

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 576 977**

51 Int. Cl.:

B01D 11/00 (2006.01)

A61M 1/36 (2006.01)

A61M 1/34 (2006.01)

A61M 1/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.08.2012 E 12822387 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.05.2016 EP 2741834**

54 Título: **Empobrecimiento integrado de leucocitos, oxígeno y/o CO₂ y dispositivo de filtro de separación de plasma**

30 Prioridad:

10.08.2011 US 201161522168 P

10.08.2011 US 201161522157 P

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

12.07.2016

73 Titular/es:

NEW HEALTH SCIENCES, INC. (100.0%)
6903 Rockledge Drive, Suite 230
Bethesda, MD 20817-1818, US

72 Inventor/es:

YOSHIDA, TATSURO y
VERNUCCI, PAUL

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 576 977 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

Empobrecimiento integrado de leucocitos, oxígeno y/o CO₂ y dispositivo de filtro de separación de plasma

5 Solicitudes relacionadas

La presente divulgación reivindica el beneficio de prioridad de la Solicitud Provisional de Estados Unidos n.º 61/522.168 titulada "Integrated Leukocyte, Oxygen and/or CO₂ Depletion, and Plasma Separation Filter Device", presentada el 10 de agosto de 2011 y la Solicitud Provisional de Estados Unidos n.º 61/522.157 titulada "Leukoreduction and Oxygen Depletion Device", presentada el 10 de agosto de 2011, y es una CIP de la Solicitud de Patente de Estados Unidos n.º serie 12/901.350, presentada el 10/8/2010, titulada "Blood Storage Bag System and Depletion Devices with Oxygen and Carbon Dioxide Depletion Capabilities", que reivindica el beneficio de prioridad de la Solicitud Provisional de Estados Unidos n.º 61/331.693, presentada el 5 de mayo de 2010, y es una CIP de la Solicitud de Patente de Estados Unidos n.º 12/903.057, presentada el 10/12/2010, titulada "Oxygen Depletion Devices and Methods for Removing Oxygen from Red Blood Cells", que reivindica el beneficio de prioridad de la Solicitud Provisional de Estados Unidos n.º 61/250.661 presentada el 10/12/2009 y reivindica el beneficio de prioridad de la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos n.º 61/410.684 presentada el 5 de noviembre de 2010.

20 Campo de la divulgación

La presente divulgación se refiere en general a e incluye un empobrecimiento integrado de leucocitos, oxígeno y/o CO₂ y dispositivo de filtro de separación de plasma. Más particularmente, la presente divulgación se refiere a e incluye el almacenamiento anaerobio prolongado de glóbulos rojos empaquetados en forma líquida de la colección de un donante para transfusión a un receptor usando este empobrecimiento integrado de leucocitos, oxígeno y/o CO₂ y dispositivo de filtro de separación de plasma.

Antecedentes de la divulgación

30 Los suministros de sangre líquida están limitados en la actualidad por sistemas de almacenamiento usados en práctica de almacenamiento de sangre convencional. Usando sistemas actuales, la sangre almacenada caduca después de un periodo de aproximadamente 42 días de almacenamiento refrigerado a una temperatura por encima de la congelación (es decir, 4 °C) como preparaciones de células sanguíneas empaquetadas. La sangre expirada no puede usarse y debe descartarse porque perjudicará al receptor último. Una de las principales razones para el deterioro de la sangre es su actividad metabólica continuada después de almacenarse. Por ejemplo, en 2007, se recogieron más de 45 millones de unidades de glóbulos rojos empaquetados (pRBC) y se almacenaron globalmente (15,6 millones en Estados Unidos). Durante el almacenamiento refrigerado, todos estos pRBC se dañaron progresivamente por lesiones de almacenamiento. Cuando se transfundieron dentro del límite actual de 6 semanas, los pRBC almacenados tienen menor calidad (fracción de pRBC retirada; capacidad de suministros de O₂ comprometida) así como toxicidad potencial, con frecuencia manifestada como efectos secundarios de terapia de transfusión. Estas lesiones de almacenamiento se observan como parámetros bioquímicos y físicos alterados asociados con células almacenadas. Estas lesiones de almacenamiento se observan como parámetros bioquímicos y físicos alterados asociados con células almacenadas. Los ejemplos de estos parámetros medidos *in vitro* incluyen niveles de metabolitos reducidos (ATP y 2,3-DPG), área de superficie reducida, equinocitosis, exposición a fosfatidilserina y deformabilidad reducida.

Los glóbulos rojos humanos (RBC) *in vivo* están en un estado dinámico. En sangre completa, están normalmente presentes glóbulos blancos en el intervalo de entre 4.300 y 10.800 células/μl y el intervalo de RBC normal al nivel del mar es de 5,4 millones/μl (± 0,8) para hombres y 4,8 millones μl (± 0,6) para mujeres. Los glóbulos rojos contienen hemoglobina, la proteína que contiene hierro que transporta el oxígeno a través del cuerpo y proporciona a la sangre su color rojo.

La sangre almacenada experimenta deterioro continuo que está causado parcialmente por hemólisis, degradación de hemoglobina y la concentración de adenosina trifosfato (ATP) reducida que sucede durante el periodo de almacenamiento. Estas razones y otras limitan la cantidad de sangre de alta calidad fácilmente disponible necesaria para transfusiones.

60 Cuando se almacenan pRBC a 1-6 °C (condición de almacenamiento convencional) en una bolsa de almacenamiento de sangre, lejos de la tensión mecánica y el ambiente de ciclación constante de la circulación, el proceso de senescencia se suspende parcialmente. Sin embargo, con la falta de reabastecimiento de nutrientes constante y retirada de residuos en almacenamiento refrigerado, los pRBC se dañan gradualmente, dando como resultado funciones fisiológicas comprometidas. Los siguientes problemas aparecen durante el almacenamiento prolongado:

65 a. Cuando se almacenan pRBC durante un periodo prolongado, se acumulan lesiones de almacenamiento y deterioran los pRBC y provocan que hasta 1 % de pRBC se hemolise durante el almacenamiento y hasta el 25 %

se retire poco después de la transfusión.

b. pRBC no viables provocan sobrecarga de hierro en pacientes con transfusión crónica.

c. La transfusión no siempre consigue el resultado pretendido de aumento de la perfusión tisular.

- 5
- La hemoglobina en pRBC no libera oxígeno eficazmente en tejidos debido a la pérdida de 2,3-DPG.
 - pRBC no son capaces de entrar y perfundir en lechos capilares debido a pérdida de deformabilidad.

La transfusión de pRBC almacenados durante periodos más largos puede dar como resultado mayor morbilidad y estancias en hospital más largas en comparación con transfusión de glóbulos rojos “más nuevos”.

10 La alta morbilidad y estancias en hospital más largas resultan con pRBC que se almacenan durante más de 2-3 semanas, en comparación con glóbulos rojos más nuevos. Por ejemplo, se producen resultados clínicos negativos en cirugía cardíaca cuando se usa sangre “más vieja”; el fallo orgánico múltiple en pacientes quirúrgicos que refleja la edad de glóbulos rojos trasfundidos; la correlación entre unidades más viejas y mortalidad aumentada en septicemia grave; incapacidad de mejorar la utilización de O₂ atribuida a 2,3-DPG reducido e índice cardíaco reducido asociado con aumento de la viscosidad sanguínea.

15 Las pruebas sugieren que la ineficacia y las consecuencias negativas de transfusión son atribuibles al menos en parte a los efectos de deterioro de almacenamiento prolongado de pRBC. Además de la retirada inmediata por el receptor de ciertos pRBC, las consecuencias de lesiones de almacenamiento de pRBC incluyen: (i) Empobrecimiento de ATP (pérdida de la capacidad de RBC para dilatar la arteriola pre-capilar); (ii) Empobrecimiento de 2,3-DPG; (iii) Acumulación de daño oxidativo provocado por especies de oxígeno reactivas (ROS) formadas por la reacción de hemoglobina desnaturalizada con O₂; y (iv) Deformabilidad de pRBC reducida y viscosidad de pRBC aumentada provocado en parte por el daño oxidativo a la membrana y al citoesqueleto. Los pRBC menos deformables se excluyen de canales capilares dando como resultado baja ocupación capilar y perfusión tisular reducida. La transfusión masiva de células indeformables también puede contribuir a fallo orgánico múltiple por bloqueo de los lechos capilares de los órganos. Después de la transfusión, se sintetiza 2,3-DPG relativamente rápido *in vivo* hasta ~50 % del nivel normal en tan poco como 7 horas y hasta ~95 % del nivel normal en 2-3 días. Sin embargo, ya que las células con un empobrecimiento de 2,3-DPG no recuperan sus niveles inmediatamente, la capacidad de transporte de O₂ se deteriora en perjuicio de pacientes críticamente enfermos que requieran suministro de O₂ inmediato y perfusión tisular. Hay numerosos informes que enfatizan la importancia de pRBC con alta capacidad de transporte de oxígeno en dichas situaciones clínicas.

20 En la actualidad los glóbulos rojos empaquetados (pRBC) preparados a partir de sangre completa o de técnicas de aféresis se someten a procesamiento secuencial para empobrecer el plasma, leucocitos y oxígeno. Esto dará como resultado un tiempo de procesamiento aumentado y pérdida de glóbulos rojos.

25 La presente divulgación supera las desventajas del procesamiento secuencial convencional de glóbulos rojos mediante el desarrollo de un dispositivo de filtro que combina las tres etapas de empobrecimiento en un único dispositivo integrado.

Sumario de la divulgación

30 La presente divulgación proporciona e incluye un dispositivo de filtro de sangre que tiene una carcasa con una pared externa, una entrada, una primera salida y una segunda salida, una membrana capaz de separar el plasma de la sangre formando una cámara interna, un medio de empobrecimiento de leucocitos y O₂ en una cámara interna, una cámara externa entre la pared externa y la membrana para recoger plasma que permea a través de la membrana y sale a través de una primera salida y una segunda salida para recoger glóbulos rojos empaquetados empobrecidos en leucocitos y O₂ de la cámara interna.

35 La presente divulgación proporciona además e incluye un dispositivo de filtro de sangre que tiene una carcasa con una pared externa, una entrada, una primera salida y una segunda salida, una membrana capaz de separar el plasma de la sangre formando una cámara interna, un medio de empobrecimiento de leucocitos, O₂ y CO₂, en una cámara interna, una cámara externa entre la pared externa y la membrana para recoger plasma que permea a través de la membrana y sale a través de una primera salida y una segunda salida para recoger glóbulos rojos empaquetados empobrecidos en leucocitos y O₂ de la cámara interna.

40 La presente divulgación proporciona además e incluye un dispositivo de filtro de sangre que tiene una carcasa con una pared externa, una entrada, una primera salida y una segunda salida, una membrana capaz de separar el plasma de la sangre formando una cámara interna, un medio de empobrecimiento de leucocitos, O₂, CO₂ y plaquetas en una cámara interna, una cámara externa entre la pared externa y la membrana para recoger plasma que permea a través de la membrana y sale a través de una primera salida y una segunda salida para recoger glóbulos rojos empaquetados empobrecidos en leucocitos y O₂ de la cámara interna.

45 La divulgación proporciona además e incluye un dispositivo de filtro integrado que comprende un medio de filtro que es capaz de empobrecer tanto oxígeno y/o CO₂ como leucocitos, permitiendo al mismo tiempo que el plasma

permea a través de una parte del medio de filtro, produciendo de este modo glóbulos rojos concentrados o empaquetados y plasma separado.

La divulgación proporciona además e incluye un dispositivo de filtro de sangre que comprende: una carcasa que comprende una pared externa y primer y segundo recubrimientos finales, en la que el primer recubrimiento final comprende una entrada y el segundo recubrimiento final comprende al menos una primera y segunda salida; una membrana que es capaz de separar el plasma de la sangre, en la que la membrana forma una cámara interna; un medio de empobrecimiento de leucocitos y oxígeno/dióxido de carbono dispuesto en el que la cámara interna, el medio de empobrecimiento de leucocitos y oxígeno/dióxido de carbono es capaz de empobrecer leucocitos y oxígeno y/o dióxido de carbono de la sangre; una cámara externa dispuesta entre la pared externa y la membrana, en la que el plasma que permea a través de la membrana entra en la cámara externa y sale del dispositivo de filtro a través del primer orificio de salida; por lo que la sangre que se ha empobrecido en oxígeno y/o dióxido de carbono, y leucocitos, así como separado de plasma sale del dispositivo de filtro a través de la segunda salida.

Breve descripción de los dibujos

la FIG. 1 ilustra un diagrama de flujo de los componentes y etapas de procesamiento de recogida de sangre a transfusión usando un sistema de almacenamiento anaerobio de sangre desechable que incluye empobrecimiento integrado de leucocitos, oxígeno/dióxido de carbono y dispositivo de filtro de separación de plasma de acuerdo con la presente divulgación;

la FIG. 2 es una representación esquemática de un sistema ejemplar que incluye un dispositivo de filtro de leucorreducción/retirada de oxígeno/CO₂ de acuerdo con la presente divulgación;

la FIG. 3 es una representación esquemática de un dispositivo integrado de empobrecimiento de leucocitos, oxígeno/dióxido de carbono y filtro de separación de plasma de acuerdo con la presente divulgación;

la FIG. 4 es una representación esquemática de un sistema ejemplar para almacenamiento de sangre que incorpora el dispositivo integrado de empobrecimiento de leucocitos, oxígeno/dióxido de carbono y filtro de separación de plasma de acuerdo con la presente divulgación;

la FIG. 5 ilustra el flujo por etapas de O₂ durante proceso de empobrecimiento de O₂ de los RBC y plasma para absorción por un medio de empobrecimiento;

las FIGS. 6A y 6B ilustran una vista en sección transversal parcial de una parte de entrada de sangre completa del dispositivo de combinación de filtro de leucorreducción y empobrecimiento de oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono (dispositivo del leucorreducción/empobrecimiento de O₂/CO₂) de acuerdo con un sistema ejemplar de la Fig. 2;

la Fig. 7 muestra una sección transversal de una fibra ejemplar de medio de leucorreducción y empobrecimiento de oxígeno/CO₂ del dispositivo en las FIGS. 6A y 6B; y

las FIGS. 8A a 8D ilustran un dispositivo de Empobrecimiento de Leucocitos/Plaquetas/Oxígeno/Dióxido de Carbono ejemplar de acuerdo con la presente divulgación.

Descripción detallada

Definiciones:

Sangre Donante Completa. La sangre completa se dona preferentemente de un individuo sano o donante 15 y se mantiene en un banco de sangre para uso posterior para usar en última instancia por un receptor 50. Los pacientes que tienen cirugía programada pueden donar sangre para sí mismos en un proceso conocido como donación de sangre autóloga. Como alternativa, la sangre se dona para su uso por otro en un proceso conocido como transfusión heteróloga.

Sangre completa. La sangre completa es una suspensión de células sanguíneas que contiene glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas suspendidas en un líquido llamado plasma, que contiene electrolitos, hormonas, vitaminas y anticuerpos.

Sangre empobrecida. Como se usa en el presente documento, la sangre empobrecida se refiere a sangre empobrecida en uno o más componentes hallados en sangre de donante completa o sangre completa. La sangre empobrecida incluye sangre empobrecida en O₂, CO₂, leucocitos, plaquetas, fragmentos celulares, hierro o hemo libre. La sangre empobrecida se prepara por la retirada de componentes directa o indirectamente por filtración, unión y rociado. La sangre empobrecida puede incluir opcionalmente aditivos, incluyendo por ejemplo, anticoagulantes, azúcares, tampones, sales o ATP. Se describen aditivos ejemplares en la Solicitud de Estados Unidos n.º 10/295.781, presentada el 15 de noviembre de 2002, titulada "Solución aditiva para conservación de sangre".

Glóbulos rojos empaquetados (pRBC). El porcentaje de volumen sanguíneo compuesto de glóbulos rojos se denomina el hematocrito. Los glóbulos rojos empaquetados son células obtenidas de sangre completa o sangre de donante completa que tienen un hematocrito aumentado en relación con el material de partida de sangre completa o sangre de donante completa. Los glóbulos rojos empaquetados (pRBC) pueden prepararse a partir de sangre completa usando técnicas de centrifugación habitualmente conocidas en este campo. También pueden prepararse glóbulos rojos empaquetados usando métodos de filtración. Los glóbulos rojos empaquetados son el componente

sanguíneo que se almacenará en el sistema de almacenamiento único de la presente divulgación para transfusión posterior. Los glóbulos rojos empaquetados pueden contener solución aditiva. Los glóbulos rojos empaquetados también pueden recogerse por técnicas de aféresis de modo que los componentes se separen durante la recogida.

5 Anaerobio y empobrecido en oxígeno. Las expresiones anaerobio y empobrecido en oxígeno se usan indistintamente a lo largo de la presente solicitud y se refieren a un ambiente para pRBC y plasma en el que la presencia de oxígeno se reduce activamente hasta un nivel de oxígeno bajo por el tratamiento con sorbente de oxígeno y después se mantiene en presencia de sorbente de oxígeno. En otros aspectos, la presencia de oxígeno puede reducirse activamente hasta un nivel de oxígeno bajo mediante el tratamiento con sorbente de oxígeno y después mantenerse en recipientes de almacenamiento impermeables a oxígeno, por ejemplo una bolsa de almacenamiento. Pueden encontrarse bolsas de almacenamiento ejemplares, por ejemplo, en la Solicitud de Estados Unidos n.º 12/901.350, presentada el 8 de octubre de 2010, titulada "Blood Storage Bag System and Depletion Devices with Oxygen and Carbon Dioxide Depletion Capabilities". Se usa anaerobio y empobrecido en oxígeno en referencia a dispositivos de empobrecimiento de oxígeno y de almacenamiento de oxígeno a lo largo de la presente divulgación. También puede empobrecerse en dióxido de carbono de pRBC anaerobios o empobrecidos en oxígeno.

La vida útil normal de un RBC es 120 días. Aproximadamente 0,875 % de los RBC se retiran cada 24 horas por el bazo y se preparan nuevos RBC por la médula ósea. En consecuencia, cuando se extrae sangre de un donante, hay un espectro de células de diferentes edades.

Una función del RBC es cambiar oxígeno y dióxido de carbono en pulmón y tejidos, y a diferencia de otras células en el cuerpo, no se basa en el oxígeno en fosforilación oxidativa sino completamente en glucólisis para producción de ATP. El ATP es crítico para la viabilidad de los RBC y junto con 2,3-DPG, sus concentraciones citosólicas libres están estrechamente reguladas por su función en la inhibición de la retroalimentación para enzimas clave en la ruta glucolítica. En condiciones de almacenamiento refrigeradas, es deseable la desinhibición de la ruta glucolítica para superar el empobrecimiento gradual de ATP y 2,3-DPG a lo largo de varias semanas de almacenamiento. La concentración de hemoglobina en RBC es similar a 2,3-DPG y ATP, y su estado desoxigenado tiene un bolsillo de unión con altas afinidades por 2,3-DPG y ATP en comparación con oxi-hemoglobina. Por lo tanto, la reducción de este oxígeno a un % de ocupación bajo (~60 % ocupado cuando se recoge y se procesa) provocará captación de 2,3-DPG y ATP, dando como resultado concentración reducida de moléculas libres, estimulando el flujo glucolítico.

