(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 109414542 B
(45)授权公告日 2022.09.09

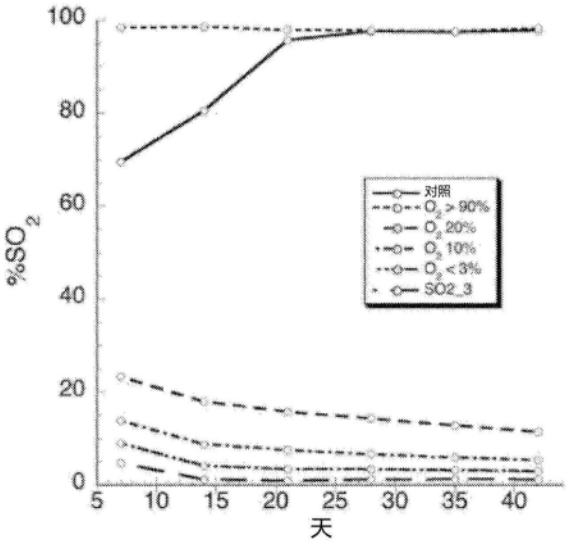
(21)申请号 201780038947.3
(22)申请日 2017.06.22
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 109414542 A
(43)申请公布日 2019.03.01
(30)优先权数据
62/354,041 2016.06.23 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2018.12.21
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/038859 2017.06.22
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2017/223377 EN 2017.12.28
(73)专利权人 希玛奈克斯特股份有限公司
地址 美国马萨诸塞州
(72)发明人 安杰洛·达勒桑德鲁
拉斐尔·科尔代罗
安德鲁·邓纳姆 菲利普·基根
吉田达郎
(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227
专利代理师 郑斌 刘振佳
(51)Int.Cl.
A61K 35/14(2015.01)
A61P 19/02(2006.01)
A61P 11/00(2006.01)
A61P 17/00(2006.01)
A61P 3/10(2006.01)
A61P 9/00(2006.01)
A61P 7/00(2006.01)
A61M 1/38(2006.01)
A61P 29/00(2006.01)
A61M 1/36(2006.01)
A61P 1/04(2006.01)
A61P 7/08(2006.01)
(56)对比文件
US 2010217173 A1,2010.08.26
US 2015284682 A1,2015.10.08
CN 102908690 A,2013.02.06
WO 2013006631 A1,2013.01.10
US 2002159995 A1,2002.10.31
审查员 胡楠
权利要求书2页 说明书43页 附图12页

(54)发明名称

管理需要输血的患者群体中的不良事件的方法

(57)摘要

输血医学以基于潜在的患者生理学来减少输血患者群体中的不良事件的方法。



CN 109414542 B

1.血液用于制备用于降低需要输血的人类患者的炎症反应风险的药物的用途,其中所述药物通过将所述血液中的氧气降低至20%或更低的氧饱和度并且在缺氧条件下在储存期储存所述血液以产生氧气减少的储存血液而配制成,其中所述氧气减少的储存血液具有与储存相同储存期的非氧气减少的储存血液相比至少一种炎性因子的降低水平,其中所述药物用于输入到具有增加的炎症反应风险的需要输血的人类患者。

2.权利要求1所述的用途,其中所述需要输血的人类患者选自:需要组织灌注旁路的手术患者,患有慢性血管炎症的患者、患有慢性炎性肠病的患者、患有慢性阻塞性肺病的患者(COPD)、患有镰状细胞病的患者、患有地中海贫血的患者、患有器官衰竭的患者、患有全身性炎症反应综合征(SIRS)的患者、患有糖尿病的患者、患有Bechet病的患者、患有类风湿性关节炎的患者、患有烟雾吸入的患者和患有其组合的患者。

3.权利要求2所述的用途,其中所述需要输血的人类患者具有降低延迟溶血性输血反应的风险、缺血再灌注损伤、高凝、输血相关的急性肺损伤(TRALI)、全身炎症反应综合征(SIRS)、多重器官功能障碍综合征(MODS)或其组合。

4.权利要求2所述的用途,其中所述炎症反应加重选自慢性血管炎症、慢性炎症性肠病及其组合的炎症反应。

5.权利要求1所述的用途,其中所述至少一种炎性因子选自由以下组成的组:

白三烯、

8-异前列烷、

血栓素、

羟基天冬氨酸(HETE)及

其组合。

6.权利要求5所述的用途,进一步包含选自调节激活正常T-细胞表达和分泌的因子(RANTES)、嗜酸细胞活化趋化因子1和可溶性CD40配体(SCD40L)的炎性细胞因子。

7.权利要求1所述的用途,其中所述储存期为至少2天、至少7天、至少14天、至少21天、或至少28天。

8.权利要求1所述的用途,其中所述需要输血的人类患者是需要多次输血的患者。

9.权利要求5所述的用途,其中所述储存期为至少2天并且所述氧气减少储存的血液包含:

当所述血液具有5%或更低的初始氧饱和度时血栓素B2水平降低,

谷胱甘肽(GSH)水平升高,

高铁血红蛋白的百分比降低,

三磷酸腺苷(ATP)水平增加,和

2,3-二磷酸甘油酸酯(DPG)水平增加,

其中所述氧气减少储存的血液的所述增加的水平、所述减少的水平或所述减少的百分比是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液。

10.权利要求9所述的用途,其中所述储存期为至少7天并且氧气减少储存的血液还包含:

磷脂酰肌醇4-磷酸酯与磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸酯的比例增加,

其中所述氧气减少储存的血液中所述增加的比例是相对于储存相同储存期的非氧气

减少的储存血液。

11.权利要求10所述的用途,其中所述储存期为至少14天并且氧气减少储存的血液还包含:

白三烯B4水平降低,

当所述血液具有10%或更低的初始氧饱和度时羟基二十碳四烯酸(HETE)的水平降低,

亚甲基四氢叶酸水平增加,和

谷氨酸水平升高,

其中所述氧气减少储存的血液的所述增加的水平或所述减少的水平是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液。

12.权利要求11所述的用途,其中所述储存期为至少21天并且氧气减少储存的血液还包含:

当所述氧饱和度在5%和10%之间时,谷胱甘肽(GSH)与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比率更高,

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)的库增加,

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸+氢(NADH)的库增加,和

当所述血液具有约为5%的初始氧饱和度时,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)中Cys152的二氧化水平降低,

其中所述氧气减少储存的血液的所述更高的比率、所述增加的库或所述减少的水平是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液。

13.权利要求12所述的用途,其中所述储存期为至少28天并且氧气减少储存的血液还包含:

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐+氢(NADPH)的水平增加,

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐+氢(NADPH)与烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐($NADP^+$)的比例增加,和

半胱氨酸水平升高,

其中所述氧气减少储存的血液的所述增加的水平或所述增加的比例是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液。

14.权利要求1所述的用途,其中所述药物还配制成用于输注至少一个单位的所述氧气减少储存的血液。

15.权利要求1所述的用途,其中所述血液具有10%或更低的初始氧饱和度。

管理需要输血的患者群体中的不良事件的方法

技术领域

[0001] 本公开涉及输血医学领域的改进。

背景技术

[0002] 当常规储存时，血液经历稳定的恶化，其与各种储存损伤相关，包括溶血、血红蛋白降解、囊泡化、增加的氧化应激、降低的ATP和2,3-DPG浓度等。当输入患者时，储存期间稳定恶化的影响表现为例如24小时体内恢复的减少，血管外溶血和非转铁蛋白结合铁增加。由于24小时恢复减少导致血细胞比容迅速下降，严重时可导致延迟溶血性输血反应(DHTR)。其他并发症，例如全身炎症反应综合征(SIRS)，输血相关的急性肺损伤(TRALI)和输血相关的免疫调节(TRIM)与储存血液的输血相关，尽管对潜在原因的鉴定仍不清楚。在某些情况下，接受输血的患者患有与氧化应激和氧化损伤增加相关的各种潜在病症，例如糖尿病。患有镰状细胞病或地中海贫血的患者接受定期输血以控制病情或治疗急性并发症，可对输血产生不良反应。由于存储血液的这些和其他医疗后遗症，已经开发了多种方法来最小化储存对血液的影响并改善医疗结果。例如参见Zimring等人“Established and theoretical factors to consider in assessing the red cell storage lesion”in Blood,125:2185-90(2015);D'Alessandro等人“Time-course investigation of SAGM-stored leukocyte-filtered red blood cell concentrates:from metabolism to proteomics”Haematologica 97(1):107-115(2012);D'Alessandro等人“Red blood cell metabolism under prolonged anaerobic storage”Molecular BioSystems 9(6):1196-209(2013);D'Alessandro等人“Red blood cell storage in additive solution-7 preserves energy and redox metabolism:a metabolomics approach,”Transfusion,55(12):2955-66(2015);D'Alessandro等人“Routine storage of red blood cell(RBC) units in additive solution-3:a comprehensive investigation of the RBC metabolome,”Transfusion,;55(6):1155-68(2015);D'Alessandro等人“Citrate metabolism in red blood cells stored in additive solution-3,”Transfusion,;57(2):325-336(2016)(通过引用整体并入本文)。

[0003] 已经开发了许多方法，旨在最小化存储损伤和改善输血结果。方法包括添加剂解决方案(例如Hamasaki等人的美国专利No.4,769,318和Sasakawa等人的美国专利No.4,880,786、Hess等人的美国专利No.6,447,987)、冷冻储存(参见Serebrennikov Chaplin等人的美国专利No.6,413,713,“Blood Cells for Transfusion,”Blood,59:1118-20(1982)和Valeri等人“The survival,function,and hemolysis of human RBCs stored at 4degrees C in additive solution(AS-1,AS-3,or AS-5)for 42days and then biochemically modified,frozen,thawed,washed,and stored at 4degrees C in sodium chloride and glucose solution for 24hours,”Transfusion,40:1341-5(2000)(“Valeri 2000”);D'Alessandro,等人“An update on red blood cell storage lesions,as gleaned through biochemistry and omics technologies,”Transfusion,

55(1):205-219(epub 2014);D'Alessandro,等人"Red blood cell metabolic responses to refrigerated storage,rejuvenation,and frozen storage,"Transfusion,57(4):1019-1030(2017);和D'Alessandro,等人"Red blood cell storage lesion,"International Society of Blood Transfusion,ISBT Science Series,12:207-213(2017),通过引用整体并入本文)和恢复活力(参见Valeri 2000)。

[0004] 已证明成功改善血液质量和扩展其效用的一种方法是通过在厌氧条件下耗尽氧气和储存。在缺氧条件下储存血液的益处包括改善的ATP和2,3-DPG水平,以及减少的溶血。Bitensky等人的美国专利No.5,624,794、Bitensky等人的美国专利No.6,162,396和Bitensky的美国专利No.5,476,764(通过引用整体并入本文)涉及在贫氧条件下储存红细胞。Bitensky等人的美国专利No.5,789,151涉及血液储存添加剂溶液。Bitensky等人的美国专利No.6,162,396('396专利)(通过引用整体并入本文)公开了一种用于血液储存的厌氧储存袋,其包括不透氧的外层,与红细胞(RBC)相容的内层,该内层可渗透氧气,并且具有放置在内层和外层之间的氧气洗涤器。

[0005] 在缺氧条件下储存血液也可导致微粒水平降低(参见Yoshida等人"The effects of additive solution pH and metabolic rejuvenation on anaerobic storage of red cells,"Transfusion 48:2096-2105(2008)和Yoshida,T.等人Reduction of microparticle generation during anaerobic storage of red blood cells.Transfusion,52,83A(2012),通过引用整体并入本文)),与常规条件下储存的血液相比,可变形性丧失,脂质和蛋白质氧化减少以及输血后存活率降低(参见D'Alessandro等人"Red blood cell metabolism under prolonged anaerobic storage,"Mol Biosystems 6:1196-1209(2013);Pallotta等人"Storing red blood cells with Vitamin C and N-acetylcysteine prevents oxidative stress-related lesions:a metabolomics overview,"Blood Transfusion,12:376-387(2014);Zolla and D'Alessandro,"Response to'platelets proteomics in transfusion medicine:a reality with challenging but promising future',"Blood Transfusion,11:316(2013);Blasi等人"Red blood cell storage and cell morphology,"Transfusion Medicine,22:90-96(2012);Longo等人"Deoxygenation of leucofiltered erythrocyte concentrates preserves proteome stability during storage in the blood bank,"Blood Transfus 12(4):599-604(2014)("Longo 2014");和Reisz等人"Oxidative modifications of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase regulate metabolic reprogramming of stored red blood cells,"Blood,(2016)("Reisz 2016")(通过引用整体并入本文)。

[0006] 存储过程中的氧化损伤已被认为是包装红细胞(pRBC)膜损伤的主要原因,如脂质过氧化标记物(如异前列素)、和氧化结构和功能蛋白(如带3)、甘油醛3-磷酸脱氢酶和血红蛋白的积累所示。(参见Wither等人"Hemoglobin oxidation at functional amino acid residues during routine storage of red blood cells,"Transfusion,(56)2:421-426,(2016)("Wither 2016");and Reisz 2016)。在储存期间增加细胞因子的量也可以在储存损伤发展中起作用,对潜在的输血结果具有潜在的临床意义。

[0007] 某些患者群体比其他患者更容易受到储存损伤。在不限制患者群体的情况下,这

些患者群体包括大量或慢性输注的接受者，例如创伤或癌症患者，或患有血红蛋白病(例如，镰状细胞病)的患者。在这些更敏感的群体中，作为非限制性实例，是创伤患者和癌症患者。与不良临床结果相关的是生物反应调节剂(BRM)的积累，其包括介导炎症，调节细胞生长，调节血管生成和调节t辅助细胞功能的细胞因子。这些BRM中有白细胞介素17(IL-17)、嗜酸细胞活化趋化因子(CCL11)、碱性FGF(bFGF)、巨噬细胞炎症蛋白1a(MIP-1a)、单核细胞趋化蛋白1(MCP-1)、血小板-来源于生长因子(PDGF)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)、血管内皮生长因子(VEGF)、羟基二十四四烯酸(HETE)、白三烯和血栓素。参见Behrens等人“Accumulation of biologic response modifiers during red blood cell cold storage,”Transfusion 49(Suppl3):10A(2009)(通过引用整体并入本文)。还观察到细胞因子在血液储存期间累积，并且当围手术期给予癌症患者时，这些累积的细胞因子可能与阴性结果相关。参见Benson等人“Accumulation of Pro-Cancer Cytokines in the Plasma Fraction of Stored Packed Red Cells,”J Gastrointest Surg.16:460-468(2012)(通过引用整体并入本文)。

[0008] 虽然减少储存损伤的方法一直在推进，但是缺乏对储存期间发生的变化的理解。最近的分子，基因组和代谢研究已经开始确定在储存过程中红细胞中发生的特定变化。参见D'Alessandro等人“Red blood cell metabolism under prolonged anaerobic storage,”Mol.Biosyst.9(6):1196-209(2013)(D'Alessandro 2013);D'Alessandro等人“Time-course investigation of SAGM-stored leukocyte-filtered red blood cell concentrates:from metabolism to proteomics”Haematologica 97(1):107-115(2012);and Roback等人“Metabolomics of AS-1 RBC storage,”Transfus Med Rev.28(2):41-55(2014)(通过引用整体并入本文)。虽然D'Alessandro 2013旨在比较在有氧和氧气减少的条件下储存的红细胞的代谢，但是仅使用远离当前现有技术分析工作流程的初步代谢组学方法测量稳态代谢参数。因此，由于缺乏与通过糖酵解的实际代谢通量和低氧储存的红细胞的磷酸戊糖途径相关的机械证据，因此收集的结果因此是初步的并且限制了与填充的RBC的厌氧储存相关的代谢益处的解释。因此，结果没有正确地揭示氧气减少储存的血液的改善特征。由于这些缺陷，D'Alessandro 2013得出结论，氧气减少储存升高的氧化应激可能通过戊糖磷酸途径限制葡萄糖代谢而损害RBC抗氧化能力，而戊糖磷酸途径又产生调节氧化还原平衡所必需的还原当量(NADPH)(例如，氧化谷胱甘肽的再循环)。然而，这些稳态观察并未提供任何实际的代谢通量的直接测量。在该研究中没有直接测试。与D'Alessandro 2013的结果相反，本公开的结果正确地揭示了降低的氧化应激和PPP的活化等其他有益特性。

[0009] 储存测试以确定厌氧储存对各种储存溶液中总体血液健康的影响，因为已确定的改善包括溶血减少(FDA强制要求在储存期间保持低于1％)，以及ATP和2,3-DPG水平。虽然目前没有任何全球监管委员会要求，但整个储存过程中ATP和2,3-DPG水平的生理维持有可能改善输血血液制品的总体生存能力和治疗效果。

[0010] 对于目前的研究，^{13}C-葡萄糖(1、2和3位)在储存开始时加标，提供了一种方法来追踪和比较通过糖酵解(产生高能磷酸盐化合物)的葡萄糖氧化的实际通量和磷酸戊糖途径(用于燃料抗氧化剂级联)，通过计算乳酸+2和+3的同位素比率以及整个储存期间厌氧和有氧储存细胞中的能量代谢来确定。简而言之，虽然不受理论限制，磷酸戊糖途径(PPP)的非

氧化部分与Embden-Meyerhof-Parnas途径(EMP)相交,5碳糖重新进入EMP,最终以乳酸形式结束。乳酸通过氧化PPP(没有反应,糖异生)出现,并且在位置1缺乏^{13}C(当葡萄糖通过PPP代谢时以CO_2的形式释放),而通过EMP直接从葡萄糖产生的乳酸将具有所有三种碳都是^{13}C或根本没有。以这种方式,可以使用代谢模型估计通过PPP的通量。由于核糖-5-P进入腺嘌呤核苷酸库(AXP)途径,我们能够推断出ATP降解和再合成的进一步见解。参见Reisz 2016。

[0011] 自从20世纪之交的血型鉴定以及Rous和Turner在1916年开发储血输血方法以来,输血已经成为一种常规治疗方法。输血治疗的范围从手术期间的创伤和血液替代治疗到癌症治疗,以及镰状细胞性贫血和地中海贫血等遗传性疾病的治疗。值得注意的是,但是为了确定血型和免疫不相容性,在了解血液储存病变的变化或识别有输血治疗并发症风险的患者方面进展甚微。迄今为止,关于最佳方法和患者群体选择的建议很少受到关注。最近,当提供1:1的重组血液时,从业者已经观察到创伤受害者和出血性患者的改善结果,当提供完整的,未分级的血液(除白细胞减少以减少非溶血性热性输血反应(NHFTR),同种免疫和感染):血浆,血小板和RBC的比例为1。虽然对于全血观察到的改善的潜在生物化学和生理学尚不清楚,但是这些观察结果引起了从业者对输血患者群体分化的讨论。

[0012] 随着对减少氧气储存对红细胞的生化和细胞生理影响的理解已经出现,很明显患者病理学中的异质性表明输血治疗需要超越一种适合所有方法。相反,广泛的慢性和急性病理学表明,对血液制品的生物化学和细胞组成的更精细的定义和控制可以改善患者的结果。虽然一些患者群体,特别是需要急性输血的年轻,相对健康的患者仅1-2个单位通常耐受红细胞储存损伤的有害影响,但依赖于RBC输血存活的患者群体更容易受到输血相关并发症的影响。

[0013] 因此,越来越需要使用常规输血方法识别处于治疗风险中的患者群体以及可以从定制输血医学中受益的患者群体。除了根据血型对患者进行区分外,下面的结果还显示了患者接受输血和匹配患者的年龄,储存条件,添加剂溶液和血液产品类型(整体、pRBC),在开具特定形式的输血治疗之前,医生应考虑重建,双血小板等。

[0014] 发明概述

[0015] 本公开内容提供并包括降低需要输血的患者的炎症反应风险的方法,包括提供当与储存相同储存期的非氧气减少的储存血液相比时,氧气减少储存的血液具有至少一种炎性因子的降低水平,其中所述患者的炎症反应风险增加。

[0016] 本公开内容提供并包括用于减少需要输血的患者中的氧化应激的方法,包括提供氧气减少储存的血液用于输血到需要输血的患者,该患者具有增加的输血介导的氧化应激的风险,其中所述氧气减少储存的血液在储存储存期之前初始氧饱和度为20%或更低,其中所述患者具有增加的氧化应激风险。

[0017] 本公开内容提供并且包括用于减少需要输血的患者的心脏、肾和胃肠缺血再灌注损伤的方法,包括提供氧气减少储存的血液,其在储存储存期之前具有20%或更低的初始氧饱和度,用于输送到需要输血的患者并且具有增加的心脏、肾和胃肠缺血再灌注损伤的风险。

[0018] 本公开内容提供并且包括一种用于降低需要输血的血红蛋白病患者中的不良事件风险的方法,包括提供氧气减少储存的血液,用于输入需要输血的血红蛋白病患者,其中氧气减少储存的血液在储存期间初始氧饱和度为20%或更低,其中患者的氧化应激风险增

加。

[0019] 本公开内容提供并包括一种用于减少需要输血的患者的延迟溶血性输血反应的方法，包括提供氧气减少储存的血液，其在储存期间具有20％或更低的初始氧饱和度，其中患者延迟溶血性输血反应的风险增加。

[0020] 附图简述

[0021] 参考附图公开了本公开，其中：

[0022] 图1至图20显示了，根据本公开的方面，与常规储存的血液(含氧量正常)和储存前已充分氧合的血液(高氧或高氧)相比，储存的血液(在这方面，包装的红细胞)的研究结果，所述储存的血液在储存期之前初始氧饱和度为20％或更低(氧气减少储存的血液)。

[0023] 图1是显示常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(----)血液和厌氧储存的血液42天内SO_2百分比的图，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0024] 图2是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液的白三烯B4的水平，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0025] 图3是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液的血栓素B2的水平，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0026] 图4A和4B是呈现根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液的羟基二十四四烯酸(HETE)的水平，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。图4A显示了在42天的时间内上清液中HETE的水平。图4B显示了在42天的时间内氧气减少储存的血液中HETE的水平。

[0027] 图5是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液的NADPH的水平，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0028] 图6是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液的$NADPH/NADP^+$的水平，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0029] 图7是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液的总NADPH和$NADP^+$储库，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0030] 图8是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液的总NADP和NAD^+储库，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0031] 图9是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液的亚甲基四氢叶酸水平，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0032] 图10是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液的谷氨酸的水平，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0033] 图11是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高

