

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 793 484**

51 Int. Cl.:

A01N 1/02 (2006.01)

C12N 5/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.11.2011 PCT/US2011/059372**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.05.2012 WO12061731**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.11.2011 E 11838889 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2020 EP 2635114**

54 Título: **Irradiación de glóbulos rojos y almacenamiento anaeróbico**

30 Prioridad:

05.11.2010 US 410684 P

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

16.11.2020

73 Titular/es:

**HEMANEXT INC. (100.0%)
99 Hayden Avenue, Building B, Suite 620
Lexington, MA 02421, US**

72 Inventor/es:

VERNUCCI, PAUL

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 793 484 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

Irradiación de glóbulos rojos y almacenamiento anaeróbico

5 Antecedentes

1. Campo técnico

10 La presente divulgación se refiere a un sistema de almacenamiento de sangre que tiene un dispositivo de empobrecimiento de oxígeno/dióxido de carbono y una bolsa de almacenamiento de sangre para el almacenamiento a largo plazo de glóbulos rojos (RBC). Más particularmente, la presente divulgación se refiere a un sistema de almacenamiento de sangre que es capaz de eliminar el oxígeno y el dióxido de carbono de los glóbulos rojos antes del almacenamiento y el tratamiento post anaeróbico de los glóbulos rojos irradiados por rayos gamma o rayos X, así como el mantenimiento de oxígeno o estados empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono durante el almacenamiento, prolongando así el período de conservación y minimizando el deterioro de los glóbulos rojos desoxigenados.

2. Antecedentes de la técnica

20 El suministro adecuado de sangre y el almacenamiento de la misma es un problema que enfrentan todas las principales organizaciones hospitalarias y de salud en todo el mundo. A menudo, la cantidad de suministro de sangre almacenada es considerablemente menor que la necesidad de la misma. Esto es especialmente cierto durante períodos de crisis tales como catástrofes naturales, guerra y similares, cuando el suministro de sangre a menudo está peligrosamente cerca de agotarse. Es en momentos críticos como estos que a menudo se escucha el clamor por más donaciones de sangre fresca. Sin embargo, desafortunadamente, incluso cuando no hay un período de crisis, el suministro de sangre y el que se mantiene almacenado deben controlarse y reponerse constantemente, porque la sangre almacenada no mantiene su viabilidad por mucho tiempo.

30 La sangre almacenada sufre un deterioro constante que es, en parte, causado por la oxidación y degradación de la hemoglobina y el empobrecimiento en trifosfato de adenosina (ATP) y 2,3-bisfosfoglicerato (DPG). El oxígeno hace que la hemoglobina (Hb) transportada por los glóbulos rojos (RBC) se convierta en met-Hb, cuya descomposición produce productos tóxicos como hemicromo, hemina y Fe^{3+} libre. Junto con el oxígeno, estos productos catalizan la formación de radicales hidroxilo (OH.cndot.), y tanto el OH.cndot. como los productos de degradación de met-Hb dañan la membrana lipídica de los glóbulos rojos, el esqueleto de la membrana y el contenido celular. Como tal, la sangre almacenada se considera inutilizable después de 6 semanas, de acuerdo con lo determinado por la relativa incapacidad de los glóbulos rojos para sobrevivir en la circulación del receptor de la transfusión. El empobrecimiento en DPG impide el transporte adecuado de oxígeno al tejido, lo que reduce la eficacia de la transfusión inmediatamente después de la administración (los niveles de DPG se recuperan una vez en el receptor después de 8-48 h). Además, estos efectos nocivos también dan como resultado una eficacia general reducida y mayores efectos secundarios de la terapia de transfusión con sangre almacenada antes de la fecha de vencimiento, cuando se usa sangre de más de dos semanas. La reducción en el contenido de dióxido de carbono en la sangre almacenada tiene el efecto beneficioso de elevar los niveles de DPG en los glóbulos rojos.

45 Por lo tanto, existe la necesidad de poder reducir los niveles de oxígeno y dióxido de carbono en los glóbulos rojos antes del almacenamiento a largo plazo sin que la sangre almacenada sufra los efectos nocivos causados por la interacción de oxígeno y hemoglobina. Además, existe la necesidad de almacenar glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono en bolsas que contengan o en una bolsa rodeada por una película de barrera con materiales de empobrecimiento de oxígeno y dióxido de carbono. Además, existe la necesidad de optimizar los niveles de ATP y DPG en los glóbulos rojos almacenados variando el empobrecimiento o la eliminación de los componentes antes y/o durante el almacenamiento, dependiendo de las necesidades del receptor tras la transfusión. Además, los dispositivos y métodos de almacenamiento de sangre deben ser simples, económicos y capaces de almacenar a largo plazo el suministro de sangre.

55 Otra cuestión se relaciona con la enfermedad de injerto contra huésped asociada a transfusión (TA-GVHD), que es una complicación rara pero casi mortal asociada con la terapia de transfusión en receptores de sangre gravemente inmunocomprometidos (por ejemplo, receptor de trasplante de médula ósea, pacientes que reciben quimioterapia agresiva, neonatos prematuros). La prevención de la TA-GVHD requiere la eliminación completa o la detención del potencial proliferativo de los linfocitos T de la sangre del donante. Aunque los filtros de reducción de leucocitos se usan ampliamente, no son adecuados en la prevención de TA-GVHD porque no pueden eliminar completamente los linfocitos. Por lo tanto, la inactivación de linfocitos por irradiación gamma es actualmente el único método recomendado para la prevención de TA-GVHD. Dado que es un efecto secundario casi fatal de la transfusión, algunos hospitales y países irradian cada unidad de RBC para la prevención de TA-GVHD. Más comúnmente, las unidades de RBC ordenadas para receptores específicos se irradian antes de dispensarse al lado de la cama.

En consecuencia, los RBC almacenados anaerómicamente deben ser compatibles con el tratamiento de irradiación con rayos gamma o rayos X para que la sangre almacenada anaerómicamente pueda transfundirse a pacientes que requieren RBC irradiados.

5 La irradiación gamma anula la proliferación de linfocitos T al dañar el ADN directamente y a través de especies reactivas de oxígeno (ROS), es decir, radicales hidroxilo producidos durante la radiólisis gama del agua. Aunque los glóbulos rojos (RBC) no contienen ADN, se ha demostrado que las ROS generadas por irradiación gamma causan un daño significativo a los RBC. El daño mayor observado incluye: i) aumento de la hemólisis; ii) mayor fuga de K⁺; iii) reducción en la supervivencia después de la transfusión; y iv) deformabilidad reducida. Tal daño es similar, pero una forma exagerada de daño inducido por almacenamiento de RBC. El estado comprometido de los RBC es bien conocido por los médicos que administran dichos RBC comprometidos. La FDA exige el uso restringido de dichos RBC en términos de vida útil acortada después de la irradiación gamma (14 días) y/o 28 días de vida útil total para las unidades irradiadas.

15 La irradiación de los componentes sanguíneos ha recibido mayor atención debido al aumento de las categorías de pacientes elegibles para recibir dicha sangre para prevenir la enfermedad de injerto contra huésped asociada a la transfusión. Sin embargo, la irradiación conduce a la mejora de las lesiones de almacenamiento, lo que podría tener efectos nocivos cuando se transfunde dicha sangre. Es bien sabido en el campo que el principal efecto secundario nocivo de la radiación sobre los RBC es el daño oxidativo causado por ROS.

20 El daño por radiación a los RBC en presencia de oxígeno puede ocurrir de dos maneras:

i) Por ROS generado durante e inmediatamente después de la irradiación. ROS puede residir en los lípidos de RBC, luego atacar proteínas y lípidos en las proximidades más tarde durante el almacenamiento, así como iniciar el ciclo de peroxidación de lípidos y proteínas utilizando oxígeno como combustible.

25 ii) Met-Hb y sus productos de desnaturalización generados en i) anterior actúan como catalizadores para causar más daño oxidativo mediado por ROS durante el almacenamiento refrigerado prolongado posterior de RBC. Esta es una versión mejorada del desarrollo de lesiones por almacenamiento usando O₂.

30 Por otro lado, existe una amplia literatura que sugiere que ROS es el principal culpable de causar el deterioro de los glóbulos rojos (RBC) durante el almacenamiento refrigerado en los bancos de sangre, y que almacenar RBC en condiciones anaeróbicas reduce significativamente dichos daños. Los estudios han demostrado que los glóbulos rojos irradiados que están empobrecidos en oxígeno y oxígeno y dióxido de carbono son equivalentes o más saludables (en términos de fuga de K⁺, hemólisis y proteínas/lípidos oxidados) en comparación con sangre sin irradiar y sin oxígeno y con empobrecimiento en dióxido de carbono y sangre irradiada sin oxígeno y sin dióxido de carbono. En el contexto de la presente solicitud, la mayor concentración de potasio en los medios de almacenamiento de RBC estaba en niveles que indicaban daño a los glóbulos rojos. La presente divulgación aplica al hallazgo de compatibilidad de la irradiación gamma con sangre almacenada anaerómicamente, así como los efectos protectores de las condiciones anaeróbicas para mejorar el ATP, DPG y reducir el daño oxidativo durante el almacenamiento refrigerado, para reducir sustancialmente el efecto negativo o perjudicial de la irradiación gamma y con rayos X de RBC en presencia de oxígeno.

45 La patente de los Estados Unidos No. 5.362.442 de Kent describe la adición de un depurador para unir radicales libres tales como el etanol. La patente de los Estados Unidos No. 61875572 de Platz et al., describe la adición de sensibilizadores químicos; la patente de los Estados Unidos Núm. 6.482.585 de Dottori y la patente de los Estados Unidos No. 6.403.124, también de Dottori, describen la adición de L-camitina o un derivado alcanol para reducir el daño de la membrana celular de los RBC inducido por irradiación. Estos aditivos no son necesarios para prevenir los efectos nocivos de la irradiación sobre los RBC cuando se tratan anaerómicamente.

50 S. Holme en *Transfusion and Apheresis Science*, 33, (2005) 55-61 describe los problemas relacionados con la calidad de los glóbulos rojos (RBC) almacenados, incluida la lesión de almacenamiento, el uso de irradiación gamma y el almacenamiento en recipientes de plástico hechos con plastificantes no lixiviables. T. Yoshida y S. Shevkopyas en *Blood Transfusion*, 8, (2010) 220-236, describen el almacenamiento anaeróbico de glóbulos rojos. Agarwal et al., en *Indian J. Med. Res.*, 122, (2005) 385-387 describen el efecto de la irradiación gamma previa al almacenamiento en los glóbulos rojos.

Resumen

60 Los aspectos de la invención para los que se busca protección se definen en las reivindicaciones.

De acuerdo a un primer aspecto de la invención, se proporciona un método para almacenar glóbulos rojos que comprende:

65 empobrecimiento de oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono de los glóbulos rojos, produciendo así glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono; y

- irradiación de dichos glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno o empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono ya sea con irradiación gamma o irradiación de rayos X, produciendo así glóbulos rojos irradiados empobrecidos en oxígeno o irradiados empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono,
- 5 en el que dichos glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno comprenden un nivel de saturación de oxígeno de hemoglobina (SO₂) inferior al 20% y dichos glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono comprenden una presión parcial de dióxido de carbono (pCO₂) inferior a 10 mm de Hg.
- El método puede comprender además almacenar dichos glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno o empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono antes o después de dicha irradiación.
- 10 El método puede comprender además el filtrado de reducción de leucocitos de dichos glóbulos rojos antes de dicha etapa de empobrecimiento de oxígeno o de oxígeno y el dióxido de carbono de dichos glóbulos rojos.
- El método puede comprender además añadir una solución aditiva a dichos glóbulos rojos antes de dicha etapa de empobrecimiento de oxígeno o de oxígeno y dióxido de carbono de dichos glóbulos rojos.
- 15 En el método anterior, dichos glóbulos rojos irradiados empobrecidos en oxígeno o irradiados empobrecido en oxígeno y dióxido de carbono pueden almacenarse a una temperatura de entre aproximadamente 1 °C hasta aproximadamente 6 °C en condiciones anaeróbicas.
- 20 En el método anterior, dichos glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno o irradiados empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono pueden empobrecerse hasta un nivel de saturación de oxígeno de hemoglobina (SO₂) seleccionado del grupo que consiste en menos del 5% y menos de 3 % de SO₂.
- 25 En el método anterior, dicho empobrecimiento comprende pasar dichos glóbulos rojos a través de un dispositivo de empobrecimiento de oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono que comprende:
- a) un cartucho;
- 30 una pluralidad de películas o membranas permeables a los gases que se extienden dentro del cartucho desde una entrada a una salida del mismo, en el que dicha pluralidad de películas o membranas permeables a los gases están adaptadas para recibir y transportar glóbulos rojos; y
- una cantidad de un depurador de oxígeno o un depurador de oxígeno y dióxido de carbono empacado dentro de dicho cartucho y contiguo a y entre dicha pluralidad de películas o membranas permeables a los gases; o
- 35 b) un receptáculo de un material sólido que tiene una entrada y una salida adaptadas para recibir y expulsar un gas de lavado y
- una pluralidad de películas o membranas permeables a los gases que se extienden dentro de dicho receptáculo desde una entrada hasta una salida de las mismas, en el que dicha pluralidad de películas o membranas permeables a los gases están formadas por un material permeable al oxígeno y están adaptadas para recibir y transportar glóbulos rojos.
- 40 De acuerdo con un segundo aspecto de la invención, se proporciona una composición que comprende:
- glóbulos rojos irradiados empobrecidos en oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono,
- 45 en la que dichos glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno comprenden un nivel de saturación de oxígeno de hemoglobina (SO₂) inferior al 20% y dichos glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono comprenden un nivel de saturación de oxígeno de hemoglobina (SO₂) inferior al 20% y una presión parcial de dióxido de carbono (pCO₂) de menos de 10 mm de Hg.
- De acuerdo con un tercer aspecto de la invención, se proporciona un receptáculo sellado adaptado para retener y almacenar glóbulos rojos que comprende glóbulos rojos irradiados empobrecidos en oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono de acuerdo con el segundo aspecto de la invención, en el que dicho receptáculo sellado comprende:
- 50 paredes formadas de un laminado que comprende:
- una capa externa de un material sustancialmente impermeable al oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono;
- 55 una capa interna de un material compatible con glóbulos rojos; y
- una capa intersticial entre dicha capa externa y dicha capa interna,
- en la que la capa intersticial es de un material que tiene mezclado en él un depurador de oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono.
- 60 En la composición de acuerdo con el segundo aspecto de la invención, dicha saturación de oxígeno en la hemoglobina (SO₂) puede ser inferior al 5% o inferior al 3% de SO₂. Dicha presión parcial de dióxido de carbono (pCO₂) puede ser inferior a 5 mm de Hg o inferior a 1 mm de Hg. Dichos glóbulos rojos irradiados pueden empobrecerse en oxígeno o en oxígeno y dióxido de carbono usando un dispositivo de empobrecimiento que comprende:
- 65 a) un cartucho;

una pluralidad de películas o membranas permeables a los gases que se extienden dentro del cartucho desde una entrada a una salida del mismo, en el que dicha pluralidad de películas o membranas permeables a los gases están adaptadas para recibir y transportar glóbulos rojos; y

una cantidad de un depurador de oxígeno o un depurador de oxígeno y dióxido de carbono empacado dentro de dicho cartucho y contiguo a y entre dicha pluralidad de películas o membranas permeables a los gases; o

b) un receptáculo de un material sólido que tiene una entrada y una salida adaptadas para recibir y expulsar un gas de lavado y

una pluralidad de películas o membranas permeables a los gases que se extienden dentro de dicho receptáculo desde una entrada a una salida de las mismas, en la que dicha pluralidad de películas o membranas permeables a los gases están formadas por un material permeable al oxígeno y están adaptadas para recibir y transportar glóbulos rojos.

