

## *La membrane et Hémoglobine du globule rouge*

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

### 1. La membrane.

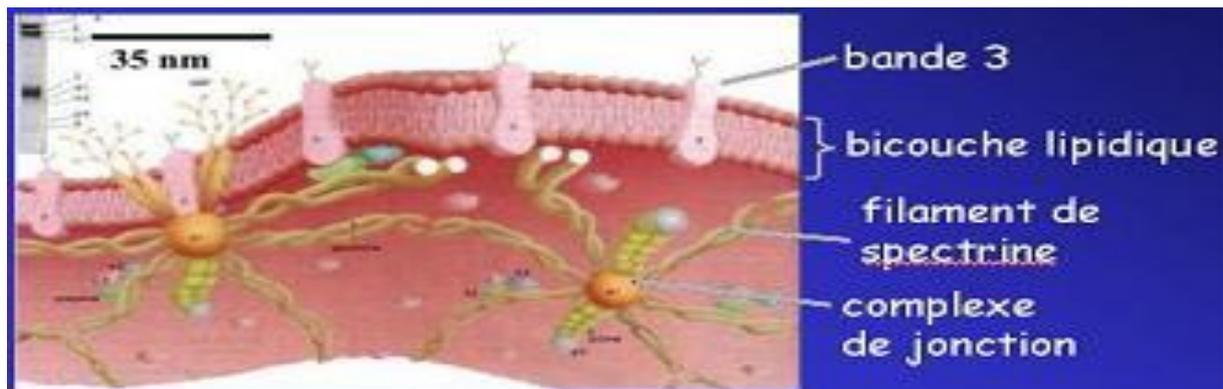
#### 1.1. Structure.

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-sacharridique 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 glyco phorine 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)

## **1.2- Propriétés physiques**

La forme biconcave est la morphologie la plus apte à la déformabilité : les GR passent dans des capillaires de 3  $\mu\text{m}$  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  $\text{Na}^+\text{K}^+$  dépendante assure le transport actif des cations et maintient la composition du globule rouge en cation.

### **Transport**

Beaucoup de substances pénètrent dans la cellule en passant par des protéines formant des "tunnels" à travers la membrane. Certains de ces "tunnels" peuvent se fermer ou s'ouvrir.

### **Enzymes**

Plusieurs enzymes sont disposées dans la membrane (le plus souvent la membrane formant les structures internes de la cellule). Les enzymes de certaines chaînes métaboliques sont parfois disposées côte à côte dans la membrane.

### **Perméabilité sélective**

La double couche de lipides est perméable:

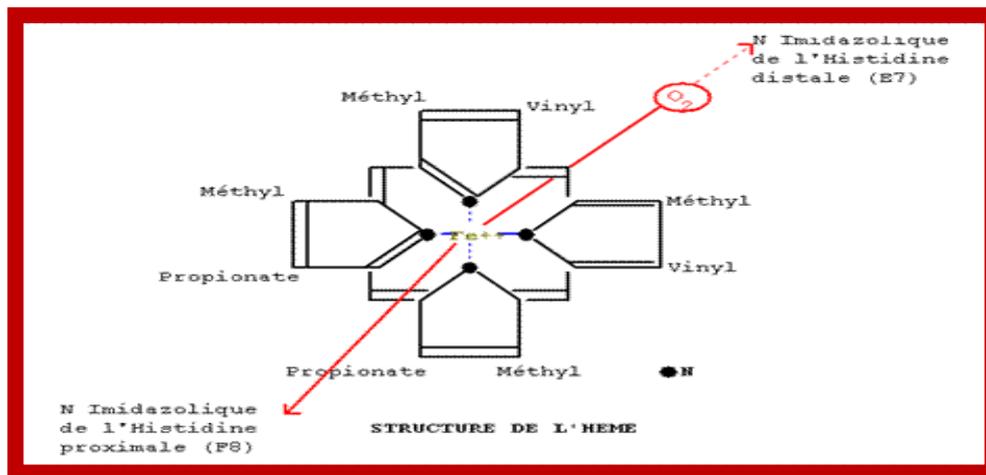
- Aux molécules très petites ( $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ )
- Aux molécules liposolubles (hydrophobes, non polaires)

La double couche de lipides est imperméable

## **2. Hémoglobine**

### **\* structure 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 proto porphyrine, à laquelle est liée un atome de fer à l'état ferreux], La proto porphyrine 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 proto porphyrinique et forme deux autres liaisons de part et d'autre du plan de l'hème : l'une avec l' $\text{O}_2$ , qui ne peut se lier que si le fer est à l'état ferreux [lorsque le fer est à l'état ferrique = met hémoglobine qui est incapable de fixer l' $\text{O}_2$ ]. 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 A = constituant principal de l'hémoglobine adulte, constitué de 2 chaînes alpha(141 AA) et de 2 chaînes bêta (146 AA) (= alpha<sup>2</sup> bêta<sup>2</sup>). PM = 64500. 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.

