

Physiologie du globule rouge

Sommaire

- morphologie générale du GR et données quantitatives
- structure : membrane, enzymes, hémoglobine
- méthodes d'étude du GR et de l'hémoglobine

Introduction

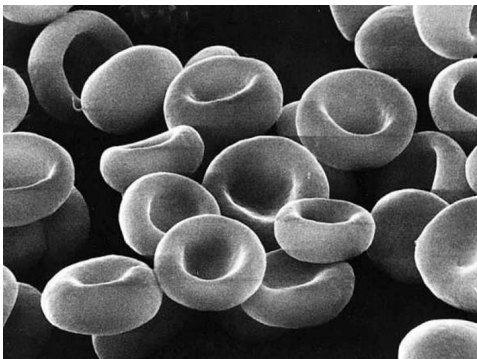
Le globule rouge ou hématie ou érythrocyte (GR) est une cellule qui anucléée qui contient une solution d'**hémoglobine** (Hb): c'est ce pigment respiratoire qui transporte l'oxygène des poumons vers les tissus et est responsable de la fonction de l'hématie. Le GR provient des **érythroblastes** de la moelle osseuse, et de la maturation finale du **réticulocyte**.

Un **système enzymatique** interne relié à la glycolyse assure la protection de l'Hb et de la **membrane** contre l'oxydation.

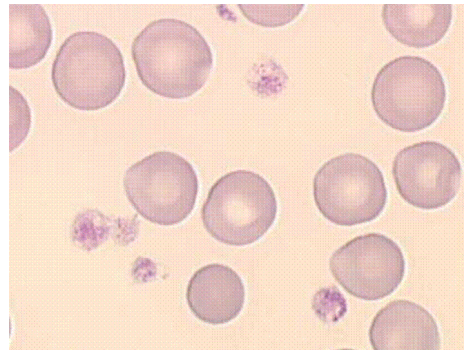
Durée de vie du GR = 120 jours (épuisement progressif de l'équipement enzymatique).

1. Morphologie générale et données quantitatives.

1.1. Morphologie.



GR dans les vaisseaux sanguins = petits disques souvent biconcaves, de 2µm d'épaisseur et 7µm de diamètre



GR sur frottis sanguin coloré = petits éléments sans noyau ayant l'aspect d'un disque avec centre clair

A l'état normal il n'y a pas d'inclusions.

En pathologie, diverses anomalies peuvent s'observer (**voir la rubrique : aspect morphologique des hématies sur frottis sanguin**). Les plus importantes sont:

- * taille: anisocytose, microcytose ou macrocytose.
- * coloration: hypochromie (couleur plus pâle), polychromatophilie (mélange de GR colorés en beige rosé et d'autres en un autre teinte, souvent bleutée).
- * inclusions : corps de Howell-Jolly (fragment d'ADN correspondant à un chromosome perdu par le noyau lors d'une mitose; un seul par hématie)
- * forme: poïkilocytose; sphérocytes, ovalocytes, schizocytes, drépanocytes, dacryocytes (= hématies en larmes: toutes maladies avec splénomégalie et/ou myélofibrose).

1.2. Données quantitatives: la numération globulaire.

	Nb de GR	Hte	Hb
Homme	4.5 – 6.2 téra/l	40 – 54 %	13 – 18 g/dl
Femme	4 – 5.4 téra/l	35 – 48 %	12 – 16 g/dl
Enfant (1 an)	3.6 – 5 T/l	35 – 44 %	11 – 15 g/dl
Nouveau-né	5 – 6 T/l	44 – 62 %	16 – 22 g/dl

Volume Globulaire Moyen (VGM) de l'adulte = 85 – 95 fl (= 10 x Hte / Nb de GR)

Le VGM définit: Microcytose si < 80fl
Macrocytose si > 100 fl
Normocytose si 80 – 100 fl

NB: les automates actuels fournissent une courbe de distribution des volumes érythrocytaires, assez superposable à la courbe de Price Jones (autrefois réalisée avec les mesures des diamètres érythrocytaires sur frottis) qui permet de définir l'anisocytose.