氧(---)和氧气减少储存的血液的降低的谷胱甘肽(GSH)的水平，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0034] 图12是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液的GSH/GSSG比率的水平，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0035] 图13是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液的半胱氨酸的水平，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0036] 图14是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液的尿酸的水平，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0037] 图15是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液的EMP通量，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0038] 图16是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液的ATP合成，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0039] 图17是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液中Cys152甘油醛3-磷酸脱氢酶的二氧化作用，初始SO_2百分比为5％。

[0040] 图18A和18B是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液中PIP与PIP3的磷酸化，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0041] 图19是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液中组氨酸93的血红蛋白β亚基氧化，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0042] 图20是显示根据本发明的实验结果的图，比较常规储存的含氧量正常(实线)和高氧(---)和氧气减少储存的血液的高铁血红蛋白水平，初始SO_2百分比为20％、10％、5％和＜3％。

[0043] 在几个视图中，相应的附图标记表示相应的部分。这里阐述的示例示出了本公开的若干实施例，但不应被解释为以任何方式限制本公开的范围。

[0044] 发明详述

[0045] 与血型分类以外的各种医学领域的个性化医疗进展相比，尚未确定从血库接收储存血液时某些人群面临的风险，尚未制定有效的策略和方法来减少或尽量减少风险。更具体地，基于潜在或伴随的二级病症(例如，预先存在的病症)，某些群体对输血治疗的并发症的风险增加。预先存在的病症包括但不限于糖尿病、缺血性心脏病、由创伤或感染引起的全身性炎症综合征、由创伤或感染引起的多器官衰竭、吸入烟雾、慢性肺阻塞性疾病例如由于感染引起的全身性炎症、自身免疫疾病和糖尿病。然而，其他人群，例如镰状细胞和地中海贫血患者，并发症的风险增加，例如，多次输血。本文提供的氧气减少储存的血液和方法可以提供新的和意外的炎症因子水平的降低、改善的保护免受氧化损伤、降低微粒水平和/或储存期间的其他变化，从而为需要输血治疗的某些患者群体提供改善和安全性或其他优势。如本文所提供的，本方法包括那些在某些患者中提供并包括降低发病率和不良事件的

方法，所述患者可识别为具有与风险增加相关的预先存在的病症。

[0046] 尽管本领域已知氧气减少储存的血液的某些益处，但关于储存损伤的性质以及在常规储存期间或在氧气减少储存期间发生的变化相对知之甚少。如下表1中所提供的，早在冷藏开始后2天就可以识别储存血液的变化。

[0047] 表1：与常规储存相比，氧气减少储存的血液的改善和临床益处

[0048]

	改变血液分子/途径	SO2范围	临床效果	改善日期（日）							变化†	图
				2	7	14	21	28	35	42		
1	储存期间 SO_2 不增加	<3-20	保持稳定的氧化还原环境；防止由于 O_2 含量增加导致的氧化应激增加	X	X	X	X	X	X	X	N/A	图 1
2	减少的白三烯B4	< 3-20,	降低白三烯B4的含量，这是一种高度促炎的BRM			X	X	X	X	X	低于检测	图 2

[0049]

3	减少的血栓素B2	<3-5	减少血小板活化和血管/支气管平滑肌收缩。B2是最终产品，更稳定的形式是不稳定的血栓素A2，是一种有效的BRM，用于血小板活化剂和平滑肌收缩。	X	X	X	X	X	X	X	第7天为1/2.1，第42天为1/1.6	图3
4	减少的细胞中HETE	<3-20	HETE是促炎性BRM	X	X	X	X	X	X	X	第14天为1/5x，第42天为1/20x	图4
5	减少HETE，上清液	<3-10	HETE是促炎性BRM			X	X	X	X	X	第14天为1/5，第24天为1/6	图4
6	更高的NADPH	<3-20	NADP/H合成率较高；更高的抗氧化能力；尽管由于代谢调节导致PPP通量降低，但氧化应激水平较低					X	X	X	第14天为2.2x，第42天为5.9x	图5
7	更高的NADPH/NADP+	<3-20	NADP/H合成率较高；更高的抗氧化能力；尽管由于代谢调节导致PPP通量降低，但氧化应激水平较低					X	X	X	第42天为8.5x	图6
8	更高的NADPH+NADP储量	<3-20	NADP/H合成率较高；更高的抗氧化能力；尽管由于代谢调节导致PPP通量降低，但氧化应激水平较低	X	X	X	X	X	X	X	第1天为1.7x，第42天为4.4x	图7
9	更高的NADH/NAD储量	<3-20	NAD/H合成率较高；减少环境；抗氧化能力更强				X	X	X	X	第42天为2.8x	图8

[0050]

10	增加亚甲基四氢叶酸	< 3-20	可能会促进 NADPH 的生产			X	X	X	X	X	第 14 天为 1.4x，第 42 天为 2x	图 9
11	高谷氨酸水平	< 3-20	GSH + GSSG 池越高；谷氨酸是 GSH 合成的前体			X	X	X	X	X	第 2 天为 1.2x，第 42 天为 2.1x	图 10
12	高 GSH 水平	5-20	更高的抗氧化能力；较低水平的氧化应激	X	X	X	X	X	X	X	第 7 天为 2x，第 42 天为 2.1x，	图 11
13	高 GSH/GSSG 比率	5 -10	更高的抗氧化能力；较低水平的氧化应激				X	X	X	X	第 7 天和第 42 天为 6x	图 12
14	增加半胱氨酸	5 -20	更高的 GSH 水平（GSH 合成的限速底物）					X	X	X	第 7 天为 2.1x，第 42 天为 1.9x	图 13
15	减少尿酸盐的消耗	< 3-20	尿酸是一种抗氧化剂；储存的 pRBC 中较高的水平表明较低的氧化应激					X	X	X	第 42 天为 1.4x	图 14
16	增加 ATP 和 DPG 产量	< 3-20	较高的 EMP 通量产生较高水平的 ATP 和 DPG	X	X	X	X	X	X	X	第 28 天为 1.5x	图 15
	通过 PPP 更高的从头合成 ATP		总腺苷酸较高	X	X	X	X	X	X			图 16
17	降低 GAPDH 中的 Cys152 二氧化水平	5	减少不可逆氧化的 GAPDH：这样的 GAPDH 失去酶活性，丧失代谢调节能力，并迁移到膜，引起囊泡化				X	X	X	X	第 21 天为 1/4.5，第 42 天为 1/1.7	图 17
18	将 PIP 降低到 PIP3	5 -20	在厌氧条件下，PIP 向钙通道激动剂 PIP3 的磷酸化降低，降低细胞内钙水平，防止形态变化（H）和 eryptosis（H）		X	X	X	X	X	X	3.3x PIP/PIP3 比率	图 18

[0051]

19	降低Hb betaH93氧化（特别是在上清液中）	5- 10; <3-20	减少微粒形成（H）；减少非反应性血红蛋白（无O2结合）；5-10％的 SO2 是最有效的							X	第42天为1/1.7	图19
20	低高铁血红蛋白水平	<3-20	高铁血红蛋白不稳定，变性为疏水性和反应性球蛋白和氯化血红素；它们可以破坏红细胞膜，诱导囊泡，诱导形态变化和催化羟基自由基生成（高反应性促氧化剂分子）	X	X	X	X	X	X	X	第15天为1/4.2x，第42 天为1/4.8x	图20
†与具有相同储存期的常规储存的含氧量（对照）血液相比，氧气减少储存的血液的倍数变化 N/A＝不适用												

[0052] 本公开内容提供并包括用于降低需要输血患者中炎症反应的风险的方法，所述方法包括提供氧气减少储存的血液，其具有在储存储存期之前输送到需要输血的患者20％或更低的初始氧饱和度，其中所述患者炎症反应的风险增加（例如参见表1）。在根据本发明的方面中，氧气减少储存的血液具有降低水平的至少一种炎性因子。如本文所用，初始氧饱和度是指在1至6℃下开始储存之前血液的氧饱和度。对于常规储存，收集和处理红细胞浓缩物时静脉血的初始氧饱和度约为50％，并且在储存期间，由于常规储存袋的渗透性，在一至两周内增加至完全饱和（例如参见图1）。

[0053] 不受任何科学理论的限制，除了其他变化之外，在有氧环境中储存红细胞促进膜的囊泡化，以及在储存期间和输血后将微粒输注到循环环境中。然而，通过激活Lands循环以及抑制与细胞膜加扰和脱落相关的钙离子通道的活化，产生和维持氧气减少储存的血液产品增加了整体膜稳定性。见图18。另外，氧气减少储存的血液还具有降低水平的白三烯B4（例如参见图2）和HETES（例如参见图4），即有效的促炎脂质。在一个方面，使用氧气减少储存的血液将预防或减轻输血的促炎作用，尤其是对具有预先存在的炎性病症的患者。此外，氧气减少储存的血液可预防新的病变，如输血相关的急性肺损伤（TRALI）和全身炎症反应综合征（SIRS）。

[0054] 本公开内容的方法提供并且包括识别具有炎症反应风险的患者，并且在存储用于储存期之前提供具有20％或更低的初始氧饱和度的所识别的患者氧气减少储存的血液。如本文所用，提供氧气减少储存的血液包括但不限于如段落[00128]中提供的全血和如段落[00129]和[00130]中提供的红细胞。

[0055] 在储存储存期之前具有20％或更低的初始氧饱和度的氧气减少储存的血液可以用较低水平的氧来制备。如本公开所提供的，从初始饱和水平20％开始，某些改进是明显的。如本文所用，本公开中提供的对所选患者的改进和益处与储存相同储存期的非氧气减少的储存血液相关（例如，相比较）。重要的是，随着储存期的增加以及储存前的初始氧饱和

度降低,这些差异变得更加明显。

[0056] 在本公开的方面中,如段落[0047]中所述具有20%或更低的初始氧饱和度并且储存至少2天的氧气减少储存的血液具有减少的白三烯B4。在另外的方面中,本发明的氧气减少储存的血液还包括减少的血栓素B2。在其他方面中,本发明的氧气减少储存的血液是具有减少的白三烯B4、减少的血栓素B2和减少的HETE的氧气减少储存的血液。在其他方面中,本公开的氧气减少储存的血液是具有减少的白三烯B4和减少的HETE的氧气减少储存的血液。在其他方面中,如段落[00128]、[00129]和[00130]中所述的氧气减少储存的血液,还包括减少的白三烯B4、血栓素B2和HETE。在本公开的方面中,氧气减少储存的血液适用于降低炎症反应的风险,包括具有减少的白三烯B4、血栓素B2和HETE的氧气减少储存的血液。在另外的方面中,适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液还包括减少高铁血红蛋白、减少残留H93中β-血红蛋白的氧化、增加减少烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐的储存量(NADPH)、增加GSH、增加ATP、增加DPG、增加NADPH储库、降低PIP与PIP3比例、增加亚甲基THF、增加谷氨酸、增加GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比例(GSH/GSSG比率)、增加尿酸和增加的半胱氨酸。在另外的方面中,适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液还包括减少高铁血红蛋白。在另外的方面中,适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液还包括在残留H93处减少β-血红蛋白的氧化。在另外的方面中,氧气减少储存的血液适于降低炎症反应的风险,还包括增加减少的烟酰胺酰嘌呤二核苷酸磷酸盐(NADPH)的储库。在另外的方面中,适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液还包括增加的GSH。在另外的方面中,适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液还包括增加的ATP。在另外的方面中,适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液还包括增加的DPG。在另外的方面中,适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液还包括增加的NADPH储库。在另外的方面中,适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液还包括降低PIP与PIP3的比率。在另外的方面中,适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液还包括增加的亚甲基THF。在另外的方面中,适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液还包括增加的谷氨酸。在另外的方面中,适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液还包括增加GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比例(GSH/GSSG比)。在另外的方面中,适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液还包括增加的尿酸盐。在另外的方面中,适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液还包括增加的半胱氨酸。

[0057] 在本公开的方面中,如在例如第[0048]段中所确定的氧气减少储存的血液具有10%或更低的初始氧饱和度,并且储存至少2天,具有降低的白三烯B4。在另外的方面中,本发明的氧气减少储存的血液还包括减少的血栓素B2。在其他方面中,本发明的氧气减少储存的血液是具有减少的白三烯B4、减少的血栓素B2和减少的HETE的氧气减少储存的血液。在其他方面中,本公开的氧气减少储存的血液是具有减少的白三烯B4和减少的HETE的氧气减少储存的血液。在其他方面中,例如在段落[0052]和[0054]中确定的氧气减少储存的血液还包括减少的白三烯B4、血栓素B2和HETE。适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液包括具有减少的白三烯B4、血栓素B2和HETE的氧气减少储存的血液。

[0058] 例如,如段落[0049]中所确定的,具有5%或更低的初始氧饱和度并且储存至少2天的氧气减少储存的血液具有减少的白三烯B4。在另外的方面中,本发明的氧气减少储存的血液还包括减少的血栓素B2。在其他方面中,本发明的氧气减少储存的血液是具有减少

的白三烯B4、减少的血栓素B2和减少的HETE的氧气减少储存的血液。在其他方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有减少的白三烯B4和减少的HETE的氧气减少储存的血液。在其他方面中，例如，如段落[0052]和[0054]中所述的氧气减少储存的血液还包括减少的白三烯B4、血栓素B2和HETE。适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液包括具有减少的白三烯B4、血栓素B2和HETE的氧气减少储存的血液。

[0059] 在本公开的方面中，氧气减少储存的血液具有3％或更低的初始氧饱和度，例如，如段落[0050]中所述，并且储存至少2天，白三烯B4减少。在另外的方面中，本发明的氧气减少储存的血液还包括减少的血栓素B2。在其它方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有减少的白三烯B4、减少的血栓素B2和减少的HETE的氧气减少储存的血液。在本公开的其他方面中，氧气减少储存的血液是具有减少的白三烯B4和减少的HETE的氧气减少储存的血液。在其他方面中，例如在段落[0052]和[0054]中，氧气减少储存的血液还包括还原的白三烯B4、血栓素B2和HETE。适用于降低炎症反应风险的氧气减少储存的血液包括具有减少的白三烯B4、血栓素B2和HETE的氧气减少储存的血液。

[0060] 本公开内容的方法提供并且包括识别具有增加的炎症反应风险的患者，并且为识别的患者提供在储存期储存之前初始氧饱和度为20％或更低的氧气减少储存的血液。方法还提供了提供氧气减少储存的血液，其在储存期储存之前具有20％或更低的初始氧饱和度，用于输入具有增加的炎症反应风险的人。还包括包括输入氧气减少储存的血液的方法，所述血液在储存期储存之前具有20％或更低的初始氧饱和度，用于具有增加的炎症反应风险的患者。如所讨论的，随着储存期的增加，相对于使用常规方法储存的血液，提高对于患有输入氧气减少储存的血液的炎症反应风险增加的患者的改善和益处。因此，提供初始氧饱和度为20％或更低的氧气减少储存的血液的方法包括提供初始氧饱和度为10％或更低的氧气减少储存的血液。提供初始氧饱和度为20％或更低的氧气减少储存的血液的方法还包括提供初始氧饱和度为5％或更低的氧气减少储存的血液。提供初始氧饱和度为20％或更低的氧气减少储存的血液的方法还包括提供初始氧饱和度为3％或更低的氧气减少储存的血液。

[0061] 在某些方面，炎性因子是蛋白质。在方面中，炎症因子是一种细胞因子。在根据本发明的一些方面，至少一种炎性因子是至少一种类花生酸炎性介质。本文还提供了至少一种类花生酸炎性介质和至少一种炎性细胞因子的减少。在根据本公开的方面中，氧气减少储存的血液已经储存至少两天，并提供降低水平的炎症因子。在方面中，还原的炎症因子包括血栓素B2和羟基二十碳四烯酸(HETE)。在其他方面中，炎症因子的降低水平包括生物反应调节剂，例如RANTES、Eoxtaxin1、可溶性CD40-配体(SCD40L)或其组合。

[0062] 在方面中，本发明的方法提供并包括提供氧气减少储存的血液，其在储存期储存之前具有20％或更低的初始氧饱和度，用于具有增加的炎症反应风险的患者。在方面中，具有增加的炎症反应风险的患者是需要组织灌注旁路的手术患者。在方面中，患有炎症反应风险增加的患者是患有慢性血管炎症的患者。在方面中，患有炎症反应风险增加的患者是患有慢性炎性肠病的患者。在方面中，患有炎症反应风险增加的患者是患有慢性阻塞性肺病(COPD)的患者。在方面中，患有炎症反应风险增加的患者患有镰状细胞病。在方面中，患有炎症反应风险增加的患者是患有地中海贫血的患者。在方面中，患者患有α-地中海贫血。在另外的方面中，有需要的患者有β-地中海贫血。在方面中，具有增加的炎症反应风险的患

者是患有器官衰竭的患者。在方面中，具有增加的炎症反应风险的患者是患有全身性炎症反应综合征(SIRS)的患者。在方面中，患有炎症反应风险增加的患者是患有糖尿病的患者。在方面中，患有炎症反应风险增加的患者是患有Behcet病的患者。在方面中，患有炎症反应风险增加的患者是患有类风湿性关节炎的患者。在方面中，患有炎症反应风险增加的患者是吸入烟雾的患者。在方面中，患有炎症反应风险增加的患者患有缺血性心脏病。

[0063] 还提供并包括具有潜在病症组合的患者。在方面中，患有炎症反应风险增加的患者患有镰状细胞和β-地中海贫血。在方面中，患有炎症反应风险增加的患者患有糖尿病和COPD。在方面中，患有炎症反应风险增加的患者患有镰状细胞病和SIRS。在方面中，患有炎症反应风险增加的患者患有糖尿病和缺血性心脏病。在方面中，具有增加的炎症反应风险的患者具有MODS和SIRS。在方面中，患有炎症反应风险增加的患者患有COPD和缺血性心脏病。在方面中，具有增加的炎症反应风险的患者是患有自身免疫疾病的创伤受害者。本领域普通技术人员将理解，分别评估各个患者的每个风险。也就是说，所提供的方法是指每个个体风险，而不是从中选择风险因素的风险列表。

[0064] 在某些方面，本公开的方法为具有多于一种潜在病症的患者提供了更大的益处，所述病症由具有增加的炎症因子水平的输血血液加重。在方面中，患病风险加重的病人患有镰状细胞和β-地中海贫血。在方面中，患有加重先前存在病症的风险增加的患者患有糖尿病和COPD。在方面中，患有加重先前存在病症的风险增加的患者患有镰状细胞病和SIRS。在方面中，患有加重先前存在病症的风险增加的患者患有糖尿病和缺血性心脏病。在方面中，患有加重先前存在病症的风险增加的患者具有MODS和SIRS。在方面中，患有加重先前存在的COPD和缺血性心脏病的风险增加的患者。在其他方面中，患有潜在病症风险的患者，由于输入血液的炎症因子水平增加而加重，因为镰状细胞病导致的慢性炎症患者在慢性输血治疗后炎症反应恶化。在另一方面，具有加重潜在病症风险的患者是患有来自镰状细胞和/或地中海贫血的溶血性贫血的患者，在治疗性输血后DHTR使贫血症恶化。在另一方面，具有加重潜在病症风险的患者是患有由肥胖导致的全身性炎症的患者，并且糖尿病在输血后恶化的炎症反应增加。在另外的方面中，有加重潜在病症风险的患者是因创伤或感染而患有SIRS的患者，在接受输血后炎症反应恶化。在方面中，有加重潜在疾病风险的患者是缺血性心脏病患者，在手术期间接受输血可能因输入活性氧和炎性生物分子而导致组织损伤增加。如本文所提供的，本发明的氧气减少储存的血液至少早在储存期的第二天开始提供降低的炎症因子水平。如本文所用，“加重的”是指预先存在的炎性病症的炎症增加。在本公开的方面中，患有严重反应的患者是患有由糖尿病、自身免疫疾病或创伤引起的潜在低度炎性病症的患者。

[0065] 本公开内容的方法提供并包括用于向患有慢性血管炎症的患者提供氧气减少储存的血液。不受任何科学理论的限制，慢性血管炎症是与几种退行性疾病相关的共病，例如镰状细胞病、血液癌症、糖尿病和心脏病。在这些促炎条件下，已经显示红细胞可以通过释放含有生物活性激酶和其他信号分子的膜微粒来启动或增殖促炎信号。这些微粒可以通过循环的单核细胞摄取，刺激TNF-α、IL-1β和IL-6的释放，此外，RBC分泌的微粒的摄取也促进单核细胞-内皮细胞粘附。见Awojoodu等人“Acid sphingomyelinase is activated in sickle cell erythrocytes and contributes to inflammatory microparticle generation in SCD,”Blood 124(12):1941-50(2014)(通过引用整体并入本文)。然而，通

过正常治疗范例或外科手术干预输注常规红细胞产品可进一步加重慢性炎症性疾病。此外,作为RBC储存或红斑病的后果而产生的磷脂酰丝氨酸(PS)-暴露的微粒可能是受体中炎症增加的原因。见Saas等人"Phosphatidylserine-expressing cell by-products in transfusion:A pro-inflammatory or an anti-inflammatory effect"Transfusion Clinique et Biologique 19(3):90-97(2012)(通过引用整体并入本文)。

[0066] 本公开内容的方法提供并包括用于向患有慢性炎性肠病的患者提供氧气减少储存的血液。患有慢性炎性肠病(例如溃疡性结肠炎和克罗恩病)的患者的特征在于慢性激活的肠道炎症,这是由于嗜中性粒细胞从循环环境到肠腔的募集升高的结果。见Nielsen等人"Activation of neutrophil chemotaxis by leukotriene B4 and 5-hydroxyeicosatetraenoic in chronic inflammatory bowel disease,"Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation 47(6):605-611(1987)(Nielsen等人(1987)(通过引用整体并入本文))。在募集时,中性粒细胞分泌炎性细胞因子和趋化因子,其促进额外免疫细胞的募集,进一步加剧炎症反应。不受理论的限制,IBD中嗜中性粒细胞的初始和持续激活和募集部分是羟基二十碳四烯酸(HETE)的结果。见Nielsen等人(1987)和Nielsen等人"Release of leukotriene B4 and 5-hydroxyeicosatetraenoic during phagocytosis of artificial immune complexes by peripheral neutrophils in chronic inflammatory bowel disease,"Clin.Exp.Immunol 65(2):465-471(1986)(通过引用整体并入本文)。如本公开所示,氧气减少储存的血液含有较低浓度的HETE酸(例如参见图4)。此外,氧气减少储存的血液具有降低的白三烯B4水平(例如参见图2),其已显示在患有溃疡性结肠炎的患者中升高。患有慢性IBD的患者,如溃疡性结肠炎和接受输入氧气减少储存血液的克罗恩病,HETE酸和白三烯B4的暴露减少,中性粒细胞的活化和募集减少进入循环环境,并可能减少肠壁继发炎症的风险。

