



COMITÉ DE EDUCACIÓN CONTINUA Y CONTINUADA

COORDINADORA: DRA ANA CLAUDIA PERÓN

PROGRAMA CONSULTA AL EXPERTO

COORDINADORA: DRA GRACIELA LEÓN DE GONZÁLEZ

“GLÓBULO ROJO: PUESTA AL DÍA”

PROFESOR INVITADO: JUAN JORGE HUAMÁN SAAVEDRA

**Doctor en Medicina, Patólogo Clínico, Mg en Bioquímica.
Universidad Privada Antenor Orrego, Facultad de Medicina.
Trujillo, Perú. jjhuamans@gmail.com**

INTRODUCCIÓN

Los eritrocitos son las principales células sanguíneas siendo su número y función esenciales para la vida. El objetivo de este trabajo es la revisión de los aspectos relevantes de su metabolismo partiendo de su estructura, su formación, las vías adaptadas a su función y las principales alteraciones estructurales y metabólicas que llevan a la enfermedad. Para ello se ha hecho una revisión de la literatura en Science direct, Pubmed, Google académico con las palabras claves: eritrocitos, estructura de eritrocitos, metabolismo en eritrocitos, anemia hemolítica, metabolismo del hierro.

Los eritrocitos constituyen la mayor parte del componente celular de la sangre. Su número en un adulto a nivel del mar es de cinco millones por mmc. El eritrocito es una célula cuya función esencial es el transporte de oxígeno de los pulmones a los tejidos y ayudar a eliminar el dióxido de carbono, conteniendo principalmente una proteína hemoglobina en una concentración de aproximadamente 30-34 g/dL para un adulto. Su especialización es tan grande que carece de organelas (núcleo, lisosoma, aparato de Golgi, mitocondrias, retículo endoplasmático, ribosomas) como consecuencia, los glóbulos rojos anucleados maduros no pueden reproducirse.

ESTRUCTURA DEL GLÓBULO ROJO

Los glóbulos rojos (GRs) tienen una membrana celular unida a una red citoesquelética, la cual es responsable de mantener su configuración bicóncava. Su forma inusual incide en el mejor intercambio de oxígeno y dióxido de carbono entre los eritrocitos y los tejidos. En primer lugar, su configuración similar a un disco posee una relación mucho mayor de área de superficie-volumen que las formas más esféricas de otras células, una mayor superficie de $140 \mu\text{m}^2$ en relación a su volumen de $90 \mu\text{m}^3$. En segundo lugar, permite que los GRs se plieguen y atraviesen los capilares cuyo diámetro es más pequeño que el del propio eritrocito. De esta manera se reduce la distancia que las moléculas de gas deben difundir hacia y desde los eritrocitos que se mueven de manera muy rápida (hasta 2 mm/s)¹.

La membrana del GR

La electroforesis en poliacrilamida con sodio dodecilsulfato (SDS-PAGE) de los polipéptidos presentes en los GRs revelaron 10 proteínas principales. A estas proteínas se les asignaron números en función de su migración (tabla 1). El polipéptido con la masa molecular más alta, que migra más lentamente, se denominó proteína de la banda 1, también conocida como espectrina. Algunas de estas proteínas están glucosiladas. Varias proteínas abarcan la bicapa de la membrana (proteínas integrales de membrana), mientras que otras se asocian con su superficie, por lo general a través de interacciones proteína-proteína (proteínas periféricas de membrana).

Tabla 1. Bandas de electroforesis de proteínas de la membrana de glóbulos rojos

Número de banda ^a	Proteína	Integral (I) o periférico (P)	Masa molecular aproximada (kDa)
1	Espectrina (α)	P	240
2	Espectrina (β)	P	220
2.1	Anquirina	P	210
2.2	Anquirina	P	195
2.3	Anquirina	P	175
2.6	Anquirina	P	145
3	Proteína de intercambio de aniones	I	100
4.1	Sin nombre	P	80
5	Actina	P	43
6	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa	P	35
7	Tropomiosina	P	29
8	Sin nombre	P	23
	Glucosforinas A, B y C	I	31, 23 y 28

^a El número de banda se refiere a las tasas relativas de migración en SDS-PAGE (véase figura 53-5). Una cantidad de otros componentes (p. ej., 4.2 y 4.9) no están listados.

Fuente: Adaptado de Lux DE, Tse WT. Hereditary spherocytosis and hereditary elliptocytosis. In: *The Metabolic basis of Inherited Disease*. 8a. ed. Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, et al (eds.). McGraw-Hill; 2001. Chapter 183.

La proteína banda 3 es una glucoproteína transmembrana multipaso cuya cadena polipeptídica cruza la bicapa 14 veces, con su extremo carboxilo terminal en la superficie externa de la membrana de eritrocitos y su extremo amino terminal en la cara citosólica. La función principal de esta proteína dimérica de intercambio aniónico es proporcionar un canal a través de la membrana por el cual se pueden intercambiar aniones de cloruro y bicarbonato. En los tejidos, el bicarbonato generado por la hidratación de CO₂ se intercambia por cloruro. En los pulmones, donde se exhala el dióxido de carbono, este proceso se revierte. El extremo amino terminal también sirve como punto de anclaje para muchas otras proteínas de GRs, incluidas las proteínas banda 4.1 y 4.2, anquirina, hemoglobina y varias enzimas glucolíticas¹.

Las glicoforinas A, B y C son proteínas transmembrana de un solo paso. El único segmento transmembrana de 23 aminoácidos es de configuración α -helicoidal. La forma predominante, la glicoforina A, está compuesta por un polipéptido de 131 aminoácidos modificado covalentemente por cadenas de 16 oligosacáridos, 15 de ellas ligadas a O, que representan aproximadamente 60% de su masa y casi 90% de los residuos de ácido siálico expuestos en la superficie de la membrana de GR. El extremo carboxilo terminal se

extiende al citosol y se une a la proteína de la banda 4.1, que a su vez se une a la espectrina. El polimorfismo de la glicoforina A sirve como base del sistema del grupo sanguíneo MN (véase a continuación). Algunos patógenos virales y bacterianos, como el virus de la gripe y *Plasmodium falciparum*, se dirigen a los eritrocitos al reconocer y unirse a la glicoforina A. De manera curiosa, los individuos cuyos GRs carecen de glicoforina A no muestran complicaciones severas.

Espectrina, anquirina y otras proteínas de membrana periférica ayudan a determinar la forma y la flexibilidad del GR.

La espectrina es la proteína más abundante del citoesqueleto de eritrocitos. Está compuesto por dos polipéptidos de más de 2 100 residuos de longitud: espectrina 1 (cadena α) y espectrina 2 (cadena β). Las cadenas α y β de cada dímero de espectrina se entrelazan en una orientación antiparalela para formar una unidad estructural altamente extendida de ≈ 100 nm de longitud. Normalmente, dos dímeros de espectrina se asocian uno a uno para formar un heterotetrámero de aproximadamente 200 nm de largo que está unido a la superficie interna de la membrana plasmática (y está puentado con otros tetrámeros de espectrina) a través de anquirina, actina y proteína banda 4.1. El resultado es una malla interna, el citoesqueleto¹.

Las espectrinas pertenecen a una superfamilia con ese nombre. Existen espectrinas no eritroides como la fodrina, α -actinina, distrofina, ABP-280, ABP-120, y fimbrina, todas llevan algunas o varias unidades de repeticiones de espectrina, características de esta familia. Las espectrinas tienen dos subunidades α y β . La subunidad α tiene dos isoformas, $\alpha 1$ -espectrina y $\alpha 2$ -espectrina. La $\alpha 1$ -espectrina es expresada del gen SPTA1, exclusivo de los eritrocitos. La subunidad β tiene cinco isoformas $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$ y $\beta 5$, expresadas por los genes SPTB, SPTBN1, SPTBN2, SPTBN4 y SPTBN5 respectivamente. $\beta 1$ es expresado en los eritrocitos y en cierta extensión en los linfocitos. La espectrina se caracteriza por los dominios de espectrinas o repeticiones de espectrina. Cada repetición, cuenta con cerca de 106 aminoácidos de longitud (pm 12,000 Da), formando una estructura de triple hélice característica con asas intermedias no estructuradas, lo que facilita el plegamiento del dominio a una estructura hélice-asa hélice. La subunidad α -comprende una estructura de tándem de repeticiones de 21 espectrinas, con la estructura de triple hélice salvo el dominio 10. Llevan un dominio en la parte central de la molécula para participar en la vía de transducción de señales².

