

SINGE CURS II

Metabolismul eritrocitar. Eritrocitele sint saci cu Hb, a caror principala functie este transportul gazelor respiratorii, ce are o mare componenta pasiva: difuziunea gazelor. Eritrocitele sint lipsite de nucleu, mitocondrii si RE, metabolismul lor fiind foarte scazut: ele participa cu doar 0,1% la metabolismul energetic general (2cal/24ore). Singura sinteza realizata este a **glutationului**.

Hematiile necesita energie pentru: mentinerea formei, a deformabilitatii eritrocitare, asigurarea concentratiilor fiziologice de o parte si alta a mb.eritrocitare, a electrolitilor (Na, K), mentinerea Fe in stare feroasa, mentinerea gruparilor sulfhidrice SH in stare activa, redusa, stare necesara pentru fixarea si eliberarea de O₂ si CO₂. Toate aceste necesitati sint asigurate exclusiv prin metabolizarea glucozei.

100mL de masa eritrocitara consuma 0,3-0,4mg glucoza/ora. Alterarea procesului de energogeneza eritrocitara duce la modificarea formei eritrocitului: sferocit, echinocit, stomatocit, sau la modificari ale functiilor acestuia: oxidarea Hb. In toate aceste situatii, apare fenomenul de hemoliza patologica, intravasculara, adica anemia hemolitica de cauza corpusculara. Absenta din hematie a enzimelor ciclului Krebs si a citocromilor asigura un consum extrem de redus de oxigen: 5 μ L O₂/ora/mL masa eritrocitara).

Din toata glucoza patrunda din plasma in eritrocit prin mecanism activ insulino-independent, de difuziune facilitata, 90% este metabolizata pe **calea glicolitica a ciclului Embden-Meyerhoff-Parnas**, iar 8-10% - pe calea oxidativa a sursului pentozofosfatilor. In cazul deficitului de enzime cheie ale glicolizei, apar alterari eritrocitare ce duc la aparitia anemiilor hemolitice de cauza corpusculara. La 37°C la adult, singele consuma 15mg glucoza/100mL/ora; pastrat citeva ore la 37°C, scade glucoza disponibila si apar modificari eritrocitare. Metabolizarea glicolitica a unei molecule de glucoza elibereaza energie pentru sinteza a 4 molecule de ATP, dar 2 molecule de ATP sint consumate in prima etapa a glicolizei. Deci cistigul net este de numai 2 molecule de ATP pentru fiecare molecula de glucoza utilizata. Randamentul energetic al glicolizei anaerobe este de 30%, mult scazut comparativ cu celulele ce au echipament enzimatic complet.

Glicoliza anaeroba are 3 enzime cheie: hexokinaza (HK), cu rol de "dispecer" ce impiedica uzura hematiei prin limitarea aportului de glucoza, fosfofructokinaza (PFK), si piruvatkinaza (PK). Activitatea lor nu este reglata prin inductie sau represie, ci prin **tranzitii alosterice** si mecanisme de feed-back si feed-forward, intrucit hematiile nu sintetizeaza proteine. PK este inhibata de ATP si activata de fructozo-1,6-difosfat. Activitatea HK nu depinde de nivelul glicemiei, ea avind o slaba afinitate pt.glucoza, ci de nivelul de glucozo-6-P, 2,3-DPG, ATP si glutatation.

PFK e inhibata de cresterea concentratiei de ATP si activata de ADP, AMPc si fosfoizomeraza.

Suntul pentozelor nu are propriuzis rol energetic, dar **este singura cale metabolica de sinteza eritrocitara a NADPH, necesar pentru mentinerea in echilibru a sistemului oxido-reducator glutatation redus/glutatation oxidat si pentru protectia antioxidanta a Hb.**

Suntul Rapaport-Luebering este calea specifica a hematiei pt.sinteza de 2,3-DPG, compusul eritrocitar cel mai abundent. Enzima limitanta a sursului este o fosfataza cu afinitate scazuta pentru substrat, ceea ce permite acumularea de 2,3-DPG in eritrocit in

conditii fiziologice. Principala functie a 2,3DPG este de reglator al proprietatilor alosterice ale Hb, deci de el depind functiile hemoglobinice. Exista un echilibru intre cant.de 2,3DPG si raportul ATP/ADP: in hipoxie, creste cant.de 2,3DPG si scade valoarea raportului, ca urmare se va scurtcircuita suntul si valoarea raportului ATP/ADP va creste.

