



'Red cell storage, lesion and clearance'

Auteur G. Bosman

Trefwoorden ATP, glycolyse, rode bloedcelconcentraten, transfusie, verwijdering

Samenvatting

Op 18 september 2012 promoveerde dhr. drs. P. Burger op het proefschrift, getiteld 'Red Cell Storage, Lesion and Clearance' aan de Universiteit van Amsterdam. Promotor was prof. dr. A. J. Verhoeven van de afdeling Medische Biochemie van het Amsterdam Medisch Centrum. Copromotores waren dr. D. de Korte en dr. R. van Bruggen, beiden verbonden aan de afdeling Blood Cell Research, Sanquin Research and Landsteiner Laboratory van het Amsterdam Medisch Centrum. Het in het proefschrift beschreven onderzoek leidt tot nieuwe inzichten in de processen die verantwoordelijk zijn voor het positieve effect van recent ontwikkelde bewaarmedia op de energie-

huishouding van de rode bloedcel. Op grond daarvan worden aanbevelingen gedaan voor alternatieve methoden van afname, bewerking en opslag van rode bloedcellen in de bloedbank. In aansluiting hierop wordt aannemelijk gemaakt dat bloedbank-gerelateerde veranderingen in de celmembraan, die bijdragen aan een snelle verwijdering van rode bloedcellen uit de circulatie, pas naar voren komen na transfusie. In dit kader worden data gepresenteerd voor een nieuwe manier waarmee beschadigde en/of verouderde rode bloedcellen worden herkend en verwijderd door het immuunsysteem.

(Tijdschr Bloedtransfusie 2012:5;125-7)

Inleiding

De huidige methoden voor de afname van bloed, de isolatie en vooral het bewaren van rode bloedcellen als rode bloedcelconcentraten, zijn vooral gericht op het zoveel mogelijk intact houden van de rode bloedcellen in de bloedbank. Natuurlijk is dit gekoppeld aan hun functie als transporteur van zuurstof, met de overleving na transfusie in de circulatie van de patiënt als een van de belangrijkste functionele parameters. Met deze aanpak wordt voldaan aan de eis dat minimaal 75% van de gedoneerde rode bloedcellen 24 uur na transfusie nog in de circulatie terug te vinden moet zijn. De laatste jaren is het besef groeiende dat deze eis misschien niet voldoende is om alle nadelige bijwerkingen van transfusies te voorkomen, met name bij transfusie-afhankelijke patiënten die elke paar weken één of meerdere rode bloedcelconcentraten krijgen. Bovendien lijken met name concentraten die langer dan een paar weken bewaard zijn, zeker niet allemaal aan deze eis te voldoen.¹

Bij het overleven van de rode bloedcel speelt de cellulaire energievoorraad in de vorm van de adenosinetriposfaat (ATP)-concentratie en de mate van bescha-

diging van de celmembraan de meest centrale rol. ATP is vooral belangrijk voor het in stand houden van de intracellulaire concentraties van natrium, kalium en calcium. In de rode bloedcel wordt ATP geproduceerd in de glycolyse. Via de vorming van 2,3-difosfoglyceraat (2,3-DPG) uit een van de intermediären van de glycolyse, is er een nauw verband tussen de ATP-concentratie en de gevoeligheid van hemoglobine om zuurstof te binden dan wel los te laten. ATP is ook nodig voor de interactie tussen de celmembraan en het cytoskelet. Vooral de sterke, reversibele vervorming tijdens de passage van de rode bloedcel door de haarvaatjes en de milt stellen hoge eisen aan deze interactie. Beschadigingen van de celmembraan treden waarschijnlijk vooral op als gevolg van de voortdurende vorming van het zuurstofradicaal superoxide anion bij het binden en loslaten van zuurstof aan het hemoglobine. Bij de bescherming tegen de daardoor veroorzaakte oxidatieve schade is onder andere nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase (NADPH) van belang, dat gevormd wordt in de pentosefosfaatcyclus. De pentosefosfaatcyclus is, net als de vorming van 2,3-DPG, nauw verbonden met de glycolyse. Beschadiging van de celmembraan uit zich in het verschijnen van aspecten

fieke en specifieke herkennings- en verwijderings-signalen voor het immuunsysteem. De rode bloedcel kan zich waarschijnlijk geruime tijd beschermen tegen voortijdige verwijdering door het afsnoeren van blaasjes waarin deze signalen geconcentreerd zijn.² Na ongeveer drie maanden is dit vermogen uitgeput, waarschijnlijk door het gebrek aan celmembraan, en wordt de oude rode bloedcel verwijderd door fagocyten.

