

# La disfunción del eritrocito en la hipoxia tisular en pacientes con EPOC y su relación con estrés oxidativo

YESSICA DORIN TORRES-RAMOS ✉  
ARACELI MONTOYA-ESTRADA  
JUAN JOSÉ HICKS G.

*Dirección anterior:* Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias  
Ismael Cosío Villegas.

*Dirección actual:* Departamento de Bioquímica y Biología Molecular,  
Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes".

Trabajo recibido: 03-VII-2009; aceptado: 11-VI-2010

Conflicto de intereses: ninguno

## RESUMEN

356

*El organismo necesita oxígeno para que las células puedan ejercer su función respiratoria y generar ATP, por lo que una oxigenación deficiente provoca hipoxia tisular y alteraciones funcionales en las células. Esta condición ocurre en ciertas patologías respiratorias como la EPOC. Los pacientes con EPOC presentan un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno originadas en diferentes tejidos. La generación de moléculas reactivas es concomitante a la disminución en la eficiencia de los sistemas antioxidantes, dando lugar a una situación metabólica que propicia un desequilibrio de la homeostasis óxido-reductora denominado estrés oxidativo. Como consecuencia de este estrés se presentan modificaciones estructurales y funcionales en prácticamente todos los sistemas celulares y tejidos.*

### Palabras clave:

Hipoxia tisular, EPOC, estrés oxidativo, eritrocito, intercambiador aniónico, radicales libres.

**Key words:** Tissue hypoxia, COPD, oxidative stress, erythrocyte, anionic exchanger, free radicals.

*Esto incluye a los eritrocitos, en los que hay una disminución de su capacidad para transportar y difundir oxígeno hacia los tejidos, ya que la hemoglobina presenta menor capacidad de oxigenación como consecuencia de la oxidación del hierro al estado férrico (metahemoglobina). Por otro lado, el eritrocito necesita mantener la integridad de su membrana, sustentada en la función catalítica de las proteínas que conforman la denominada banda 3, que constituye el mayor*

## ABSTRACT

*The body needs oxygen in order to cells exert their respiratory function and generate ATP, and thus insufficient oxygenation provokes tissue hypoxia and functional cell abnormalities. This condition occurs in certain respiratory diseases such as COPD. Patients with COPD have an increased production of reactive oxygen- or nitrogen- species originated in different tissues. The generation of reactive molecules is concomitant with a decreased efficiency of antioxidant systems, resulting in a metabolic state that favors an imbalance of redox homeostasis called oxidative stress. As a result of this stress, structural and functional changes occur in nearly all tissues. This includes erythrocytes, in which a diminished ability to transport and diffuse oxygen to tissues exist because of a decreased oxygen-carrying ability of hemoglobin due to the oxidation of iron to the ferric state (methemoglobin). On the other hand, erythrocytes need to maintain the integrity of its membrane, supported by the catalytic function of proteins that make up the so-called band 3, constituted by the main aggregate of proteins embedded in its membrane and that, due to its structure, is also likely to be affected by the oxidative stress in COPD.*

*agregado de proteínas embebido en su membrana y que, dada su estructura, también es susceptible de ser afectada por el estrés oxidativo de la EPOC.*

## INTRODUCCIÓN

Los eritrocitos son el principal mecanismo de transporte de oxígeno ( $O_2$ ), desde los pulmones a las células y tejidos del cuerpo. Tienen una forma bicóncava que les permite adaptarse a una mayor superficie de intercambio de  $O_2$  por dióxido de carbono en los tejidos. Su membrana es flexible, lo que les permite atravesar los más estrechos capilares.