Plaquetas. Las plaquetas son componentes celulares pequeños de sangre que facilitan el proceso de coagulación pegándose al revestimiento de los vasos sanguíneos. Las plaquetas, como los glóbulos rojos, se realizan por la médula ósea y sobreviven en el sistema circulatorio durante 9 a 10 días antes de retirarse por el bazo. Las plaquetas se preparan típicamente usando una centrífuga para separar las plaquetas del plasma.

Plasma. El plasma es una solución salina de proteínas y la parte líquida de la sangre en la que se suspenden glóbulos blancos y rojos y plaquetas. El plasma es 90 % agua y constituye aproximadamente el 55 % del volumen sanguíneo. Una de las funciones principales del plasma es ayudar en la coagulación sanguínea e inmunidad. El plasma se obtiene separando la parte líquida de la sangre de las células. Típicamente, el plasma se separa de las células por centrifugación. La centrifugación es el proceso usado para separar los componentes de la sangre completa en el plasma, los glóbulos blancos, las plaquetas y los glóbulos rojos empaquetados. En algunos casos, el plasma se fraccionará inicialmente a la parte superior de un recipiente durante una centrifugación ligera. Esta fracción ligera se retira entonces del recipiente y se separan el plasma y las plaquetas y se recogen por centrifugaciones adicionales. En algunos casos se retiran glóbulos blancos y plaquetas por un filtro de reducción de leucocitos para producir pRBC leucorreducidos. La presente divulgación proporciona una alternativa eficaz al uso de una centrífuga que minimiza el coste de instrumentación usada tradicionalmente.

Edición. La edición de pRBC es el proceso de identificar y retirar células sanguíneas que tienen una escasa probabilidad de sobrevivir al proceso de transfusión o probablemente mueran poco después de la transfusión. La edición de glóbulos rojos muertos o moribundos puede emplearse usando, por ejemplo, un dispositivo de tipo filtro. En algunos aspectos, la edición puede ser muy importante porque una causa principal de morbilidad y mortalidad para pacientes receptores de transfusión es la parte no viable de la sangre que se transfunde independientemente de cualquier transmisión de patógenos. La importancia de la edición aumenta a medida que aumenta la edad del producto de sangre almacenado.

La presente divulgación incluye y proporciona en un aspecto un sistema integrado y método para la preparación y almacenamiento prolongado de glóbulos rojos empaquetados (pRBC), desde la recepción de sangre completa de un donante hasta la transfusión a un receptor, como se muestra en la FIG. 1 y como se describe por diagrama de flujo, y se hace referencia por el número de referencia 10. El diagrama de flujo 10 describe un sistema 20 que incluye un adición de aditivos, empobrecimiento de oxígeno, dióxido de carbono u oxígeno y dióxido de carbono de pRBC antes y durante el almacenamiento, junto con tratamientos que incluyen leucorreducción, edición, reducción de patógenos, irradiación y tratamiento con óxido nítrico (NO) y adición de oxígeno para potenciar la calidad de pRBC almacenadas y para optimizar el procedimiento de transfusión a un receptor y reducir la morbilidad asociada con dicha transfusión.

En referencia los dibujos, y en particular a la FIG. 1, un diagrama de flujo 10 describe el sistema de almacenamiento de sangre 20 desde la recogida de un donante 15 hasta la transfusión a un receptor 50. El sistema 20 muestra un proceso que tiene tres fases durante las que se producen diferentes subprocesos o etapas. Las tres fases son Fase de Pre-almacenamiento A, Fase de Almacenamiento B y Fase de Post-almacenamiento C. Significativamente, pueden producirse diferentes etapas del proceso de almacenamiento de sangre 20 en diferentes fases para conseguir los resultados de transfusión de sangre óptima. Por ejemplo, la irradiación gamma puede realizarse opcionalmente durante la Fase de Pre-almacenamiento A antes del empobrecimiento de oxígeno y/o dióxido de carbono y separación de plasma 22, durante la Fase de Almacenamiento B o durante la Fase de Post-almacenamiento C. La Fase de almacenamiento B y parte de Fase de Pre-almacenamiento A y Fase de Post-almacenamiento C, se realizan significativamente durante un ambiente anaerobio. De forma similar, puede producirse edición durante la Fase de Pre-almacenamiento A o durante Fase de Post-almacenamiento C. Significativamente, la fase anaerobia incluye la Fase de Almacenamiento completa, la parte anaerobia de Fase A y la parte anaerobia de Fase C. El ambiente anaerobio tiene relaciones sinérgicas con etapas tales como la adición de óxido nítrico, irradiación gamma e inactivación de patógenos que proporcionan ventajas significativas a los RBC que deben producirse en dicho ambiente anaerobio, como se analizará posteriormente. En consecuencia, existen varias secuencias diferentes para el proceso de almacenamiento de sangre.

La Fase de Pre-almacenamiento A es el momento desde la recogida de un donante hasta el almacenamiento en un ambiente anaerobio. Durante la Fase A, se recoge sangre completa del donante 15, y los componentes sanguíneos, concretamente, plasma, plaquetas y RBC se separan. También se producen etapas tales como inactivación de patógenos, leucorreducción y edición durante la Fase de Pre-almacenamiento A. Durante la Fase A, se empobrecen oxígeno, plasma y leucocitos antes de la Fase de Almacenamiento B.

La Fase de Almacenamiento B es un periodo completamente anaerobio durante el que se almacenan pRBC empobrecidos en oxígeno, plasma y leucocitos en un ambiente anaerobio, por ejemplo, una bolsa sellada.

La Fase de Post-almacenamiento C, se produce antes de la transfusión al receptor 50. En consecuencia, durante esta fase se producen etapas tales como la reducción de volumen, edición, limpieza durante el intercambio de tampón, la adición de óxido nítrico o precursores de óxido nítrico o ambos y oxígeno. Estas etapas son significativas porque el receptor probablemente ya esté en una condición comprometida, por lo tanto los pRBC deben prepararse para aceptarse por el receptor en una condición óptima.

El periodo de tiempo de una fase o subfase debería ser típicamente tan corto como sea posible. En un aspecto, una fase o subfase es de menos de 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50 o 60 minutos. En otro aspecto, una fase o subfase es de menos de 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 3 horas o 5 horas. En un aspecto adicional, una fase o subfase es de entre 2 y 5 minutos, 5 y 10 minutos, 10 y 20 minutos o 20 y 30 minutos.

Puede diseñarse un método usando un dispositivo o dispositivos desvelados en el presente documento que adopta la combinación de las etapas descritas en el presente documento.

La presente divulgación proporciona e incluye un dispositivo de filtro de sangre que tiene una carcasa con una pared externa, una entrada, una primera salida y una segunda salida, una membrana capaz de separar el plasma de la sangre formando una cámara interna, un medio de empobrecimiento de leucocitos y O₂ en una cámara interna, una cámara externa entre la pared externa y la membrana para recoger plasma que permea a través de la membrana y sale a través de una primera salida y una segunda salida para recoger glóbulos rojos empaquetados empobrecidos de leucocitos y O₂ de la cámara interna.

Un ejemplo de un dispositivo integrado de filtro de empobrecimiento de leucocitos, oxígeno y plasma puede mostrarse y entenderse por referencia a la FIG. 3, en la que la sangre completa (glóbulos rojos desempaquetados) del recipiente o bolsa 61 entra en el dispositivo integrado de filtro de empobrecimiento de leucocitos, oxígeno y plasma 63 mediante la cámara de entrada al dispositivo 65 en la que los glóbulos rojos entran en contacto con medio de leucorreducción/empobrecimiento de oxígeno/dióxido de carbono 67 dispuesto dentro de la cámara interna 69. A medida que los glóbulos rojos migran de la cámara de entrada al dispositivo 65 a través de la cámara interna 69 y salen a través de la cámara de salida del dispositivo 71, los leucocitos y oxígeno y/o dióxido de carbono se empobrecen en los glóbulos rojos desempaquetados tratados de la bolsa 61. Simultáneamente, se separa el plasma de los glóbulos rojos desempaquetados a medida que atraviesa una cámara interna 69 y entra en contacto con al menos una membrana microporosa hidrófila 73. A continuación, el plasma separado se retira del dispositivo de filtro de separación de leucocitos, oxígeno y/o dióxido de carbono, y plasma 63 a través de un conducto 75 dispuesto entre la membrana microporosa hidrófila 73 y la cámara externa 77, y a continuación se almacena en un recipiente o bolsa de plasma 79. Los glóbulos rojos empaquetados empobrecidos en oxígeno y/o dióxido de carbono, leucocitos y plasma se retiran a continuación del dispositivo del filtro 63 a través de la cámara de salida del dispositivo 71 y a continuación se almacenan en el recipiente o la bolsa 81.

El medio de empobrecimiento de leucocitos/oxígeno y/o dióxido de carbono 67 puede comprender una estructura macroporosa diseñada para permitir que los glóbulos rojos desempaquetados fluyan a través de los poros de filtro con mínima adhesión, mientras que los leucocitos se retiran por adsorción y/o exclusión por tamaño. Pueden

formarse estructuras de acuerdo con la presente divulgación a partir de materiales fibrosos o espumosos que pueden ser de naturaleza orgánica o inorgánica. La química de superficie de estas estructuras puede alterarse para promover la adhesión de leucocitos. En algunos aspectos, las estructuras pueden no diseñarse para reaccionar con o absorber oxígeno y/o dióxido de carbono presente en el producto de pRBC.

En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, puede prepararse una carcasa a partir de un material rígido o flexible. En ciertos aspectos, la pared externa de una carcasa puede prepararse a partir de un material termoplástico. En un aspecto puede prepararse una carcasa a partir de polietileno, polipropileno, poliestireno, polivinil cloruro y politetrafluoroetileno (PTFE). En un aspecto, la carcasa puede prepararse a partir de copoliéster Easter™. En un aspecto, puede prepararse una carcasa a partir de polímero termoendurecible. En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, un polímero termoendurecible puede ser Bakelite™, Duroplast, Melamine, y resina de epoxi, poliimidas, ésteres de cianato o policianuratos. La presente divulgación proporciona e incluye carcacas que tienen una o más aperturas. En ciertos aspectos, el dispositivo de filtro de sangre puede tener una primera entrada que posibilita la entrada de sangre en el dispositivo. En un aspecto, la primera entrada puede también actuar como una salida que posibilita la retirada de la sangre empobrecida. En un aspecto, la sangre puede entrar a través de una primera entrada a la carcasa en la que el flujo se facilita por la presencia de un vacío. En otro aspecto, la primera entrada también puede actuar como una salida para posibilitar el escape de gas del dispositivo a medida que la sangre entra en el dispositivo. En un aspecto, la primera entrada puede actuar como una salida para posibilitar la recuperación de sangre empobrecida.

Las carcacas de la presente divulgación que tienen una o más aperturas pueden tener una primera entrada y una primera salida. En un aspecto, la primera entrada posibilita la entrada de la sangre en el dispositivo mientras que la primera salida posibilita el escape de gas o aire desplazado del dispositivo por la sangre completa o sangre de donante completa que entra. En un aspecto, la primera salida puede posibilitar además el flujo de la sangre empobrecida del dispositivo de filtro de sangre. En otros aspectos, la sangre empobrecida puede recuperarse de la primera entrada. En aspectos adicionales de la presente divulgación, la carcasa que tiene una o más aperturas puede tener una primera entrada, una primera salida y una segunda salida. En algunos aspectos, la primera o segunda salida puede posibilitar el escape de gas desplazado del dispositivo. En algunos aspectos, la primera salida puede posibilitar el flujo de plasma filtrado de una cámara externa del dispositivo. En otros aspectos, la primera salida puede posibilitar el flujo de plasma filtrado de una cámara interna del dispositivo. En un aspecto, el plasma filtrado que fluye de una primera salida o una segunda salida puede estar empobrecido en uno o más de O₂, CO₂, leucocitos, plaquetas, fragmentos celulares, hierro y hemo libre.

En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, la primera salida y la segunda salida pueden posibilitar el flujo de componentes de sangre separados. En un aspecto, el dispositivo posibilita la separación de la carcasa en una cámara interna y una cámara externa. En un aspecto, la primera salida puede posibilitar el flujo de plasma de una cámara externa de un dispositivo de filtro de sangre. En otro aspecto, la primera salida puede posibilitar el flujo de plasma de una cámara interna de un dispositivo de filtro de sangre. En algunos aspectos, la primera salida posibilita el flujo de pRBC del dispositivo de filtro de sangre y la segunda salida posibilita el flujo de plasma. En otros aspectos de acuerdo con la presente divulgación, los componentes sanguíneos que fluyen de las primeras y segundas salidas pueden ser sangre empobrecida. Las entradas y salidas de acuerdo con la presente divulgación pueden conectarse con tubos convencionales usados durante la recogida de sangre incluyendo tubos de sangre de PVC, 4,06 mm de DE.

La presente divulgación también incluye y proporciona sellos conectados con la primera entrada, primera salida, segunda salida, o combinaciones de las mismas. Se proporcionan ejemplos de sellos ejemplares en Jorgensen *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 6.439.577, expedida el 27 de agosto de 2002, titulada "Rotating Seals for Cell Processing Systems" y Latham, Jr. Patente de Estados Unidos n.º 4.086.924, expedida el 2 de mayo de 1978, titulada "Plasmapheresis Apparatus".

Membrana microporosa hidrófila

Se incluyen y se proporcionan en la presente divulgación dispositivos que tienen una membrana o membranas que son capaces de separar el plasma de la sangre. En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, una membrana puede ser una membrana microporosa hidrófila. En referencia a la FIG. 3, una membrana puede ser una membrana microporosa hidrófila 73 que puede rodear el medio de empobrecimiento de leucocitos/oxígeno y/o dióxido de carbono 67 que puede formar una cámara interna 69 en lugar del dispositivo de filtro 63. El lado corriente abajo de membrana microporosa hidrófila 73 puede conectarse con el recipiente 79 mediante un conducto 83. El recipiente 79 y el conducto 83 pueden transmitir una presión negativa en el lado corriente abajo de la membrana microporosa hidrófila 73 como también el recipiente 81 conectado al lado corriente arriba de la membrana 73 que puede usarse para recoger los glóbulos rojos anaerobios empaquetados o concentrados. Los recipientes 79 y 81 pueden situarse de manera suficiente para controlar la presión diferencial hidrostática a través de la membrana microporosa hidrófila 73, dando como resultado un método de control del factor de concentración de los glóbulos rojos.

En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, la membrana pueden formar una o más cámaras internas

dentro de la carcasa. En un aspecto, una membrana forma una cámara interna en la que la sangre entra en la cámara interna y el plasma permea a través de la membrana de la cámara interna a una cámara externa. Se ilustran aspectos ejemplares de dispositivos de la presente divulgación en las figuras como se describen posteriormente.

5 La membrana o el material de filtro puede contener un material absorbente de oxígeno y/o dióxido de carbono en el volumen de la masa de medio de filtro que tiene la capacidad de unirse con oxígeno y/o dióxido de carbono presente en una unidad de pRBC. Los materiales absorbentes de oxígeno y/o dióxido de carbono pueden tener la superficie externa modificada para aumentar la biocompatibilidad y adhesión de leucocitos, permitiendo al mismo tiempo la difusión de oxígeno y/o de dióxido de carbono a través de la superficie externa a la masa interna para unión. Las modificaciones de superficie pueden incluir injerto de radiación, polimerización de injerto, recubrimiento o encapsulación con polímero o métodos de derivatización de polímeros de química húmeda convencionales.

10 En un aspecto, la cámara interna 69 puede separarse de la cámara externa 77 en al menos una membrana 73. En un aspecto la membrana puede ser una membrana microporosa hidrófila 73. La membrana 73 puede permitir que el plasma fluya a la cámara externa 77, pero retiene glóbulos rojos. El caudal de plasma puede potenciarse rotando la cámara interna 69 dentro de la cámara externa 77 o rotando la cámara externa 77 alrededor de la cámara interna 69 para reducir la capa límite que podría desarrollarse. El plasma recogido en la cámara 77 puede fluir en la cámara de salida del dispositivo 71, conducto 83 y después puede recogerse en la bolsa de recogida 79. Los glóbulos rojos concentrados empobrecidos pueden fluir a la cámara de salida del dispositivo 71, conducto 87 y después a la bolsa de recogida de pRBC 81.

15 La membrana 73 puede formarse a partir de al menos un material seleccionado el grupo que consiste en: PVDF hecho hidrófilo, nylon, ésteres de celulosa, polisulfona, polietersulfona, polipropileno hecho hidrófilo y poliacrilonitrilo. En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, la membrana microporosa hidrófila puede ser una membrana multicapa. En un aspecto una membrana multicapa puede tener dos o más materiales de una combinación seleccionada del grupo que consiste en: PVDF hecho hidrófilo, nylon, ésteres de celulosa, polisulfona, polietersulfona, polipropileno hecho hidrófilo y poliacrilonitrilo. Las membranas de la presente divulgación pueden modificarse en superficie adicionalmente para controlar la adhesión celular, unión de proteínas y obstrucción. En algunos aspectos, una membrana puede modificarse para aumentar la hidrofilia. En un aspecto, un material de polisulfona puede combinarse con PVP para preparar membranas con hidrofilia aumentada. En un aspecto, la membrana puede prepararse a partir de polisulfona.

20 En un aspecto de acuerdo con la presente divulgación, la membrana 73 puede ser membrana microporosa hidrófila. En otros aspectos, la membrana 73 puede formarse a partir de más de una membrana microporosa hidrófila. En algunos aspectos, más de una membrana pueden fusionarse entre sí. En otros aspectos, más de una membrana pueden apilarse. En algunos aspectos, las membranas apiladas pueden separarse por un medio. En un aspecto, el medio puede ser un medio de empobrecimiento como se proporciona posteriormente.

25 En aspecto de acuerdo con la presente divulgación, la membrana puede ser de menos de 250 micrómetros de grosor. En un aspecto, la membrana puede ser de más de 25 micrómetros de grosor. En algunos aspectos la membrana puede ser de entre 25 y 250 micrómetros de grosor. En otros aspectos, la membrana puede ser de entre 25 y 100 o 25 y 150 micrómetros de grosor. En un aspecto, la membrana puede ser de entre 50 y 100 micrómetros de grosor, 75 y 100 micrómetros de grosor, 50 y 150 micrómetros de grosor, 75 y 150 micrómetros de grosor, 100 y 250 micrómetros de grosor, 150 y 250 micrómetros de grosor o entre 25 y 150 micrómetros de grosor.

