, una columna empaquetada con un lecho monolítico rígido de perlas sinterizadas u otro medio sólido sinterizado con canales de flujo internos, una columna empaquetada con una tela rígida tejida o no tejida, una columna empaquetada con un hilo rígido u opcionalmente fibras mono-filamento huecas, un cartucho enrollado en espiral o una combinación de al menos dos miembros seleccionados de entre el grupo que consiste en perlas,

espuma reticulada rígida, perlas sinterizadas, tela, hilo y monofilamentos.

10. El dispositivo para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el sustrato sólido comprende perlas de polietileno revestidas de uno o más polisacáridos.

5 11. El dispositivo para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el al menos uno de dichos polisacáridos se selecciona de entre el grupo que consiste en heparina, sulfato de heparano, ácido hialurónico, ácido siálico, carbohidratos con secuencias de manosa, y quitosano.

10 12. El dispositivo para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que al menos uno de dichos polisacáridos es heparina.

13. El dispositivo para su uso de acuerdo con la reivindicación 8 en donde el dispositivo es un dispositivo portátil integrado para llevar puesto.

15 14. El dispositivo para su uso de acuerdo con la reivindicación 8 en donde el dispositivo tiene una baja caída de presión y un cartucho heparinizado bombeado por la presión arterial.

20 15. El dispositivo para su uso de acuerdo con la reivindicación 8 en donde el dispositivo comprende un sensor para cerrar las válvulas en el caso de formación de un coágulo.