



MEMBRANA ERITROIDE

La membrana eritroide cumple un papel crucial en el desarrollo de las funciones del eritrocito, una de ellas es el intercambio gaseoso, otra en la que participa es en la formación de bicarbonato (HCO_3). Las propiedades de la membrana están estrechamente ligadas a estas funciones, entre estas propiedades está ser altamente deformable y selectiva.

La membrana tiene una permeabilidad selectiva, es permeable a moléculas pequeñas no polares como el O_2 y a moléculas polares sin carga como el CO_2 , el H_2O y la urea e impermeable a iones o moléculas con carga.

Adicionalmente, para que la vida media del eritrocito sea la esperada de 120 días y pueda entrar en íntimo contacto célula-célula con las diferentes células del organismo, sin destruirse, la membrana debe tener unas características estructurales y mecánicas que le permitan la deformabilidad. Por un lado está la composición de la membrana la cantidad y calidad de lípidos y la asociación con las proteínas que la conforman, por otro lado, tiene mayor superficie que volumen, eso hace que la célula sea bicóncava y es lo que le permite deformarse y adquirir una longitud hasta cinco veces su ancho que le permita pasar por capilares muy pequeños de 3 a 5μ de diámetro y a través de las ranuras de la pared endotelial del seno de los órganos retículo endoteliales que miden aproximadamente 3μ .¹

Los lípidos forman una doble capa lipídica dispuesta en forma paralela por su cara interna al citoesqueleto, el anclaje entre el citoesqueleto y la doble capa lipídica lo realizan proteínas denominadas integrales o transversales que atraviesan completamente la doble capa lipídica y se insertan al citoesqueleto, normalmente estos anclajes lo hacen con la participación de proteínas encargadas de estabilizar estas uniones. (Figura 1)

La bicapa lipídica está conformada por fosfolípidos, colesterol, ácidos insaturados y glicolípidos. Los fosfolípidos de colina están hacia la capa externa y el fosfatidil inositol (PI) y la fosfatidil serina (PS) están en la capa interna. La PS es secuestrada en la capa interna por el complejo flipasa, flopasa y escramblasa en una reacción dependiente de calcio. El colesterol se encuentra en iguales proporciones en ambas capas. La alta fluidez de la membrana está dada por un lado por el carácter insaturado de los ácidos grasos y por la disposición asimétrica de las proteínas incluidas en la bicapa lipídica.

¹ Stuart J, Nash GB. Red cell deformability and haematological disorders. *Blood Rev* 1990; 4(3):141-7.

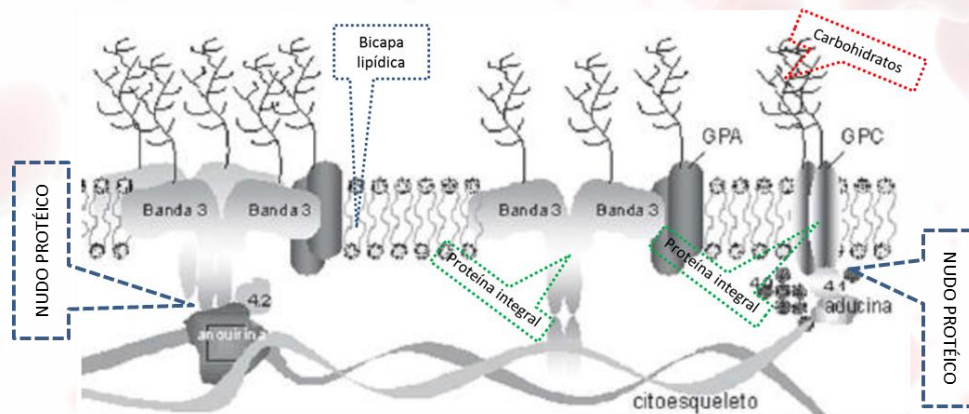


Figura 1. Tomado de Murador P, Deffine E. Aspectos estructurales de membrana eritrocitaria *Rev. bras. Hematol.* 2007;29:169

Los carbohidratos conforman una estructura denominada glucocalix que protege al eritrocito de la invasión de patógenos y lo protege del daño mecánico.

Usualmente se absorben a la membrana formando largas cadenas de carbohidratos, un ejemplo son los antígenos de los sistemas ABO, H, P y Lewis.