En la composición de acuerdo con el segundo aspecto de la invención, dichos glóbulos rojos irradiados empobrecidos en oxígeno o irradiados empobrecidos en oxígeno oxidado y dióxido de carbono pueden comprender además una característica seleccionada del grupo que consiste en leucocitos reducidos en relación con una muestra de sangre no tratada, una dosis absorbida de radiación de entre 25 Grey (Gy) a 50 Gy, y una solución aditiva ácida.

En el presente documento se describe un método y un sistema para la irradiación gamma o de rayos X de los RBC en condiciones anaeróbicas o anaeróbicas y empobrecidas en CO₂, y el almacenamiento refrigerado prolongado de dichos RBC en condiciones anaeróbicas o anaeróbicas y/o empobrecidas en CO₂ utilizando un dispositivo de empobrecimiento de oxígeno y/o CO₂.

En el presente documento se describe un método y sistema para eliminar plasma con o sin plaquetas, agregar una solución aditiva (por ejemplo, suplementos nutritivos y/o metabólicos) a los RBC concentrados, filtrar leucocitos y/o plaquetas a través de un filtro de reducción de leucocitos, eliminar oxígeno y/o CO₂ de los RBC filtrados, e irradiar con rayos gamma o irradiar rayos X los RBC filtrados con oxígeno y/o CO₂ antes o durante el almacenamiento de los mismos. El intervalo preferido de irradiación gamma es un mínimo de aproximadamente 25 Gy a 50 Gy.

Los RBC irradiados con rayos gamma o rayos X en condiciones anaeróbicas o anaeróbicas y con CO₂ (ambiente a 1 °C) definidas como menos del 20% de SO₂ (saturación de oxígeno en la hemoglobina), más preferiblemente menos del 5%, y lo más preferiblemente menos del 3%

Almacenamiento de los RBC irradiados con rayos gamma o rayos X (ya sea en condiciones anaeróbicas o anaeróbicas y con CO₂) durante un tiempo prolongado a 1-6 °C en condiciones anaeróbicas definidas como menos del 20% de SO₂ (saturación de oxígeno en la hemoglobina), más preferiblemente menos del 5%, y lo más preferiblemente menos del 3%.

Los RBC irradiados con rayos gamma o rayos X en condiciones anaeróbicas o anaeróbicas y empobrecidas en CO₂ (ambiente a 1 °C) definidas como menos del 20% de SO₂ (saturación de oxígeno en la hemoglobina), más preferiblemente SO₂ <5%, y lo más preferiblemente SO₂ <3% y pCO₂ <10 mm de Hg; pCO₂ <5 mm de Hg; pCO₂ <1 mm de Hg.

Usar sangre antigua, definida como sangre almacenada durante más de una semana, y eliminar oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono de dicha sangre antigua y exponer dicha sangre a irradiación con rayos gamma o rayos X en la que los niveles de oxígeno y dióxido de carbono son niveles definidos como menos del 20% de SO₂ (saturación de oxígeno en la hemoglobina), más preferiblemente SO₂ <5%, y lo más preferiblemente SO₂ <3% y pCO₂ <10 mm de Hg; pCO₂ <5 mm de Hg; pCO₂ <1 mm de Hg.

Almacenar RBC irradiados con rayos gamma o rayos X (ya sea en condiciones anaeróbicas con o sin empobrecimiento en CO₂) durante un tiempo prolongado a 1-6 °C en condiciones anaeróbicas o anaeróbicas y empobrecidas en CO₂ definidas como menos del 20% de SO₂ (saturación de oxígeno en la hemoglobina), más preferiblemente menos del 5%, y lo más preferiblemente 3% y menos que pCO₂ <10 mm de Hg; pCO₂ <5 mm de Hg; pCO₂ <1 mm de Hg.

También se describe en el presente documento un sistema de almacenamiento de sangre que comprende: un recipiente de recolección de glóbulos rojos; un dispositivo de empobrecimiento de oxígeno u oxígeno/dióxido de carbono; conectar con un tubo el recipiente de recolección al dispositivo de empobrecimiento de oxígeno u oxígeno/dióxido de carbono y el recipiente de almacenamiento de glóbulos rojos que pueden irradiarse con rayos gamma o rayos X y almacenarse en condiciones anaeróbicas o anaeróbicas y empobrecidas en CO₂ durante un tiempo prolongado.

La condición anaeróbica o anaeróbica y con CO₂ se mide como una saturación de oxígeno en la hemoglobina de menos del 20% de SO₂, preferiblemente de aproximadamente 5% o menos, y lo más preferiblemente de aproximadamente 3% o menos.

El dispositivo de empobrecimiento de oxígeno u oxígeno/dióxido de carbono descrito en el presente documento comprende: un cartucho; una pluralidad de fibras huecas o láminas permeables a los gases que se extienden dentro del cartucho desde una entrada hasta una salida del mismo, en el que las fibras huecas o películas permeables a los

gases se adaptan para recibir y transportar glóbulos rojos; y una cantidad de un depurador de oxígeno o tanto un depurador de oxígeno como un depurador de dióxido de carbono empacados dentro del cartucho y contiguos a y entre la pluralidad de fibras huecas.

5 Preferiblemente, el dispositivo de empobrecimiento de oxígeno u oxígeno/dióxido de carbono descrito en el presente documento comprende: un cartucho; una pluralidad de fibras huecas o películas permeables a los gases que se extienden dentro del cartucho desde una entrada hasta una salida del mismo, en el que las fibras huecas o películas permeables a los gases se adaptan para recibir y transportar glóbulos rojos; y se crea un ambiente bajo en oxígeno o bajo en oxígeno y dióxido de carbono fuera de las fibras huecas haciendo fluir un gas inerte entre las fibras huecas.

10 También se describe en el presente documento el sistema de almacenamiento de sangre que comprende además un filtro de reducción de leucocitos dispuesto entre el recipiente de recolección y el dispositivo de empobrecimiento de oxígeno/dióxido de carbono. También se describe en el presente documento el sistema de almacenamiento de sangre que comprende además un recipiente de solución aditiva en comunicación con el recipiente de recolección. También se describe en el presente documento el sistema de almacenamiento de sangre que comprende además un recipiente de plasma en comunicación con el recipiente de recolección.

15 En el presente documento se describe un método para almacenar glóbulos rojos, comprendiendo el método: eliminar oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono de los glóbulos rojos para producir glóbulos rojos anaeróbicos; y almacenar RBC irradiados ya sea con rayos gamma o rayos X, produciendo así glóbulos rojos anaeróbicos irradiados; y almacenar los glóbulos rojos irradiados anaeróbicos o anaeróbicos y empobrecidos en CO₂.

20 Los glóbulos rojos anaeróbicos irradiados o anaeróbicos irradiados y empobrecidos en CO₂ se almacenan preferiblemente a una temperatura de entre aproximadamente 1 °C y aproximadamente 6 °C en condiciones anaeróbicas.

25 En el presente documento también se describe un dispositivo y un método para eliminar dióxido de carbono (CO₂) además de oxígeno (O₂) antes o al inicio del almacenamiento anaeróbico o anaeróbico y empobrecido en CO₂ y/o irradiación de rayos gamma o de rayos X.

30 En el presente documento también se describe un sistema de recolección de sangre que incorpora un dispositivo de empobrecimiento de oxígeno u oxígeno/dióxido de carbono que tiene un sorbente de oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono en combinación con un filtro o membrana para extraer oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono de la sangre durante el transporte a la bolsa de almacenamiento, en la que la sangre empobrecida en oxígeno/dióxido de carbono se irradia con rayos gamma o rayos X ya sea antes o durante el almacenamiento.

35 La presente divulgación y sus características y ventajas serán más evidentes a partir de la siguiente descripción detallada con referencia a los dibujos adjuntos.

40 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1a ilustra los componentes de un sistema desechable de almacenamiento anaeróbico de sangre irradiado con rayos gamma de la presente divulgación.

45 La Figura 1b ilustra los componentes de un segundo sistema desechable de almacenamiento anaeróbico de sangre irradiado con rayos gamma de la presente divulgación.

La Figura 2a ilustra los componentes de un sistema desechable de almacenamiento anaeróbico de sangre que se usan junto con la irradiación de los RBC en el que los glóbulos rojos se irradian durante el almacenamiento anaeróbico.

La Figura 2b ilustra los componentes de un sistema desechable de almacenamiento anaeróbico de sangre que se usan junto con la irradiación de los RBC.

50 La Figura 3 ilustra un dispositivo de empobrecimiento de oxígeno/dióxido de carbono previo al almacenamiento de la presente divulgación.

La Figura 4 ilustra una bolsa de almacenamiento de sangre que tiene una bolsa de almacenamiento con una película de oxígeno externa secundaria que contiene un sorbente de oxígeno en una bolsa.

55 La Figura 5a ilustra una bolsa de empobrecimiento de oxígeno/dióxido de carbono previo al almacenamiento que tiene una bolsa de almacenamiento de sangre que tiene una bolsita sorbente de oxígeno grande encerrada en polímeros permeables a los gases, compatibles con glóbulos rojos en contacto con los RBC.

La Figura 5b ilustra una bolsa de almacenamiento de sangre que tiene una bolsa de almacenamiento, una barrera de película de oxígeno laminada con un sorbente grande en contacto con los glóbulos rojos.

60 La Figura 6a ilustra una bolsa de almacenamiento de sangre que tiene una bolsa de barrera externa secundaria configurada en forma secundaria que rodea una bolsa de almacenamiento de sangre interna que tiene un sorbente de oxígeno.

La Figura 6b ilustra una bolsa de almacenamiento de sangre que tiene una bolsa de barrera externa secundaria que rodea una bolsa de almacenamiento de sangre interna que tiene una bolsita sorbente de oxígeno grande encerrada en polímeros permeables a los gases, compatibles con glóbulos rojos en contacto con los RBC.

Las Figuras 7a a 7c ilustran un dispositivo de empobrecimiento que empobrece en oxígeno y el dióxido de carbono a los glóbulos rojos antes del almacenamiento mediante un gas inerte de lavado o una mezcla de gas inerte/CO₂ de composición definida alrededor de una fibra hueca dentro del montaje.

5 Las Figuras 8a a 8c ilustran otro dispositivo de empobrecimiento que empobrece en oxígeno y en dióxido de carbono los glóbulos rojos antes del almacenamiento.

Las Figuras 9a a 9c ilustran otro dispositivo de empobrecimiento que empobrece en oxígeno y en dióxido de carbono de los glóbulos rojos antes del almacenamiento en el que el oxígeno y el CO₂ se depuran mediante los materiales depuradores en el núcleo del cilindro, alrededor de las fibras huecas.

10 Las Figuras 10a a 10c ilustran otro dispositivo de empobrecimiento que empobrece en oxígeno y en dióxido de carbono a los glóbulos rojos antes del almacenamiento, en el que el oxígeno y el CO₂ se depuran mediante los materiales depuradores que rodean los cilindros de fibras huecas envueltos en material de transmisión bajo en vapor de agua y permeable a los gases.

15 La Figura 11 ilustra un gráfico del caudal de la suspensión de glóbulos rojos por minuto frente a la presión parcial de oxígeno para los dispositivos de empobrecimiento en las Figuras 7a a 7c, las Figuras 8a a 8c, las Figuras 9a a 9c y las Figuras 10a a 10c.

Las Figuras 12a a 12h ilustran gráficas del efecto del empobrecimiento de oxígeno y oxígeno y dióxido de carbono en el estado metabólico de los glóbulos rojos durante el almacenamiento refrigerado.

20 La Figura 13 ilustra un efecto de la irradiación con rayos gamma sobre las tasas de fuga de K⁺ de los RBC (medido por las concentraciones de K⁺ libre en los medios de suspensión de RBC después del almacenamiento).

Descripción detallada

25 Los RBC no requieren oxígeno para su propia supervivencia. Anteriormente se demostró que cuando los RBC se almacenaban en el refrigerador del banco de sangre (1-6 °C) en condiciones anaeróbicas o anaeróbicas y empobrecidas en CO₂, demostraron una recuperación significativamente mejorada después de la transfusión después de un almacenamiento de 6 semanas en comparación con los controles almacenados convencionalmente. Se han descrito los mecanismos de reducción de las lesiones por almacenamiento en condiciones anaeróbicas o anaeróbicas/con empobrecimiento en CO₂ y se han demostrado evidencias directas. Se debe, al menos en parte, a la reducción de los daños oxidativos en presencia de O₂ causados por ROS durante el almacenamiento refrigerado.

30 Debido a que la irradiación con rayos gamma o rayos X exacerba el daño oxidativo en los RBC tratados, no se espera que el almacenamiento de los glóbulos rojos irradiados bajo condiciones anaeróbicas y, opcionalmente, empobrecidas en CO₂ intensifique el daño; También se espera que evite el daño resultante de las ROS generadas durante la irradiación al privar de O₂ que alimenta esas reacciones.

35 La efectividad de la irradiación con rayos gamma o rayos X no depende de la presencia de oxígeno. Por el contrario, se demuestra que la condición anaeróbica es más efectiva para causar daño al ADN (y así inhibir la proliferación de linfocitos). Además, la ausencia de O₂ durante y/o inmediatamente después de la irradiación con rayos gamma o rayos X reducirá los daños oxidativos alimentados con O₂ a los RBC inducidos por radicales hidroxilo y ROS producidos por la radiólisis del agua con rayos gamma o rayos X.

Con referencia a los dibujos y, en particular, a la Figura 1a, se muestra un sistema desechable de almacenamiento anaeróbico de sangre y se hace referencia a él usando el número de referencia 10.

45 El sistema de almacenamiento de sangre incluye un dispositivo 100 de empobrecimiento de oxígeno/dióxido de carbono (OCDD 100), una bolsa 200 de almacenamiento de sangre anaeróbica y una bolsa 300 de solución aditiva. El OCDD 100 elimina oxígeno y/o dióxido de carbono de los glóbulos rojos que lo atraviesan. El sistema también contiene un filtro 400 de reducción de leucocitos. Los componentes asociados convencionalmente con el proceso de recolección de sangre son una aguja 410 de flebotomía, una bolsa 420 de recolección de sangre que contiene un anticoagulante y una bolsa 430 que contiene plasma. Los tubos pueden conectar los diversos componentes del sistema 10 de almacenamiento de sangre en varias configuraciones (se muestra un ejemplo). El tubo 440 conecta la bolsa 420 de recolección con el filtro 400 de reducción de leucocitos. El tubo 441 conecta la bolsa 300 de solución aditiva con la bolsa 420 de recolección. El tubo 442 conecta la bolsa 430 de plasma con la bolsa 420 de recolección. El tubo 443 conecta el filtro 400 de reducción de leucocitos con el OCDD 100. El tubo 414 conecta el OCDD 100 con la bolsa 200 de almacenamiento de sangre. El sistema 10 de almacenamiento de sangre es preferiblemente un sistema desechable de bajo costo y de un solo uso. A medida que se filtra la sangre y se empobrece en oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono, pasa del OCDD 100 a la bolsa 200 de almacenamiento de sangre. La sangre almacenada en la bolsa 200 se irradiará con rayos gamma o rayos X durante el almacenamiento a través del dispositivo 453. La bolsa 200 que contiene RBC empobrecidos en oxígeno o empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono se coloca en el dispositivo 453 y se expone a radiación de rayos gamma o de rayos X.