La bicapa lipídica de la membrana celular está unida a la superficie del citoplasma por el citoesqueleto del eritrocito (figura 1). La estructura del citoesqueleto tiene un diseño de triángulos tejido en una red hexagonal. Dos heterodímeros de espectrina α y β son organizados en una forma antiparalela configurando un tetrámero formando cada lado del triángulo. Cada heterodímero está construido de series de manojos de 3 hélices (repeticiones de espectrina) capaces de enrollarse o desenrollarse, dando elasticidad. El complejo de unión compuesto de un protofilamento de actina F con sus proteínas de cobertura adducina y tropomodulina, y la proteína 4.1 R permiten la asociación actina espectrina, se ubica en cada esquina del triángulo. La longitud de los filamentos de actina es mantenida en forma estable en 12 a 14 monómeros de actina por oligómero.

Se ha establecido la estequiometría de algunos componentes. Los monómeros de actina se calculan en más de 1 millón de copias por célula y las β -espectrina ~ 0.5 millón de

copias por célula. En consecuencia, asumiendo 12 monómeros de actina por protofilamento, el enrejado cuasi hexagonal del citoesqueleto es estimado tener ~80 000 complejos de unión asociados con ~250 000 tetrámeros de espectrina. La banda 3 en ~1.2 millones de copias por célula se coorganiza en tetrámeros y dímero y crea >300 000 enlaces verticales entre el citoesqueleto y la capa bilipídica. **PIEZO1**, el canal catiónico mecano sensible está presente en unos cuantos cientos de copia por célula y constituye el mayor determinante del estado de hidratación del eritrocito.

Las extensas interacciones proteína-proteína horizontales en el citoesqueleto con los canales transmembrana perpendiculares, los cuales sirven como enlaces verticales entre el citoesqueleto y la membrana celular, mantienen la forma de disco bicóncavo celular, asegurando una relación, área de superficie a volumen incrementada y permitiendo a la célula deformarse reversiblemente mientras atraviesan los capilares con sección de corte tan pequeña como un tercio del diámetro del GR o pasar por las aberturas interendoteliales desde los sinusoides de la pulpa roja del bazo³

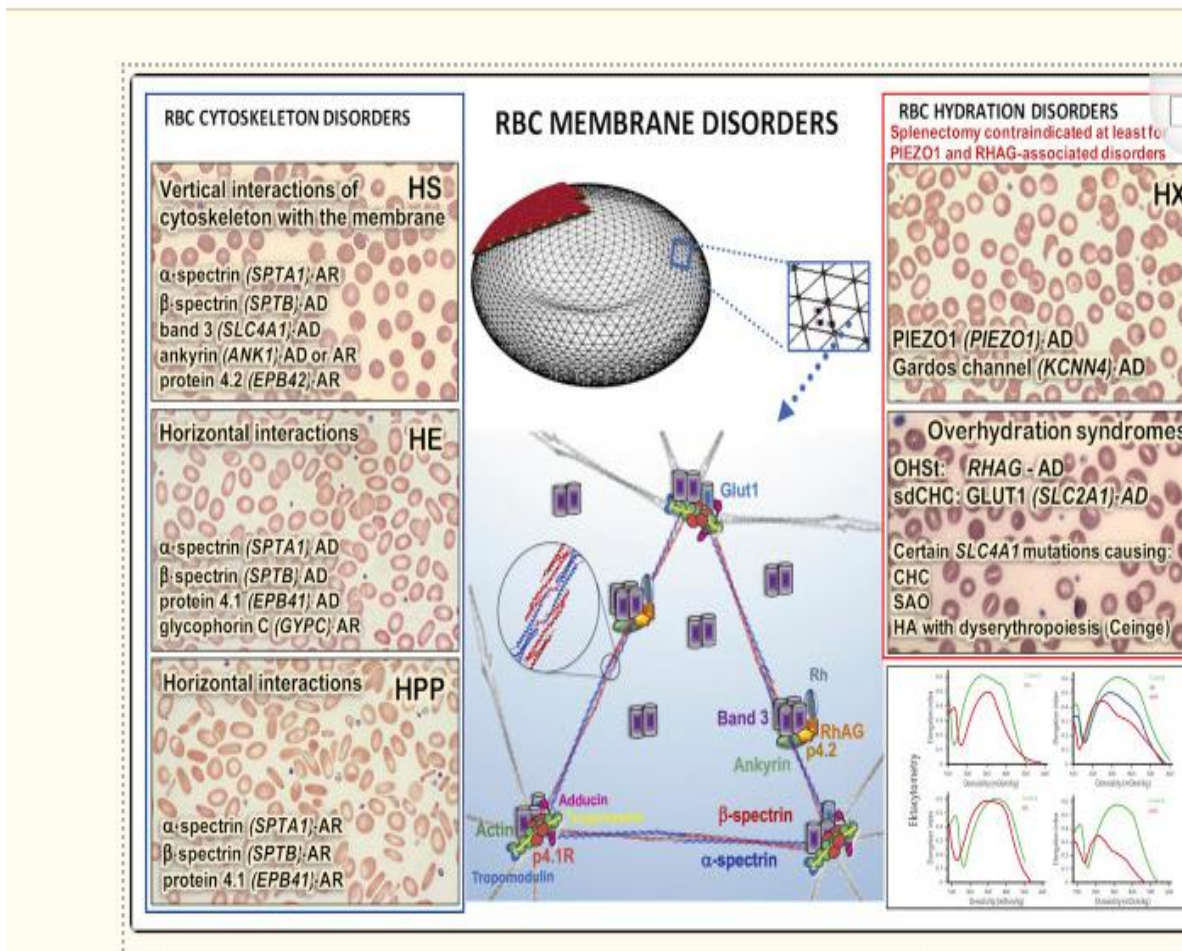


Fig 1: Alteraciones de la membrana de los glóbulos rojos. Fuente³: Risinger M, Kafka T. Red cell membrane disorders: structure meets function *Blood*. 2020 Sep 10; 136(11): 1250–1261. Prepublished online 2020 Jul 23. doi: 10.1182/blood.2019000946

Alteraciones de la membrana del glóbulo rojo

Esferocitosis Hereditaria

La esferocitosis hereditaria (EH) es el más común de los desórdenes de la membrana de los GR en todo el mundo y es la anemia hemolítica hereditaria más común en la población del norte de Europa con una prevalencia de 1 en 1000 a 2500. Los esferocitos son formados debido a una pérdida de la membrana de GR por las inadecuadas uniones verticales entre el citoesqueleto y la bicapa lipídica. Específicamente ocurre una deficiencia cuantitativa en las espectrinas α o β , anquirina, proteína 4.2 o banda 3, codificados por los genes SPTA1, SPTB, ANK1, EPB42, y SLC4A1, respectivamente. Un buen número de mutaciones han sido halladas en estos genes. La pérdida de membrana lleva a disminución de la relación área de superficie / volumen, determinando una forma esférica que es asociada con incrementada fragilidad osmótica y disminución de la deformabilidad. El resultado es una hemólisis extravascular por incremento de la destrucción de los GR al pasar por el bazo³.

Mutaciones heterocigóticas de los genes ANK1, SLC4A1 y SPTB causan HS autosómica dominante, lo cual explica aproximadamente los dos tercios de los casos. 10% a 15% de los casos son heredados en forma autosómica recesiva de los genes EPB42, SPTA1, o ANK1. Se han descrito mutaciones de novo más frecuentemente en el gene ANK1. Las mutaciones bialélicas de SPTA1 llevan a una completa deficiencia de espectrina y la forma más severa de HS presentando una hidropesía fetal fatal en un embarazo a término, los bebés con tal genotipo pueden sobrevivir si ellos son extraídos prematuramente, permitiendo transfusión de soporte o intrauterina. Las mutaciones recesivas de ANK1 disminuyen la incorporación de anquirina al citoesqueleto y responden a la esplenectomía. Las mutaciones autosómicas recesivas de EPB42 producen HS con completa o casi completa ausencia de proteína 4.2 llevando a disminución de la banda 3³,

Eliptocitosis Hereditaria

La eliptocitosis hereditaria (HE) se presenta con una prevalencia de 0.6 % a 3 % en África Occidental con la hipótesis que confiere ventaja de supervivencia a la malaria. Es frecuentemente asintomática o con leve anemia hemolítica, en Estados Unidos su prevalencia es de 1 en 200 a 4000. Es causada por mutaciones heterocigóticas de los genes que codifican α -espectrina (SPTA1), β -espectrina (SPTB), y proteína 4.1R (EPB41). Las dos primeras están localizadas en el dominio de tetramerización o distalmente produciendo cadenas de espectrina alteradas que debilitan el tetrámero de espectrina. Las mutaciones en EPB41 llevan a una alterada o deficiente proteína 4.1 R que compromete la asociación espectrina-4.1R-actina en las uniones. La mutación rara bialélica del gen GYPC causa deficiencia completa de glucoforina C (fenotipo Leach), también causa HE debido a una concurrente deficiencia parcial de 4.1.R sin hemólisis significativa. Estos defectos afectan los enlaces horizontales llevando a la formación de eliptocitos bajo el estrés del flujo sanguíneo³.