Metabolismul glutationului, tripeptid format din glutamat, glicocol si cisteina sintetizat in eritrocit, este strins legat de suntul pentozelor. El este placa turnanta a metab.eritrocitar, avind rol esential in apararea antioxidanta a mb. hematiei, a Hb si a gruparilor tiolice, datorita gruparilor SH ale cisteinei. Agentii oxidanti pot fi saruri de metale grele, droguri, derivati de anilina.

Reducerea metHb. In hematia normala, 1% din Hb este metHb (hemiglobina), forma oxidata, inactiva a Hb, cu Fe⁺⁺⁺. Reducerea metHb este realizata de un sistem enzimatic complex, NADH si NADPH-diaforazele, corelat cu glicoliza anaeroba si cu suntul pentozelor. Acest sistem este functional la copil la 3 luni dupa nastere, ceea ce face ca riscul de metHb-emii tranzitorii la nou nascut sa fie ridicat, datorita diferitelor toxice (inclusiv medicamente) sau infectiilor bacteriene ale tubului digestiv sau in cazul intoxicatiilor cu nitrati. Reducerea metHb se face prin administrare de acid ascorbic si glutation redus.

Hemoglobina. Fiecare eritrocit contine 27-34pgHb. (HEM). La o volemie de 5L de sange, si o concentratie de 15gHb%, exista 800g Hb. GM este de 64500. Iesita din hematie, Hb este filtrata la nivel renal sau rapid catabolizata de celulele SRE. Este o hemoproteina tetramerica, alcatuita 90% din globina si 10% din gruparea prostetica, hemul, o metaloporfirina ce contine Fe⁺⁺. La adult, HbA contine 2 lanturi alfa cu 141aa si doua lanturi beta cu 146aa, legate prin legaturi labile, punti de H sau legaturi Van der Waals. Cele 4 lanturi realizeaza o structura globulara compacta, ce are in vecinatatea suprafetei externe 4 cavitati, pungile hemului. Exista zone de contact intre lanturile subunitatilor vecine, alfa1-beta2 si alfa2-beta1. In axul moleculei exista o cavitate centrala cu 2 mici fosete, ce separa lanturile alfa si beta, fosete in care se fixeaza 2,3DPG.

Hemul este gruparea prostetica a o serie de pigmenti respiratori: Hb, mioglobina, citocromi, si a unor enzime oxido-reductoare: catalaze, peroxidaze. El este o feroproporfirina alcatuita din Fe⁺⁺ si un heterociclu tetrapirolic, proporfirina IX. Biosinteza hemului se desfasoara in precursorii eritrocitari. Fe este inserat in centrul inelului porfirinei sub actiunea enzimei **ferochelataza**.

Metabolismul Fe. Necesarul zilnic este de 20-25mg. Hb contine cea mai mare parte de Fe din organism, 70%, adica 2g. Restul este stocat ca feritina sau hemosiderina, o mica parte este continut in mioglobina si o parte este legat de transportorul plasmatic, transferina, alcatuind compartimentul labil. Aproape tot Fe este reciclat din catabolizarea hematiilor imbatrinite. Doar 5% din necesarul de Fe pt.hematopoeza provine din tractul gastrointestinal, absorbtia zilnica fiind de 1mg/zi. Pierderile zilnice de Fe sint realizate prin fecale, urina, transpiratie, fanere (descuamare tegumentara).

Absorbtia de Fe maximala are loc in duoden si jejunul proximal. pH-ul gastric reduce Fe⁺⁺⁺alimentar la Fe⁺⁺. Concentratia Fe in citosolul celulelor mucoase intestinale reprezinta "bariera" pentru trecerea Fe in plasma, efectul avind o latenta de citeva ore. De la nivelul celulelor din tractul digestiv, Fe este preluat de **transferina, o proteina cu 2 situsuri delegare a Fe**, cara se masoara drept TIBC (Total Iron Binding Capacity). Cantitatea de Fe legata de transferina se masoara ca sideremie: 80-120µg%. Macrofagele "doica" din MH preiau Fe transportat de transferina prin endocitoza si il

furnizeaza precursorilor eritrocitari, care au receptori pt.transferina, ca si reticulocitele. Acesti receptori lipsesc de pe mb.hematiei adulte. Odata eliberata de Fe, transferina este transportata inapoi in plasma de catre macrofage. Transferina este si o proteina de transport citosolic. Stocarea Fe se face in macrofage, ca **feritina**, un amestec hidrosolubil de Fe^{++} , OH- si O_2 , invelit de o proteina, **apofertina**.