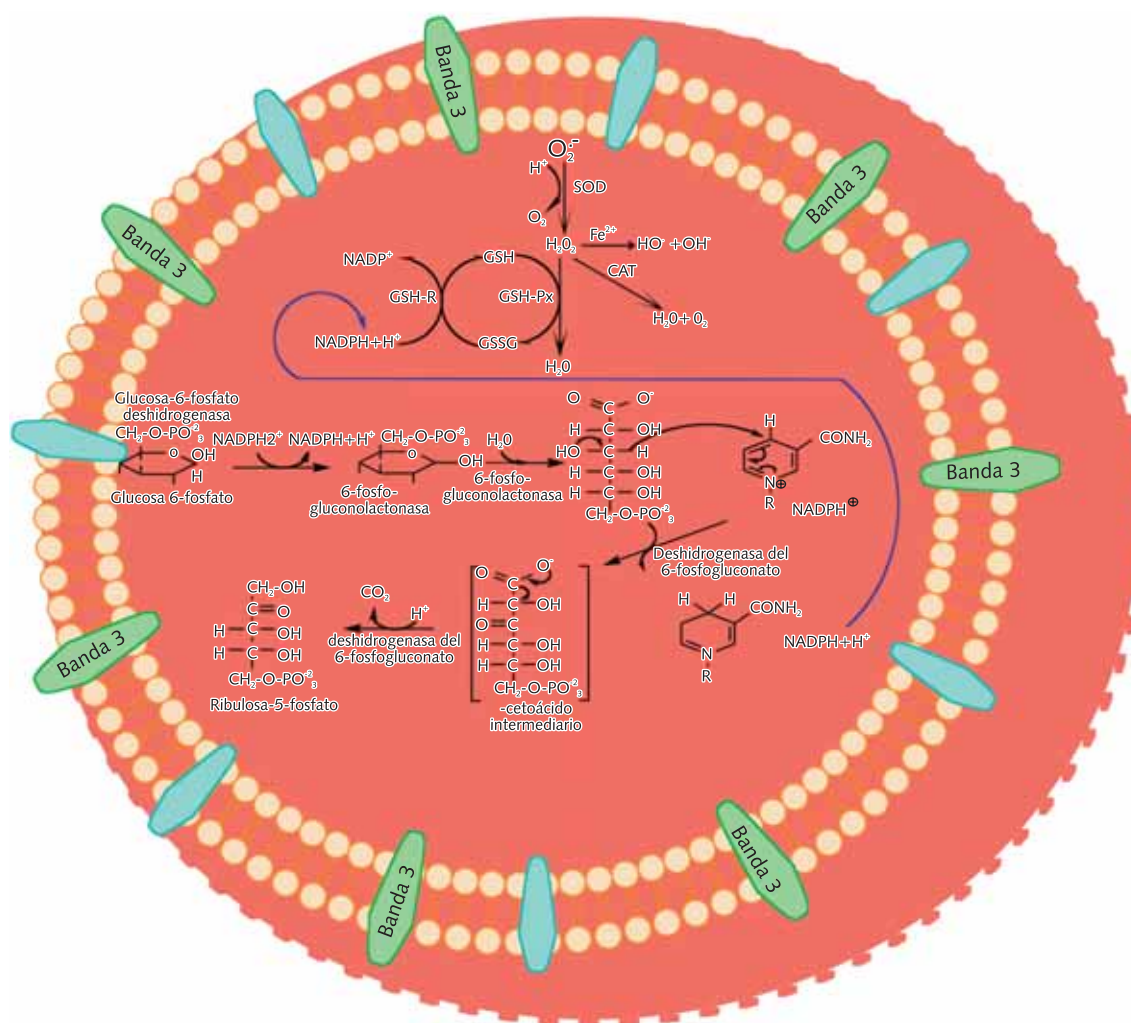
Los eritrocitos carecen de núcleo y pierden sus mitocondrias en la medida en que maduran y, como consecuencia, no poseen una maquinaria celular que les permita obtener energía eficientemente, sintetizar proteínas y ácidos nucleicos comparados con el resto de las células del organismo. Por esta razón, el eritrocito utiliza vías alternas para mantener constantes los niveles de adenosín trifosfato (ATP, del inglés *adenosine triphosphate*), así como el poder reductor necesario para cumplir sus funciones vitales, p. ej., mantener la integridad de su membrana (Figura 1). En apoyo a esta observación, se ha demostrado que los eritrocitos presentan un sistema antioxidante muy eficiente constituido por enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión reductasa y glutatión peroxidasa.<sup>1</sup> Adicionalmente, la membrana del eritrocito contiene un canal aniónico por el que puede pasar el anión superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), radical que es poco permeable en la membrana celular; el anión superóxido en el interior del eritrocito es transmutado por la SOD<sup>2</sup> intracelular para formar  $H_2O_2$ . La capacidad del eritrocito para metabolizar especies reactivas de oxígeno (ERO) fue demostrada utilizando como reto el  $H_2O_2$  perfundido en pulmón de rata aislado, que es protegido por eritrocitos y al metabolizarse inhibe la generación de  $HO\bullet$  y  $HOCl$  y, en consecuencia, el daño pulmonar. Los eritrocitos expuestos a oxidantes se adhieren preferentemente a las células endoteliales debido a posibles modificaciones de su membrana.<sup>3</sup> Esta adherencia de los eritrocitos a la superficie endotelial, y su localización en el ambiente oxidante

podría significar que éste funciona como un filtro en la microcirculación pulmonar para el exceso de  $O_2^{\bullet-}$ ,  $H_2O_2$  y así prevenir la formación de especies reactivas más tóxicas como el  $HO\bullet$  y el  $HOCl$ .<sup>4</sup> Los eritrocitos de pacientes fumadores contienen más glutatión reducido (GSH) y CAT que los de individuos no fumadores, debido a que los eritrocitos de fumadores están constantemente expuestos a un estrés oxidativo (EO).<sup>5</sup>

El metabolismo de los eritrocitos es limitado dada la ausencia de núcleo, mitocondria y otros organelos subcelulares. Aunque la unión, transporte y liberación de  $O_2$  y dióxido de carbono es un proceso pasivo que no requiere energía, existe una variedad de procesos metabólicos dependientes de energía que son esenciales para la viabilidad del eritrocito. Las vías metabólicas más importantes para el eritrocito maduro necesitan de glucosa como sustrato. Estas vías son: la glucólisis, ciclo de las pentosas fosfato, vía de la hemoglobina reductasa y ciclo de Rapoport Luebering.<sup>6</sup> Para mantener la integridad de la membrana, el eritrocito requiere de sistemas antioxidantes eficientes (Figura 2) para llevar a cabo sus funciones biológicas.<sup>7,8</sup>

## MEMBRANA DEL ERITROCITO

La membrana del eritrocito es la responsable de la mayoría de las funciones fisiológicas, está formada por una bicapa lipídica plana, constituida en un 80% por fosfolípidos, colesterol y, en menor medida, por glicolípidos y aminofosfolípidos distribuidos asimétricamente.<sup>9</sup> De igual forma, se encuentran embebidas parcial o totalmente en ella las proteínas integrales de membrana, unidas por enlaces hidrofóbicos. Su libre desplazamiento a través de esta bicapa contribuye a mantener su fluidez. Las proteínas periféricas interactúan entre sí para formar una malla o enrejado que recubre la cara interior de la doble capa de fosfolípidos y son los responsables de la estabilidad y las propiedades viscoelásticas de la membrana. Entre otras proteínas destacan la espectrina y la