Desórdenes de hidratación

La Xerocitosis hereditaria es una anemia hemolítica hereditaria autosómica dominante, clínicamente heterogénea, causada por mutaciones en PIEZO1 -un canal de catión no selectivo o menos común-, en el canal de K activado por calcio KCNN4(Canal de

Gardos). Es caracterizado por salida anormal de K de GR no compensada por ganancia proporcional intracelular de Na⁺, llevando a la deshidratación celular. La hemólisis persiste después de la esplenectomía³

ERITROPOYESIS

Los glóbulos rojos se derivan de las células madre hematopoyéticas, se renuevan a un ritmo relativamente alto semejante a las plaquetas. Por tanto, los reemplazos se producen constantemente a partir de células madre precursoras. La diferenciación de las células madre hematopoyéticas está regulada por un conjunto de citocinas. El factor de células madre y varios factores estimulantes de colonias colaboran con las interleucinas 1, 3 y 6 para estimular la proliferación de células madre hematopoyéticas en la médula ósea e inducir su diferenciación en uno de los numerosos tipos de células mieloides. Luego, la eritropoyetina o la trombopoyetina dirigen a las células progenitoras mieloides para que de manera eventual se diferencien en eritrocitos o plaquetas, respectivamente¹

La eritropoyesis es un proceso complejo y sofisticado, el cual se origina en las células madres hematopoyéticas (CMHs), durante este proceso las CMHs secuencialmente forman las unidades formadoras de colonias eritroide en ramillete o estallido (burst-forming units of erythroid o BFU-E), las unidades formadoras de colonias de eritroide (CFU-E), los proeritroblastos y los eritroblastos, que finalmente resultan en la formación de eritrocitos maduros en la médula ósea. Los principales mecanismos regulatorios de la eritropoyesis incluyen citoquinas hematopoyéticas externas, receptores de citoquinas hematopoyéticas, factores de transcripción y moléculas de señal que se muestran en la Fig 2⁴.

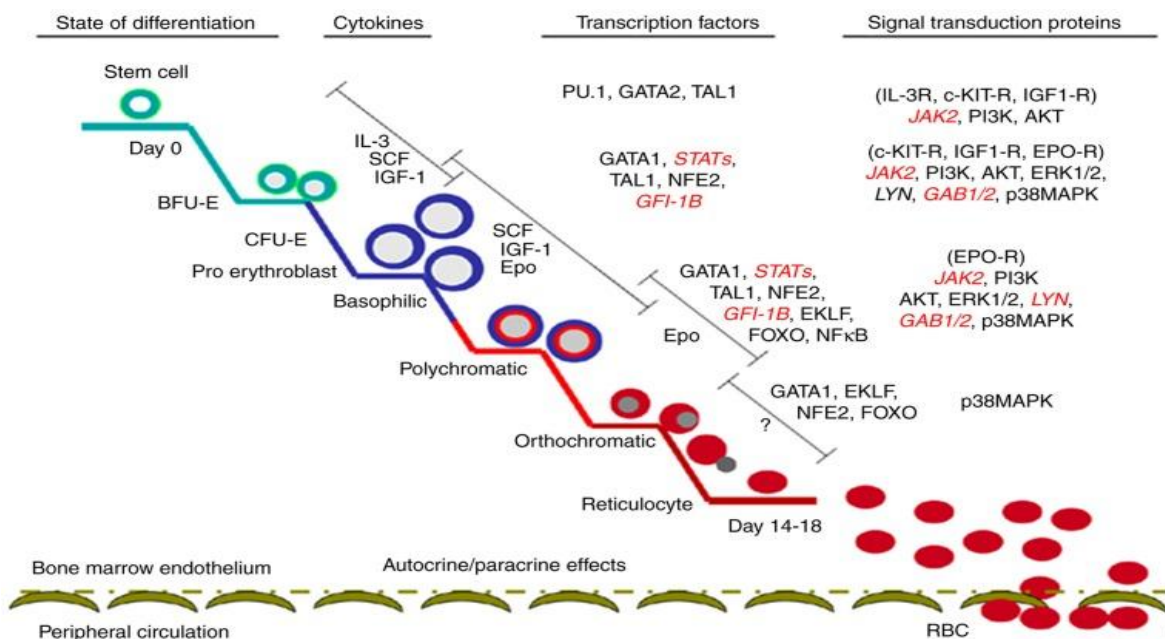


Fig 2. Eritropoyesis Fuente: Xie Y, Shi X, Sheng K, Han G, Li W, Zhao Q et al PI3K/Akt signaling transduction pathway, erythropoiesis and glycolysis in hypoxia. Mol Med Rep. 2019 Feb; 19(2): 783–791. Published online 2018 Dec 3. doi: 10.3892/mmr.2018.9713⁴

Hipoxia y eritropoyesis

La fosfatidil inositol-4,5-bisfosfato 3-kinasa (PI3K) es activada por numerosos genes y lleva a la unión de la protein kinasa B (Akt) a la membrana celular en la vía de señalización P13K/Akt . La fosforilación de serina y treonina contribuyen a la translocación de Akt del citoplasma al núcleo y luego media efectos biológicos enzimáticos, incluyendo aquellos involucrados en la proliferación celular, inhibición de la apoptosis, migración celular, transporte de vesícula y transformación en células cancerosas.

El factor inducible por la hipoxia (HIF-1) está estrechamente asociado con la concentración de oxígeno en el medio ambiente, sus niveles rápidamente incrementan bajo condiciones de hipoxia. HIF-1 α está incluido en la respuesta hipóxica aguda asociada con la eritropoyetina, mientras la HIF-2 α está asociada con la respuesta a la hipoxia crónica⁴. Los órganos hematopoyéticos mejoran la capacidad de llevar oxígeno por el incremento del número de eritrocitos durante el ejercicio extenuante o plateau de oxígeno. Este proceso es conseguido vía gene de la eritropoyetina, el cual es mediado por HIF-1 α en respuesta hipóxica aguda.

Los niveles de Eritropoyetina (EPO) en pacientes que viven en alturas con o sin Enfermedad de Monge son similares. Se ha reportado que en los pacientes con Enfermedad de Monge existe una respuesta proliferativa incrementada a la hipoxia y en la expresión de los genes proteasa1-especifica (SENP1), GATA1, EPOR; el del gene SENP1 anula el aumento de la respuesta proliferativa⁵.

Se verá más adelante la relación del metabolismo del hierro con la eritropoyesis

GATA 1

GATA 1 es considerado como el factor de transcripción maestro en la eritropoyesis. Regula a nivel transcripcional todos los aspectos de la maduración y función eritroide (Fig 2). Contiene dos dominios de dedos de zinc y un dominio de transactivación N terminal. Su concentración está muy regulada en las células eritroides en diferentes niveles, que incluyen transcripción, traducción del mRNA, modificaciones postraduccionales y degradación de las proteínas en una manera específica del estado de diferenciación. Mantener elevados niveles de esta proteína es esencial en los estadios iniciales de la maduración eritroide, mientras que la regulación hacia debajo de la misma es una etapa necesaria en la diferenciación eritroide terminal. La importancia de mantener la homeostasis de esta proteína en la eritropoyesis es demostrada por el hecho de que tanto la pérdida como su sobreproducción resulta en anemia letal. El ARNm de GATA1 se expresa en niveles bajos en progenitores tempranos; sus niveles de expresión alcanzan un máximo antes de la etapa de proeritroblastos y disminuyen gradualmente hacia la maduración final de las células eritroides. Los niveles de proteína GATA1 siguen este patrón y disminuyen hacia la maduración terminal. Los estudios que utilizan citometría de flujo intracelular o análisis de citometría de flujo de progenitores de médula ósea de ratones transgénicos de GATA1 apoyan claramente esta noción⁶.

Eritropoyesis fetal y del adulto.