TCMH = 27 - 32 pg (10 x Hb/ Nb de GR); correspond à la teneur ou masse d'Hb contenue dans un GR (peu utilisée)

CCMH = 32 - 36 g/dl (100 x Hb / Hte); correspond à la concentration de la solution d'Hb à l'intérieur du GR. La CCMH définit: Hypochromie si < 32 g/dl
Normochromie si 30 – 36 g/dl

NB: Les valeurs normales de l'hémogramme sont toujours à interpréter selon l'âge et le sexe du patient (**voir « valeurs normales en fonction de l'âge »**).

Réticulocytes = 0.5 – 2% des GR (20 – 80 G/L) ont une durée de vie de 3j, et contiennent encore quelques organites (voir érythropoïèse). Leur détermination va définir les capacités de régénération de la moelle osseuse. Une anémie est régénérative si les réticulocytes sont > 150 G/L (sinon = anémie non régénérative)

2. Structure du globule rouge

Le GR peut être schématiquement représenté comme un sac (= membrane) contenant de l'hémoglobine (= pigment responsable de la fonction de l'hémoglobine) et des enzymes (= protection de l'Hb et de la membrane contre l'oxydation).

60% d'eau ; Hb = 92% du poids sec.

Divers électrolytes (potassium, sodium, chlore), glucose.

2.1. La membrane.

2.1.1. Structure.

Aspect classique trilaminaire (deux couches opaques entourant une couche claire) en microscopie électronique, constituée de :

* Lipides = 42% (65% de phospholipides, 23% de cholestérol, 12% d'acides gras).

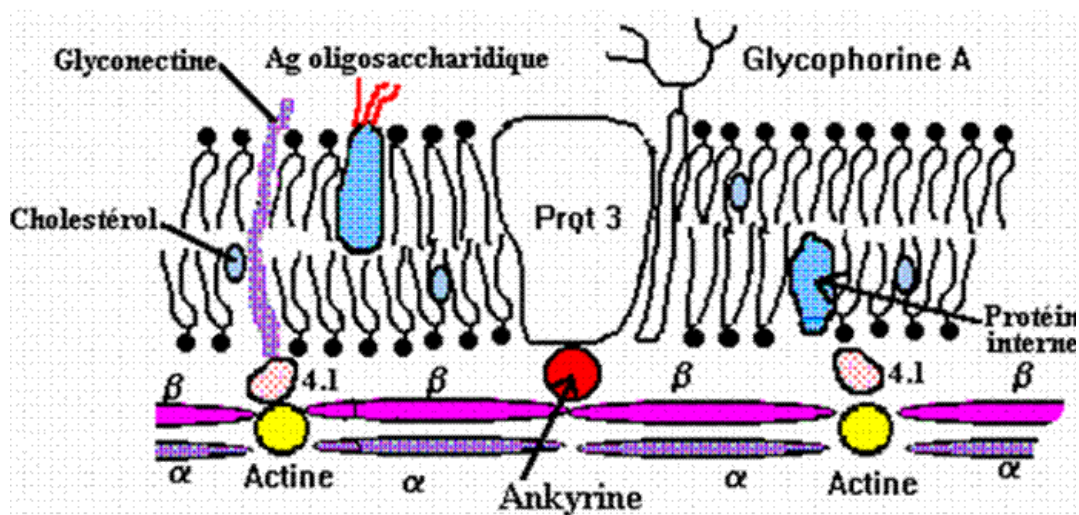
* Glucides = 8% (constituent la partie oligo-sacharidique des glycoprotéines et des glycolipides).

* Protéines = 50%.

Protéines extrinsèques transmembranaires assurant la transmission des messages de l'extérieur vers l'intérieur (à la face interne = la plupart des protéines du cytosquelette du globule rouge, et à la face externe = principalement des récepteurs, surtout la protéine bande 3 et la glycophorine A).