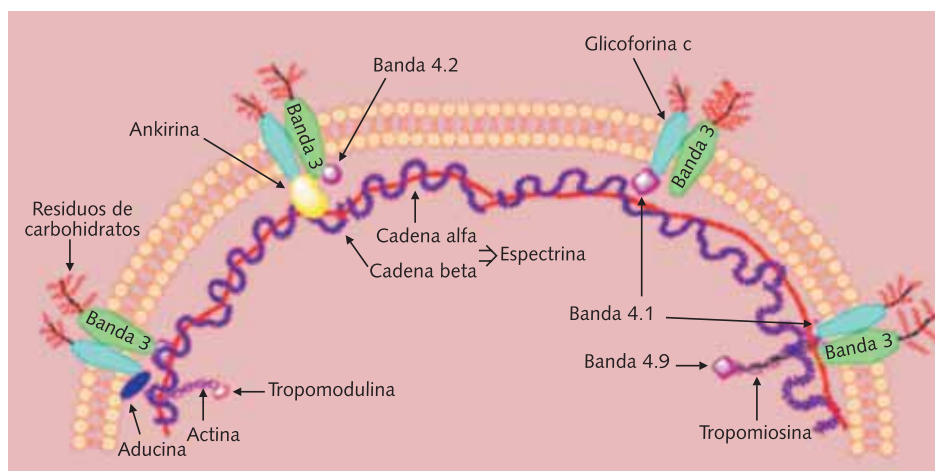
**Figura 1.** Vías metabólicas del eritrocito involucradas para mantener su capacidad antioxidante. El metabolismo de los eritrocitos es limitado, debido a la ausencia de núcleo, mitocondria y otros organelos subcelulares. Aunque la unión, transporte y liberación de  $O_2$  y bióxido de carbono es un proceso pasivo que no requiere energía, existe una variedad de procesos metabólicos dependientes de energía que son esenciales para la viabilidad de la célula. Estas vías contribuyen con energía al mantener el potasio intracelular alto; el sodio intracelular bajo y un calcio intracelular muy bajo (bomba de cationes); Hb en forma reducida; elevados niveles de glutatión reducido; e integridad y deformidad de la membrana.

ankirina que constituyen por su desplazamiento electroforético a las bandas 2.1, 2.2, 2.3, y 2.6, proteínas de las bandas 4.1, banda 4.2 y la banda 4.9, aducina, tropomiosina, banda 7 y finalmente, la banda 3, que es la proteína intrínseca más abundante en el eritrocito.<sup>10</sup>

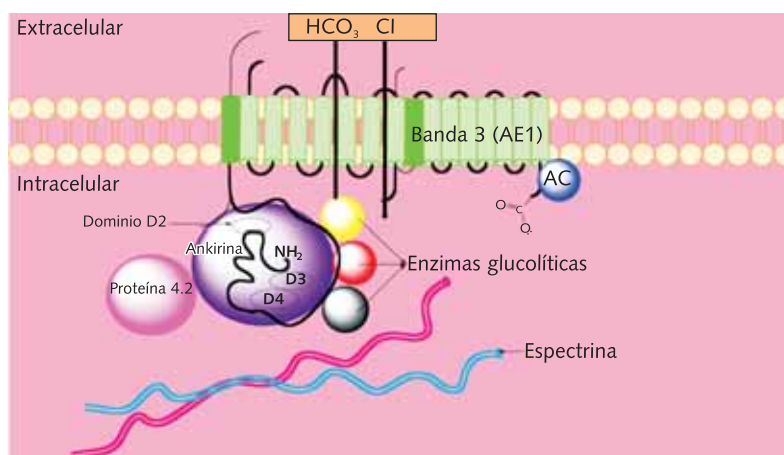
La banda 3 constituye el elemento central de un macrocomplejo de proteínas integrales y

periféricas en la membrana del eritrocito. Esta proteína fue identificada por primera vez en eritrocitos; y se designó como banda 3, por ser la tercer banda que aparecía en la parte superior del gel de poliácridamida<sup>10</sup> en un proceso de electroforesis.

El intercambiador aniónico de banda 3 (AE1, anionic exchanger 1 [Figura 3]) tiene un peso



**Figura 2.** Estructura de la membrana del eritrocito. El modelo que se observa en la figura detalla la red de proteínas de membranas asociadas con el citoesqueleto y que están involucradas en el control de la forma del eritrocito, uniones con otras células y con el sustrato, así como en la organización de dominios especializados de la membrana.



**Figura 3.** Intercambio aniónico por la banda 3. El término banda 3 se refiere a un grupo de intercambiadores aniónicos (AE 0-3) que están presentes en la membrana de todas las células y organelos celulares, y que participan en diversas actividades fisiológicas; entre las que destacan, el intercambio bicarbonato/cloruro, unión de IgG y remoción celular y el mantenimiento de la integridad celular. AE 1 constituye el elemento central integral de un macrocomplejo proteico en el contexto de la organización de la membrana del eritrocito que está constituido por tres dominios con funciones estructurales y metabólicas específicas.

molecular aproximado de 95 kDa y es el prototipo de todos los AEs (intercambiadores aniónicos) constituido por 911 aminoácidos, presenta alrededor de  $1.2 \times 10^6$  copias por célula. Esta proteína multifuncional tiene tres dominios: un dominio de membrana transversal donde ocurre

el intercambio bicarbonato/cloruro ( $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ ), un dominio citoplasmático corto C-terminal, y un dominio citoplasmático largo N-terminal.<sup>11</sup> El dominio C-terminal citoplasmático de la banda 3 une la anhidrasa carbónica II (CA II), formando un complejo metabólico que permite el paso de bi-

carbonato en la fase citoplásmica de la banda 3.<sup>12</sup> El dominio citoplásmico N-terminal de la banda 3 une a diversas enzimas glucolíticas, hemoglobina (Hb) y hemicrones, que pueden inducir la agregación de la banda 3 y el recambio celular.<sup>13</sup> Una función fundamental del dominio N-terminal de la banda 3, es el anclaje de la membrana eritrocitaria al citoesqueleto subyacente.<sup>14</sup> El citoesqueleto del eritrocito es muy importante ya que le proporciona su forma bicóncava permitiéndole soportar las grandes tensiones mecánicas a las que se ve sometido durante su paso por los finos capilares.<sup>15</sup> De hecho, existen alteraciones en las proteínas que conforman el citoesqueleto que conllevan a la formación de eritrocitos con formas anormales. Estos eritrocitos anómalos son más propensos a fragmentarse originando cuadros de anemia hemolítica.<sup>16-19</sup> De ahí la importancia para que el eritrocito mantenga la integridad de sus sistemas antioxidantes y su membrana, y cumplir con sus funciones vitales como es el transporte de O<sub>2</sub>.