En los seres humanos, la eritropoyesis fetal tiene lugar en el hígado, mientras que la eritropoyesis adulta ocurre en la médula ósea. Las células eritroides fetales y adultas no solo se producen en diferentes sitios, sino que también se distinguen por su respectivo

programa transcripcional. En particular, mientras que las células eritroides fetales expresan cadenas de γ -globina para producir hemoglobina fetal (HbF), las células adultas expresan cadenas de β -globina para generar hemoglobina adulta. Comprender la regulación transcripcional del cambio de hemoglobina fetal a adulto es clínicamente importante, ya que la reactivación de la producción de HbF en células eritroides adultas representaría una terapia prometedora para los trastornos de la hemoglobina, la anemia de células falciformes y la β -talasemia. Utilizando la secuenciación de ARN para medir la expresión global de genes y microARN (miARN) en eritroblastos humanos derivados ex vivo de células madre / progenitoras hematopoyéticas del hígado fetal y la médula ósea, se han identificado 7829 transcripciones y 402 miARN que se expresaron diferencialmente. Al combinar datos de expresión de genes y miARN, se han evidenciado redes transcripcionales que muestran diferencias sustanciales entre los eritroblastos humanos fetales y adultos. Destacaron los miARN en el locus 14q32 en eritroblastos fetales y la familia de miARN let-7 en eritroblastos adultos como reguladores clave de los programas transcripcionales eritroides específicos de la etapa⁷.

Eritrocitosis

Clásicamente, la eritrocitosis se clasifica como primaria, causada por defectos intrínsecos en las células progenitoras eritroides en presencia de niveles séricos normales o bajos de EPO, o secundaria. Las causas de la eritrocitosis primaria incluyen mutaciones en los genes Janus quinasa 2 (JAK2) y EPOR (Receptor de EPO), que pueden conducir a la proliferación independiente de EPO de precursores eritroides o hipersensibilidad a EPO.

La eritrocitosis secundaria se debe a defectos en la vía de detección de oxígeno, incluidas mutaciones en los genes de HIF proilil 4-hidroxilasa 2 (HIF-P4H-2), HIF-2 α y proteína von Hippel Lindau (VHL), y alteración del suministro de oxígeno o hipoxia tisular, todas asociadas con la activación de la vía EPO y niveles séricos elevados de EPO⁸. La inactivación condicional de gran espectro de HIF-P4H-2 en ratones conduce a una eritrocitosis grave. La estabilización de HIF puede mediar la eritropoyesis esplénica no impulsada por eritropoyetina a través de la vía de señalización Notch alterada⁹.

Se han identificado genes asociados con ambientes hipóxicos en poblaciones tibetanas que viven a gran altura. Estas poblaciones están adaptadas al ambiente de la meseta, con el fin de protegerse de la policitemia. Los haplotipos EGLN1 codificados específicos de PHD2 pueden reducir la acumulación de HIF en condiciones hipóxicas. Los efectos del haplotipo EGLN1 sobre la hemoglobina a baja altitud dependen de la edad, mientras que los alelos EPAS1 rs142764723 C / C existen para mantener bajos niveles de hemoglobina en altitudes elevadas¹⁰.

Como se verá en detalle más adelante en la glucólisis en el hematíe el 1,3-bisfosfoglicerato (1,3-BPG) catalizada por la bifosfogliceromutasa (BPGM) genera 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG). En circunstancias normales, la rama 2,3-BPG es solo el 19% de la vía glucolítica; sin embargo, el 2,3-BPG representa el 50% de la vía glucolítica en condiciones hipóxicas. El 2,3-BPG regula principalmente la afinidad de la hemoglobina por el O₂. La expresión de ARNm de BPGM se distribuye principalmente durante el desarrollo de las células eritroides de la médula ósea a los eritrocitos maduros. La síntesis de 2,3-BPG solo ocurre en GRs. La mutación Creteil I, que resulta en la inactivación de BPGM, o la mutación Creteil II, que es un cambio de marco de lectura, resulta en la incapacidad de

las células para expresar BPGM correctamente, conduciendo a un bajo contenido de 2,3-BPG en la periferia. Como resultado, la médula ósea produce más GRs para transportar más O₂ a los tejidos ⁴.

VIAS METABÓLICAS EN EL GR

Glucólisis

El GR es altamente dependiente de la glucosa como su fuente de energía, para lo cual su membrana contiene transportadores de glucosa de alta afinidad (GLUT 1). La glucólisis anaeróbica hasta lactato, es el modo de producción de ATP. Debido a que los GRs carecen de mitocondrias, no hay producción de ATP por fosforilación oxidativa¹. El ATP es esencial para mantener la integridad estructural y funcional de los glóbulos rojos durante su vida de 100 a 120 días.

La deficiencia de piruvato quinasa (PKD) es el más común de los defectos de la glucólisis asociados a anemia hemolítica no esferocítica congénita, fue descrita en 1960. Es un defecto autosómico recesivo. La enzima convierte al fosfoenolpiruvato en piruvato con la síntesis de ATP, su deficiencia por consiguiente disminuye la disponibilidad del ATP con consecuente pérdida de la plasticidad de la membrana, deshidratación celular y destrucción prematura de los glóbulos rojos en el bazo o en el hígado. PKD también resulta en la acumulación del 2,3 difosfoglicerato causando una desviación hacia la derecha de la curva de disociación de oxígeno. La deficiencia de la PK es altamente heterogénea desde el punto de vista bioquímico y genético¹¹. Los homocigotes exhiben <25% de la actividad in vitro, mientras los heterocigotes presentan de 40 a 60% de actividad; se han descrito >300 mutaciones patogénicas en el gene PKLR localizado en el cromosoma 1q21. El control genético explica porque la enfermedad está confinada a los hematíes. Dos genes, PKLR y PKM, codifican 4 isoenzimas de PK. Las isoenzimas M1 y M2 son codificadas por PKM en el cromosoma 15, PKM2 es la isoenzima mayor en los precursores eritroides. Las isoenzimas PK-L (hígado) y PK-R (GR) son heterotetrámeros codificados por PKLR. Cuando ocurre la diferenciación eritroide, ocurre el cambio de PK-M2 a PK-R y los hematíes con mutación en PK-R son deficientes en PK, en cambio los hepatocitos tienen actividad residual PK-M2 y no son afectados. El diagnóstico y manejo de los pacientes con PKD puede ser complicado por las dificultades en la evaluación diagnóstica y las manifestaciones clínicas heterogéneas, que van desde hidropesía fetal y anemia sintomática que requiere transfusión toda la vida a hemólisis totalmente compensada. Los tratamientos son de soporte e incluye transfusiones, esplenectomía y quelación¹¹.

En los hematíes durante la glicólisis en condiciones normales, el 19% del 1,3 difosfoglicerato se convierte en 2,3 fosfoglicerato por acción de la bifosfoglicerato mutasa¹² (Fig 3). Su descubrimiento en los eritrocitos maduros lo realizaron Samuel Mitja Rapoport y su asistente técnica Janet Luebering, en lo que hoy se conoce como la vía o shunt Luebering–Rapoport. En esta ruta la enzima bifosfoglicerato mutasa cataliza la transferencia de un grupo fosforilo de C1 a C2 del 1,3-bisfosfoglicerato. El 2,3 bisfosfoglicerato luego por acción de la 2,3, bifosfoglicerato fosfatasa se convierte en 3 fosfoglicerato, esto implica la pérdida de la síntesis de 2 ATP por molécula de glucosa. El 2,3 difosfoglicerato es una pequeña molécula presente en alta concentración en el eritrocito (4-5 mM) caracterizada por una remarcable relación carga/dimensión. En

condiciones fisiológicas es una de las moléculas de mayor carga negativa presente en el organismo. Ha sido bien definido su rol alostérico. El DPG, de tamaño estimado de 9 Å se une a la conformación de hemoglobina desoxigenada con alta afinidad, debido a la presencia de un bolsillo de 11 Å entre las subunidades. Interactúa con las subunidades β, disminuyendo la afinidad por el oxígeno y liberándolo de la hemoglobina. Según investigaciones recientes el DPG, en condiciones fisiológicas es capaz de remover radicales hidroxilo, radical peroxil, radicales catiónicos y quelar el hierro en estado reducido; también de evitar la oxidación de hierro dentro de la hemoglobina¹³.