[0067] 本公开内容的方法提供并包括用于向患有慢性阻塞性肺病(COPD)的患者提供氧气减少储存的血液。患有慢性阻塞性肺病(COPD)的人发展出持续的气道细菌定植(称为慢性定植)。见Monso等人"Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease.A study of stable and exacerbated outpatients using the protected specimen brush,"American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 152(4):1316-1320(1995),Crooks等人"Bronchial inflammation in acute bacterial exacerbations of chronic bronchitis:the role of leukotriene B4,"European Respiratory Journal 15(2):274-280(2000)(Crooks等人(2000)(通过引用整体并入本文))。这种慢性定植通过慢性气道炎症导致与COPD相关的发病率导致肺功能降低。研究表明,患有慢性细菌感染的COPD患者痰液中的白三烯B4水平明显较高(唾液和粘液的混合物在感染期间从呼吸道咳出),其是与原发性免疫细胞活化相关的有效促炎细胞因子。见Crooks等人(2000)。COPD的快速进展可能需要手术干预,需要输血给患者,本公开内容提供了相对于常规储存的血液,具有降低的白三烯B4水平(例如参见图2)的氧气减少储存的血液。本文提供的是在介入手术期间使用氧气减少储存的血液进行输血可以降低加剧肺阻塞和促进肺功能的风险。

[0068] 本公开内容的方法提供并包括用于向患有镰状细胞病的患者提供氧气减少储存的血液。血管闭塞事件的发展是导致镰状细胞病发病率和死亡率的主要原因,其原因是慢

性发炎的血管环境,其特征是炎性细胞因子如TNFα水平升高,以及循环白细胞(如中性粒细胞和单核细胞)数量增加。见Setty等人“Sickle red blood cells stimulate endothelial cell production of eicosanoids and diacylglycerol,”Journal of Laboratory and Clinical Medicine 128(3):313-321(1996);Lum等人“Inflammatory potential of neutrophils detected in sickle cell disease,”American Journal of Hematology 76(2):126-33(2004);Pathare等人“Cytokine profile of sickle cell disease in Oman,”American Journal of Hematology 77(4):323-8(2004);Finnegan等人“Adherent leukocytes capture sickle erythrocytes in an in vitro flow model of vaso-occlusion,”American Journal of Hematology82(4):266-75(2007);Montes等人“Sickle erythrocyte adherence to endothelium at low shear:Role of shear stress in propagation of vaso-occlusion,”American Journal of Hematology 70(3):216-27(2002)(通过引用整体并入本文)。另外,不受理论的限制,循环的嗜中性粒细胞由于暴露于羟基二十碳四烯酸(HETEs)酸以及白三烯B4而被活化。输血管理是治疗和解决镰状细胞病中血管闭塞性危象的常用治疗方法。本公开内容提供了,相对于常规储存的血液,具有降低水平的HETE酸和白三烯B4(例如参见图4和图2)的氧气减少储存的血液。通过减少患者对促免疫活化分子的暴露,输出氧气减少储存的血液可以更有效地解决血管危象,以及进一步防止后期危机的发展。

[0069] 本公开内容的方法提供并包括用于向患有地中海贫血的患者提供氧气减少储存的血液。主要是α-或β-地中海贫血的患者不能产生功能性血红蛋白分子,导致严重的贫血并且需要输注红细胞(RBC)。需要定期(即慢性)输血的结果,患有地中海贫血的人可能患有延迟溶血性输血反应(DHTR),其特征在于治疗性输血后血细胞比容的快速降低。在一个方面,DHTR可以作为对突然性红斑病的反应而起始,导致巨噬细胞和单核细胞快速除去循环的红细胞。

[0070] 不受理论的限制,认为一种触发红细胞生成的氧化损伤,这是传统红细胞储存的已知结果。见Bhavsar等人“Janus Kinase 3 is Expressed in Erythrocytes, Phosphorylated Upon Energy Depletion and Involved in the Regulation of Suicidal Erythrocyte Death,”Cellular Physiology and Biochemistry 27(5):547-556(2011)(通过引用整体并入本文)。减少氧气储存的血细胞具有优异的抗氧化保护作用,如增加的NADPH储库(例如参见图5、图6和图7)、半胱氨酸水平升高(例如参见图13)、GSH与GSSG的比例升高(例如参见图12)。

[0071] 此外,不受理论限制,当红细胞不再具有足够水平的ATP时也会促进红斑病,这也在常规储存期间发生。见Güirer等人“Arachidonic acid metabolites and colchicine in Behçet's disease(BD)”Prostaglandins,leukotrienes,and essential fatty acids 43(4):257-9(1991)(通过引用整体并入本文)。然而,氧气减少储存的血液已经改善了总体ATP水平(例如参见图16),并且通过磷酸戊糖途径维持糖酵解来改善代谢活性(例如参见图15)。

[0072] 对于α-或β-地中海贫血患者使用厌氧储存的血液制品进行慢性输血治疗可以降低由于氧化损伤的保护作用而产生DHTR的风险,以及细胞内能量(ATP)的优异保存,以及降低输血频率的另一个潜在好处。

[0073] 本公开内容的方法提供并包括向患有全身性炎症反应综合征(SIRS)的患者提供氧气减少储存的血液。如果满足以下两个标准，患者被认为患有全身炎症反应综合征(SIRS)：体温高于38℃或低于36℃，心率快于90次/分钟(BPM)，呼吸频率大于20次每分钟，动脉CO_2张力低于32mmHg，白细胞异常(高于12,000细胞/μL或低于4,000细胞/μL)。参见Lang,E.等人“Killing me softly-suicidal erythrocyte death,”The International Journal of Biochemistry&Cell Biology,44(8):1236-43(2012)以及Di Gennaro等人“Targeting leukotriene B4 in inflammation,”Expert opinion on therapeutic targets.18(1)79-93(2014)(通过引用整体并入本文)。SIRS可能由于感染因子如细菌感染、流感、感染性心内膜炎以及非感染性疾病，如严重烧伤、自身免疫性疾病、失血性休克、恶性血液病和化学暴露而发展。如果患者还接受输血，则由于血液单元内存在炎性生物分子和细胞因子，目前患有SIRS的患者可能使病情恶化。如本说明书所提供的，氧气减少储存的血液具有降低的炎症因子水平，例如羟基二十碳四烯酸(HETE)和白三烯B4(例如参见图2和图4)。因此，患有SIRS的患者可以提供氧气减少储存的血液的输入，其可以减少HETE酸和白三烯B4的暴露、减少循环中性粒细胞的活化和募集进入循环环境、并降低长时间器官系统损害的风险。

[0074] 另外，由于常规储存的血液含有可检测水平的促炎细胞因子和生物分子，因此输入常规储存的血液可导致SIRS的发展。使用具有显着减少的炎性生物分子的氧气减少储存的血液，在住院患者中从头开始SIRS的风险相当低。这是一个相当大的优势，因为先前的研究表明，与非SIRS患者相比，SIRS的发展导致约7天的死亡率更高。见Gürer,M.A.等人“Arachidonic acid metabolites and colchicine in Behçet's disease(BD),”Prostaglandins,leukotrienes,and essential fatty acids.43(4)257-259(1991)(通过引用整体并入本文)。

[0075] 本公开内容的方法提供并包括用于向患有Behcet病的患者提供氧气减少储存的血液。Behcet′s病，也称为Behcet综合征，是一种罕见的慢性自身炎症性疾病，起源不明。其表现被认为是由血管炎引起的，导致全身血管受损，并且其特征在于口腔或皮肤损伤、眼部炎症、关节炎和胃肠道病变。目前的研究表明，病毒、细菌、遗传和环境因素可能在Behcet病的发展中起作用，但没有确定具体原因，也没有发现任何诱因。由于慢性炎症，Behcet病患者的白三烯血清水平升高，白三烯是循环白细胞的有效激活剂，如neutorphils。见Lang.等人，“Oxidative Stress and Suicidal Erythrocyte Death,”Antioxidants Redox Signaling 21(1):138-153(2014)。如本公开所提供的，氧气减少储存的血液含有较低浓度的白三烯B4和HETE(例如参见图2和图4)。因此，接受输入氧气减少储存血液的Behcet病患者可减少HETE酸和白三烯B4的暴露、减少循环中性粒细胞的活化和募集进入循环环境，并可能降低与慢性全身性炎症相关的并发症和继发性疾病的风险。

[0076] 本公开内容的方法提供并包括向患有类风湿性关节炎的患者提供氧气减少储存的血液。类风湿性关节炎是一种慢性自身免疫性疾病，其特征在于手和脚的小关节。随着疾病的进展，患者的软骨和骨骼将在关节的滑膜空间中开始降解，其特征在于含有大量免疫活性细胞的增生性侵入性组织，例如T淋巴细胞、记忆B淋巴细胞和巨噬细胞。白三烯是炎性脂质，是白细胞中最有效的内源性趋化因子之一，但在类风湿性关节炎中向免疫细胞募集免疫细胞。见Wellen,K.E等人“Inflammation,stress,and diabetes,”The Journal of

clinical investigation.115(5):1111-1119(2005)(通过引用整体并入本文)。对于患有类风湿性关节炎的患者,由于在常规储存的血液单元内输注炎性生物分子和细胞因子的累积,输血可能加剧其状况。然而,如本公开中所提供的,氧气减少储存的血液具有较低浓度的炎症因子,例如白三烯B4和HETE(例如参见图2和图4)。因此,可以为患有类风湿性关节炎的患者提供氧气减少储存的血液的输入,其将避免暴露于强大的外源促炎分子,从而降低加重或恶化关节炎病症严重性的风险。

[0077] 本公开内容的方法提供并包括向患有烟雾吸入的患者提供氧气减少储存的血液。肺部和呼吸道的损伤是与火灾相关的主要死亡原因之一。肺损伤过程由烟雾中的气体和颗粒成分中的毒素激活,并由肺部炎症引起。这种炎症过程通过激活大量炎症级联反应和增加炎性细胞因子的血浆水平而变得自我延续。见Park,G.Y.等人"Prolonged airway and systemic inflammatory reactions after smoke inhalation,"Chest.123(2):475-480(2003)(通过引用整体并入本文)。此外,烟雾损伤导致显着的全身性异常损伤其他器官并加重烧伤过程并随后导致介质诱导的细胞损伤并进一步导致多系统器官衰竭。在严重创伤后,例如吸入烟雾,患者可能需要输血,然而,常规储存的血液中炎性分子的可测量的增加可能对患者结果和发病率产生负面影响。此外,代谢物水平的增加与红细胞储存小鼠模型中较差的输血后恢复相关(de Wolski等人"Metabolic pathways that correlate with post-transfusion circulation of stored murine red blood cells,"Haematologica,101(5):578-586(2016)(通过引用整体并入本文)。然而,使用氧气减少储存的血液可以引入降低水平的炎性分子,例如HETE和白三烯B4(例如参见图2和图4)。如本公开中所提供的,氧气减少储存的血液可用于防止烟雾吸入引起的升高的炎症反应的进一步恶化,并提供优异的患者结果和恢复。

[0078] 本公开内容的方法提供并包括降低需要多个血液单位(例如,多于4个)或大量输血(10个或更多个单位)的人类患者中的炎症反应风险的方法。在一个方面,所选择的患者需要大量输注氧气减少储存的血液减少或不会加重预先存在的炎症状态。在一个方面,需要多个单元或大量输血的创伤患者是预先存在疾病的患者,其预先处理低级慢性全身性炎症。在一个方面,人类患者患有糖尿病、Behcet病、类风湿性关节炎、COPD、吸入烟雾和动脉粥样硬化。具有这些病症的患者在需要RBC输注的事件之前可以具有现有的引发的炎性白细胞。在已经引发免疫系统的输注红细胞中输注HETE、白三烯和血栓素会增加多器官功能障碍(MODS)、SIRS和TRALI等疾病的风险。此外,较高的输血量按比例增加剂量并夸大其效果。因此,可以向患者提供氧气减少储存的RBC作为输血,减少HETE、白三烯和血栓素的输注并降低发病概率。

[0079] 如本文所用,具有增加的炎症反应风险的患者是具有一种或多种病症的患者,所述病症由于炎症因子水平的增加而恶化。在方面中,患有加重现有炎症反应的风险增加的患者是患有慢性血管炎症的患者。在方面中,具有增加的炎症反应的风险增加的患者是患有慢性炎性肠病的患者。还提供并包括具有潜在病症组合的患者。在某些方面,本公开的方法为具有多于一种潜在病症的患者提供了更大的益处,所述病症由具有增加的炎症因子水平的输血血液加重。

[0080] 本公开内容提供并包括在向具有炎症反应风险的患者输入氧气减少储存的血液后不良事件的减少。在方面中,接受输入氧气减少储存的血液的患者具有降低的延迟溶血

反应的风险。

[0081] 本公开内容提供并包括在向具有降低的输血相关急性肺损伤(TRALI)风险的炎症反应风险的患者输注氧气减少储存的血液后减少不良事件。TRALI临床上表现为呼吸急促(呼吸困难)和呼吸急促(呼吸异常快速)。另外,患者也可出现发烧、紫绀和低血压。患者的临床检查可以显示肺噼啪声(患者呼吸时的听觉“噼啪声”),与充血性心力衰竭的迹象无关。胸部X射线可以揭示与心力衰竭无关的双侧肺水肿的证据,以及可发展为急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的双侧斑片状浸润。本方法通过至少呈现降低水平的炎症因子来降低风险,包括但不限于白三烯、8-异前列烷、血栓素、羟基二十碳四烯酸(HETE)及其组合。在某些方面,本方法包括降低或改善(未增加)细胞因子水平。如所讨论的,与常规储存的血液相比,储存期的增加提供了本公开方法的进一步改进。

[0082] 本公开提供并包括通过向具有炎症反应风险的患者提供氧气减少储存的血液来减少输血后的不良事件。在方面中,本发明的方法提供全身炎症反应综合征(SIRS)的发生率降低。在方面中,如果满足以下两个标准,患者被认为患有SIRS:体温高于38℃或低于36℃,心率快于90BPM,呼吸频率大于20次呼吸每分钟,动脉CO_2张力低于32mmHg,异常白细胞(高于12,000细胞/μL或低于4,000细胞/μL)。参见Lang等人“Killing me softly-suicidal erythrocyte death,”International journal of biochemistry&cell biology 44(8):1236-43(2012)(通过引用整体并入本文)。SIRS可能由于感染因子如细菌感染、流感、感染性心内膜炎以及非感染性疾病,如严重烧伤、自身免疫性疾病、失血性休克、恶性血液病和化学暴露而发展。如果患者还接受输血,则由于血液单元内存在炎性生物分子和细胞因子,目前患有SIRS的患者可能使病情恶化。如本公开中所提供的,可以提供具有降低的炎症因子水平的氧气减少储存的血液,例如羟基二十碳四烯酸(HETE)和白三烯B4(例如参见图2和图4)。因此,接受输入氧气减少储存的血液的SIRS患者将减少HETE和白三烯B4的暴露,减少循环中性粒细胞的活化和募集进入循环环境,并可能降低长期器官系统受损的风险。

[0083] 本公开内容提供并包括在向具有降低的多器官功能障碍综合征(MODS)风险的炎症反应风险的患者输注氧气减少储存的血液后减少不良事件。如本文所用,MODS是指涉及两个或更多个未参与导致患者住院治疗的原发性损伤的器官系统的潜在可逆生理紊乱的发展。临床上,MODS基于由6个关键器官系统进行的生理测量来评分,较高的分数表明器官功能水平较低。见表2。

[0084] 表2:多器官功能障碍(MOD)评分

[0085]

器官系统	0	1	2	3	4
呼吸[a]					
(PO_2/FOP_2 比率)	>300	226-300	151-225	76-150	≤75
肾[b]					
（血清肌酐）	≤100	101-200	201-350	351-500	>500
肝[c]					
（血清胆红素）	≤20	21-60	61-120	121-240	>240
心血管[d]					
(R/P 比率)	≤10.0	10.1-15.0	15.1-20.0	20.1-30.0	>30.0
血液[e]					
（血小板计数）	>120	81-120	51-80	21-50	≤20
神经[f]					

[0086]

出自 John C. Marshall, M.D., The multiple organ dysfunction syndrome from Surgical Treatment: Evidence-Based and Problem Oriented (Holzheimer and Mannic ed., W. Zuckschwerdt Verlag GmbH. 2001)。网址为 www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6868/。

[0087] 虽然没有特定的病因，但严重的慢性炎症与重症监护病房患者的MODS发展有关。全身性炎症可以由感染因子如细菌感染、流感、感染性心内膜炎以及非感染性来源(例如严重烧伤、自身免疫性疾病、失血性休克、恶性血液病和化学暴露)而发展。与SIRS一样，患有全身炎症的MODS患者可以通过减少HETE酸和白三烯B4的暴露、减少循环中性粒细胞的活化和募集进入循环环境、降低长期器官系统损害的风险，从而有益于输入氧气减少储存的血液。

[0088] 如Fenton或Haber-Weiss反应所述，氧化应激与氧和金属催化剂的反应产生的各

种疾病状态有关。一种普遍的氧化应激源是我们体内氧气和金属的结合，通常是铁，它们可以产生羟基自由基和超氧化物，然后产生一系列氧化产物。为了抵消由氧化引起的压力和损伤，身体有一系列控制措施。例如，还原硫醇如半胱氨酸或谷胱甘肽的存在提供了减少氧化化合物的可逆方法。这些硫醇的氧化形式被酶促还原以维持对氧化损伤的防御。在极端压力或慢性氧化应激条件下，身体再生硫醇的能力受到损害。

[0089] 地中海贫血和镰状细胞病是慢性疾病，在此期间患者由于红细胞中血红蛋白的不稳定性而暴露于氧化损伤。降解的血红蛋白允许铁与氧气自由反应，产生所述的活性物质。导致抗氧化剂库的降解显着，例如，据报道，β-地中海贫血患者的谷胱甘肽水平仅为正常受试者水平的35％。见Kalpravidh等人“Glutathione Redox System in β-Thalassemia/Hb E Patients,”The Scientific World Journal 2013,article ID 543973(2013)(通过引用整体并入本文)。慢性输血是患有镰状细胞病和地中海贫血的患者的主要治疗，并且如本公开所示，在红细胞的冷藏过程中，抗氧化应激的防御降低。氧化应激是血管病变的主要原因，其与中风、肺低血压和腿部溃疡有关。

[0090] 本公开内容的方法提供并包括用于向患有缺血性心脏病的患者提供氧气减少储存的血液。缺血性心脏病的特征在于血管变窄，为心肌提供血液、氧气和营养。随着疾病的进展，心肌可能开始死亡，导致心脏功能丧失，最终导致心肌梗塞。手术干预，通过血管成形术和支架置入，或通过血管旁路移植重建血流。在这两种情况下，血流返回到损伤部位可导致缺血/再灌注(I/R)损伤，导致新的心肌损伤。具体而言，I/R损伤可导致细胞暴露于活性氧物质，其可刺激细胞自噬。见Xia,Y.等人“Activation of volume-sensitive Cl-channel mediates autophagy-related cell death in myocardial ischaemia/reperfusion injury,”Oncotarget(2016)以及Yousefi,B等人“The role of leukotrienes in immunopathogenesis of rheumatoid arthritis,”Modern rheumatology/the Japan Rheumatism Association 24(2):225-235(2014)(通过引用整体并入本文)。不受理论的限制，认为常规存储的红细胞在储存期间经历氧化损伤，这可能对经历外科手术干预的缺血性心脏病患者造成显着的健康风险。输入具有氧化损伤的红细胞会加剧I/R损伤，导致心脏组织的进一步损伤。提供氧气减少储存的血液可以提供优异的抗氧化保护，如增加的NADPH储库(例如参见图5、图6和图7)、半胱氨酸水平升高(例如参见图13)、GSH与GSSG的比例升高(例如参见图12)所证明的。结果，这些红细胞对已经衰弱或恶化的心脏功能的患者诱导I/R损伤的风险降低。

[0091] 本公开内容的方法提供并包括用于向患有糖尿病的患者提供氧气减少储存的血液。由于长期高血糖症，患有糖尿病的患者存在长期血管并发症的严重风险。已显示活性氧物质由于葡萄糖自动氧化、多元醇途径活化、前列腺素合成和蛋白质糖化而产生，导致维持血管稳态的细胞内调节途径的失调。见Baynes等人“Role of oxidative stress in diabetic complications:a new perspective on an old paradigm,”Diabetes.48(1):1-9(1991)(通过引用整体并入本文)。如果不治疗，高血糖可导致下肢组织的永久性损伤和坏死，通常需要截肢。由于氧化应激和自由基之间的联系，氧化剂在常规储存的血液中的积累可加剧与糖尿病相关的合并症。提供氧气减少储存的血液细胞可以提供优异的抗氧化保护，例如，通过增加NADPH储库(例如参见图5、图6和图7)、提高的半胱氨酸水平(例如参见图13)、提高GSH与GSSG的比例(例如参见图12)，见Yoshida,等人“Enhancing Uniformity and

Overall Quality of Red Cell Concentrate with Anaerobic Storage,"Blood Transfusion,15(2):172-181(2017);and Reisz 2016(通过引用整体并入本文))。结果,这些红细胞将避免在患有糖尿病的患者中引入或加重氧化损伤,从而降低在输血后加重糖尿病合并症的风险。

[0092] 本公开内容提供并包括一种用于减少需要输血的患者的氧化应激的方法,该方法包括为需要输血的患者(其输血介导的氧化应激风险增加)提供氧气减少储存的血液的输入,其中所述氧气减少储存的血液在储存储存期之前具有20%或更低的初始氧饱和度,其中所述患者具有增加的氧化应激风险。