In macrofage, Fe mai poate fi depozitat ca **hemosiderina, un agregat amorf de molecule de feritina, desprinse de pe apofertina**, din care Fe este mai greu preluat pentru sinteza Hb decit din feritina. Macrofagele din MH si splina indeparteaza excesul de feritina si hemosiderina din precursorii eritrocitari.

Tipurile de Hb fiziologice. Hb embrionare GowerI, Portland, Gower II, HbF (alfa2,gamma2). La adult, 96-98% este HbA (alfa2,beta2), si 1,5-3%-HbA2(alfa2,delta2). La adult persista HbF,0,5-1%.

Senescenta eritrocitara. Zilnic, 360 miliarde de hematii sint indepartate din circulatie.si inlocuite cu elemente tinere. Durata de viata a hematiilor este de 115-120zile. Pe masura ce imbatrinesc, hematiile sufera o serie de modificari: au tendinta la sfericitate, scade continutul lor in K^+ , Ca^{++} , esteri fosforici, apa, lipide totale, colesterol, ATP, 2,3-DPG, grupari SH, scade utilizarea glucozei, scade activitatea enzimatice, scade deformabilitatea eritrocitara, creste fragilitatea mecanica si osmotica, creste continutul de metHb, ca urmare a reducerii activitatii metHb reductazei si diaforazelor, creste continutul de HbA2,cu afinitate crescuta pt. O_2 , creste viscozitatea interna eritrocitara, creste continutul de Na^+ , scade fosforilarea spectrinei, scade progresiv continutul de acid sialic, adevarat "cenzor" al duratei de viata a hematiilor.Toate glicoforinele din mb.eritrocitara sufera desialinizare. Hematiile imbatrinite expun pe suprafata mb. **factorul de senescenta eritrocitara, un glicopeptid prezent doar pe mb.hematiilor imbatrinite, ce nu contin acid sialic.** Acesta este recunoscut de macrofagele splenice. Hematiile imbatrinite mai expun pe versantul extern al mb. **fosfatidilserina, ce reprezinta inca un semnal de recunoastere de catre macrofage a hematiilor imbatrinite. Captarea hematiilor imbatrinite de catre macrofage se face printr-un sistem beta-galacto lectinic, propriu acestora.**

Hemoliza fiziologica (eritroliza) are ca principal splina, care impreuna cu ficatul, MH, gg.limfatici, monocitele circulante si macrofagele tisulare alcatuiesc SRE. Sediul eritrofagocitozei este pulpa rosie splenica. Etapele acesteia sint: aderența hematiei la suprafata macrofagului, inglobarea si digestia prin formare de fagolizozmi, ce contin hidrolaze lizozomale. Acestea distrug in citeva minute eritrocitul inglobat. Hematiile normale sint fagocitate fara fi fragmentate in preralabil, iar cele patologice sint initial fragmentate, apoi fagocitate. Din catabolizarea Hb rezulta globina, hidrolizata in aa ce vor intra in fondul comun metabolic de aa, proces responsabil de mari pierderi energetice, ce reprezinta o importanta parte din MB, si hemul, care este convertit in bilirubina, printr-un complex proces enzimatic. Eritroliza fiziologica duce la eliberarea in plasma a unei mici cantitati de Hb, care este legata de o alfa2-glicoproteina de origine hepatica, denumita **haptoglobina**. Complexul Hb-haptoglobina este captat si metabolizat la nivelul celulelor din SRE, mai ales la nivel hepatic.

Reglarea eritropoezei. Se realizeaza predominant prin mecanisme de tip feed-back asupra celulelor nediferentiate, semnalele declansatoare provenind de la nivel tisular, datorita variatiei aportului de oxigen. Acest tip de feed-back are drept element

declansator produsii de degradare ai Hb, aparuti in conditiile unei hemolize intense, efectul fiind de stimulare a eritropoezei.

