



SENESCENCIA – LESIONES DE ALMACENAMIENTO

En este texto estudiaremos las vías de senescencia de los eritrocitos en vivo y lo que sucede con ellos una vez salen de la circulación y son almacenados en bolsas en condiciones controladas del banco de sangre.

De forma natural los eritrocitos pierden su capacidad para mantenerse funcionales, tienen una vida media de 120+/- 4 días tiempo al cabo del cual entran en su proceso de senescencia. Hay descritas dos vías o modelos de senescencia o envejecimiento de los eritrocitos: el modelo de eritosis y el modelo de agrupamiento de la banda 3.

En este diplomado, se ha estudiado el modelo de agrupamiento de la banda 3 al hablar de membrana, de hemoglobina y de metabolismo eritroide, a continuación se presenta un breve resumen de este modelo.

Al dominio citoplasmático de la banda 3 se unen moléculas tanto de hemoglobina como los hemicromos que son agrupamientos de hemoglobina oxidada, cuando se agota el recurso antioxidante de la célula, estos hemicromos se acumulan y generan la fosforilación de la banda 3, una vez fosforilada se une a las proteínas con las que forma el complejo banda 3 generando un cúmulo de proteína denaturada en la membrana que genera un neoantígeno que es reconocido por un anticuerpo natural quedando de esta forma marcado para ser retirado de circulación por los macrófagos especialmente del bazo.¹ (Figura 1)

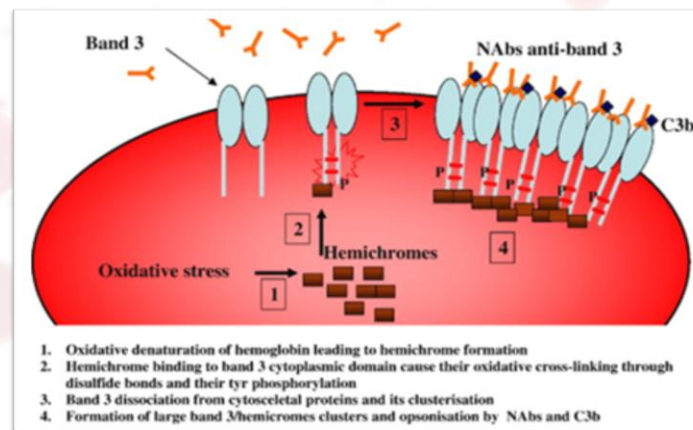


Figura 1. Tomado de: Pantaleo A. Et al Naturally occurring anti-band 3 antibodies and red blood cell removal under physiological and pathological conditions. *Autoimmunity Reviews* 2008; 7(6): 457-462

¹ Pantaleo A. Et al Naturally occurring anti-band 3 antibodies and red blood cell removal under physiological and pathological conditions. *Autoimmunity Reviews* 2008; 7(6): 457-462



Adicional a la fijación del anticuerpo se generan cambios en la morfología del eritrocito, la agregación de esta proteína denaturada induce el aumento de la curvatura de la membrana eritroide desencadenando la formación de vesículas que se desprenden en circulación, el eritrocito pierde superficie, se vuelve esférico, pierde capacidad de deformarse y se produce hemólisis en la microcirculación esplénica. La pérdida de membrana provocada tanto por el retiro de complejos Ag-Ac como por la vesiculación hace que se disminuya el contenido de colesterol y fosfolípidos de la membrana provocando que se exponga la fosfatidil serina que también es blanco de fagocitosis dado que es una molécula trombogénica.

En el modelo de eriptosis los cambios que se producen llevan a la hemólisis extravascular de los eritrocitos, estos cambios son ocasionados por un aumento de calcio intracelular. Por la similitud de los cambios que ocurren durante la apoptosis de células nucleadas ya que en ambos procesos hay acumulación de calcio intracelular, fue que a este modelo de muerte celular se le dio el nombre de “eriptosis”.²

El eritrocito entra en eriptosis cuando se somete a tres tipos de estrés: energético, reductor y osmótico. Cualquiera de estas circunstancias trae como consecuencia un aumento a la permeabilidad del calcio lo que conduce a un aumento de calcio intracelular libre. En la eriptosis se producen cambios en la membrana del eritrocito provocando que sean retirados de circulación por los macrófagos, previniendo de esta forma la hemólisis intravascular.