65 Como referencia solamente, la sangre previamente anaeróbica almacenada en la bolsa 421 de recolección puede irradiarse con rayos gamma y/o rayos X a través del dispositivo 445 antes de pasar a través del OCDD 100 y almacenarse en la bolsa 200, como se muestra en la Figura 1b. En la Figura 1b para referencia, la bolsa 420 también podría irradiarse con rayos gamma y/o rayos X en un dispositivo 445 de irradiación antes de pasar a través del filtro 400 de reducción de leucocitos.

El dispositivo 100 de empobrecimiento de oxígeno u oxígeno/dióxido de carbono elimina el oxígeno de los RBC recolectados antes de que los RBC se almacenen en la bolsa 200 de almacenamiento de sangre 20. El contenido de oxígeno en los RBC debe empobrecerse en oxihemoglobina ya que más del 99% de dicho oxígeno se une a la hemoglobina en la sangre venosa. Preferiblemente, el grado de saturación de oxígeno se debe reducir a menos del 4% dentro de las 48 horas posteriores a la recolección de sangre. El empobrecimiento de oxígeno se realiza preferiblemente a temperatura ambiente. La afinidad del oxígeno por la hemoglobina depende en gran medida de la temperatura, con una p_{50} de 26 mm de Hg a 37 °C que cae a -4 mm de Hg a 4 °C. Además, este aumento en la afinidad de O_2 (K_a) se debe principalmente a la reducción en la tasa de liberación de O_2 ($K_{disociación}$), lo que resulta en una tasa de eliminación de oxígeno poco práctica una vez que los RBC se enfrían a 4 °C. Por lo tanto, impone una restricción en la extracción de oxígeno de modo que puede ser preferible lograrlo antes de que los RBC se enfríen a las temperaturas de almacenamiento de 1 °C a 6 °C.

Además del empobrecimiento en oxígeno, el empobrecimiento en dióxido de carbono tiene el efecto beneficioso de elevar los niveles de DPG en los glóbulos rojos. El dióxido de carbono existe dentro de los RBC y en el plasma en equilibrio con el ion HCO_3^- (ácido carbónico). El dióxido de carbono se disuelve principalmente en la mezcla de RBC/plasma como ácido carbónico y el equilibrio rápido entre el CO_2 y el ácido carbónico se mantiene mediante anhidrasa carbónica dentro de los RBC. El dióxido de carbono es libremente permeable a través de la membrana de los RBC, mientras que el HCO_3^- dentro de los RBC y el plasma se equilibra rápidamente mediante la proteína del intercambiador de aniones (banda 3). Cuando se elimina el CO_2 de la suspensión de RBC, se produce la alcalinización conocida del interior de los RBC y el medio de suspensión. Esto resulta de la eliminación de HCO_3^- dentro y fuera de los RBC; el HCO_3^- citosólico se convierte en CO_2 mediante anhidrasa carbónica y se elimina, mientras que el HCO_3^- en plasma se elimina mediante intercambio aniónico dentro de los RBC. Se sabe que un pH más alto dentro de los RBC aumenta la tasa de glucólisis y, por lo tanto, aumenta los niveles de ATP y DPG. Los niveles de ATP son más altos en Ar/CO_2 ($p < 0,0001$). DPG se mantuvo más de 2 semanas en el brazo purgado con argón solamente ($p < 0,0001$). La tasa de glucólisis mejorada también se predice mediante la desinhibición de enzimas glucolíticas clave a través de la modulación metabólica y el secuestro de DPG libre de citosólicos tras la desoxigenación de la hemoglobina como resultado de una condición anaeróbica. La DPG se perdió a la misma velocidad en los brazos de control y de Ar/CO_2 ($p = 0,6$) a pesar de la desoxigenación completa de la hemoglobina, mientras que se lograron niveles muy altos de ATP con el aditivo OFAS3 (Figuras 12a-12d).

Con referencia a los dibujos, y en particular a la Figura 2a, se muestra y se hace referencia a otro sistema desechable de almacenamiento anaeróbico de sangre usando el número de referencia 500. El sistema de conversión anaeróbico incluye un dispositivo 515 de empobrecimiento de oxígeno u oxígeno/dióxido de carbono (OCDD) y una bolsa 528 anaeróbica de almacenamiento de sangre. El OCDD 515 elimina oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono de los glóbulos rojos que lo atraviesan. El tubo conecta los diversos componentes del sistema 500 de almacenamiento de sangre. El tubo 512 se conecta al concentrado de glóbulos rojos preparado mediante el uso de una solución aditiva (por ejemplo, AS1, AS3, AS5, SAGM, MAPS, etc.) y se almacena en la bolsa 528 pasando el concentrado de RBC mencionado anteriormente desde la bolsa 510 de recolección hasta el OCDD 515. Los tubos 518 y 520 conectan el OCDD 515 con la bolsa 528 de almacenamiento de sangre. El sistema 500 de almacenamiento de sangre es preferiblemente un sistema de un solo uso, desechable y de bajo costo. La sangre empobrecida en oxígeno y/o dióxido de carbono se irradia con rayos gamma o rayos X en la bolsa 528 de almacenamiento de sangre a través del dispositivo 553 y posteriormente se almacena para una transfusión posterior.

Como referencia solamente, la sangre en la bolsa 510 de recolección puede irradiarse con rayos gamma o rayos X a través del dispositivo 551 antes del empobrecimiento de oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono y almacenamiento a baja temperatura, como se muestra en la Figura 2b. La Figura 2b se aplica para referencia al escenario en el que la bolsa 510 de sangre contiene sangre más antigua, por ejemplo sangre de 2 días, que luego se irradia y se empobrece en oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono, y se almacena.

En referencia a la Figura 3, un dispositivo 101 de empobrecimiento de oxígeno u oxígeno/dióxido de carbono (OCDD) contiene un sorbente 110 de oxígeno. El OCDD 101 es un cartucho 105 desechable que contiene el sorbente 110 de oxígeno y una serie de fibras 115 huecas. El sorbente 110 de oxígeno es una mezcla de sales inorgánicas y/u orgánicas no tóxicas y hierro ferroso u otros materiales con alta reactividad hacia el oxígeno. El sorbente 110 de oxígeno está hecho de partículas que tienen una capacidad de absorción significativa de O_2 (más de 5 mL de O_2/g) y puede mantener el interior del cartucho 105 a menos del 0,01%, lo que corresponde a P_{O_2} menos de 0,08 mm de Hg. El sorbente 110 de oxígeno está libre o está contenido en una envoltura permeable al oxígeno. El OCDD 101 de la presente divulgación debe empobrecer aproximadamente 100 mL de oxígeno de una unidad de sangre.

Después de que el oxígeno y, opcionalmente, el dióxido de carbono se hayan eliminado de los RBC en el OCDD de la Figura 3, los RBC se almacenan en una bolsa 200 de almacenamiento de sangre. El contenido de oxígeno de los RBC suspendidos en la solución 300 aditiva debe reducirse a un valor igual a o menos del 4% de SO_2 antes de colocarlos en almacenamiento refrigerado. Además, los RBC empobrecidos en oxígeno deben mantenerse en un estado anaeróbico y bajo en dióxido de carbono durante toda la duración del almacenamiento.

Los RBC pasan a través de una película o membrana permeable al oxígeno, que puede formarse como fibras 115 huecas de la Figura 3. La membrana o las películas pueden construirse en forma de lámina plana o de fibras huecas. Las películas permeables al oxígeno pueden ser materiales no porosos que son capaces de altas tasas de permeabilidad al oxígeno (poliolefinas, siliconas, epóxidos, poliésteres, etc.) y las membranas permeables al oxígeno son estructuras porosas hidrófobas. Estas pueden estar hechas de polímeros (por ejemplo, poliolefinas, teflón, PVDF o polisulfona) o materiales inorgánicos (por ejemplo, cerámicas). El empobrecimiento en oxígeno tiene lugar cuando los RBC pasan a través de las fibras 115 huecas. Las películas permeables al oxígeno o las membranas permeables al oxígeno pueden extrudirse en láminas o fibras 115 huecas. En consecuencia, las fibras 115 huecas y las láminas pueden usarse indistintamente. El OCDD proporciona una estructura simple que tiene un área superficial grande para eliminar oxígeno y mantener un flujo constante de sangre a través de ella. El empobrecimiento o eliminación de oxígeno se logra por reacción irreversible del ion ferroso en el sorbente 110 de oxígeno con oxígeno ambiental para formar óxido férrico. El OCDD 101 no necesita agitación para la eliminación de oxígeno y puede fabricarse fácilmente para resistir la centrifugación como parte de un sistema de recolección de sangre según sea necesario.

En referencia a las Figuras 7a a 7c y las Figuras 8a a 8c, se describen ejemplos de dispositivos de empobrecimiento de lavado. Los dispositivos de empobrecimiento funcionan para agotar el O₂ y el CO₂, o el O₂ solo, o el O₂ con niveles específicos de CO₂ al suministrar una composición adecuada de gas de lavado. Los gases apropiados para dispositivos de empobrecimiento son, por ejemplo, Ar, He, N₂, Ar/CO₂ o N₂/CO₂.

Las Figuras 9a a 9c y 10a a 10c, también describen dispositivos de empobrecimiento de depuración. El empobrecimiento ocurre con el uso de depuradores o sorbentes y sin el uso de gases externos. Sin embargo, en ambos tipos de dispositivos de empobrecimiento, el empobrecimiento de dióxido de carbono junto con el empobrecimiento de oxígeno es efectivo para mejorar DPG y ATP, respectivamente, antes del almacenamiento en bolsas de almacenamiento de sangre.

Con referencia a las Figuras 7a a 7c, se muestra un dispositivo 20 de empobrecimiento. El dispositivo 20 de empobrecimiento incluye una pluralidad de fibras 25, en una cantidad de aproximadamente 5000, a través de las cuales fluyen los glóbulos rojos. La pluralidad de fibras 25 está rodeada por un cilindro 30 plástico. El cilindro o cartucho 30 plástico contiene una entrada 35 de gas y una salida 40 de gas a través de las cuales se suministran un gas de lavado o una combinación de gases de lavado, como los mencionados anteriormente, para eliminar el carbono y/u oxígeno de la sangre. Las especificaciones para el dispositivo 20 de empobrecimiento se muestran en la Tabla 1 a continuación en la segunda columna.

Tabla 1

Especificación del prototipo	Vías externas de gas	Vías externas de gas
Prototipo con serial #:	Dispositivo 20	Dispositivo 45
Tipo de fibra:	Celgard 200/150-66FP I	Celgard 200/150-66F PI
Número de fibras:	5000	5000
Longitud activa de fibras (cm):	13	28
OD de la fibra (micras):	200	200
ID de la fibra (micras):	150	150
Longitud total de las fibras:	15	30
Área superficial activa de la fibra (m ²):	0,4084	0,8796

En referencia a las Figuras 8a a 8c, se muestra un dispositivo 45 de empobrecimiento. El dispositivo 45 de empobrecimiento, tal como el dispositivo 20 de las Figuras 7a a 7c, incluye una pluralidad de fibras 50, aproximadamente 5000 en número, a través de las cuales fluyen los glóbulos rojos. La pluralidad de fibras 50 está rodeada por un cilindro 55 plástico. El cilindro 55 plástico contiene una entrada 60 de gas y una salida 65 de gas a través de la cual se suministra un gas o una combinación de gases, como los mencionados anteriormente, para eliminar oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono de la sangre. Las especificaciones para el dispositivo 45 de empobrecimiento se muestran en la Tabla 1 anterior en la tercera columna. El área superficial activa de empobrecimiento en el dispositivo 45 es el doble que la del dispositivo 20 porque el dispositivo 45 es dos veces más largo que el dispositivo 20.

Las Figuras 9a a 9c divulgan un dispositivo 70 de empobrecimiento que tiene un núcleo 75 que contiene materiales de depuración para O₂, o tanto O₂ como CO₂. El núcleo 75 está empacado por una película permeable a los gases con muy baja permeabilidad a los líquidos. Las fibras 80 huecas se enrollan alrededor del núcleo 75, y un cilindro 82 plástico contiene y envuelve las fibras 80 huecas. En este caso particular, el área superficial activa para el empobrecimiento es de aproximadamente 0,8796 m² como se muestra en la Tabla 2 a continuación en la segunda columna.

Tabla 2

Especificación del prototipo	Núcleo central sorbente de 125 g	10 haces individuales sorbentes de 200 g
Prototipo con serial #:	Dispositivo 70	Dispositivo 85
Tipo de fibra:	Celgard 200/150-66FP1	Celgard 200/150-66FP1
Número de fibras:	5000	5000
Longitud activa de fibras (cm):	13	28
OD de la fibra (micras):	200	200
ID de la fibra (micras):	150	150
Longitud total de las fibras:	15	30
Área superficial activa de la fibra (m2):	0,8796	0,8796

5 Las Figuras 10a a 10c describen un dispositivo 85 de empobrecimiento que contiene haces 87 de fibras encerrados en una película permeable a los gases con muy baja permeabilidad a los líquidos. Los haces 87 de fibras están rodeados por materiales 89 depuradores para O₂ o para O₂ y CO₂. Los haces 87 de fibras y los materiales 89 depuradores están contenidos dentro de un cilindro 90 plástico. El área superficial activa para el empobrecimiento es de aproximadamente 0,8796 m² como se muestra en la Tabla 2 anterior en la tercera columna.

10 La Figura 11 es un gráfico del rendimiento de los dispositivos 20 y 45 de empobrecimiento de lavado y de los dispositivos 70 y 85 de empobrecimiento de depuración. Los datos de la Figura 11 se graficaron usando las siguientes condiciones: Hematocrito, 62% (3 unidades agrupadas de pRBC) y 21 °C a varias alturas de cabeza para producir diferentes caudales. El depurador de oxígeno/dióxido de carbono (Multisorb Technologies, Búfalo, NY) se activó agregando 5% y 12% p/p de vapor de agua para el dispositivo 79 y el dispositivo 85, respectivamente. Los datos se
15 grafican con un caudal (g de suspensión de RBC por minuto) frente a pO₂ (mm de Hg).