Protéines du cytosquelette = essentiellement la spectrine (alpha et bêta) qui permet le maintien de la structure du GR (lorsqu'elle est sous sa forme tétramérique), et la protéine 4.1 dont le rôle est de faciliter la liaison entre la spectrine et l'actine

L'ankyrine (protéine d'ancrage) a pour rôle de rattacher le squelette membranaire au reste de la membrane (= entre la chaîne bêta de la spectrine et la protéine bande 3)



2.1.2. Propriétés physiques

La forme biconcave est la morphologie la plus apte à la déformabilité : les GR passent dans des capillaires de 3 μm de diamètre.

Quant le GR s'écarte de la forme biconcave, il devient fragile, moins souple, ne circule plus dans les petits capillaires et s'hémolyse.

La charge négative de la membrane permet d'éviter l'agglutination des hématies.

La membrane permet l'entrée du glucose dans le GR par diffusion passive. Une pompe ATP ase Na^+K^+ dépendante assure le transport actif des cations et maintient la composition du globule rouge en cation.

2.1.3. Pathologies de la membrane érythrocytaire

Pathologies constitutionnelles: correspondent à des anomalies des protéines du cytosquelette (principalement les sphérocytoses et elliptocytoses), ou des anomalies des autres protéines du GR (Ag de groupes sanguins)

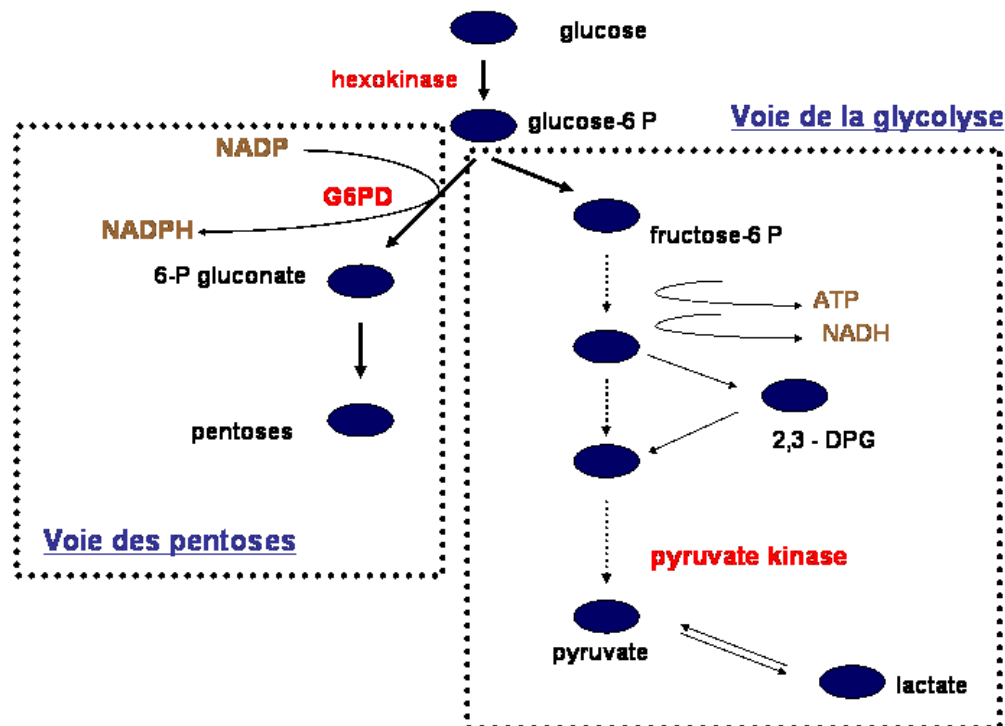
Pathologies acquises: l'hémoglobinurie paroxystique nocturne (perte d'une protéine d'ancrage), et les anomalies membranaires secondaires (exemple des anomalies des protéines du cytosquelette secondaires à une hémoglobinopathie telle la drépanocytose).