El estrés energético tiene que ver con la pérdida de la capacidad para producir ATP, ADP, AMP, de glucólisis. La reducción de ATP afecta la ATPasa de calcio, reduciendo su actividad y por tanto impidiendo la salida de calcio con la consecuente acumulación intracelular de calcio.

El estrés oxidativo es producido por la disminución del poder reductor del eritrocito, que se expresa en la disminución del NADH y NADPH, que traen como consecuencia la disminución de la disponibilidad de glutatión reducido provocando un aumento de la permeabilidad de la membrana al calcio y el consecuente aumento intracelular de este.

El estrés osmótico es provocado por la activación de la fosfolipasa A2 produciendo ácido araquidónico que por acción de la ciclooxigenasa es convertido en prostaglandina E2, esta última estimula el canal catiónico aumentando de esta forma la entrada de calcio al eritrocito. El aumento de calcio intracelular provoca la salida de potasio por los canales sensibles a calcio, igualmente salen cloro y agua haciendo que la célula se contraiga, estos procesos activan la escramblasa que mantiene secuestrada la fosfatidil

² Lang K, Lang P, Bauer C, Duranton C, Wieder T, Huber S, Lang F. Mechanisms of suicidal erythrocyte death. *Cell Physiol Biochem* 2005; 15:195-202.



serina en la capa interna de la doble capa lipídica provocando que la fosfatidil serina se exponga en la membrana y como ya vimos esta molécula es blanco de fagocitosis para los macrófagos. Adicionalmente el desequilibrio osmótico activa la ceramida y la calpaína que son enzimas que degradan las proteínas del citoesqueleto. Por otro lado, todo el proceso favorece la hiperpolarización de la membrana celular, la formación de espículas que se desprenden y disminuyen el volumen celular y hacen que la célula sea rígida y se destruya en la microcirculación esplénica.

El envejecimiento o senescencia de los GR está asociado a cambios morfológicos, disminución de volumen, microvesiculación de la membrana plasmática, degradación de proteínas del citoesqueleto y pérdida de la asimetría de los fosfolípidos de membrana con exposición de fosfatidilserina.³

