

SERIA ERITROIDĂ NORMALĂ

ERITROPOIEZA

Are loc la nivelul măduvei roșii hematogene care din punct de vedere funcțional are trei compartimente:

1. **compartimentul de susținere** reprezentat de lamelele osoase din epifizele oaselor lungi, la care se adaugă sistemul reticular.
2. **compartimentul vascular** reprezentat de ramificațiile terminale ale arterei nutritive a osului, respectiv capilare sinusoide fenestrate, cu membrana bazală și endoteliu. La acest nivel are loc diabaza (trecerea în circulația periferică a celulelor mature și a factorilor care o reglează)
3. **compartimentul celular** (vezi micromediul medular hematopoietic).

Funcțiile măduvei osoase sunt: hematopoietică, osteopoietică și imunologică.

Eritropoieza începe cu celula stem și sfârșește cu hematiile circulante. Acest proces presupune proliferarea și maturarea (diferențierea) precursorilor eritrocitari, ca și biosinteza hemoglobinei. Eritropoieza se desfășoară în cadrul unui perfect echilibru între compartimentul de producție și cel funcțional. Celula stem eritropoietică este asemănătoare unui limfocit mic și-i reprezentată de BFUE (Burst Forming Unit Erytroid) și respectiv CFUE (Colony Forming Unit Erytroid).

Seria eritroidă reunește 6 stadii succesive:

1. **proeritroblastul (pronormoblastul)** este o celulă mare (18–25 micrometri), rotundă, cu nucleu rotund, voluminos (8/10 din suprafața celulei) cu cromatina fină, dispusă în rețea și cu 1–2 nucleoli. Citoplasmă puțină, intens bazofilă la periferie, bogată în organite, iar perinuclear cu o zonă cromatofobă care, dă reacție la fosfataza acidă, reacție ce se diminuează pe procesul maturării (complexul Golgi).
2. **eritroblastul (normoblastul) bazofil** (18–20 m) cu rata nucleoplasmatică de 1/5. Nucleul sferic, lipsit de nucleoli, este dispus central cu cromatina în agregate neregulate, dense, iar citoplasma intens bazofilă. Zona cromofobă perinucleară mai puțin evidentă.
3. **eritroblastul (normoblastul) policromatofil** este o celulă de 10–12 μm , rotundă, cu nucleul excentric, mai mic decât cel al celulei precedente, ocupând 50% din suprafața celulei. Cromatina, de asemenea, mai condensată. Rata nucleoplasmatică în favoarea citoplasmei, care este mai bazofilă la periferie.
4. **eritroblastul (normoblastul) oxifil** (ortocromatic/acidofil) celulă rotundă sau ușor ovală de 8–10 μm cu nucleul ocupând 1/4 din suprafața celulei. Nucleul pierde treptat cromatina, devine picnotic și urmează expulzarea lui. Citoplasma oxifilă cu ușoară tendință policromatofilă. Acest stadiu seamănă cu o hematie nucleată.

5. **reticulocitul (proeritrocitul)** de 9–10 μm , reprezintă 1% din eritrocite. În măduva osoasă sunt de 3–4 ori mai multe reticulocite, decât în sânge. Sunt de fapt hematii imature, care se maturează definitiv în cele 1–3 zile cât circulă în sânge. Denumirea de reticulocit este datorată prezenței rețelei filamentoase formată din organele rămase din celula precedentă și din ribonucleoproteinele care precipită sub acțiunea colorantului albastru de crezil. Reticulocitele continuă sinteza de hemoglobină până la saturarea hematiilor, are încă activitate “respiratorie” (ciclul Krebs) care lipsește în hematie și permite mișcări de diapedeză (trec din spațiul medular în sinusoidale sangvine).

După maturare rețeaua dispare fiind fagocitată de macrofage. Numărul reticulocitelor reflectă capacitatea proliferativă a măduvei, deoarece scăderea numărului lor indică insuficiență medulară în producerea de hematii.

În concluzie, seria normoblastelor se caracterizează prin: scăderea taliei și implicit a nucleului; rata nucleoplasmatică crește; cromatina nucleară crește cantitativ și se condensează, devenind ulterior picnotică și precedând expulzarea nucleului; crește cantitatea de hemoglobină și concomitent scade RNA-ul ribosomal.

De la stadiul 1 la stadiul 5 eritropoieza se desfășoară în 7 zile: în primele 4 evoluează paralel procesele multiplicării și maturării, iar în următoarele 3 zile are loc exclusiv maturarea, fază în care sunt prezenți eritroblaștii policromatofili evoluți (care nu se mai înmulțesc deoarece conțin puțini acizi nucleici), eritroblaștii oxifili și reticulocite

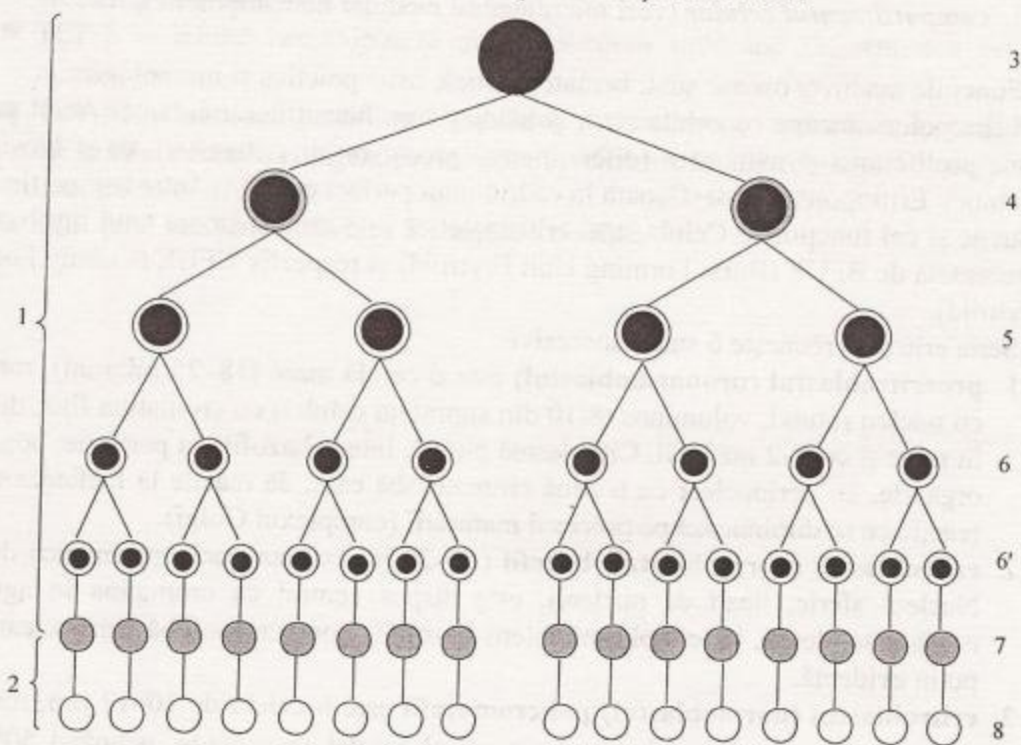


Fig. 7. Diagramă ce ilustrează secvența amplificării și maturării în dezvoltarea celulelor roșii mature din pronormoblast. 1 - măduva osoasă; 2 - sânge; 3 - pronormoblast; 4 - normoblaste; 5 - normoblaste bazofile; 6 - normoblaste; 6' - normoblast acidofil; 7 - reticulocite; 8 - celule roșii (eritrocite, hematii).

6. **Hematiia** este “celula” funcțională a seriei eritroide. În sânge circulă 120 zile, după care devine senescentă și-i fagocitată de macrofagele splenice. Este o structură ultraspecializată conținând, prin excelență, hemoglobină care transportă oxigenul din

atmosfera, la țesuturi și dioxidul de carbon, de la țesuturi via plămâni în atmosferă. Are formă de disc biconcav, adaptare perfectă la funcția de transport a oxigenului, deoarece asigură o suprafață maximă (aproximativ $120-140 \mu^2$) la un volum mic (aproximativ $80-90 \mu^2$). Forma de disc biconcav (în secțiune transversală are formă de pișcot) se datorează interacțiunilor dintre forțele intrinseci și extrinseci. Pe frotiul proaspăt hematia apare de formă rotundă, cu o zonă palidă centrală și o zonă periferică mai intens colorată. În organismul sănătos 60% sunt hematii normale, iar restul sunt fie tinere, fie senescente sau ambele. Sunt foarte plastice, modificându-și forma la trecerea prin capilare (vase sangvine foarte înguste), deoarece se pot deforma.