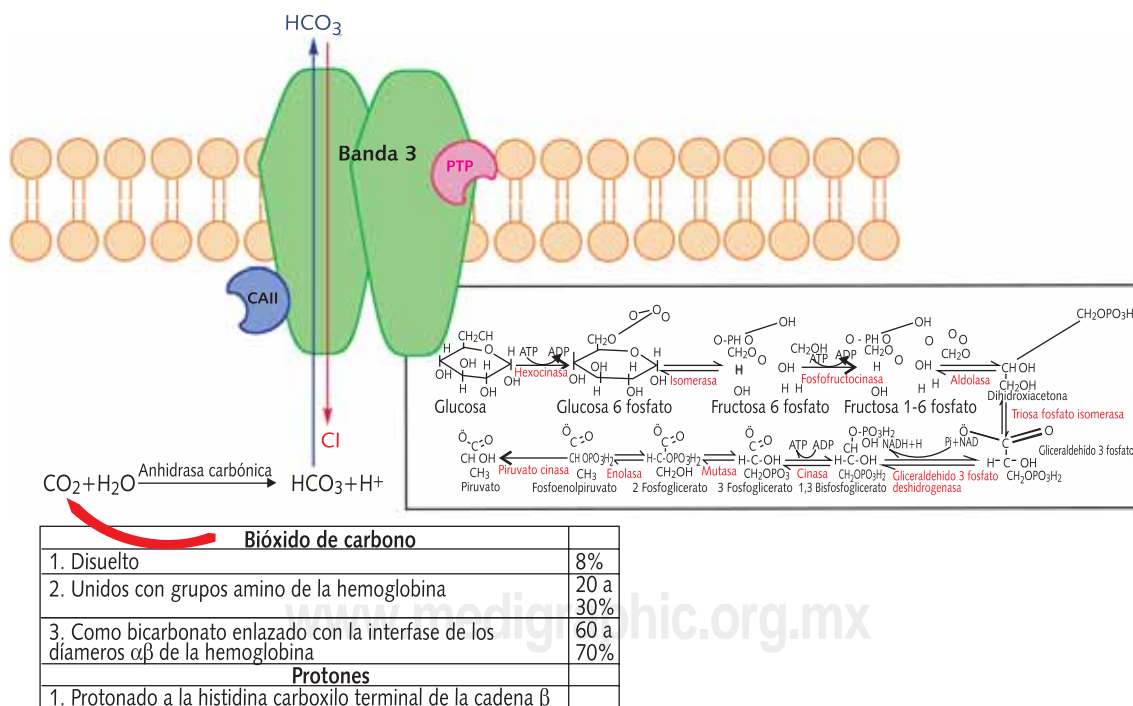
## TRANSPORTE DE OXÍGENO

La sangre transporta el O<sub>2</sub> desde los pulmones hasta los diversos tejidos, donde este gas participa en la respiración aeróbica, que es la reducción del O<sub>2</sub> por los electrones, con la incorporación concertada de protones al final de la cadena de transporte de electrones para formar agua.

Por otra parte, el CO<sub>2</sub> generado por la degradación de compuestos orgánicos se lleva por la sangre, que va desde los tejidos hacia los alvéolos pulmonares donde se libera al medio.<sup>20</sup> El O<sub>2</sub> es transportado disuelto en la sangre o unido a la Hb. Sólo alrededor de 1.5% del O<sub>2</sub> se transporta disuelto en la sangre, mientras que el 81% se transporta como bicarbonato generado por la extrusión del eritrocito; el resto, unido al grupo amino forma un carbamato y libera protones.

La reacción del CO<sub>2</sub> con el agua es catalizada por la anhidrasa carbónica en el eritrocito generando ácido carbónico<sup>21</sup> (pK 6.35) el cual, a su

360



**Figura 4.** Extrusión del CO<sub>2</sub>. El O<sub>2</sub> es transportado disuelto en la sangre o unido a la Hb. Una parte del CO<sub>2</sub> se lleva disuelto en la sangre (8%), mientras que el resto entra en los eritrocitos y allí reacciona con los grupos amino de la Hb (20-30%) o con el agua (60-70%). La reacción del CO<sub>2</sub> con el agua es catalizada por la anhidrasa carbónica, en ella se produce ácido carbónico, que a su vez se disocia en protones y bicarbonato. En forma de bicarbonato, el CO<sub>2</sub> se une a la Hb y de esta forma se transporta.



vez, se disocia en protones y bicarbonato (Figura 4). En forma de bicarbonato, el  $\text{CO}_2$  se une a la interfase entre los dímeros  $\alpha\beta$  de la Hb y se transporta. En ambas reacciones se liberan protones, por lo que el pH de la sangre puede volverse más ácido; sin embargo, la Hb capta a través de sus cargas negativas a los protones que serán nuevamente liberados en los pulmones. La Hb funciona como un transportador de  $\text{O}_2$ , bióxido de carbono y protones.<sup>20</sup>

El  $\text{O}_2$  y el bióxido de carbono no compiten por el grupo hemo de la Hb; pero, para que ésta pueda unirse al  $\text{CO}_2$  o a los protones primero debe liberar al  $\text{O}_2$ . La oxigenación de la Hb en los pulmones libera  $\text{CO}_2$  y los protones de la Hb. Estos protones se unen con el bicarbonato para formar ácido carbónico, que por acción de la anhidrasa carbónica origina de nuevo  $\text{CO}_2$ , el cual se exhala.