2.2. Métabolisme et enzymes érythrocytaires

Le GR doit produire de l'énergie pour 2 objectifs principaux :

Maintenir l'intégrité de la membrane, pour assurer le maintien de l'équilibre ionique par fonctionnement des pompes Na^+ , K^+ , ATP ase qui nécessitent de l'ATP

Maintenir l'Hb sous sa forme active, c'est-à-dire réduite (= fer à l'état divalent). Normalement, chez l'adulte, il y a moins de 1% de méthémoglobine (=fer à l'état trivalent).



2.2.1 Métabolisme énergétique

Voie directe = glycolyse anaérobie. 90% du glucose est métabolisé par cette voie, qui dégrade le glucose en 2 trioses phosphates, et produit de l'ATP, du NADH réduit (= co-enzyme de la méthémoglobine réductase) et du lactate.

Cycle des hexoses monophosphates: shunt des pentoses; glycolyse aérobie

Ce cycle nécessite deux enzymes principales: la glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6PD) et la 6 phospho gluconate déshydrogénase. Cette glycolyse aérobie assure 10% de catabolisme du glucose et produit du NADPH, co-enzyme de la glutathion réductase et de la méthémoglobine réductase accessoire.

Cycle du 2,3 DPG = shunt de Rappoport-Luebering: greffé sur la voie anaérobie, il produit le 2,3-DiphosphoGlycérate (2,3-DPG), qui régule l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène.

2.2.2. Système d'oxydoréduction

Système de maintien du glutathion à l'état réduit: le glutathion réduit permet la détoxification des peroxydes et donc protège contre l'oxydation de la globine et de diverses protéines structurales.

Système de réduction de la méthémoglobine (forme oxydée de l'hémoglobine): ce système repose principalement sur la méthémoglobine réductase à NADH. Son déficit entraîne une méthémoglobinémie congénitale.

(La méthémoglobine réductase à NADPH a un rôle physiologique qui n'est pas prouvé. Elle nécessite du bleu de Méthylène pour fonctionner)



Le glutathion (G-SH) est oxydé (GS-SG) quand il réduit les oxydants (ici le perhydrol H₂O₂); la réduction du glutathion oxydé nécessite du NADPH et une glutathion réductase

2.2.3. Principales enzymopathies érythrocytaires

Touchant la glycolyse anaérobie: toutes les enzymes de ce cycle peuvent être retrouvées déficitaires et être à l'origine de pathologies. La principale est le déficit en Pyruvate Kinase (PK) (autres déficits = glucose phosphate isomérase, glucose 3 phosphate glycérate Kinase, 2,3 diphosphate glycérate mutase.)

Touchant le shunt des pentoses: déficit en G6PD (plus rarement déficits dans le système de réduction du glutathion)

2.3. Hémoglobine

2.3.1. L'hème et la globine :

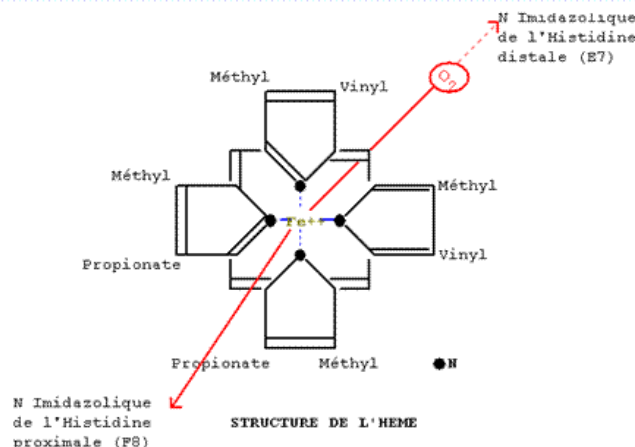
Une partie protéique = la **globine**, et une structure cyclique organique complexe comportant un groupement prosthétique = **l'hème** [l'hème est formé par la protoporphyrine, à laquelle est liée un atome de fer à l'état ferreux],