1. După gradul încărcării cu hemoglobină (după culoare) sunt hematii normocrome, acromocite, policromatofile și hipocrome.

Acromocitele sunt de fapt, reticulocite tinere ce conțin foarte puțină hemoglobină și provin din eritroblastele policromatofile. Aceste reticulocite au expulzat prematur nucleul, deci înainte de saturarea cu hemoglobină a citoplasmei.

Hematiile policromatofile sunt incomplet mature după expulzia nucleului, fiind deci reticulocite. În mod normal sunt 1-2%.

Hematiile hipocrome sunt palide și conțin puțină hemoglobină.

2. După dimensiuni (anizocitoză) sunt:

- megalocite: hematii de talie foarte mare prezente exclusiv patologic.
- macrocite: hematii de dimensiuni ce depășesc volumul normal. Fiziologic, sunt sub 20% macrocite din totalul hematiilor.
- microcite: hematii mature, dar sub volumul normal. Sunt 20% din totalul hematiilor, cu hemoglobină cantitativ redusă.

3. După formă (poikilocitoză) sunt forme diferite de hematii datorate alterării prin modificări ale conținutului lor:

- sferocite-microcite rotunde, intens colorate, fără centru palid,
- drepanocite (sickle cells) – hematii în formă de semilună, intens colorate,
- eliptocite (ovalocite) – hematii de formă ovală,
- acantocite – hematii cu spiculi pe suprafață,
- dacrocite – hematii în formă de picătură de lacrimă (dacros-lacrimă),
- leptocite – hematii în formă de semn de tras la țintă, respectiv prezintă periferic un inel de hemoglobină colorat normal, în centru o zonă palidă, deci repartizare inegală de Hb,
- anulocit – hematii mai mult sau mai puțin golite de Hb, rămâne numai un inel periferic),
- Burr cells – hematii crenelate ce apar în soluțiile hipertone, dar și când frotiul este incorect executat sau când se usucă prea rapid.

4. Hematiile conțin și diferite incluzii. Astfel sunt:

- corpii Heinz ce reprezintă agregate de Hb denaturată oxidativ,
- corpii Howell-Jolly ce reprezintă resturi de nucleu sub formă de granule rotunde, dense, respectiv condensări de cromatină rămasă anormal în hematie,
- inelele Cabot, filiforme (linii cu circuit închis) în formă de cerc, de 8, de semilună sau de rachetă. Inelele Cabot provin din proteinele fibrilare ale fusului de diviziune, cae nu s-au absorbit în urma telofazei,
- punctuațiile bazofile reprezentate de mici granulații diseminate pe întreaga suprafață a hematiei și constituite din agregate de ribosomi bogate, evident, în ARN. La acestea s-ar asocia mitocondrii și siderosomi (cu fier neheminic).

STRUCTURA HEMATIEI

Hematia prezintă membrana și citoplasma (citosol) lipsite de mitocondrii și celelalte organe. Nu are nucleu. Conține prin excelență constituenți biochimici necesari funcționării ei, respectiv hemoglobină (Hb) și sistemele enzimatice proteice care îi asigură un citoschelet bine structurat.

Membrana hematiei (fig. 8) (complex lipo-glicoproteic plus citoschelet) este o barieră selectivă pentru schimburile sale cu mediul și conține 52% proteine, 40% lipide și 8% glucide asociate proteinelor. Prezintă în structura sa, trei straturi paralele: superficial, mijlociu (electronodens) și intern (electronoclar).

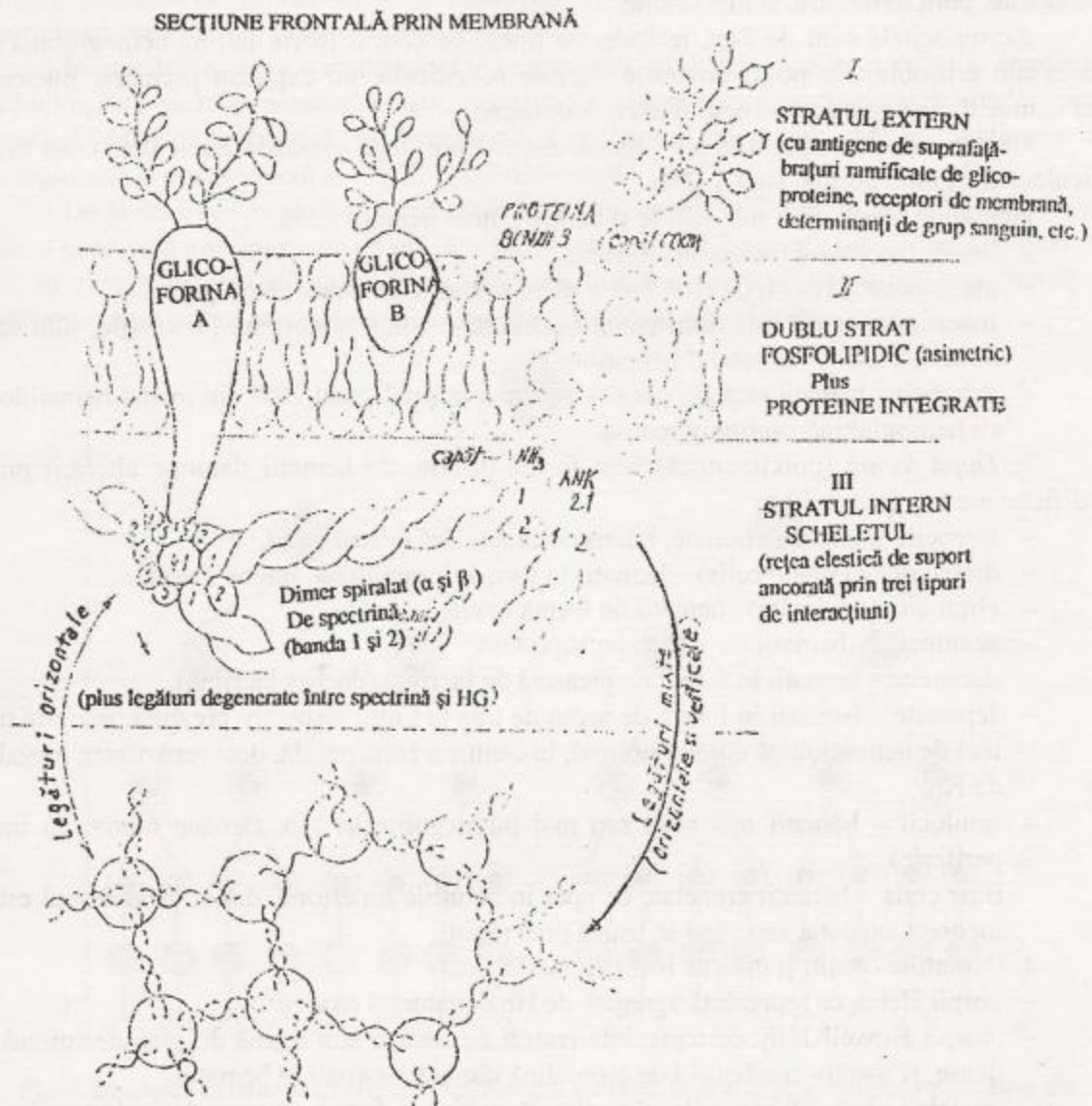


Fig. 8. Compoziți, aranjamentul și nomenclatura componentelor moleculare ale celor trei straturi care alcătuiesc membrana eritocitară. Eritrocitele golite de conținutul lor (devenite „fantome eritrocitare”) sunt supuse acțiunii unor detergenți care le separă în mai multe componente. Pe de o parte obținem lipide solubilizate împreună cu proteinele integrate și stratul superficial bogat în acid sialic, iar pe de altă parte obținem o grupare de proteine care constituie stratul subiacent sau scheletul membranei. În figură este prezentat schematic, modul de organizare a acestor componente în cele trei straturi, precum și interacțiunile dintre ele.