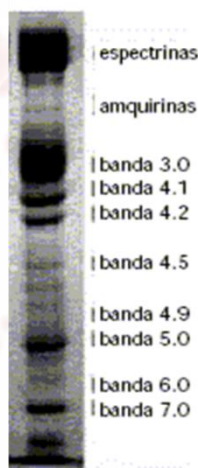


Figura 2. Tomado de: Favero P et al. Eletroforese de proteínas de membrana eritrocitária no diagnóstico de doença hemolítica por defeito de membrana. *Acta bioquím. clín. latinoam.* 2004; 38(3)

Al realizar una electroforesis de las proteínas de la membrana, corren en el gel de poliacrilamida separándose en bandas como se muestra en la figura 2, la más pesada es la conformada por las cadenas α y β de la espectrina (Sp) seguido por la anquirina, la banda 3 (B3), bandas 4.1 y 4.2 entre otras.

Existen más de 100 tipos de proteínas y 10 de ellas son consideradas como las principales. Han sido clasificadas de diferente forma: acorde con su relación con la conformación estructural de la membrana se conocen como proteínas del citoesqueleto y las proteínas de anclaje.

También se clasifican dependiendo la cantidad de ellas en la membrana como mayores y menores, o acorde con su ubicación en periféricas e integrales o de acuerdo con el tipo de interacción que establezcan en horizontales y verticales. Por otro lado, acorde con su funcionalidad hay proteínas con carácter enzimático, proteínas que son transportadores de membrana, receptores y otras que se comportan como moléculas de adhesión.



La mayoría de las proteínas de la membrana eritroide son polimórficas, este hecho las hace antigénicas y en consecuencia tienen actividad de grupo sanguíneo, conformando los 30 sistemas antigénicos conocidos hoy en día.²

Las transportadoras son proteínas que se caracterizan por tener varias entradas a la membrana formando los canales funcionales. Dentro de las transportadoras y que además tienen carácter antigénico están:^{3,4,5}

UT-B sistema Kidd: transportador de úrea.

AQP1 sistema Colton: Acuaporina, transportador de agua

AQP3 sistema Gill: Acuaporina, transportador de agua

Banda 3: sistema Diego: transporte aniónico

Rh: sistema Rh: transporte O₂ y CO₂

Algunas de las proteínas con función enzimática y que además tienen carácter antigénico están:

AChe: sistema Yt: función Acetil colinesterasa.

Kell: sistema Kell: función endopeptidasa

ART4: sistema Dombrock: función transferasa de ADP-ribosa

Dentro de las proteínas que se comportan como moléculas de adhesión y que además tienen carácter antigénico están:⁶

ICAM-4: sistema LW

ERMAP: sistema Scianna

Basigin sistema Ok

Lutheran: sistema Lutheran

De las proteínas que son receptores y que además tienen carácter antigénico están:⁷

DARC: sistema Duffy: receptor de quimosinas.

² Reid ME, Mohandas N: Red blood cell blood group antigens: structure and function. *Semin Hematol* 2004; 41:93–117

³ King LS, Kozono D, Agre P: From structure to disease: the evolving tale of aquaporin biology. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5:687–698

⁴ Macey RI, Yousef LW: Osmotic stability of red cells in renal circulation required rapid urea transport. *Am J Physiol* 1988; 254:C669–C674

⁵ Tanner MJA: Band 3 anion exchanger and its involvement in erythrocyte and kidney disorders. *Curr Opin Hematol* 2002; 9:133–139

⁶ Bailly P, Tontti E, Hermant P, Cartron J-P, Gahmberg CG: The red cell LW blood group protein is an intercellular adhesion molecule which binds to CD11/CD18 leukocyte integrins. *Eur J Immunol* 1995; 25:3316–3320

⁷ Rot A: Contribution of Duffy antigen to chemokine function. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16:687–694



En el grupo de las proteínas mayores se encuentra la Sp, la B3, la actina, la banda 4.1 y la anquirina y como proteínas menores la demantina, tropomodulina, tropomiosina y la palidina.

Son integrales y de interacción vertical las que atraviesan la bicapa lipídica como la B3 y la glicoforina C (GPC). Son periféricas y de interacción horizontal las que conforman el citoesqueleto, las cadenas α y β de la Sp; esta interacción se da entre cadenas alternadas de Sp α y β las cuales se entrecruzan formando una fina malla que es anclada a la doble capa lipídica por medio de las proteínas de interacción vertical, este anclaje se realiza cada seis uniones Sp-Sp.⁸

La B3 además de representar el sistema antigénico Diego,⁹ es una proteína compleja que tiene un dominio extracelular, un dominio intramembrana que tiene 14 entradas en la membrana y un dominio intracitoplasmático con dos terminales el C-terminal corto y el N-terminal largo.¹⁰

