

# Niveles séricos de interleucina 2 y su receptor soluble antes y después de la donación de sangre. Resultados preliminares

Maczy González<sup>1\*</sup>, Ana Ruiz<sup>1</sup>, Melvis Arteaga-Vizcaíno<sup>2</sup>, Maribel Quintero<sup>1</sup>, Dalay Montero-Escobar<sup>1</sup>, Jesús Weir<sup>3</sup> y Jesús Estévez<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Cátedra de Hematología y Práctica Profesional de Hematología, Escuela de Bioanálisis.

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones Clínicas. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia.

<sup>3</sup> Instituto Hematológico de Occidente, Maracaibo 4011, Estado Zulia. Venezuela.

Recibido: 15-07-05 Aceptado: 24-05-06

## Resumen

En los donantes de sangre se generan alteraciones de los componentes del sistema inmunitario como los concernientes a los linfocitos (CD4, CD8) e inmunoglobulinas; sin embargo poco se conoce sobre aquellas referidas a los mediadores como la Interleucina 2 (IL-2) y su receptor soluble (RsIL-2), importantes marcadores de la respuesta inmunitaria. Se determinaron los niveles séricos de IL-2 y RsIL-2 a 34 donantes de sangre voluntarios antes, 24 horas y 12 días después de la donación empleando inmunoensayo enzimático (ELISA). Se obtuvo valores promedio de 7,46, 7,41 y 7,83 U/mL para IL-2 y 359,4, 387,4 y 372,2 pg/mL para el RsIL-2, para cada uno de los periodos descritos respectivamente. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para las citocinas medidas. A pesar de que se han descrito cambios importantes en la respuesta inmunitaria, la IL-2 y RsIL-2 no parecieron verse afectados en los donantes después de la donación, atribuible posiblemente a los bajos niveles de activación de los linfocitos T esperados en individuos sanos cuyo sistema inmunitario se encuentra funcionando en forma óptima. Se necesitarían más estudios que permitiesen esclarecer el comportamiento de estas citocinas, y su influencia según el hemoderivado donado en la respuesta inmunitaria del donante.

**Palabras clave:** Donantes de sangre; interleucina 2; receptor soluble de interleucina 2.

## Serpic levels of interleukin-2 and its soluble receptor before and after blood donation preliminaries results

### Abstract

In the blood donors, alterations of the components of the immune system like concerning the lymphocytes (CD4, CD8) and the immunoglobulins are generated; nevertheless little it is known about those referred to the mediators like Interleukine-2 (IL-2) and its soluble receptor (IL-2Rs), important markers of the immune response. To 34 voluntary donors of blood, seric levels of IL-2 and IL-2Rs, before, 24 hours and 12 days after donation being used Immunoenzymatic assay (ELISA) were determined. It was obtained values average of 7.46, 7.41 and 7.83 U/mL for IL-2 and 359.4, 387.4 and 372.2 pg/mL for the IL-2Rs, for each one of the periods res-

\* Autor para la correspondencia. E-mail: maczygonzález@hotmail.com

pectively described. No significant differences of cytokines in the different groups. Although important changes in the immune response have been described, the IL-2 and IL-2Rs did not seem to possibly see affected themselves in the donors after of donation, because of the low levels of activation for lymphocytes T in healthy individuals whose immune system is fine. Its necessary more studies that allowed to clarify the behavior of these cytokines, and its influence according to blood derivatives donated in the immune response of the donor.

**Key words:** Blood donors; Interleukine 2 (IL-2); soluble receptor of interleukine 2 (IL-2Rs).

## Introducción

Muchas evidencias se han acumulado sobre la inconveniencia de las transfusiones de sangre en pacientes quirúrgicos, con enfermedades neoplásicas, y en aquellos que ameritan trasplante de órganos, entre otros; esta inconveniencia se refiere a incremento en la aparición de complicaciones infecciosas, micrometástasicas e incremento de la mortalidad (1-4).

En ese sentido, se observa un marcado interés sobre los efectos inmunomoduladores que las transfusiones ejercen en los pacientes que las ameritan. Así, se responsabiliza a la transfusión heteróloga como un predictor independiente de mortalidad, aumentando el riesgo de muerte con cada unidad de sangre transfundida e incremento en los días de hospitalización (4). De igual forma, se señala que la transfusión autóloga disminuye la supresión del sistema inmunitario en pacientes con tumores malignos sometidos a procedimientos quirúrgicos (5).