Stratul superficial se distinge prin prezența a numeroși antigeni (Ag) printre care se reunesc după determinați specifici datorati lanțurilor de hidrați de carbon, dar și de combinația acestora cu lanțurile peptidice (de exemplu, proteinele benzei 3 conțin majoritatea determinanților pentru sistemul Rh). Pe suprafața membranei sunt și receptori pentru diverși paraziți, virusuri, lectine. Polizaharidele stratului extern al membranei intervin și în recunoașterea celulară ca și în adezivitate. Glicoproteinele acestui strat sunt predominant încărcate negativ datorită prezenței acidului sialic.

Stratul mijlociu, de natură lipidică, foarte mobil îi conferă membranei hematiei capacitatea de deformabilitate (îi modifică forma) dar, pe de altă parte, nu-i conferă suficientă rezistență. Conține spre exterior fosfatidil colină și sfingomielină, iar spre interior, fosfatidilserină și fosfatidil etanolamină. De asemenea, această porțiune conține colesterol (1.9×10^8 molecule). Stratul mijlociu lipidic reunește strict proporțional moleculele de colesterol și moleculele fosfolipidice. Aceste structuri ancorează la suprafață moleculele de zaharuri și, de asemenea, sunt traversate de proteinele integrate membranei. Printre acestea din urmă cităm glicoforinele și proteinele benzii 3 care sunt canale de transport.

Stratul intern reprezintă citoscheletul hematiei, constituit dintr-o rețea de molecule fibrilare și globuloase care tapetează partea internă a membranei. Citoscheletul conferă astfel hematiei rezistența, forma, capacitatea de deformabilitate și integritate în circulație. Electroforetic, s-a stabilit după viteza de migrare a proteinelor, prezența a 10-15 benzi (pentru proteinele structurale majore) pe lângă care s-au detectat încă aproximativ 200 de proteine minore. Dintre proteinele majore menționăm:

– **spectrina** – proteină structurală a membranei hematiei, pe departe cea mai importantă (75% din proteinele scheletale), care apare pe locurile 1 și 2 ale benzilor de migrare electroforetică. Este o proteină fibrilară, flexibilă, un heterodimer format, deci, din două lanțuri polipeptidice dispuse în helix-alfa și -beta dimer spiralat ce rezultă în urma interacțiunii necovalente, ambii monomeri au capete terminale -COOH și -NH₂. Capătul -COOH al monomerului alfa se cuplează cu capătul -NH₂ al monomerului beta. Aceasta este cuplarea "cozilor" proces mediat de actină (proteina benzii 5) și de proteina benzii 4.1. Dimerii de spectrină se pot lega în tetrameri numai prin intermediul actinei (banda 5) și a proteinei benzii 4.1, asigurând legăturile pe orizontală (rețea orizontală bidimensională). Există însă și legături pe verticală (proteine integrate) cu straturile lipidice supradiacente, fosfatidilserina și fosfatidil etanolamina. Astfel integrată, proteina este inclusă în dublul strat lipidic (banda 3) și ancorată prin intermediul anchirinei (banda 2.1) tot la rețeaua de spectrină, astfel încât se realizează 3 tipuri principale de interacțiuni ale spectrinei:

- interacțiunile cu proteinele scheletale (rețeaua orizontală bidimensională)
- interacțiunile cu proteinele integrate (legături verticale)
- interacțiunile directe cu stratul lipidic supradiacent, respectiv cu fosfatidilserina și fosfatidil etanolamina.

Aceste interacțiuni intervin în plus în menținerea stabilității dublului strat lipidic, de aceea stabilirea acestor legături duce la pierderi de membrană lipidică.

- **actina** (proteina benzii 5) este o proteină fibrilară elastică, asemănătoare actinei din mușchi sau trombosteninei din plachetele sangvine și reprezintă 10% din toate proteinele scheletului membranei. Pentru un dimer de spectrină revin 4 filamente de actină. Aceste două proteine contactile se leagă și de proteinele benzii 4 care strâng dimerii spiralati de spectrină, asigurând suportul interacțiunilor proteinelor scheletale pe orizontală.
- **proteina benzii 4.1**, abundentă în membrană, modulează legăturile dintre dimerii spiralati de spectrină și filamentele de actină fixând astfel scheletul de stratul lipidic superior via proteinei integrate (banda 3). Împreună cu actina proteinele benzii 4.1 intervin crucial în menținerea integrității citoscheletului.

- *anchirina* (proteina benzii 2.1) este o proteină globuloasă. Se leagă în plan orizontal cu dimerul de spectrină, iar în plan vertical cu proteina benzii 3 cu care interacționează "ancorând" rețeaua de bază la straturile superioare.
- *proteina benzii 3* este o proteină voluminoasă, de fapt, o glicoproteină integrată, principala proteină translipidică ce leagă dublul strat lipidic de scheletul subiacent conține majoritatea determinantilor pentru sistemul Rh, iar către exterior este receptorul concavaleinei A, lectina din Ricinus și intervin în permeabilitatea anionilor sulfati și fosfați, a glucozei, dar și în micșorarea apei. Sunt aproximativ 100.000 de molecule de proteina benzii 3 pe suprafața unei hematii.

Pe lângă proteinele structurale menționate, membrana hematii conține și proteine-enzime, printre care proteina benzii 6-glicerol-3-fosfatdehidrogenaza, ATP-aza și acetilcolinesteraza.

Glicoforinele sunt de trei tipuri: A, B și C. Glicoforina A este cea mai abundentă pe suprafața hematii. Este formată dintr-un singur lanț peptidic constituit din 131 aminoacizi. Capătul N-terminal și primii 90 de aminoacizi sunt în exterior. La acest capăt sunt legate 16 unități de oligozaharide, adică 60% din întreaga masă a moleculei. Glicoforina A deține antigeni ai grupei sanguine MN, ca și receptori pentru mixovirusuri și lectine vegetale. Glicoforinele se ramifică pe suprafața hematiilor, majoritatea lanțurilor de oligozaharide ramificate conțin la capăt acid sialic (sarcină electrică negativă), care întârzie aglutinarea și sedimentarea hematiilor.

Este evident faptul că orice defect mutagen sau reacție biochimică anormală conduc la stabilirea interacțiunilor necovalente ale citoscheletului membranos cu consecința instabilității legăturilor și de aici la pierderi de fragmente de membrană, la scăderea suprafeței și volumului hematii, la scăderea capacității de deformare reversibilă, la creșterea reținerii hematiilor în splină și în final, la hemoliza precoce.

Citosolul (citoplasma) hematii este în proporție de 33-35% reprezentat de Hb, 60% apă și 5-7% alte substanțe în suspensie apoasă. Afară de Hb și enzime se găsesc substanțe organice cu moleculă mică (exemplu glucoză, glutatoni, ATP), compuși metalici și metaloizi (exemplu fosfor, zinc, cupru, sulf) și alte substanțe, toate acestea concurând la menținerea 120 zile a Hb funcțională -oxiHb- ce leagă și transportă labil oxigenul.

Hemoglobina (fig 9, 10) este o cromoproteină formată dintr-o componentă proteică-globina (96%) și una prostetică -hemul, o protoporfirină ce conține fier.

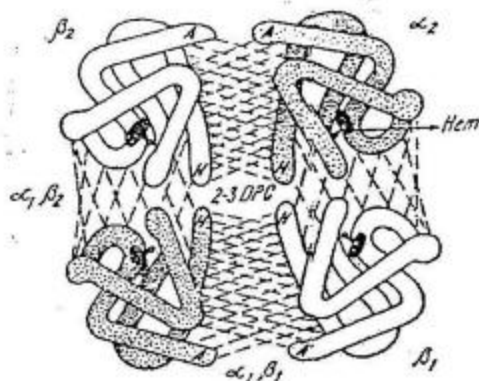
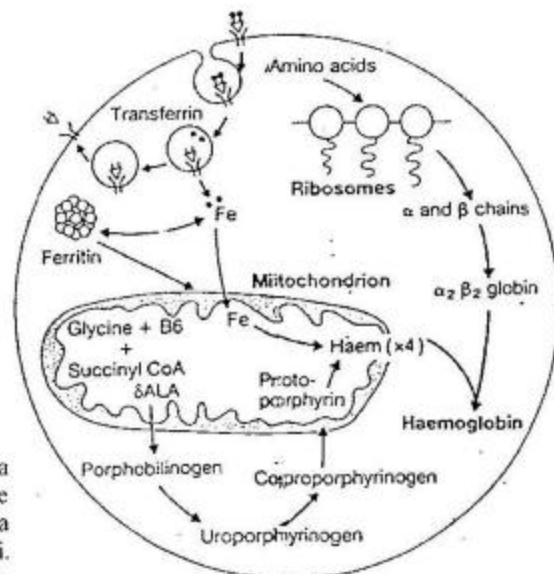


Fig. 9. Structura hemoglobinei.