30 Las membranas de acuerdo con la presente divulgación incluyen membranas porosas. En ciertos aspectos, la membrana puede ser microporosa. En algunos aspectos, los poros pueden ser de menos de 2 micrómetros de diámetro. Los microporos pueden ser de 0,5 a 2 micrómetros de diámetro. En otros aspectos los microporos pueden ser de más de 0,1 a 1,9 micrómetros de diámetro. En un aspecto, los microporos pueden ser de más de 0,2 y menos de 2 micrómetros. En otro aspecto, los microporos pueden ser de más de 0,2 y menos de 1,5 micrómetros. En algunos aspectos los microporos pueden ser mayores de 0,3 o 0,4 micrómetros. En otros aspectos, los microporos pueden ser de más de 0,5 o 0,6 micrómetros.

35 Medio de empobrecimiento de leucocitos/oxígeno y/o dióxido de carbono

40 Una función del dispositivo de acuerdo con la presente divulgación puede ilustrarse haciendo referencia a la FIG. 3, en la que sangre completa del recipiente 61 puede fluir al dispositivo mediante la primera cámara de entrada 65 a través del conducto 85. La sangre completa puede después fluir a través de un medio de empobrecimiento de leucocitos y oxígeno 67 contenido en la cámara interna 69. En un aspecto, el medio de empobrecimiento de leucocitos y oxígeno 67 puede proporcionar además e incluir empobrecimiento de CO₂. En otro aspecto más, el medio de empobrecimiento de leucocitos y oxígeno 67 puede proporcionar empobrecimiento de plaquetas. En algunos aspectos, el medio de empobrecimiento de leucocitos y oxígeno se une con y retiene leucocitos y O₂. En otros aspectos, el medio de empobrecimiento de leucocitos y oxígeno se une con y retiene leucocitos, O₂ y CO₂. En otro aspecto, el medio de empobrecimiento de leucocitos y oxígeno 67 puede unirse con plaquetas y leucocitos de la sangre completa y empobrecer O₂ de los glóbulos rojos. En otro aspecto más, el medio de empobrecimiento de leucocitos y oxígeno 67 puede unirse con plaquetas y leucocitos de la sangre completa y empobrecer O₂ y CO₂ de

los glóbulos rojos.

En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, el medio de empobrecimiento de O₂ puede ser materiales que retiran oxígeno de los RBC o extraen oxígeno de la sangre antes de almacenamiento. Puede usarse un eliminador de oxígeno para retirar el oxígeno de los RBC antes de almacenamiento en una bolsa de sangre. Como se usa en el presente documento, “eliminador de oxígeno” o “sorbente de oxígeno” es un material que se une con o combina con O₂ en las condiciones de uso. La expresión “absorbente de oxígeno” puede usarse indistintamente en el presente documento con eliminador de oxígeno. En ciertos aspectos de acuerdo con la presente divulgación, un material puede unirse a o combinar con oxígeno de forma irreversible. En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, un material se une con oxígeno con mayor afinidad que la hemoglobina. En otros aspectos, el oxígeno puede unirse con un material sorbente y tener una velocidad de liberación muy lenta, k_{off} . En un aspecto, el oxígeno puede reaccionar químicamente con algún componente de material y convertirse en otro compuesto. Cualquier material en el que la velocidad de disociación del oxígeno unido es mucho menor que el tiempo de residencia de la sangre puede actuar como un eliminador de oxígeno. Los ejemplos no limitantes de eliminadores de oxígeno incluyen polvos de hierro y compuestos orgánicos. Los ejemplos de sorbentes de O₂ incluyen quelados de cobalto, hierro y bases Schiff. Pueden encontrarse ejemplos no limitantes adicionales de sorbentes de O₂ en Bulow *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 7.347.887, expedida el 25 de marzo de 2008, titulada “Oxygen sorbent compositions and methods of using same”; Ramprasad, *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 5.208.335, expedida el 4 de mayo de 1993, titulada “Reversible oxygen sorbent compositions”; y Sievers, *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 4.654.053, expedida el 31 de marzo de 1987, titulada “Oxygen Sorbent”. Los materiales absorbentes de oxígeno pueden formar o incorporarse en fibras, microesferas y espumas.

En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, un absorbente puede ser un polímero orgánico oxidable que tiene una cadena principal polimérica y una pluralidad de grupos colgantes. Los ejemplos de absorbentes con una cadena principal polimérica incluyen un hidrocarburo saturado (<0,01 % de enlaces dobles carbono-carbono). En algunos aspectos, la cadena principal puede contener monómeros de etileno o estireno. En un aspecto, una cadena principal polimérica puede ser etilénica. En otro aspecto, un compuesto orgánico oxidable puede ser copolímero de etileno/vinil ciclohexeno (EVCH). Se proporcionan ejemplos adicionales de restos sustituidos y catalizadores en Yang *et al.*, Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 2003/0183801. En aspectos adicionales, un polímero orgánico oxidable también puede comprender restos de hidrocarburo sustituidos.

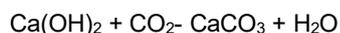
Los ejemplos de polímeros de eliminación de oxígeno incluyen los descritos en Ching *et al.*, Publicación de Patente Internacional WO9/48963. Los materiales de eliminación de oxígeno pueden incluir los proporcionados en Ebner *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 7.754.798, expedida el 13 de julio de 2010, titulada “Oxygen scavenger block copolymers and compositions”; Ebner *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 7.452.601 expedida el 18 de noviembre de 2008, titulada “Oxygen scavenger compositions derived from isophthalic acid/or terephthalic acid monomer or derivatives thereof”; Ebner *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 6.387.461, expedida el 14 de mayo de 2002, titulada “Oxygen scavenger Compositions”.

En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, pueden usarse composiciones eliminadoras de oxígeno en las micropartículas o microfibras. Por ejemplo, pueden incluirse partículas eliminadoras de oxígeno en fibras de leucorreducción convencionales compuestas de PBT o PET como se enseña en Clauberg *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 6.610.772, expedida el 26 de agosto de 2003, titulada “Platelet Particle Polymer Composite with Oxygen Scavenging Organic Cations”.

Como se usa en el presente documento, “eliminador de dióxido de carbono” es un material que se une con o combina con dióxido de carbono en las condiciones de uso. La expresión “sorbente de dióxido de carbono” puede usarse indistintamente en el presente documento con eliminador de dióxido de carbono. En ciertos aspectos de acuerdo con la presente divulgación, un material puede unirse con o combinar con CO₂ de forma irreversible. En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, un material puede unirse con CO₂ con mayor afinidad que la hemoglobina. En otros aspectos, un material sorbente puede unirse con CO₂ con alta afinidad de modo que el ácido carbónico presente en la sangre o el citoplasma de RBC se libera y absorbe por el sorbente. En otros aspectos, el CO₂ se une a un material sorbente y tiene una velocidad de liberación muy lenta, k_{off} . En un aspecto, el dióxido de carbono puede reaccionar químicamente con algún componente del material y puede convertirse en otro compuesto. Los eliminadores de dióxido de carbono incluyen óxidos metálicos e hidróxidos metálicos. Los óxidos metálicos reaccionan con agua para producir hidróxidos metálicos. El hidróxido metálico reacciona con dióxido de carbono para formar agua y un carbonato metálico. En un aspecto, el eliminador de dióxido de carbono puede ser óxido de calcio. Por ejemplo, si se usa óxido de calcio, el óxido de calcio reaccionará con agua que se añade al sorbente para producir hidróxido de calcio



El hidróxido de calcio reaccionará con dióxido de carbono para formar carbonato cálcico y agua.



En ciertos aspectos de la presente divulgación, el material de empobrecimiento puede combinar actividad de empobrecimiento tanto de O₂ como de CO₂ o eliminación. Los ejemplos no limitantes de eliminadores de CO₂

incluyen iluminadores de oxígeno y eliminadores de dióxido de carbono proporcionados por Multisorb Technologies (Buffalo, NY). Los eliminadores de oxígeno pueden mostrar una funcionalidad secundaria de eliminación de dióxido de carbono.

- 5 En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, el medio de empobrecimiento de O₂ y medio de empobrecimiento de CO₂ puede mezclarse a una relación deseada para conseguir resultados deseados.

10 En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, pueden formarse absorbentes dentro de los poros de microfibras de vidrio porosas. La encapsulación de complejos de metales de transición dentro de los poros de un material poroso puede conseguirse usando una síntesis de barco en una botella en la que la molécula final se prepara dentro de los poros haciendo reaccionar precursores más pequeños. Después de la síntesis, la molécula mayor puede permanecer "mecánicamente atrapada" y encapsulada dentro de los poros con alguna conformación y disposición restringidas. Una fibra compuesta de ftalocianina de cobalto/vidrio poroso para separación de oxígeno puede prepararse por síntesis de barco en una botella en la que la encapsulación de ftalocianina de cobalto en poros de fibras de vidrio poroso se consigue por deposición de vapor químico usando 1,2-dicianobenceno. Véase, Kuraoka, *et al.*, "Ship-in-a-bottle synthesis of a cobalt phthalocyanine/porous glass composite membrane for oxygen separation," *Journal of Membrane Science*, 286(1-2): 12-14 (2006).

20 En algunos aspectos, pueden fabricarse fibras de vidrio poroso como se proporciona en Beaver *et al*, Patente de Estados Unidos n.º 4.748.121, expedida con el título "Porous Glass Fibers with Immobilized Biochemically Active Material", incorporada en el presente documento por referencia en su totalidad. En otro aspecto, puede formarse un sorbente como un producto de lámina porosa usando equipamiento de fabricación de papel/húmedo no tejido. Las láminas con formulaciones de eliminación de O₂ pueden ser como se describe en Inoue, Patente de Estados Unidos n.º 4.769.175, expedida el 6 de septiembre de 1988, titulada "Sheet-like, Oxygen-scavenging Agent", pueden formarse y después encapsularse con una película de silicona.

25 La saturación de oxígeno más baja puede conseguirse usando dispositivos en los que el sorbente se coloca cerca de las fibras para permitir un tiempo de difusión rápido. Son factores adicionales que aumentan la difusión de oxígeno y/o dióxido de carbono el área de superficie activa mayor de fibras expuestas a materiales absorbentes. Las velocidades de eliminación de los eliminadores de oxígeno pueden limitarse por el área de superficie disponible para reacción con oxígeno y lo fácilmente que se difunde el oxígeno en el material eliminador. La disponibilidad de área de superficie puede aumentarse incorporando el eliminador en micropartículas o microfibras. Las estructuras porosas o de microhuecos también tienen áreas de superficie aumentadas disponibles para reacción con oxígeno.

35 En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, los absorbentes pueden prepararse como una estructura macroporosa. En algunos aspectos la estructura macroporosa puede ser un material fibroso, una espuma o una microesfera. Como se usa en el presente documento, una estructura macroporosa es un material o materiales que son porosos para partículas de aproximadamente 5 a 10 micrómetros. Una estructura macroporosa puede ser una fibra tejida, fibra aleatoria o un lecho empaquetado que tiene capas, un lecho empaquetado que tiene una mezcla heterogénea de partículas. Las estructuras macroporosas pueden incluir micro o macropartículas incluidas o atrapadas en una estructura fibrosa o de espuma.

40 En un aspecto, la estructura macroporosa puede comprender además una superficie de unión a leucocitos. En otro aspecto, la estructura macroporosa puede comprender además una superficie de unión a plaquetas. En algunos aspectos, la estructura macroporosa puede ser una mezcla de materiales sorbentes de O₂, leucocitos, CO₂ y plaquetas separados dispuestos juntos en combinación. En un aspecto, la estructura macroporosa puede ser una combinación de materiales sorbentes en un único material. En un aspecto, la estructura macroporosa puede ser un material de unión a O₂ y leucocitos combinado dispuesto junto con un material de unión a CO₂ para producir una estructura macroporosa de empobrecimiento de O₂, leucocitos y CO₂. En otro aspecto, la estructura macroporosa puede ser un material de unión de O₂ y CO₂ combinado recubierto con un material de unión a leucocitos para producir una estructura macroporosa de empobrecimiento de O₂, leucocitos y CO₂.

45 En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, la estructura macroporosa puede posibilitar un flujo de sangre completa, sangre de donante completa o una fracción de una de ellas. En un aspecto, la estructura macroporosa tiene un poro de flujo medio de entre 10 y 30 micrómetros. El poro de flujo medio puede determinarse usando un porosímetro. Como alternativa, el flujo de poro medio puede calcularse para fibras y microesferas basándose en la geometría. En otro aspecto, el poro de flujo medio puede ser de menos de 30 micrómetros. En otro aspecto, el poro de flujo medio puede ser de 10 a 20 micrómetros. En un aspecto, el poro de flujo medio puede ser de aproximadamente 10 micrómetros, aproximadamente 15 micrómetros, aproximadamente 20 micrómetros o aproximadamente 25 micrómetros. En otros aspectos, el poro de flujo medio puede ser de entre 15 y 25 micrómetros. En otro aspecto más, el poro de flujo medio puede ser de 25 micrómetros o menos, 20 micrómetros o menos o 15 micrómetros o menos.

50 En algunos aspectos, el área de superficie de la estructura macroporosa puede ser una fibra que tiene un área de superficie capaz de retirar O₂, CO₂, leucocitos, plaquetas o una combinación de los mismos. En algunos aspectos, el área de superficie puede ser de al menos 5 x 10³ cm²/g de medio. En un aspecto el área de superficie puede ser de 10 cm² a 2000 cm². En otro aspecto, la superficie puede ser de 20 cm² a 1000 cm². Para fibras, el área de superficie

puede determinarse basándose en el diámetro de la fibra. En ciertos aspectos, el área de superficie puede determinarse de forma empírica por la capacidad de unión de la superficie de unión a leucocitos y el volumen de sangre para empobrecer.

- 5 En un aspecto, la fibra puede tener una densidad aparente de 0,01 g/cm³ a 0,7 g/cm³ y tiene una distancia promedio entre fibras adyacentes de entre 7 μm y 300 μm. En un aspecto, la densidad aparente de las fibras puede ser de 0,001 g/cm³ a 0,7 g/cm³. En otro aspecto, la densidad aparente de las fibras puede ser 0,10 g/cm³ a 0,5 g/cm³. Como se usa en el presente documento, la expresión "densidad aparente" significa un valor numérico expresado en g/cm³ obtenido dividiendo el peso (en gramos) de la masa de fibras por el volumen (en cm³) de la masa de fibras.
- 10 Pueden encontrarse limitaciones y requisitos adicionales para los requisitos de filtros de reducción de leucocitos en Watanabe *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 4.701.267, expedida el 20 de octubre de 1987, titulada "Method for Removing Leukocytes".

15 La retirada de oxígeno de glóbulos rojos empaquetados por un filtro reactivo implica varias etapas. En referencia a la FIG. 5, dado que la mayoría del oxígeno está unido a hemoglobina dentro de los glóbulos rojos, para retirar el O₂, es necesario liberar el oxígeno al plasma. El oxígeno en el plasma tiene entonces que difundirse a la superficie del sorbente. En la superficie del sorbente el oxígeno puede reaccionar inmediatamente con grupos reactivos en la superficie, o disolverse en la matriz polimérica (por ejemplo, una fibra o micropartícula). Una vez que se ha disuelto en la matriz polimérica, el O₂ puede reaccionar con grupos presentes dentro de la matriz polimérica.

20 Sin limitarse a ninguna teoría particular, el empobrecimiento de O₂ de la sangre puede ilustrarse como se muestra en la FIG. 5. La liberación de oxígeno de los glóbulos rojos y difusión de oxígeno a la superficie de la fibra suceden secuencialmente. La reacción en la superficie del sorbente y difusión y reacción a través de la matriz polimérica suceden en paralelo.

25 Se suponen dos aproximaciones para la geometría de un filtro de leucocitos: En primer lugar, el filtro de leucocitos que se supone que es un lecho empaquetado en el que:

$$\frac{k}{v^0} = 1,17 \left(\frac{dv^0}{Y} \right)^{-0,42} \left(\frac{D}{Y} \right)^{\frac{2}{3}}$$

30 y k = coeficiente de transferencia de masa, v⁰ = velocidad superficial = 350 ml/(50 cm² * 30 min) = 2,33 mm min⁻¹ = 3,89 x 10⁻⁵ m s⁻¹, d = diámetro de partícula (que se supone que es el diámetro de la fibra) = 3,5 μm, dv⁰ = viscosidad cinemática = viscosidad/densidad = 3,5 x 10⁻³/1060 = 3,30 x 10⁻⁶ m²s⁻¹, D = difusividad de oxígeno en sangre = (2,13-0,009 Hct) x 10⁻⁹ = 1,64 x 10⁻⁹ m² s⁻¹ (a 55 % de Hct), por lo tanto k = 1,98 x 10⁻⁵ m s⁻¹ o 0,12 cm min⁻¹. En segundo lugar, se supone que el filtro de leucocitos es un lecho capilar con flujo perpendicular a las fibras.

$$\frac{kd}{D} = 0,80 \left(\frac{dv^0}{Y} \right)^{0,47} \left(\frac{Y}{D} \right)^{\frac{1}{3}}$$

40 d = diámetro capilar = 3,5 μm, D = difusividad del oxígeno en sangre (de lo anterior) 1,64 x 10⁻⁹ m² s⁻¹, v⁰ = velocidad de aproximación al lecho (se supone igual que la velocidad superficial) y dv⁰ = viscosidad cinemática de lo anterior. Por lo tanto k = 4,12 x 10⁻⁵ m s⁻¹ = 0,25 cm min⁻¹.

Notablemente, las dos estimaciones están a una distancia de un factor de 2 entre sí. Para los fines del presente documento, se usa el valor menor ya que es más conservador.

45 El flujo de oxígeno en el plasma se proporciona por

$$J = k\Delta C$$

Donde, J = flujo de oxígeno, k = coeficiente de transferencia de masa, ΔC = gradiente de potencial de concentración.

50 Para los fines ilustrativos, se supone que la concentración de oxígeno en la superficie de la fibra es cero. Prácticamente, esto supone asumir una reacción en superficie muy rápida o difusión muy rápida y reacción a través de las fibras. Esto proporciona el máximo gradiente potencial de concentración y maximiza la velocidad de transferencia de oxígeno a través del plasma a la superficie de la fibra.

55 Suponiendo 100 ml de oxígeno en 350 ml a STP (101325 Pa, 273,15 K). Usando la ley de los gases ideales

$$\frac{PV}{RT} = n$$

en la que P, V, R, T y n son presión (Pa), volumen (m³), constante de gas (8,314 J mol⁻¹ K⁻¹), temperatura (°K) y número de moles (mol) respectivamente. Por lo tanto el número total de moles de oxígeno que deben retirarse en

350 ml de glóbulos rojos empaquetados es de $4,46 \times 10^{-3}$.