Estudios de diversa índole, que se han venido realizando desde hace poco más de treinta años, se han encargado de documentar exhaustivamente los principales efectos fisiológicos y psicológicos que padece el donante después de la donación de sangre. Entre los efectos se encuentran, las reacciones vasovagales (debilidad, palidez, náuseas, desvanecimiento, entre las más importantes) condicionadas, la mayor parte de las veces, por disminución de la volemia que conduce a falla en la compensación circulatoria por el Sistema Nervioso Autónomo (2, 6, 7); además de los factores psicológicos cuya participación parece contribuir en la aparición de estas reacciones (8).

Sin embargo, a pesar de que la donación de sangre representa para el donante la pérdida de cierto volumen que contiene diversos componentes del sistema inmunitario, hace relativamente poco tiempo, algunos científicos se han abocado a estudiar los posibles efectos inmunológicos de la donación de sangre (3-5, 9-12); algunos de los cuales han reportado en donantes profesionales alteraciones en el número y tipo de subpoblaciones linfocitarias, así como en las concentraciones de las inmunoglobulinas séricas (9, 13). En la última década, los estudios se encaminan a conocer los valores séricos de mediadores solubles como las citocinas y sus receptores solubles, cuyo conocimiento ayudaría a entender mejor el comportamiento diferente que se observa en pacientes que reciben sangre autóloga o heteróloga (3, 4).

De manera que atendiendo a estos antecedentes, surgió la necesidad de indagar acerca del estado de ciertos mediadores solubles de la respuesta inmunitaria como la Interleucina 2 (IL-2) y su receptor soluble (RsIL-2), en donantes que asisten al Banco de Sangre del Estado Zulia, antes, 24 horas y 12 días después de la donación de sangre.

## Material y Métodos

La muestra de estudio estuvo conformada por 34 donantes voluntarios de sangre, del sexo masculino, con edades comprendidas entre 20 y 45 años, a quienes se les determinaron las concentraciones de IL-2 y RsIL-2 antes, 24 horas y 12 días después de la donación de sangre. Los mismos asistieron al Banco de Sangre del Estado Zulia y cumplieron con los requisitos exigidos que constan en el Reglamento que rigen las activida-

des de los bancos de sangre, para ser considerados aptos para la donación (14).

A cada uno de los pacientes se les informó sobre los objetivos del presente estudio y se les solicitó su consentimiento por escrito para ser incluido en el mismo.

Para la determinación de las concentraciones séricas de IL-2 y RsIL-2, a cada donante se le extrajeron 6mL de sangre (obtenida por venipunción), antes, 24 horas y 12 días después de la donación, que fueron colocadas en tubos de vidrio secos y estériles sin anticoagulante, separando el suero por centrifugación a 1000 g durante 10 minutos. El suero extraído se repartió en alícuotas que se colocaron en tubos plásticos (Eppendorf), y se almacenaron a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento.

El análisis de las muestras séricas para IL-2 y RsIL-2, se realizó mediante la técnica de Inmunoensayo Enzimático de captura (ELISA) (BIO-SOURCE), CATÁLOGO # KAC1241, lote # 034404 (IL-2) y CATÁLOGO # KHR0022/KH0021, lote # PP009/MO70602 (RsIL-2) (15).

Los valores obtenidos se expresaron como promedio  $\pm$  desviación estándar. Los datos fueron analizados a través del test  $t$  de student para datos no pareados. La relación entre las citocinas fue realizada mediante el análisis de correlación de Pearson. Se utilizó el 95% como índice de confianza, considerando toda probabilidad menor de 0,05 como significativa ( $P < 0,05$ ).

## Resultados y Discusión

En la Tabla 1 se muestran los valores promedio y desviaciones estándares de IL-2 y RsIL-2 en donantes de sangre, en los tres períodos de estudio analizados, nótese que la primera mostró una discreta disminución 24 horas después de la donación para elevarse ligeramente 12 días después; mientras que para el RsIL-2, se evidenció un incremento (24 horas y 12 días), con respecto a las cifras basales; sin embargo, ni para la IL-2 o su receptor soluble se encontró diferencias significativas entre los intervalos estudiados, tampoco se observó correlación entre ellas.

Si se analizan los diferentes reportes sobre las alteraciones de los componentes del sistema inmunitario, se puede apreciar que estos son controversiales, así varios autores (9, 11) encontraron disminución de la cifra absoluta de linfocitos totales, TCD4, TCD8 y linfocitos B en donantes de sangre ordinarios, doce días después de realizarse la donación; lo cual según Abraham y cols. no parece condicionar las posibles alteraciones de activación y proliferación celular observadas en pacientes que han sufrido pérdida sanguínea (16). Estos estudios sin embargo, son rebatidos por otros trabajos, en los cuales no se observaron estos hallazgos (11, 17).