Fig. 10. Sinteza hemoglobinei în dezvoltarea și evoluția eritrocitului. Mitocondriile sunt locurile principale ale sintezei protoporfirinei. Fierul (Fe) este adus de transferina circulantă. Lanțurile plasmei sunt sintetizate pe ribosomi. Acidul delta-amino-levulinic. CoA - coenzima A.



Sinteza Hb presupune:

- integritatea sistemului enzimatic care este prezent începând cu eritroblaștii și sfârșind cu reticulocitele. Hematia matură este lipsită de sistem enzimatic.
- schimburi permanente cu mediul extraeritocitar,
- aportul continuu de materiale plasmatic necesare sintezei sale, cum sunt proteine, Fe²⁺ (bivalent), catalizatori (ioni de nichel, molibden, mangan), vitamina B12, acidul ascorbic.

Globina (fig. 11,12) este o proteină bazică din clasa histonelor, formată dintr-un tetramer, respectiv 4 lanțuri polipeptidice, două câte două identice, cu secvențe specifice de aminoacizi. Aceasta este structura primară. Sunt două lanțuri alfa, fiecare format din câte 141 aminoacizi (alfa 1 și alfa 2) și două lanțuri beta format fiecare din câte 146 aminoacizi (beta 1 și beta2).

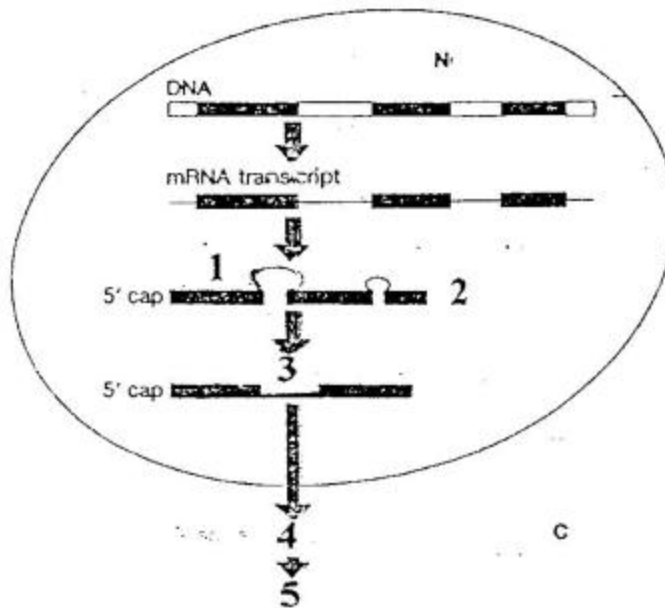


Fig. 11. Expresia unei gene a globinei umane, excizia intronilor, procesarea exonilor și translația către ribosomi. Transportul primar este tăiat la 20 nucleotide aval de această secvență „captată” la capătul 5’ și ulterior este adăugată o coadă poly(A). N - nucleu; C - citoplasmă; 1 - procesare; 2 - coada poly(A)-3’; 3 - transcript mRNA procesat; 4 - translația pe ribosomi; 5 - lanțul β-globulinei.

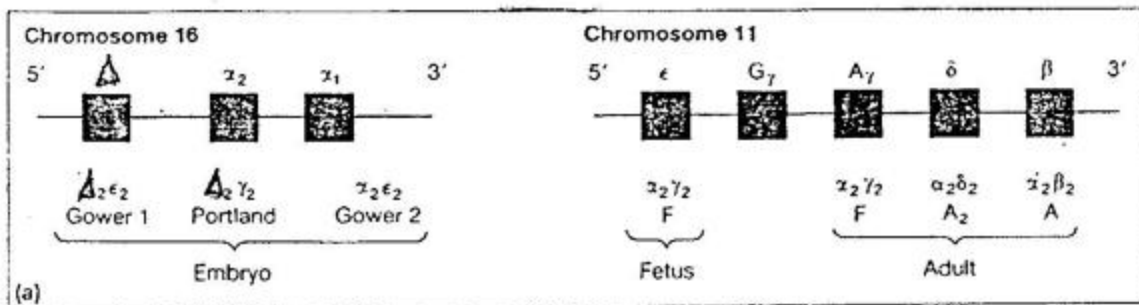


Fig. 12. Clusterii genei globinei pe cromosomii 16 și 11. În timpul vieții embrionare, fetale și adulte, diferite gene sunt activate sau supresate. Diferitele lanțuri sunt sintetizate independent și apoi combinate unul cu altul pentru a produce diferite hemoglobine. Gena gamma poate avea două secvențe, diferind de cea care este un reziduu de acid glutamic sau alanină la poziția 136 (G sau respectiv A).

În structura globina hemoglobinei fiziologice pe lângă lanțuri alfa și beta intră și alte lanțuri polipeptidice și anume beta, epsilon, gamma și zeta. Lanțurile beta și gamma au câte 146 aminoacizi, iar lanțurile epsilon și zeta au câte 141 aminoacizi.

Pe aproximativ 75% întindere, lanțurile de aminoacizi au structură spațială de tip epsilon, adică helicoidală, ceea ce reprezintă structura secundară. Această structură este însă întreruptă la anumite intervale, de regiuni nehelicoidale, determinând îndoirea și încolăcirea catenei polipeptidice, rezultând astfel structura terțiară. În sfârșit, structura cuaternară este reprezentată de 2 dimeri alfa-beta menținuți prin legături necovalente între lanțul alfa al unuia din dimeri și lanțul beta al celuilalt. Astfel, tetramerul capătă structură tridimensională și conține 4 grupări de hem sferoidale.

Cele 4 lanțuri stabilesc legături intercatenare realizând tocmai structura cuaternară indispensabilă menținerii structurii și funcției normale a Hb.

Fiecare din cele 4 lanțuri polipeptidice are atașată o grupare hem dispusă la exteriorul moleculei de Hb, în "buzunarul hemului" o cavitate realizată în cadrul structurii terțiare a fiecărui lanț. De-a lungul axului central al moleculei de globină există o cavitate cu două fosete: una care separă lanțurile alfa și una care separă lanțurile beta. În aceste fosete se fixează 2,3 difosfoglicerolul (2,3 DPA) cu rol important în fixarea oxigenului.

Hemul se leagă la globină via inelului imidazolic al histidinei din pozițiile 92 și 63 pentru lanțurile beta și 87 și 58 pentru lanțurile alfa. Inelul imidazolic al histidinei din poziția beta 92 (respectiv alfa 87) se leagă direct la atomul de Fe^{2+} , iar cel din poziția beta 63 (respectiv alfa 58) se leagă indirect, fiind o legătură labilă ce permite legarea atomului de Fe^{2+} la Hb în forma oxigenată. Pe lângă aceste legături hemul și globina se leagă și prin legături polare între radicalul acid propionic (pozițiile 6 și 7 ale protoporfirinei) și grupările aminice din lanțurile polipeptidice. Există și legături van-der- Waals între grupările metilice și vinilice ale hemului, pe de o parte, și unii aminoacizi din lanțurile polipeptidice, pe de altă parte.

Legăturile dintre lanțurile alfa, respectiv beta sunt slabe, iar cele dintre lanțurile beta 1 și alfa2 și alfa1 și beta2 sunt foarte puternice. Sinteza globinei se face conform unui program genetic stocat în gene și care reglează sintezele lanțurile hemoglobinei. Există un strict reglaj pe parcursul formării structurii primare și până la cea finală cuaternară. Rata de sinteză a globinei este corelată cu rata de sinteză a hemului care are rol esențial în reglarea sintezei globinei. Sinteza cea mai abundentă cantitativ are loc la nivelul eritroblastului oxifil.