Suponiendo que el volumen de un filtro de leucocitos es $50 \text{ cm}^2 \times 2,5 \text{ cm} = 125 \text{ cm}^3$ (incluyendo volumen de fibra), para procesar 350 ml en 30 minutos el tiempo de residencia debería ser 10,71 u 11 min. Por lo tanto, el flujo de oxígeno debería ser $J = 1,98 \times 10^{-5} \text{ m s}^{-1} \times 4,46 \times 10^{-3} \text{ (mol O}_2\text{)} / 350 \times 10^{-6} \text{ m}^3 = 2,52 \times 10^{-4} \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Suponiendo una densidad de tejido en un filtro de leucocitos es $0,225 \text{ g cm}^{-3}$, para un volumen de filtro de 125 cm^3 de la masa total de tejido sería de 28,125 g. Suponiendo una densidad de superficie de 20 g m^{-2} , el área de superficie de tejido total sería de $1,4 \text{ m}^2$. Por lo tanto para un tiempo de residencia de 11 min y un área de superficie de tejido de $1,4 \text{ m}^2$ la cantidad total de O_2 que podría alcanzar la superficie es de $2,52 \times 10^{-4} \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \times 1,4 \text{ m}^2 \times 11 \text{ min} \times 60 \text{ s/min} = 0,233 \text{ mol}$. Dado que solamente hay $4,46 \times 10^{-3}$ en 350 ml de glóbulos rojos empaquetados parece que la difusión a través del plasma no será limitante.

Algunas de las suposiciones en el análisis simplificado anterior que deberían recordarse. El gradiente de potencial de concentración máximo se ha usado suponiendo que la concentración de oxígeno en la superficie de fibra es cero. Dicha suposición no tiene en cuenta el hecho de que un filtro de leucocitos puede ser un lecho empaquetado. Para fines de cálculo solamente, la suposición aquí es que se cargan 125 ml y se mantienen en el filtro de leucocitos durante 11 minutos, después se descargan, después se añaden los siguientes 125 ml, etc. En funcionamiento real, la superficie de fibra cerca de la entrada se agotará primero y el inicio de una región sin oxígeno del sorbente bajará por el filtro.

El tiempo requerido para que el O_2 contenido dentro de los glóbulos rojos se libere no se ha estimado y es difícil de predecir dada la variabilidad de sangre humana, los cambios en la curva de disociación de hemoglobina de oxígeno con temperatura, CO_2 , etc.

La velocidad de difusión a través del tereftalato de polietileno (PET) también puede considerarse de acuerdo con los métodos de Li (Li, H., "Kinetics and Mechanisms for the Oxidation Process for Unsaturated Hydrocarbon Modified Scavengers", Dissertation University of Toledo, agosto de 2010). De acuerdo con Li, permeabilidad de oxígeno (P) de PET = $5 \text{ cm}^3\text{-mil}/(\text{día}\cdot 100 \text{ in}^2\cdot\text{atm})$. Convirtiendo a unidades del SI

$$P = \frac{5 \times 10^{-6} \times \frac{1}{1000} \times 2,54 \times 10^{-2}}{24 \times 60 \times 60 \times 100 \times (2,54 \times 10^{-2})^2 \times 101325} = 2,25 \times 10^{-19} \text{ m}^3\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}/(\text{Pa/m})$$

Si se supone que en la concentración de oxígeno en el PET es cero para una fibra de $3,5 \mu\text{m}$ de diámetro y en condiciones de STP, $J = P \Delta P/\Delta x$ en la que Δx es $1,75 \mu\text{m}$.

Por lo tanto, $J = 2,25 \times 10^{-19} \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}/(\text{Pa/m}) \times 2666/1,75 \times 10^{-6} = 3,4 \times 10^{-10} \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Este es el flujo volumétrico de oxígeno a través de la película. Es para permeación de oxígeno a través de la fibra cuando la fibra se expone a oxígeno gaseoso a una presión parcial de 20 torr (2666 Pa). Suponiendo el gradiente potencial máximo (es decir, la concentración de oxígeno en la fibra es siempre cero). Convirtiendo a un flujo molar, usando la ley de los gases ideales, $J = 4,0 \times 10^{-10} \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, suponiendo 11 min de tiempo de residencia y $1,4 \text{ m}^2$ de área de superficie de fibra se obtienen $3,7 \times 10^{-7} \text{ mol}$. Esto se compara con $4,46 \times 10^{-3}$ moles de oxígeno que están presentes en el concentrado de glóbulos rojos.

Significativamente, estos cálculos indican que la difusión a través de las fibras poliméricas es una resistencia a transferencia de masa importante. Basándose en las suposiciones descritas anteriormente, y sin limitarse a ninguna teoría, se esperaría que la cantidad de oxígeno retirado fuera varios órdenes de magnitud menor que el oxígeno presente. Por tanto, si fuera a producirse difusión a través de un recubrimiento no reactivo en la superficie de la fibra, sería necesario que la permeabilidad del material fuera más de 4 órdenes de magnitud mayor que PET. Además, los materiales adecuados pueden seleccionarse para la preparación de una estructura macroporosa basándose en un análisis de la permeabilidad.

En aspectos de acuerdo con la presente divulgación y en referencia a la Tabla 1, puede usarse goma de silicona como una alternativa a PET para encapsulación o incorporación de sorbentes de oxígeno. En otros aspectos, son posibles polímeros para usar materiales que tengan una permeabilidad aproximadamente 4 órdenes de magnitud mayor que PET.

Tabla 1 Permeabilidad al oxígeno de goma de silicona [9]

Polímero	Permeabilidad* 10^9 , $\text{cm}^3\text{cm/s}\cdot\text{cm}^2 \text{ cmHg}$)
Goma de dimetilsilicona	60,0
Fluorosilicano	11,0
Goma de nitrilo	8,5
Goma natural	2,4

Polímero	Permeabilidad*10 ⁹ , cm ³ cm/s*cm ² cmHg)
Densidad de polietileno baja	0,8
Goma de butilo	0,14
Poliestireno	0,12
Polietileno, alta densidad	0,10
Nylon 6	0,004
Poli(etilen tereftalato)	0,0019
"Teflón"	0,0004

Pueden formarse materiales sorbentes de O₂/CO₂ en microesferas y después recubrirse con una química de superficie de unión a leucocitos biocompatible. Estas microesferas pueden después incorporarse en cualquier material de carga de leucorreducción convencional en una capa o de modo aleatorio. El O₂/CO₂ presentes en los pRBC puede transferirse al material sorbente a medida que fluye a través de la estructura de filtro. Pueden combinarse mezclas de sorbentes de hierro inorgánicos en una solución que contiene agua polar y después añadirse a un líquido no polar, formando una emulsión para crear las microesferas. También puede añadirse un polímero oxidable en un disolvente polar y después emulsionarse con una solución no polar (PVOH) para formar también microesferas.

En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, pueden encapsularse sorbentes en microesferas. Por ejemplo, las siliconas pueden formar películas adhesivas, auto-estabilizadoras. Los elastómeros de silicona basados en polímeros de dimetil silicona que contienen restos polares (sustituyentes de óxido de polietileno, por ejemplo, Mezcla de Elastómeros de Silicona *Dow Corning*® 9011) y densidad de reticulación baja suponen emulsionantes eficaces para preparar emulsiones de agua en silicona. Modificando la emulsión de agua en silicona, pueden incorporarse eliminadores de oxígeno en emulsiones acuosas de siliconas de peso molecular ultra alto (Emulsión no iónica *Dow Corning*® HMW 220). En ciertos aspectos, la adición en cadenas poliméricas de óxido de etileno u óxido de propileno pueden ayudar a la emulsión durante la formulación y mejorar la compatibilidad con materiales polares.

En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, pueden crearse microperlas mono dispersadas de polidimetilsiloxano (PDMS) en un sistema microfluidico usando flow-focusing. Puede dispersarse una solución precursora de PDMS en micro gotas dentro de una fase continua acuosa. Estas gotas pueden después recogerse y después curarse térmicamente en microperlas sólidas. Estas técnicas permiten la incorporación de eliminadores de oxígeno en las microperlas PDMS. El mecanismo de flow-focusing crea gotas de precursores de PDMS en una fase continua acuosa que porta el tensioactivo, dodecil sulfato sódico (SDS). Véase, por ejemplo, Jiang *et al.*, "Microfluidic synthesis of monodisperse PDMS microbeads as discrete oxygen sensors", *Soft Matter* 8: 923-926 (2006).

En un aspecto de la presente divulgación, el elastómero de silicona puede ser Sylgard 184. Sylgard®184 es un kit de elastómero de PDMS habitual de Dow Corning® que puede usarse como la fase dispersada. Sylgard® 184 está compuesto de dos fluidos, la Parte A (base, que consiste en oligómeros de siloxano terminados en vinilo) y Parte B (agente de curación, que consiste en oligómeros de siloxano y catalizador), que tienen que mezclarse y curarse térmicamente para formar el polímero de PDMS final. Las relaciones de Parte A y Parte B pueden ajustarse para reducir la viscosidad para generar gotas estables. En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, pueden añadirse directamente compuestos de eliminación de oxígeno a la solución precursora de PDMS.

En otros aspectos, pueden crearse microesferas con atomización electrohidrodinámica coaxial (CEHDA). Este proceso puede generar gotas de hasta 1-2 mm (Véase, Ganan-Calvo *et al.*, "Current and droplet size in the electro-spraying of liquids. Scaling laws", *J. Aerosol Sci.* 28: 249-275 (1997); Jayasinghe *et al.*, "Controlled deposition of nano-particle clusters by electrohydrodynamic atomization", *Nanotechnology* 15: 1519-1523 (2004)). Puede crearse una solución acuosa de sorbente de oxígeno y bombearse a través de un capilar interno mientras que se bombea una solución de PDMS a través del capilar externo. Se aplica una diferencia de potencial de varios kilovoltios entre el capilar y el electrodo de tierra para desarrollar un Cono de Taylor (menisco líquido de forma cónica en la salida del capilar). La densidad de alta carga crea un chorro fino que se rompe en gotas creando las partículas microesféricas. Las microesferas resultantes pueden después recogerse y curarse térmicamente.

En otros aspectos, también pueden formarse microesferas como se enseña en Ziemelis, Patente de Estados Unidos n.º 4.370.160, expedida el 25 de enero de 1983, titulada "Process for Preparing Silicone Micro-Particles", o puede incorporarse sorbente inorgánico en microesferas como se describe en Morita *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 5.387.624, expedida el 7 de febrero de 1997, titulada "Method for The Preparation of a Powder Mixture Composed off Cured Silicone Microparticles and Inorganic Microparticles". El sorbente inorgánico también puede mezclarse en la silicona como se describe en Hottle *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 6.210.601, expedida el 3 de abril de 2001, titulada "Method of Making an Oxygen Scavenging Sealant Composition".

En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, puede formarse cualquier material sorbente de O₂ en microesferas y después recubrirse con una química de superficie de unión a leucocitos biocompatible, en el que las microesferas pueden incorporarse en un material de carga de leucorreducción y O₂ en una capa o de modo

aleatorio. En otros aspectos, puede formarse cualquier material sorbente de O₂ y CO₂ en microesferas y recubrirse con una química de superficie de unión a leucocitos biocompatible, en el que las microesferas pueden incorporarse en un material de carga de O₂, CO₂ y leucorreducción en una capa o de manera aleatoria. En otros aspectos más, puede formarse material sorbente de O₂ en microesferas y después recubrirse con una química de superficie de unión a plaquetas y leucocitos biocompatible, en el que las microesferas pueden incorporarse en un material de carga de O₂ y leucorreducción de plaquetas en una capa o de modo aleatorio. En otros aspectos, puede formarse un material sorbente de O₂ y CO₂ en microesferas y recubrirse con una química de superficie de unión a plaquetas y leucocitos biocompatible, en el que las microesferas pueden incorporarse en un material de carga combinado de O₂, CO₂, plaquetas y leucorreducción en una capa o de manera aleatoria.

En otros aspectos, pueden usarse mezclas de microesferas que tienen una o más capacidades de unión como un material sorbente, bien en capas o bien de manera aleatoria. Por ejemplo, pueden recubrirse microesferas de unión a O₂ con una química de superficie de unión a leucocitos biocompatible y mezclarse con microesferas de unión a CO₂ recubiertas con una química de superficie de unión a plaquetas biocompatible para proporcionar un material sorbente combinado de O₂, CO₂, leucocitos y plaquetas. Son aspectos incluidos de la presente divulgación configuraciones y combinaciones adicionales.

Pueden prepararse materiales de leucorreducción de acuerdo con la presente divulgación como filtros, fibras o microesferas como se ha analizado. En un aspecto, pueden formarse filtros de reducción de leucocitos como se describe en Lee *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 6.337.026, expedida el 8 de enero de 2002, titulada "Leukocyte reduction filtration media", usando microfibras de vidrio. Pueden usarse fibras de vidrio poroso que contienen un sorbente como se ha descrito anteriormente como el armazón y después puede usarse PVA o Silicona injertado como un agente de unión para cubrir las fibras y promover la adhesión de leucocitos.

En otro aspecto, pueden formarse fibras producidas por soplado fundido como se describe en Pall, Patente de Estados Unidos n.º 4.925.572, expedida el 15 de mayo de 1990, titulada "Device and method for depletion of the leukocyte content of blood and blood components", a partir de micropartículas sorbentes que contienen PBT o PET y después incorporarse en dispositivos de filtro como se enseña en Pall, *et al.* Patente de Estados Unidos n.º 5.229.012, expedida el 20 de julio de 1993, titulada "Method for depletion of the leukocyte content of blood and blood components", y modificada en superficie como se describe en Gsell, Patente de Estados Unidos n.º 5.443.743, expedida el 22 de agosto de 1995, titulada "Gas plasma treated porous medium and method of separation using same".

En otro aspecto, las fibras producidas por soplado fundido que contienen un sorbente como se ha descrito anteriormente también pueden modificarse en superficie como se describe en Bonaguidi *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 7.775.376, expedida el 17 de agosto de 2010, titulada "Filter for the separation of leukocytes from whole blood or blood preparations, method for production of said filter, corresponding device and use thereof". En otro aspecto, los monómeros de Bonaguidi *et al.* pueden aplicarse en rejilla sobre un recubrimiento de silicona en lugar de polimerizarse.

En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, puede formarse material sorbente de O₂ en fibras y después recubrirse con una química de superficie de unión a leucocitos biocompatible, en el que las fibras pueden incorporarse en un material de carga de leucorreducción y O₂ de una manera tejida o aleatoria. En otros aspectos, puede formarse un material sorbente de O₂ y CO₂ y recubrirse con una química de superficie de unión a leucocitos biocompatible, en el que las fibras pueden incorporarse en un material sorbente de una manera tejida o aleatoria. En otros aspectos más, el material sorbente de O₂ puede formarse en fibras y después recubrirse con una química de superficie de unión a leucocitos y plaquetas biocompatible, en el que las fibras pueden incorporarse en un material sorbente de una manera tejida o aleatoria. En otros aspectos, el material sorbente de O₂ y CO₂ puede formarse en fibras y recubrirse con una química de superficie de unión a leucocitos y plaquetas biocompatible, en el que las fibras pueden incorporarse en un material sorbente de una manera tejida o aleatoria.

En otros aspectos, pueden usarse mezclas de fibras que tengan una o más capacidades de unión como un material sorbente, de una manera tejida o aleatoria. Por ejemplo, una fibra de unión a O₂ puede recubrirse con una química de superficie de unión a leucocitos biocompatible y mezclarse con fibras de unión a CO₂ recubiertas con una química de superficie de unión a plaquetas biocompatible para proporcionar un material sorbente de O₂, CO₂, leucocitos y plaquetas combinado. En otros aspectos, las fibras pueden tejerse entre sí para proporcionar un material sorbente de O₂, CO₂, leucocitos y plaquetas combinado. Configuraciones y combinaciones adicionales de fibras tejidas o aleatorias que tienen capacidades de unión diferentes o solapantes, son aspectos incluidos de la presente divulgación.

Las fibras de acuerdo con la presente divulgación pueden ser fibras sólidas. En un aspecto, pueden usarse fibras sólidas en la preparación de un material sorbente en el que la sangre fluye. Como se ha proporcionado anteriormente, las fibras pueden prepararse a partir de un material de unión a O₂, de unión a CO₂ o de unión a O₂ y CO₂ combinado y recubrirse con una superficie de unión a leucocitos biocompatible, una superficie de unión a plaquetas biocompatible, o una superficie de unión a leucocitos y plaquetas biocompatible combinada.

En otros aspectos de acuerdo con la presente divulgación, pueden prepararse fibras huecas. En un aspecto, la fibra hueca puede posibilitar el flujo de sangre dentro de la luz de fibra. En un aspecto, la pared interior de la fibra hueca puede recubrirse con un material biocompatible tal como un material de unión a leucocitos, un material de unión a plaquetas o un material de unión a leucocitos y plaquetas combinado. En un aspecto, la fibra hueca puede prepararse a partir de un material de unión a O₂. En otros aspectos, la fibra hueca puede prepararse a partir de un material de unión a CO₂. En otro aspecto, la fibra hueca puede prepararse a partir de un material de unión a O₂ y CO₂ combinado.

En otros aspectos, la fibra hueca puede prepararse a partir de un material permeable a gas. En un aspecto, la fibra hueca puede cargarse con la sangre en circulación en el dispositivo. En otro aspecto la fibra permeable a gas hueca puede llenarse con un material sorbente en el que la sangre en circulación entra en contacto con el exterior de la fibra permeable a gas hueca. En un aspecto, una fibra permeable a gas hueca puede llenarse con un material sorbente de O₂. En otros aspectos, una fibra permeable a gas hueca puede llenarse con un material sorbente de O₂ y CO₂. Como se ha proporcionado anteriormente, una superficie en contacto con la sangre puede recubrirse con un material de unión a leucocitos, un material de unión a plaquetas o un material de unión a leucocitos y plaquetas combinado para preparar un filtro bicomponente o incluso tricocomponente.

Las fibras de acuerdo con la presente divulgación pueden prepararse como fibra de denier fino de, por ejemplo, poli(etilen metacrilato ciclohexenil metilacrilato) y otros pliegues de partículas poliméricas. En algunos aspectos, las fibras pueden ser de menos de 2 micrómetros de diámetro. En un aspecto, las fibras pueden ser de 0,5 a 2 micrómetros de diámetro. En otro aspecto, las fibras son de más de 100x de diámetro. Las fibras de la presente divulgación pueden prepararse por soplado fundido. En otro aspecto, las fibras pueden ser de 3 μm a 60 μm. En otro aspecto más, las fibras pueden ser de 4 μm a 40 μm. En algunos aspectos, las fibras pueden recubrirse o modificarse antes de formarse en una estructura macroporosa. En otros aspectos, las fibras pueden recubrirse o modificarse después de formarse en una estructura macroporosa. Pueden hilarse polímeros absorbentes de O₂/CO₂ en fibras de denier fino usando métodos convencionales. Estas fibras pueden formarse después en un medio de leucorreducción. La química de superficie de las fibras puede modificarse antes o después de formarse en una estructura de filtro. Estas fibras pueden realizarse a partir de poli(etilen metacrilato ciclohexenil metilacrilato) u otros pliegues de partículas poliméricas.