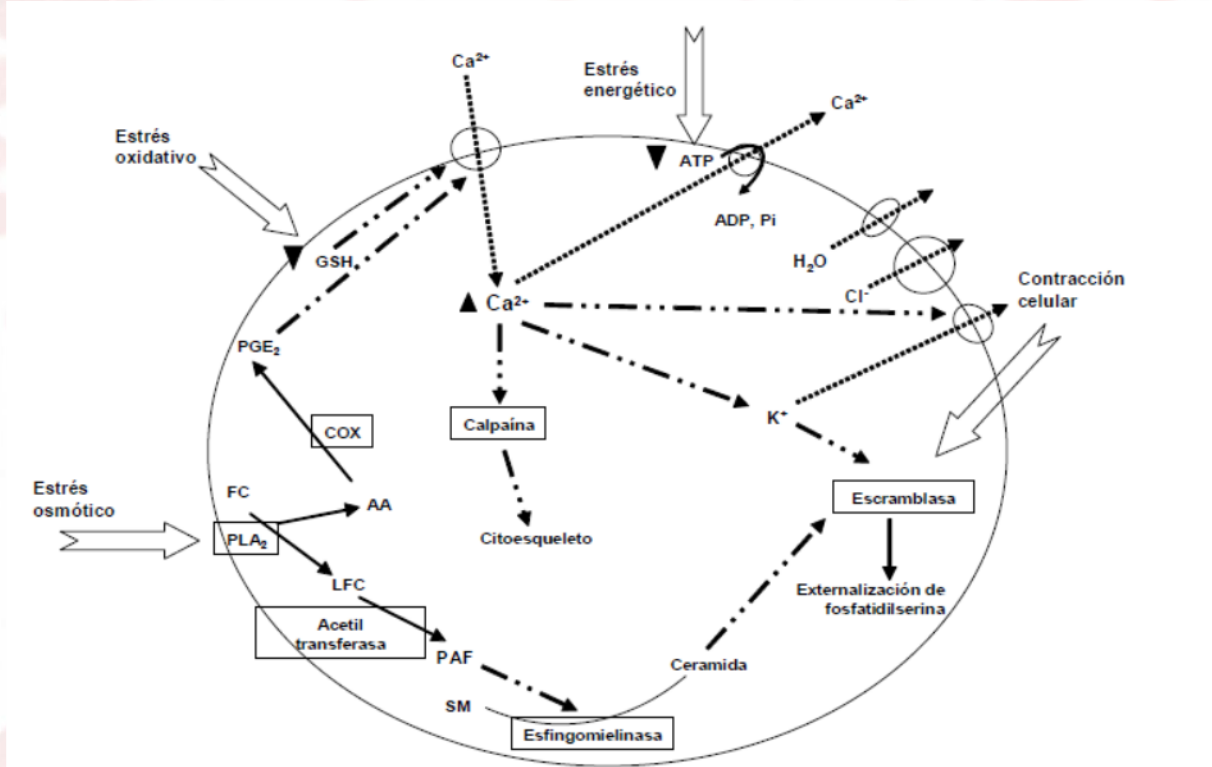


Figura 2. Tomado de Quintanar NA, Calderon JV. Eriptosis, la apoptosis del eritrocito. REB 2006; 25(3):85-89.

Adicional a todo lo que se ha mencionado que provoca el aumento de calcio intracelular se ha visto que este aumento inactiva la fosfolipasa 1B que como se estudió en el

³ Bratosin D, Estaquier J, Petit F, Arnoult D, Quatannens B, Tissier J. Programmed cell death in mature erythrocytes: a model for investigating death effector pathways operating in the absence of mitochondria. *Cell Death Differ* 2001; 8:1143-1156.



capítulo de membrana, es la encargada de impedir la fosforilación de la banda 3, favoreciendo el proceso de agrupamiento de la banda 3.

LESIONES DE ALMACENAMIENTO

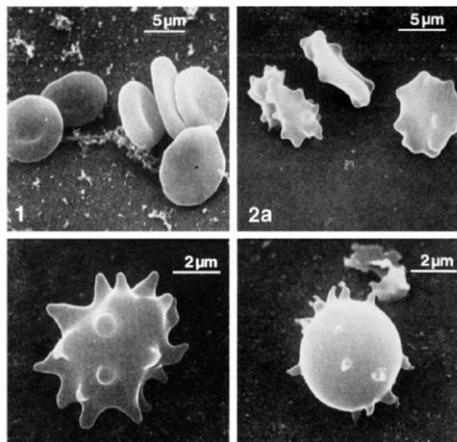


Fig. 1 – Evolution of a fraction of stored RBCs during storage. Evolution from a smooth discoid shape (top left) to echinocytes (top right) and spheroid shape with specula (bottom). Reproduced from [9] with permission.

Figura 3. Tomado de: Lion N, Crettaz D, Rubin O, Tissot J. Stored red blood cells: A changing universe waiting for its map(s). *J Proteomics*2010;73: 374–385

Se denominan “lesiones de almacenamiento” a todos aquellos cambios que sufren las células sanguíneas en condiciones de almacenamiento controladas y que traen como consecuencia la alteración de su función biológica.⁴

Desde hace años se vienen haciendo publicaciones cada vez más frecuentes y con mayor evidencia de los cambios morfológicos, estructurales y las alteraciones metabólicas que sufren los eritrocitos y las plaquetas en condiciones óptimas de recolección y almacenamiento.