[0093] 储存氧气减少储存的血液导致更高的半胱氨酸、GSH、NADH、NADPH和更高比例的GSH/GSSG、NADPH/NADP和NADH/NAD(参见表1)。这些结果表明,氧气减少储存的血液具有较低的氧化/还原电位,因此在输血后提供更高的抗氧化能力。因此,本公开的氧气减少储存的血液提供了优异的抗氧化损伤的防御能力。在慢性输血的镰状细胞病或地中海贫血患者中,用氧气减少储存的血液替代常规储存的血液将避免来自常规储存的红细胞的额外氧化应激并提供额外的抗氧化损伤防御。

[0094] 本公开提供了通过向患者输送氧气减少储存的血液来减少氧化应激的方法,其进一步包括降低水平的炎症因子。

[0095] 本公开的方法提供并包括识别处于风险中的患者,当患者需要输血并为所识别的患者提供在储存期间初始氧饱和度为20%或更低的氧气减少储存的血液时,可以减少氧化应激。如本文所用,提供氧气减少储存的血液包括如段落[00128]中提供的全血,和如段落[00129]和[00130]中提供的红细胞。

[0096] 在储存储存期之前具有20%或更低的初始氧饱和度的氧气减少储存的血液可以制备成具有改善的抗氧化应力的抗性(例如参见表1和实施例)。如本公开所提供的,从初始饱和水平20%开始,某些改进是明显的。如本文所用,本公开中提供的对所选患者的改进和益处与储存相同储存期的非氧气减少的储存血液相关(例如,相比较)。重要的是,随着储存期的增加以及储存前的初始氧饱和度降低,这些差异变得更加明显。

[0097] 在本公开的方面中,氧气减少储存的血液适用于降低氧化应激的风险,包括氧气减少储存的血液,其中含有一种或多种还原的高铁血红蛋白、残留H93时β-血红蛋白的氧化减少、减少的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐(NADPH)储存量增加、增加GSH、增加ATP、增加DPG、增加NADPH储库、降低PIP与PIP3比例、增加亚甲基THF、增加谷氨酸、增加GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比例(GSH/GSSG比率)、尿酸盐增加或半胱氨酸增加。

[0098] 在本公开的方面中,如段落[0015]和[0081]中所述,氧气减少储存的血液具有20%或更低的初始氧饱和度,并且储存至少2天,具有减少的高铁血红蛋白。在方面中,本公开的氧气减少储存的血液是在残留H93处具有降低的β-血红蛋白氧化的氧气减少储存的血液。见Wither2016和Reisz2016.(通过引用整体并入本文)。在方面中,本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的还原烟酰胺嘌呤二磷酸磷酸盐(NADPH)储库的氧气减少储存的血液。在方面中,本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH的氧气减少储存的血液。在方面中,本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP的氧气减少储存的血液。在方面中,本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP和DPG的氧气减少储存的血液。在其他方面中,本发明的氧气减少储存的血液还包括增加的NADPH储库,以及GSH、ATP和DPG的增

加。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有降低的PIP与PIP3比率的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的亚甲基THF的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的谷氨酸的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比率(GSH/GSSG比)的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的尿酸盐的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的半胱氨酸的氧气减少储存的血液。

[0099] 在本公开的方面中，氧气减少储存的血液具有20％或更低的初始氧饱和度，如段落[0015]和[0081]中所确定的，并且储存至少2天，具有减少的高铁血红蛋白、减少的残留H93的血红蛋白β的氧化、减少的烟酰胺酰嘌呤二核苷酸磷酸+氢(NADPH)储量增加、增加GSH、增加ATP、增加DPG、增加NADPH储量、降低PIP与PIP3比例、增加亚甲基THF、增加谷氨酸、GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比值增加(GSH/GSSG比值)、尿酸盐增加、半胱氨酸增加。

[0100] 在本公开的方面中，如段落[0015]和[0081]中所述，氧气减少储存的血液具有10％或更低的初始氧饱和度，并且储存至少2天，具有降低的高铁血红蛋白。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是在残留H93处具有降低的β-血红蛋白氧化的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的还原烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐+氢(NADPH)储量的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP和DPG的氧气减少储存的血液。在其他方面中，本公开的氧气减少储存的血液还包括增加的NADPH储库，以及增加的GSH、ATP和DPG。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有降低的PIP与PIP3比率的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的亚甲基THF的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的谷氨酸的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比率(GSH/GSSG比)的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的尿酸盐的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的半胱氨酸的氧气减少储存的血液。

[0101] 在本公开的方面中，如段落[0015]和[0081]中所述，具有5％或更低的初始氧饱和度并且储存至少2天的氧气减少储存的血液已降低高铁血红蛋白。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是在残留H93处具有降低的β-血红蛋白氧化的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是在甘油醛-3-磷酸脱氢酶中具有降低的Cys152二氧化作用的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有还原烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐+氢(NADPH)的储量增加的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP和DPG的氧气减少储存的血液。在本公开的其他方面中，氧气减少储存的血液还包括增加的NADPH储库，以及增加的GSH、ATP和DPG。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有降低的PIP与PIP3比率的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的亚甲基THF的氧气减少储存的血液。在方面中，本公

开的氧气减少储存的血液是具有增加的谷氨酸的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比率(GSH/GSSG比)的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的尿酸盐的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的半胱氨酸的氧气减少储存的血液。

[0102] 在本公开的方面中，如段落[0015]和[0081]中所确定的，具有3％或更低的初始氧饱和度并且储存至少2天的氧气减少储存的血液具有降低的高铁血红蛋白。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是在甘油醛-3-磷酸脱氢酶中具有降低的Cys152二氧化作用的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是在残留H93处具有降低的β-血红蛋白氧化的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的还原烟酰胺嘌呤二磷酸磷酸盐(NADPH)储量的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP和DPG的氧气减少储存的血液。在其它方面中，本发明的氧气减少储存的血液还包括增加的NADPH储库，以及增加的GSH、ATP和DPG。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有降低的PIP与PIP3比率的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的亚甲基THF的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的谷氨酸的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比率(GSH/GSSG比)的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的尿酸盐的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的半胱氨酸的氧气减少储存的血液。

[0103] 本公开的方法提供并包括识别处于风险中的患者，当患者需要输血并为所识别的患者提供在储存期间初始氧饱和度为20％或更低的氧气减少储存的血液时，可以减少氧化应激。方法还提供了提供氧气减少储存的血液，其在储存用于储存期之前具有20％或更低的初始氧饱和度，用于当患者需要输血时输送到具有氧化应激风险的患者。还包括包括输入氧气减少储存的血液的方法，所述血液在储存期间具有20％或更低的初始氧饱和度，用于具有氧化应激风险的患者。如所讨论的，随着储存期的增加，相对于使用常规方法储存的血液，具有增加的氧化损伤风险的患者的改善和益处增加。因此，提供初始氧饱和度为20％或更低的氧气减少储存的血液的方法包括提供初始氧饱和度为10％或更低的氧气减少储存的血液。提供初始氧饱和度为20％或更低的氧气减少储存的血液的方法还包括提供初始氧饱和度为5％或更低的氧气减少储存的血液。提供初始氧饱和度为20％或更低的氧气减少储存的血液的方法还包括提供初始氧饱和度为3％或更低的氧气减少储存的血液。

[0104] 如本公开所提供的，需要具有增加的氧化应激风险的输血的患者包括需要四个或更多单位血液的创伤患者，需要十个或更多单位血液的创伤患者，患有镰状细胞疾病的患者，患有地中海贫血的患者及其组合。在方面中，该方法提供了用于输入氧气减少储存的血液用于输入到具有增加的输血介导的氧化应激风险的需要输血的患者，其中所述氧气减少储存的血液在储存期间初始氧饱和度为20％或更低，其中所述患者患有镰状细胞贫血症。在方面中，该方法提供了用于输入氧气减少储存的血液用于输入到具有增加的输血介导的

氧化应激风险的需要输血的患者，其中所述氧气减少储存的血液在储存期间初始氧饱和度为20％或更低，其中所述患者患有地中海贫血症。在方面中，地中海贫血是α-地中海贫血。在另外的方面中，地中海贫血是β-地中海贫血。本公开还提供了降低需要四个或更多单位血液的创伤患者的氧化应激风险的方法。在其他方面中，需要降低氧化应激风险的患者是需要十个或更多血液单位的创伤患者。

[0105] 本公开还包括和提供的是减少需要多次输血的镰状细胞和地中海贫血患者中的氧化应激的方法。在方面中，为镰状细胞患者提供一个单位的氧气减少储存的血液，其在储存前具有20％或更低的初始氧饱和度，并且当血红蛋白浓度低于5g/dL时具有额外的氧气减少储存的血液单位。在另外的方面中，当通过经颅多普勒超声(TCD)测定大脑中动脉的峰值中心线流速大于200cm/秒时，镰状细胞患者被提供额外的氧气减少储存的血液单位。在其他方面中，当镰状血红蛋白水平上升超过30％时，向镰状细胞患者提供额外的血液单位。在更进一步的方面，镰状细胞患者接受氧气减少储存的血液的周期性输血，以将镰状血红蛋白的水平维持在总血红蛋白的30％以下。在方面中，需要减少氧气压力的镰状细胞患者每30天就会接受一次输血。如本文所用，大约每30天意味着25至35天。

[0106] 本公开内容提供并包括向患有急性发作的镰状细胞患者提供氧气减少储存的血液以减轻症状并提供减少的氧化应激。在方面中，镰状细胞病人正在经历血管闭塞性危象。

[0107] 本公开内容提供并包括向需要手术的镰状细胞患者提供氧气减少储存的血液。在一个方面，镰状细胞患者接受一次或多次术前输血以减少围手术期缺氧、低灌注或酸中毒。在方面中，镰状细胞患者接受两次或多次术前输血。在另外的方面中，镰状细胞患者接受三次或更多次术前输血。在某些方面，镰状细胞患者接受四次或更多次术前输血。

[0108] 由于手术期间麻醉的影响，镰状细胞病患者发生血管闭塞性危象的风险增加，这是由于呼吸频率降低引起的血流量减少(灌注不足)、酸中毒和缺氧引起的。为了减轻这些并发症，患有镰状细胞病的人可以接受围手术期的红细胞输血。然而，常规储存的红细胞具有可测量水平的炎性生物分子和细胞因子，已显示其促进血管病变和血管闭塞。因此，围手术期输注常规红细胞可导致疼痛危象和器官或组织损伤的风险增加。相对于常规储存的血液，氧气减少储存的血液具有降低的HETE酸和白三烯B4水平(图2和图4)。输入氧气减少储存的血液可降低手术期间或手术后发生输血相关血管闭塞事件的风险。

[0109] 另外，已经表明，当输入镰状细胞循环环境时，常规血液有通过红斑病快速清除的风险，导致延迟溶血性输血反应(DHTR)的严重并发症。对于从手术中恢复的患者，与DHTR相关的血细胞比容的快速下降可导致严重的，甚至危及生命的并发症。氧气减少储存的血液通过更稳定的膜(图18)和更高的细胞内ATP(图15和图8)降低了DHTR的风险。对于患有镰状细胞病的患者，在围手术期输血中使用氧气减少血液可降低DHTR相关并发症的风险，并改善患者的总体结果和恢复时间。

[0110] 本公开内容提供并包括一种用于降低需要输血的血红蛋白病患者中的不良事件风险的方法，该方法包括提供氧气减少储存的血液用于输入需要输血的血红蛋白病患者，其中氧气减少储存的血液在储存期储存之前具有20％或更低的初始氧饱和度，其中所述患者具有增加的不良事件风险。在方面中，本公开的方法通过提供具有较高的磷脂酰肌醇4-磷酸酯与磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸酯的比例的血液治疗镰状细胞病或地中海贫血，减少延迟溶血性输血反应。在另外的方面中，本发明的方法提供了一种改进的红细胞膜，其中存

储后的膜是更多的生理膜。

[0111] 在方面中，需要输血的血红蛋白病患者是镰状细胞病人。在方面中，本公开的方法提供通过提供具有较高的磷脂酰肌醇4-磷酸酯与磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸酯的比例的血液提供减少输血后延迟溶血性输血反应以治疗镰状细胞病或地中海贫血。在方面中，本公开内容提供并包括一种用于通过提供在冷藏过程中保持更生理的膜的血液来减少输血以治疗镰状细胞病或地中海贫血的延迟溶血性输血反应的方法。如本文所用，更生理的膜是指具有以下一种或多种特征的膜：膜沿细胞膜的Ca2+离子通道活性降低；防止膜超极化，如通过氧化应激激活的通道损失氯离子所示；通过膜和细胞骨架氧化激活的钙通道减少钙离子流入；一种保持磷脂酰丝氨酸沿细胞膜胞质表面不对称分布的膜。

[0112] 氧气减少储存的血液通过各种机制提供更生理的膜。例如，Ca^{2+}离子通道的活性降低由高PIP:PIP3比率表示，并且较低的细胞内Ca^{2+}可以使用荧光探针例如Fura-2(Thermo-FisherScientific)使用流式细胞仪直接测量。见Mahmud等人“Suicidal erythrocyte death,eryptosis,as a novel mechanism in heart failure-associated anaemia,”Cardiovasc Res 98(1):37-46(2013)(通过引用整体并入本文)。如本公开中所提供的，氧气减少储存的血液可以提供低氧化应激，如高NADPH、NADP和GSH比率所证明的，导致膜超极化减少。氧气减少储存的血液通过提供降低的钙离子通量进一步提供降低的脱水和保留的可变形性，其中氧化导致钙离子通道的活化。通过激活JAK3激酶促进细胞膜的加扰，JAK3激酶由于细胞内的能量耗尽(ATP损失)而被磷酸化。通过刺激PPP和EMP途径证明，氧气减少储存的血液保留了高ATP产量。膜加扰可以通过磷脂酰丝氨酸表达来表征，其可以通过用荧光膜联蛋白-V标记细胞膜并用流式细胞术或显微镜定量来测量。见Yoshida等人2008，supra。JAK3激酶活性可通过蛋白质印迹分析，Luminex技术和本领域熟知的其他方法测量。见Chang等人“Mammalian MAP kinase signaling cascades,”Nature 410(6824):37-40(2001)(通过引用整体并入本文)。

[0113] 本公开的方法提供并包括用于减少输血以治疗镰状细胞病或地中海贫血的延迟溶血性输血反应的方法，其中所述氧气减少储存的血液包含较少的预先麻醉的生物标志物。如本文所用，预先麻醉生物标志物具有以下特征：

[0114] 一种膜，其沿着细胞膜的Ca2+离子通道活性降低(由高PIP:PIP3比率证明，并且可以用荧光离子孔直接测量)；

[0115] 通过氧化应激激活的通道失去氯离子所定义的非超极化膜(氧气减少储存的血液具有低氧化应力，如高NADPH、NADP和GSH比率所证明)；

[0116] 一种保持磷脂酰丝氨酸沿细胞膜胞质表面不对称分布的膜；没有增加细胞内钙(Ca^{2+})离子浓度的细胞；没有升高的磷酸化JAK3激酶水平的细胞；没有活化的半胱天冬酶如caspase-3的细胞(通过本领域已知的方法测量)；和维持AMP激活的激酶(AMPKα1)和cGMp依赖性蛋白激酶I型(cGKI)活性的细胞(使用本领域技术人员已知的标准方法测定)。

[0117] 输注红细胞是镰状细胞病和地中海贫血患者的主要治疗方法之一。然而，这些血液疾病特有的高氧化环境引发钙离子快速流入RBC，导致细胞膜的改变，导致细胞溶质生物标记物重新分布到质膜的细胞外小叶。最终，细胞膜的钙依赖性重组导致循环红细胞通过eryptosis快速清除。见Lang等人“Triggers,Inhibitors,Mechanisms,and Significance of Eryptosis:The Suicidal Erythrocyte Death,”BioMed Research International,

vol.2015,Article ID 513518,16pages,2015;Lang等人“Killing me softly-suicidal erythrocyte death,”Int J Biochem Cell Biol.44(8):1236-43(2012);Lang等人“Oxidative Stress and Suicidal Erythrocyte Death,”Antioxidants Amp Redox Signal.21(1):138-153(2014);Gatidis等人“Hemin-induced suicidal erythrocyte death,”Ann Hematol.88(8):721-726(2009)(通过引用整体并入本文)。此外,反复输注红细胞对患者发生延迟溶血性输血反应具有显着风险,其特征在于输血后2-5天内的快速和极端贫血。由于细胞内能量(ATP)诱导激酶信号传导途径的丧失(JAK3激活,AMPKα1和cGKI抑制),由于捐赠细胞中的eryptosis的诱导可以触发DHTR。见Lang等人“Killing me softly-suicidal erythrocyte death,”Int J Biochem Cell Biol 44(8):1236-43(2012)(通过引用整体并入本文)。

[0118] 不受特定理论的限制,已证明储存氧气减少的血液可增加磷脂酰肌醇4-磷酸酯(PIP)的细胞浓度,并防止磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸酯(PIP3)的形成。结果,沿着红细胞膜的钙通道保持无活性,从而防止或减少钙流入细胞溶质。另外,氧气减少储存的血液中的氧还原也激活Lands循环,以维持细胞膜的细胞外和胞质小叶之间的生物标记的不对称分布。在镰状细胞病的输血治疗中使用氧气减少储存的血液将保留红细胞膜的天然构型,从而防止促红细胞生物标记物的细胞外表达,从而允许输注的RBC在镰状细胞循环环境中存活。最终,这可以使临床医生能够降低每次输血的治疗剂量和/或降低患者需要医疗干预的频率。已经显示氧气减少的红细胞的储存在储存期间建立了更高的红细胞能量状态。减少氧气,并在储存期间随后维持低氧,促进更高的EMP通量,通过戊糖磷酸途径更大的ATP从头合成,以及保持GAPDH酶从而维持稳态代谢调节。最终,产生和使用氧气减少储存的血液用于镰状细胞病和地中海贫血的治疗性输血减轻了DHTR的发展,从而允许更安全、更有效的治疗。

[0119] 镰状细胞病是一种基因突变,主要折磨着撒哈拉以南非洲、中东和东南亚血统的人。输注红细胞是镰状细胞病(SCD)患者急性和慢性血管闭塞症状的主要治疗方法之一。然而,由于每个受体治疗性输血所需的红细胞的频率和总体积(每次访问约15-20个单位),治疗性输血的接受者经常发生针对捐献的血细胞的同种免疫,导致治疗效果降低或严重、全身并发症。因此,对于用于SCD输血的血液,与需要输血的传统临床场所相比,需要更广泛的抗原类型匹配。因此,最相容的捐赠者通常来自与患者相同的伦理背景;不幸的是,与高度相容的捐赠者相同的种族群体也具有最高的葡萄糖-6-磷酸氢化酶(G6PD)缺乏的频率,这与相对较差的储存相关,导致需要在血液用于治疗之前丢弃血液。见Cappellini等人“Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency,”Lancet 371(9606):64-74(2008),Francis等人“Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in transfusion medicine:the unknown risks,”Vox Sang 105(4):271-82(2013);Tzounakas,等人“Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficient subjects may be better‘storers’than donors of red blood cells,”Free Radic Biol Med,96:152-165(2016)(通过引用整体并入本文)。不幸的是,作为供体资格筛选的一部分,没有确定的G6PD活性测试方案。

[0120] G6PD活性对于维持高能分子(例如NADPH)是必需的,所述高能分子促进天然抗氧化途径(即,谷胱甘肽介导的过氧化氢还原),其对于维持红细胞中血红蛋白分子的生物活性是必需的;该酶的活性丧失或降低导致储存中的过早溶血和输血后细胞保留不良。然而,

氧气减少储存的血液导致NADPH的细胞内储库，以及谷胱甘肽(GSH)还原形式的浓度增加。此外，氧气减少储存的血液增加了亚甲基四氢叶酸，这可以促进整体NADPH的产生。血液的低氧储存可以提供来自G6PD缺乏供体的血液的更好的存活性，并因此可用性。这将增加接受治疗性输血的镰状细胞病患者的血液供应，特别是在血液供应较为有限的农村地区。

[0121] 在本公开的方面中，氧气减少储存的血液适用于降低血红蛋白病的风险，包括氧气减少储存的血液，其具有减少的高铁血红蛋白、减少的残留H93中β-血红蛋白的氧化、增加减少烟酰胺腺嘌呤二核苷磷酸盐(NADPH)的储存量、增加GSH、增加ATP、增加DPG、增加NADPH储库、降低PIP与PIP3比率、增加亚甲基THF、增加谷氨酸、增加GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比例(GSH/GSSG比率)、尿酸增加、半胱氨酸增加。

[0122] 主要是α-或β-地中海贫血的患者不能产生功能性血红蛋白分子，导致严重的贫血并且需要输注红细胞(RBC)。需要定期(即慢性)输血的结果，患有地中海贫血的人可能患有延迟溶血性输血反应(DHTR)，其特征在于治疗性输血后血细胞比容的快速降低。不受理论的限制，DHTR可以作为对突然的eryptosis的反应而启动，导致巨噬细胞和单核细胞快速去除循环的红细胞。

[0123] 在不受理论限制的情况下，红斑病的主要诱因之一是累积的氧化损伤，这是传统红细胞储存的已知结果。见Bhavsar等人“Janus Kinase 3 is Expressed in Erythrocytes,Phosphorylated Upon Energy Depletion and Involved in the Regulation of Suicidal Erythrocyte Death,”Cellular Physiology and Biochemistry 27(5):547-556(2011)(通过引用整体并入本文)。氧气减少储存的血液具有优异的抗氧化保护作用，如增加的NADPH储库(例如参见图5、图6和图7)、半胱氨酸水平升高(例如参见图13)、GSH与GSSG的比例升高(例如参见图12)。

[0124] 此外，当红细胞不再具有足够水平的ATP时，也促进了红斑病，这也在常规储存期间发生。Gürer等人“Arachidonic acid metabolites and colchicine in Behçet's disease(BD)”Prostaglandins,leukotrienes,and essential fatty acids 43(4):257-9(1999)(通过引用整体并入本文)。然而，氧气减少的血液改善了总体ATP水平(例如参见图16)，并且通过磷酸戊糖途径维持糖酵解改善了代谢活性(例如参见图15)。