El organismo necesita  $\text{O}_2$  para que las células puedan ejercer su función respiratoria concomitante con la generación de ATP, por lo que una oxigenación deficiente provoca hipoxia tisular y alteraciones funcionales en las células del organismo, circunstancia que se ve reflejado en ciertas patologías respiratorias como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).<sup>22</sup>

## HIPOXIA TISULAR

La hipoxia tisular ocurre cuando la presión de  $\text{O}_2$  en los capilares es insuficiente para aportar el  $\text{O}_2$  indispensable en las necesidades fisiológicas. La oxigenación tisular es el regulador más importante en la producción de eritrocitos. Cualquier trastorno que reduzca la cantidad de  $\text{O}_2$  transportada a los tejidos aumenta habitualmente la producción de eritrocitos. En altitudes muy altas, donde la cantidad de  $\text{O}_2$  en el aire está muy reducida, se transporta una cantidad insuficiente de éste a los tejidos, y la producción de eritrocitos se ve aumentada. En este caso, no es la concentración de eritrocitos en la sangre la que controla su producción, sino la cantidad de  $\text{O}_2$  transportado a los tejidos en relación con la demanda tisular de  $\text{O}_2$ .

Varias enfermedades de la circulación que reducen el flujo sanguíneo a través de los vasos periféricos, y en particular las que impiden la absorción de  $\text{O}_2$  por la sangre a su paso por los

pulmones, pueden aumentar la producción de eritrocitos. Esto se ve especialmente en la insuficiencia cardíaca prolongada y en muchas enfermedades pulmonares (EPOC), porque la hipoxia tisular debida a estos trastornos aumenta la producción de eritrocitos, con un incremento resultante del hematócrito y también del volumen sanguíneo.

La producción de eritrocitos se encuentra estimulada por la hormona denominada eritropoyetina, en cuya ausencia las situaciones de hipoxia no estimulan la producción de eritrocitos. Esta hormona se forma principalmente en el riñón y en menor cantidad en el hígado. La eritropoyetina tiene como acción principal la estimulación de la producción de proeritroblastos a partir de las células eritropoyéticas madres en la médula ósea. La producción de eritropoyetina se inicia principalmente en situaciones de hipoxia, estimulando la producción de eritrocitos en cantidad suficiente para mejorar el transporte de  $\text{O}_2$  a los tejidos. Una vez que completa la cantidad de células para el transporte de  $\text{O}_2$ , la producción de eritropoyetina se detiene. En ausencia de la eritropoyetina, la médula ósea produce muy pocos glóbulos rojos y, frente a un exceso de esta hormona, la producción de éstos puede llegar hasta 10 veces o más del valor normal. Este efecto se observa en la EPOC y en otras enfermedades con hipoxemia crónica, como también en exposiciones prolongadas a la altura. El aumento en la concentración de Hb es uno de los principales mecanismos de compensación, ya que permite aumentar e incluso normalizar la capacidad de transporte de  $\text{O}_2$  aunque persista la hipoxemia.

Varias observaciones apoyan el papel patológico de la hipoxia tisular en el desarrollo de la EPOC:

- a) La hipoxia crónica suprime la síntesis de proteínas en las células musculares, causando pérdida neta de aminoácidos y de la expresión de distintas isoformas de la cadena pesada de la miosina.
- b) El musculoesquelético de pacientes con EPOC y disfunción respiratoria crónica presenta alteraciones estructurales, como es la pérdida de fibras tipo I y funcionales conduciendo a una sobreexpresión de la citocromooxidasa, proporcionales a la severidad de la hipoxemia arterial.

Se ha demostrado una relación directa entre el grado de hipoxemia arterial y la actividad de la enzima citocromo oxidasa (enzima clave de la cadena respiratoria mitocondrial que acopla al  $O_2$  a los electrones y protones para formar agua como producto de la respiración) en el músculo esquelético de pacientes con EPOC. Esta observación tiene relación con el gasto energético basal (GEB [energía que se gasta para mantener las funciones básicas como la respiración]) porque la citocromo oxidasa es la enzima mitocondrial causante del  $VO_2$ , a su vez causante directo del GEB.<sup>23</sup> Los linfocitos de pacientes con EPOC también presentan aumento de esta enzima, lo que indica que esta alteración bioenergética puede afectar a otros órganos.

La pérdida de peso es un indicador importante en los pacientes con EPOC y su valor pronóstico es independiente de otras variables pronosticas de la evolución del padecimiento, como el  $FEV_1$  o la  $PAO_2$ , que informan sobre el grado de disfunción pulmonar. Por lo tanto, es importante considerar la pérdida de peso como una variable sistémica de valor pronóstico en la EPOC.<sup>24</sup>

La hipoxia celular, un factor que limita la producción energética celular, afecta claramente la síntesis proteica celular.<sup>25</sup> La hipoxia produce una inhibición aguda de la síntesis de proteínas mitocondriales.<sup>26</sup> Además, la hipoxia crónica inhibe la síntesis proteica en células musculares causando una pérdida neta de aminoácidos y reduciendo la expresión de miosina.<sup>27</sup>

Por su parte, niveles inadecuadamente elevados de dióxido de carbono contribuyen de manera significativa a incrementar la acidosis intracelular en el músculo esquelético.<sup>28</sup> La acidosis intracelular conlleva efectos deletéreos en la maquinaria enzimática de la célula muscular inhibiendo la actividad de enzimas clave en el metabolismo energético. Estudios realizados en pacientes con insuficiencia respiratoria aguda demuestran niveles disminuidos de ATP y fosfocreatina intracelulares.<sup>29</sup> Además, la incubación de músculo aislado a niveles elevados de dióxido de carbono resulta en una disminución de los niveles de fosfocreatina y en la relación ATP/ADP.<sup>30</sup> En las exacerbaciones severas de la EPOC, la acidosis es un fenómeno que frecuentemente acompaña a la

hipoxemia. La acidosis estimula la degradación proteica mediada por el sistema ubiquitina-proteasoma. Más aún, la corrección de la acidosis tanto en modelos animales como en humanos reduce la tasa de degradación proteica. La hipoxia tisular presente en los pacientes con EPOC, por la vía de la xantinaoxidasa<sup>31</sup> lleva a la producción de especies reactivas de oxígeno/nitrógeno (EROS/ERON).