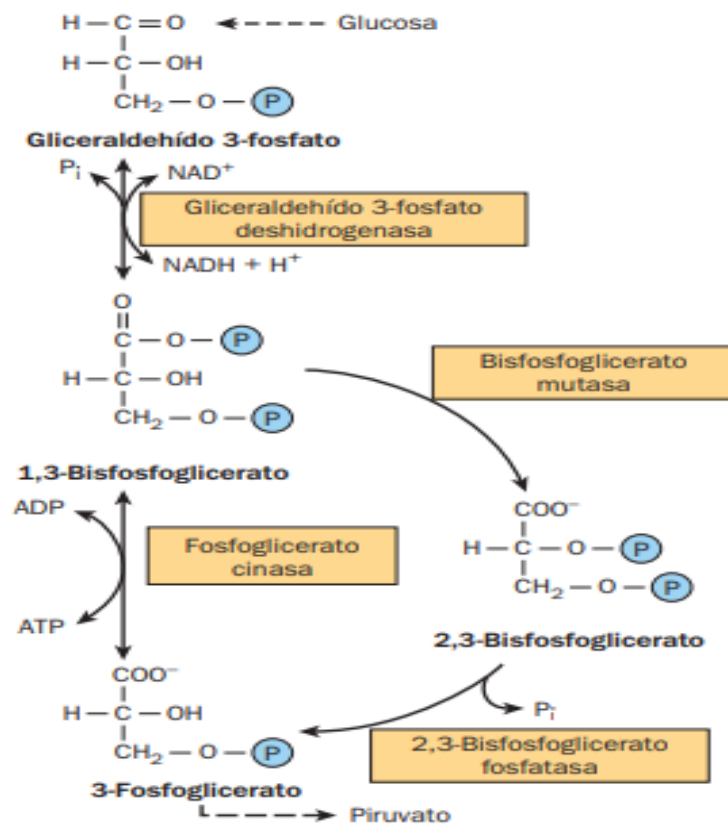


Fig 3. Síntesis del 2,3-Bifosfoglicerato

Fuente: Bender N , Mayes P. Glucólisis y oxidación del piruvato en Rodwell V, Bender D, Bothan K, Kenelly P, Weill ed. P. Harper. Bioquímica Ilustrada, 31 edición. Mc Graw Hill Education LANGE, pg 157-163

Vía de las pentosas

La vía de la pentosa fosfato del GR metaboliza alrededor de 5-10% del flujo total de glucosa. Tiene dos fases: oxidativa y no oxidativa. En la oxidativa produce nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido o NADPH por acción de las enzimas glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD) y 6 fosfogluconato deshidrogenasa¹⁴. (Fig 4). En la fase

no oxidativa aporta pentosas para la síntesis de nucleótidos y ácidos nucleicos. El NADPH se requiere para la biosíntesis de desoxiribonucleótidos, ácidos grasos y esteroides, es también la coenzima del P450 encargada del metabolismo de los xenobióticos, asimismo es requerido en la defensa contra los desafíos oxidativos¹⁴. En los hematíes la última función es la que compete.

Las fluctuaciones conformacionales espontáneas en la bolsa hemo de HbO₂ ocasionalmente permiten la reducción del hierro para producir metahemoglobina y radicales superóxido: este proceso de autooxidación afecta del 2% al 3% de la Hb total cada día. La metahemoglobina (Fe³⁺) se reduce rápidamente a Hb (Fe²⁺) por la citocromo b5 reductasa 3 de NADH (también conocida como metahemoglobina reductasa); mientras que los radicales superóxido, a través de la superóxido dismutasa, producen peróxido de hidrógeno (H₂O₂), un poderoso agente oxidante. Es aquí donde la provisión de NADPH es crítica. En los GRs, la G6PD es la clave para enfrentar el desafío oxidativo. El H₂O₂ puede ser desintoxicado a H₂O por tres mecanismos diferentes mediados por enzimas: (i) La catalasa degrada directamente H₂O₂ a H₂O: tiene de 2 a 4 moléculas de NADPH en su estructura (ii) La glutatión peroxidasa (GPX) cataliza la misma reacción acoplada a la oxidación del glutatión reducido (GSH), se basa en la glutatión reductasa (GR) ligada a NADPH para la regeneración de GSH. (iii) La peroxirredoxina-2 (Prx2) también degrada el H₂O₂ a expensas de sus propios grupos sulfhidrilo que se convierten en disulfuros, y puede ser regenerada por la tiorredoxina (Trx) a través de la tiorredoxina reductasa (TrxR).(Fig 4)

La deficiencia de G6PD es una de las enzimopatías humanas más comunes, causadas por mutaciones hereditarias del gen G6PD ligado al cromosoma X. La deficiencia hace a los GRs altamente vulnerables al daño oxidativo y, por lo tanto, susceptibles a la hemólisis. Se conocen más de 200 mutaciones G6PD: aproximadamente la mitad es polimórfica y, por lo tanto, comunes en varias poblaciones. Unos 500 millones de personas afectadas son en su mayoría asintomáticas a lo largo de su vida. Sin embargo, cualquiera de ellos puede desarrollar anemia hemolítica aguda y, a veces, muy grave cuando se desencadena por la ingestión de habas (favismo), por cualquiera de una serie de medicamentos (por ejemplo, primaquina, rasburicasa) o, más raramente, por infección. La gran mayoría son mutaciones sin sentido, que causan reemplazos de aminoácidos que conllevan una deficiencia de la actividad de la enzima G6PD: comprometen la estabilidad de la proteína, la actividad catalítica disminuye o se produce una combinación de ambos mecanismos. Por lo tanto, las correlaciones genotipo-fenotipo se han aclarado razonablemente bien en muchos casos. La deficiencia de G6PD se correlaciona notablemente, en su distribución geográfica, con la endemidad de la malaria pasada / presente: de hecho, es un ejemplo único de un polimorfismo humano ligado al cromosoma X equilibrado a través de la protección de heterocigotos de la mortalidad por malaria. La anemia hemolítica aguda se puede controlar eficazmente siempre que se diagnostique rápidamente. Se dispone de procedimientos de diagnóstico confiables, con pruebas en el punto de atención cada vez más importantes donde la primaquina y la tafenoquina análoga recientemente introducida son requeridos para el tratamiento de la malaria¹⁴

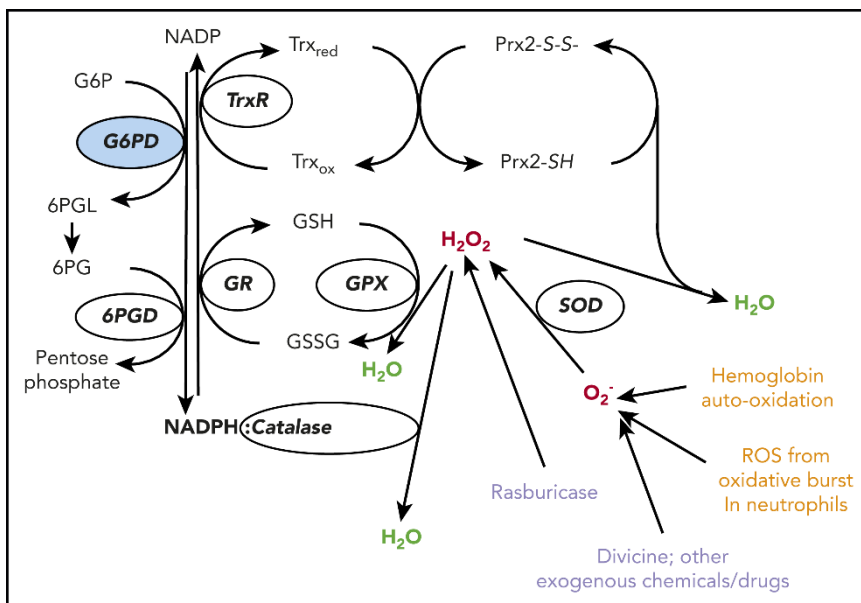


Fig 4. La fase oxidativa de la Vía de las Pentosas y rol del NADPH ante el estrés oxidativo

Fuente: Luzzatto L, Ally M , Notaro R. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Blood (2020) 136 (11): 1225–1240. <https://doi.org/10.1182/blood.2019000944>

Otras vías metabólicas

Si bien la biosíntesis de glucógeno, ácidos grasos, proteínas y ácidos nucleicos no se produce en los glóbulos rojos, algunos lípidos (p ej., colesterol) en la membrana de los GRs pueden intercambiarse con los lípidos plasmáticos correspondientes.

El GR contiene ciertas enzimas del metabolismo de nucleótidos (p. ej., adenosina desaminasa, pirimidina nucleotidasa y adenilil quinasa). Las deficiencias de estas enzimas están involucradas en algunos casos con anemia hemolítica.