En los dispositivos de empobrecimiento de oxígeno/dióxido de carbono descritos en el presente documento, una pluralidad de películas/membranas permeables a los gases puede ser sustituida por la pluralidad de fibras huecas. Las películas y fibras pueden empaquetarse en cualquier configuración adecuada dentro del cartucho, tal como lineal o longitudinal, espiral o enrollada, siempre que puedan recibir y transportar glóbulos rojos.
20

La Figura 11 muestra que la saturación de oxígeno más baja se logra usando los dispositivos 45 y 85. El dispositivo 45 exhibe un área superficial activa más grande expuesta a los gases a lo largo de las fibras 50. El dispositivo 85 también tiene un área superficial larga de exposición a materiales de depuración. El dispositivo 85 tiene haces 87 rodeados de materiales 89 de depuración. El espacio ocupado por los materiales 89 de depuración entre los haces 87 promueve la dispersión de oxígeno y dióxido de carbono de los glóbulos rojos contenidos en los haces 87 de fibras, ayudando así a la depuración de oxígeno y dióxido de carbono de los glóbulos rojos.
25

Un uso adicional de los dispositivos de empobrecimiento es agregar nuevamente oxígeno y/o dióxido de carbono antes de la transfusión lavando con oxígeno puro o aire. Este uso es para casos especiales, tales como las transfusiones masivas, en las que la capacidad del pulmón para volver a oxigenar la sangre transfundida no es adecuada o la anemia falciforme.
30

De manera similar, los dispositivos de empobrecimiento pueden usarse para obtener niveles intermedios o estados de empobrecimiento de oxígeno y dióxido de carbono dependiendo de las necesidades del paciente para obtener niveles óptimos en la sangre transfundida dependiendo de las necesidades del paciente.
35

Con referencia a la Figura 4, se proporciona una bolsa 200 de almacenamiento de sangre de acuerdo con la presente divulgación. La bolsa 200 de sangre tiene una bolsa 250 interna compatible con la sangre (preferiblemente cloruro de polivinilo (PVC)) y una bolsa 255 externa de película de barrera. El material de la bolsa 250 es compatible con los RBC. Dispuesta entre la bolsa 250 interior y la bolsa 255 exterior de película de barrera de oxígeno hay una bolsa que contiene un sorbente 110 de oxígeno/dióxido de carbono. La bolsa 255 de película de barrera está laminada en toda la superficie de la bolsa 250 interior. El sorbente 110 está contenido en una bolsita 260, que se conoce alternativamente como un saco o bolsillo. El sorbente 110 está ubicado de manera óptima entre el tubo 440 que conduce hacia y desde la bolsa 200, específicamente entre la bolsa interior y la bolsa 255 exterior de película de barrera de oxígeno. Esta ubicación asegurará que el oxígeno dispuesto entre estas dos bolsas se depure o absorba. El sorbente de oxígeno está idealmente ubicado en un saco o bolsillo 260 y no está en contacto con los RBC. El sorbente de oxígeno también se puede combinar con depuradores o sorbentes de CO₂, permitiendo que el sorbente 110 empobrezca tanto el oxígeno como el dióxido de carbono al mismo tiempo.
40
45
50

En referencia a las Figuras 5a y 5b, las bolsas 201 y 202 de almacenamiento de sangre están configuradas para almacenar RBC durante períodos prolongados de almacenamiento. Las bolsas 205 internas de almacenamiento de sangre están hechas preferiblemente de PVC plastificado con DEHP y están en contacto con los RBC. El PVC plastificado con DEHP es aproximadamente 200 veces menos permeable al oxígeno en comparación con la silicona. Sin embargo, el PVC es insuficiente como barrera de oxígeno para mantener el estado anaeróbico de los RBC durante toda la duración del almacenamiento. Por lo tanto, las bolsas 201 y 202 de almacenamiento de sangre están fabricadas
55

con una película 206 transparente externa de barrera de oxígeno (por ejemplo, polímero de nailon) laminada de la superficie externa de la bolsa 205 interna de sangre. Este enfoque, así como uno mostrado en la Figura 3, utiliza PVC aceptado para la superficie de contacto con la sangre (que suministra DEHP para la estabilización de las células) al mismo tiempo que evita la entrada de oxígeno en la bolsa durante el almacenamiento prolongado.

En la Figura 5a, una pequeña bolsita 210 que contiene sorbente 110 de oxígeno/dióxido de carbono envuelta en una membrana compatible con RBC permeable al oxígeno está encerrada dentro de la bolsa 205 de PVC laminado y en contacto con los RBC. La envoltura de la bolsita 210 pequeña está hecha preferiblemente de un material de silicona o siloxano con alta permeabilidad al oxígeno de material biocompatible. La envoltura 210 de la bolsita tiene un grosor de pared de menos de 0,13 mm de grosor que asegura que la permeabilidad al O₂ deje de convertirse en la etapa limitante de la velocidad. La bolsa 205 de PVC también puede contener depuradores de dióxido de carbono.

Con referencia a la Figura 5b, la bolsa 202 tiene una configuración similar a la bolsa 201 de la Figura 4a. Sin embargo, la bolsa 202 tiene un sorbente 215 grande encerrado dentro de la bolsa 205 de PVC. El sorbente 215 grande tiene preferiblemente una configuración en forma de peine para absorber rápidamente el oxígeno durante el almacenamiento prolongado. El beneficio de las bolsas laminadas de las Figuras 4a y 4b es que una vez que los RBC se almacenan anaeróbicamente en bolsas, no se requiere manipulación especial adicional. De manera similar, la bolsa 202 puede contener un depurador de dióxido de carbono para proporcionar una depuración del dióxido de carbono además de la capacidad de depuración del oxígeno.

Con referencia a las descripciones de las Figuras 6a y 6b, los RBC se almacenan en bolsas 301 y 302 secundarias, respectivamente, para mantener un entorno de almacenamiento anaeróbico para el almacenamiento de RBC. Las bolsas 301 y 302 secundarias son películas transparentes de barrera contra el oxígeno (por ejemplo, polímero de nailon) que compensan la incapacidad de las bolsas 305 y 320 de sangre de PVC, respectivamente, para funcionar como una barrera de oxígeno suficiente para mantener los RBC en un estado anaeróbico. Las bolsas 301 y 302 secundarias están hechas con una película de barrera contra el oxígeno, preferiblemente un polímero de nailon u otra película transparente y flexible con baja permeabilidad al oxígeno.

Con referencia a la Figura 6a, un pequeño sorbente 310 de oxígeno/dióxido de carbono está dispuesto entre una bolsa 305 de barrera de PVC y una bolsa 306 secundaria para eliminar el oxígeno que se difunde lentamente. La Figura 6a es similar a la descripción preferida de la bolsa de sangre de la Figura 4, excepto que la bolsa 306 secundaria está separada y no unida a la bolsa 305 en este caso. La bolsa 305 de PVC que incluye puertos está encerrada en la bolsa 305 de barrera secundaria. El sorbente 310 de oxígeno puede contener opcionalmente depuradores de dióxido de carbono para proporcionar capacidad de depuración de oxígeno y dióxido de carbono.

Con referencia a la Figura 6b, una bolsa 302 secundaria contiene una bolsita 325 grande dentro de la bolsa 320 de PVC. La bolsita 325 se llena con sorbente 110 de oxígeno u oxígeno/dióxido de carbono. La bolsita 325 es un elemento moldeado con textura superficial para aumentar el área superficial. La bolsita 325 tiene una geometría tipo peine para el empobrecimiento rápido de oxígeno o de oxígeno/dióxido de carbono. La bolsita 325 actúa rápidamente para eliminar el oxígeno o el oxígeno/dióxido de carbono de los RBC antes de la refrigeración y el almacenamiento de los RBC en lugar del OCDD de la Figura 3. Sin embargo, con esta configuración, la agitación es necesaria, por lo tanto, la bolsita 325 debe poseer una gran área superficial, alta permeabilidad al oxígeno o al oxígeno/dióxido de carbono y resistencia mecánica para resistir la etapa de centrifugación durante la preparación del componente y el almacenamiento prolongado. La bolsita 325 está hecha preferiblemente de materiales tales como una membrana de silicona de 0,15 mm de espesor con textura superficial para aumentar el área superficial. La bolsita 325 puede estar hecha de materiales tales como PTFE u otro fluoropolímero. La bolsita 325 puede tener una forma rectangular tal como, por ejemplo, un rectángulo de 4" X 6", aunque son posibles otros tamaños, para el mantenimiento del estado anaeróbico. La bolsita 325 puede contener depuradores de dióxido de carbono además de depuradores de oxígeno para proporcionar capacidad de depuración de oxígeno y dióxido de carbono.

Las descripciones de las Figuras 6a y 6b se fabrican fácilmente a partir de componentes estándar, excepto la bolsita 325 de la Figura 6b. Para acceder a los RBC para cualquier prueba, deben abrirse las bolsas 301 y 302 secundarias. A menos que la unidad se transfunda en poco tiempo, los RBC se deben volver a sellar con sorbente nuevo para su posterior almacenamiento (un día de exposición al aire de la bolsa de almacenamiento no oxigenaría la sangre en un grado apreciable, ya que el PVC plastificado con DEHP tiene una permeabilidad al oxígeno relativamente baja).

En las Figuras 5a, 5b, 6a y 6b, la bolsa de PVC se forma preferiblemente con la película de barrera contra el oxígeno, tal como una capa de SiO₂ formada con el método sol-gel. Una parte del material laminar se sellará en un equipo de sellado térmico estándar, tales como selladores de radiofrecuencia. Se pueden obtener opciones de materiales en láminas extrudidas y cada una probada respecto a la barrera de oxígeno, integridad de laminación y resistencia/integridad del sello.

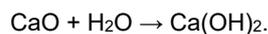
Para cada una de las diversas divulgaciones mencionadas anteriormente, se proporciona una solución aditiva de la bolsa 300 antes de eliminar el oxígeno y el dióxido de carbono de los RBC. La solución 300 aditiva contiene preferiblemente la siguiente composición: adenina 2 mmol/L; glucosa 110 mmol/L; manitol 55 mmol/L; NaCl 26 mmol/L; Na₂HPO₄ 12 mmol/L, ácido cítrico y un pH de 6,5. La solución 300 aditiva es preferiblemente una solución aditiva ácida

OFAS3, aunque también se podrían usar otras soluciones aditivas similares que se ha demostrado que mejoran el almacenamiento empobrecido en oxígeno/dióxido de carbono. OFAS3 ha mostrado niveles mejorados de ATP y buena recuperación *in vivo* como se describe en este documento. Si bien OFAS3 es una solución aditiva preferida, también se podrían usar otras soluciones que ofrezcan una funcionalidad similar. Alternativamente, también se pueden usar soluciones aditivas utilizadas actualmente en el campo, tales como AS1, AS3, AS5, SAGM y MAPS. Las soluciones aditivas ayudan a prevenir el rápido deterioro de los RBC durante el almacenamiento y generalmente se agregan antes de que los RBC se vuelvan anaeróbicos.

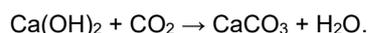
Además, se prevé que el OCDD y las bolsas 100 y 200 de almacenamiento pueden fabricarse independientemente de otros componentes del sistema de almacenamiento de sangre anaeróbico desechable (es decir, cada artículo anterior y que incluye un filtro 400 de reducción de leucocitos en la Figura 1a).

Está dentro del alcance de la presente divulgación eliminar el oxígeno de los RBC o eliminar el oxígeno y el dióxido de carbono de la sangre antes del almacenamiento en las bolsas de almacenamiento. Se puede usar un depurador de oxígeno para eliminar el oxígeno de los RBC antes de almacenarlo en las bolsas de sangre. Como se usa en este documento, el "depurador de oxígeno" es un material que se une irreversiblemente o se combina con oxígeno en las condiciones de uso. Por ejemplo, el oxígeno puede reaccionar químicamente con algún componente del material y convertirse en otro compuesto. Cualquier material en el que la tasa de disociación del oxígeno unido es cero puede servir como un depurador de oxígeno. Ejemplos de depuradores de oxígeno incluyen polvos de hierro y compuestos orgánicos. El término "sorbente de oxígeno" se puede usar de manera intercambiable en el presente documento con un depurador de oxígeno. Como se usa en el presente documento, el "depurador de dióxido de carbono" es un material que se une irreversiblemente o se combina con dióxido de carbono en las condiciones de uso. Por ejemplo, el dióxido de carbono puede reaccionar químicamente con algún componente del material y convertirse en otro compuesto. Cualquier material en el que la tasa de disociación de dióxido de carbono unido sea cero puede servir como un depurador de dióxido de carbono. El término "sorbente de dióxido de carbono" se puede usar de manera intercambiable en el presente documento con el depurador de dióxido de carbono. Por ejemplo, los depuradores de oxígeno y los depuradores de dióxido de carbono son proporcionados por Multisorb Technologies (Búfalo, NY) o Mitsubishi Gas Chemical Co (Tokio, Japón). Los depuradores de oxígeno pueden exhibir una funcionalidad secundaria de eliminación de dióxido de carbono. Dichos materiales se pueden mezclar en una proporción deseada para lograr los resultados deseados.

Los depuradores de dióxido de carbono incluyen óxidos metálicos e hidróxidos metálicos. Los óxidos metálicos reaccionan con el agua para producir hidróxidos metálicos. El hidróxido metálico reacciona con dióxido de carbono para formar agua y un carbonato metálico. Por ejemplo, si se usa óxido de calcio, el óxido de calcio reaccionará con el agua que se agrega al sorbente para producir hidróxido de calcio.



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



Se apreciará que los depuradores pueden incorporarse en receptáculos y bolsas de almacenamiento en cualquier forma conocida, tal como en bolsitas, parches, revestimientos, bolsillos y envases.

Si la eliminación de oxígeno se completa antes de la introducción de los RBC en el dispositivo de almacenamiento de sangre, entonces se puede lograr mediante cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, una suspensión de RBC se puede lavar repetidamente con un gas inerte (con o sin una concentración definida de dióxido de carbono), con o sin una mezcla suave, hasta que se alcance el contenido deseado de oxígeno y/o dióxido de carbono o hasta que se haya eliminado prácticamente todo el oxígeno y el dióxido de carbono. El gas inerte puede ser argón, helio, nitrógeno, mezclas de los mismos o cualquier otro gas que no se una a la fracción hemo de la hemoglobina.

Los OCDD y varias bolsas de almacenamiento de la presente divulgación se pueden usar en combinaciones variables. Por ejemplo, el OCDD 101 de la Figura 3 puede usarse con una bolsa de sangre de la Figura 4, 201 de la Figura 5a o 301 de la Figura 6a. Cuando el oxígeno se empobrece por la bolsita 215 dentro de la bolsa de la Figura 6b, puede almacenarse como en la Figura 6b o el contenido empobrecido en oxígeno/dióxido de carbono transferido a la bolsa de almacenamiento final tal como en la Figura 4, la Figura 5a o la Figura 6a para almacenamiento prolongado. Otras combinaciones y configuraciones están completamente dentro del alcance de la presente divulgación.

La presente divulgación también proporciona otra descripción de un dispositivo de almacenamiento de sangre. El dispositivo es un receptáculo sellado adaptado para retener y almacenar glóbulos rojos. El receptáculo tiene paredes formadas de un laminado. El laminado tiene (a) una capa externa de un material sustancialmente impermeable al oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono, (b) una capa interna de un material compatible con glóbulos rojos, y (c) una capa intersticial entre la capa externa y el capa interna. La capa intersticial es de un material que tiene una cantidad mezclada de un depurador de oxígeno o un depurador de oxígeno/dióxido de carbono. Las capas preferiblemente toman la forma de polímeros. Un polímero preferido para la capa externa es el nailon. Un polímero preferido para la

capa interna es el PVC. El polímero de la capa intersticial debería proporcionar una adhesión efectiva entre las capas interna y externa y proporcionar una mezcla efectiva de depuradores de oxígeno o depuradores de oxígeno/ dióxido de carbono en el mismo. Los polímeros útiles para la capa intersticial incluyen, por ejemplo, polímeros olefinicos, tales como homopolímeros y copolímeros de etileno y propileno, y polímeros acrílicos.

La presente divulgación también proporciona otra descripción de un dispositivo de almacenamiento de sangre. El dispositivo tiene una bolsa de recolección de glóbulos rojos; un dispositivo unitario para empobrecimiento de oxígeno o el oxígeno y el dióxido de carbono y reducir los leucocitos y/o las plaquetas de los glóbulos rojos; una bolsa de almacenamiento para glóbulos rojos; y tubos que conectan la bolsa de recolección al dispositivo unitario y el dispositivo unitario a la bolsa de almacenamiento. Una característica de esta descripción es que las funciones de empobrecimiento del oxígeno o el oxígeno y el dióxido de carbono y la reducción de los leucocitos y/o las plaquetas de los glóbulos rojos se combinan en un único dispositivo unitario en lugar de requerir dispositivos separados. Por ejemplo, el dispositivo unitario puede tomar la forma de un solo cartucho. La reducción de leucocitos y/o plaquetas se realiza típicamente haciendo pasar los glóbulos rojos a través de una malla. En esta descripción, se puede incorporar una malla en el dispositivo de lavado o depuración de oxígeno o depuración de oxígeno/dióxido de descrito en el presente documento. La malla se ubica preferiblemente dentro del dispositivo de modo que la reducción de leucocitos y/o plaquetas se lleva a cabo antes del inicio del lavado o depuración.