Pueden formarse materiales de leucorreducción como una fibra bicomponente. Estas fibras pueden contener un núcleo de material absorbente de O₂/CO₂ rodeado de una vaina de unión a leucocitos biocompatible. En un aspecto, las fibras pueden ser de menos de 2 micrómetros de diámetro.

En un aspecto, los materiales de leucorreducción pueden mezclarse con materiales absorbentes de O₂/CO₂ y formar una estructura de filtro. Por ejemplo, pueden mezclarse polímeros de poliolefinas (PP, PE, PMP), poliamidas (nylon 6, nylon 610, nylon 10, 11, 12), poliésteres (PET, PBT) con un eliminador de oxígeno, tal como Amosorb DFC 4020 en la forma polimérica y después hilarse en fibras.

En ciertos aspectos de acuerdo con la presente divulgación, el medio de empobrecimiento puede incluir además un recubrimiento de empobrecimiento de plaquetas. En otro aspecto, puede mezclarse un medio de empobrecimiento separado capaz de retirar plaquetas con el medio de reducción de O₂, CO₂, y leucocitos. En un aspecto el medio de empobrecimiento de plaquetas puede ser una fibra. En otro aspecto, el medio de empobrecimiento de plaquetas puede ser una microesfera preparada como se ha analizado anteriormente. En algunos aspectos, la fibra o microesfera puede estar recubierta en superficie. Se proporcionan recubrimientos de empobrecimiento de plaquetas ejemplares, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos n.º 5.783.094, 7.721.898, 7.775.376, y Patente de Estados Unidos 4.880.548.

En otros aspectos de acuerdo con la presente divulgación, las plaquetas pueden retirarse por filtración. En un aspecto, el dispositivo de filtro de sangre puede incluir una segunda membrana capaz de excluir plaquetas. En un aspecto, una membrana que retira plaquetas puede disponerse entre la membrana de la cámara interna y la pared externa de modo que el plasma permee a través de la segunda membrana, entre en la cámara externa y salga de la carcasa a través de dicha primera salida. En un aspecto, la membrana puede ser un filtro de polisulfona asimétrico con un tamaño de poro de 0,5 a 1,0 micrómetros.

El dispositivo de filtro de sangre de la presente divulgación prepara pRBC y plasma que se ha empobrecido en O₂ y leucocitos. En algunos aspectos, los pRBC y plasma producidos por el dispositivo se empobrecen adicionalmente en CO₂ y opcionalmente plaquetas. En un aspecto, la cantidad de O₂ que permanece puede medirse como el porcentaje de saturación de hemoglobina (sO₂). La sangre completa y sangre del donante completa no tratada tiene una sO₂ típica de aproximadamente 40 %. Un pRBC empobrecido en O₂ de acuerdo con la presente divulgación tiene una sO₂ de menos de 30 %. En otros aspectos, la sO₂ es de menos del 20 %. En otro aspecto, la sO₂ de un pRBC empobrecido puede ser de menos de 10 %. En aspectos con mayor sO₂, del 5 al 10 %, pueden añadirse antioxidantes a la bolsa de almacenamiento. En otro aspecto, la sO₂ puede ser de hasta el 5 %. En un aspecto, el dispositivo de filtro de sangre proporciona pRBC con una sO₂ inicial del 3 % o menos. En otro aspecto, el dispositivo de filtro de sangre proporciona una sO₂ inicial del 2,5 %. En otro aspecto, el dispositivo de filtro de sangre posibilita

una sO₂ inicial del 2 %. En otro aspecto más, la sO₂ inicial puede ser de 1,5 %. En otro aspecto, la sO₂ inicial puede ser de 1 % o menos. En otros aspectos, la sO₂ puede variar de 1 a 3,5 %. En otro aspecto, la sO₂ puede variar de 1,5 a 3,5 %. En otro aspecto más la sO₂ puede variar de 2 a 3,5 %. En un aspecto adicional, la sO₂ puede variar de 1,5 a 2,0 %.

5 En ciertos aspectos de acuerdo con la presente divulgación, el filtro de sangre posibilita y puede incluir un medio de empobrecimiento de CO₂. En un aspecto, el dispositivo prepara pRBC y plasma que se ha empobrecido en CO₂. En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, las medidas de CO₂ se expresan como la presión parcial de CO₂ del plasma o pRBC medidos a 37 °C después del tratamiento en el dispositivo de filtro de sangre. En un aspecto, el
10 CO₂ inicial puede ser de menos de 3,99 kPa. En otro aspecto, el CO₂ inicial puede ser de menos de 2,66 kPa. En otro aspecto, el CO₂ inicial puede ser de menos de 1,33 kPa. En otros aspectos de acuerdo con la presente divulgación, el CO₂ restante en el plasma, pRBC o sangre tratada puede ser entre 0,67 y 3,99 kPa. En un aspecto, el CO₂ restante en el plasma, pRBC o sangre tratada puede ser entre 0,67 y 5,32 kPa. En otro aspecto el CO₂ inicial restante puede ser de entre 0,27 y 1,33 kPa. En otros aspectos, el CO₂ inicial restante puede ser entre 1,33 y 2,66
15 kPa. En otros aspectos más, el CO₂ inicial puede ser entre 0,13 y 10,64 kPa.

El filtro de sangre de la presente divulgación incluye y proporciona la concentración de RBC para preparar pRBC. En un aspecto, el hematocrito de los pRBC puede ser mayor de 35 %. En otro aspecto, el hematocrito de los pRBC puede ser de 45, 50, 55, 60 o 65 %. En otro aspecto más, el hematocrito de los pRBC puede ser hasta el 75 %. En otro
20 aspecto, el hematocrito de los pRBC puede ser mayor del 75 %. En algunos aspectos, el hematocrito de los pRBC puede ser entre 35 y 75 %. En un aspecto adicional, el hematocrito de los pRBC puede ser entre 40 y 60 %. El hematocrito de los pRBC producidos por el dispositivo de la presente divulgación puede variar de 35 a 45 %, de 35 a 55 % o de 35 a 65 %.

25 El filtro de sangre de la presente divulgación incluye y proporciona la preparación de pRBC leucorreducidos. En un aspecto, el número de leucocitos se reduce a un nivel inferior a 1000 células/μl. En otro aspecto, el número de leucocitos se reduce a un nivel inferior a 100 células/μl. En otro aspecto, el número de leucocitos se reduce a un nivel inferior a 10 células/μl. En un aspecto de acuerdo con la presente divulgación, el número de leucocitos restante después de la leucorreducción puede ser de 1 célula a 10 células/μl. En otro aspecto, el número de leucocitos
30 restante puede ser de entre 5 y 20 células/μl. En otro aspecto, el número de leucocitos puede ser de 5 a 10 células/μl, de 5 a 50 células/μl, de 5 a 100 células/μl, de 10 a 20 células/μl o de 5 a 100 células/μl.

El filtro de sangre de la presente divulgación incluye y posibilita la preparación de pRBC empobrecidos en plaquetas. En un aspecto, los pRBC empobrecidos en plaquetas de la presente divulgación pueden reducirse 10 veces o más.
35 En un aspecto, el número de plaquetas en los pRBC empobrecidos puede ser de aproximadamente 1000 plaquetas/μl. En otro aspecto, el número de plaquetas restante puede ser menor de 10.000 plaquetas/μl. En un aspecto el número de plaquetas restante puede ser menor de 5000 plaquetas/μl. En un aspecto, el número de plaquetas restante puede ser 2000 plaquetas/μl o menos. En un aspecto, el número de plaquetas puede ser de 1000 a 2000 plaquetas/μl. En otro aspecto, el número de plaquetas puede ser de 1000 a 5000 plaquetas/μl.
40

En un aspecto de la presente divulgación, el dispositivo de filtro de sangre puede tener microfibras de PBT cargadas con nanopartículas de arcilla de hierro funcionalizadas en la superficie de fibra para adhesión de leucocitos y plaquetas cargados en la cámara interna y que tienen una membrana de polietersulfona hidrófila/polivinilpirrolidona con un tamaño de poro de 0,45 micrómetros en el que la cámara interna rota para evitar el flujo laminar y bloqueo de los poros de membrana.
45

Un filtro de sangre de la presente divulgación incluye y posibilita la preparación de sangre empobrecida para almacenamiento en una bolsa de almacenamiento anaerobia. El almacenamiento de sangre empobrecida de acuerdo con la presente divulgación en condiciones anaerobias reduce las lesiones de almacenamiento, reduce la sobrecarga de hierro en pacientes transfundidos de forma crónica, aumenta la liberación de O₂ de hemoglobina y aumenta la capacidad de los RBC para entrar y perfundir en un lecho capilar. Se proporcionan bolsas de almacenamiento anaerobias ejemplares adecuadas para el almacenamiento de sangre empobrecida producida por los métodos y dispositivos de la presente divulgación en la Solicitud de Patente de Estados Unidos n.º de Serie 12/901.350, presentada el 8/10/2010, titulada "Blood Storage Bag System and Depletion Devices with Oxygen and Carbon Dioxide Depletion Capabilities".
50
55

En un aspecto de acuerdo con la presente divulgación, la sangre empobrecida almacenada en condiciones anaerobias tiene menos lesiones de almacenamiento en comparación con la sangre no empobrecida almacenada convencionalmente. En un aspecto, las lesiones de almacenamiento pueden reducirse en 10 % o más después de 21 días de almacenamiento. En otro aspecto, las lesiones de almacenamiento pueden reducirse en 20 % o más después de 21 días de almacenamiento. En otro aspecto, las lesiones de almacenamiento pueden reducirse en 30 %, 40 % o 50 % o más después de 21 días de almacenamiento. En un aspecto adicional, las lesiones de almacenamiento pueden reducirse entre 5 y 30 % después de 21 días de almacenamiento. En un aspecto, las lesiones de almacenamiento pueden reducirse entre 10 y 30 % después de 21 días de almacenamiento. En un
60
65 aspecto, las lesiones de almacenamiento pueden reducirse entre 20 y 30 % después de 21 días de almacenamiento.

En un aspecto, las lesiones de almacenamiento pueden reducirse entre 10 y 50 % después de 21 días de almacenamiento. En un aspecto, las lesiones de almacenamiento pueden reducirse entre 20 y 50 % después de 21 días de almacenamiento. En un aspecto, las lesiones de almacenamiento pueden reducirse entre 30 y 50 % después de 21 días de almacenamiento.

5 En un aspecto de acuerdo con la presente divulgación, la sangre empobrecida almacenada en condiciones anaerobias tiene sobrecarga de hierro reducida en pacientes transfundidos de forma crónica en comparación con sangre no empobrecida almacenada convencionalmente. En un aspecto, la sobrecarga de hierro puede reducirse en 10 % o más después de 21 días de almacenamiento. En otro aspecto, la sobrecarga de hierro puede reducirse un 20 % o más después de 21 días de almacenamiento. En otro aspecto, la sobrecarga de hierro puede reducirse en 30 %, 40 % o 50 % o más después de 21 días de almacenamiento. En un aspecto adicional, la sobrecarga de hierro puede reducirse entre 5 y 30 % después de 21 días de almacenamiento. En un aspecto, la sobrecarga de hierro puede reducirse entre 10 y 30 % después de 21 días de almacenamiento. En un aspecto, la sobrecarga de hierro puede reducirse entre 20 y 30 % después de 21 días de almacenamiento. En un aspecto, la sobrecarga de hierro puede reducirse entre 10 y 50 % después de 21 días de almacenamiento. En un aspecto, la sobrecarga de hierro puede reducirse entre 20 y 50 % después de 21 días de almacenamiento. En un aspecto, la sobrecarga de hierro puede reducirse entre 30 y 50 % después de 21 días de almacenamiento.

20 Un filtro de sangre de la presente divulgación incluye y posibilita la preparación de sangre con leucocitos, oxígeno y dióxido de carbono que tiene capacidad de almacenamiento mejorada en comparación con sangre no procesada. En un aspecto, el producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un pO_2 de menos de 6,65 kPa después de almacenamiento anaerobio durante 21 días. En otro aspecto, el producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un pO_2 de menos de 3,33 kPa después de almacenamiento anaerobio durante 21 días. En otro aspecto, el producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un pO_2 de menos de 2,79 kPa después de almacenamiento anaerobio durante 21 días. En otro aspecto, el producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un pO_2 de menos de 2 kPa después de almacenamiento anaerobio durante 21 días. En un aspecto adicional, el producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un pO_2 de entre 1,33 y 6,65 kPa después de almacenamiento anaerobio durante 21 días. En un aspecto, el producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un pO_2 de entre 2,66 y 6,65 kPa después de almacenamiento anaerobio durante 21 días. En un aspecto, el producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un pO_2 de entre 2,66 y 5,32 kPa después de almacenamiento anaerobio durante 21 días.

35 En un aspecto, el producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un pO_2 de menos de 6,65 kPa después de almacenamiento anaerobio durante 42 días. En otro aspecto, el producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un pO_2 de menos de 3,33 kPa después de almacenamiento anaerobio durante 42 días. En otro aspecto, el producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un pO_2 de menos de 2,79 kPa después de almacenamiento anaerobio durante 42 días. En otro aspecto, el producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un pO_2 de menos de 2 kPa después de almacenamiento anaerobio durante 42 días. En un aspecto adicional, el producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un pO_2 de menos de entre 1,33 y 6,65 kPa después de almacenamiento anaerobio durante 42 días. En un aspecto, el producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un pO_2 de entre 2,66 y 6,65 kPa después de almacenamiento anaerobio durante 42 días. En un aspecto, el producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un pO_2 de entre 2,66 y 5,32 kPa después de almacenamiento anaerobio durante 42 días.

50 En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de ATP aumentado después de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de ATP de más de 4,0 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de ATP de más de 4,1 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de ATP de más de 4,2 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de ATP de más de 4,3 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de ATP de más de 4,4 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto adicional, un producto de sangre procesado puede tener un nivel de ATP de entre 4,0 y 4,5 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de sangre procesado puede tener un nivel de ATP de entre 4,3 y 4,8 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de sangre procesado puede tener un nivel de ATP de entre 4,5 y 4,8 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias.

En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel aumentado de ATP después de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de ATP de más de 3,0 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 42 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de ATP de más de 3,1 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 42 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de ATP de más de 3,2 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 42 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de ATP de más de 3,3 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 42 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de ATP de más de 3,4 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 42 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto adicional, un producto de sangre procesado puede tener un nivel de ATP de entre 3,5 y 4,5 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de sangre procesado puede tener un nivel de ATP de entre 3,5 y 4,8 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 42 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de sangre procesado puede tener un nivel de ATP de entre 3,5 y 4,8 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 42 días de almacenamiento en condiciones anaerobias.

En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel aumentado de 2,3 DPG después de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de 2,3 DPG de más de 1,0 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de 2,3 DPG de más de 1,5 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de 2,3 DPG de más de 2,0 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de 2,3 DPG de más de 3 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado producido por un filtro de sangre de la presente divulgación tiene un nivel de 2,3 DPG de más de 4,0 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto adicional, un producto de sangre procesado puede tener un nivel de 2,3 DPG de entre 2,0 y 7,0 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de pRBC procesado puede tener un nivel de 2,3 DPG de entre 2,0 y 5,0 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias. En un aspecto, un producto de sangre procesado puede tener un nivel de 2,3 DPG de entre 1,0 y 8,0 $\mu\text{mol/gHb}$ después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaerobias.

En referencia a los dibujos y en particular a la FIG. 4, un aspecto de un sistema de almacenamiento anaerobio de sangre desechable usando el dispositivo de filtro de empobrecimiento de leucocitos, oxígeno y/o dióxido de carbono y plasma 63 se muestra y se hace referencia usando el número de referencia 1000. El sistema de almacenamiento de sangre incluye una bolsa de recogida de sangre 1010 para recibir sangre completa del donante 15, un dispositivo de filtro de empobrecimiento de leucocitos, oxígeno y/o dióxido de carbono y plasma 63 y una bolsa de almacenamiento de sangre anaerobia 81. El conducto 1044 conecta la sangre completa de la bolsa de recogida 1010 y la pasa a la bolsa aditiva 1040 antes de pasarla al dispositivo de filtro de empobrecimiento de leucocitos, oxígeno y/o dióxido de carbono y plasma 63 mediante el conducto 1055.

El sistema de la presente divulgación reconoce, incluye y proporciona que los RBC en el almacenamiento continúen metabolizando. Es deseable mantener su tasa metabólica a lo largo del tiempo de almacenamiento, y aun así mantener células viables sanas que son de alta calidad para transfusión. La presente divulgación protege únicamente metabolismo esencial, prolongar la semivida de eritrocitos refrigerados y proporciona producto de sangre de alta calidad. Sin limitarse a una teoría particular, la refrigeración inutiliza de forma reversible las enzimas esenciales para la reducción de met-hemoglobina *in vivo*, aumenta la solubilidad de O_2 perjudicial (en un factor de casi 2) en el ambiente de los glóbulos rojos, y permite que el nivel de ATP se reduzca disminuyendo la tasa glucolítica (a 4 °C, la tasa es de aproximadamente 1 % de la descubierta a 37 °C). La reducción de la concentración de ATP de glóbulos rojos da como resultado formación de equinocito (es decir una forma inestable de glóbulos rojos), aumento de las tasas de vesiculación de membrana, pérdida de área de superficie de glóbulos rojos y secuestro acelerado por macrófagos esplénicos. La vesiculación continúa durante el periodo de almacenamiento en frío, se exacerba por la formación de equinocitos y reduce la supervivencia de glóbulos rojos reduciendo el área de membrana de los glóbulos rojos.

Puede realizarse retirada de oxígeno y/o dióxido de carbono a cualquier temperatura que mantenga buena viabilidad de los RBC. Preferentemente, se retira oxígeno y/o dióxido de carbono entre aproximadamente 1 °C y aproximadamente 37 °C siempre que se mantenga la viabilidad de los PRBC. Una vez en el dispositivo de almacenamiento de la sangre de la divulgación, los PRBC pueden almacenarse en refrigeración de una manera coherente con la práctica de la industria habitual para almacenamiento de productos sanguíneos, preferentemente a una temperatura entre 1 °C y 10 °C, y más preferentemente aproximadamente 4 °C. Dichos periodos de

almacenamiento varían de aproximadamente 3 a aproximadamente 20 semanas y más. Los periodos de almacenamiento preferidos son de aproximadamente 6 a aproximadamente 15 semanas de duración o más siempre que se mantenga la calidad de los RBC.

5 En aspectos de acuerdo con la presente divulgación, la sangre puede fluir dentro de las fibras de un material permeable a gas rodeado por un medio de empobrecimiento. Cuando el fluido sanguíneo fluye en una capa paralela, puede haber poca o ninguna mezcla lateral y el flujo se conoce como flujo laminar. Cuando esté en flujo laminar, el tiempo necesario para la difusión del O₂ o CO₂ para difundir del centro de la corriente en movimiento de fluido
10 sanguíneo al medio de empobrecimiento aumenta en gran medida. Para superar la barrera de difusión creada por flujo laminar, es necesario crear un flujo turbulento del fluido sanguíneo. En aspectos de la presente divulgación en los que el medio de empobrecimiento está compuesto de microesferas o perlas, dichas barreras de difusión no se crean y se producen mezclas.