[0125] 对于患有α-或β-地中海贫血症的人使用厌氧血液产品进行慢性输血治疗，由于增强的氧化损伤保护作用、以及细胞内能量(ATP)的优异保存、以及降低输血频率的潜在益处，DHTR的发生风险降低。

[0126] 在本公开的方面中，氧气减少储存的血液具有20％或更低的初始氧饱和度，如段落[0017]、[0093]、[0099]和[00106]中所述，并储存至少2天，具有减少的高铁血红蛋白。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是在残留H93处具有降低的β-血红蛋白氧化的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的还原烟酰胺嘌呤二核苷酸磷酸盐(NADPH)储库的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP和DPG的氧气减少储存的血液。在其他方面中，本发明的氧气减少储存的血液还包括增加的NADPH储库，以及GSH、ATP和DPG的增加。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有降低的PIP与PIP3比率的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的

血液是具有增加的亚甲基THF的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的谷氨酸的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比率(GSH/GSSG比)的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的尿酸盐的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的半胱氨酸的氧气减少储存的血液。

[0127] 在本公开的方面中，氧气减少储存的血液具有20％或更低的初始氧饱和度，如段落[0017]、[0093]、[0099]和[00106]中所确定的，并且存储至少2天，具有减少的高铁血红蛋白、减少H93残留时β-血红蛋白的氧化、减少烟酰胺嘌呤二核苷酸磷酸盐(NADPH)的储量增加、增加GSH、增加ATP、增加DPG、增加NADPH储库、降低PIP与PIP3比例、增加亚甲基THF、增加谷氨酸、增加GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比例(GSH/GSSG比率)、增加尿酸盐和增加半胱氨酸。

[0128] 在本公开的方面中，氧气减少储存的血液具有10％或更低的初始氧饱和度，如段落[0017]，[0093]，[0099]和[00106]中所确定的，并且存储至少2天，具有减少的高铁血红蛋白。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是在残留H93处具有降低的β-血红蛋白氧化的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的还原烟酰胺嘌呤二核苷酸磷酸盐(NADPH)储库的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP和DPG的氧气减少储存的血液。在其它方面中，本发明的氧气减少储存的血液还包括增加的NADPH储库，以及增加的GSH、ATP和DPG。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有降低的PIP与PIP3比率的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的亚甲基THF的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的谷氨酸的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比率(GSH/GSSG比)的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的尿酸盐的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的半胱氨酸的氧气减少储存的血液。

[0129] 在本公开的方面中，氧气减少储存的血液具有5％或更低的初始氧饱和度，如第[0017]、[0093]、[0099]和[00106]段所述，并储存至少2天，具有减少的高铁血红蛋白。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是在残留H93处具有降低的β-血红蛋白氧化的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是在甘油醛-3-磷酸脱氢酶中具有降低的Cys152二氧化作用的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的还原烟酰胺嘌呤二核苷酸磷酸盐(NADPH)储库的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP和DPG的氧气减少储存的血液。在其它方面中，本发明的氧气减少储存的血液还包括增加的NADPH储库，以及增加的GSH、ATP和DPG。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有降低的PIP与PIP3比率的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的亚甲基THF的氧气减少储存的血

液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的谷氨酸的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比率(GSH/GSSG比)的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的尿酸盐的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的半胱氨酸的氧气减少储存的血液。

[0130] 在本公开的方面中，氧气减少储存的血液具有3％或更低的初始氧饱和度，如段落[0017]、[0093]、[0099]和[00106]中所述，并且储存至少2天，具有减少的高铁血红蛋白。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是在甘油醛-3-磷酸脱氢酶中具有降低的Cys152二氧化作用的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是在残留H93处具有降低的β-血红蛋白氧化的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的还原烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐(NADPH)储库的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的ATP和DPG的氧气减少储存的血液。在其它方面中，本发明的氧气减少储存的血液还包括增加的NADPH储库，以及增加的GSH、ATP和DPG。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有降低的PIP与PIP3比率的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的亚甲基THF的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的谷氨酸的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比率(GSH/GSSG比)的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的尿酸盐的氧气减少储存的血液。在方面中，本公开的氧气减少储存的血液是具有增加的半胱氨酸的氧气减少储存的血液。

[0131] 当血液供应中断然后重新建立时，发生缺血再灌注损伤，并且是死亡率和发病率的重要原因。涉及血液供应中断的手术，例如心脏手术、肾移植、肝切除术或结肠切除术都使患者处于缺血再灌注损伤的风险中。期望在旁路或p手术期间提供用于输血的改进方法。在这里，我们提供了一种通过提供氧气减少储存的血液来降低患者的风险和损害的方法，该血液具有比在常规储存的血液中发现的更低水平的炎症因子。因此，除了改善的ATP、2，3-DPG和改善的可变形性之外，本说明书的氧气减少储存的血液提供了降低再灌注期间组织损伤或损伤风险的意想不到的益处。

[0132] 不受理论限制，认为在缺血期间细胞代谢、离子浓度和膜组成的变化使细胞容易受到活性氧的损害，活性氧随着血液的重新流动响应于氧气突然恢复而大量产生。见Pell等人“Moving Forwards by Blocking Back-Flow:The Yin and Yang of MI Therapy,”Circ Res 118(5):898-906(2016)，Hausenloy等人“Myocardial ischemia-reperfusion injury:a neglected therapeutic target,”J Clin Invest 123(1):92-100(2013)(通过引用整体并入本文)。最终，氧化损伤导致细胞死亡和器官功能障碍，这是重新建立氧合血流的直接结果。进一步认为，除了氧化损伤之外，再灌注还引发炎症反应，除其他作用外，其可导致高凝固性和进一步的细胞损伤。

[0133] 经历缺血/再灌注损伤的患者可呈现以下临床表现及其组合：

[0134] 一旦移除障碍物，例如在手术期间释放止血剂，血液流动(称为“无再流”)就不会

通过血管；

[0135] 心肌顿抑是一种短暂的无法使心肌有效收缩和恢复正常的心输出量(在心脏手术患者中)；

[0136] 恢复流向心肌的血流后，心动过速、心室颤动或加速的室性心律发展(心脏手术患者)；

[0137] 肠道蠕动受损、营养吸收增加、肠道通透性增加、门静脉和全身循环细菌感染(胃肠外科患者)；

[0138] 缺血再灌注损伤的常见后果是多器官功能障碍综合征(MODS)和其他远端器官损伤的发展；最常见的系统是导致呼吸衰竭的肺系统，其次是肝、肾、GI、心肌和CNS功能障碍。

[0139] 与氧气减少储存的血液相比，常规储存的血液，即使在短短两天后血栓素B2的水平也增加(例如参见图3)。从第7天开始，具有高水平氧的血液开始表现出白三烯B4的增加水平(例如参见图2)。细胞外水平的羟基二十碳四烯酸(HETE)在储存的血液中比氧气减少储存的血液上升早，并且以更高的速率和更高的水平增加。相对于氧气减少储存的血液中的HETE水平，细胞HETE水平最早提前两天。在进一步储存期间，相对于氧气减少储存的血液，细胞HETE水平保持较高并且增加。如美国临时申请号62/163,269所示，氧气减少储存的血液具有降低的BRMsRANTES、嗜酸细胞活化趋化因子1、无细胞血红蛋白和异前列素的水平。与常规储存的血液相比，氧气减少储存的血液通常具有降低的炎症因子水平。因此，常规储存的含有促炎化合物的血液可能是死亡和不良事件的重大风险。

[0140] 除了血液储存早期的促炎化合物水平的变化之外，与氧气减少储存的血液相比，常规储存的红细胞越来越不能抵抗氧化损伤。鉴于在储存期间先前未被认可的血液变化，在缺血事件后再灌注期间输入常规储存的血液可能由于半胱氨酸、GSH、NADH、NADPH水平降低而导致氧化应激。相反，氧气减少储存的血液维持较高水平的半胱氨酸、GSH、NADH、NADPH，并且氧气减少储存的血液有望帮助防止氧化损伤。

[0141] 在本公开的方面中，需要输血的患者是需要大量输血、反复输血或慢性输血的患者。

[0142] 在本公开的方面中，需要输血的患者患有镰状细胞病，血红蛋白浓度低于5g/dL。在另外的方面中，需要输血的患者患有镰状细胞病，并且通过经颅多普勒超声(TCD)测定，大脑中动脉的峰值中心线流速大于200cm/秒。在另外的方面中，需要输血的患者患有镰状细胞病并接受输血以将镰状血红蛋白水平降低至体内总血红蛋白的30％以下。在另外的方面中，需要输血的患者患有镰状细胞病并正在经历急性胸部综合征。在另外的方面中，需要输血的患者患有镰状细胞病并正在经历血管闭塞性危象。在其他方面中，需要输血的患者患有镰状细胞病并且需要手术，其中所述患者接受一次或多次术前输血以减少围手术期缺氧、灌注不足和酸中毒。

[0143] 在本公开的方面中，需要输血的患者患有地中海贫血，血红蛋白浓度低于5g/dL。

[0144] 在另外的方面中，需要输血的患者是手术患者。在另外的方面中，需要输血的患者具有全身性炎症反应综合征(SIRS)。在另外的方面中，需要输血的患者患有慢性血管炎症。在其他方面中，需要输血的患者患有糖尿病。在其他方面中，患有慢性血管炎症的需要输血的患者患有糖尿病。

[0145] 在本公开的方面中，需要输血的患者具有炎症、内皮病、对内皮细胞壁的粘附、高

凝状态、血管收缩、补体系统激活、灌注受损、感染或免疫调节。

[0146] 如本文所用，术语“血液”是指全血、白细胞减少的RBC、血小板减少的RBC、以及白细胞和血小板减少的RBC。术语血液还包括包装的红细胞、血小板减少的包装的红细胞、白细胞减少的包装的红细胞、以及白细胞和血小板减少的包装的红细胞。血液温度可根据收集过程的阶段而变化，从收集时和收集点的正常体温37℃开始，但一旦血液离开患者体内，迅速降低至约30℃，然后在未处理的情况下在约6小时内达到室温，并最终在约4℃至6℃之间冷藏。

[0147] 如本文所用，“血液产品”包括分离的血小板、血浆或白细胞。

[0148] 如本文所用，“全血”包括白细胞(WBC)、悬浮在血浆中的血小板，并且包括电解质、激素、维生素、抗体等。在全血中，白细胞通常存在于4.5-11.0×10^9的范围内，正常的RBC范围男性为4.6-6.2×10^{12}/L，女性为4.2-5.4×10^{12}/L。正常血细胞比容或包装细胞体积百分比对于男性为约40-54％，对于女性为约38-47％。男性和女性的血小板计数通常为150-450×10^9/L。从血液供体收集全血，并且通常与抗凝血剂组合。收集的全血最初在约37℃并在收集期间和收集后不久快速冷却至约30℃，但在约6小时内缓慢冷却至环境温度。全血可以在收集时根据本公开的方法加工，从30-37℃开始，或在室温(通常约25℃)下加工。

[0149] 如本文所用，“红细胞”(RBC)、“储存的红细胞”、“氧气减少储存的红细胞”和“氧气和二氧化碳减少储存的红细胞”、包括存在于全血中的RBC、白细胞减少红细胞、血小板减少红细胞、白细胞和血小板减少红细胞和包装红细胞(pRBCs)。体内人体红细胞处于动态状态。红细胞含有血红蛋白，这种含铁蛋白质可以在整个身体内携带氧气，并为红血液提供颜色。由红细胞组成的血容量百分比称为血细胞比容。如本文所用，除非另有限制，否则RBC还包括包装的红细胞(pRBC)。使用本领域公知的离心技术从全血制备包装的红细胞。如本文所用，除非另有说明，否则pRBC的血细胞比容为约70％。如本文所用，氧还原的储存的RBC可包括氧和二氧化碳还原的储存的RBC。

[0150] 如本文所用，“储存的血液”包括氧气减少或氧气和二氧化碳减少的血液储存在1至6℃。在方面中，储存的血液包括储存的红细胞。如本文所用，“储存的红细胞”包括氧气减少或氧气和二氧化碳减少的红细胞储存在1至6℃。在方面中，储存的红细胞包括全血中存在的红细胞(RBC)。在另外的方面中，储存的红细胞包括存在于白细胞减少的全血中的RBC。在另外的方面中，储存的红细胞包括存在于白细胞减少的RBC中的红细胞(RBC)。在其他方面中，储存的红细胞包括存在于血小板中的红细胞(RBC)还原的RBC。在另一方面，储存的红细胞包括存在于白细胞减少和血小板减少的RBC中的红细胞(RBC)。

[0151] 在本公开的方面中，氧还原的储存的红细胞可以储存至少2天的时间。在另外的方面中，氧气减少储存的红细胞可以储存至少7天的时间。在另外的方面中，储存氧气的红细胞可以储存至少14天。在另外的方面中，氧还原的储存红细胞可以储存至少21天。在另外的方面中，氧还原的储存的红细胞可以储存至少28天。在另外的方面中，氧气减少储存的红细胞可以储存长达42天。

[0152] 如本文所用，血液的“单位”为约450-500ml，包括抗凝血剂。合适的抗凝血剂包括CPD、CPDA1、ACD和ACD-A。

[0153] 用于该方法的合适血液包括具有抗凝血剂的氧气减少储存的血液。在本公开的方面中，氧气还原的红细胞储存长达6周，以产生氧气减少储存的血液。在另外的方面中，氧气

减少储存的血液通常还包含添加剂溶液。根据本发明的合适的添加剂溶液包括AS-1、AS-3(Nutricel®)、AS-5、SAGM、PAGG-SM、PAGG-GM、MAP、AS-7、ESOL-5、EAS61、OFAS1、OFAS3及其组合。在方面中，在组分分离时添加添加剂溶液。在方面中，添加剂溶液是AS-1。在另外的方面中，添加剂溶液是AS-3。在其他方面中，添加剂解决方案是SAGM。

[0154] 在本公开的方面中，氧气减少储存的血液和氧气和二氧化碳减少储存的血液的初始氧饱和度为40％或更低。在另外的方面中，氧气减少储存的血液具有20％或更低的初始氧饱和度。在另外的方面中，氧气减少储存的血液具有10％或更低的初始氧饱和度。在另外的方面中，氧气减少储存的血液具有5％或更低的初始氧饱和度。在另外的方面中，氧气减少储存的血液具有3％或更低的初始氧饱和度。

[0155] 在本公开的方面中，氧气减少储存的血液具有40％或更低的初始氧饱和度并且储存至少2天。在方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为40％或更低，储存至少4天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为20％或更低，储存至少7天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液具有40％或更低的初始氧饱和度，储存至少14天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为40％或更低，储存至少21天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为40％或更低，储存至少28天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为40％或更低，储存至少35天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为40％或更低，储存42天。

[0156] 在本公开的方面中，氧气减少储存的血液具有20％或更低的初始氧饱和度并且储存至少2天。在方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为20％或更低，储存至少4天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为20％或更低，储存至少7天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为20％或更低，储存至少14天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为20％或更低，储存至少21天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为20％或更低，储存至少28天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为20％或更低，储存至少35天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为20％或更低，储存42天。

[0157] 在本公开的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为10％或更低，储存至少2天。在方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为10％或更低，储存至少4天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为10％或更低，储存至少7天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为10％或更低，储存至少14天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为10％或更低，储存至少21天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为10％或更低，储存至少28天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为10％或更低，储存至少35天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为20％或更低，储存42天。

[0158] 在本公开的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为5％或更低，储存至少2天。在方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为5％或更低，储存至少4天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为5％或更低，储存至少7天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为5％或更低，储存至少14天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为5％或更低，储存至少21天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为5％或更低，储存至少28天。在另外的方面中，氧气减少储

存的血液的初始氧饱和度为5％或更低，储存至少35天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为5％或更低，储存42天。

[0159] 在本公开的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为3％或更低，储存至少2天。在方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为20％或更低，储存至少4天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为3％或更低，储存至少7天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为3％或更低，储存至少14天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为3％或更低，储存至少21天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为3％或更低，储存至少28天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为3％或更低，储存至少35天。在另外的方面中，氧气减少储存的血液的初始氧饱和度为3％或更低，储存至少42天。

[0160] 本公开内容提供并包括一种用于改善需要输血的患者的能量代谢的方法，该方法包括提供氧气减少储存的血液用于输血到具有增加的输血介导的氧化应激风险的需要输血的患者，其中所述氧气减少储存的血液在储存期储存之前具有20％或更低的初始氧饱和度，其中所述患者具有增加的氧化应激风险。

[0161] 在本公开的方面中，氧气减少储存的血液，其在储存期间具有20％或更低的初始氧饱和度，提供给需要输血的患者，减少了单位的总数量。在一个方面，待输血的单位总数减少至少1、至少2、至少3、至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、至少10。另一方面，待输入的单位总数减少1至2、2至4、4至6、6至8以及8至10。

[0162] 本公开内容提供并且包括降低不良输血事件风险的方法，所述不良输血事件包括但不限于患者和需要输血的炎症反应，包括提供，与储存相同储存期的非氧气减少的储存血液相比，具有降低的至少一种炎性因子的水平的氧气减少储存的血液，其中所述患者的炎症反应风险增加。

[0163] 本公开内容提供并包括一种降低危重患者的败血症并发症风险的方法，这是由于氧控制的RBC的渗透性和机械抗性的改善，这反过来又降低了体内输血后溶血的可能性并随后在脓毒性受体的铁超负荷和非转铁蛋白结合铁(NTBI)负荷方面提供益处。

[0164] 如本文所用，术语“更大”或“增加”意指氧气减少和厌氧储存的血液的测量值，与其他等效处理的常氧或高氧常规储存血液的测量值相比，至少大1标准偏差，每个比较测量条件的样本量至少为5。

[0165] 如本文所用，术语“减少”或“降低”意指与其他等效处理的常氧或高氧常规储存的血液RBC的测量值相比，氧减少和厌氧储存的血液的测量值至少低1个标准偏差，每个比较测量条件的样本量至少为5。

[0166] 如本文所用，术语“约”是指±10％。

[0167] 如本文所用，术语“小于”是指较小的量和大于零的量。

[0168] 术语“包括”、“包含”、“含有”、“具有”及其组合意味着“包括但不限于”。

[0169] 术语“由...组成”表示“包括但限于”。

[0170] 术语“基本上由.....组成”是指组合物、方法或结构可包括其他成分、步骤和/或部分，但仅在附加的成分、步骤和/或部分不会实质上改变要求保护的组合物、方法或结构的基本和新颖特征。

[0171] 如本文所用，单数形式“一”、“一个”和“该”包括复数指代，除非上下文另有明确说

明。例如，术语“化合物”或“至少一种化合物”可包括多种化合物，包括其混合物。

[0172] 贯穿本申请，本公开的各个方面可以以范围格式呈现。应当理解，范围形式的描述仅仅是为了方便和简洁，并且不应该被解释为对本公开范围的不可弯曲的限制。因此，应该认为范围的描述具体公开了所有可能的子范围以及该范围内的各个数值。例如，应该认为诸如“从1到6”的范围的描述具有特别公开的子范围，例如“从1到3”、“从1到4”、“从1到5”、“从2到4”、“从2到6”、“从3到6”等，以及该范围内的个别数字，例如，1、2、3、4、5和6。无论范围的广度如何，这都适用。

[0173] 无论何时在本文中指示数值范围，其意图包括在所指示的范围内的任何引用的数字(分数或积分)。短语“范围/范围在”第一指示数字和第二指示数字和“范围/范围从”第一指示数字“到”第二指示数字在本文中可互换使用并且意味着包括第一和第二指示数字以及它们之间的所有分数和整数数字。

[0174] 如本文所用，术语“方法”是指用于实现给定任务的方式、手段、技术和程序，包括但不限于为需要输血的患者提供具有初始血氧饱和度为20％或更低并储存至少2天的氧气减少储存的血液，如[0048]-[0051]、[0086]-[0091]和[00111]-[00115]中所提供的。

[0175] 如本文所用，术语“等同”是指与其他等效处理的常氧或高氧常规储存血液的测量值相比，具有20、10、5和＜3％SO_2的氧气减少储存的血液的测量值在彼此的1个标准偏差内，每个比较测量条件的样本量至少为4。

[0176] 在方面中，本发明提供以下实施例：

[0177] 实施方案1：降低人类患者和需要输血的炎症反应风险的方法，包括：提供氧气减少储存的血液用于具有增加的炎症反应风险的输入需要输血的人类患者，其中所述氧气减少的储存血液在储存一段时间之前具有20％或更低的初始氧饱和度，并且与储存相同储存期的非氧气减少的储存血液相比，所述氧气减少的储存血液具有至少一种炎性因子的降低水平。

[0178] 实施方案2：实施方案1的方法，其中所述需要输血的人类患者选自：需要组织灌注旁路的手术患者，患有慢性血管炎症的患者、患有慢性炎性肠病的患者、患有慢性阻塞性肺病的患者(COPD)、患有镰状细胞病的患者、患有地中海贫血的患者、患有器官衰竭的患者、患有全身性炎症反应综合征(SIRS)的患者、患有糖尿病的患者、患有Bechet病的患者、患有类风湿性关节炎的患者、患有烟雾吸入的患者和患有其组合的患者。

[0179] 实施方案3：实施方案2的方法，其中所述需要输血的人类患者具有降低延迟溶血性输血反应的风险、缺血再灌注损伤、高凝、输血相关的急性肺损伤(TRALI)、全身炎症反应综合征(SIRS)、多重器官功能障碍综合征(MODS)或其组合。