Los siguientes son ejemplos de la presente divulgación y no deben interpretarse como limitantes.

Ejemplos

Las Figuras 12a a 12h muestran los resultados de un estudio de 3 brazos que muestra: un control (OFAS3 aeróbico sin empobrecimiento en O₂ o CO₂), OFAS3 anaeróbico (tanto O₂ como CO₂ empobrecidos en Ar puro) y O₂ solo empobrecido con 95% de Ar y 5% de CO₂ (el CO₂ no se empobrece).

Se recogió sangre completa en CP2D (Pall), se centrifugó 2KxG durante 3 minutos, se eliminó el plasma y se añadió solución aditiva AS-3 (Nutricel, Pall), o OFAS3 experimental. La unidad se dividió uniformemente en 3 bolsas de 600 mL. Se intercambiaron 2 bolsas de gas x7 con Ar o Ar/CO₂, se transfirieron a bolsas de PVC de 150 mL y se almacenaron de 1 °C a 6 °C en cilindros anaerobios con Ar/H₂ o Ar/H₂/CO₂. Una bolsa de control se trató de la misma manera sin intercambio de gases y se almacenó de 1 °C a 6 °C en aire ambiente. Se tomaron muestras de las bolsas semanalmente durante hasta 9 semanas.

Los gráficos de las Figuras 12a, 12c, 12e y 12g: usar la solución aditiva OFAS3 (200 mL; experimental, patentada) y los gráficos de las figuras 12b, 12d, 12f y 12h, usar la solución aditiva AS-3. Comparando soluciones aditivas, los efectos del empobrecimiento en CO₂ en los niveles de DPG fueron similares. OFAS3 mostró un ATP más alto cuando se empobreció en oxígeno (± CO₂), y el empobrecimiento en O₂ solo mostró una mejora significativa del ATP en comparación con el control aeróbico. El aditivo AS-3 no mostró una mejora significativa de ATP cuando se empobreció solo en O₂.

Las Figuras 12a y 12b: niveles de DPG durante el almacenamiento. Los niveles de DPG se mantuvieron durante más de 2 semanas, cuando se eliminó el CO₂ además del oxígeno.

Figura 12c: niveles de ATP durante el almacenamiento con OFAS3. Los niveles más altos de ATP se lograron con RBC con OFAS3 cuando solo se empobreció en O₂. Para el empobrecimiento en O₂/CO₂, se observaron niveles intermedios de ATP en comparación con el control, mientras que se alcanzaron niveles muy altos de DPG durante las primeras 2,5 semanas. Los niveles muy altos de ATP pueden sugerir una tasa más alta de recuperación tras la transfusión de 24 horas. Por lo tanto, el grado de dióxido de carbono y los niveles de empobrecimiento de oxígeno pueden ajustarse para cumplir con los requisitos específicos del receptor. Los niveles de DPG se pueden mantener muy altos (a expensas de ATP) con el fin de satisfacer la demanda aguda de oxígeno del receptor. Por el contrario, los niveles muy altos de ATP pueden permitir una mayor tasa de recuperación de 24 horas (menor fracción de glóbulos rojos no viables tras la transfusión), reduciendo así la cantidad de sangre necesaria para la transfusión (hasta el 25% de los glóbulos rojos no son viables). Más importante aún, esto beneficiaría a los pacientes con transfusiones crónicas que pueden no demandar una mayor eficiencia de transporte de oxígeno inmediatamente después de la transfusión (el nivel de DPG se recupera en el cuerpo después de 8-48 horas) que sufren de sobrecarga de hierro tóxico causada por RBC no viables.

Figura 12d: niveles de ATP durante el almacenamiento con AS3. Los niveles más altos de ATP se lograron con RBC con AS3 cuando solo se empobreció en O₂. No se observaron diferencias significativas en los niveles de ATP cuando se observó con el control y el empobrecimiento en O₂ solamente.

Las Figuras 12e y 12f: pH del citosol de los RBC (dentro) y el medio de suspensión (fuera). Inmediatamente después del intercambio de gases (día 0), se observó un aumento significativo del pH (dentro y fuera) solo cuando se empobreció en CO₂ junto con O₂. Las tasas rápidas observadas de disminución del pH con muestras empobrecidas en CO₂/O₂ fueron causadas por tasas más altas de producción de lactato (Figuras 12 g y 12 h).

Figuras 12 g y 12 h: niveles de glucosa y lactato normalizados (a hemoglobina) durante el almacenamiento con OFAS3 y AS3. Las tasas más altas de empobrecimiento en glucosa y la producción de lactato corresponden a niveles altos de DPG observados en los paneles A y B. Las leyendas para símbolos/líneas son las mismas para ambos paneles. El aditivo OFAS3 contiene una concentración de glucosa similar con un volumen x2 que resulta en niveles de glucosa normalizados más altos.

Las Figuras 12a y 12c en conjunto, sugieren que la magnitud de los aumentos (en comparación con el control) de los niveles de ATP y DPG puede ajustarse controlando el nivel de empobrecimiento en CO₂, cuando se empobrece en O₂. Se observó una mayor utilización de glucosa y producción de lactato con una producción mejorada de DPG (Figura 12g). Esto también puede ser efectivo con el aditivo AS3, ya que se observó una tendencia similar en la utilización de glucosa y la producción de lactato (Figura 12h).

La Figura 13 muestra un gráfico que compara el efecto de la irradiación gamma sobre los RBC aeróbicos y anaeróbicos. La Figura 13 muestra una unidad de control, RBC que son aeróbicos y no irradiados con rayos gamma (Unidad A, línea continua negra), RBC aeróbicos que son irradiados con rayos gamma (Unidad B; control más irradiación gamma indicada por un círculo relleno con línea punteada) y una unidad de RBC empobrecida anaeróbicamente que ha sido irradiada con rayos gamma (Unidad C; Anaeróbica + γ , círculo sin color y línea continua). La Unidad B y la Unidad C son irradiadas y la Unidad A no es irradiada y los RBC aeróbicos. El componente de la sangre que se mide es potasio. La cantidad de fuga de potasio (K⁺) de los RBC que se mide en el medio de almacenamiento es un indicador de la salud de los RBC. Por lo tanto, en el contexto de la presente solicitud, un mayor nivel de concentración de potasio en el medio de almacenamiento de los RBC, es indicativo de un mayor nivel de daño de los RBC en relación con un menor nivel de concentración de potasio en el medio de almacenamiento de los RBC.

La Figura 13 indica que la irradiación gamma indujo una alta tasa de fuga de K⁺ durante la primera semana para la Unidad B y la Unidad C. Las tasas de fuga de K⁺ después de los días ocho y quince, fueron similares para todas las unidades. Significativamente, la diferencia entre la fuga de K⁺ entre la Unidad B y la Unidad C aumenta más allá del vigésimo segundo día de almacenamiento. Los resultados indican que esta tendencia podría existir por varios días más. Por consiguiente, el uso del empobrecimiento anaeróbico y la irradiación gamma puede permitir la extensión del límite de almacenamiento actual de la FDA de veintiocho días para sangre agotada anaeróbicamente e irradiada con rayos gamma preparada después de la separación de componentes.

La irradiación de RBC para individuos inmunocomprometidos es una necesidad. Los resultados actuales muestran que los RBC irradiados que también se empobrecieron en oxígeno no aumentaron las tasas de fuga de K⁺, un indicador del daño de los RBC. Los beneficios de los RBC empobrecidos en oxígeno, incluidos los niveles aumentados de ATP y DPG-2,3, no se ven afectados negativamente por la irradiación.

En el gráfico anterior, se agrupan cuatro unidades idénticas de Rh ABO (en aditivo AS3, reducidas en leucocitos; concentrado estándar de RBC obtenido de la Cruz Roja Americana). Las tres unidades se usaron para el experimento graficado anteriormente de la unidad agrupada después de que se subdividió en 4 fracciones dentro de las 24 horas posteriores a la recolección de sangre y se almacenó a 1-6 °C.

REIVINDICACIONES

1. Un método para almacenar glóbulos rojos que comprende:

5 empobrecimiento de oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono de los glóbulos rojos, produciendo así glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono; y irradiación de dichos glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno o en empobrecidos oxígeno y dióxido de carbono con radiación gamma o de rayos X, produciendo así glóbulos rojos irradiados empobrecido en oxígeno o irradiados empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono,
 10 en el que dichos glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno comprenden un nivel de saturación de oxígeno en la hemoglobina (SO₂) inferior al 20% y dichos glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono comprenden una presión parcial de dióxido de carbono (pCO₂) inferior a 10 mm de Hg.

15 2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además almacenar dichos glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno o empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono antes o después de dicha irradiación.

20 3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además: filtración de reducción de leucocitos de dichos glóbulos rojos antes de dicha etapa de empobrecimiento en oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono de dichos glóbulos rojos.

4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además: agregar una solución aditiva a dichos glóbulos rojos antes de dicha etapa de empobrecimiento en oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono de dichos glóbulos rojos.

25 5. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dichos glóbulos rojos irradiados empobrecidos en oxígeno o irradiados y empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono se almacenan a una temperatura de entre aproximadamente 1 °C y aproximadamente 6 °C en condiciones anaeróbicas.

30 6. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dichos glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno o irradiados y empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono se empobrecen hasta un nivel de saturación de oxígeno en la hemoglobina (SO₂) seleccionados del grupo que consiste en menos del 5% y menos del 3% de SO₂.

35 7. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho empobrecimiento comprende pasar dichos glóbulos rojos a través de un dispositivo de empobrecimiento de oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono que comprende:

- a) un cartucho; una pluralidad de películas o membranas permeables a los gases que se extienden dentro del cartucho desde una entrada a una salida del mismo, en el que dicha pluralidad de películas o membranas permeables a los gases están adaptadas para recibir y transportar glóbulos rojos; y
- 40 una cantidad de un depurador de oxígeno o un depurador de oxígeno y dióxido de carbono empacado dentro de dicho cartucho y contiguo a y entre dicha pluralidad de películas o membranas permeables a los gases; o
- b) un receptáculo de un material sólido que tiene una entrada y una salida adaptadas para recibir y expulsar un gas de lavado y
- 45 una pluralidad de películas o membranas permeables a los gases que se extienden dentro de dicho receptáculo desde una entrada hasta una salida de las mismas, en el que dicha pluralidad de películas o membranas permeables a los gases están formadas por un material permeable al oxígeno y están adaptadas para recibir y transportar glóbulos rojos.

50 8. Una composición que comprende:

glóbulos rojos irradiados empobrecidos en oxígeno o empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono, en la que dichos glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno comprenden un nivel de saturación de oxígeno en la hemoglobina (SO₂) inferior al 20% y dichos glóbulos rojos empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono comprenden un nivel de saturación de oxígeno en la hemoglobina (SO₂) inferior al 20% y una presión parcial de dióxido de carbono (pCO₂) inferior a 10 mm de Hg.
 55

9. Un receptáculo sellado adaptado para retener y almacenar glóbulos rojos que comprende glóbulos rojos irradiados empobrecidos en oxígeno o empobrecidos en oxígeno y dióxido de carbono de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dicho receptáculo sellado comprende:

60 paredes formadas de un laminado que comprende:

- una capa externa de un material sustancialmente impermeable al oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono;
- una capa interna de un material compatible con glóbulos rojos; y
- una capa intersticial entre dicha capa externa y dicha capa interna,
- 65 en la que la capa intersticial es de un material que tiene mezclado en él un depurador de oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono.

10. La composición de acuerdo con la reivindicación 8, en la que dicha saturación de oxígeno en la hemoglobina (SO_2) es inferior al 5% o inferior al 3% de SO_2 .
- 5 11. La composición de acuerdo con la reivindicación 8, en la que dicha presión parcial de dióxido de carbono (pCO_2) es inferior a 5 mm de Hg o inferior a 1 mm de Hg.
12. La composición de acuerdo con la reivindicación 8, en la que dichos glóbulos rojos irradiados se empobrecen en oxígeno u oxígeno y dióxido de carbono usando un dispositivo de empobrecimiento que comprende:
- 10 a) un cartucho;
una pluralidad de películas o membranas permeables a los gases que se extienden dentro del cartucho desde una entrada a una salida del mismo, en el que dicha pluralidad de películas o membranas permeables a los gases están adaptadas para recibir y transportar glóbulos rojos; y
una cantidad de un depurador de oxígeno o un depurador de oxígeno y dióxido de carbono empacado dentro de dicho
- 15 cartucho y contiguo a y entre dicha pluralidad de películas o membranas permeables a los gases; o
b) un receptáculo de un material sólido que tiene una entrada y una salida adaptadas para recibir y expulsar un gas de lavado y
una pluralidad de películas o membranas permeables a los gases que se extienden dentro de dicho receptáculo desde una entrada hasta una salida de las mismas, en el que dicha pluralidad de películas o membranas permeables a los
- 20 gases están formadas por un material permeable al oxígeno y están adaptadas para recibir y transportar glóbulos rojos.
13. La composición de acuerdo con la reivindicación 8, en la que dichos glóbulos rojos irradiados empobrecidos en oxígeno o irradiados empobrecidos en oxigenado y dióxido de carbono comprende además una característica
- 25 seleccionada del grupo que consiste en leucocitos reducidos en relación con una muestra de sangre no tratada, una dosis absorbida de radiación entre 25 Grey (Gy) a 50 Gy, y una solución aditiva ácida.