En este trabajo, se observa que los valores promedio de IL-2 y RsIL-2 obtenidos en los donantes antes de la donación fue de 7,46 U/mL y 359,4 pg/mL respectivamente, al comparar estos valores con los referidos por el kit utilizado (control bajo y alto 6,59 U/mL y 18,9 U/mL para IL-2, 257 pg/mL y 589 pg/mL para RsIL-2 respectivamente), se puede observar que nuestros valores se situaron alrededor del valor bajo, este resultado sólo es el reflejo de las características que tenían los sujetos de estudio seleccionados quienes conforman un grupo de personas sanas con parámetros hematológicos normales para su edad y sexo, y por ende con una activación inmunitaria bajo estímulo fisiológico (18, 19).

A pesar de que en algunos de los donantes, se encontraron niveles no detectables de IL-2, en la mayoría de ellos (# 25) se determinó IL-2 sérica, situación que podría explicarse si tomamos en cuenta que los individuos objeto de estudio eran donantes por primera vez, y el estrés generado por esta experiencia pudo haber condicionado el desencadenamiento de los mecanismos de activación transitoria de las células T, generándose la síntesis y secreción de IL-2 (eje hipotálamo-hipofisario-sistema neuroendocrino) (2, 7, 8, 20).

Es de hacer notar, que el empleo de kits comerciales de ELISA para la determinación de citocinas séricas o plasmáticas, exhiben una baja reproducibilidad de laboratorio a laboratorio, a pesar de aplicarse en cada caso el mismo principio de reacción; sin embargo, la no disponibilidad de estándares y reactivos internacionales

Tabla 1  
Valores séricos de IL-2 y RsIL-2 en donantes de sangre antes, 24 horas y 12 días después de la donación

Intervalo	IL-2 (U/mL)	RsIL-2 (pg/mL)
	X DS	X DS
Antes donación (34)	7,46 ± 2,98	359,4 ± 127,3
24 horas después (34)	7,41 ± 1,00	387,4 ± 68,5
12 días después (34)	7,83 ± 2,65	372,2 ± 79,13
P	NS	NS

X DS: Promedio desviación estándar. NS: No significativo. Las cifras entre paréntesis representan número de casos.

para las citocinas que provengan de la misma fuente, dificulta la homogenización y correlación de los resultados obtenidos por diversos investigadores a nivel mundial. Por tanto, estas limitaciones metodológicas podrían haber condicionado en cierta forma los resultados obtenidos en esta investigación en donantes voluntarios (21).

Como señalamos anteriormente, las concentraciones de IL-2 y RsIL-2 en los diferentes períodos estudiados experimentaron un aumento con respecto al valor basal, este incremento no fue estadísticamente significativo. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Lange S. y cols., quienes midieron entre otros parámetros, niveles séricos de citocinas (IL-2, RsIL-2, entre otras) en donantes de sangre a repetición y en donantes ocasionales, encontrándose disminución de células TCD8 y NK, pero sin cambios significativos en lo que respecta a las citocinas (10). Por el contrario, Abraham y cols. encontraron en donantes profesionales, en especial de concentrados leucocitarios, disminución de la proliferación de linfocitos periféricos con depresión de los niveles séricos de IL-2, que se mantuvo por 24 horas aproximadamente (16).

Así mismo, es de gran importancia tomar en cuenta, que estudios recientes han determinado que ciertos polimorfismos genéticos a nivel de algunas citocinas pueden causar alteraciones en la síntesis y secreción de las mismas. Mac Millan y cols. en 2003, describieron un polimorfismo de la IL-2 a nivel de su región promotora (alelo G), que causa un incremento en la producción de esta ci-

tocina en receptores de trasplante de médula ósea. La determinación de la incidencia de este polimorfismo en la población de donantes, podría explicar la detección de niveles séricos de IL-2 circulantes en los individuos objeto de estudio, antes y después de la donación de sangre y sus posibles efectos en los receptores (22).

En resumen, los resultados encontrados en los donantes de sangre objeto de nuestro estudio, quienes se encontraban donando sangre por primera vez (500mL), no mostraron cambios significativos durante los periodos estudiados, atribuible presumiblemente, a los bajos niveles de activación de los linfocitos T esperados en individuos sanos cuyo sistema inmunitario se encuentra funcionando en forma óptima (18, 23), lo que pudiera ser beneficioso en sujetos que ameritan transfusión y reciben su propia sangre.