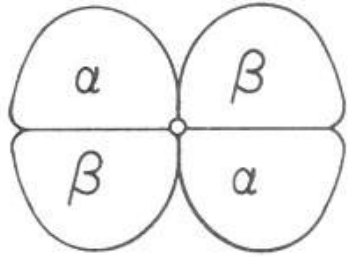
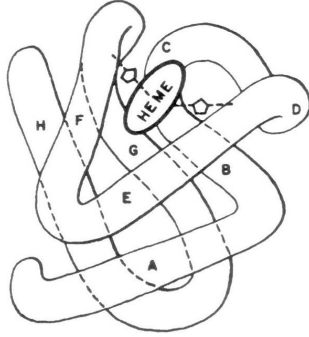
La protoporphyrine est constituée par quatre noyaux pyrroles unis par les ponts méthényles. Le fer en position centrale de l'hème se lie aux quatre atomes d'azote du noyau protoporphyrinique et forme deux autres liaisons de part et d'autre du plan de l'hème:

l'une avec l'O₂, qui ne peut se lier que si le fer est à l'état ferreux [lorsque le fer est à l'état ferrique = méthémoglobine qui est incapable de fixer l'O₂].

l'autre avec une chaîne polypeptidique de globine.

Chaque complexe hème + globine forme une sous unité: les quatre sous-unités s'adaptent les unes aux autres pour former un tétraèdre = la molécule d'hémoglobine.



Hémoglobine de l'adulte (Hb A = $\alpha_2\beta_2$) constituée de 4 chaînes de globine	Chaque chaîne de globine contient une molécule d'hème
	

Hémoglobine A = constituant principal de l'hémoglobine adulte, constitué de 2 chaînes alpha (141 AA) et de 2 chaînes bêta (146 AA) (= $\alpha_2\beta_2$). PM = 64 500.

Chaque chaîne est repliée sur elle-même (enroulement en hélice alpha), et est subdivisée en 8 zones (A à H): on retrouve dans ces zones l'histidine qui se lie au fer de l'hème (la molécule d'hème se loge dans une poche superficielle, hydrophobe). La disposition spatiale des quatre sous-unités assemblées constitue la structure quaternaire.