Transportadores

El GR tiene una variedad de transportadores que mantienen el equilibrio iónico y el agua, como se ha señalado antes PIEZO 1, el canal de K activado por Ca, la banda 3 de intercambio bicarbonato y cloro. Asimismo GLUT-1 para el ingreso de glucosa

Vía de señalización en el eritrocito. Liberación de ATP y síntesis de NO

Los GRs pueden participar en la regulación del flujo sanguíneo cambiando su estado de agregación modificando la zona de pobre celularidad pasando de mayor a menor agregación y afectando al endotelio vascular. Además en respuesta a baja tensiones de oxígeno, libera ATP que puede unirse a receptores purinérgicos en las células endoteliales llevando a la secreción exógena de óxido nítrico (NO). También puede formar su propio NO por la NOS sintetasa del glóbulo rojo (RBC-NOS) isoforma eritrocítica de acuerdo a vías de señalización recientemente publicadas, la cual actúa sobre la musculatura lisa vascular¹³. Esta vía puede también afectar su deformidad. El ATP puede ser potencialmente liberado de los GRs como respuesta a la hipoxia local, potencialmente

mediante canal panexina 1 o por canales iónicos dependientes de voltaje, lo cual lleva a la vasodilatación. La liberación de ATP es evocada como respuesta a la deformación mecánica, disminución de pH extracelular, incremento de concentración de CO₂ o elevación de la temperatura.

La adenilciclasa de la membrana del hematíe en respuesta a varios estímulos a través de la proteína G, sintetiza AMPc, la que activa la proteína kinasa dependiente de AMP cíclico o PKA, esta a su vez fosforila al regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CETR) estimulando la liberación de ATP por panexina1. El ATP se une a receptores purinérgicos, más probablemente de la familia P2Y en la célula endotelial, la cual libera Ca²⁺ del espacio de depósitos intracelulares al citoplasma y con ella la activación de la eNOS (NOS del endotelio) llevando a la síntesis de NO y a la vasodilatación. El Ca²⁺ intracelular en la célula endotelial lleva a la apertura de los canales de calcio de conductancia intermedia y a la salida de K⁺ al intersticio¹⁵. La inactivación de esta cascada se realiza por el ADP, resultante de la acción de exonucleasas sobre el ATP intersticial que se une a receptores P2Y3 expresados en la membrana del GR regulando a la baja la síntesis de AMPc e inhibiendo la liberación de ATP. Es posible que la liberación de ATP sea regulada en parte por el canal de liberación de calcio ligada a la membrana denominado Piezo 1, cuando existe deformabilidad de la membrana. NO del GR sería exportado por el canal de la banda 3.(Fig 5)

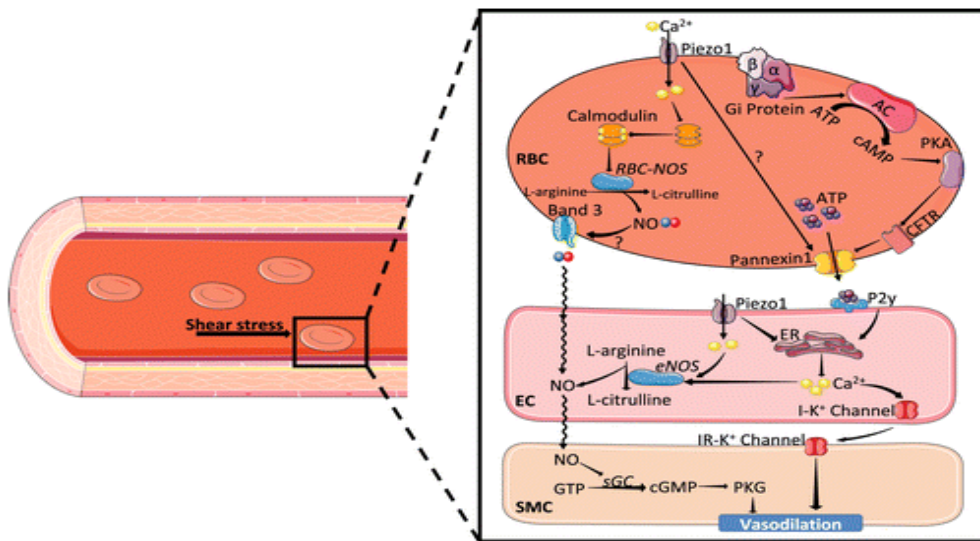


Fig 5. Mecanismo de síntesis de NO y liberación de ATP por glóbulo rojo propuesto por Richardson¹⁵

Otras vías de señalización

Los eritrocitos al igual que las células nucleadas pueden sufrir apoptosis, denominada eriptosis¹⁶. Poseen los miembros de la vía de señalización del factor kappa B nuclear (NFkB.). La protein kinasa B (Akt) tiene roles fisiológicos en los eritrocitos humanos y su

mayor rol es la activación de la NOS, por medio de la cual regula positivamente la deformación de los glóbulos rojos¹⁶. También puede regular el NFkB. Existe una relación inversa entre la concentración de NFkB y la eritropoiesis. Los hematíes tienen proteasomas 20S que les permite la degradación de proteínas. Tiene mecanismos de protección contra la proteólisis de actina y otras proteínas durante su tiempo de vida.

ESTRUCTURA Y FUNCION DE LA HEMOGLOBINA

La hemoglobina (Hb) es la más estudiada de las proteínas hemo que contienen globulina y, sin embargo, no se comprende completamente. Fue una de las primeras proteínas en ser estudiadas por cristalografía de rayos X, y le valió a Max Perutz el Premio Nobel de Química en 1962. La hemoglobina¹⁷ es una molécula polifuncional que participa en varias funciones, como catalítica (nitrito reductasa, NO dioxigenasa, monooxigenasa, alquilhidroperoxidasa, esterasa, lipoxigenasa); metabolismo del óxido nítrico; reprogramación metabólica; regulación del pH y mantenimiento del equilibrio redox¹⁸.

La principal hemoglobina del adulto es la HbA formada por dos subunidades alfa y dos subunidades beta, la segunda en mucho menor proporción es la HbA2 constituida por 2 cadenas alfa y 2 deltas. En la etapa intrauterina la hemoglobina F (fetal) es la predominante, está formada por dos subunidades alfa y dos gamma; y al inicio las hemoglobinas embrionarias.

La función principal de la Hb es transportar oxígeno (O₂) desde el pulmón a los tejidos, uniendo y liberando O₂ de manera cooperativa, como lo demuestra la curva de equilibrio de oxígeno (OEC), que representa la saturación de O₂ de Hb (SO₂) a presiones parciales variables de O₂ (pO₂). La pO₂ al 50% de SO₂ (expresada como P50) mide la afinidad O₂ por la Hb, que es de aproximadamente 26 mmHg para la Hb (HbA) humana adulta normal. Históricamente, la función de Hb se ha explicado en términos de equilibrio entre dos estados clásicos: el estado tenso (T) (Hb no ligada) que exhibe baja afinidad por O₂, y el estado relajado (R) (Hb ligada) que exhibe alta afinidad por O₂, proporcionando una base estructural para efectos cooperativos que facilitan la absorción y liberación eficiente de O₂ in vivo. El equilibrio entre los estados T y R se ve afectado por ligandos heterotrópicos endógenos, como el 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG), protones (H⁺), dióxido de carbono (CO₂), cloruro (Cl⁻) o efectores alostéricos sintéticos que modulan la afinidad Hb-O₂, ya sea estabilizando el estado R Hb (desplazamiento a la izquierda del OEC) o estabilizando el estado T Hb (desplazamiento a la derecha del OEC). Ahmed hace una interesante revisión sobre el alosterismo de la molécula de la hemoglobina¹⁷. En la figura 6 a se aprecia la estructura de la hemoglobina A y en la parte b en color rojo el estado R y en azul el estado T