Reglarea umorala a eritropoezei este realizata de **eritropoetina si de factorii de crestere necesari regenerarii cel.stem MULTI-CSF: IL3**, o glicoproteina cu GM20-30Kdaltoni, importanta pentru toate liniile celulare, ce actioneaza asupra cel.pluripotente timpurii, pentru autointretinere (hematopoeza de tip homoplastic) si pentru diferentierea cel.pluripotente, in celule diferiteiate“comise”(hematopoeza heteroplastica). IL3 este esentiala la nivelul MH pentru asigurarea celulelor responsive la eritropoetina. IL3 este sintetizata de LT, celule stem si are drept celule tinta celulele multi-CSF.

Eritropoetina (E) este produsa 90% in corticala renala si 10% in ficat, eliberarea sa in plasma fiind in principal raspunsul la hipoxie al celulelor epiteliale glomerulare renale. Precursorii timpurii ai eritrocitelor nu au receptori pt E, ci pt.IL3. Proeritroblastii (CFU-E-colony-forming-units-erytroid) sint primele celule din seria rosie cu receptori pt.E. Prin feed-back negativ, cind scade presiunea partiala O2 in corticala renala, creste producerea si eliberarea de E in circulatie.

Producerea de E este stimulata de h.androgeni, alcaloza, catecolamine prin mec.beta-adrenergic. E initiaza sinteza de Hb la nivel medular, scurteaza timpul de tranzit medular al eritroblastilor in curs de maturare si stimuleaza eliberarea de reticulocite in sincele periferic. Anemii prin nivel scazut de E exista in: IRcronica, hipotirodie (dat.scaderii consumului de O2), hipopituitarism (prin scaderea de gonadotropi), hipoparatiroidism (dat.calcificariilor renale corticale).

Reglarea nervoasa a eritropoezei este realizata prin cale reflexa, prin stimularea chemoreceptorilor sinocarotidieni, eferentele bulbare adrenergice determinind prin intermediul n.splanhnici la nivelul MH cresterea eliberarii de reticulocite si hematii adulte in sincele periferic.

Clasificarea anemiilor.-schema.

Poliglobuliile. Policitemia vera se caracterizeaza prin cresterea nr.de hematii, trombocite si neutrofile, ea putind evolua spre leucemie granulocitara cronica acuta si deces in cea de a treia etapa de evolutie a bolii. Semnele clinice si paraclinice majore sint splenomegalia, afectarea severa a microcirculatiei (cerebrale,hepatosplenice), cresterea Ht si a nivelului de ac.uric in plasma.

Poliglobuliile secundare apar in cazul: fumatorilor (prin cresterea compensatorie a nivelului de E), Hbpatiilor si hipoxemiilor cr.,precum sint bolile respiratorii cr., Sd.de apnee in somn+obezitate (Sd. Pickweek), boli congenitale cardiace cianogene cu sunt dr-stg. Alte situatii sint cele in care exista exces de E: carcinom renal, rinichi polichistic, hidronefroza, rejetul de grefa renala (mecanism inca neelucidat), tumori extrarenale secretante de E situate la nivel hepatic (sindrom paraneoplazic), feocromocitom, tumori cerebeloase, leiomiom uterin de mari dimensiuni (benign),care prin compresie mecanica asupra a.renale, duce la exces de E. In Sd.Cushing si in cazul aportului exogen de androgeni, creste eliberarea de E.

Antigenele eritrocitare. Pe suprafata hematiilor exista un mare numar de antigene (ag), grupate in sisteme antigenice, cele mai importante din p.d.v. al transfuziei de singe fiind si primele doua descoperite, sistemul AOB,descoperit in 1900 de Landsteiner si sistemul Rh,descoperit in 1940 de Landsteiner si Wiener. Fenotipic, s-au gasit aprox.30.000 de tipuri sanghine,iar genotipic, au fost diferiteiate aprox.200.000 genotipuri. Antigenele eritrocitare sint structuri glico- si lipoproteice, ce apar in primele saptamini de viata IU,si

care de obicei, ramin nemodificate toata viata. In anumite cazuri, cum sint anumite leucemii acute, dispar ag.A din sistemul AOB si antigenele I din sistemul Ii.