Tipuri de HB

Fiecare lanț polipeptidic este controlat genetic, deoarece pentru fiecare există o genă structurală codificantă. Astfel, genele lanțului alfa și zeta sunt localizate pe brațul scurt al cromosomului 16, iar cele pentru celelalte 5 lanțuri (beta, gamma, delta, epsilon), pe brațul scurt al cromosomului 11.

Hb fiziologice sunt:

1. *Hb embrionare* – Gower ($\epsilon 2, \delta 2$) în primele 6 săptămâni embrionare
– Gower 2 ($\alpha 2 \epsilon 2$ până în luna 3a)
– Portland ($\gamma 2, \delta 2$ -urmane)
2. *Hb fetale* – HbF ($\alpha 2 \gamma 2$) 70–80% în prima săptămână după naștere, când coexistă cu Hb Gower. La finele primului an de viață se păstrează numai 1%. În sângele din cordonul ombilical și la noul născut HbF reprezintă 70–80% din totalul Hb. Se caracterizează prin rezistența mare la denaturare alcalină datorită, se pare, structurii primare a lanțurilor γ și legăturilor chimice dintre acestea și lanțurile α . De asemenea, are afinitate crescută pentru oxigen comparativ cu HbA1 deoarece leagă 2,3-DPG mai greu decât aceasta. Acest caracter permite trecerea oxigenului la nivelul capilarelor din vilozitățile corioare ale placentei, de pe Hb A1 din hematii maternale, pe HbF din hematii fetale.

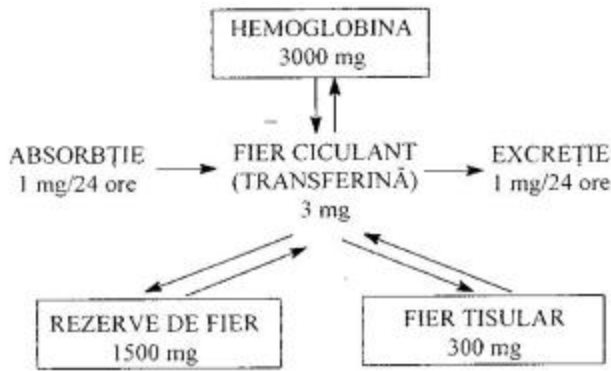


Fig. 13. Compoziția de fier a hemoglobinei.

Electroforetic, este mult mai lentă decât HbA1.

Hemul este o moleculă plană, de culoare roșie. Este o feroprotoporfirină IX în care atomul de Fe^{2+} (feros) este localizat în centrul inelului porfirinic. Fe^{2+} se leagă în cadrul moleculei de Hb prin 4 atomi de azot ai inelului tetrapirolic și prin alte două legături cu globina (fig. 13, 14).

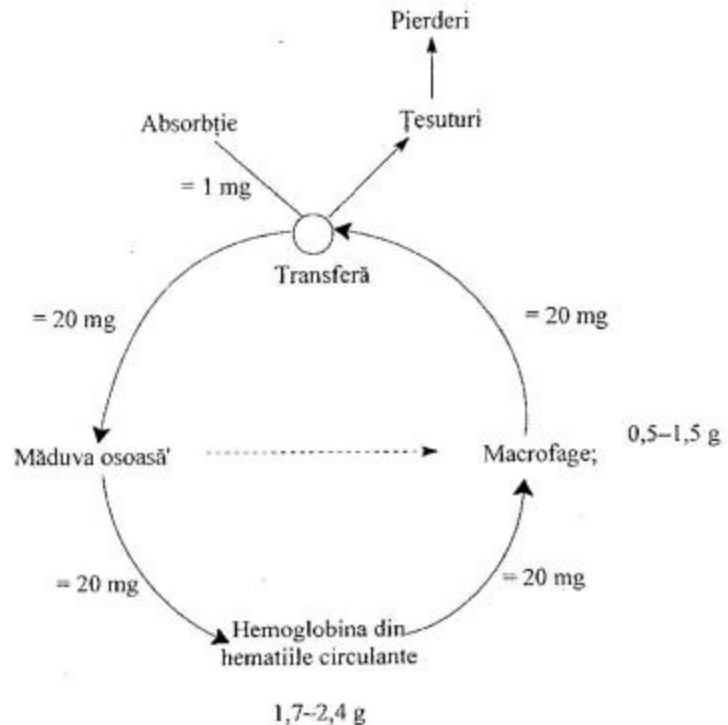


Fig. 14. Ciclul zilnic al fierului. Cantitatea cea mai mare de fier o conține hemoglobina. După liza hematiilor este refolosit pentru sinteza acestuia. Din macrofage fierul este transferat la transformarea plasmatică și astfel la eritoblastele medulare. Absorbția fierului este suficientă pentru a compensa pierderea lui. Linia întreruptă indică eritropoieza ineficientă.

Hemul se fixează reversibil. Oxigenul fiind partea fiziologic activă a Hb.

Fierul are în total 6 valențe din care, cum menționam, 4 sunt ocupate de azot, una care leagă histidina globinei și una ocupată alternativ de oxigen (în sângele oxigenat, nu arterial) și una liberă (în sângele încărcat cu CO_2 - nu venos).

Cei 4 nuclei pirolici sunt interconectați prin legături metil și prezintă 8 lanțuri laterale.

- 4 lanțuri metilice
- 2 lanțuri uridinice
- 2 lanțuri propionice

3. Hb la adult – HbA1 și HbA2 a căror sinteză începe încă din etapa fetală și imediat după naștere, înlocuind HbF. HbA1-97-98%, HbA2-2-3%, HbF-sub 1% din totalul Hb. HbA1 ($\alpha_2\beta_2$) se caracterizează prin mobilitate electroforetică, pH 6,87, afinitate pentru oxigen, viteză de denaturare în mediu acid sau alcalin. HbA2 ($\alpha_2\Delta_2$)-sinteza lanțurilor începe cu HbA1 și rămâne constantă toată viața.

Sinteza moleculei de hem (fig. 15) se desfășoară într-o cascadă de reacții catalizate de 8 enzime specifice din mitocondrii. Sinteza are loc în 7 etape derulate în citoplasmă (cu catalizatorii vitaminei B6 și B12) și în mitocondrii. Ea începe cu o moleculă de glicocol și una de succinat, precursori cu moleculă mică.

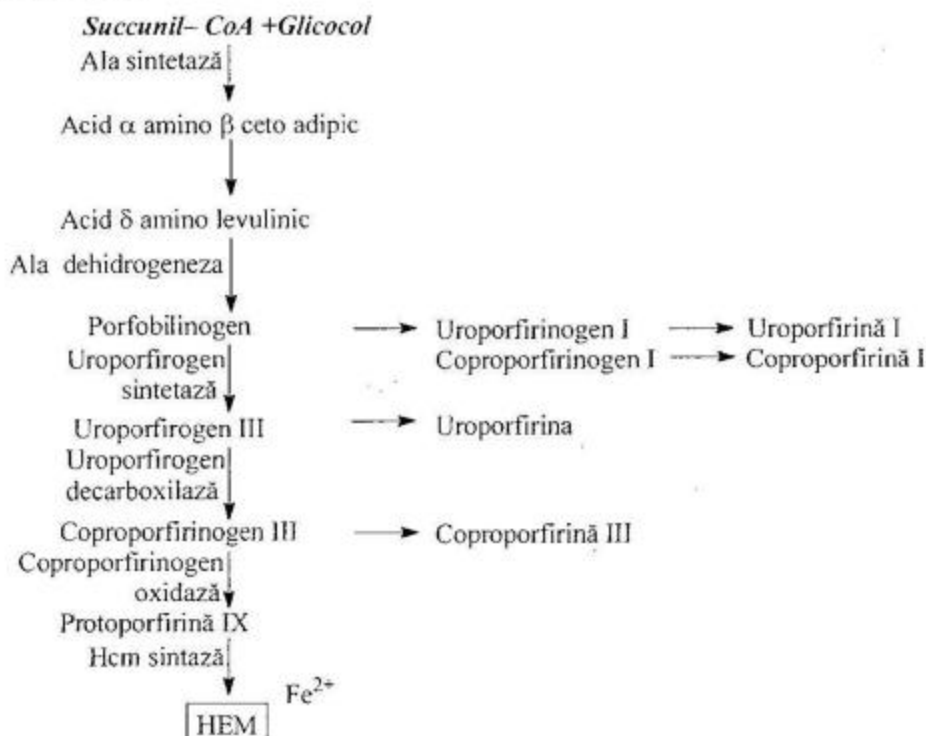


Fig. 15. Biosinteza hemului.