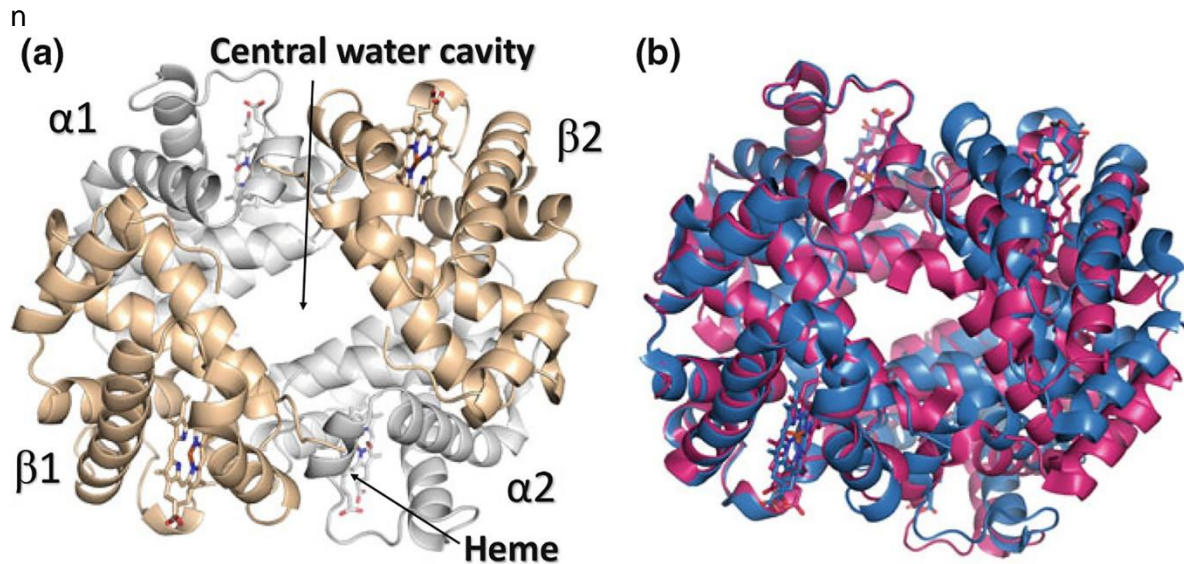


Fig 6. Estructura de la Hemoglobina

Fuente de datos: Ahmed M. Hemoglobin¹⁷: Structure, Function and Allostery. Subcell Biochem. 2020; 94: 345–382. doi: 10.1007/978-3-030-41769-7_14

Los componentes de la hemoglobina son sintetizados y ensamblados en los eritroblastos en la médula ósea. Esto requiere ribosomas en los cuales las globinas son ensambladas y mitocondria y citosol para la síntesis del hemo. Los reticulocitos retienen ribosomas y mitocondrias lo cual significa que la síntesis de la hemoglobina continua por 1 a 2 días, tiempo en el que los reticulocitos circulan, constituyendo hasta el 10 % de la síntesis¹⁹

HIERRO. FUNCIÓN Y REGULACIÓN

El hierro²⁰ es un micronutriente esencial para casi todos los organismos vivos debido a su importante papel en la catálisis de reacciones redox y el transporte y almacenamiento de oxígeno. El hombre utiliza mioglobina para almacenar reservas de oxígeno en el músculo esquelético y hemoglobina para suministrar oxígeno a todos los tejidos del cuerpo. En ambas moléculas el oxígeno se une a un átomo de hierro en el centro de los grupos hemo. El contenido total de hierro en adultos humanos sanos es de 3 a 4 g, de los cuales más de la mitad se encuentra en la hemoglobina de los eritrocitos. Los macrófagos reciclan continuamente el hierro de los eritrocitos viejos y otras células senescentes, devolviéndolo a una reserva dinámica de hierro plasmático. La conservación limita efectivamente las pérdidas de hierro a una pequeña fracción del contenido total (~ 1 mg / día) en niños, hombres y mujeres posmenopáusicas. Las mujeres embarazadas, lactantes y menstruales experimentan una mayor pérdida de hierro debido a las demandas de hierro de estos procesos fisiológicos. El hierro no hemo se transporta a través del plasma unido a la proteína transferrina que de esta forma además limita la propensión del hierro a catalizar la generación de especies reactivas de oxígeno. Una vez importado a las células a través de receptores de transferrina, el hierro se almacena dentro de la ferritina

La regulación estricta de los flujos de hierro asegura que el hierro esté disponible para desarrollar glóbulos rojos, evitando al mismo tiempo la toxicidad potencial del exceso de hierro extracelular y limitando su disponibilidad a microorganismos infecciosos. El tráfico de hierro del cuerpo está controlado por la hepcidina, la única hormona homeostática responsable de regular tanto los niveles plasmáticos de hierro como el contenido total de hierro del cuerpo. Es un péptido de 25 aminoácidos que es sintetizado en el hígado en proporción a las concentraciones plasmáticas de hierro y las reservas hepáticas de hierro. Cuando el hierro es abundante, altas concentraciones de hepcidina se unen al exportador celular de hierro ferroportina, causando su oclusión, internalización, y degradación. La absorción intestinal del hierro en la dieta y la liberación de hierro de las reservas celulares se inhiben. Cuando el hierro plasmático es escaso, la secreción hepática de hepcidina es baja, lo que permite que la ferroportina exporte hierro al plasma, estimulando así la absorción intestinal de hierro y la movilización de las reservas celulares.

La eritroferrona (ERFE) es el principal regulador eritroide de la hepcidina, la hormona homeostática que controla los niveles plasmáticos de hierro y el hierro corporal total. Cuando la liberación de eritropoyetina del riñón estimula la producción de nuevos glóbulos rojos, también aumenta la síntesis de ERFE en los eritroblastos de la médula ósea. El aumento de ERFE suprime la síntesis de hepcidina, movilizand así las reservas celulares de hierro para su uso en la síntesis de hemo y hemoglobina. Estudios recientes han demostrado que ERFE suprime la transcripción de hepcidina al inhibir la señalización de proteínas morfogenéticas óseas en hepatocitos. En la eritropoyesis ineficaz, la sobreproducción patológica de ERFE por una población ampliada de eritroblastos suprime la hepcidina y causa sobrecarga de hierro, incluso en pacientes no transfundidos. El ERFE puede ser un biomarcador útil de eritropoyesis ineficaz y una diana atractiva para tratar sus efectos sistémicos.

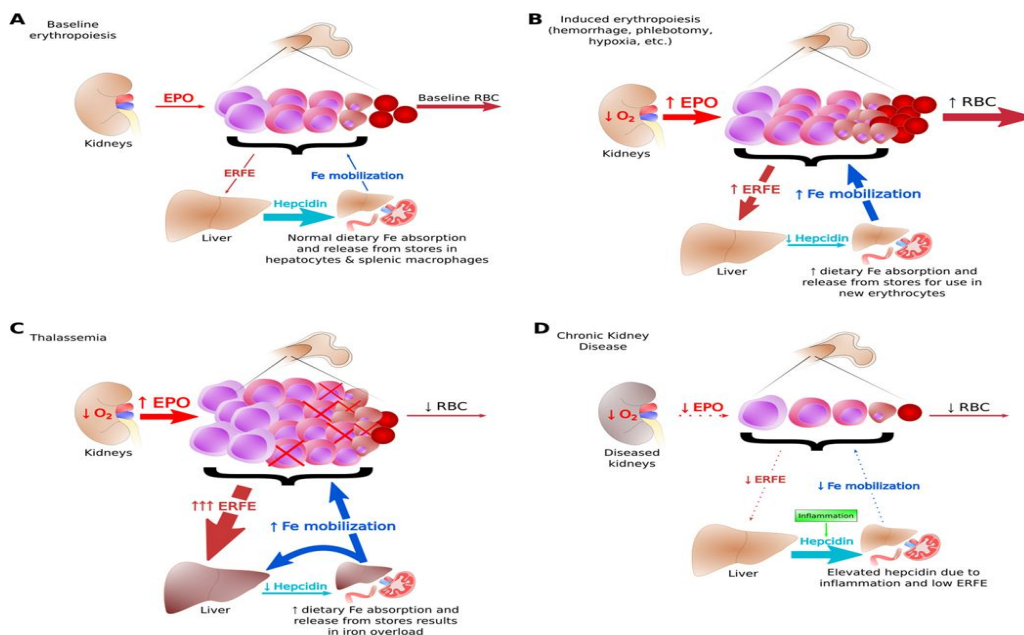


Fig. 7. Regulación del hierro en condiciones fisiológicas y alteraciones

Fuente de datos: Dand S, Ganz T. Erythroferrone structure, function, and physiology: iron homeostasis and beyond. *J Cell Physiol.* 2021 Jul; 236(7): 4888–4901. Published online 2020 Dec 28. doi: 10.1002/jcp.30247

SENESCENCIA, ERIPTOSIS Y DESTRUCCIÓN DE LOS HEMATÍES

Cuando los glóbulos rojos alcanzan el final de su vida útil (senescencia) a los 120 días, son destruidos, la globina se degrada a aminoácidos (que se reutilizan en el cuerpo), el hierro se libera del hem y se reutiliza, y el componente tetrapirrol del hem se convierte en biliverdina. La biliverdina por la biliverdina reductasa se convierte en bilirrubina no conjugada que unida a la albúmina que se excreta principalmente en el intestino a través de la bilis.

La senescencia es el resultado principalmente de un cambio conformacional en la proteína de la banda 3 de la membrana, que lleva a la aparición de un antígeno específico de senescencia el cual es reconocido por una IgG autóloga, marcando la célula para ser removida por los macrófagos¹⁹. Los factores que llevan a ese estado son el daño oxidativo que afecta a lípidos y proteínas de la membrana y a la desnaturalización de la hemoglobina²¹.