La estabilidad de la membrana está dada en gran parte por la interacción vertical en la que se forman dos “nudos protéicos”, en ellos las proteínas transversales anclan el citoesqueleto a la bicapa lipídica, unión que se da entre las cadenas β de la espectrina con dos grupos de proteínas, uno es el que se hace con la Banda 3 en la que interactúan: cadenas β Sp+B3+anquirina+banda 4.2. El segundo nudo proteico se hace con la GPC, está conformado por cadenas β Sp+GPC+banda 4.1+aducina+actina+tropomiosina. (Figura 1)

Adicional a esta función estructural la B3 es llamada también intercambiador aniónico ya que a través de su dominio transversal se realiza el intercambio $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ Posee un dominio intra-citoplasmático corto C-terminal al cual se une la anhidrasa carbónica II propiciando de esta forma el paso del CO_2 a H_2CO_3 y este por la anhidrasa a HCO_3^- .¹¹ El dominio intracitoplasmático largo N-terminal une enzimas glucolíticas, Hb y hemicormos (hemoglobina oxidada).¹²

⁸ A Hybrid Model for Erythrocyte Membrane: A Single Unit of Protein Network *Biophysical Journal* 2007; 93:386–400

⁹ Daniels G. Functions of red cell surface proteins. *Vox Sanguinis* 2007; 93:, 331–340

¹⁰ Inaba, M. Defective anion transport and marked spherocytosis with membrane instability caused by hereditary total deficiency of red cell band 3 in cattle due to a nonsense mutation. *J Clin Invest*, 1996;97(8):1804-17.

¹¹ Piermarini PM, Kim EY, Boron WF: Evidence against a direct interaction between intracellular carbonic anhydrase II and pure C-terminal domains of SLC4 bicarbonate transporters. *J Biol Chem* 2007; 282:1409–1421

¹² Zhu Q, Vera C, Asaro R, Sche O, and Sung L. Mapping of glycolytic enzyme-binding sites on human erythrocyte band 3. *Biophysical Journal* 2007; 93:386–400



En su distribución en la membrana, la B3 forma un gran complejo denominado “Complejo Banda 3”, conformado por B3, las glicoforinas A y B, la anquirina, la proteína 4.2 y las proteínas citoplasmáticas que fija, ACII, enzimas glucolíticas, hemoglobina y hemicromos.¹³ Este es un complejo con una función que tiene que ver tanto con la funcionalidad del eritrocito como con su señalización como célula envejecida ya que cuando las enzimas glucolíticas se agotan, los procesos de reducción se hacen ineficientes y los hemicromos pasan a acumularse en forma irreversible en la B3, esto genera una señal que provoca la fosforilación de la B3, una vez fosforilada forma agregados proteicos con las otras proteínas del complejo B3 y en ese momento se genera un neo-antígeno que es blanco de un anticuerpo fisiológico anti-B3, este complejo Ag-Ac es reconocido por los macrófagos tisulares quienes realizan de esta forma el aclaramiento de los eritrocitos senescentes.^{14,15}

Como se dijo, la estabilidad de la B3 depende de que no sea fosforilada, es por esta razón que existe una fosfatasa encargada de evitar esta fosforilación, es la tirosina fosfatasa 1B (PTP1B), la cual actúa uniéndose al dominio citoplasmático de la B3 e impidiendo la fosforilación de las dos tirosinas que son blanco de fosforilación, es importante aclarar que al ser una enzima también tiene una vida media que tendrá que ver con su agotamiento, dejándola expuesta a la situación mencionada anteriormente.¹⁶

Por otro lado, la B3 forma otro gran complejo, en este caso únicamente funcional en asociación con el “complejo RH” conformando un macrocomplejo molecular esencial para el intercambio de CO₂ y O₂ a nivel tisular. El complejo RH está formado por las múltiples proteínas del sistema Rh, CD47, ICAM-4 las dos últimas son moléculas de adhesión.^{17,18}

¹³ CHU H and LOW PS. Mapping of glycolytic enzyme-binding sites on human erythrocyte band 3. *Biochem J.* 2006; 400:143–151

¹⁴ Turrini, F., et al., Characterization of the autologous antibodies that opsonize erythrocytes with clustered integral membrane proteins. *Blood* 1993; 81(11):3146-52.