## LA EPOC Y SU RELACIÓN CON EL ESTRÉS OXIDATIVO

La generación de moléculas reactivas es concomitante a la disminución en la eficiencia de los sistemas antioxidantes, dando lugar a una condición metabólica que propicia un desequilibrio de la homeostasis óxido-reductora denominado EO.<sup>1</sup>

Algunas de las principales fuentes de radicales libres son el humo del cigarrillo, material particulado<sup>32</sup> y el humo de leña,<sup>33</sup> lo que ocasiona un incremento en la presencia de neutrófilos en el tracto respiratorio inferior, lo cual conduce a la liberación de una cantidad adicional de ERO de origen leucocitario que contribuye al daño celular.<sup>2</sup> Esta gran producción de ERO constituye una carga intrapulmonar creciente de oxidantes. Estudios *in vitro* e *in vivo* indican que existen dos efectos importantes en la EPOC<sup>34</sup> originados por el EO: 1) cambios estructurales en el pulmón, llevando al daño irreversible del parénquima y en la pared de la vía aérea; 2) existe un desequilibrio entre la producción del ERO y las defensas antioxidantes que llevan a la activación de los factores de la transcripción (tales como factor-N-F-KB nuclear), a la inactivación de antiproteasas, al secuestro creciente de neutrófilos en la microvasculatura pulmonar.<sup>35</sup> Los niveles de  $H_2O_2$  en el aire exhalado se encuentran elevados en sujetos fumadores y pacientes con EPOC en comparación con exfumadores con EPOC y sujetos no fumadores.<sup>36</sup> Este fenómeno se ve incrementado durante los episodios de exacerbaciones de la enfermedad.<sup>37</sup> Además, la actividad de la enzima xantino oxidasa, capaz de generar anión superóxido y peróxido de hidrógeno, se encuentra incrementada en el líquido del lavado broncoalveolar y en el plasma de pacientes con EPOC y sujetos fumadores, en comparación con sujetos sanos y

no fumadores, respectivamente. Sujetos fumadores al igual que pacientes con EPOC presentan evidencia de EO en la circulación sistémica, particularmente durante las exacerbaciones.<sup>38</sup> El tabaquismo incrementa los niveles plasmáticos de F2-isoprostanos, un producto de la peroxidación del ácido araquidónico. El EO generado por el tabaco contribuye a las alteraciones cardiovasculares asociadas a este hábito y explican la disfunción endotelial sistémica presente en individuos fumadores.<sup>39</sup> La nicotina puede alterar la expresión de ciertos factores de crecimiento como el TGF- $\alpha$ 1, involucrado en el mantenimiento de la masa muscular y competir con la acetilcolina por el receptor en la unión neuromuscular pudiendo potencialmente afectar la contracción muscular.

### ALTERACIÓN DE LOS ERITROCITOS Y SU RELACIÓN CON EL ESTRÉS OXIDATIVO

Como consecuencia del EO, presente en la EPOC, se han observado modificaciones estructurales y funcionales en prácticamente todos los sistemas celulares y tejidos incluyendo a los eritrocitos, en los que se presenta una disminución en la capacidad de transporte y difusión del O<sub>2</sub> hacia los tejidos, dado que la Hb tiene una capacidad disminuida de oxigenación por la oxidación del hierro al estado férrico<sup>40</sup> (metahemoglobina). La unión del O<sub>2</sub> con la Hb es de cooperación y

está afectada por diversos factores, como son: temperatura, pH y algunos efectores alostéricos (2,3-bisfosfoglicerato). Para evitar la inactivación de la Hb debido al cambio redox, el eritrocito cuenta con una eficiente maquinaria reductora, que es un proceso que evita la oxidación de la Hb, la cual requiere de la oxidación concertada del GSH (L- $\gamma$ -glutamyl-L-cisteinil-glicina GSH) a glutatión oxidado, así como del proceso de reducción de esta última molécula que, a su vez, requiere de la disponibilidad del NADPH + H generado por la vía de las pentosas. Por otro lado, un exceso de ERO en el medio extracelular afecta principalmente la agregación con una respuesta bifásica, la agregación es facilitada por el O<sub>2</sub><sup>•-</sup> en baja concentración e inhibida por concentraciones altas. Estos efectos se deben a alteraciones del glicocálix. Por el contrario, un exceso intracelular de ERO afecta principalmente la deformación, en parte por la degradación de las proteínas del citoesqueleto, la espectrina y las proteínas de la banda 3.

A su vez, el óxido nítrico (NO<sup>•</sup>), es capaz de aumentar la deformación de los eritrocitos. El NO<sup>•</sup> es un gas generado a partir del aminoácido L-arginina por las óxido nítrico sintasas (NOS). Existen dos isoformas de la NOS, las llamadas tipo I, neuronal (nNOS) y las de tipo III o endotelial (eNOS), se expresan constitutivamente. Mientras que la tipo II, denominada inducible

363

**Tabla I.** Alteraciones biológicas en los eritrocitos de pacientes con EPOC debido al estrés oxidativo.

Modificaciones en el eritrocito	Referencias
Presentan una disminución en la capacidad de transporte y liberación periférica de O <sub>2</sub> , conduciendo a la hipoxia tisular típica de la EPOC que favorece la disminución muscular.	22
El cambio oxidativo producido por ERO puede compararse con los que presenta un eritrocito prematuramente envejecido. Este daño oxidante puede contrarrestarse con la utilización de antioxidantes <i>in vivo</i> o <i>in vitro</i> en retos experimentales.	41
En los eritrocitos de pacientes con EPOC se encuentra disminuida la concentración de GSH, y se presenta un aumento en la susceptibilidad endógena al estrés oxidativo. Aumenta la oxidación de oxihemoglobina a metahemoglobina.	42
Los eritrocitos de pacientes con EPOC presentan modificaciones morfológicas y funcionales con una disminución en la expresión de membrana glicoforina. Estas alteraciones pueden explicar la modificación de la plasticidad del eritrocito que es esencial para su funcionamiento y forma.	43

O<sub>2</sub>: Oxígeno; ERO: Especies reactivas de oxígeno; EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica; GSH: Glutatión reducido.