Hay también evidencia suficiente que muestra el riesgo de transfusión de eritrocitos dependiendo del tiempo de almacenamiento, mientras más cercanos a la fecha de vencimiento las evidencias clínicas han mostrado morbilidad y mortalidad asociada a estas transfusiones.^{5,6,7,8,9,10,11,12,13,14}

4 Escamilla Guerrero G. Lesiones de almacenamiento. *Mex Med Tran* 2010; 3(1)S48-S54

5 Marik PE, Sibbald WJ: Effect of stored-blood transfusion on oxygen delivery in patients with sepsis. *JAMA* 1993; 269:3024-3029

6 Murphy GJ, Reeves BC, Rogers CA, Rizvi SIA, Culliford L, Angelini GD. Increased mortality, postoperative morbidity, and cost after red blood cell transfusion in patients having cardiac surgery. *Circulation*. 2007; 116: 2544–2552.

7 Hebert PC, Tinmouth A, Corwin HL: Controversies in RBC transfusion in the critically ill. *Chest* 2007; 131:1583-1590

8 Spinella PC, Perkins JG, Grathwohl KW Effect of plasma and red blood cell transfusions on survival in patients with combat related traumatic injuries. *J Trauma* 2008;64(2):S69-77

9 Tinmouth, A., Fergusson, D., Yee, I.C., Hebert, P.C. & Investigators A, Canadian Critical Care Trials G. Clinical consequences of red cell storage in the critically ill. *Transfusion* 2006, 46, 2014–2027.

10 Koch CG, Li L, Sessler DI, Figueroa P, Hoeltge GA, Mihaljevic T. Duration of red-cell storage and complications after cardiac surgery. *N Engl J Med*. 2008;358:1229-39.

11 Zimrin AB, Hess JR Current issues relating to the transfusion of stored red blood cells. *Vox Sang* 2009; 96(2):93-103

12 Tinmouth A, Chin-Yee I: The clinical consequences of the red cell storage lesion. *Transfus Med Rev* 2001; 15:91-107



Los cambios físicos de los eritrocitos tienen que ver con la pérdida de la forma bicóncava provocada a su vez por la pérdida de membrana que se produce por la formación de microvesículas ricas en fosfolípidos que se desprenden y disminuyen la superficie del eritrocito.^{15,16,17,18} La pérdida en la relación volumen/superficie (V/S) hace que la célula se vuelva rígida y por tanto pierda su capacidad de deformarse. Como se observa en la figura 3, pasan de ser discocitos a acantocitos y de estos a microesferocitos.

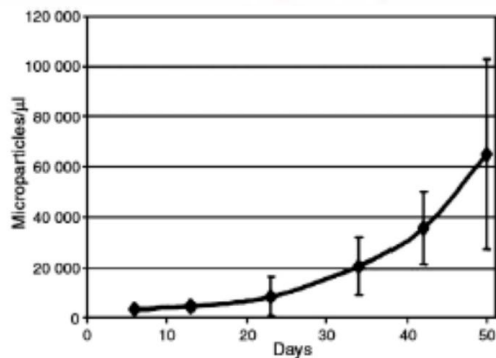


Fig. 2 – Increase in the concentration of microvesicles during storage of RBCs in SAGM

Figura 4. Tomado de: Lion N, Crettaz D, Rubin O, Tissot J. Stored red blood cells: A changing universe waiting for its map(s). *J Proteomics* 2010;73: 374 – 385

En la figura 4 se muestra la velocidad en la que se forman las microvesículas en una unidad de eritrocitos recolectados con SAGM, a partir del día 20 de recolección se observa un incremento en el proceso. La formación de estas microvesículas produce un daño que es irreversible.¹⁹

Adicional al daño morfológico que causan, la presencia de estas microvesículas en el plasma se han asociado con procesos trombogénicos. Y los lípidos que se liberan se han asociado a una de las reacciones postransfusionales más frecuentes, el TRALI.^{20,21}

Respecto a las alteraciones bioquímicas se ven afectados los mecanismos de óxido reducción, aumentando la concentración de metahemoglobina, que se acumula y se denatura convirtiéndose en hemicromos que modifican la banda 3, son por tanto eritrocitos en los que se desencadena un proceso de senescencia precoz. La

13 Ho J, Sibbald WJ, Chin-Yee IH: Effects of storage on efficacy of red cell transfusion: When is it not safe? *Crit Care Med* 2003; 31:S687-S697