Acestea se condensează formând acidul α -amino β -ceto adipic care se decarboxilează și rezultă acidul delta aminolevulinic. Două molecule de acid delta aminolevulinic se condensează în citoplasmă formându-se porfobilinogenul (inel pirolic). 4 molecule de porfobilinogen, tot prin condensare formează o moleculă de uroporfirinogen, care ulterior trece în coproporfirinogen. Acestea din decarboxilare la nivelul mitocondriului și prin oxidare se transformă în protoporfirină, moment în care sub acțiunea hemosintetazei Fe^{2+} este încorporat în scheletul protoporfirinic, rezultând hemul. Acesta își autoreglează propria sinteză prin feed-back (fig.16).

Proprietățile fizico-chimice ale hematiei

- deformabilitatea, respectiv capacitatea de modificare a formei datorită plasticității

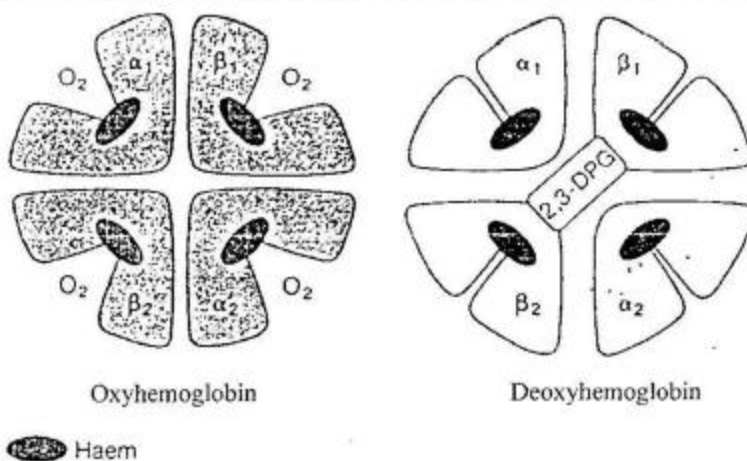


Fig. 16. Molecule de hemoglobină oxigenată și deoxigenată. Lanțurile α și β de globină ale hemoglobinei la adultul normal.

membranei. Această proprietate depinde deci, de structura membranei și se pierde la hematiile senescente.

- *agregarea în fișicuri*, proprietate care le asigură tranzitul prin capilarele înguste. Dimensiunea fișicurilor este influențată de VSH. Formarea lor este ireversibilă.
- *rezistența*, capacitatea de a rezista agresiunilor osmotice, chimice, mecanice. Depinde de pH (cel acid îi scade rezistența) și de vârsta hematiei.
- *stabilitatea suspensiei de hematii* este la baza determinării VSH. Reprezintă proprietatea de a se opune tendinței de sedimentare și se realizează datorită diferenței de densitate dintre cele 2 faze (1027 pentru Hb și 1093 pentru plasmă). Stabilitatea depinde de condițiile de circulație (fluxul sangvin asigură dispensia), de sarcină electrică, de vâscozitate, de volumul hematocritului, de concentrația proteinelor plasmaticice și de timpul de coagulare.
- *scintilația* – hematiile arată mișcări vibratoare,
- *permeabilitatea selectivă a membranei*, care permite schimburi permanente de gaze, ioni, glucoză.

Catabolismul Hb

Hematiile senescente (de 120 zile) eliberează Hb care, la nivelul sistemului reticuloendotelial este desfăcută în hem și globină (proces numit hemoliză).

Hematiile senescente se caracterizează prin: mobilitate și rezistență, volum redus, scăderea nivelului lipidelor din membrană și a activității enzimaticice, modificarea formei și fragilitate crescută.

Eritrofagocitoza presupune adeziunea hematiei senescente la fagocit, ingestia acesteia, fragmentarea ei prin acțiunea hidrolazelor, digestia fragmentelor. Se finalizează cu eritrofagolizatori (fragmente de hematii ce conțin hemosiderină).

Enzimele atacă membrana hematiei și astfel, este eliberată Hb, care începe să se degradeze încă din momentul intrării în lizosomi, iar hemul și globina trec în citoplasma fagocitului.

Hemoliza este atât intravasculară cât și extravasculară.

Hemoliza intravasculară (10%)

O dată eliberată în plasmă, hemoglobina este captată de haptoglobină, o proteină produsă de ficat, formându-se complexul Hb-haptoglobină care-i fagocitat de sistemul monocito-macrofag. Când haptoglobina liberă din plasmă este saturată cu Hb, atunci Hb se desface în hem și globină. Hemul prin oxidare la Fe^{2+} duce la formarea metHb. Fe^{2+} dă hematina ce-i adaptată de către hemopexină (ca metHb) complex ce-i eliminat din circulație de către hepatocite. Dacă apare și saturația hemopexinei, hematina se combină cu albuminele din plasmă formând methemalbumina (test Shumm).

Formarea dimerilor Hb- ajung la rinichi unde fie sunt eliminați prin urină (Hb-urie) fie rămân în nefrocite, fie trec extracelular și formează hemosiderina.

Hemoliza intravasculară (în proporție de 10%) este realizată de macrofage care, prin receptorii lor recunosc selectiv hematiile senescente datorită prezenței pe suprafața acestora a unor antigeni răspunzători de senescență. Splina reține hematii, care deși nu sunt încă senescente, prezintă unele mici defecte; de aici, rolul splinei de filtru pentru hematii. În plus, capilarele sinusoide din splină asigură o circulație foarte lentă a sângelui, astfel încât permit "testarea" hematiilor.

Deci tetramerul Hb:

- haptoglobina-fagocitoză sistemul monomacrofag
- hemopexina (ca metHb)
- dimeri-rinichi- Hb-urie și hemosiderină.

Hemoliza extravasculară

Este realizată de sistemul reticulo-histiocitar și de macrofage care distrug hematiile senescente în splină, în primul rând, dar și în ficat și măduvă osoasă.

Hemul eliberat astfel este catalizat progresiv (inelul său protoporfirinic) de către hemoxigenaza prezentă în microsomi. Astfel, dintr-o moleculă de hem rezultă o moleculă de fier, oxid de carbon și biliverdină. Fierul reintră ulterior într-un circuit fie ca depozite sub forma feritinei sau hemosiderinei, fie este refolosit în eritropoieză, fie este folosit la formarea altor compuși ce-i presupune prezența.

Fierul bivalent este esențial deoarece intervine în transportul oxigenului, în procesele redox și acceptă și eliberează facil electroni.

Un adult sănătos deține ca rezervă 4–5g fier în medie din care 65% este stocat în hemul hemoglobinei. Apoi este fierul tisular care deși este în cantitate mică, este indispensabil pentru citocromi, în care se găsește în proporție de 8%. Fierul de rezervă (27%) este cuplat în feritină și hemosiderină. Mai există fierul din mioglobină și cel care circulă în plasmă.

Feritina leagă numeroși atomi de fier. Ea poate fi insolubilă când se asociază în agregate ce constituie hemosiderina, dar poate fi și solubilă, deci neagregată. Fierul din feritina solubilă nu se poate determina. În schimb, poate fi determinat cel din hemosiderină (când precipită sub formă de grunji colorați în albastru în urma colorației Perls cu albastru de Prusia, grunji vizibili în eritroblastele medulare).

Hemosiderina, insolubilă în apă este o mixtură de feritină denaturată și alte materiale ce conțin fier. Este o proteină cu fier (37%) de depozit, foarte bogată în macrofage medulare, splenice și hepatice.

Derivă prin digestia în macrofage a agregatelor de feritină de către lizosomi. Fierul din feritină și hemosiderină este feric (Fe^{3+}) și pentru transformarea lui în fier feros (Fe^{2+}) este nevoie de vitamina C.