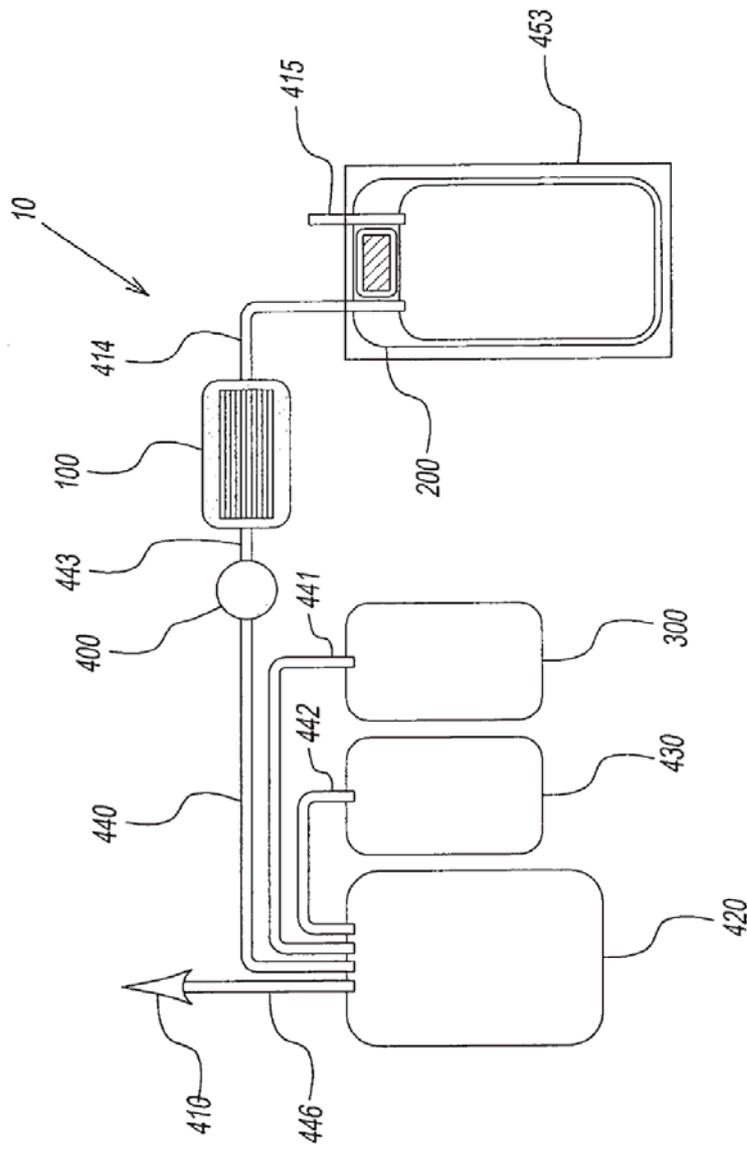


FIG. 1A

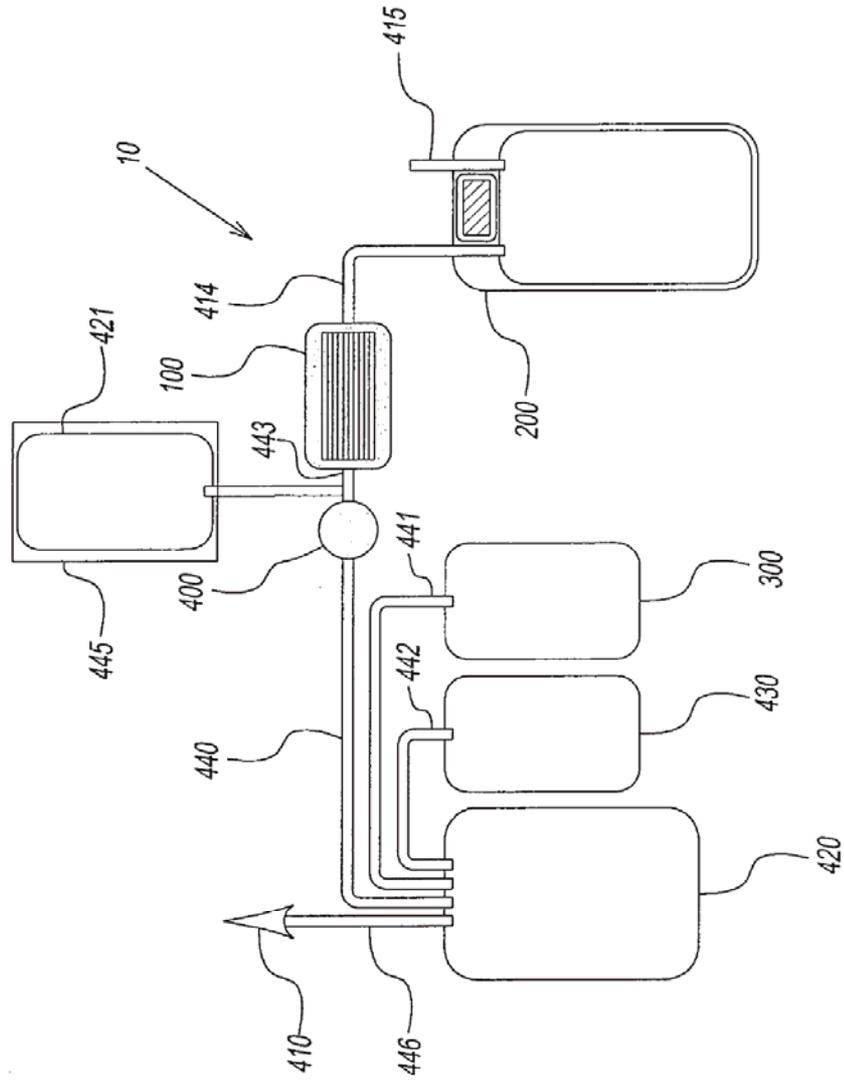


FIG. 1B

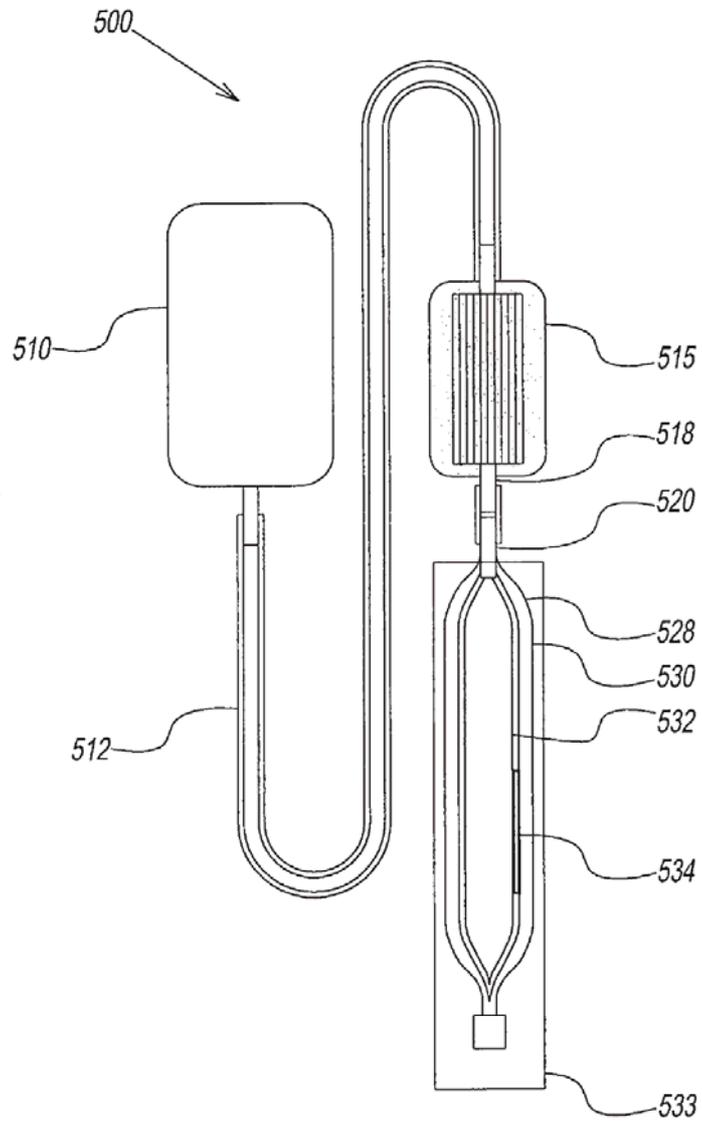


FIG. 2A

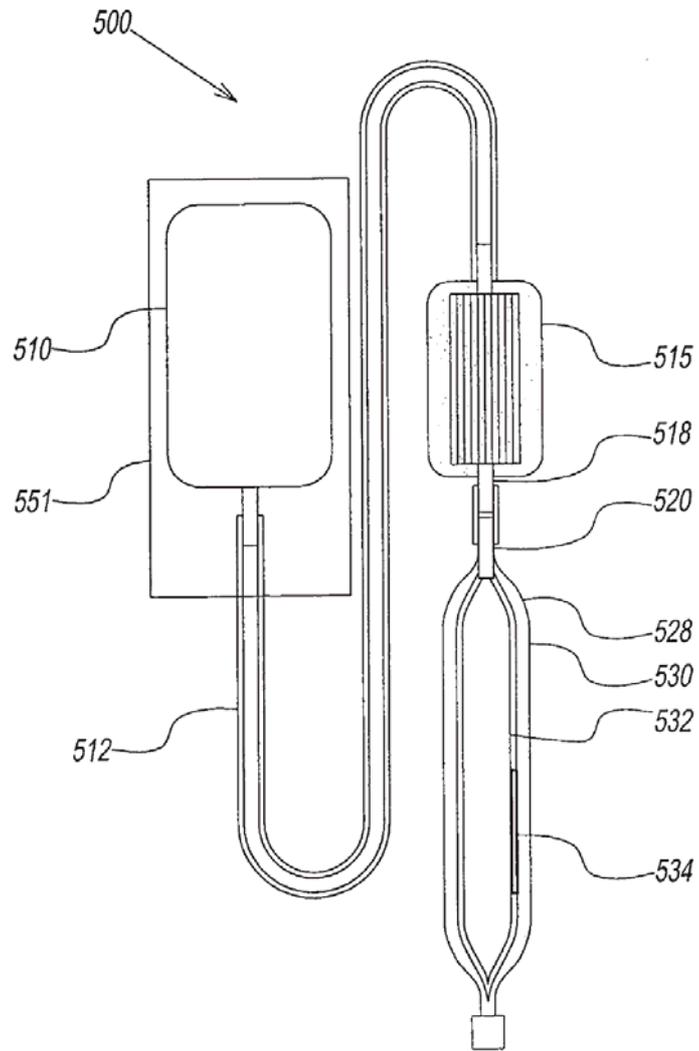


FIG. 2B

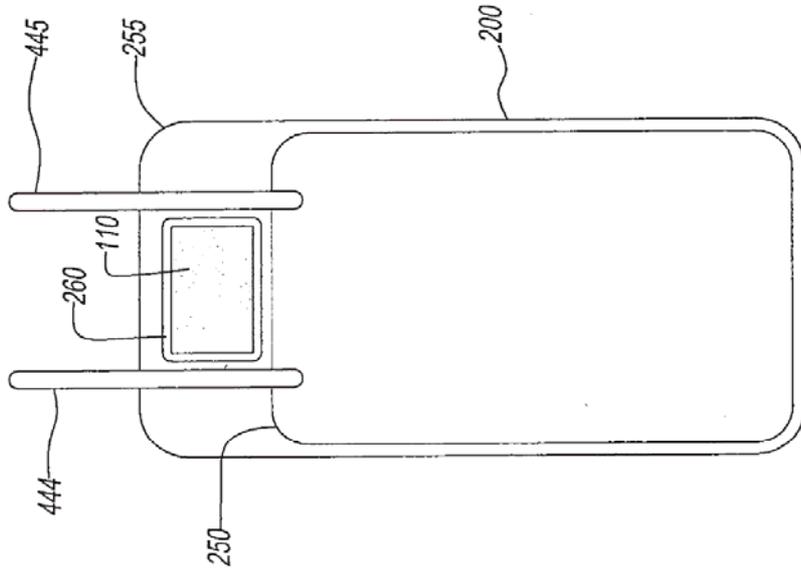


FIG. 4

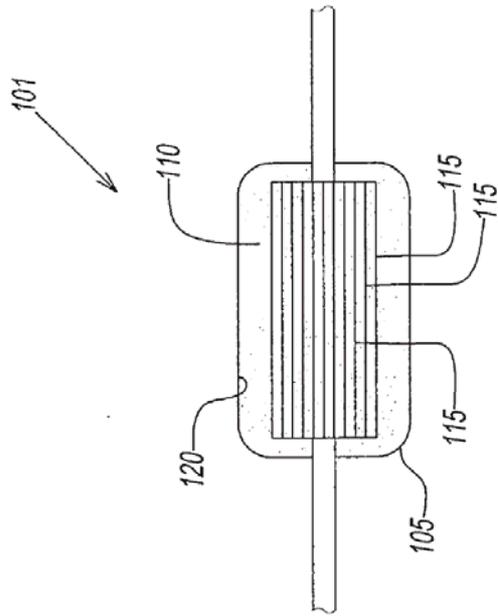


FIG. 3

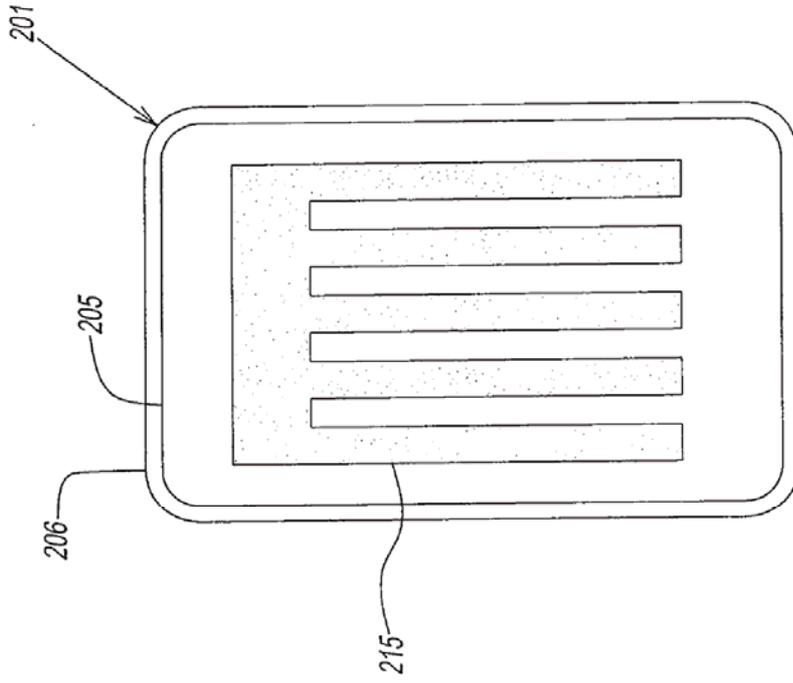


FIG. 5B

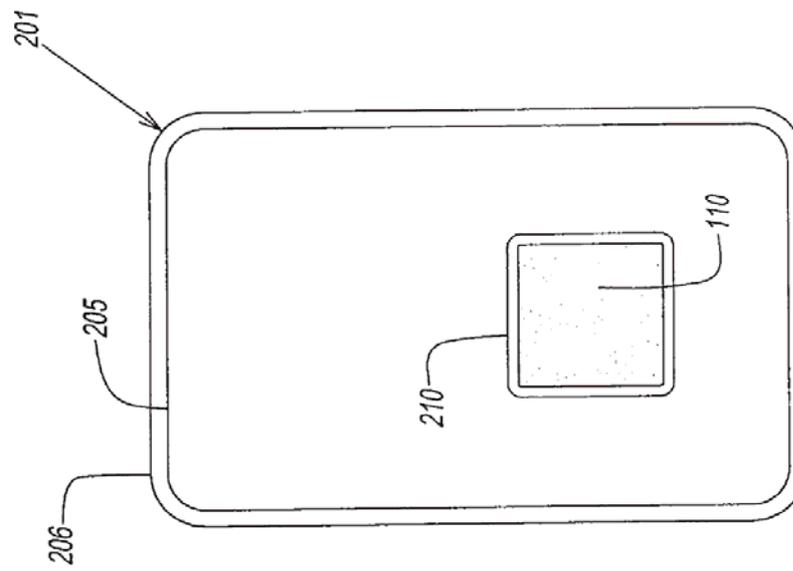