Antigenele sistemului AOB. In Europa, ordinea descrescatoare a prezentei ag.A si B.pe suprafata hematiilor face ca grupa de singe cea mai frecvent intilnita sa fie A, urmata de grupele O si B, pentru ca cel mai mic procent de indivizi sa apartina grupei AB. Ag.sistemului AOB se afla pe suprafata tuturor celulelor din organism, precum si in diferitele lichide biologice. Ele apar din luna 8 a vietii IU si devin complet mature la 6-12 luni dupa nastere. Biochimic, aceste ag.sint glicoproteine cu GM 300000-1 milion,alcatuite dintr-un schelet peptidic pe care sint fixate covalent numeroase lanturi oligozaharidice. Caracterile ag-ice ramin nemodificate daca ag-ele sint tratate cu enzime proteolitice (papaina). Daca sint tratate cu enzime glicolitice de origine bacteriana sau parazitara (protozoare), dispara specificitatea ag-ica initiala ceea ce demonstreaza ca raspunzatoare pentru aceasta sint radicalii glucidici. Din sistemul AOB fac parte antigenele A, B si H. Ele deriva dintr-un precursor comun, cu structura lipoproteica, ce are atasat un lant de 4 monozaharide, ultimul fiind **galactoza**. **Gena H**, prezenta la majoritatea indivizilor in forma monozigota HH codifica **fucozil-transferaza**, ce ataseaza galactozei terminale un radical L-fucoza, astfel rezultind **ag.H**, precursorul ag.A si B. **Homozigotii hh**, lipsiti de activitatea genei H sint lipsiti de antigenele H, A si B, apartin **fenotipului Bombay** si au in plasma aglutinine anti H, antiA, antiB, prin urmare nu pot dona si primi singe decit in comunitatea lor. La indivizii obisnuiti, functioneaza genele alele A si B, situate pe bratul lung al cromozomului 9. Gena A codifica o N-acetil-galactozamin-transferaza, ce ataseaza ag.H un radical acetil-galactozaminic, astfel rezultind ag.A, iar gena B codifica o D-galactozil-transferaza, ce ataseaza ag.H un radical D-galactoza, astfel rezultind ag.B. Genele A si B sint codominante. Acelasi locus contine si gena O, inoperanta, ce nu codifica nimic. Astfel, in cadrul sistemului AOB exista 6 genotipuri (AA, BB,AB, AO,BO,OO). Indivizii apartinand grupei O sint lipsiti de antigenele A si B, dar au pe hematii ag.H. Fenotipic, exista doar 4 variante, deoarece AA=AO si BB=BO. Locusul genetic ABO contine si alte doua gene, A1 si A2. Gena A1 controleaza o transferaza ce transforma aproape in totalitate substanta H in ag.A1, mai slab comparativ cu ag.A. 80% dintre indivizii ce apartin grupeiA (identificat prin teste uzuale) apartin subgrupului A1, pe hematii coexistind ag.A si A1.Gena A2 codifica o transferaza mai putin eficienta, ce transforma partial ag.H in ag.A2, acesta fiind mai slab comparativ cu A1. 20% dintre indivizii grupei A au pe hematii ag.A si A2. La 80% dintre indivizi, saliva contine ag.H,A si B, ei fiind denumiti "**secretori**", calitatea de secretor fiind conditionata genetic de o pereche de gene alele prezente fie in varianta homozigota (SeSe), fie heterozigota (Sese). Varianta homozigota sese caracterizeaza restul de 20% de indivizi nesecretori.

Aglutininele sistemului AOB sint **anticorpii naturali** si **anticorpii imuni anti A si anti B**, denumiti **aglutininele alfa si beta**. **Cei naturali (aglutinine)** apar in plasma in absenta aglutinogenului (ag) eritocitar, titrul la nastere fiind 0. Sinteza lor incepe sa apara intre lunile 2-8 dupa nastere, titrul creste lent pina la virsta de 8-10 ani, raminind apoi nemodificat pina la senescenta, cind scade lent. Aceste aglutinine sint gammaglobuline sintetizate de celule imunocompetente si apartin claselor IgM si IgG. **Anticorpii imuni** apar in plasma dupa transfuzii de singe incompatibil. Ei au putere aglutinanta mai mare si in prezenta complementului au actiune hemolitica, fiind denumiti **hemolizine**.