15 En algunos aspectos, el flujo laminar de la sangre cuando fluye dentro de un canal puede alterarse. En un aspecto, el flujo puede alterarse por una o más áreas "de mezcla" en las se permite que la sangre que fluye dentro de las fibras salga de un primer conjunto de fibras, se mezcle y entre en un segundo conjunto de fibras. Por medio de un flujo discontinuo, el gradiente de difusión que se desarrolla dentro de un canal fluido se altera.

20 En otro aspecto, el flujo laminar de la sangre que fluye en un canal puede alterarse retorciendo el canal. La geometría de la fibra puede diseñarse para crear Vórtices de Dean controlando la curvatura de fibra de número de Reynolds y la torsión de hélice como se proporciona por ejemplo en Moll *et al.*, "Dean Vortices Applied to Membrane Process Part II: Numerical Approach", Journal of Membrane Science 288 (2007) 312-335.

25 El flujo laminar de sangre que fluye en un canal puede alterarse rotando de forma externa los canales. En un aspecto, una cámara interna que tiene fibras paralelas con sangre en circulación se rota en relación con la cámara externa o dispositivo. Dicha rotación puede inducirse usando un motor magnético. En un aspecto, la rotación de la parte interna o externa del dispositivo puede inducir vórtices de Taylor para potenciar la filtración y la mezcla. Pueden encontrarse ejemplos de dispositivos y métodos, por ejemplo, en Schoendorfer *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 4.713.176, expedida el 15 diciembre de 1987, titulada "Plasmapheresis System and Method"; Nakamura
30 *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 5.254.248, expedida el 19 de octubre de 1993, titulada "Blood Plasma Separating Apparatus"; Nose *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 4.381.775, expedida el 3 de mayo de 1983, titulada "Method and Apparatus for Low Pressure Filtration of Plasma from Blood"; Hodgins *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 5.000.848, expedida el 19 de marzo de 1991, titulada "Rotary Filtration Device with Hydrophilic Membrane"; y Kessler *et al.*, Patente de Estados Unidos n.º 5.846.427, expedida el 8 de diciembre de 1998, titulada "Extra-Luminal Crossflow Plasmapheresis Devices and Method of Use Thereof".

35 Pre-Transfusión

Antes de la transfusión de pRBC a un paciente o receptor, pueden efectuarse diversos procesos para maximizar la aceptación de los RBC por el receptor y para optimizar la condición de los RBC.

40 En los pacientes que son pequeños o cuyos sistemas circulatorios no pueden procesar un gran flujo de entrada de RBC, el volumen de los pRBC debe reducirse inmediatamente antes de la transfusión. Dichos pacientes que puede enfrentarse a dicho problema son los que padecen insuficiencia cardiaca congestiva o neonatos. Puede conseguirse reducción de volumen usando una diversidad de métodos.

45 Cuando se almacena pRBC durante un periodo de tiempo, los pRBC generalmente se almacenarán en una bolsa de sangre, por ejemplo, bolsas de sangre que tienen un compartimiento de membrana hidrófilo en la mitad superior de la bolsa. La bolsa de almacenamiento de pRBC empobrecidos 81 preferentemente tiene una membrana hidrófila, no mostrada, que tiene un tamaño de poro de membrana de menos de <1 micrómetro para conservar las células RBC y evitar que la atraviesan. Una bolsa tiene preferentemente un sorbente, como se ha analizado anteriormente para fines de empobrecimiento continuado de oxígeno, dióxido de carbono y oxígeno y/o dióxido de carbono. Una etapa de procesamiento adicional que es necesariamente inmediatamente anterior a la transfusión es la introducción de precursores de óxido nítrico a los pRBC para potenciar la función vasorreguladora. Existe una conciencia creciente de que la transfusión sanguínea usando sangre de bancos no solamente proporciona beneficios completamente
50 percibidos, sino que en algunos casos, es perjudicial para algunos receptores. Se postula que una de las razones principales para la eficacia menor de lo esperado de sangre transfundida es la pérdida de función vasorreguladora de RBC provocada por la degradación de óxido nítrico (NO) secuestrado en moléculas de hemoglobina (Hb) dentro de RBC. Un informe reciente ha mostrado que tan poco como 3 horas después de la recogida de sangre, se perdió NO en RBC y su actividad vasorreguladora puede restaurarse con la adición de compuestos de suministro de NO.
55 En consecuencia, la introducción de precursores de óxido nítrico en RBC durante el almacenamiento en la bolsa de sangre 81, inmediatamente antes de transfusión y después de almacenamiento ayudará al receptor a recibir beneficios óptimos de la transfusión. Puede añadirse NO a los RBC en la bolsa de almacenamiento 81 usando una bolsa o un cartucho pequeño para inyectar los materiales anteriores en forma de un gas o nitrato u otro precursor químico como parte de un conjunto de transfusión. Debido a la estabilidad aumentada de óxido nítrico y sus precursores en condiciones anaerobias, se añade a óxido nítrico al ambiente anaerobio de la bolsa de almacenamiento 81 antes de la transfusión, por ejemplo. Adicionalmente, pueden añadirse precursores de óxido
60
65

nítrico en la Fase C post-almacenamiento antes de la adición de oxígeno antes de la transfusión. La adición de NO requiere retirada de oxígeno previa debido a su inestabilidad inherente en presencia de oxígeno. Adicionalmente, el óxido nítrico debería añadirse preferentemente inmediatamente antes de la transfusión en forma de gas de NO, reactivos precursores de NO o nitrito.

5 Inmediatamente antes de la transfusión, puede aportarse oxígeno a RBC para oxigenar la hemoglobina. La adición de oxígeno debe conseguirse durante la fase C post-almacenamiento después de irradiación con rayos gamma y x y adición de precursor de óxido nítrico, preferentemente inmediatamente antes de la transfusión al lado de la cama. La presencia de oxígeno con los procesos de radiación gamma y de rayos x y la adición de óxido nítrico son deletéreos para los RBC como se ha analizado anteriormente.

10 Los beneficios de la retirada de oxígeno y/o retirada de dióxido de carbono de los RBC antes de almacenamiento en combinación con otras terapias tienen un efecto positivo en el resultado de los RBC almacenados antes de la transfusión.

15 El periodo de validez de RBC empaquetados puede medirse por el grado de la formación de vesículas, grado de hemólisis, y niveles de ATP celulares totales. Se obtiene el periodo de validez largo cuando la formación de vesículas de membrana es baja, la hemólisis es baja y se mantienen niveles altos de ATP, preferentemente por encima de aproximadamente 2-3 μmol de ATP por g de Hb. Todos estos parámetros se miden por los métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia. Por ejemplo, pueden ensayarse muestras de células con respecto al grado de hemólisis calculando la fracción de hemoglobina de sobrenadante con respecto a la hemoglobina total. Para medir los niveles de ATP, por ejemplo, RBC pueden ensayarse con respecto a ATP de acuerdo con los métodos descritos en los Boletines Técnicos 336-W y 35--(Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.).

20 Como se usa en el presente documento, el periodo de validez mejorado o prolongado o almacenamiento mejorado de RBC se refiere a la conservación de RBC viables durante un periodo de tiempo extendido en relación con la norma habitual de aproximadamente 6 semanas. En la mayoría de los casos, una retirada de oxígeno sustancial proporciona al RBC un periodo de validez extendido de aproximadamente 7-15 semanas y, en algunas condiciones, hasta 20 semanas o más, particularmente cuando se suspenden células en las soluciones de almacenamiento proporcionadas por la divulgación objeto. El periodo de validez también puede prolongarse previniendo inicialmente la inhibición de la retroalimentación de 2,3-DPG de la ruta glucolítica de RBC.

25 Los parámetros *in vitro* medidos después de almacenamiento de RBC proporcionan un medio para medir la supervivencia *in vivo* de RBC. El medio convencional para evaluar la supervivencia *in vivo* es determinar el porcentaje de supervivencia celular 24 horas después de la transfusión en un receptor. Típicamente en los Estados Unidos, el porcentaje promedio de supervivencia celular es necesariamente aproximadamente o mayor del 75 % para proporcionar un producto de RBC aceptable. Los tres parámetros, producción de vesículas, grado de la hemólisis y niveles de ATP, se usan rutinariamente de forma individual en la técnica para predecir la supervivencia celular *in vivo*.

30 Aunque la presente divulgación describe en detalle ciertos aspectos, se entiende que existen variaciones y modificaciones conocidas por los expertos en la materia que están dentro de la divulgación. En consecuencia, se pretende que la presente divulgación abarque todas las alternativas, modificaciones y variaciones que están dentro del alcance de la divulgación como se expone en la divulgación.

35 Los aspectos de la invención para los que se busca protección son como se define por las reivindicaciones.

40 Ejemplos:

50 Preparación de recubrimientos con injertos de PVA

Se prepara una solución de PVA de 30 mg/ml disolviendo 1,5 g de PVA en 50 ml de agua desionizada, agitando durante 2 h a 90 °C. El valor de pH de la solución de PVA se ajusta a pH 1 con HCl 5 mol/l. La solución de PVA se aplica a una superficie de silicona activada por adsorción sencilla. Después se añaden 10 ml de solución acuosa de tereftaldehído 1 mg/ml a la solución de PVA, agitando durante 2 h a 80 °C hasta que se reticula el PVA. mPEG se oxida con anhídrido acético y dimetilsulfóxido (DMSO) para crear un PEG (mPEG-CHO) terminado con aldehído. Se prepara superficie de PVA con injertos de mPEG añadiendo las microesferas o fibras recubiertas en una solución de mPEG-CHO DMSO, después se añade ácido tolueno-4-sulfónico y después se mezcla a 70 °C durante 4 h, seguido de un lavado con agua desionizada, y almacenado en un desecador al vacío.

60 Aspecto ejemplar A

65 En referencia a las FIGS. 6A y 6B, se muestra un dispositivo de filtro de leucorreducción, empobrecimiento de O₂ y CO₂ de sangre completa en sección transversal parcial. La sangre completa o sangre de donante completa fluye al dispositivo a través de una primera entrada 410 y se distribuye antes de fluir a la cámara interna 403 que contiene medio de empobrecimiento 440.

Aspecto ejemplar B

5 En referencia a la FIG. 7, la cámara interna 403 tiene un medio de empobrecimiento 480 intercalado entre fibras huecas 490. La sangre fluye a través de las fibras huecas 490 y el O₂ y CO₂ se absorben por el medio de empobrecimiento 480.

Aspecto ejemplar C

10 En referencia a la FIG. 8A a 8D, se muestra un Dispositivo de Empobrecimiento de Leucocitos/Plaquetas/Oxígeno/Dióxido de Carbono 1. La sangre completa o sangre donante completa que tiene un anticoagulante entra a través de la entrada 2. Después de pasar a través del dispositivo, el concentrado de glóbulos rojos reducidos en Leucocitos/Plaquetas/Oxígeno/Dióxido de Carbono sale de la salida 3 y se recoge en una bolsa de almacenamiento. La FIG. 8B muestra una sección transversal del dispositivo integrado con un ensamblaje de sellado rotatorio 4. La sangre que entra en el dispositivo a través de la entrada 2 se distribuye a la cámara interna (cámara de empobrecimiento de plasma 10) que tiene medio de empobrecimiento de Leucocitos/Plaquetas/Oxígeno/Dióxido de Carbono 8 a través de una cámara de distribución de entrada de sangre 7. Rotando la cámara interna (cámara de empobrecimiento de Leucocitos/Plaquetas/Oxígeno/Dióxido de Carbono 5) los Vórtices de Taylor crean turbulencia y reducen el tiempo de difusión que aumenta debido al flujo laminar. El plasma se filtra a través de una membrana capaz de separar plasma de sangre (filtro de sangre 11) y el plasma sale del dispositivo a través de la salida de Plasma empobrecido en Leucocitos/Plaquetas/Oxígeno/Dióxido de Carbono 6 después de recoger plasma de la cámara de recogida 12. La sangre empobrecida en Leucocitos/Plaquetas/Oxígeno/Dióxido de Carbono pasa a una cámara de distribución de salida 9 y fluye hacia fuera a través de la salida 3.

25 La Figura 8C muestra una vista en sección transversal mejorada del dispositivo de empobrecimiento 1. La FIG. 8C el sello rotatorio 13 que posibilita la rotación de la cámara 10. Un fuelle elastomérico 15 proporciona una fuerza hacia abajo en la parte cerámica superior del sello contra el sello de carbono inferior que crea un sello hermético.

30 La sangre completa anticoagulada fluye hacia dentro a través del orificio de entrada de sangre estacionario (no rotatorio) (2). La fuerza motriz para el flujo puede proporcionarse por gravedad o una bomba o cualquier medio capaz de crear un flujo sanguíneo en un sistema de 2-200 ml/min. La sangre fluye en el orificio de entrada y después en la cámara de distribución de entrada de sangre (7). La cámara de distribución de entrada distribuye la sangre a la sección superior de la cámara de medio de empobrecimiento de Leucocitos/Plaquetas/Oxígeno/Dióxido de Carbono (8). La sangre completa fluye hacia abajo a través de un lecho de medio de empobrecimiento de Leucocitos/Plaquetas/Oxígeno/Dióxido de Carbono contenido en la cámara. El medio en la cámara adsorbe glóbulos blancos (leucocitos) y plaquetas y reacciona con oxígeno y dióxido de carbono. Cuando la sangre alcanza el fondo del lecho de medio, los leucocitos se reducen a un nivel por debajo de 10 células/ μ l, las plaquetas se reducen hasta 1000 plaquetas/ μ l, el oxígeno se reduce hasta <1 % de SO₂ y el Dióxido de Carbono se controla hasta niveles entre 0,67 y 5,32 kPa. En el fondo del lecho de medio los glóbulos rojos empobrecidos entran en la cámara de distribución de salida de sangre (9) y fluyen a la cámara de empobrecimiento de plasma (10). La cámara de empobrecimiento de plasma es una cámara estacionaria con la pared interna definida por la cámara de medio de empobrecimiento de Leucocitos/Plaquetas/Oxígeno/Dióxido de Carbono estacionaria y la pared externa consiste en una pared de filtro de plasma rotatoria (11). La pared de filtro de plasma rotatoria está unida a un ensamblaje de sello rotatorio (4) que consiste en un sello rotatorio comprendido por componentes recubiertos de carbono/cerámica (13) mantenidos unidos mediante un fuelle elastomérico (15). El flujo tangencial y los vórtices crean un efecto de corte en la superficie de la membrana plasmática para evitar la formación de tapón de glóbulos rojos permitiendo que el plasma permee a través del filtro de plasma a la cámara de recogida de plasma (12). El plasma con empobrecimiento de Leucocitos/Plaquetas/Oxígeno/Dióxido de Carbono sale después de la cámara de recogida de plasma mediante una salida de plasma (6) que está acoplada a un tubo estacionario con un sello rotatorio.

50

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo de filtro de sangre que comprende:
 - 5 una carcasa que comprende una pared externa, una primera entrada (65), una primera salida (83) y una segunda salida (71);
 - una membrana (73) que es capaz de separar plasma de dicha sangre, en la que dicha membrana forma al menos una cámara interna (69) dentro de dicha carcasa y dicha sangre entra en dicha al menos una cámara interna de dicho dispositivo de filtro de sangre a través de dicha primera entrada;
 - 10 un medio de empobrecimiento de leucocitos y oxígeno (67) dispuesto dentro de dicha al menos una cámara interna, dicho medio de empobrecimiento de leucocitos y oxígeno es capaz de empobrecer dicha sangre en leucocitos y oxígeno;
 - una cámara externa (77) dispuesta entre dicha pared externa y dicha membrana, en la que dicho plasma permea a través de dicha membrana, entra en dicha cámara externa y sale de dicha carcasa mediante dicha primera salida;
 - 15 por lo que dicha sangre que se ha empobrecido en oxígeno, leucocitos y plasma sale de dicha carcasa mediante dicha segunda salida como glóbulos rojos empaquetados (pRBC).
2. El dispositivo de filtro de sangre de la reivindicación 1, en el que dicho medio de empobrecimiento también es capaz de empobrecer dicha sangre en CO₂.
- 20 3. El dispositivo de filtro de sangre de la reivindicación 1, en el que dicho medio de empobrecimiento también es capaz de empobrecer dicha sangre en plaquetas.
4. El dispositivo de filtro de sangre de la reivindicación 1, en el que dichos pRBC tienen una saturación de O₂ de 3 % o menos.
- 25 5. El dispositivo de filtro de sangre de la reivindicación 2, en el que dichos pRBC tienen pCO₂ de menos de 3,99 kPa.
6. El dispositivo de filtro de sangre de la reivindicación 1, en el que dichos pRBC tienen un hematocrito de más de 35 %.
- 30 7. El dispositivo de filtro de sangre de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha membrana es de 25 a 250 micrómetros de grosor.
- 35 8. El dispositivo de filtro de sangre de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dicha membrana tiene un tamaño de poro de menos 2 micrómetros.
9. El dispositivo de filtro de sangre de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho medio de empobrecimiento de leucocitos y oxígeno comprende una estructura macroporosa que comprende un material sorbente de oxígeno y un material de leucorreducción.
- 40 10. El dispositivo de filtro de sangre de acuerdo con la reivindicación 9, en el que dicha estructura macroporosa comprende además un material sorbente de CO₂, y en el que dicho material sorbente de oxígeno es un óxido metálico o hidróxido metálico.
- 45 11. El dispositivo de filtro de sangre de acuerdo con la reivindicación 9, en el que dicha estructura macroporosa es un material sorbente de oxígeno recubierto con una química de superficie de unión a leucocitos biocompatible.
12. El dispositivo de filtro de sangre de acuerdo con la reivindicación 9, en el que dicha estructura macroporosa tiene una característica seleccionada del grupo que consiste en un poro de flujo medio de entre 10 y 30 micrómetros, un área de superficie de al menos 5 x 10³ cm²/gramo de medio, y combinaciones de los mismos.
- 50 13. El dispositivo de filtro de sangre de acuerdo con la reivindicación 9, en el que dicha estructura macroporosa comprende una estructura seleccionada del grupo que consiste en
 - 55 (a) microesferas recubiertas con una química de superficie de unión a leucocitos biocompatible, en el que dichas microesferas se incorporan después en el material de carga de leucorreducción;
 - (b) una o más fibras; y
 - (c) una o más fibras que forman una estructura de filtro.
- 60 14. El dispositivo de filtro de sangre de acuerdo con la reivindicación 13, en el que dichas una o más fibras comprenden fibras seleccionadas de uno o más del grupo que consiste en
 - 65 (a) una fibra de leucorreducción y una fibra sorbente de oxígeno;
 - (b) una fibra combinada de leucorreducción y empobrecimiento de oxígeno;
 - (c) una fibra sorbente de dióxido de carbono;

(d) un fibra sorbente de oxígeno rodeada por fibras de unión a leucocitos biocompatibles; y
(e) una o más fibras sorbentes de oxígeno y fibras sorbentes de dióxido de carbono rodeadas por fibras de unión a leucocitos biocompatibles.