FIG. 5A

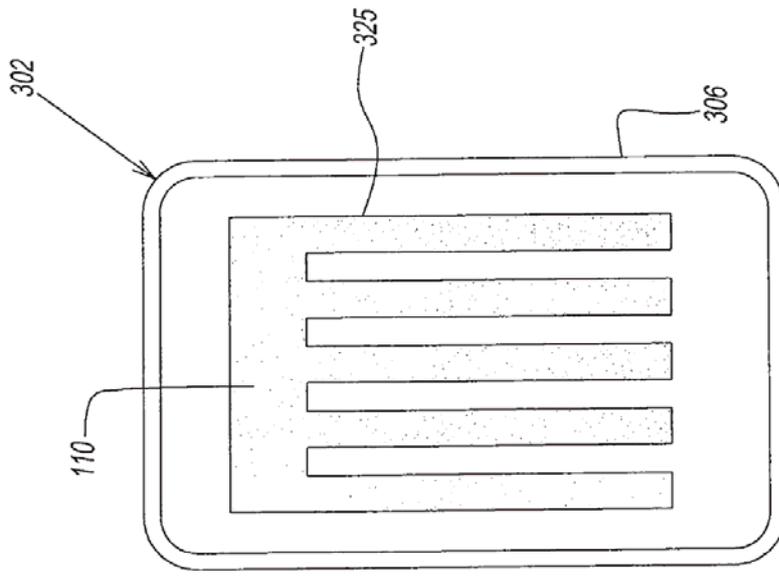


FIG. 6B

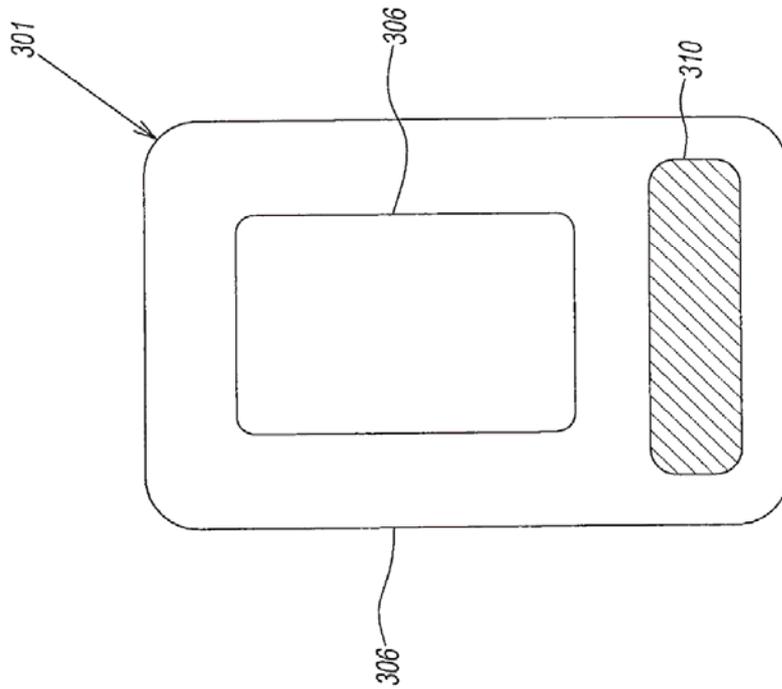


FIG. 6A

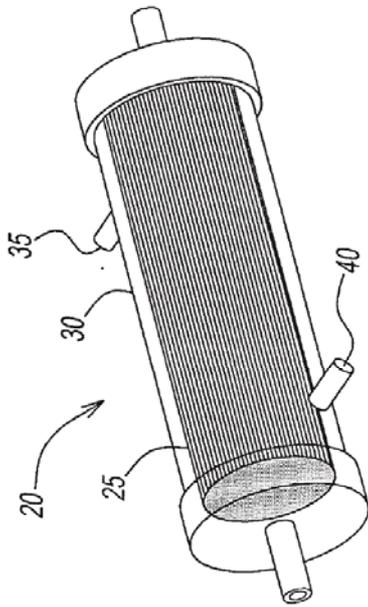


FIG. 7B

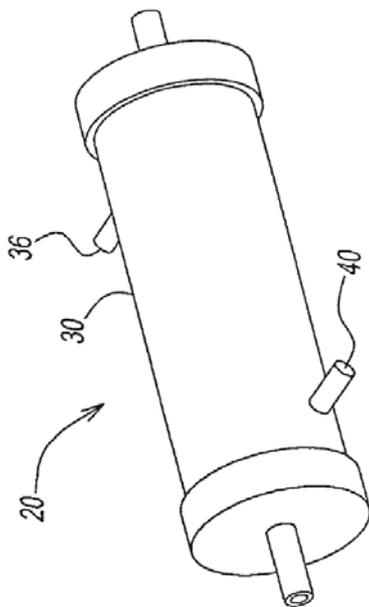


FIG. 7A

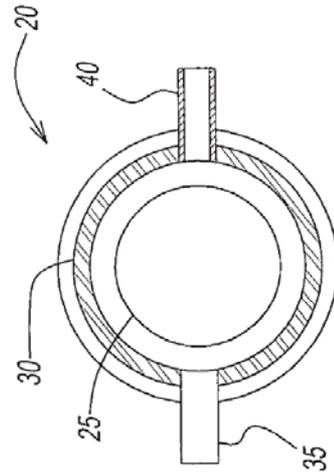
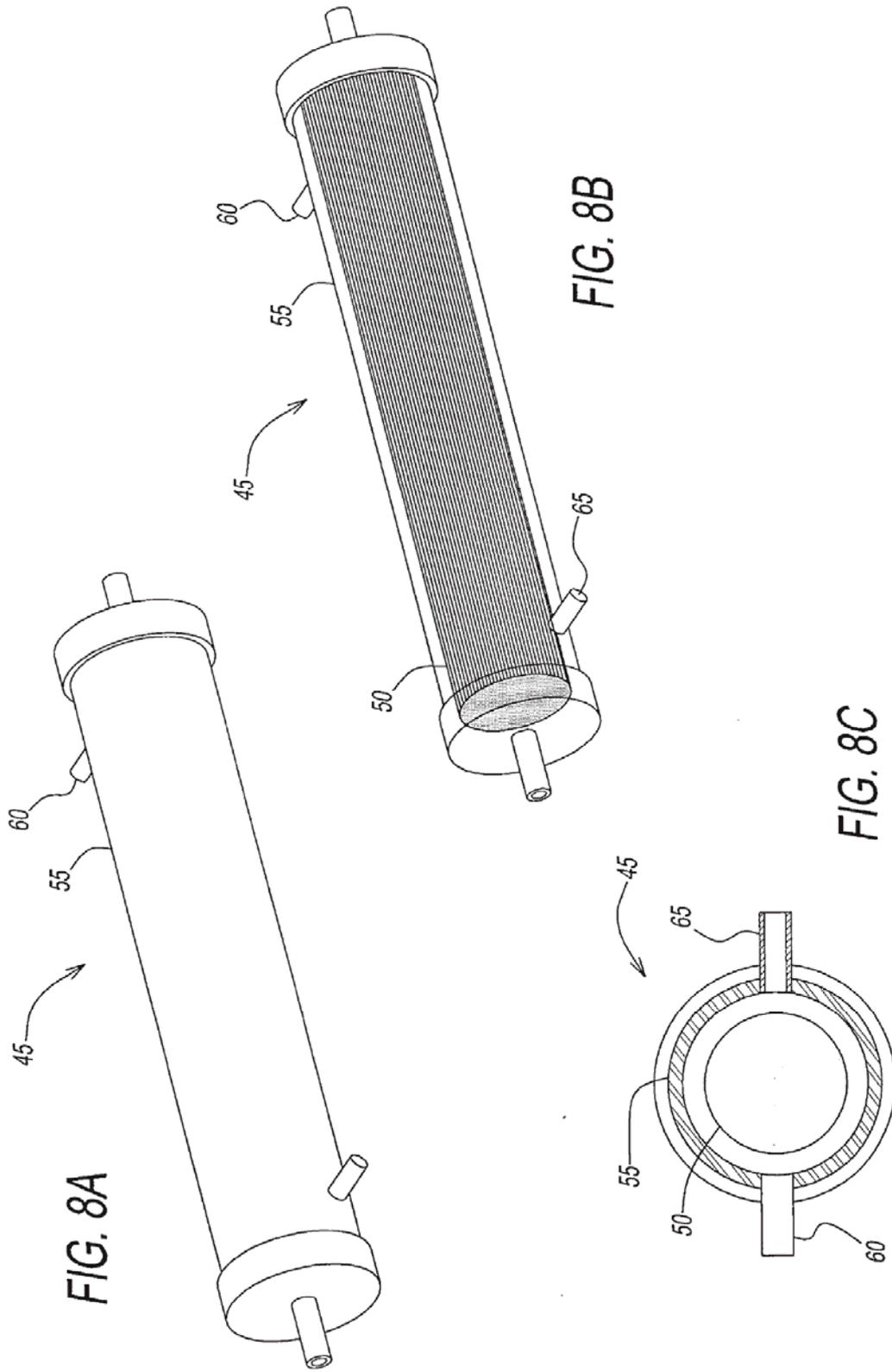
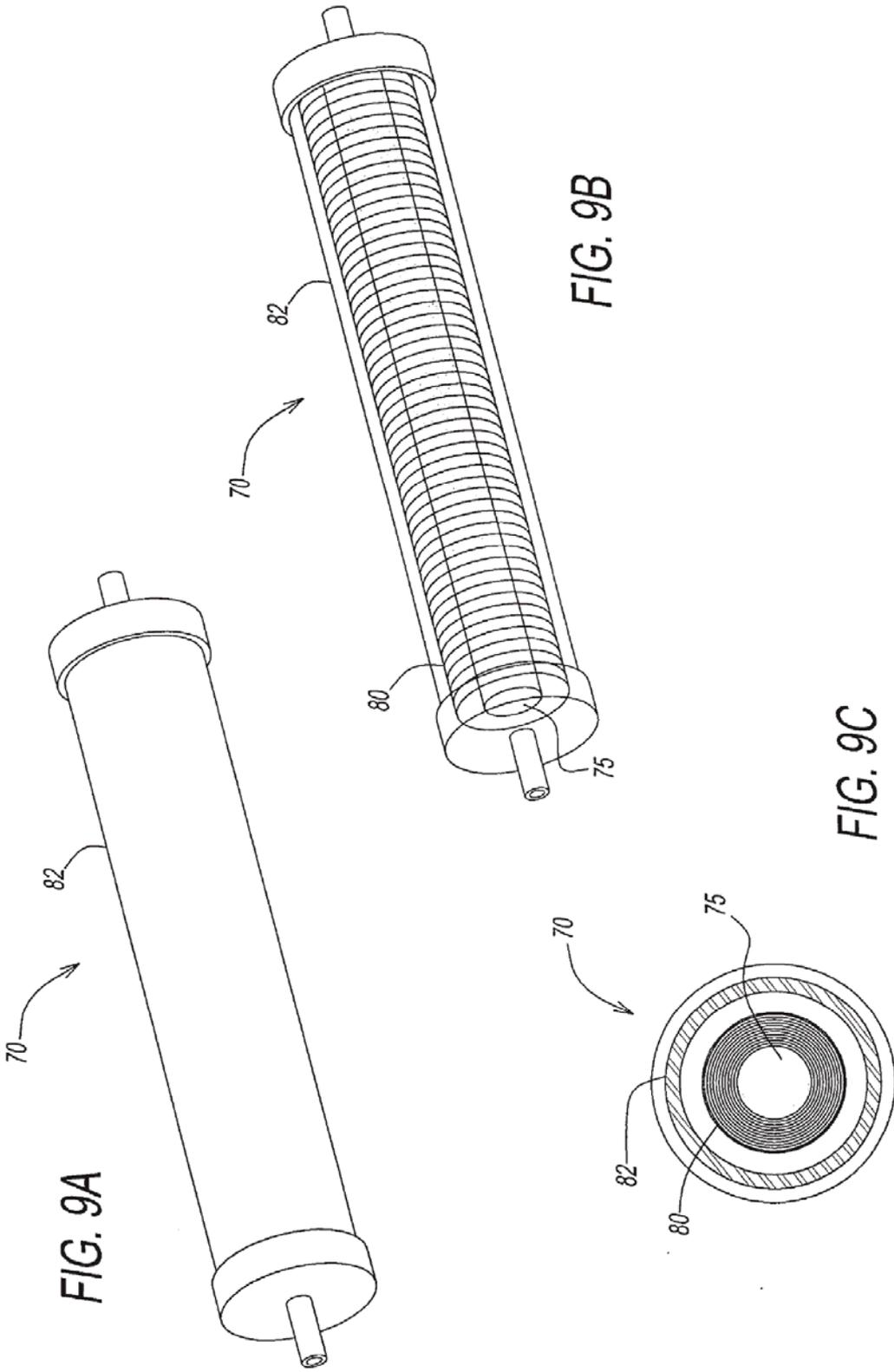
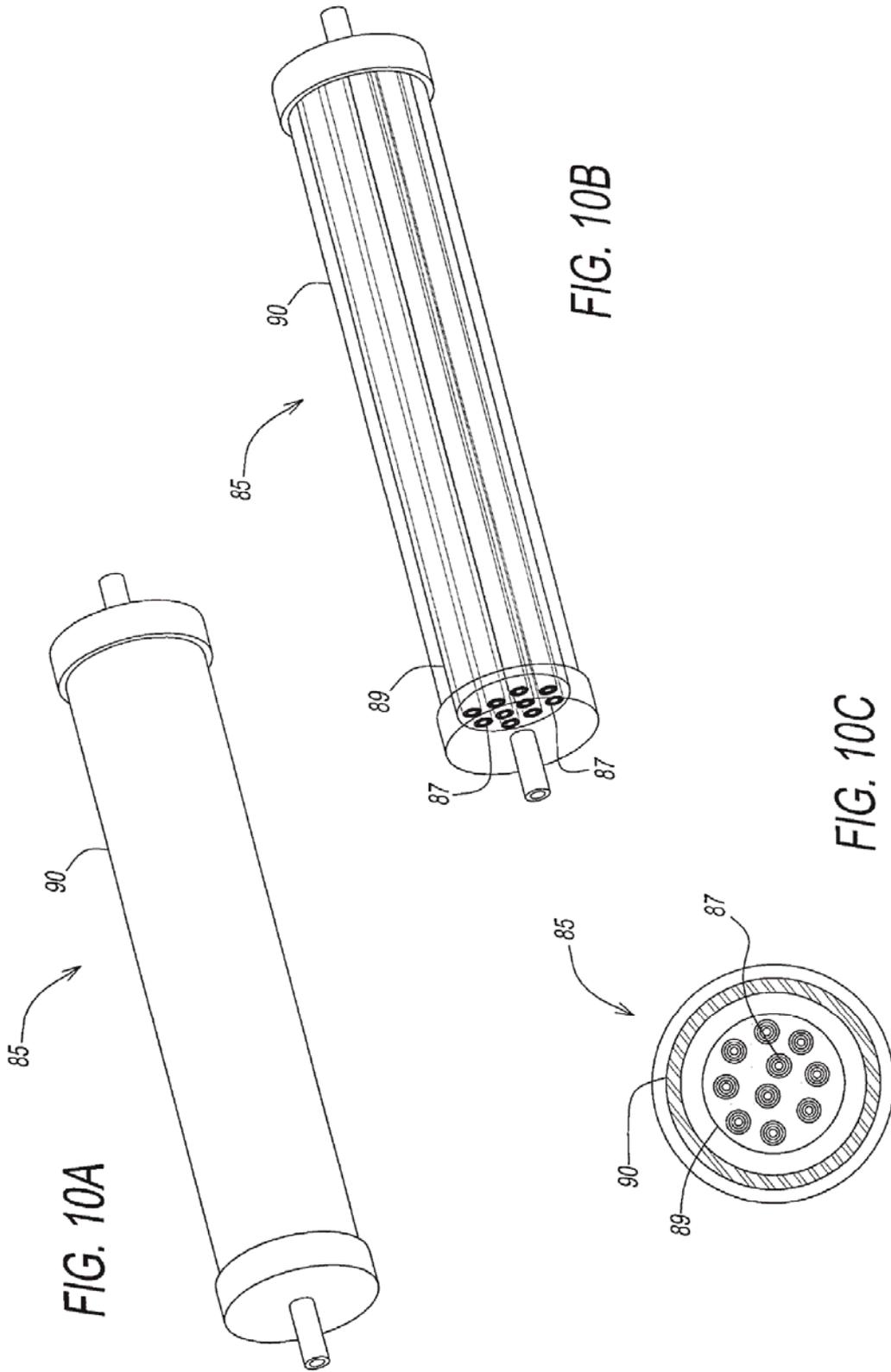