[0180] 实施方案4：实施方案2的方法，其中所述炎症反应加重选自慢性血管炎症、慢性炎症性肠病及其组合的炎症反应。

[0181] 实施方案5：实施方案1的方法，其中所述至少一种炎性因子选自由以下组成的组：白三烯、8-异前列烷、血栓素、羟基天冬氨酸(HETE)和其组合。

[0182] 实施方案6：实施方案5的方法，进一步包含选自RANTES、嗜酸细胞活化趋化因子1或可溶性CD40配体(SCD40L)的炎性细胞因子。

[0183] 实施方案7：实施方案1的方法，其中所述储存期至少为2天、7天、14天、21天、28天或更长。

[0184] 实施方案8:实施方案1的方法,其中所述需要输血的人类患者是需要多次输血的患者。

[0185] 实施方案9:实施方案5的方法,其中所述储存期为2天并且氧气减少储存的血液包含:当所述初始氧饱和度为5%或更低时血栓素B2水平降低、谷胱甘肽(GSH)水平升高、高铁血红蛋白的百分比降低、ATP水平增加、2,3-二磷酸甘油酸酯(DPG)水平增加,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0186] 实施方案10:实施方案9的方法,其中所述储存期为至少7天并且氧气减少储存的血液还包含:磷脂酰肌醇4-磷酸酯与磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸酯的比例增加,其中所述氧气减少储存的血液中所述增加的比例是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0187] 实施方案11:实施方案10的方法,其中所述储存期为至少14天并且氧气减少储存的血液还包含:白三烯B4水平降低、当所述初始氧饱和度为10%或更低时羟基二十碳四烯酸(HETE)的水平降低、亚甲基四氢叶酸水平增加、谷氨酸水平升高,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0188] 实施方案12:实施方案11的方法,其中所述储存期为至少21天并且氧气减少储存的血液还包含:当所述氧饱和度在5%和10%之间时,GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比率(GSH/GSSG比率)更高、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)的库增加、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸+氢(NADH)的库增加、当所述初始氧饱和度约为5%时,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)中Cys152的二氧化水平降低,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0189] 实施方案13:实施方案12的方法,其中所述储存期为至少28天并且氧气减少储存的血液还包含:NADPH的水平增加、NADPH/$NADP^+$比率增加、半胱氨酸水平升高,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0190] 实施方案14:实施方案1的方法,还包括输注至少一个单位的所述氧气减少储存的血液。

[0191] 实施方案15:实施方案1的方法,其中所述初始氧饱和度为10%或更低、5%或更低、或3%或更低。

[0192] 实施方案16:一种减少需要输血的患者的氧化应激的方法,包括,提供氧气减少储存的血液用于输入需要输血的患者,该患者具有增加的输血介导的氧化应激的风险,其中所述氧气减少储存的血液在储存期间初始氧饱和度为20%或更低,所述患者的氧化应激风险增加。

[0193] 实施方案17:实施方案16的方法,其中所述具有增加的氧化应激风险的需要输血的人类患者选自由需要四个或更多单位血液的创伤患者、需要十个或更多单位血液的创伤患者、患有镰状细胞病的患者、患有地中海贫血的患者及其组合。

[0194] 实施方案18:实施方案16的方法,其中所述氧化应激的减少是氧化化合物的减少、氧化保护化合物的水平增加、以及它们的组合。

[0195] 实施方案19:实施方案16的方法,其中所述储存期为2天,并且氧气减少储存的血

液包括:当所述初始氧饱和度为5%或更低时血栓素B2水平降低、增加烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐(NADP)的储存量、增加减少的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐(NADPH)的储存量、谷胱甘肽(GSH)水平升高、高铁血红蛋白的百分比降低、ATP水平增加、2,3-二磷酸甘油酸酯(DPG)水平增加,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0196] 实施方案20:实施方案17的方法,其中所述储存期为至少7天并且氧气减少储存的血液还包含:磷脂酰肌醇4-磷酸酯与磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸酯的比例增加,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0197] 实施方案21:实施方案20的方法,其中所述储存期为至少14天并且氧气减少储存的血液还包含:白三烯B4水平降低,当所述初始氧饱和度为10%或更低时羟基二十碳四烯酸(HETE)的水平降低、亚甲基四氢叶酸水平增加、谷氨酸水平升高,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0198] 实施方案22:实施方案21的方法,其中所述储存期为至少21天并且氧气减少储存的血液还包含:当所述初始氧饱和度在5%和10%之间时,GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比率(GSH/GSSG比率)更高、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)的库增加、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸+氢(NADH)的库增加,当所述初始氧饱和度约为5%时,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)中Cys152的二氧化水平降低,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0199] 实施方案23:实施方案22的方法,其中所述储存期为至少28天并且氧气减少储存的血液还包含:NADPH的水平增加、NADPH/$NADP^+$的比率增加、半胱氨酸水平升高、尿酸盐水平升高,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0200] 实施方案24:实施方案23的方法,其中所述储存期至少42天,并且氧气减少储存的血液还包含:残留H93时β-血红蛋白的氧化水平降低,其中所述氧气减少储存的血液的所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0201] 实施方案25:实施方案16的方法,还包括输注至少一个单位的所述氧气减少储存的血液。

[0202] 实施方案26:实施方案16的方法,其中所述初始氧饱和度为10%或更低、5%或更低、或3%或更低。

[0203] 实施方案27:实施方案16的方法,其中所述需要输血的人类患者是需要大量输血或慢性输血的患者。

[0204] 实施方案28:实施方案17的方法,其中所述储存期为至少14天、21天、28days或更长。

[0205] 实施方案29:实施方案17的方法,其中所述需要输血的人类患者患有镰状细胞病(血红蛋白浓度低于5g/dL)和地中海贫血(血红蛋白浓度低于7g/dL)。

[0206] 实施方案30:实施方案29的方法,其中所述人类患者通过经颅多普勒超声(TCD)测定,镰状细胞病和大脑中动脉的峰值中心线流速大于200厘米/秒。

[0207] 实施方案31:实施方案29的方法,其中所述人类患者患有镰状细胞病并接受输血

以将镰状血红蛋白水平降低至体内总血红蛋白的30％以下。

[0208] 实施方案32:实施方案29的方法,其中所述人类患者患有镰状细胞病,大约每三十天接受一次输血。

[0209] 实施方案33:实施方案29的方法,其中所述人类患者患有镰状细胞病,正在经历急性胸部综合症。

[0210] 实施方案34:实施方案29的方法,其中所述人类患者患有镰状细胞病并正在经历血管闭塞性危象。

[0211] 实施方案35的方法,其中所述人类患者患有镰状细胞病并且需要手术,其中所述患者接受一次或多次术前输血以减少围手术期缺氧、灌注不足或酸中毒。

[0212] 实施方案36:一种降低需要输血的血红蛋白病患者中不良事件风险的方法,包括:提供氧气减少储存的血液用于输入需要输血的血红蛋白病患者,其中所述氧气减少储存的血液在储存期间初始氧饱和度为20％或更低,其中所述患者发生不良事件的风险增加。

[0213] 实施方案37:实施方案36的方法,其中所述需要输血的血红蛋白病患者是镰状细胞病人。

[0214] 实施方案38:实施方案36的方法,其中所述减少的不良事件选自:eryptosis、延迟溶血、输血反应、红血不对称缺陷、严重贫血、血管闭塞性危象减少、围手术期缺氧减少、围手术期低灌注减少、围手术期酸中毒减少、网状细胞减少症及其组合。

[0215] 实施方案39:实施方案37的方法,其中所述需要输血的血红蛋白病患者是血红蛋白浓度低于5g/dL的镰状细胞患者。

[0216] 实施方案40:实施方案37的方法,其中所述血红蛋白病患者患有镰状细胞病,并且通过经颅多普勒超声(TCD)测定,大脑中动脉的峰值中心线流速大于200cm/秒。

[0217] 实施方案41:实施方案38的方法,其中为所述镰状细胞患者进一步提供氧气减少储存的血液输入一次或多次,以使总镰刀血红蛋白浓度低于总血红蛋白浓度的30％。

[0218] 实施方案42:实施方案37的方法,其中所述镰状细胞病人正在经历急性胸部综合症。

[0219] 实施方案43:实施方案37的方法,其中所述镰状细胞病人正在经历血管闭塞性危象。

[0220] 实施方案44:实施方案38的方法,其中所述提供氧气减少储存的血液的输入包括提供慢性输血治疗,其中所述输血每三周提供一次,或者当血红蛋白浓度降至5g/dL以下时。

[0221] 实施方案45:实施方案36的方法,其中所述需要输血的血红蛋白病患者是需要输血的地中海贫血患者。

[0222] 实施方案46:实施方案45的方法,其中需要输血的地中海贫血患者是血红蛋白浓度低于7g/dL的地中海贫血患者。

[0223] 实施方案47:实施方案45的方法,所述提供氧气减少储存的血液的输入包括提供慢性输血治疗,其中所述输血每两周或当血红蛋白浓度降至7g/dL以下时提供。

[0224] 实施方案48:实施方案37的方法,其中镰状细胞病人需要做手术,其中所述患者接受一次或多次术前输血,以减少围手术期缺氧、灌注不足和酸中毒。

[0225] 实施方案49:实施方案36的方法,其中所述不良事件是延迟溶血性输血反应,并且

所述需要输血的血红蛋白病患者是镰状细胞患者。

[0226] 实施方案50:实施方案36的方法,其中所述不良事件是网状细胞减少症。

[0227] 实施方案51:实施方案36的方法,其中所述不良事件发生在1至10天之间,随后提供氧气减少储存的血液输入。

[0228] 实施方案52:实施方案50的方法,其中所述不良事件是严重贫血。

[0229] 实施方案53:实施方案36的方法,其中所述储存期为2天,并且氧气减少储存的血液包括:当所述初始氧饱和度为5%或更低时血栓素B2水平降低、增加烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐(NADP)的储量、增加减少的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐(NADPH)的储量、谷胱甘肽(GSH)水平升高、高铁血红蛋白的百分比降低、ATP水平增加、2,3-二磷酸甘油酸酯(DPG)水平增加,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0230] 实施方案54:实施方案48的方法,其中所述储存期为至少7天并且氧气减少储存的血液还包含:磷脂酰肌醇4-磷酸酯与磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸酯的比例增加,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0231] 实施方案55:实施方案54的方法,其中所述储存期为至少14天并且氧气减少储存的血液还包含:白三烯B4水平降低、当所述初始氧饱和度为10%或更低时羟基二十碳四烯酸(HETE)的水平降低、亚甲基四氢叶酸水平增加、谷氨酸水平升高,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0232] 实施方案56:实施方案55的方法,其中所述储存期为至少21天并且氧气减少储存的血液还包含:当所述初始氧饱和度在5%和10%之间时,GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比率(GSH/GSSG比率)更高,烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)的库增加、NADH储量增加,当所述初始氧饱和度约为5%时,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)中Cys152的二氧化水平降低,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0233] 实施方案57:实施方案56的方法,其中所述储存期为至少28天并且氧气减少储存的血液还包含:NADPH的水平增加、NADPH/$NADP^+$的比率提高、半胱氨酸水平升高、尿酸盐水平升高,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0234] 实施方案58:实施方案57的方法,其中所述储存期至少42天,并且氧气减少储存的血液还包含:残留H93时β-血红蛋白的氧化水平降低,其中所述氧气减少储存的血液的所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0235] 实施方案59:实施方案36的方法,还包括输注至少一个单位的所述氧气减少储存的血液。

[0236] 实施方案60:实施方案36的方法,其中所述初始氧饱和度为10%或更低、5%或更低、或3%或更低。

[0237] 实施方案61:实施方案36的方法,其中所述需要输血的血红蛋白病患者是需要大量输血或慢性输血的患者。

[0238] 实施方案62:实施方案36的方法,其中所述储存期为至少14天、21天、28天或更长。

[0239] 实施方案63:一种减少需要输血的患者的心脏、肾脏和胃肠缺血再灌注损伤的方法,包括:为需要输血的患者提供在储存期间初始氧饱和度为20%或更低的氧气减少储存的血液的输入,并且具有增加的心脏、肾和胃肠缺血再灌注损伤的风险。

[0240] 实施方案64:实施方案63的方法,其中所述需要输血的患者是选自心脏手术患者、肾移植患者、肝切除患者或结肠切除术患者的患者。

[0241] 实施方案65:实施方案63的方法,其中所述减少再灌注损伤是降低高凝血性、细胞损伤或氧化损伤。

[0242] 实施方案66:实施方案63的方法,其中所述储存期至少2天,并且所述氧气减少储存的血液具有,当所述初始氧饱和度为5%或更低时血栓素B2水平降低、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐(NADP)的储量增加、减少的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐(NADPH)的储量增加、谷胱甘肽(GSH)水平升高、高铁血红蛋白的百分比降低、ATP水平增加、2,3-二磷酸甘油酸酯(DPG)水平增加,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0243] 实施方案67:实施方案64的方法,其中所述储存期为至少14天并且氧气减少储存的血液还包含:白三烯B4水平降低,当所述初始氧饱和度为10%或更低时羟基二十碳四烯酸(HETE)的水平降低,亚甲基四氢叶酸水平增加、谷氨酸水平升高。

[0244] 实施方案68:实施方案67的方法,其中所述储存期为至少21天并且氧气减少储存的血液还包含:当所述初始氧饱和度在5%和10%之间时,GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比率(GSH/GSSG比率)更高、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)的储量增加、NADH的储量增加,当所述初始氧饱和度约为5%时,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)中Cys152的二氧化水平降低,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0245] 实施方案69:实施方案68的方法,其中所述储存期为至少28天并且氧气减少储存的血液还包含:NADPH的水平增加、NADPH/$NADP^+$比率提高、半胱氨酸水平升高、尿酸盐水平升高,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0246] 实施方案70:实施方案69的方法,其中所述储存期至少42天,并且氧气减少储存的血液还包含:残留H93时β-血红蛋白的氧化水平降低,其中所述氧气减少储存的血液的所述增加或所述减少是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0247] 实施方案71:实施方案70的方法,还包括输注至少一个单位的所述氧气减少储存的血液。

[0248] 实施方案72:实施方案63的方法,其中所述初始氧饱和度为10%或更低、5%或更低、或3%或更低。

[0249] 实施方案73:实施方案63的方法,其中所述需要输血的人类患者是需要大量输血或慢性输血的患者。

[0250] 实施方案74:一种减少需要输血的患者的延迟溶血性输血反应的方法,包括:提供在储存期间初始氧饱和度为20%或更低的氧气减少储存的血液,其中所述患者的溶血性输血反应延迟风险增加。

[0251] 实施方案75:实施方案74的方法,其中所述需要输血的患者是选自镰状细胞患者

或地中海贫血患者、接受大量输血的创伤患者和接受慢性输血的患者的患者。

[0252] 实施方案76:实施方案74的方法,其中所述储存期为至少7天,并且所述氧气减少储存的血液具有谷胱甘肽(GSH)水平升高、ATP水平增加、磷脂酰肌醇4-磷酸酯与磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸酯的比例增加,其中所述氧气减少储存的血液的增加是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0253] 实施方案77:实施方案76的方法,其中所述储存期为至少14天并且氧气减少储存的血液还包含:当所述初始氧饱和度为10%或更低时羟基二十碳四烯酸(HETE)的水平降低,其中所述氧气减少储存的血液的增加是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0254] 实施方案78:实施方案77的方法,其中所述储存期为至少21天并且氧气减少储存的血液还包含:当所述初始氧饱和度在5%和10%之间时,GSH与谷胱甘肽二硫化物(GSSG)(GSH/GSSG比)的比例更高,和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸+氢(NADH)的库增加,其中所述氧气减少储存的血液的增加是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0255] 实施方案79:实施方案78的方法,其中所述储存期为至少28天并且氧气减少储存的血液还包含:NADPH的水平增加、半胱氨酸水平升高,其中所述氧气减少储存的血液的增加是相对于储存相同储存期的非氧气减少的储存血液来说的。

[0256] 实施方案80:实施方案74的方法,其中需要输血的患者是患有镰状细胞病或地中海贫血的患者。

[0257] 虽然已经参考特定实施方案描述了本公开,但是本领域技术人员将理解,在不脱离本公开的范围的情况下,可以进行各种改变并且可以用等同物替换其元件。另外,在不脱离本公开的范围的情况下,可以进行许多修改以使特定情况或材料适应本公开的教导。

[0258] 因此,本公开不限于作为实施本公开的预期的最佳模式而公开的特定实施方案,相反,本公开将包括落入所附权利要求的范围和精神内的所有实施方案。

实施例

[0259] 实施例1:血液收集和样品制备

[0260] 通过单采血液成分法从健康供体中收集总共多达6个双红细胞(2RBC)单位,白细胞减少并储存在CPD2/AS-3中。如表1中所述,将2RBC单元合并并分成六个高氧、含氧量正常或不同水平的缺氧2RBC样品。通过将收集袋连接到Sorin D100膜式氧合器(Sorin Group,Arvada,CO)来处理待还原的每个2RBC单元(样品3至6),并以700ml/分钟的流速泵送95%N_2和5%CO_2气体的混合物,以实现预存储%SO_2,同时保持pCO_2～30mmHg(37℃)。氧气减少的单元在厌氧条件下储存在罐中,并且在N_2填充的厌氧手套箱中进行取样以及RBC和上清液的分离。对于高氧单位(样品2),无菌添加计算的O_2气体体积以达到90-98%的SO_2。高氧(样品2)和对照(样品1)单元储存在环境空气中。所有单位在4℃下储存6周,并在第0天、第2天、第7天、第14天、第21天、第28天、第35天和第42天取样。如图1所示,缺氧单位的%SO_2继续减少,高温单位在储存42天内保持不变。

[0261] 在第1天、第21天和第42天,进行细胞计数、HCT、FHgB、ATP、2,3-DPG分析。处理RBC和上清液,如前所述在D'Alessandro,A等人Transfusion,55(6),1155-1168,并通过UHPLC-MS(Vanquish,Q Exactive-Thermo Fisher,San Jose,CA和Bremen,Germany)分析。通过

Maven(Nemkov,T.等人,Amino Acids 2015;47(11):2345-2357)(通过引用整体并入本文),针对内标标准库确定代谢物分配和同位素分布。通过监测重标记的标准混合物和xenometabolite 5-氟尿嘧啶(2.5μM)来评估技术再现性(CV)。针对重标准加标(Cambridge Isotope Laboratories)进行绝对定量。

[0262] 表1:LR-pRBC血液体积的样品名称和目标SO_2/pCO_2水平列

[0263] 表

[0264]

样品名称	目标参数 SO_2 (%) / pCO_2 (Torr) (37%)
[A1], [B1], [C1], [D1]	未处理的对照
[A2], [B2], [C2], [D2]	>90% / 75±5 Torr
[A3], [B3], [C3], [D3]	20±2% / 25±5 Torr
[A4], [B4], [C4], [D4]	10±2% / 25±5 Torr
[A5], [B5], [C5], [D5]	5±2% / 25±5 Torr
[A6], [B6], [C6], [D6]	<3% / 25±5 Torr

[0265] 实施例2:减少氧气减少储存的血液中的促炎性分子

[0266] 在实施例1中描述的6单位血液中评估三种有效的促炎生物反应调节剂(BRM)-白三烯B4、血栓素B2和羟基二十碳四烯酸(HETE)的水平。白三烯B4是一种有效的多形核中性粒细胞化学引诱物。如图2所示,白三烯B4在常规储存的含氧量正常(对照;实线)和高氧RBC中累积超过42天,然而,白三烯B4在缺氧RBC中仍然不可检测。

[0267] 血栓素A2是一种不稳定的强效血管收缩剂,通过血管平滑肌血栓素A2受体刺激血管收缩。血栓素B2是一种更稳定的血栓素A2,与对照(实线)红细胞相比(图3),当SO2<3%时,在42天储存期间,缺氧红细胞积聚较少。

[0268] 如图4A和4B所示,与上清液中的含氧量正常和高氧储存的血液相比,氧化脂质产品(如HETE)在缺氧储存的血液中累积较少。与常氧(实线)血液相比,缺氧RBC中HETE积累的减少也显示在细胞中。

[0269] 实施例3:使用$^{13}C_{1,2,3}$-葡萄糖测定葡萄糖代谢

[0270] 通过在添加剂溶液中包含$^{13}C_{1,2,3}$-葡萄糖(13C-葡萄糖)可以确定通过糖酵解(EMP)和戊糖途径(PPP)的葡萄糖的相对通量。通过氧化性PPP产生的^{13}C-乳酸盐根本不包

括^{13}C,或者两种($^{13}C_{2,3}$-乳酸盐),而通过EMP直接从葡萄糖产生的乳酸盐具有^{13}C的全部三个碳或根本不存在。

[0271] 将2克^{13}C1,2,3-葡萄糖(无水)溶于36.4毫升去离子组织培养级水中,制成～300mM葡萄糖溶液。将得到的溶液过滤灭菌到层流罩内的50mL无菌管中,并使用无菌技术转移到50mL取样的PVC袋中。如上所述汇集的血液用7.2mL的300mM无菌^{13}C-葡萄糖溶液注射,然后分成含氧和氧还原的单元。计算上述AS-3含有约55mM葡萄糖,并且注射无菌^{13}C-葡萄糖溶液向合并的血液中添加另外约11mM葡萄糖。

[0272] 实施例4:较低的细胞内氧化还原电位

[0273] 在正常储存条件下,RBC中形成病变。氧化损伤可影响氧依赖性代谢调节,促进GAPDH与N末端或3区其他残基的结合,促进代谢从EMP向PPP转变,以产生还原当量(NADPH)并试图恢复氧化还原平衡。然而,如图5、图6和图7所示,与对照血液(实线)相比,氧气减少储存的血液具有更高的NADPH和NADPH/NADP+合成速率。因此,储存长达42天的氧气减少储存的血液具有较低水平的氧化应激。

[0274] 与对照和高氧血液相比,氧气减少储存的血液进一步显示出更高的NADH+NAD池合成速率(图8)。在储存21至42天之间可以看到氧气减少储存的血液的有益效果。

[0275] 与对照(实线)相比,氧气减少储存的血液也具有增加的亚甲基四氢叶酸(亚甲基THF)水平。亚甲基四氢叶酸促进NADPH的产生。具体地,与对照血液相比,氧气减少储存的血液分别在第14天和第42天显示亚甲基四氢叶酸增加1.4倍和2倍(图9)。

[0276] 与第14天开始的对照(实线)相比,谷胱甘肽合成的前体谷氨酸也在氧气减少储存的血液中增加(图10)。具体地,与对照(实线)相比,在储存第42天,谷氨酸在氧气减少储存的血液中增加约2倍。此外,与对照(实线)相比,在42天的储存期中,谷胱甘肽(GSH)水平在剂量依赖性方式中在氧气减少储存的血液中增加。特别地,在第7天和第42天,氧气减少储存的血液显示谷胱甘肽比对照增加2倍(图11)。高谷氨酸和降低的谷胱甘肽和GSH/GSSG比率(图12)提示氧气减少储存的血液中的氧化应激减少。