(iNOS) lo hace en respuesta a una variedad de estímulos que incluyen citocinas, oxidantes y/o hipoxia.<sup>14</sup> El papel del NO• en la EPOC podría tener efecto a través de varias vías:

- 1) Dado que el número de capilares en el músculo esquelético de pacientes con EPOC está reducido, podría suceder que la expresión de la eNOS estuviese también reducida. Este efecto podría afectar el control de la microcirculación y el aporte de O<sub>2</sub> al músculo en contracción y resultar, eventualmente, hipoxia;
- 2) La inflamación sistémica podría sobreexpresar la iNOS en el músculo esquelético. El incremento en la producción del NO•, resultante de la expresión de iNOS, puede causar nitro-tirosinación de proteínas y facilitar la degradación proteica y/o aumentar la apoptosis muscular;
- 3) La inducción de iNOS podría causar fallo en la contracción; y con ello, limitar potencialmente la tolerancia al ejercicio en los pacientes con EPOC.

En la Tabla I se presentan diversas investigaciones donde se han demostrado las alteraciones que presentan los eritrocitos de pacientes con EPOC atribuibles al EO.

Para poder evaluar el EO en pacientes con EPOC se han propuesto biomarcadores plasmáticos, que han sido utilizados para estimar la lesión y degradación de biomoléculas en circulación (lípidos, proteínas, carbohidratos, etc.) y de membranas celulares. Además, los biomarcadores pueden ayudar a determinar el grado de lesión oxidativa.

## CONCLUSIÓN

En la EPOC se presenta la afectación de la función del eritrocito, reflejada en la modificación de la elasticidad de su membrana, la extrusión del CO<sub>2</sub>, así como la eficiencia de oxigenación de la Hb en el mecanismo del sistema amortiguador carbónico-carbonato regulado por la actividad enzimática de la anhidrasa carbónica que cataliza la hidratación de dióxido de carbono en ácido carbónico.

El eritrocito mantiene su integridad estructural, la cual se encuentra sustentada en la función

catalítica de las proteínas que conforman la denominada banda 3; constituida por el mayor agregado de proteínas embebido en su membrana y que, dada su estructura, también es susceptible de ser afectada por el EO durante la progresión de la EPOC.

## REFERENCIAS

1. Bergendi L, Benes L, Duracková Z, Ferencik M. *Chemistry, physiology and pathology of free radicals*. Life Sci 1999;65:1865-1874.
2. van der Vliet, Eiserich JP, Halliwell B, Cross CE. *Formation of reactive nitrogen species during peroxidase-catalyzed oxidation of nitrite. A potential additional mechanism of nitric oxide-dependent toxicity*. J Biol Chem 1997;272:7617-7625.
3. van Asbeck BS, Hoidal J, Vercellotti GM, Schwartz BA, Moldow CF, Jacob HS. *Protection against lethal hyperoxia by tracheal insufflation of erythrocytes: role of red cell glutathione*. Science 1985;227:756-759.
4. Toth KM, Clifford DP, Berger EM, White CW, Repine JE. *Intact human erythrocytes prevent hydrogen peroxide-mediated damage to isolated perfused rat lungs and culture bovine pulmonary artery endothelial cells*. J Clin Invest 1984;74:292-295.
5. Yoshida T, Tudor RM. *Pathobiology of cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease*. Physiol Rev 2007;87:1047-1082.
6. Climent F, Roset F, Repiso A, Pérez de la Ossa P. *Red cell glycolytic enzyme disorders caused by mutations: an update*. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets 2009;9:95-106.
7. Toth KM, Berger EM, Beehler CJ, Repine JE. *Erythrocytes from cigarette smokers contain more glutathione and catalase and protect endothelial cells from hydrogen peroxide better than do erythrocytes from non-smokers*. Am Rev Respir Dis 1986;134:281-284.
8. Oktyabryskiy ON, Smirnova GV. *Redox regulation of cellular functions*. Biochemistry 2007;72:132-145.
9. Kay MM, Hughes J, Zagon I, Lin FB. *Brain membrane protein band 3 performs the same function as erythrocyte band 3*. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88:2778-2782.
10. Steck TL. *The band 3 protein of the human red cell membrane: a review*. J Supramol Struct 1978;8:311-324.
11. Popov M, Li J, Reithmeier RA. *Transmembrane folding of the human erythrocyte anion exchanger (AE1, Band 3) determined by scanning and insertion-*N*-glycosylation mutagenesis*. Biochem J 1999;339 (Pt 2):269-279.
12. Sterling D, Reithmeier RAF, Casey JR. *A transport metabolon. Functional interaction of carbonic anhydrase II and chloride/bicarbonate exchangers*. J Biol Chem 2001;276:47886-47894.
13. Zhang D, Kiyatkin A, Bolin JT, Low PS. *Crystallographic structure and functional interpretation of the cytoplasmic domain of erythrocyte membrane band 3*. Blood 2000;96:2925-2933.
14. Havenga MJ, Bosman GJ, Appelhans H, De Grip WJ. *Expression of the anion exchanger (AE) gene family in*