FIG. 7C







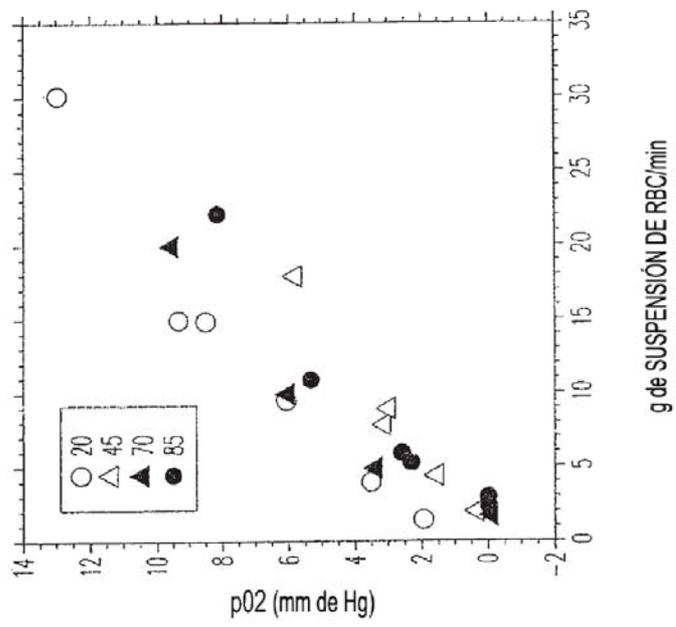


FIG. 11

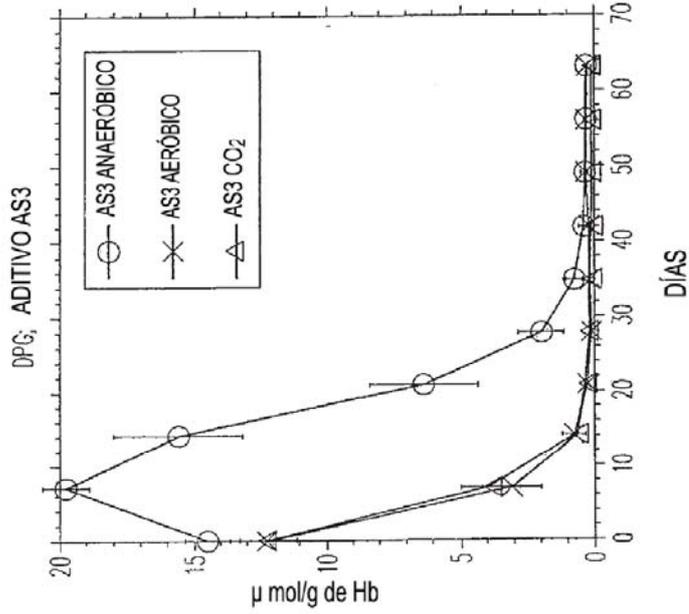


FIG. 12B

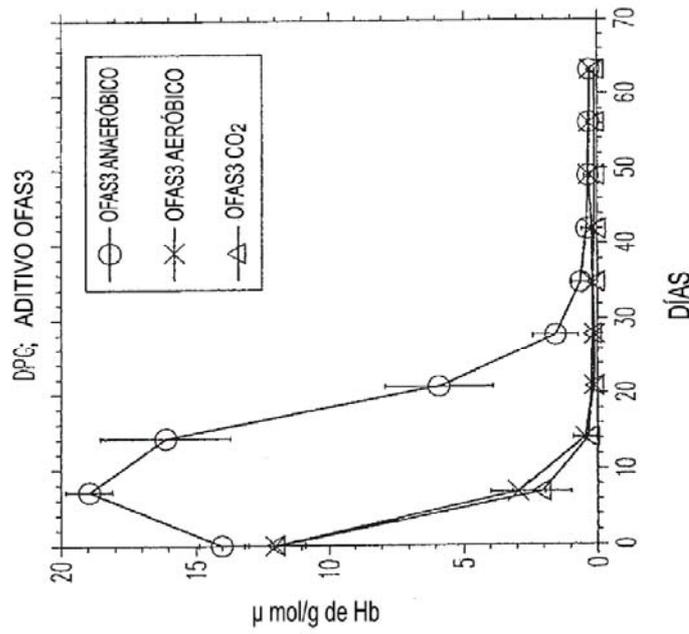


FIG. 12A

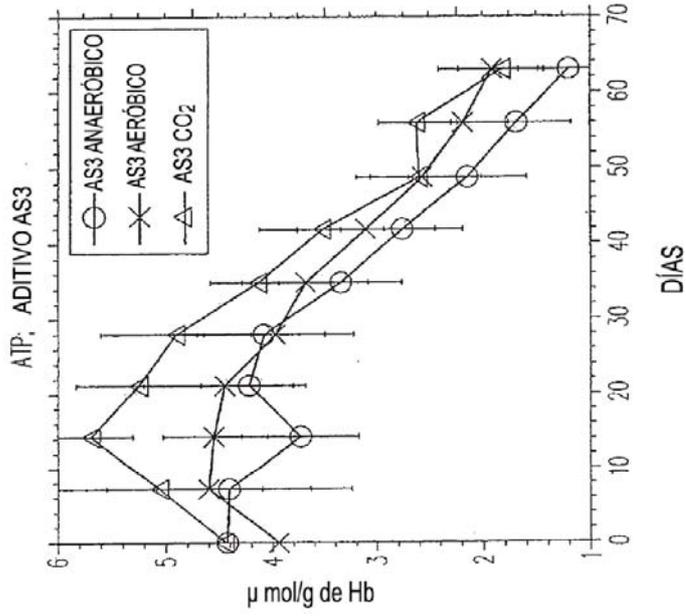


FIG. 12D

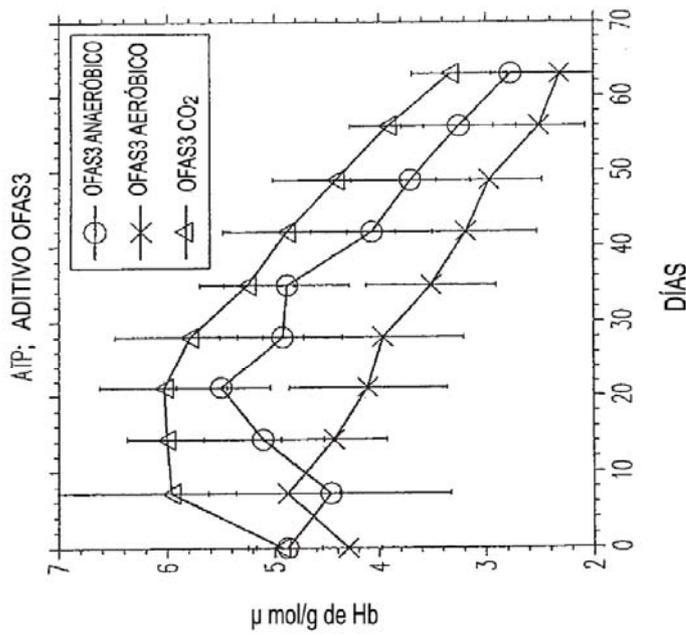


FIG. 12C

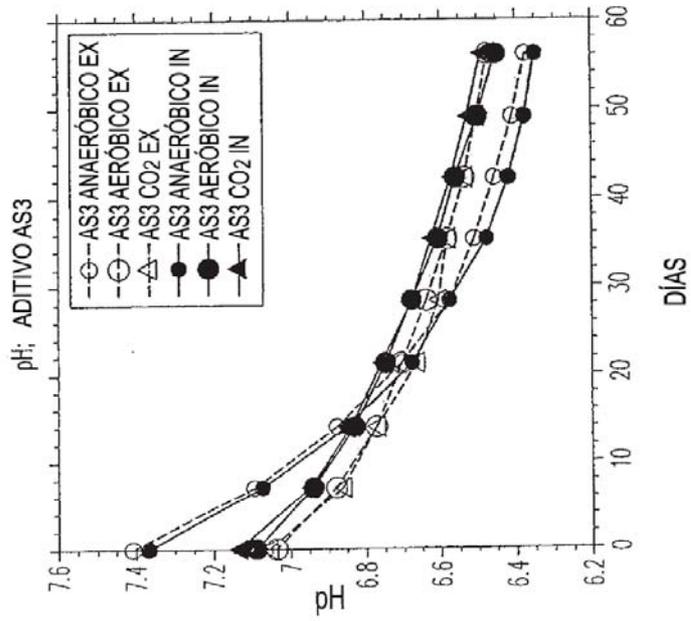


FIG. 12F

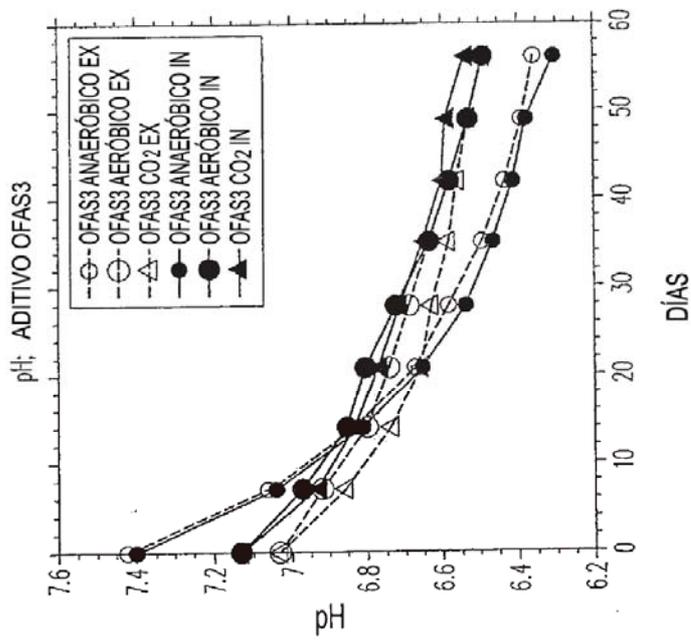


FIG. 12E

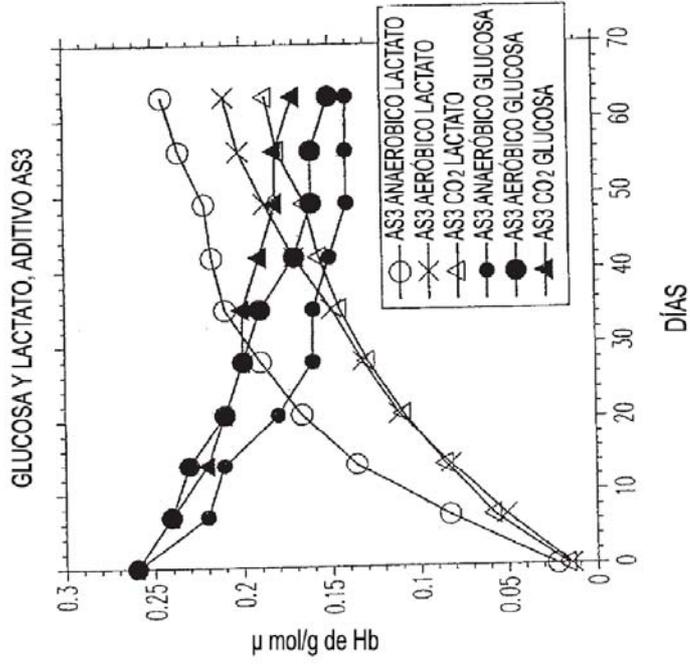


FIG. 12H

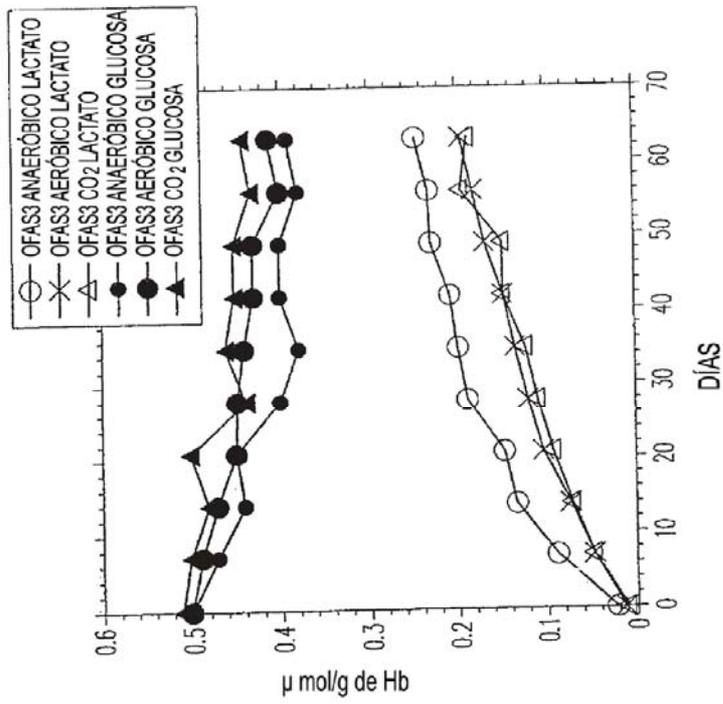


FIG. 12G

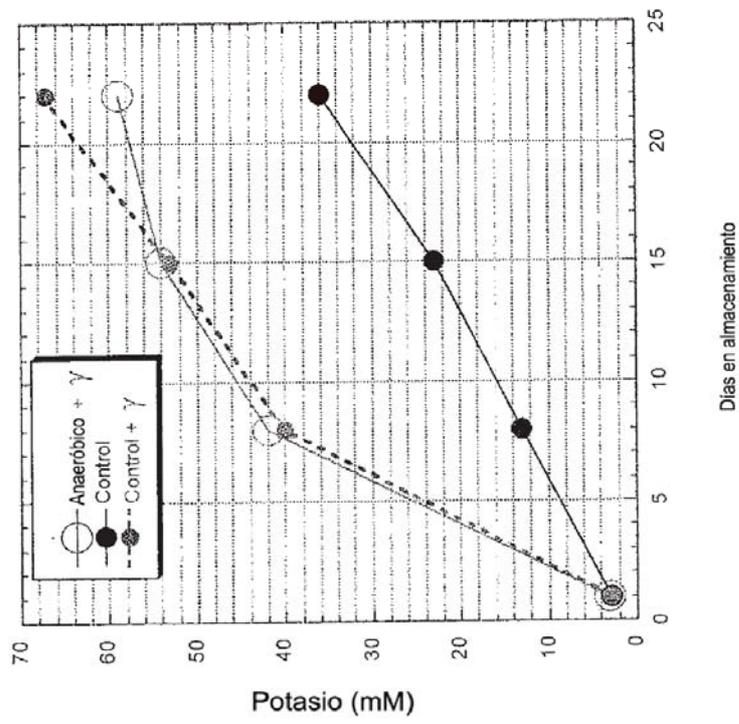


FIG. 13