De rol van de pH

In het proefschrift van dr. Burger is onder andere onderzocht hoe de glycolyse zo gemanipuleerd kan worden, dat de ATP en 2,3-DPG-concentraties niet lager worden tijdens het bewaren in bloedbankcondities. Het blijkt dat rode bloedcellen in bewaarmedia die ontwikkeld zijn met het doel de intracellulaire verlaging van de pH tegen te gaan, veel beter in staat zijn om hun ATP- en 2,3-DPG-concentraties op peil te houden. Dat is niet het gevolg van een verhoging van de intracellulaire pH zoals verwacht werd, maar waarschijnlijk een effect van de veranderingen in de concentratie van intracellulair chloride. Een verlaging van de intracellulaire chlorideconcentratie leidt tot verhoogde binding van het glycolyse-enzym fosfofructokinase aan de membraan. Het moleculaire mechanisme daarvoor is niet verder onderzocht, maar membraangebonden fosfofructokinase is blijkbaar veel minder gevoelig voor negatieve terugkoppeling door ATP en 2,3-DPG.³ Ook de pH van het anticoagulans lijkt een rol te spelen bij het bewaren. Afname van bloed voor transfusie gebeurt met anticoagulantia met een lage pH. De reden hiervoor is dat het glucose in deze anticoagulantia karamelliseert bij sterilisatie in een oplossing waarvan de pH hoger is dan 6. Gebruik van een anticoagulans met een pH van 7,4 zonder glucose blijkt een gunstig effect te hebben op de concentratie 2,3-DPG en ATP, ook als de rode bloedcellen daarna bewaard worden in een medium met een lagere pH.⁴

Herkenning van de bewaarde rode bloedcel

De effecten van het bewaren van rode bloedcellen die direct een invloed hebben op hun overleven bij de circulatie van de patiënt, zoals het afsnoeren van blaasjes, werden vooral duidelijk nadat rode bloedcellen uit een rode bloedcelconcentraat gecombineerd werden met ABO-compatibel volbloed. In dit transfusiemodel konden de verschillende rode bloedcellen worden geïdentificeerd op basis van - klinisch irrelevante - 'kleine' bloedgroepantigenen. Het verlies

van intracellulaire kaliumionen tijdens het bewaren van rode bloedcellen lijkt deze extra gevoelig te maken voor het afsnoeren van blaasjes. Dit proces is geassocieerd met het verschijnen van fosfatidylserine aan de buitenkant van de cel. Dit is niet alleen een teken van schade aan de celmembraan, maar draagt bij aan herkenning en verwijdering van beschadigde cellen door fagocyten. Bovendien triggeren de fosfatidylserine-bevattende blaasjes de bloedstolling. Dit bevestigt eerder beschreven waarnemingen, die alle wijzen op de rol van blaasjes in het rode bloedcelconcentraat bij het ontstaan van transfusie-gerelateerde complicaties.

Signalen die leiden tot herkenning van rode bloedcellen ontstaan ook uit CD47, een membraaneiwit dat normaliter juist beschermt tegen fagocytose. De resultaten van een serie elegante experimenten wijzen erop dat CD47-eiwitten tijdens het bewaren van rode bloedcellen zo veranderen, dat ze gebonden worden door thrombospondine-1 en binding van dit thrombospondine leidt tot fagocytose. De verandering van CD47 werd alleen waargenomen na incubatie van lang bewaarde rode bloedcellen in volbloed. Ook deze waarneming leidt dus tot de conclusie dat de veranderingen die rode bloedcellen doormaken in de bloedbank lang niet allemaal direct tot uiting komen, maar pas na transfusie.⁵

Conclusie

Met het in dit proefschrift beschreven onderzoek is een grote stap gezet op weg naar een beter begrip van functioneel en medisch relevante processen in de bloedbank, namelijk die processen die het lot van de rode bloedcel bepalen na transfusie. Dit begrip maakt gericht onderzoek mogelijk naar methoden om de schadelijke bijwerkingen van transfusies te voorkomen.

Referenties

1. Luten M, Roerdinkholder-Stoelwinder B, Schaap NPM, et al. *Survival of red blood cells after transfusion: a comparison between red cell concentrates of different storage periods. Transfusion* 2008;48:1478-85.
2. Willekens FLA, Werre JM, Groenen-Döpp YAM, et al. *Erythrocyte vesiculation: a self-protective mechanism? Brit. J. Haematol* 2008;141:549-56.
3. Burger P, Korsten H, De Korte D, et al. *An improved red blood cell additive solution maintains 2,3-diphosphoglycerate and adenosine triphosphate levels by an enhancing effect on phosphofructokinase activity during cold storage. Transfusion* 2010;50:2386-92.



4. Burger P, Korsten H, Verhoeven AJ, et al. Collection and storage of red blood cells with anticoagulant and additive solution with a physiologic pH. *Transfusion* 2012;52:1245-52.
5. Burger P, Hilarius-Stokman P, De Korte D, et al. *Blood* 2012;119:5512-21.

Ontvangen 19 oktober 2012, geaccepteerd 29 oktober 2012.

Correspondentieadres

Dhr. dr. G. Bosman

Nijmegen Centre for Molecular Life Sciences
Afdeling Biochemie
Postbus 9101
6500 HB Nijmegen
Tel.: 024 361 42 59
E-mailadres: g.bosman@ncmls.ru.nl

Belangenconflict: geen gemeld.

Financiële ondersteuning: geen gemeld.