2.3.2. Ontogénie des gènes de l'hémoglobine :

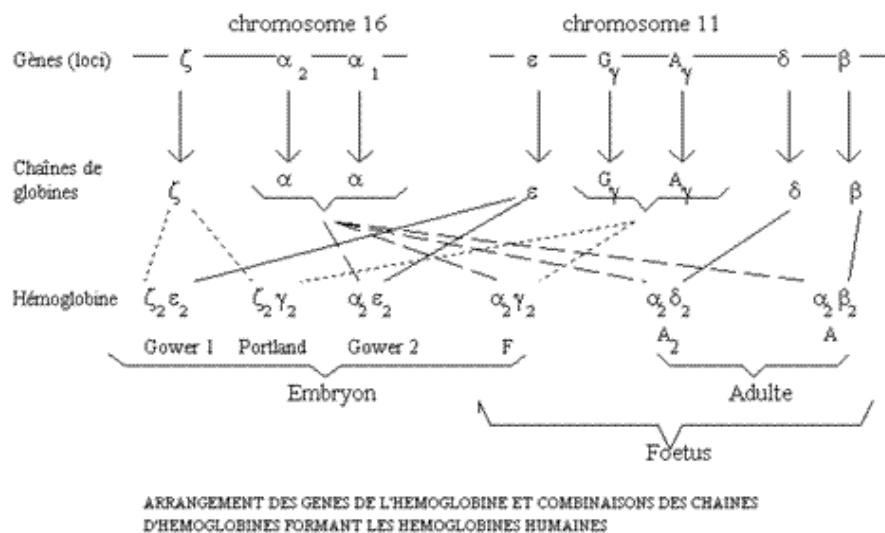
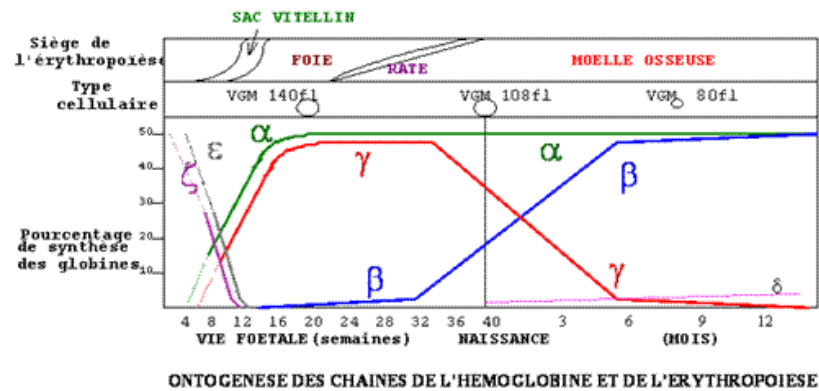
Les gènes de la globine dérivent tous d'un même gène ancestral qui codait pour une protéine de transport de l'oxygène. La duplication de gènes (800 millions d'années) a donné naissance à la myoglobine d'une part, protéine de stockage de l'O₂, et l'Hb d'autre part, protéine de transport de l'O₂.

Apparition successive de plusieurs chaînes de globine au cours de l'ontogénie:

- la chaîne alpha est synthétisée dès le troisième mois de gestation
- les chaînes zêta, epsilon et gamma apparaissent dès le 3^{ème} mois de gestation et produisent les hémoglobines embryonnaires Gower 1 (zéta₂ epsilon₂), Gower 2 (alpha₂ epsilon₂) et Portland (zéta₂ gamma₂).
- A partir de 5 – 6 mois la synthèse de chaîne gamma est majoritaire, donnant l'Hb F (Hb fœtale : alpha₂ gamma₂); la synthèse de la chaîne gamma cesse quasi totalement à la naissance.
- la synthèse de chaîne bêta débute au voisinage de la naissance (Hb A ou adulte = alpha₂ bêta₂), de même que la chaîne delta (qu reste minoritaire, donnant l'Hb A₂ alpha₂ delta₂)

Hémoglobine normale chez l'adulte: Hb A (alpha ₂ bêta ₂)	• 97 %
Hb A ₂ (alpha ₂ delta ₂)	1 – 3 %
Hb F (alpha ₂ gamma ₂)	< 1 %

Dans certaines situations pathologiques l'Hb F peut réapparaître en concentration > 3% : bêta thalassémie, persistance héréditaire de l'hémoglobine F, myélodysplasies, maladie de Fanconi, ou après certains traitements médicamenteux (hydroxyurée, AZT).



2.3.3. Fonctions de l'hémoglobine

L'Hb a pour fonction le **transport de l'oxygène aux tissus**.

Il existe deux conformations de l'hémoglobine, l'une à forte affinité pour l'oxygène que l'on appelle l'état relâché (R), l'autre à faible affinité pour l'oxygène, que l'on appelle l'état tendu (T): le 2-3 DPG diminue l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène en stabilisant l'état T.

Plusieurs autres facteurs influencent l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène, le principal étant la pression partielle en oxygène (plus la pression en oxygène est élevée et plus l'affinité de l'Hb pour l'oxygène baisse), mais également divers autres : baisse du pH, augmentation de la température ou augmentation du 2,3 DPG auront pour effet une baisse de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène.