¹⁵ Pantaleo A, Giribaldi G, Mannu F, Arese P, Turrini F. Naturally occurring anti-band 3 antibodies and red blood cell removal under physiological and pathological conditions. *Autoimmunity Reviews* 2008; 7(6): 457-462

¹⁶ CHU H and LOW PS. Mapping of glycolytic enzyme-binding sites on human erythrocyte band 3. *Biochem J.* 2006; 400:143–151

¹⁷ Inaba, M., et al., Defective anion transport and marked spherocytosis with membrane instability caused by hereditary total deficiency of red cell band 3 in cattle due to a nonsense mutation. *J Clin Invest* 1996;97(8):1804-17.

¹⁸ Bruce LJ, Beckmann R, Ribeiro ML, Peters LL, Chasis JA, Delaunay J, Mohandas N, Anstee DJ, Tanner MJA: A band 3-based macrocomplex of integral and peripheral proteins in the RBC membrane. *Blood* 2003; 101:4180–4188



En la figura 3 está representada la interacción entre el complejo B3 y el complejo RH y su importancia en el proceso de la respiración celular.

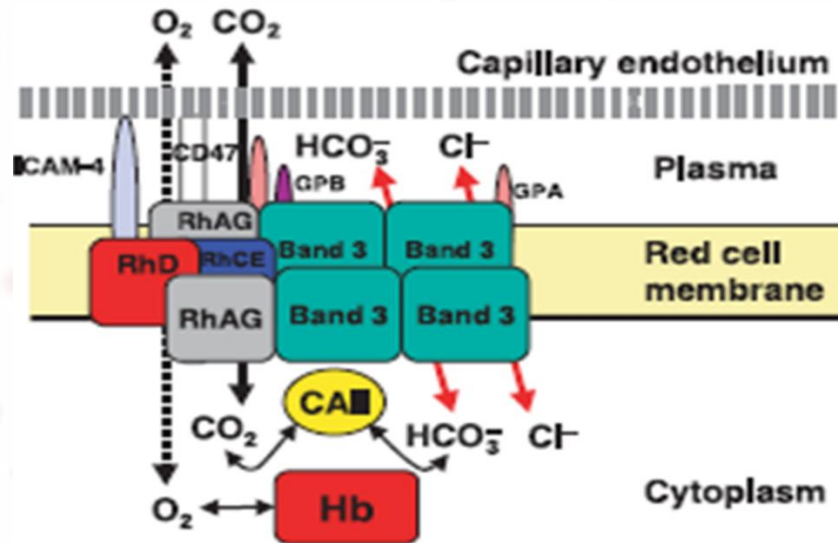


Figura 3. Tomado de: Daniels G. Functions of red cell surface proteins. *Vox Sanguinis* 2007; 93: 331-340

Son cuatro las glicoforinas que se encuentran en la membrana eritroide, GPA, B, C y D; son un grupo de proteínas ricas en ácido siálico (sialo-glico-proteínas) razón por la cual la membrana eritroide tiene carga negativa. Como se mencionó la GPC es una de las proteínas de anclaje al citoesqueleto, forman uno de los nudos proteicos, participa en la formación del glicocalix y en procesos de intercambio iónico transmembranoso. Estas glicoforinas son los substratos antigénicos para los sistemas sanguíneos MNS-U, Gerbich, Lewis entre otros. Para el sistema MN, cuando en la GPA el primer aa es la serina y el quinto la glicina presenta actividad antigénica M, pero si en el primer aa hay una leucina y en el quinto un ácido glutámico entonces presenta actividad antigénica N. La GPB expresa el sistema antigénico Ss, presenta una única posición polimórfica en su gen, la expresión s tiene un cambio de un nucleótido en la posición 143, cambia C>T.

Los sistemas antigénicos, sus propiedades, anticuerpos e importancia clínica se tratarán en el módulo inmunohematología, en la tabla 1 se observan los principales sistemas antigénicos y la función que se asocia a cada una de estas proteínas.