## Conclusiones

Los donantes seleccionados para este trabajo poseían niveles basales de IL-2 y su receptor, correspondientes a activación inmunitaria bajo estímulo fisiológico, lo cual es lo esperado en un grupo de personas sanas con parámetros hematológicos normales para su edad y sexo. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas para cada una de las citocinas en cada período de estudio, ni entre la IL-2 y su receptor. Estudios comparativos entre donantes de sangre total y derivados sanguíneos como plaquetas, leucocitos, glóbulos rojos o plasma, deben desarrollarse para tratar de esclarecer la ocurrencia

de diversos efectos inmunológicos a largo plazo en los mismos.

### Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES). Los autores agradecen la dotación de materiales reactivos y equipo necesario para la ejecución de este trabajo de investigación. Así mismo, se contó con la colaboración del Laboratorio de Referencia Viroológica, en cuyos laboratorios se llevó a cabo el análisis de las muestras recolectadas.

### Referencias Bibliográficas

1. CHAUDRY I.H., AYALA H., ETHEL W. *Am J Physiol* 259: R663-R678, 1990.
2. OGATA H., IINUMA N., NAGASHIMA K., AKABANE T. *Transfusión* 20(6): 679-683, 1980.
3. ROBINSON WP 3rd., AHN J., STIFFER A., RUTHERFORD EJ., HURD H., ZRZAUR B.L., BAKER C.C., MEYER A.A., RICH P.B. *Trauma* 58(3): 437-444, 2005.
4. RAGHAVAN M., MARIK P.E. *Chest* 127(1): 295-307, 2005.
5. YAN M., CHEN G., FANG L.L., LIU Z.M., ZHANG X.L. *J Zhejiang Univ Sci B* 6(1): 49-52, 2005.
6. TOMITA T., TAKAYANAGI M., KIWADA K., MIEDA A., TAKAHASHI C., HADA J. *Transfusion* 42(12):1561-1566, 2002.
7. NEWMAN B.H., PICHETTE S., PICHETTE D., DZAKA E. *Transfusion* 43(5): 598-603, 2003.
8. KASPRISIM D.O., GLYNN S.H., TAYLOR F., MILLER K.A. *Transfusion* 32(1): 23-26, 1992.
9. MARQUET R.L., HOYNCKVAN MA., BUSCH O.R., JEEKEL *J Blood* 33(5): 368-373, 1993.
10. LANGE S., RIGGERT J., HUMPE A., DITTMANN J., SIMPSON G., KOHLER M. *Beitr Infusionsther Transfusionsmed* 33: 93-97, 1996.
11. ABRAHAM E., CHANG H. *Crit Care Med* 14: 81-86, 1986.
12. LASEK W., PLODZISZEWSKA M. *J Clin Lab Immunol* 22: 165-168, 1987.
13. IEROMMINON V., KRUGER J., SCHMIDT R., SEHRBUNDT M. *Vox Sang* 41(3): 165-171, 1981.
14. <http://www.hemobaires.com.ar/condicio.htm>. Condiciones para donar sangre. Fecha de recuperación: 09/05/05.
15. ENGVALL E., PERLMAN P. *Immunochem* 8(9): 871-874, 1971.
16. ABRAHAM E., FREITAS A.A. *J Immunol* 142: 8990-8996, 1989.
17. LEWIS S.L., KUTVIRT S.G., SIMON J.L. *Transfusion* 32:51-56, 1992.
18. RUBIN L.A., JAY G., NELSON L. *J Immunol* 137: 381-384, 1986.
19. SMITH K. *Science* 40: 1169-1176, 1988.
20. BESEDOVSKY H.O., SORKIN E. *Clin and Exp Immunol* 27:1-12, 1977.
21. FAHEY J., AZIZ N., SPRITZLER S., NISHANIAN P., LATHEY J., SEIGEL J., LANDAY A., KILARUI R., SCHMITZ J., WHITE C., WARAD D., AKRIDGE R., CUTILI J., DOUGLAS S., REUBEN J., SHEARER W., NOKTA M., POLLAND R., SCHOOLEY R., ASHTANA D., MIZRACHI Y., WAXDAL M. *Clin and Diagn Lab Immunol* 7(4): 540-548, 2000.
22. MACMILLAN M., RADLOFF G A., KIFFMEYER W., DEFOR T., WEISDORF D., DAVIES S. *Transplantation* 76: 1758-1762, 2003.
23. SYMAN J., WOOD J., DIGIOVINE F., DUFF G. *J Immunol* 141: 2612-2618, 1988.