Ceruloplasmina este o enzimă ce conține cupru și catalizează oxidarea fierului în forma ferică pentru cuplarea la transferina din plasmă, care pentru legarea lui are 3 valențe:

- 1 – una fixă (30–35%) din fierul circulant, adică sideremia,
- 2 – celelate două, cu capacitate de legare latentă și care se determină biochimic

Când sunt ocupate toate 3 valențele se dozează capacitatea totală de legare a fierului. La bărbați fierul este în cantitate de 50–55 mg/kg corp, iar la femei de 35–40 mg/kg corp, cantități constante. Deoarece zilnic se pierd 1–2 mg (prin urină, descumarea epitelului, tub digestiv), această pierdere trebuie compensată prin absorbția lui activă la nivelul intestinului subțire (preluat din alimente) sau din rezerve. Odată absorbit este transportat la țesuturi unde-i transformat în substanțe specifice biologic active. Cea mai mare parte este preluată de transferină (prin endocitoză), care cu ceruloplasmina (cu rol de feroxidază) transformă Fe^{2+} în Fe^{3+} (feric) ce-i transportat la măduva osoasă unde-i folosit pentru formarea hemului.

Transportul fierului în plasmă se realizează cu ajutorul transferinei (siderofilinei), o globină betal sintetizată în ficat, ce cuplează doi atomi de fier per/moleculă. Își ia Fe în special din macrofage. Eritroblastele, reticulocitele îl iau din transferină deoarece au numeroși receptori pentru ea. Când fierul plasmatic este crescut și transferina saturată, cantitatea de Fe este transferat în celulele parenchimotoase (hepatic, pancreas, inimă, glande endocrine).

Pentru a ajunge în eritroblastele medulare, fierul legat la transferină parcurge următoarele etape:

- 1 – fixarea transferinei de receptorii de pe membrana eritroblastelor,
- 2 – endocitarea lui pe calea complexului transferină-receptor,
- 3 – captarea lui către mitocondrii,
- 4 – revenirea transferinei în plasmă.

Restul Fe este captat de apoferritina din citoplasma enterocitelor (apoferritina este proteina ce fixează Fe neutilizat) și-l transferă în feritină ce-i eliminat în lumenul intestinal odată cu descumarea normală a mucoasei intestinale.

Menționăm că, dintr-o moleculă de hem, rezultă, pe lângă fier, oxid de carbon și biliverdina. Oxidul de carbon este eliminat la nivel pulmonar sub forma combinației cu Hb-HbCo-, iar biliverdina este redusă la bilirubină de către enzime biliverdin-reductaza și NADPH.

Bilirubina liposolubilă, la rândul ei se leagă de o albumină din plasma sanguină, condiție în care devine, în parte, hidrosolubilă (bilirubina prehepatică). Această, după ce se desface de albumină ajunge la ficat unde se conjugă cu acidul glucuronic rezultând bilirubina hepatică, care-i secretată în canaliculele biliare și, odată cu bila ajunge în intestin. Aici, este redusă la urobilinogen de către flora bacteriană. Acesta este parțial reabsorbit din intestin trecând în circulația portă, și deci în ficat și reia ciclul (reexcretat sub formă bilirubinei în bilă), iar o mică cantitate trece în sânge (circuit enterohepatic) și-i excretat ca urobilinogen prin urină (1%). Cea mai mare parte din urobilinogen (circa 99%) este eliminat prin fecale ca stercobilinogen. Acesta, prin expunerea la aer și sub acțiunea florei bacteriene anaerobe din intestinul gros este transformat în urobilină. În ce privește globina, în final, lanțurile polipeptidice ale globinei sunt hidrolizate cu consum mare de energie, iar aminoacizii rezultați intră în fondul comun al organismului (fig. 17).

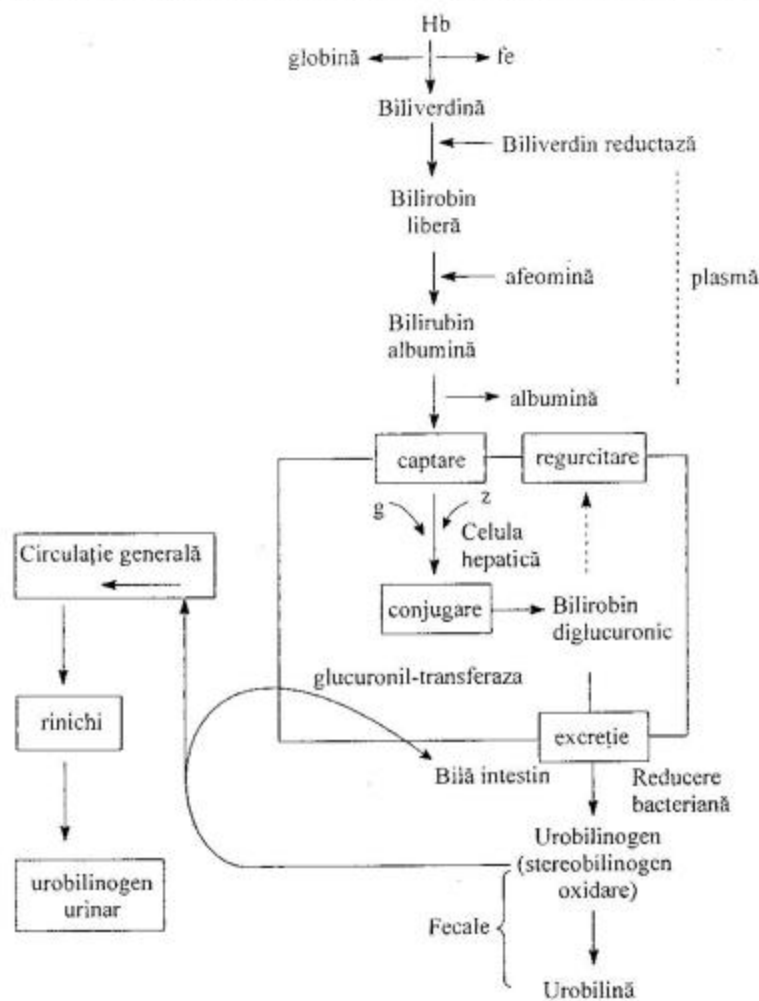


Fig. 17. Catabolismul Hb și formarea pigmentilor biliari.

trecând în circulația portă, și deci în ficat și reia ciclul (reexcretat sub formă bilirubinei în bilă), iar o mică cantitate trece în sânge (circuit enterohepatic) și-i excretat ca urobilinogen prin urină (1%). Cea mai mare parte din urobilinogen (circa 99%) este eliminat prin fecale ca stercobilinogen. Acesta, prin expunerea la aer și sub acțiunea florei bacteriene anaerobe din intestinul gros este transformat în urobilină. În ce privește globina, în final, lanțurile polipeptidice ale globinei sunt hidrolizate cu consum mare de energie, iar aminoacizii rezultați intră în fondul comun al organismului (fig. 17).

Funcția HB

Hb este un pigment respirator care fixează oxigenul avid și reversibil, cedându-l apoi țesuturilor. Fixarea oxigenului este reversibilă și depinde de presiunea parțială a oxigenului și de pH-ul sângelui.

genului de către fierul hemic bivalent se desfășoară la nivelul capilarelor pulmonare, de unde prin circulație, hematia îl transportă la țesuturi. Aici presiunea oxigenului în capilarele tisulare este scăzută. Cedarea oxigenului la nivel de organe și țesuturi este direct proporțional cu fluxul sangvin, cu concentrația Hb și cu diferențe de saturație cu oxigenul dintre sângele arterial și venos. Fixarea oxigenului, cum menționăm, se face de către Fe^{2+} hemic care în procesul redox (oxigenare și reducere) rămâne bivalent. Locul în care oxigenul se leagă la Fe^{2+} este la nivelul legăturii dintre fier și histidina din poziția 63 a lanțului beta și din poziția 58 a lanțului alfa.

În starea redusă a Hb, legarea Fe^{2+} de nucleul imidazolic al histidinei se face prin hidrogen via unei unei molecule de apă. În oxiHb, molecula de apă este îndepărtată și oxigenul se fixează la acest nivel direct de Fe^{2+} . Fiecare atom de Fe fixează o moleculă de oxigenul. Reacția reversibilă $Hb + O_2 \leftrightarrow HbO_2$ este controlată într-un sens sau altul, de presiunea parțială a oxigenului de la nivelul alveolelor pulmonare și respectiv de la nivelul țesuturilor.