#### 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 zéta, epsilon et gamma apparaissent dès le 3<sup>ème</sup> mois de gestation et produisent les hémoglobines embryonnaires Gower 1 (zéta<sub>2</sub> epsilon<sub>2</sub>), Gower 2 (alpha<sub>2</sub> epsilon<sub>2</sub>) et Portland (zéta<sub>2</sub> gamma<sub>2</sub>).
- A partir de 5 – 6 mois la synthèse de chaîne gamma est majoritaire, donnant l'Hb F (Hb fœtale : alpha<sub>2</sub> gamma<sub>2</sub>); la synthèse de la chaîne gamma cesse quasi totalement à la naissance.
- la synthèse de chaîne bêta débute au voisinage de la naissance (HbA ou adulte = alpha<sub>2</sub> bêta<sub>2</sub>), de même que la chaîne delta (qui reste minoritaire, donnant l'Hb A2 (alpha<sub>2</sub>, delta<sub>2</sub>))

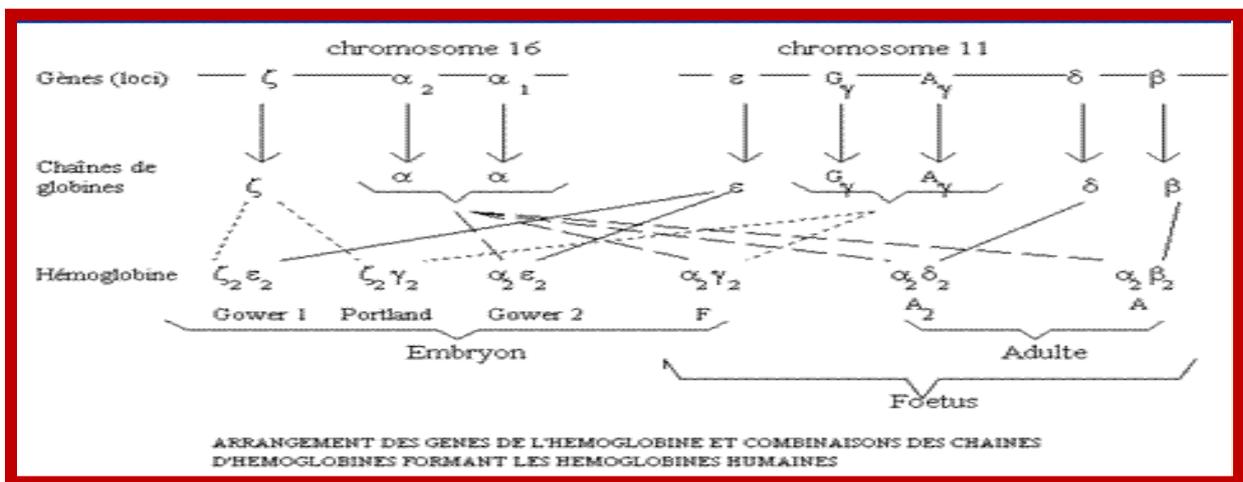
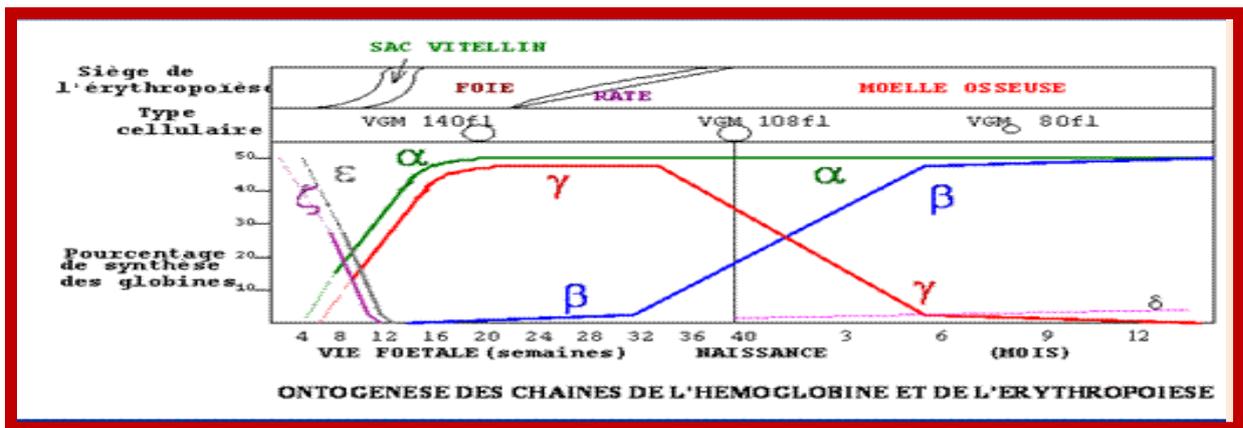
Hb normale chez l'adulte:

Hb A (alpha<sub>2</sub> bêta<sub>2</sub>) = 97 %

Hb A2 (alpha<sub>2</sub> delta<sub>2</sub>) = 2.2 – 3.2 %

Hb F (alpha<sub>2</sub> gamma<sub>2</sub>) < 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).



**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

**Dr ABBASSEN N**

### **La biosynthèse de l'hémoglobine**

Commence au niveau des progéniteurs tardifs puis devient intense à partir de l'érythroblaste poly chromatophile et s'achève dans le réticulocyte.

Les étapes initiales et finales de la synthèse de l'hème se déroulent sur les crêtes mitochondriales internes des érythroblastes, l'étape intermédiaire se déroulant dans le cytoplasme.

La synthèse de la globine s'effectue selon le schéma général des synthèses protéiques (ARN messenger, puis synthèse puis association des chaînes alpha et bêta produites pour former le tétramère  $\alpha_2\beta_2$ ).

Il existe un niveau d'expression élevé et égal des chaînes alpha et non alpha.

L'association hème-globine donne la molécule d'hémoglobine.

La prolifération cellulaire cesse quand la concentration en hémoglobine dans le cytoplasme des érythroblastes matures est proche de 30%. Une concentration – rétraction du réticulocyte amène la concentration interne en hémoglobine à environ 33 g/dl (= CCMH)

- **Méthodes d'étude des GR et de l'Hb : Données quantitatives:**

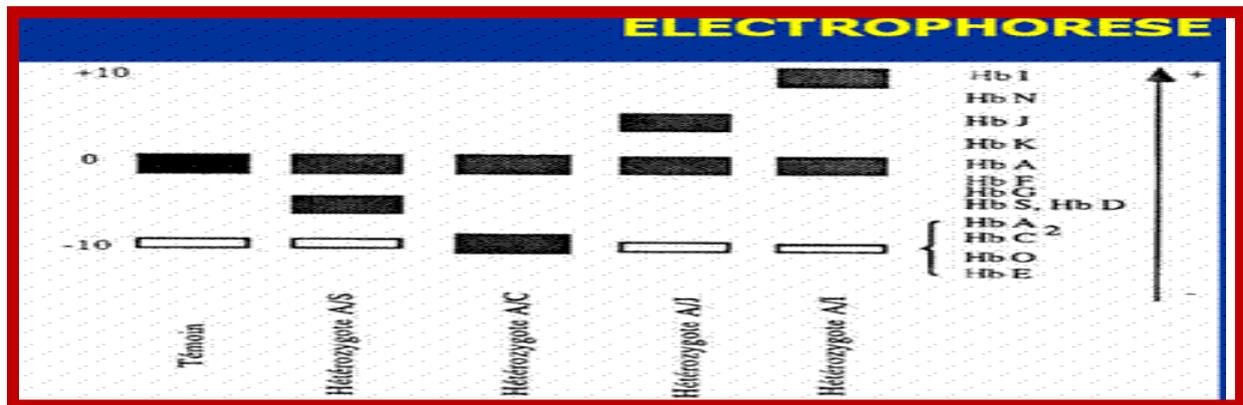
- **l'hémogramme**

- **Dosage de l'hémoglobine**

- 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 cyan met hémoglobine, mais il existe d'autres réactifs, dépourvus de cyanures et moins polluants ou toxiques).

- Méthodes d'étude qualitatives 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'iso électro focalisation sur acrylamide dans un gradient de pH, ou la chromatographie.



### 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 (Hb A = 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 GR** = 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.**

- **Coloration de Perls :** mise en évidence du fer médullaire intracellulaire et extracellulaire sous forme de granulations.

#### • Conclusion :

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

L'hémogramme est l'examen biologique le plus prescrit