Table 1. Some red cell surface proteins: their structures and putative functions

Proteins	Genes	Blood group system	Structure	Function on erythroid cells
Urea transporter (UT)-8	SIC14A1	029 Kidd	T3 (10 span).	Urea transport.
Aquaporin 1	AQP1	015 Colton	T3 (6 span). Aquaporin SF.	Water channel.
Aquaporin 3	AQP3	029 Gilli	T3 (6 span). Aquaporin SF.	Water and glycerol channel.
Band 3, anion exchanger 1 (CD233)	SIC4A1	010 Diego	T3 (14 span), long cytosolic N-terminal domain. Core of band 3/Rh complex.	Exchanges HCO ₃ ⁻ /Cl ⁻ . Links membrane to membrane skeleton.
Rh-associated glycoprotein (CD241)	RHAG	None	T3 (12 span), part of band 3/Rh complex.	Unknown. Possibly involved in NH ₄ ⁺ /NH ₃ or CO ₂ /O ₂ transport.
RHD (CD2400)	RHD	004 Rh	T3 (12 span), unglycosylated, part of band 3/Rh complex.	Possibly involved in NH ₄ ⁺ /NH ₃ or CO ₂ /O ₂ transport.
RHCE (CD240CE)	RHCE	004 Rh	T3 (12 span), unglycosylated, part of band 3/Rh complex.	Possibly involved in NH ₄ ⁺ /NH ₃ or CO ₂ /O ₂ transport.
Xk protein	XK	019 Kx	T3 (10 span), unglycosylated. Linked to Xk glycoprotein.	Unknown. Homology with neurotransmitter transporters.
Duffy antigen receptor for chemokines (DARC) (CD234)	DARC	008 Duffy	T3 (7 span), 6 protein-coupled SF.	Unknown. Homology with neurotransmitter transporters. Binds chemokines, possibly for removal from peripheral blood.
Lutheran glycoprotein (CD329)	LU	005 Lutheran	T1, IgSF (IgV-L-C2-C2).	Unknown. Probably adhesion/receptor. Binds laminin 10/11.
Intercellular adhesion molecule-4 (ICAM4) (CD242)	ICAM4	016 LW	T1, IgSF (Ig-L). Part of band 3/Rh complex.	Unknown. Probably adhesion/receptor involved in stability of erythroblastic islands. Binds integrins.
Erythroblast membrane-associated protein (ERMAP)	ERMAP	013 Scanna	T1, IgSF (IgV).	Unknown. Probably adhesion/receptor.
BsIgln (CD147)	BSG	024 Ok	T1, IgSF (IgC2-V).	Unknown. Probably adhesion/receptor.
CD47	CD47	None	T3 (5 span), IgSF (IgV). Part of band 3/Rh complex.	Unknown. Probably adhesion/receptor. May be marker of self.
Decay accelerating factor for complement (CD55)	CD55	021 Cromer	T5, GPI-linked, 4 CCP SF domains.	Inhibits activity of C3 convertases. Protects cell from lysis by autologous complement.
CD59	CD59	None	T5, GPI-linked. Single IY-6 domain.	Inhibits assembly of membrane attack complex. Protects cell from lysis by autologous complement.
Complement component (3b/4b) receptor 1 (CD35)	CR1	022 Knops	T1, ~30 CCP SF domains.	Binds and processes immune complexes.
CD44	CD44	023 Indian	T1, Link module SF of proteoglycans.	Unknown. Probably adhesion/receptor. Binds hyaluronan.
Xg glycoprotein	XG	012 Xg	T1, highly glycosylated, SGP.	Unknown. Possibly adhesion/receptor.
CD99	CD99	012 Xg	T1, highly glycosylated, SGP.	Unknown. Possibly adhesion/receptor.
Semaphorin 7A (CD108)	SEMA7A	026 JMh	T5, GPI-linked. Semaphorin SF.	Unknown. Possibly adhesion/receptor.
CD151	CD151	025 Raph	T3 (4 span), tetraspanin SF.	Unknown. Might associate with integrins to generate laminin-binding complexes.
Acetylcholinesterase	AChE	011 Yt	T5, GPI-linked.	Unknown. Enzyme.
Keil glycoprotein (CD238)	KEI	006 Keil	T2, large EC globular domain, linked to Xk protein.	Unknown. Endopeptidase that cleaves big endothelin-3.
ADP-ribosyltransferase 4 (CD297)	ART4	014 Dombrock	T5, GPI-linked.	Unknown. Possibly transfer of ADP-ribose, if active.
Glycophorin C (CD236C) & D (CD236D)	GYPC	020 Gerbich	T1, highly glycosylated, SGP.	Links membrane to membrane skeleton. Could contribute to glycoalyx.
Glycophorin A (CD235A)	GYPA	022 MNS	T1, highly glycosylated, SGP.	Interacts with band 3 to enhance anion transport and band 3 trafficking. Could contribute to glycoalyx.
Glycophorin B (CD235B)	GYPB	022 MNS	T1, highly glycosylated, SGP. Part of band 3/Rh complex.	Could contribute to glycoalyx.

Tabla 1. Tomada de Daniels G. Functions of red cell surface proteins. *Vox Sanguinis* 2007; 93:331–340