Grupările hem (4) din molecula de Hb fixează O_2 cu viteze diferite datorită interacțiunilor dintre ele. Astfel, fixarea oxigenului pe una din cele 4 grupări de hem determină modificări în conformația moleculei de Hb, ceea ce facilitează reacția celui de-al doilea hem neoxigenat. Această la rândul lui influențează pe cel de-al treilea hem, și așa mai departe.

Interacțiunea hem-hem se face prin rearanjarea subunităților moleculei de Hb în timpul fixării, respectiv eliberării oxigenului. Această reacție este influențată de 2,3 DPG (2,3 difosfoglicerat) care-i un produs intermediar al glicolizei. În cantitate mare, determină scăderea afinității Hb pentru O_2 permițând eliberarea acestuia de către țesuturi, iar în cantitate mică determină creșterea afinității pentru O_2 .

Altă funcție a Hb este intervenția ei în menținerea echilibrului acido-bazic, deoarece sistemul tampon HbO_2/Hb contribuie la menținerea constantă a pH plasmei. Dincolo de fixarea O_2 , Hb fixează și alți compuși ce formează derivație ei. Astfel este corboxiHb ($HbCO$) care dacă depășește 50% în sânge duce la exitus. Afinitate Hb pentru CO este de 218 ori mai mare decât pentru O_2 , ceea ce explică apariția și gravitatea intoxicației cu CO. În intoxicații mai ușoare (concentrații de 20% CO) apare cefalee, iritabilitate, stare de confuzie, vomă, convulsii, tulburări respiratorii, comă, deces.

Alt compus este carboHb ($HbCO_2$) ce se formează la nivelul țesuturilor de unde CO_2 este transportat la nivelul alveolelor pulmonare, legarea CO_2 se face la grupările aminice libere ale globinei.

MetHb este o feriHb în care gruparea prostetică este hematina. Fierul este trivalent (feric) și deci, în imposibilitatea de a lega reversibil O_2 , neavând astfel funcție respiratorie. În condiții normale de plasmă totuși, există 2% metHb din cauza oxidării Hb. Ea este redusă în hematii de către sistemele reducătoare ale acestea în care NADH-MetHb reductaza (diaforaza I) are rol esențial.

SulfHb important pentru transportul O_2 , dar nu poate fi convertit în Hb. Derivă din Hb, dar este impropriu pentru transportul O_2 . Din organism se îndepărtează numai prin flebotomie, iar sângele este brun mov.

Heminele sunt asemănătoare structural cu hemul, însă Fe este trivalent, cea de-a treia valență a lui legându-se de ionul de clor în clorhemină, iar ionul -OH în hematie.

Metabolismul hematiei

Cu structură aparent simplificată, metabolismul hematiei necesită energie pentru fixarea, transportul și cedarea O_2 , dar și pentru menținerea formei biconcave, a capacității de a

se deforma, pentru transportul transmembrantar și în fine, pentru menținerea Fe în stare bivalentă (feros). Obținerea energiei pentru toate aceste procese se face pe trei căi:

1. calea principală este calea glicolică EMBDEN-MAYERHOF (fig. 18), respectiv glicoliza anaerobă, glucoza fiind degradată în final, în lactat. De asemenea, din degradarea glucozei rezultă și ATP și 2,3 DPG.
2. șuntul pentozomonofosfaților,
3. șuntul RAPAPORT-LIEBERING.

1. Calea EMBDEN-MAYERHOF guvernată de numeroase enzime constă din transformarea anaerobă a glucozei, pe calea glucozo6-fosfatului (G6P) formându-se lactat în final, trecând însă și prin piruvat ($2\text{NADP} + 2\text{ATP} \rightarrow \text{NAD}$ (nicotinamid adenindinucleotid) (fig. 18).

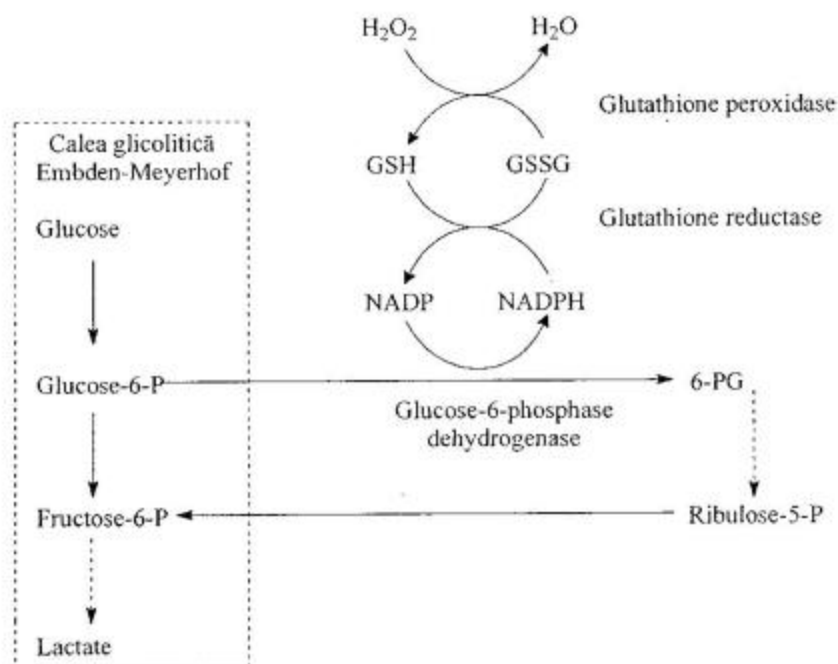


Fig. 18. Calea șuntului hexozo-monofosfat.

2. Șuntul pentozo-monofosfaților (8–10%) – este o cale oxidativă de obținere a energiei necesare hematiei care derivă din calea principală. Această cale generează hidrogen necesar reducerii peroxidazelor și intervine esențial pentru sinteza în hematii a NAD din NADP, care are rol în menținerea potențialelor oxido-reducătoare ale hematiei, asigurând sistemul redox al acestuia și protectiv contra agenților oxidanți și cuplarea cu metabolismul glutatationului.

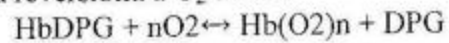
1 mol de glucoză dă 2 moli de NADPH. NADPH- forma redusă a NAD, formă ce donează H necesar reducerii peroxidazelor. Acest NADH este esențial pentru menținerea Fe^{2+} , proces mediat de NADH metHb-reductaza, deoarece oxidarea Fe^{2+} în Fe^{3+} produce metHb.

Hematiia este protejată de agenții oxidanți pe calea șuntului pentozomonofosfat. Hematiile expuse la medicamente cu efect oxidant sau la toxine, metabolizează intens glucoza (de câteva ori decât o face în mod normal), astfel încât glutatationul redus este regenerat împiedicând oxidarea grupărilor sulfhidrolice (SH) din structura hematiei.

Glutatationul (GSH) este tripeptid cu gruparea sulfhidril (SH) care, așa cum am menționat detoxifică peroxidul de H (H_2O_2) dar și alți frecvenți oxizi liberi precum O_2 , OH,

care fie apar spontan, fie după administrarea de medicamente oxidante. Enzima glutatión reductaza reduce glutatiónul oxidat și se reface astfel concentrația de GSH.

3. Șuntul RAPAPORT-LIEBERING. Derivă de asemenea, din calea principală și se sintetizează 2,3DPG care-I cel mai bogat compus fosforilat al hematiei, cu rol important în fixarea reversibilă a O_2 la Hb.



2,3 DPG se află în hematie în concentrație mare fapt care determină scăderea afinității Hb pentru O_2 , care astfel este eliberat și transportat la țesuturi.

Scăderea afinității Hb pentru O_2 se face și indirect prin scăderea pH-ului hematiei față de al plasmiei. 2,3 DPG este un produs intermediar al glicolizei care se leagă specific la deoxiHb la nivelul cavității centrale a moleculei de Hb. În cantitate mică, 2,3 DPG determină creșterea afinității Hb pentru O_2 .