- 5 15. El dispositivo de filtro de sangre de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho filtro tiene un caudal de al menos 3 ml/minuto.

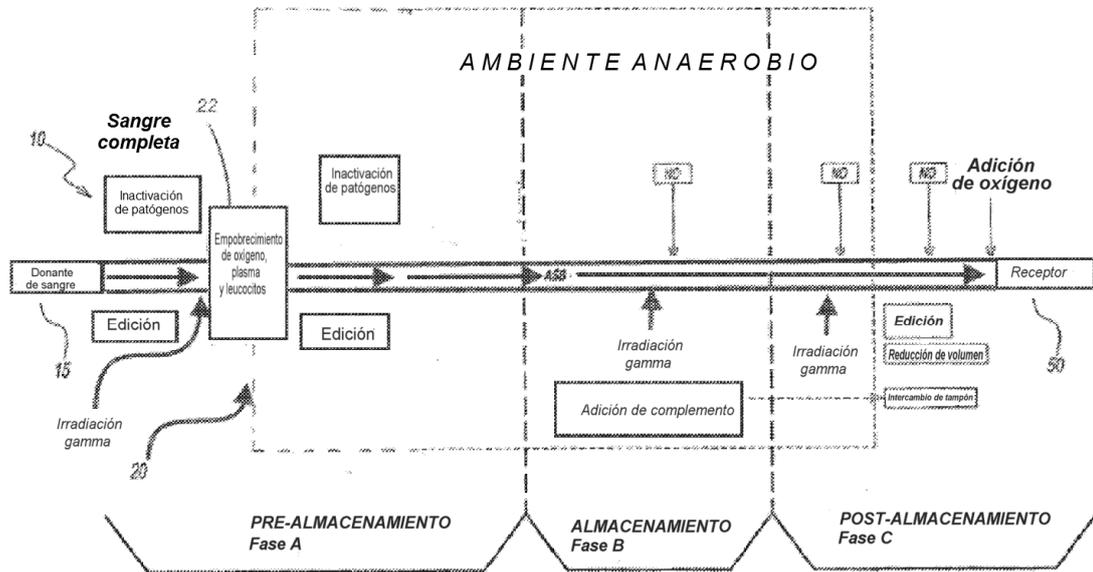


FIG. 1

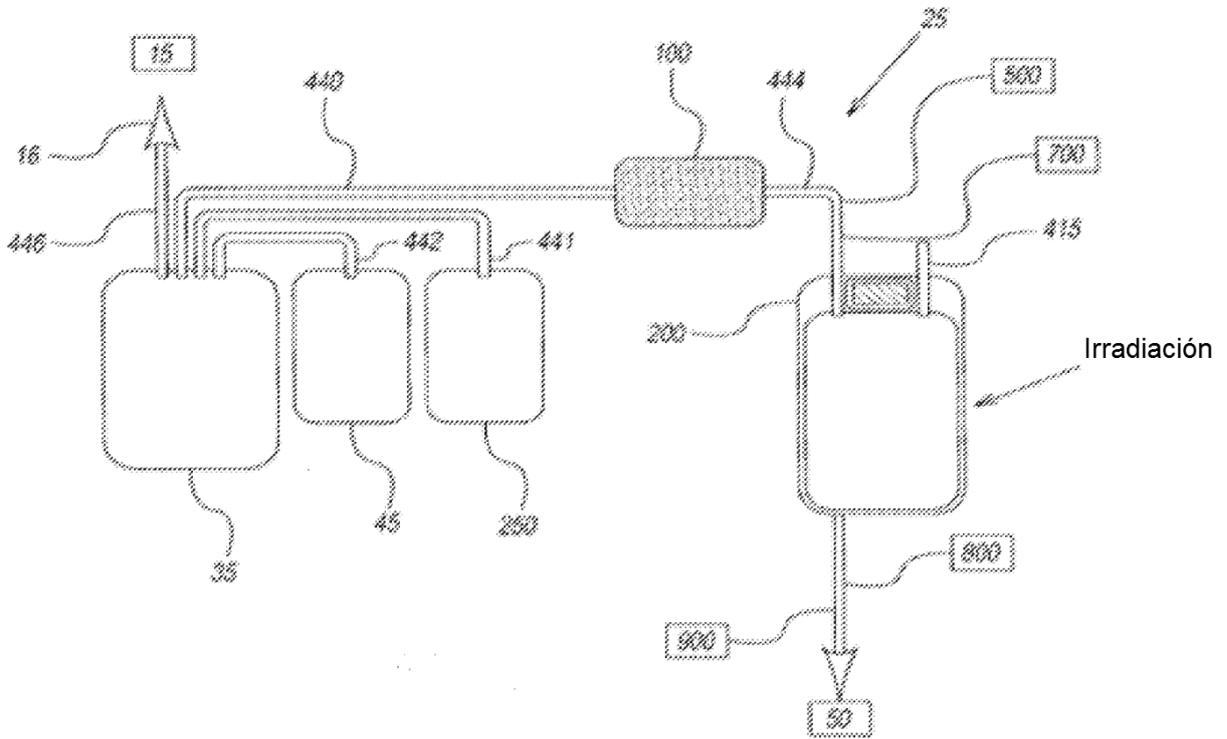


FIG. 2

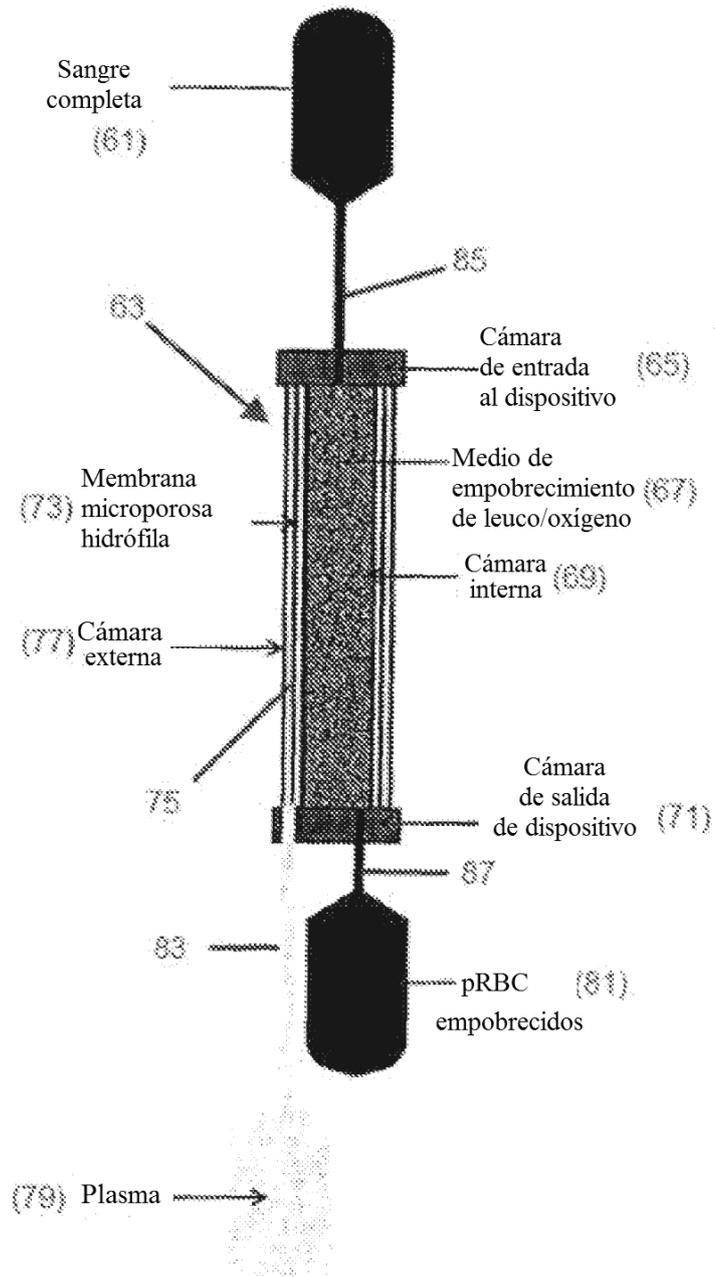


FIG. 3

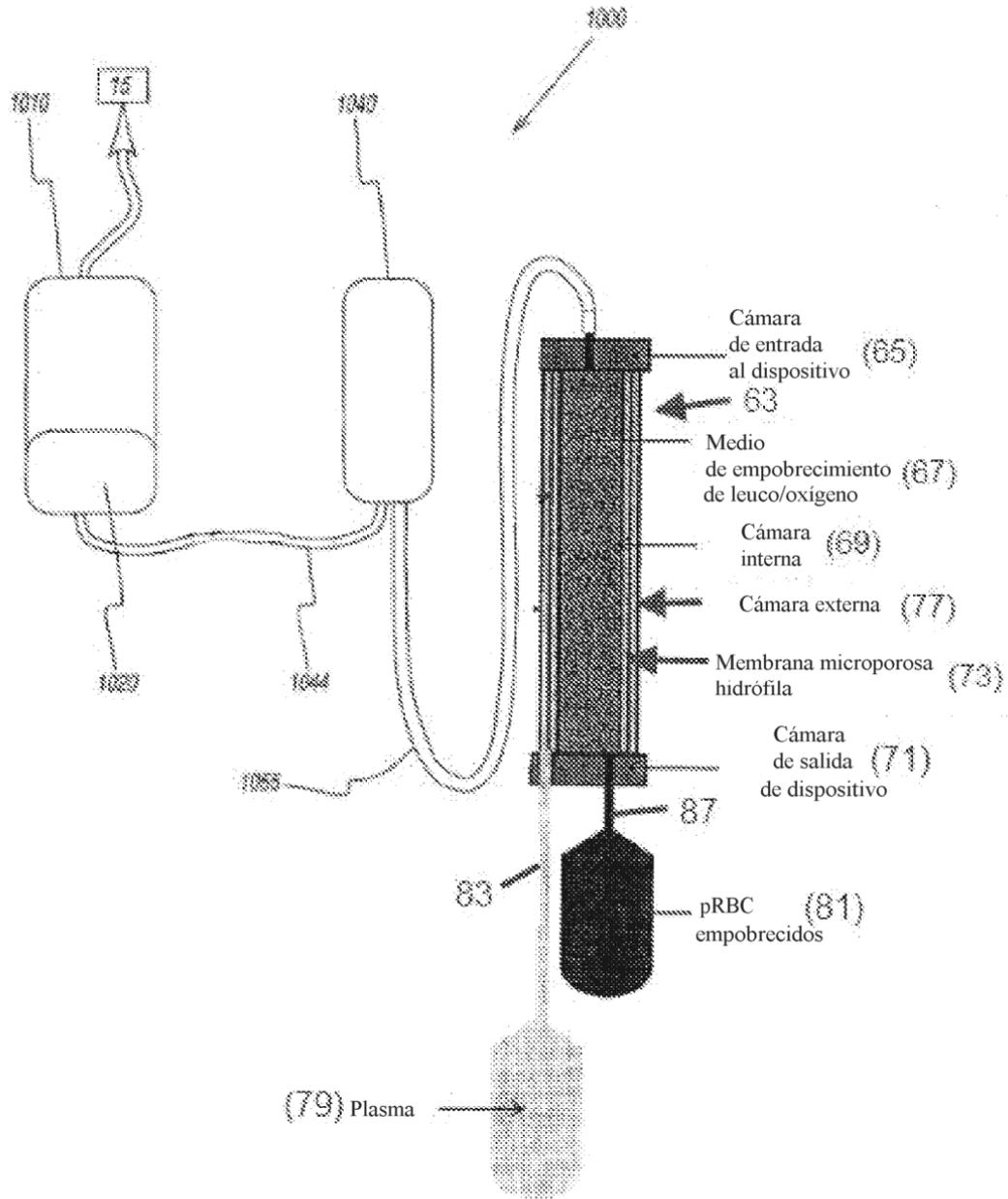


FIG. 4

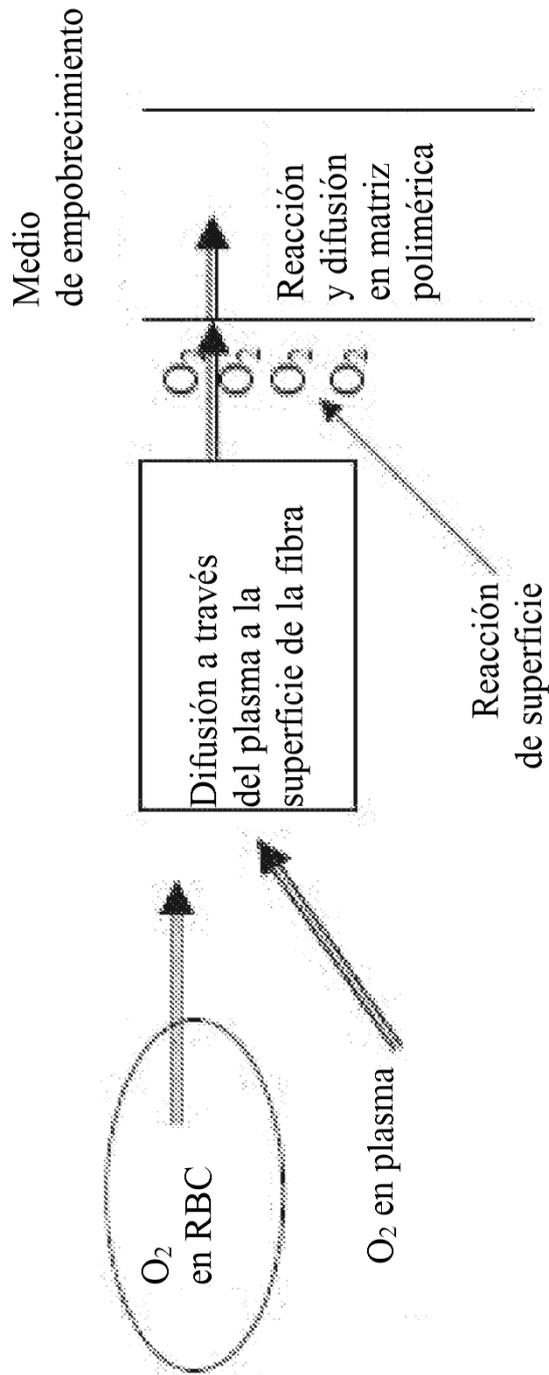