En adición, las células envejecidas son más susceptibles al estrés oxidativo y por ello a la eriptosis o apoptosis de los glóbulos rojos. El stress oxidativo lleva a la apertura de los canales de calcio, que a su vez abren los canales de K que sale del eritrocito junto con agua, llevando a una alteración de la membrana y a encogimiento de las células. Además el calcio produce externalización de la fosfatidilserina de la membrana, llevando a la unión con el CD36, el receptor de la fosfatidilserina en los macrófagos, con la fagocitosis resultante¹⁹.

La eriptosis por daño a la membrana eritrocitaria y su remoción puede aplicarse a diversas patologías como deficiencia de hierro, síndrome urémico hemolítico, sepsis, anemia drepanocítica, malaria, enfermedad de Wilson y posiblemente síndrome metabólico, además xenobióticos²⁰

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los hematíes tienen su estructura adaptada a su principal función que es el transporte de oxígeno, y su forma de disco bicóncavo gracias a su citoesqueleto le permite adaptarse a los cambios de espacio en su largo recorrido por el torrente sanguíneo. Se han identificado las proteínas de la membrana eritrocitaria y la mayoría de sus funciones y las alteraciones genéticas que dan lugar a cambios morfológicos como la esferocitosis hereditaria, eliptocitosis, ovalocitosis y xerocitosis que pueden ser causa de anemia hemolítica.

La eritropoyesis ocurre a partir de las células madres y su progresiva diferenciación en la médula ósea por acción de citocinas, factores de transcripción y proteínas de traducción de la señal. Se han señalado diferentes vías de señalización

El precio de su especialización ha sido que el eritrocito maduro dependa exclusivamente de la glucólisis anaeróbica con síntesis de ATP y lactato, al carecer de mitocondrias; asimismo al no tener retículo endoplasmático ni ribosomas no puede

sintetizar proteínas ni hemoglobina. La alteración de la glucólisis por deficiencia de la piruvato cinasa lleva a la hemólisis.

La vía de las pentosas aporta el NADPH por acción de la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa y la 6 fosfogluconato deshidrogenasa; la deficiencia de la primera enzima, una de las enzimopatías más estudiadas, es causa de anemia hemolítica por la falta de reducción del glutatión que requiere justamente NADPH, y la consecuente persistencia del peróxido de hidrógeno que no puede ser eliminado al no contar la glutatión peroxidasa con el glutatión reducido.

Se conoce hace muchos años la estructura de la hemoglobina, la relación entre sus cadenas y su unión alostérica con el oxígeno, regulada por el 2,3 difosfoglicerato formado en la vía glucolítica por la vía de Luebering–Rapoport. La síntesis de la hemoglobina ocurre en los eritroblastos y finalmente en los reticulocitos, participando los ribosomas en la síntesis de las globina y las mitocondrias y el citosol en la del núcleo hemo. El hierro ocupa un lugar muy importante en la función del hematíe al ser parte de la hemoglobina y se han identificado los mecanismos de regulación con la hepcidina y la eritroferrona con implicancias fisiológicas y clínicas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kenelly P, Murray R. Glóbulos Rojos en Rodwell V, Bender D, Bothan K, Kenelly P, Weill ed. P. Harper. Bioquímica Ilustrada, 31 edición. Mc Graw Hill Education LANGE, pg 646-655
2. Sreeja J, Jhon R, Dharmapal D, Nellikka R, Sengupta S. Fresh Look at the Structure, Regulation, and Functions of Fodrin . *Mol Cell Biol*. 2020 Sep; 40(17): e00133-20. Published online 2020 Aug 14. Prepublished online 2020 Jun 29. doi: 10.1128/MCB.00133A
3. Risinger M, Kafka T. Red cell membrane disorders: structure meets function *Blood*. 2020 (Sep); 136(11): 1250–1261. Prepublished online 2020 Jul 23. doi: 10.1182/blood.2019000946
4. Xie Y, Shi X, Sheng K, Han G, Li W, Zhao Q et al PI3K/Akt signaling transduction pathway, erythropoiesis and glycolysis in hypoxia. *Mol Med Rep*. 2019 Feb; 19(2): 783–791. Published online 2018 Dec 3. doi: 10.3892/mmr.2018.9713
5. Bermudez D, Azad P, Figueroa-Mujica R, Vizcardo-Galindo G, Corante N, Guerra-Giraldez C et al. Increased hypoxic proliferative response and gene expression in erythroid progenitor cells of Andean highlanders with chronic mountain sickness *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2020 Jan 1; 318(1): R49–R56. Published online 2019 Oct 16. doi: 10.1152/ajpregu.00250.2019.)
6. Gutiérrez L, Caballero N, Fernández-Calleja L, Karkoulia E, Strouboulis J. Regulation of GATA1 levels in erythropoiesis. *Biochemistry and Molecular Biology IUBMB Life*. 2020;72:89-105 DOI: 10.1002/iub.2192
7. Lessard S, Beaudoin M, Orkin S, Bauer. Lettre G. 14q32 and let-7 microRNAs regulate transcriptional networks in fetal and adult human erythroblasts. *Hum Mol Genet*. 2018 Apr 15; 27(8): 1411–1420. Published online 2018 Feb 8. doi: 10.1093/hmg/ddy051
8. Patnaik MM, Tefferi A. The complete evaluation of erythrocytosis: Congenital and acquired. *Leukemia*. 23:834–844. 2009.

9. Myllymäki MN, Määttä J, Dimova EY, Izzi V, Väisänen T, Myllyharju J et al. Notch downregulation and extramedullary erythrocytosis in hypoxia-inducible factor prolyl 4-hydroxylase 2-deficient mice. *Mol Cell Biol* 2017;. 37(pii): e00529–16
10. Tashi T, Scott Reading N, Wuren T, Zhang X, Moore LG, Hu H et al.: Gain-of-function EGLN1 prolyl hydroxylase (PHD2 D4E:C127S) in combination with EPAS1 (HIF-2 α) polymorphism lowers hemoglobin concentration in Tibetan highlanders. *J Mol Med (Berl)* 2017;95:665–670.
11. Grace R, Barcellini W. Management of pyruvate kinase deficiency in children and adults. *Blood* (2020) 136 (11): 1241–1249. <https://doi.org/10.1182/blood.2019000945>
12. Bender N, Mayes P. Glucólisis y oxidación del piruvato en Rodwell V, Bender D, Bothan K, Kenelly P, Weill ed. P. Harper. *Bioquímica Ilustrada*, 31 edición. Mc Graw Hill Education LANGE, pg 157-163
13. Tellone E, Barreca D, Russo A, Galtieri A, Ficarra S. New role for an old molecule: The 2,3-diphosphoglycerate case. *BBA General Subjects* 2019; 1863: 1602-1607
14. Luzzatto L, Ally M, Notaro R. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Blood* 2020; 136 (11): 1225–1240. <https://doi.org/10.1182/blood.2019000944>
15. Richardson K, Kuck L, Simmonds M. Beyond oxygen transport: active rol of erythrocytes in the regulation of blood flow. *Heart and Circulatory Physiology* 2020 (oct); 319 (3): H866-H872. <http://doi.org/10.152/ajpheart.00441.2020>
16. Ghashghaeinia M, Köberle M, Mrowietz U, Bernhardt I. Proliferating tumor cells mimic glucose metabolism of mature human erythrocytes. *Cell Cycle*. 2019; 18(12): 1316–1334. Published online 2019 Jun 3. doi: 10.1080/15384101.2019.1618125
17. Ahmed M. Hemoglobin: Structure, Function and Allostery. *Subcell Biochem*. 2020; 94: 345–382. doi: 10.1007/978-3-030-41769-7_14
18. Kosmachevskaya O, Topunov A Alternate and Additional Functions of Erythrocyte Hemoglobin. *Biochemistry Moscow* 2018; 83, 1575–1593. <https://doi.org/10.1134/S0006297918120155>
19. Bain B. Structure and function of red and white blood cells and platelets. *Medicine* 2021 (feb); 49 (4) :183-188
20. Dand S, Ganz T. Erythroferrone structure, function, and physiology: iron homeostasis and beyond. *J Cell Physiol*. 2021 (Jul); 236(7): 4888–4901. Published online 2020 Dec 28. doi: 10.1002/jcp.30247
21. Ghashghaeinia M, Cluitmans J, Akel A, Dreischer P, Toulany M, Köberle M et al. The impact of erythrocyte age on eryptosis. *BJH* 2012 (June), 157 (5): 606-614. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2012.09100.x>