- human brain. Identification of a new AE protein: AEO. Brain Res Mol Brain Res 1994;25:97-104.
15. Kay MM. Contribution of band 3 and its genetic polymorphisms and variants to health and disease. In: King MJ, editor. *Human blood cells-consequences of genetic polymorphisms and variation*. London: Imperial College Press; 2000. p.193-228.
  16. Bosman GJ, Kay MM. Alterations of band 3 transport protein by cellular aging and disease: erythrocyte band 3 and glucose transporter share a functional relationship. Biochem Cell Biol 1990;68:1419-1427.
  17. Janvier D, Sellami F, Missud F, et al. Severe autoimmune hemolytic anemia caused by a warm IgA autoantibody directed against the third loop of band 3 (RBC anion-exchange protein 1). Transfusion 2002;42: 1547-1552.
  18. Bosman GJ. Erythrocyte aging in sickle cell disease. Cell Mol Biol (Nolsey-le-grand) 2004;50:81-86.
  19. Hebbel RP. Auto-oxidation and a membrane-associated 'Fenton reagent': a possible explanation for development of membrane lesions in sickle erythrocytes. Clin Haematol 1985;14:129-140.
  20. Hicks GJJ, editor. *Bioquímica*. 2da., ed. México: McGraw-Hill; 2006.
  21. Bartosz G, Gaczyńska M, Grzelińska E, Soszyński M, Michalak W, Gondko R. Aged erythrocytes exhibit decreased anion exchange. Mech Ageing Dev 1987;39:245-250.
  22. Decramer M, de Benedetto F, Del Ponte A, Marinari S. Systemic effects of COPD. Respir Med 2005;99 Suppl B:3-10.
  23. Franssen FM, O'Donnell DE, Goossens GH, Blaak EE, Schols AM. Obesity and the lung: 5. Obesity and COPD. Thorax 2008;63:1110-1117.
  24. Raguso CA, Guinot SL, Janssens JP, Kayser B, Pichard C. Chronic hypoxia: common traits between chronic obstructive pulmonary disease and altitude. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2004;7:411-417.
  25. Santiworakul A, Jarungjitaree S, Jalayondeja W, Chantarothon S, Supabulpipat S. Effect of lower extremity exercise on muscle strength and physical capacity in COPD patients. J Med Assoc Thai 2009;92:556-563.
  26. Haider T, Casucci G, Linser T, et al. Interval hypoxic training improves autonomic cardiovascular and respiratory control in patients with mild chronic obstructive pulmonary disease. J Hypertens 2009;27:1648-1654.
  27. Schols AM, Wouters EF. Nutrition abnormalities and supplementation in chronic obstructive pulmonary disease. Clin Chest Med 2000;21:753-762.
  28. Hopkinson NS, Tennant RC, Dayer MJ, et al. A prospective study of decline in fat free mass and skeletal muscle strength in chronic obstructive pulmonary disease. Respir Res 2007;8:25.
  29. Maneva A, Taleva B. Effect of some flavonic compounds and ascorbic acid on lactoferrin stimulation of erythrocyte glycolysis and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-atpase activity. Z Naturforsch C 2008;63:773-779.
  30. Sergutina AV. Cytochemically determined activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase in morphochemical characteristics of the brain of wistar rats differing by locomotion parameters. Bull Exp Biol Med 2009;147:45-47.
  31. Chou TF, Ma MC, Tsai CP, Chen CF. Enhancement of superoxide dismutase activity in rat lungs after hypoxic preconditioning. Clin J Physiol 2009;52(5 Suppl):376-383.
  32. Sierra-Vargas MP, Guzman-Grenfell AM, Blanco-Jimenez S, et al. Airborne particulate matter PM<sub>2.5</sub> from Mexico City affects the generation of reactive oxygen species by blood neutrophils from asthmatics: an in vitro approach. J Occup Med Toxicol 2009;4:17.
  33. Ramirez-Venegas A, Perez-Padilla R, Rivera RM, Sansores RH. Other causes of chronic obstructive pulmonary disease: exposure to biofuel smoke. Hot Topics Respir Med 2007;4:7-13.
  34. Cavalcante AG, de Bruin PF. The role of oxidative stress in COPD: current concepts and perspectives. J Bras Pneumol 2009;35:1227-1237.
  35. Dean RT, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. Biochem J 1997;324(Pt 1):1-8.
  36. Joppa P, Petrášová D, Stancák B, Dorková Z, Tkáčová R. Oxidative stress in patients with COPD and pulmonary hypertension. Wien Klin Wochenschr 2007; 119:428-434.
  37. Mangado GN. Anatomía patológica en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. En: Agustí A, Celli B, editores. *Enfermedad pulmonar obstructiva crónica*. Barcelona, España: Masson; 2005.p.3-18.
  38. Bathoorn E, Liesker JJ, Postma DS, et al. Change in inflammation in out-patient COPD patients from stable phase to a subsequent exacerbation. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis 2009;4:101-109.
  39. Hoffmeyer F, Raulf-Heimsoth M, Brüning T. Exhaled breath condensate and airway inflammation. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2009;9:16-22.
  40. Lucantoni G, Pietraforte D, Matarrese P, et al. The red blood cell as a biosensor for monitoring oxidative imbalance in chronic obstructive pulmonary disease: an ex vivo and in vitro study. Antioxid Redox Signal 2006;8:1171-1182.
  41. Matarrese P, Straface E, Pietraforte D, et al. Peroxynitrite induces senescence and apoptosis of red blood cells through the activation of aspartyl and cysteinyl proteases. FASEB J 2005;19:416-418.
  42. Zipser Y, Kosower NS. Phosphotyrosine phosphatase associated with band 3 protein in the human erythrocyte membrane. Biochem J 1996;314(Pt 3):881-887.
  43. Straface E, Matarrese P, Gambardella L, et al. N-Acetylcysteine counteracts erythrocyte alterations occurring in chronic obstructive pulmonary disease. Biochem Biophys Res Commun 2000;279:552-556.

## ✉ Correspondencia:

M en C. Yessica Dorin Torres Ramos,  
Departamento de Bioquímica y  
Biología Molecular.  
Instituto Nacional de Perinatología  
"Isidro Espinosa de los Reyes".  
Montes Urales Núm. 800,  
colonia Lomas Virreyes.  
Delegación Miguel Hidalgo.  
México, D.F., 11000.  
Teléfono 55209900, extensión 405  
Correo electrónico:  
yedotorres@servidor.inper.edu.mx