FIG. 5

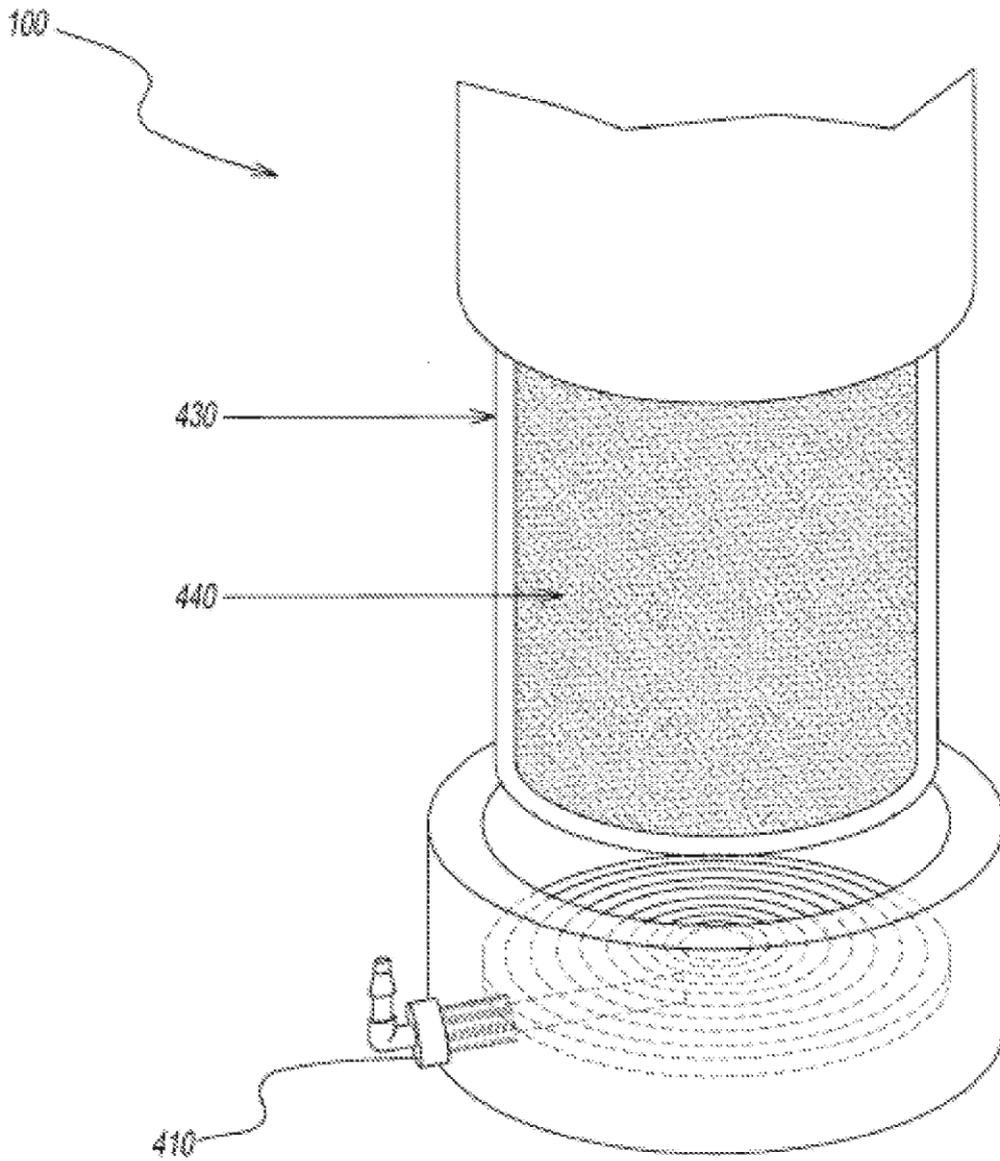


FIG. 6A

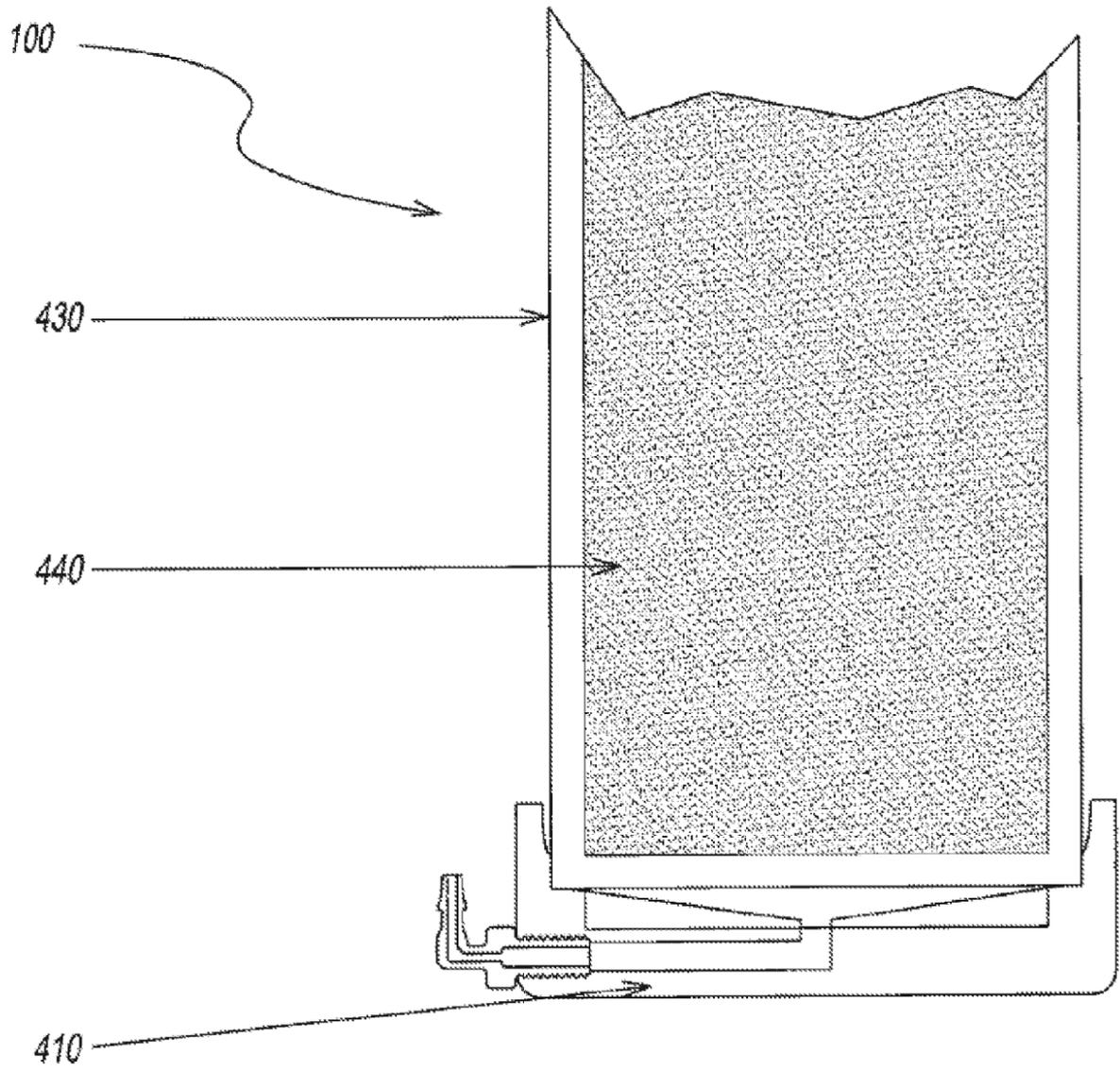


FIG. 6B

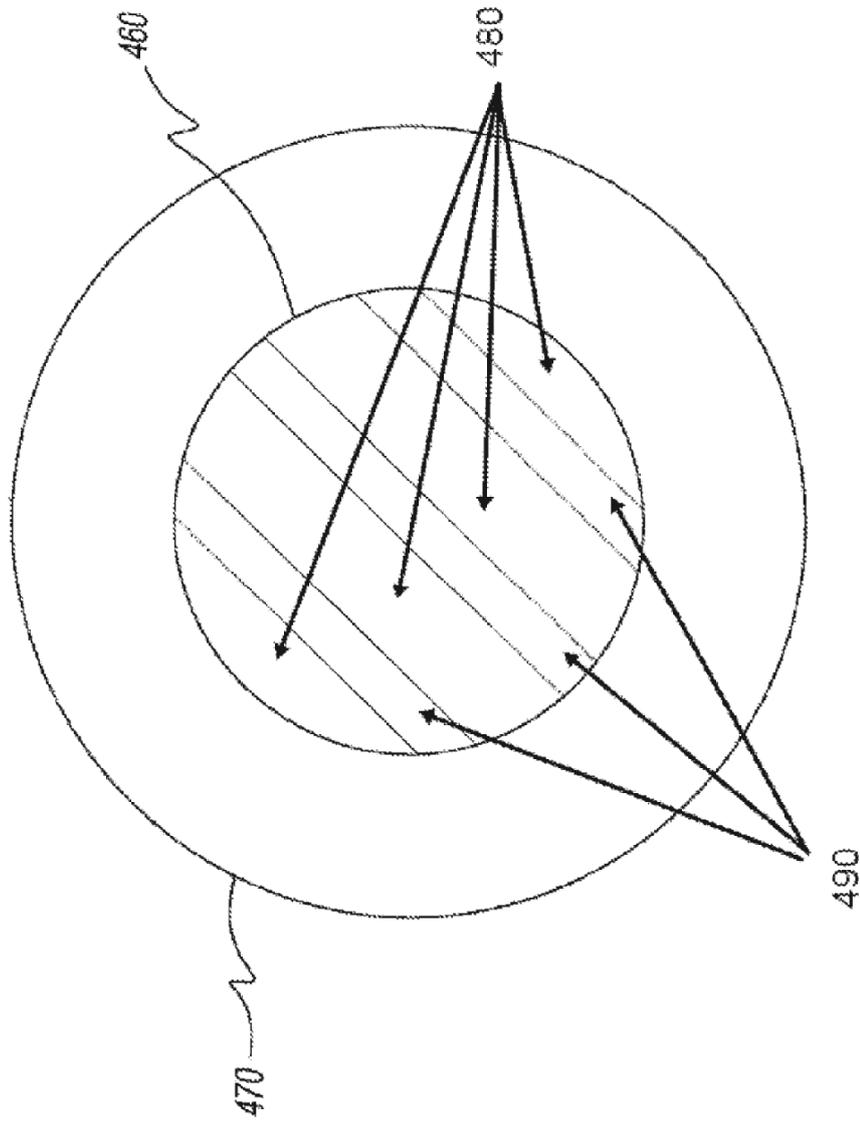


FIG. 7

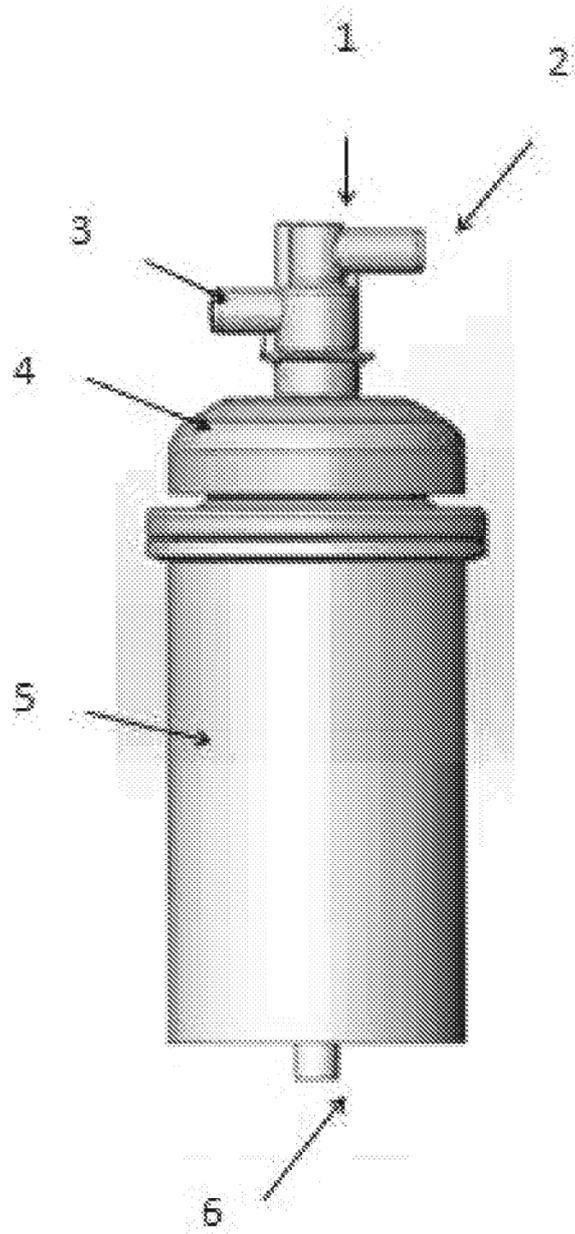


FIG. 8A

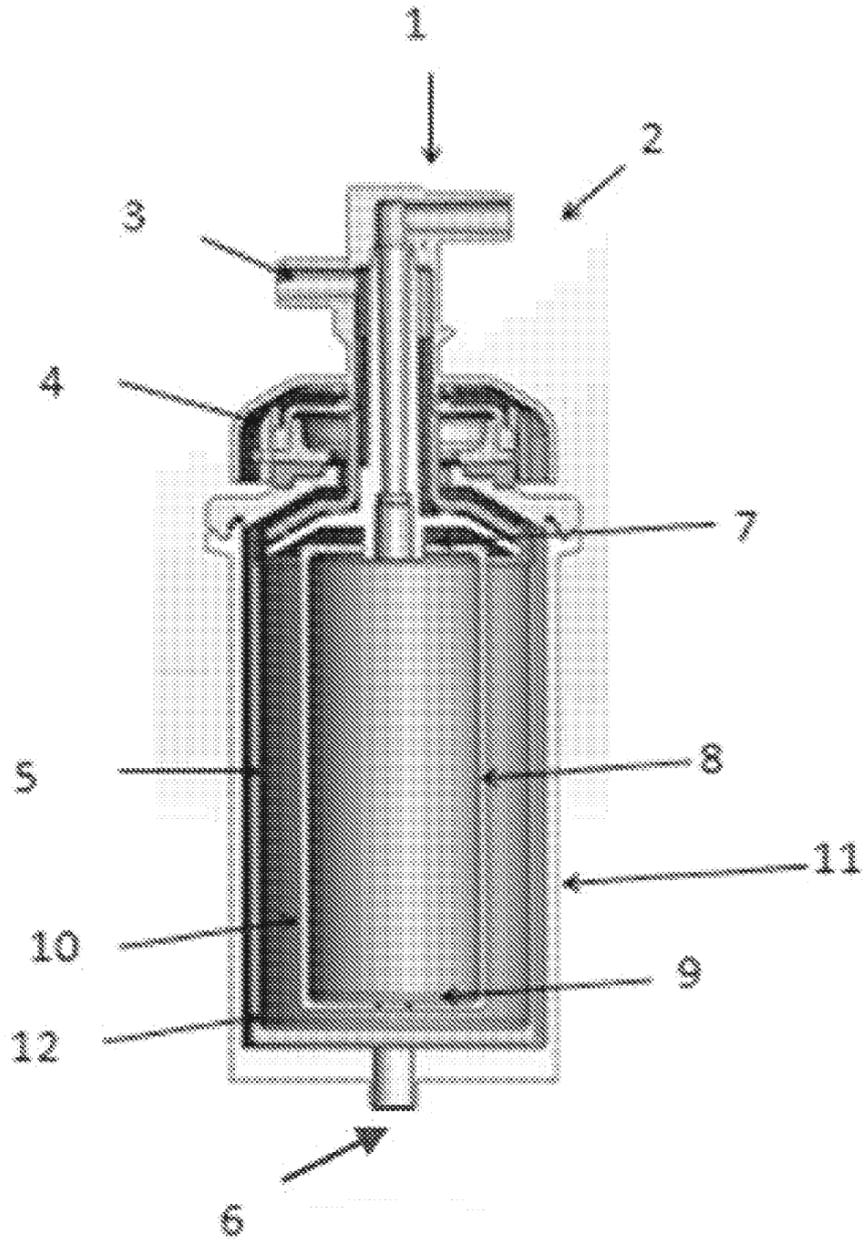


FIG. 8B

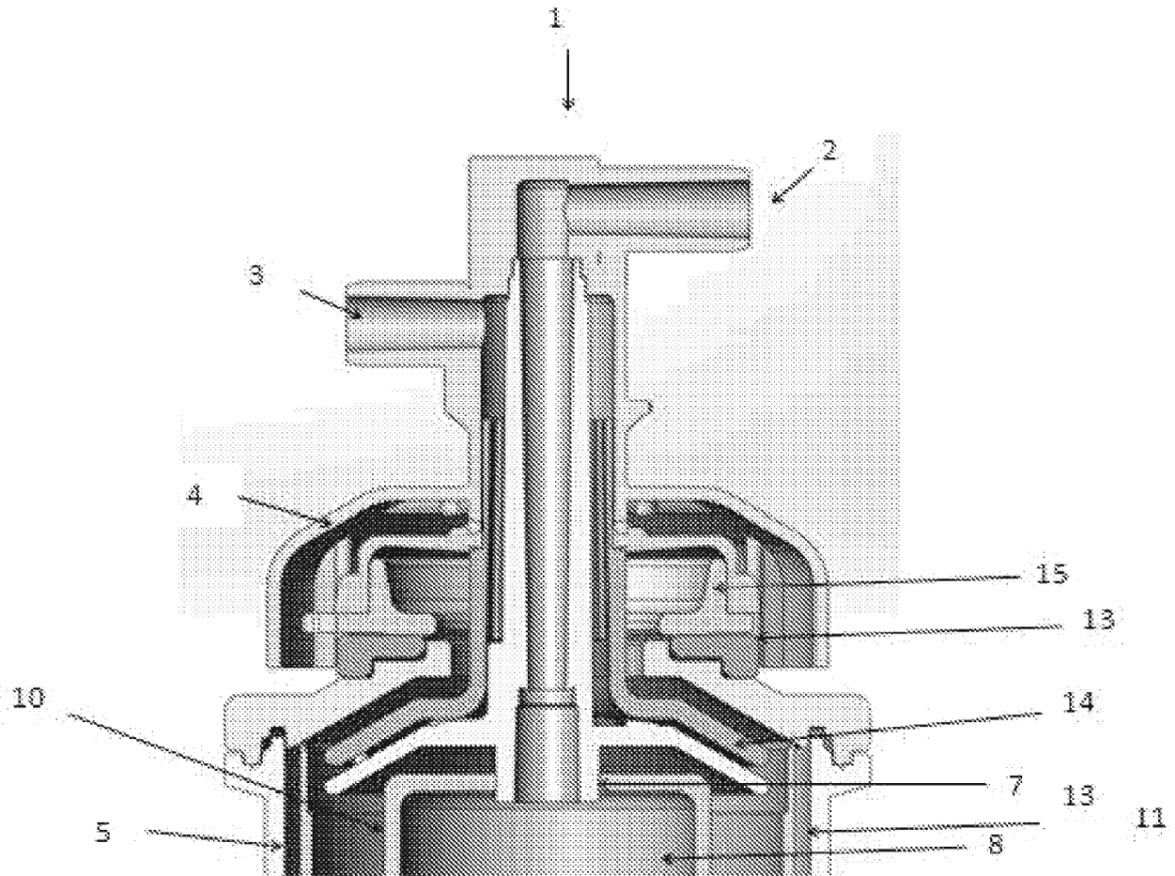


FIG. 8C

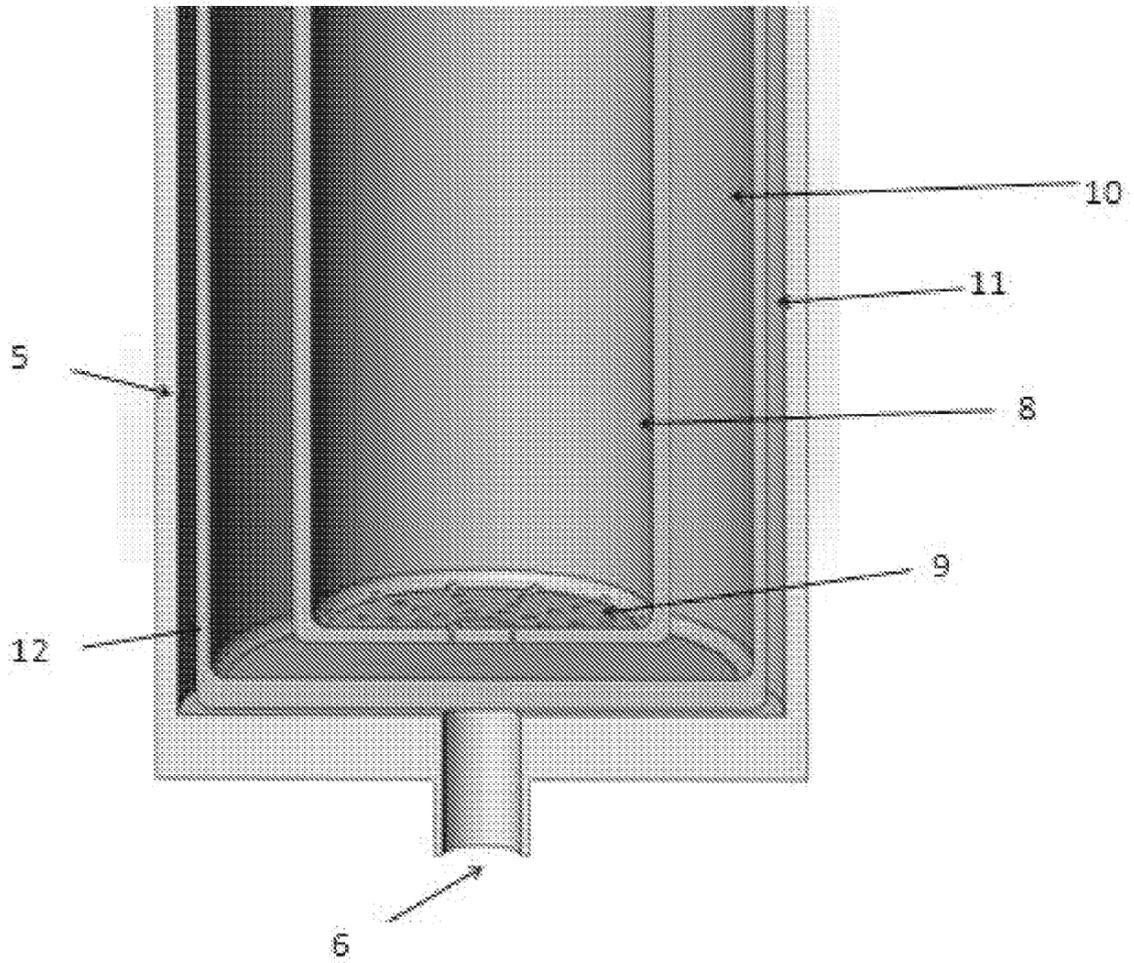


FIG. 8D