3. Méthodes d'étude des globules rouges et de l'hémoglobine

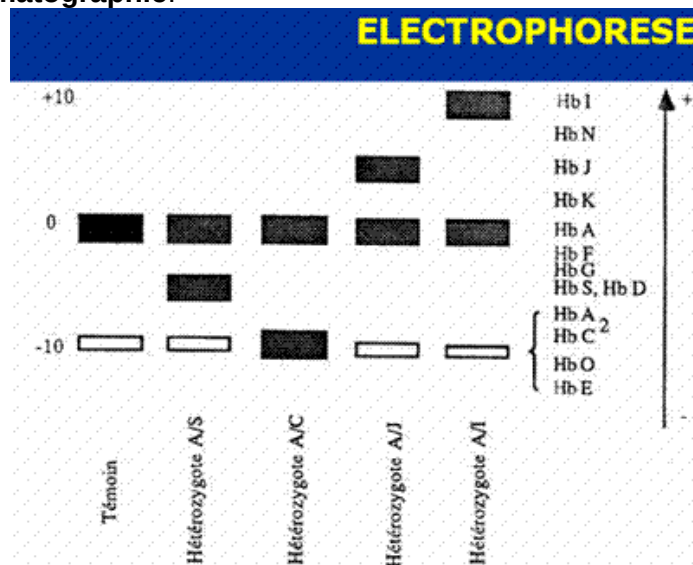
3.1. Données quantitatives: l'hémoграмme (voir ci-dessus)

Dosage de l'hémoglobine totale circulante: les diverses formes d'Hb du sang (carbonyl Hb, oxy Hb, Hb réduite...) ont un maximum d'absorption lumineuse un peu différent: la transformation de toutes ces formes en un pigment unique qui absorbe à une longueur d'onde unique et étroite (à 540 nm) (le réactif de Drabkin transforme toutes les formes d'Hb en cyanmethémoglobine, mais il existe d'autres réactifs, dépourvus de cyanures et moins polluants ou toxiques).

3.2. Méthodes d'étude de l'hémoglobine.

Electrophorèse: différentes méthodes permettent de différencier les différentes hémoglobines: sur acétate de cellulose à pH alcalin, sur agar à pH acide...

On pourra également utiliser l'isoélectrofocalisation sur acrylamide dans un gradient de pH, ou la **chromatographie**.



Il existe diverses méthodes moléculaires d'étude de la molécule d'hémoglobine qui permettent de déterminer précisément la nature de chaque anomalie (le ou les AA en cause), et de déterminer la quantité de chaîne produite.

3.3. Autres méthodes générales d'étude des hématies.

Test de Kleihauer: recherche l'Hb F dans les GR (décompte des hématies fœtales dans le sang maternel) par sa résistance en milieu acide (HbA = soluble).

Mise en évidence de l'hémoglobine H : formée de quatre chaînes bêta; elle précipite en présence de bleu de crésyl brillant (GR d'aspect en balle de golf)

Recherche de corps de Heinz : précipités d'Hb oxydée visualisés par ce colorant. Ces corps sont présents au cours de la crise hémolytique du déficit en G6PD, en cas d'intoxication chronique médicamenteuse épuisant les possibilités de régénération enzymatique. On en retrouve aussi quelques uns chez les splénectomisés, les prématurés et les nourrissons de moins de trois mois.

- **Résistance osmotique des hématies** = résistance des hématies incubées dans des solutions dont plus ou moins hypotoniques. Résistance diminuée (= fragilité augmentée) dans la sphérocytose héréditaire, les AHAI, et augmentée dans les thalassémies.

- **Hémolyse physiologique et pathologique.** Voir « **hémolyse et son exploration** »

- **Coloration de Perls :** mise en évidence de corps de Pappenheimer des GR et plus généralement du fer (voir la rubrique spécifique).

Conclusion : L'intégrité de l'ensemble des paramètres de la numération globulaire assure du fonctionnement normal de l'érythropoïèse.

L'hémogramme est l'examen biologique le plus prescrit en France.

Odile BLANCHET (MCU – PH) & Benjamin BACHY (Interne en biologie), mars 2006