[0277] 半胱氨酸是GSH合成的限速底物,并且在对照、高氧和氧气减少储存的血液中评估半胱氨酸水平。通过细胞溶质一碳代谢反应通过蛋氨酸分解代谢的半胱氨酸合成在氧气减少储存的血液中是最高的。在储存28天后,相对于对照血液的半胱氨酸合成的增加是明显的(图13)。

[0278] 氧化应激减少的另一个指标是抗氧化剂尿酸盐的积累。如图14所示,在储存28至42天后,与对照血液相比,氧气减少储存的血液显示出增加的尿酸盐水平。

[0279] 实施例5:RBC的较高的能量状态

[0280] 如图15所示,氧气减少储存的血液通过EMP表现出增加的通量,从而产生更高水平的ATP和2,3-DPG。氧气减少储存的血液还通过磷酸戊糖途径在7至35天的储存期间显示出增加的de novo ATP(图16)。

[0281] 活性位点残基Cys152和His179的氧化损害了GAPDH的膜结合和催化活性。在储存期间,特别是在第21和42天,观察到氧化还原敏感性残基Cys152在对照(黑色条,图17)中在氧气减少储存的血液(灰色条)中被氧化修饰。这种催化活性的丧失导致GAPDH向膜迁移并通过囊泡去除。

[0282] 实施例6:减少肌萎缩和痉挛

[0283] Eryptosis也可能导致输血受者的炎症增加。Eryptosis是RBC的自杀性死亡，其特征在于磷脂酰丝氨酸暴露减少、细胞皱缩和膜起泡。通过膜囊泡介导的减少的磷脂酰丝氨酸不对称性与细胞表面糖蛋白结合，在RBC清除中起作用。

[0284] 如实施例1中所述制备和取样样品。在6种常氧、高氧和低氧储存的血液样品中测量PIP对PIP3的磷酸化。如图18A和图18B所示，在厌氧条件下，PIP对钙通道激动剂PIP3的磷酸化降低。与对照(实线)相比，在储存42天后，PIP对PIP3的磷酸化在氧气减少储存的血液中以剂量依赖性方式降低。氧气减少储存的血液中的这种预防PIP磷酸化为PIP3可防止PIP3对Mg/Ca泵的影响，否则会导致细胞内钙的增加、ATP合成酶的抑制，并通过激活级联级联来破坏RBC的形态和存活(通过钙依赖性钙蛋白酶和半胱天冬酶)。

[0285] 与储存42天后的对照相比，氧气减少储存的血液导致微粒形成减少，这是残留H93中β-血红蛋白氧化的结果(图19)。

[0286] 高铁血红蛋白不稳定，变性为疏水性和反应性球蛋白和氯化血红素，可破坏红细胞膜、诱导囊泡、诱导形态变化、催化羟基自由基生成。如图20所示，与对照(实线)和高氧储存的血液相比，氧气减少储存的血液在分析的每个时间点都降低了高铁血红蛋白水平。

[0287] 高铁血红蛋白还原酶，负责减少血红蛋白前列腺中氧化铁的酶，需要NAD(P)H才能发挥作用。在低氧或厌氧储存的RBC中观察到NADH/NAD+比率的增加，这是由于增加的糖酵解通量(更高的乳酸/丙酮酸比率)和由于去除氧气而导致的细胞溶质还原环境的改变(与能斯特方程一致)。这些考虑因素有助于解释在低氧储存的RBC中观察到的高铁血红蛋白积累的减少。

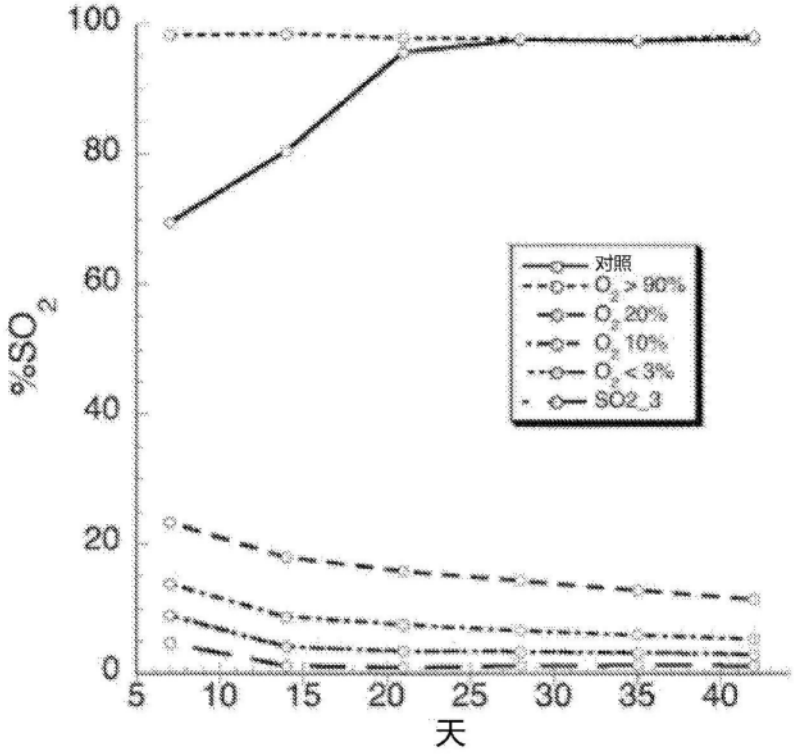

100
80
60
40
20
0
%SO2
5
10
15
20
25
30
35
40
天
对照
O2 > 90%
O2 20%
O2 10%
O2 < 3%
SO2_3

图1

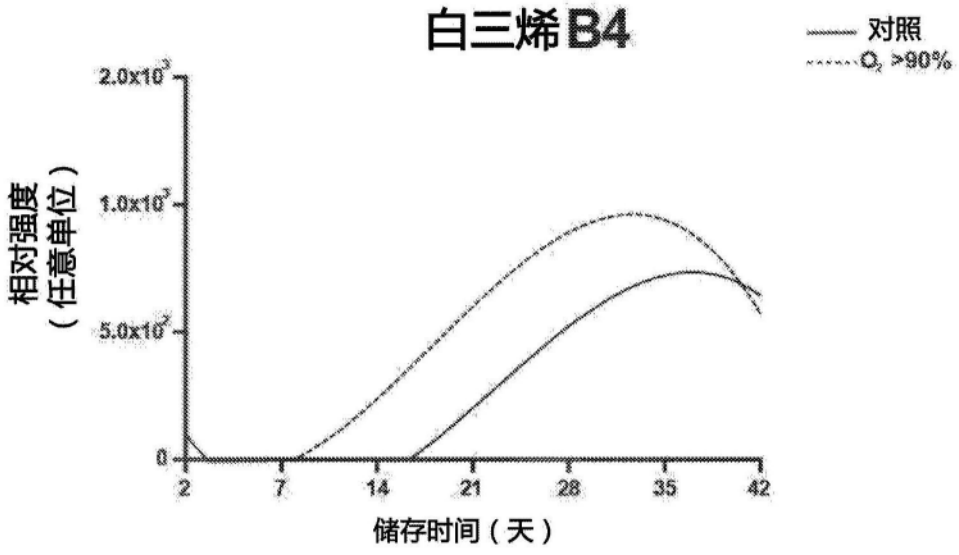

白三烯B4
对照
O2 >90%
相对强度
（任意单位）
2.0x10³
1.0x10³
5.0x10²
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）

图2

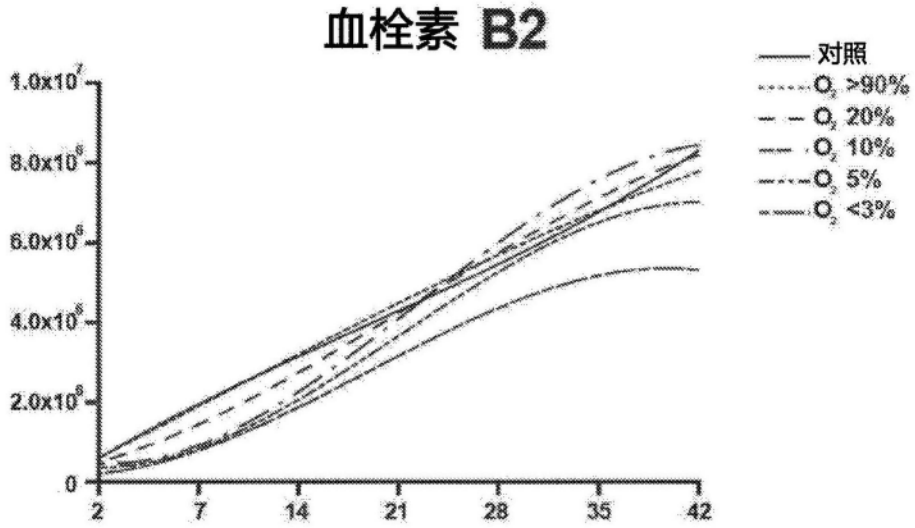

血栓素 B2
1.0x10⁷
8.0x10⁶
6.0x10⁶
4.0x10⁶
2.0x10⁶
0
2
7
14
21
28
35
42
对照
O₂ >90%
O₂ 20%
O₂ 10%
O₂ 5%
O₂ <3%

图3

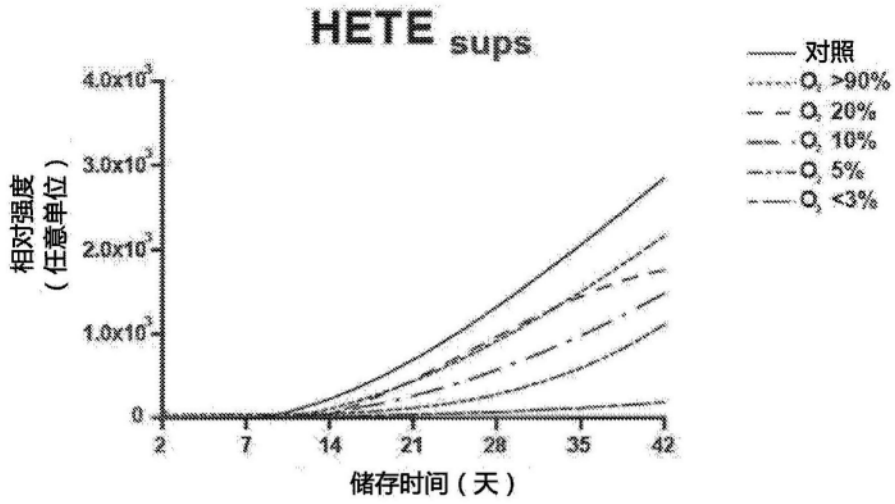

HETE sups
相对强度
（任意单位）
4.0x10³
3.0x10³
2.0x10³
1.0x10³
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）
对照
O₂ >90%
O₂ 20%
O₂ 10%
O₂ 5%
O₂ <3%

图4A

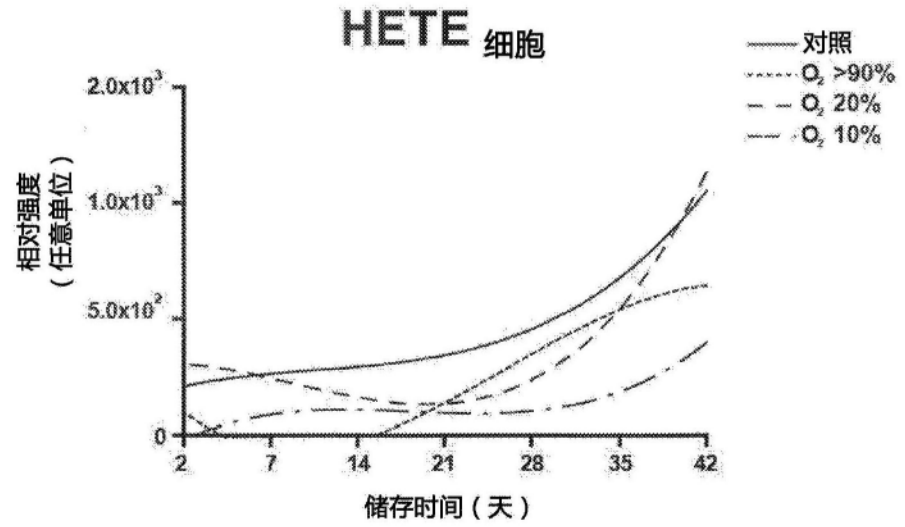

HETE 细胞
对照
O_2 >90%
O_2 20%
O_2 10%
相对强度（任意单位）
$2.0x10^3$
$1.0x10^3$
$5.0x10^2$
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）

图4B

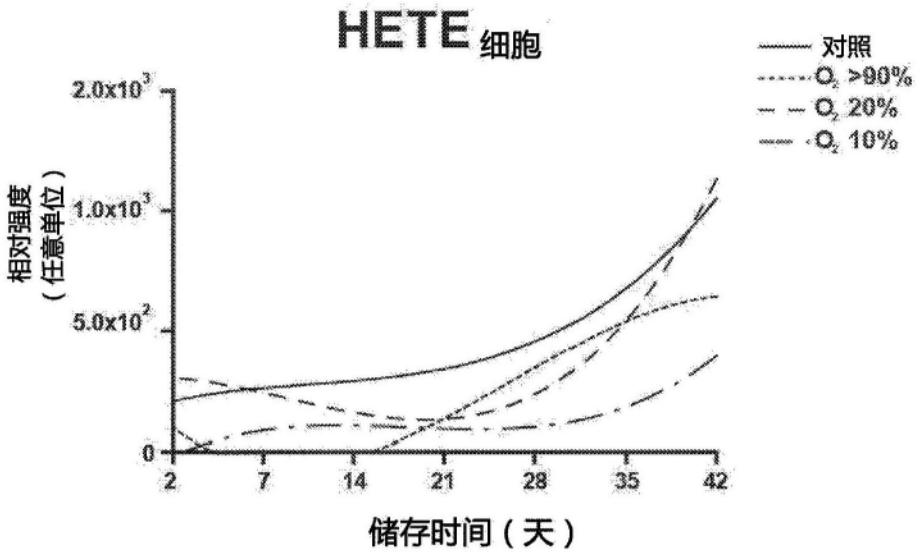

HETE 细胞
对照
O_2 >90%
O_2 20%
O_2 10%
相对强度（任意单位）
$2.0x10^3$
$1.0x10^3$
$5.0x10^2$
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）

图5

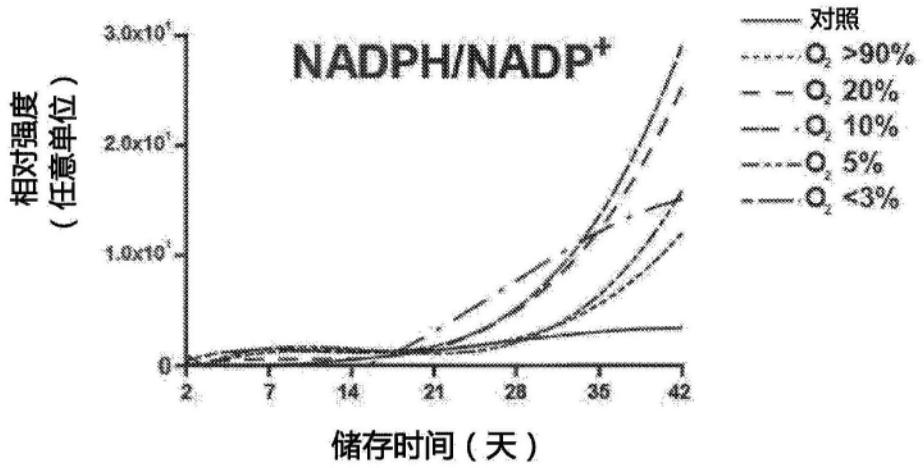

NADPH/NADP+
相对强度（任意单位）
3.0x10⁷
2.0x10⁷
1.0x10⁷
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）
对照
O₂ >90%
O₂ 20%
O₂ 10%
O₂ 5%
O₂ <3%

图6

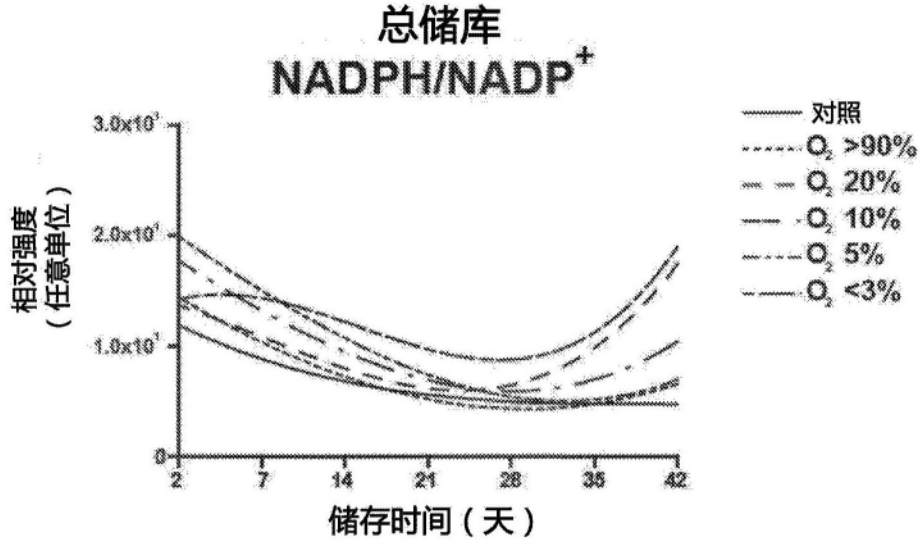

总储库
NADPH/NADP+
相对强度（任意单位）
3.0x10⁷
2.0x10⁷
1.0x10⁷
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）
对照
O₂ >90%
O₂ 20%
O₂ 10%
O₂ 5%
O₂ <3%

图7

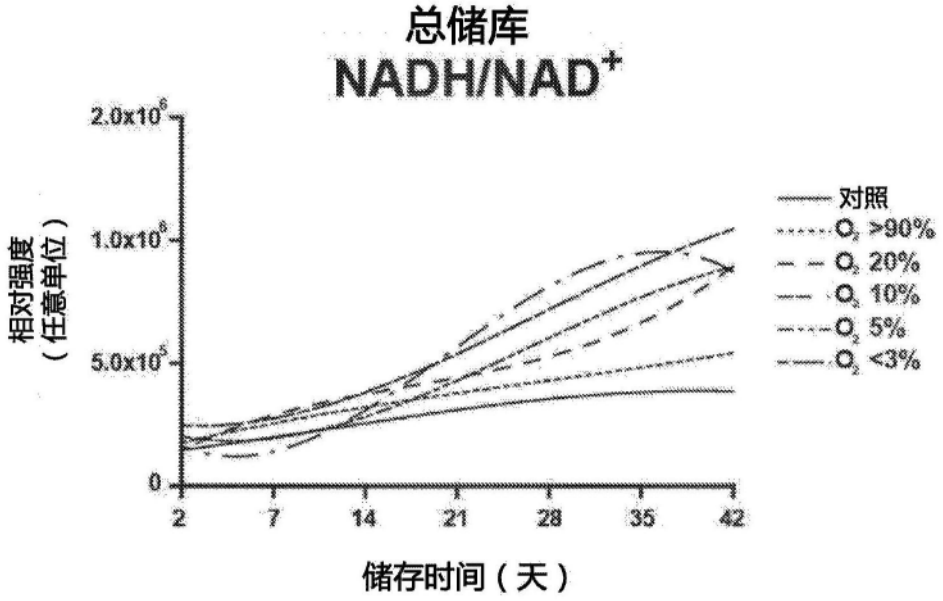

总储库
NADH/NAD+
相对强度
（任意单位）
2.0x10^6
1.0x10^6
5.0x10^5
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）
对照
O2 >90%
O2 20%
O2 10%
O2 5%
O2 <3%

图8

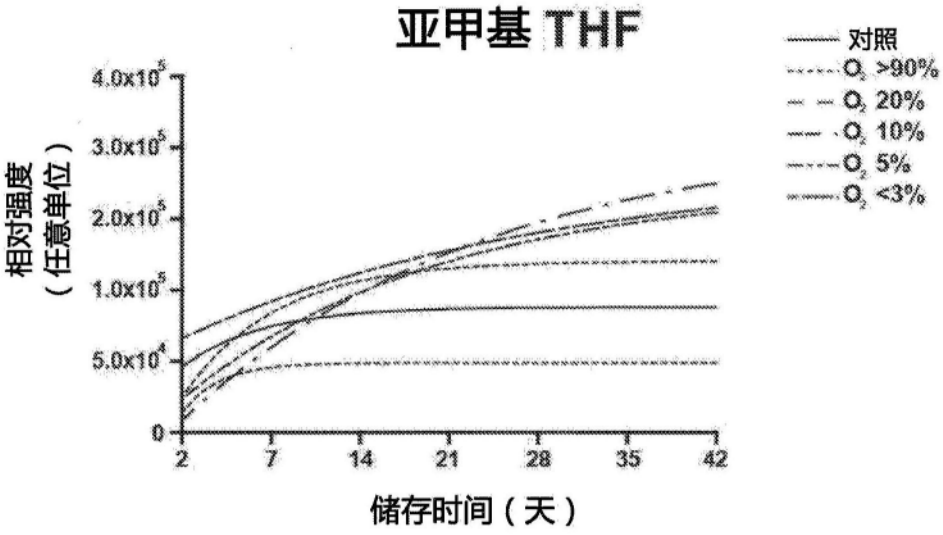

亚甲基 THF
相对强度
（任意单位）
4.0x10^5
3.0x10^5
2.0x10^5
1.0x10^5
5.0x10^4
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）
对照
O2 >90%
O2 20%
O2 10%
O2 5%
O2 <3%