Antigenele sistemului Rh sunt independente de sistemul AOB. Ele sunt prezente pe hematii incepind cu luna I de viata IU, genele ce codifica sinteza lor fiind pe cromozomul 1. Cel mai important ag.al acestui sistem este ag.D sau Rh, prezent pe hematiiile a 85% dintre indivizi, denumiti Rh pozitivi, restul de 15%, la care ag.D este absent fiind Rh negativi. In afara acestuia, mai exista inca peste 30 de ag.apartinind acestui sistem, dar fara importanta practica. Ag.din acest sistem sunt de natura lipoproteica. Absenta tuturor ag.din acest sistem de pe suprafata hematiilor este denumita "fenomen Rh nul" si este asemanator fenotipului Bombay, in sensul restringerii posibilitatilor de donare/primire de sange strict la membrii acestui fenotip. Acesti indivizi au o forma particulara de anemie hemolitica, datorita scaderii duratei de viata a hematiilor, datorita modificarii proprietatilor membranei eritrocitare, ca efect al absentei tuturor ag.din acest sistem.

Anticorpii sistemului Rh sunt numai de tip imun, ei rezultind in urma izoimunizarii dupa transfuzii, sarcini incompatibile sau in urma autoimunizarii, la cei cu deficit imun. Cel mai important ac.este **ac.antiD**, ce apartine IgG si traverseaza bariera fetoplacentara, producind **anemia hemolitica a nou-nascutului sau eritroblastoza fetala**, in cazul femeilor Rh neg, aflate la a doua sarcina cu fat Rh poz. In acest caz, al doilea contact al hematiilor fatului cu sangele matern permite cresterea rapida a titrului de ac.antiD, in cadrul raspunsului imun de tip secundar, anticorpi ce produc hemoliza la fat. Pt a preveni acest risc, se recurge la administrarea de anticorpi antiD, preparati din plasma indivizilor Rh neg, imunizati la ag.D. O doza= 1mL ce contine 300µg, suficienta pt.a contracara efectul imunizant a 30mL de sange integral. Se administreaza pt. a preveni imunizarea femeilor Rh neg.expuse eritrocitelor Rh poz.prin: hemoragii materno-fetale (avort, metroragii in timpul sarcinii, sarcina ectopica, traumatism abdominal in timpul sarcinii, amniocenteza); in cazul primei sarcina cu fat Rh poz, se adm.postpartum. La o a doua sarcina, se adm.antepartum, la 28 sapt.de sarcina.

Aspecte practice ale transfuziei. O unitate de sange este o cantitate de 450 mL de sange integral. Acesta poate fi separat in componente. Sangele donat este supus numeroaselor teste pt.boli infectioase (virusul hep B, C, HIV I si II, Human T Cell Limfotrophyc Virus I si II, sifilis, malarie). Sangele conservat, cu o valabilitate de 42 de zile (ca si masa eritrocitara) are pH mai scazut, continut in ATP si 2,3-DPG mai mic si sufera in timp o discreta hemoliza. Reactiile adverse imune posttransfuzionale se manifesta prin hemoliza acuta intravasculara.

Aglutininele antiA sau antiB, IgM ale primitorului, aglutineaza hematiiile transfuzate, activeaza complementul si induc hemoliza. In cazurile severe, se instaleaza socul, coagularea intravasculara diseminata si insuficienta renala acuta. Clinic, pacientul are febra, frisoane, dureri toracice, lombare si la locul perfuziei, greta, dispnee, hemoglobinurie, oligurie si hipotensiune arteriala. La subiectul anesteziat se constata hipoTA, hemoglobinurie si sangerare in plaga operatorie. Masurile prompte instituite sunt: oprirea perfuziei cu sange, combaterea hipoTA si asigurarea fluxului plasmatic renal cu fluide si diuretice. Evaluarea severitatii hemolizei se face prin: nivelul hemoglobinemiei, al Ht, LDH si bilirubina indirecta, care creste la 3-6 ore de la episodul hemolitic acut.

Reactiile tardive posttransfuzionale se datoreaza imunizarii primare sau secundare impotriva altor antigene eritrocitare (Rh, Kell, Duffy, Kidd).

Raspunsul primar apare la 1-2 sapt. dupa expunerea la antigen, iar cel secundar – la 1-5 zile dupa expunerea la antigen.