14 Van De Watering L, Lorinser J, Versteegh M. Effects of storage time of red blood cell transfusions on the prognosis of coronary artery bypass graft patients. *Transfusion* 2006; 46(10):1712-8

15 Escamilla Guerrero G. Lesiones de almacenamiento. *Mex Med Tran* 2010; 3(1): S48-S54.

16 Rubin O, Crettaz D, Canellini G, Tissot JD, Lion N. Microparticles in stored red blood cells: an approach using flow cytometry and proteomic tools. *Vox Sang* 2008;95:289-97

17 Salzer U, Zhu R, Luten M, Isoe H, Pastushenko V, Perkmann T. Vesicles generated during storage of red cells are rich in the lipid raft marker stomatin. *Transfusion* 2008;48:451-62.

18 Lion N, Crettaz D, Rubin O, Tissot J. Stored red blood cells: A changing universe waiting for its map(s). *J Proteomics* 2010;73: 374 – 385

19 Greenwalt TJ. The how and why of exocytic vesicles. *Transfusion* 2006;46:143-52

20 Carrillo R, Carrillo C, Carrillo J, Carrillo L. Storage-induced morphological changes in erythrocytes. *Rev Invest Mex* 2012; 19(1):10-14

21 Anniss AM, Sparrow RL. Storage duration and white blood cell content of red blood cell (RBC) products increases adhesion of stored RBCs to endothelium under flow conditions. *Transfusion* 2006;46:1561-7.



disminución de los mecanismos de protección contra la oxidación provoca que los lípidos de la membrana se peroxiden y se exponga la fosfatidil serina. Como vemos estos glóbulos rojos quedan doblemente marcados para ser retirados de la circulación una vez sean transfundidos. Adicionalmente, se sabe que la fosfatidil serina tiene actividad procoagulante ya que es trombogénica.²²

Es necesario recordar que en las condiciones de almacenamiento a 4°C la bomba de Na/K está inactiva, por lo tanto hay una mayor afluencia de Na hacia los eritrocitos y una pérdida masiva de K al medio en el que están suspendidos. Después de la transfusión la recuperación de Na intracelular tarda 24 horas y la normalización del k hasta 4 días.

Otro cambio metabólico que se genera es la desaparición del 2,3 DPG durante la primera semana de almacenamiento, cambio que se produce dado que la fosfatasa de 2,3 DPG sigue activa a 4°C, esta concentración se recupera en un 100% solo hasta después de 3 días de la transfusión.²³ Se ha descrito que la adición de fofoenolpiruvato (PEP) disminuye la depleción de 2,3 DPG, pero no tiene efecto sobre los cambios morfológicos del eritrocito que como se dijo son irreversibles.²⁴

De igual forma en las tres primeras horas de almacenamiento se pierde el óxido nítrico asociado a la Hb, esto trae como consecuencia la pérdida de la capacidad de vasodilatación local que tiene el eritrocito.

Para terminar concluyo diciendo que los avances científicos y los esfuerzos de los bancos de sangre por asegurar la calidad de los hemoderivados han hecho que hoy en día el riesgo de transmisión de infecciones sea muy bajo. No obstante, derivado de las evidencias estudiadas en este capítulo, desde diferentes partes del mundo, los investigadores hacen un llamado para que se establezcan protocolos cada vez más estrictos en los criterios de transfusión de eritrocitos, que incluya una redefinición del tiempo máximo para su almacenamiento ya que como vimos a pesar de los esfuerzos que se ha hecho por alargar la vida de estas células se puede decir que es una vida larga pero inútil desde el punto de vista funcional.

²² Tinmouth A, Chin-Yee I: The clinical consequences of the red cell storage lesion. *Transfus Med Rev* 2001; 15:91-107

²³ Cho J, King JS, Qian X, Harwood AJ, Shears SB. Dephosphorylation of 2, 3-bisphosphoglycerate by MIPP expands the regulatory capacity of the Rapoport-Luebering glycolytic shunt. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:5998–6003.

²⁴ Hamanasky N, Yamamoto M. Red Blood Cell Function and Blood Storage *Vox Sang* 2000;79:191–197