图9

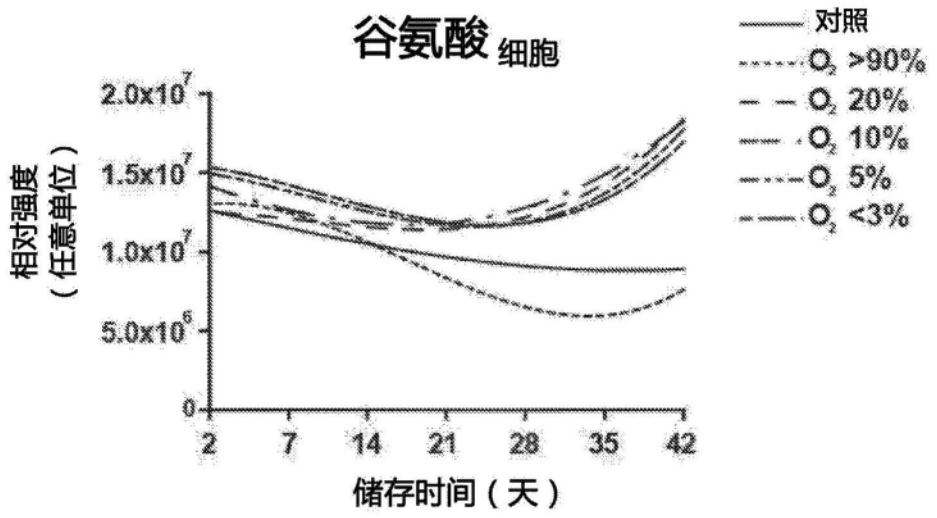

谷氨酸 细胞
对照
O2 >90%
O2 20%
O2 10%
O2 5%
O2 <3%
相对强度
（任意单位）
2.0x10^7
1.5x10^7
1.0x10^7
5.0x10^6
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）

图10

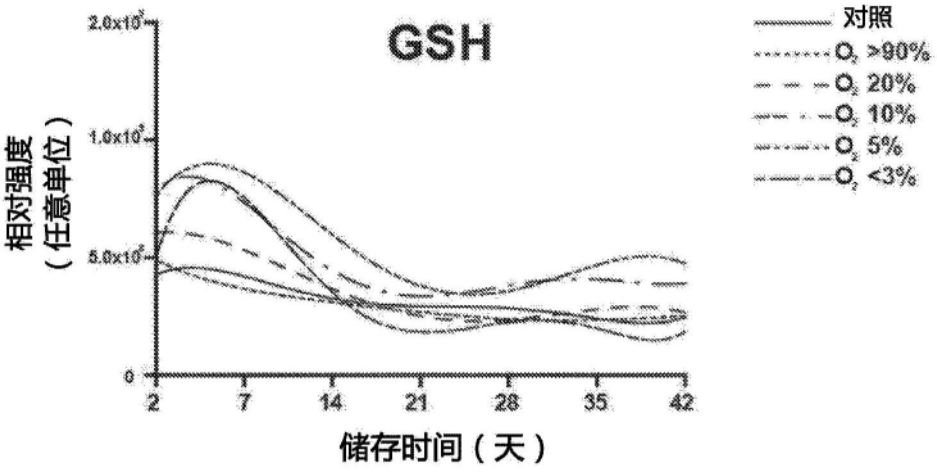

GSH
对照
O2 >90%
O2 20%
O2 10%
O2 5%
O2 <3%
相对强度
（任意单位）
2.0x10^6
1.0x10^6
5.0x10^5
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）

图11

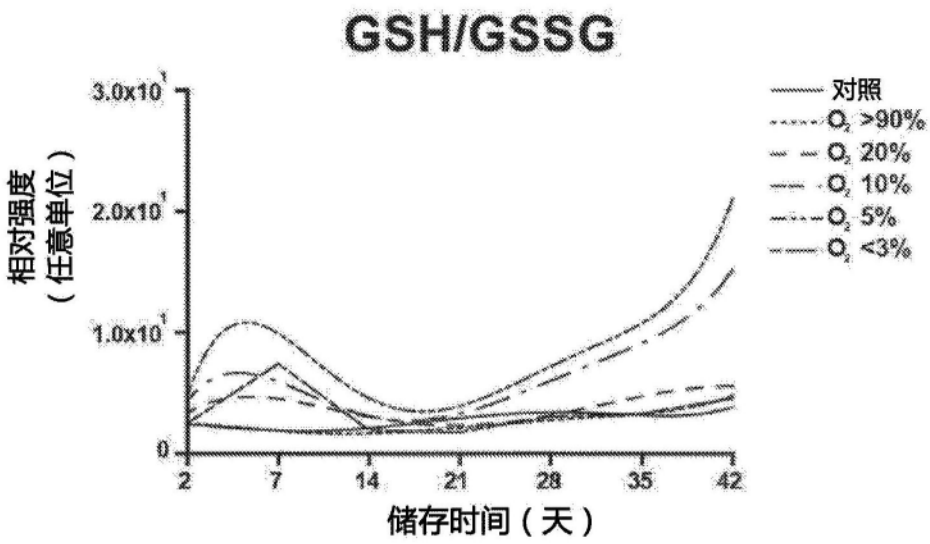

GSH/GSSG
相对强度
（任意单位）
3.0x10^1
2.0x10^1
1.0x10^1
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）
对照
O2 >90%
O2 20%
O2 10%
O2 5%
O2 <3%

图12

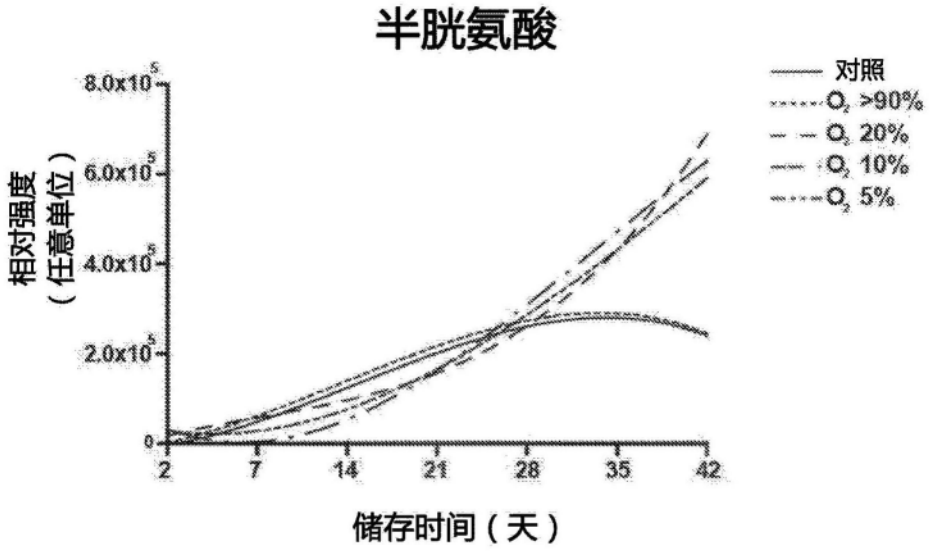

半胱氨酸
相对强度
（任意单位）
8.0x10^5
6.0x10^5
4.0x10^5
2.0x10^5
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）
对照
O2 >90%
O2 20%
O2 10%
O2 5%

图13

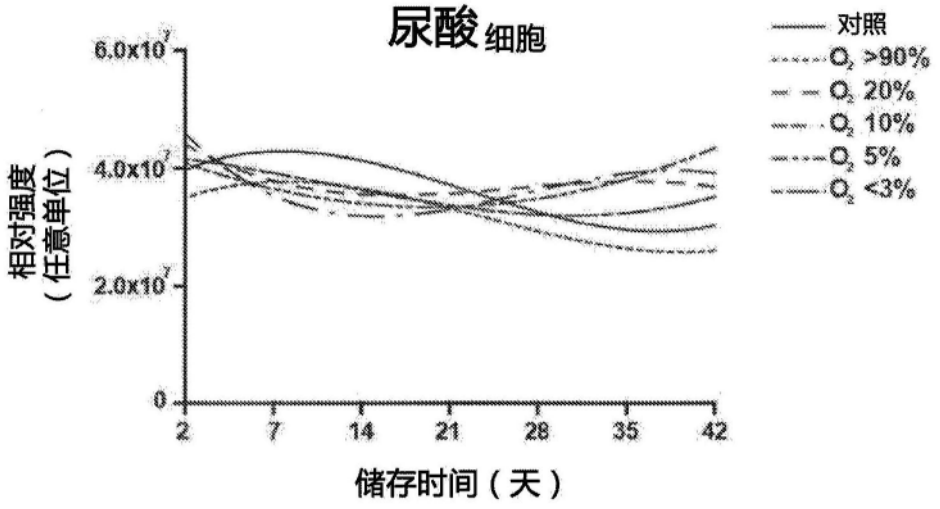

尿酸细胞
对照
O_2 >90%
O_2 20%
O_2 10%
O_2 5%
O_2 <3%
相对强度（任意单位）
6.0x10^7
4.0x10^7
2.0x10^7
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）

图14

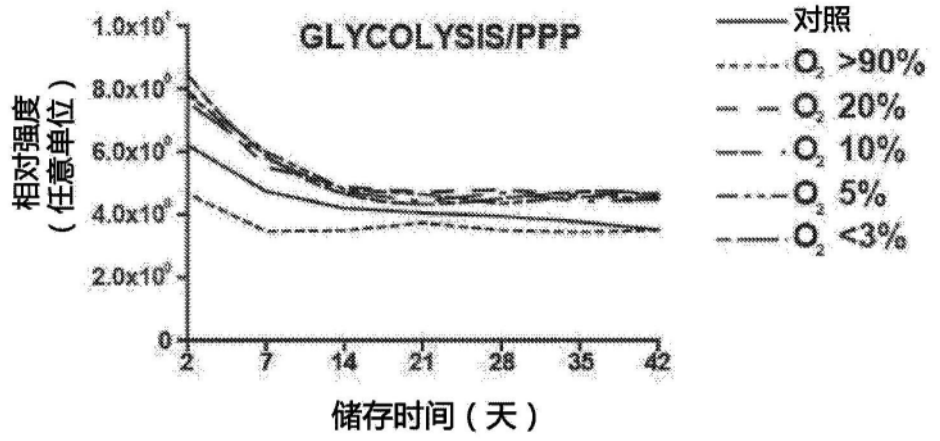

GLYCOLYSIS/PPP
对照
O_2 >90%
O_2 20%
O_2 10%
O_2 5%
O_2 <3%
相对强度（任意单位）
1.0x10^9
8.0x10^8
6.0x10^8
4.0x10^8
2.0x10^8
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）

图15

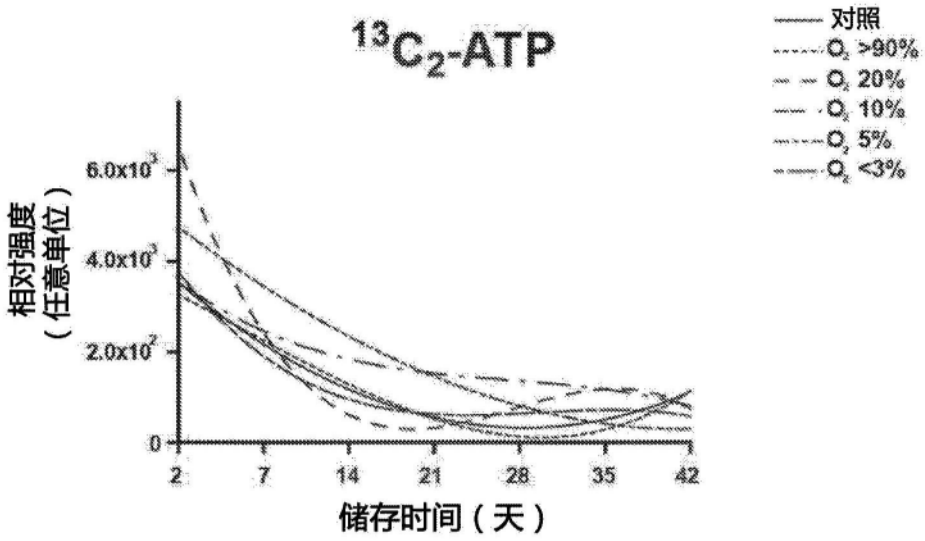

$^{13}C_2$-ATP
对照
O_2 >90%
O_2 20%
O_2 10%
O_2 5%
O_2 <3%
相对强度（任意单位）
6.0x10^3
4.0x10^3
2.0x10^2
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）

图16

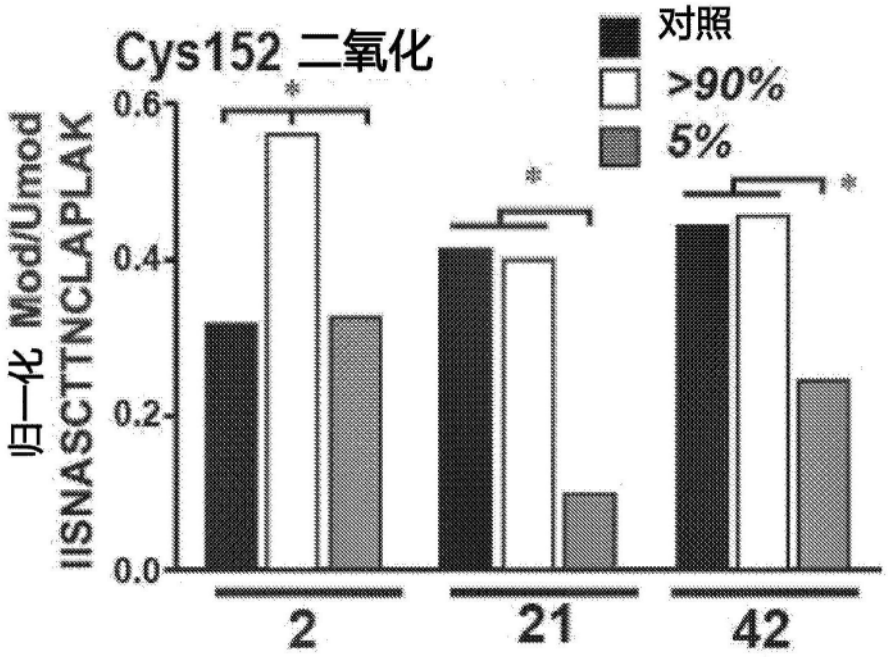

Cys152 二氧化
对照
>90%
5%
归一化 Mod/Umod
IISNASCTTNCLAPLAK
0.6
0.4
0.2
0.0
*
*
*
2
21
42

图17

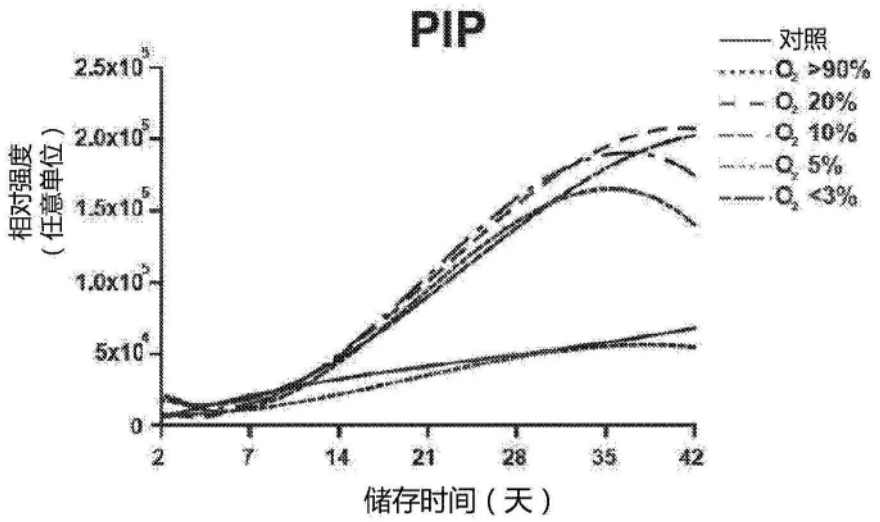

PIP
对照
O2 >90%
O2 20%
O2 10%
O2 5%
O2 <3%
相对强度（任意单位）
2.5x10^5
2.0x10^5
1.5x10^5
1.0x10^5
5x10^4
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）

图18A

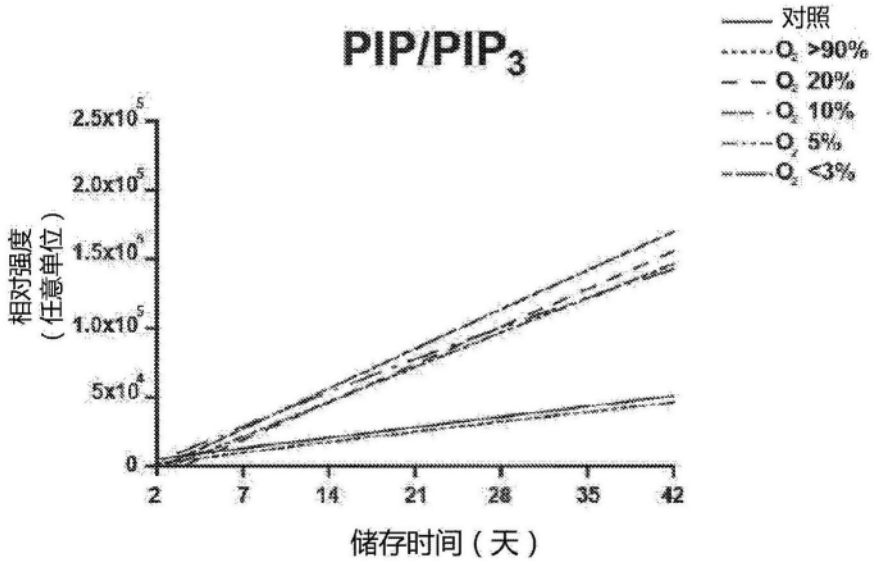

PIP/PIP3
对照
O2 >90%
O2 20%
O2 10%
O2 5%
O2 <3%
相对强度（任意单位）
2.5x10^5
2.0x10^5
1.5x10^5
1.0x10^5
5x10^4
0
2
7
14
21
28
35
42
储存时间（天）

图18B

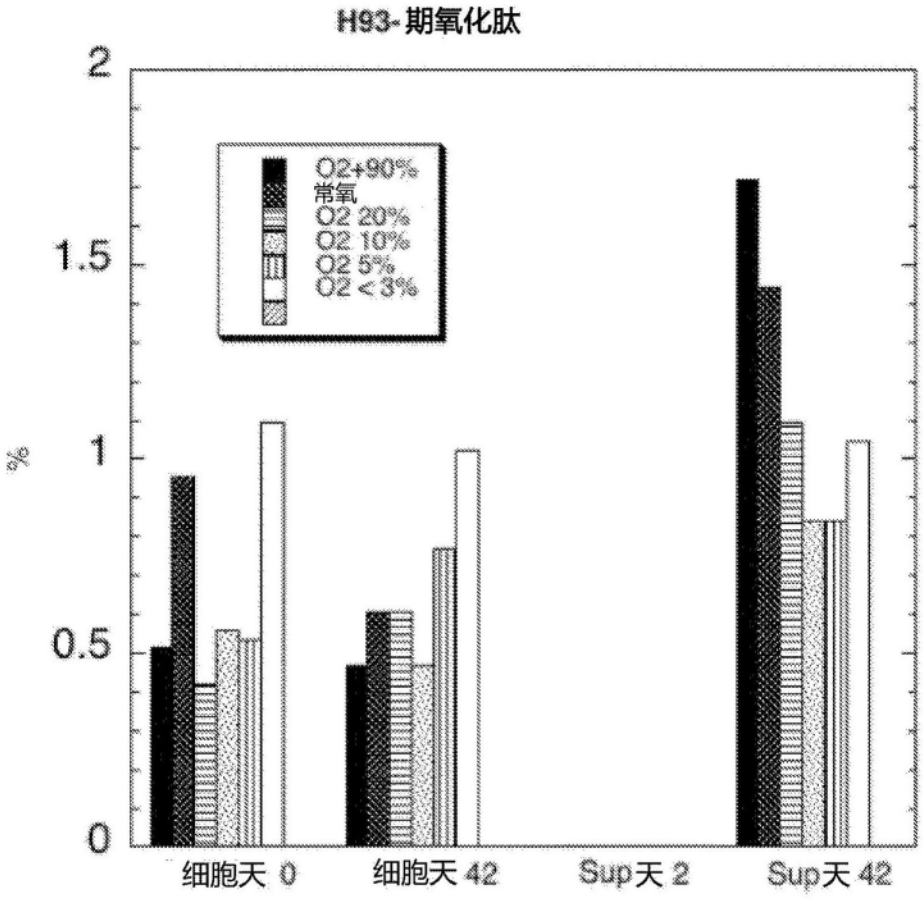

H93-期氧化肽
2
1.5
1
0.5
0
%
O2+90%
常氧
O2 20%
O2 10%
O2 5%
O2 < 3%
细胞天 0
细胞天 42
Sup天 2
Sup天 42

图19

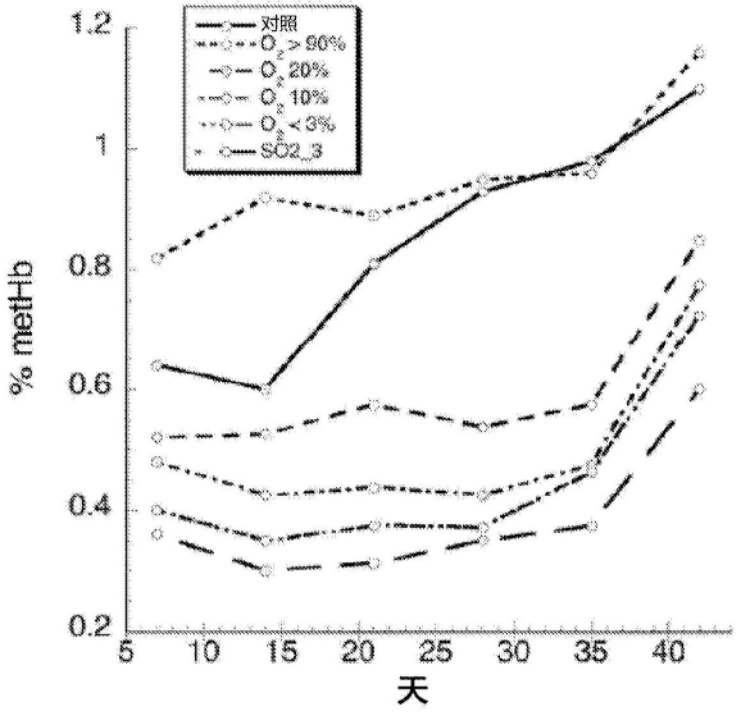

对照
O_2 > 90%
O_2 20%
O_2 10%
O_2 < 3%
SO2_3
% metHb
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
5
10
15
20
25
30
35
40
天

图20