



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

# CINETICA ERITROCITARIA

Trabajo Monográfico

VIRGINIA HERNANDEZ PEREZ  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

México, D.F.

1985



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# I N D I C E

	PAGINA
I.- INTRODUCCION .....	1
II.- DEFINICION .....	2
III.- ERITROPOYESIS .....	3
a) Extramedular.	
b) Medular.	
c) Unidades Formadoras de Colonias.	
d) Reguladores de Eritropoyesis.	
e) Síntesis de Hemoglobina.	
IV.- FISIOLOGIA DEL ERITROCITO .....	38
V.- REQUERIMIENTOS ENERGETICOS .....	45
VI.- SITIOS DE DESTRUCCION .....	49
VII.- CONCLUSIONES .....	51
VIII.- BIBLIOGRAFIA .....	55

# I N D I C E

	PAGINA
I.- INTRODUCCION .....	1
II.- DEFINICION .....	2
III.- ERITROPOYESIS .....	3
a) Extramedular.	
b) Medular.	
c) Unidades Formadoras de Colonias.	
d) Reguladores de Eritropoyesis.	
e) Síntesis de Hemoglobina.	
IV.- FISILOGIA DEL ERITROCITO .....	38
V.- REQUERIMIENTOS ENERGETICOS .....	45
VI.- SITIOS DE DESTRUCCION .....	49
VII.- CONCLUSIONES .....	51
VIII.- BIBLIOGRAFIA .....	55

## I N T R O D U C C I O N

La función principal del eritrocito maduro es transportar el oxígeno presente en los alveólos pulmonares a las células de los tejidos y el bióxido de carbono de éstas a los alveólos pulmonares.

La función es bien conocida (la primera observación de que la sangre contenía "aire" fue realizada a finales del siglo XVII por Boyle, pero fue sólo dos siglos después cuando el papel de la hemoglobina, como transportador de oxígeno, fue definitivamente reconocido), sin embargo, el mecanismo de este maravilloso proceso aún no se conoce completamente, pero con los avances en los estudios sobre Biología Celular, Enzimología, Bioquímica Celular, etc. se está esclareciendo cada vez más.

El objetivo de esta revisión monográfica es precisamente ahondar en el conocimiento actual acerca de estos complejos y fascinantes proceso bioquímicos celulares merced a los cuales es posible la vida de los mamíferos superiores entre los que destaca el ser humano.

## DEFINICION

La cinética eritrocitaria es el estudio del origen del eritrocito, lugares donde se origina, células que le dan origen (células precursoras), las transformaciones que conforme a la maduración estas células precursoras van sufriendo. Y una vez maduro el eritrocito la función que desempeña en el organismo como lo es el transporte de gases respiratorios que es de vital importancia. Así como estudiar los mecanismos que regulan la producción de dichos eritrocitos; las causas que dan lugar a su destrucción y los lugares donde se realiza dicha destrucción. Y el equilibrio, tan importante, que existe entre la producción y destrucción de los eritrocitos.

## ERITROPOYESIS EXTRAMEDULAR

A lo largo del desarrollo embrionario, y después fetal, el saco vitelino, el hígado y el bazo son lugares primordiales de hematopoyesis.

La reactivación de focos hematopoyéticos extramedulares en la vida adulta (hígado, bazo, ganglios linfáticos, riñón) es un fenómeno infrecuente que tiene lugar en algunas situaciones patológicas, al objeto de incrementar la formación de los elementos de las distintas series medulares (1).

Se ha observado en la vida extrauterina formación de células aparentemente normales fuera de la médula bajo diferentes circunstancias. El bazo es el lugar más comunmente encontrado, pero también se ha registrado hematopoyesis en el hígado, nudos linfáticos, y, en menor cantidad en cartílagos, ligamentos, tejido adiposo, áreas intratorácicas y el riñón. Estas islas hematopoyéticas pueden estar compuestas por tejidos puros o mezclas de tejidos eritrocíticos, granulocíticos o megacariocíticos. En general, la hematopoyesis extramedular se encuentra asociada con enfermedades en las que hay producción de uno o más tipos de células (eritroblastosis fetal, anemia perniciosa, talasemia, esferocitosis hereditaria y varias leucemias). En daño en la producción celular o en sangrado crónico

se producirá hematopoyesis extramedular. Sin embargo la disminución en la producción no necesariamente conduce a producción extramedular. La anemia aplásica raramente está asociada a la hematopoyesis extramedular (2).

Existe la evidencia de que la diferenciación y proliferación de las células tronco hematopoyéticas son procesos en los que influyen la interacción de las células tronco pluripotenciales y el microambiente. Al respecto Trentin y colaboradores encontraron que en el bazo se lleva a cabo en mayor cantidad la diferenciación eritropoyética que la granulopoyética, mientras que en la médula ósea ocurre lo contrario. Se encontró además que el sulfato de dextran provoca una actividad eritropoyética en el bazo (3).



## ERITROPOYESIS MEDULAR

En las primeras semanas de la vida embrionaria los eritrocitos se producen a nivel del saco vitelino. Durante el trimestre central de la gestación el hígado es el principal órgano productor de eritrocitos; al mismo tiempo, producen una cantidad considerable de hematíes el bazo y los ganglios linfáticos. Durante la última parte de la gravidez y después del nacimiento la producción mielóide es principalmente eritroide. La médula ósea de prácticamente todos los huesos produce eritrocitos hasta llegar a los cinco años de edad. Después de la cual y hasta la edad adulta, la mayor parte de los eritrocitos se producen en la médula de huesos membranosos como las vértebras, costillas, esternón, pelvis, cráneo y extremos próximos del fémur y húmero. La cavidad de los huesos de los miembros están llenos de grasa. La médula hematopoyética se localiza inyectando isótopos apropiados y explorando el cuerpo por emisiones radioactivas. Los coloides marcados son fagocitados por las células reticuloendoteliales de la médula y en el estado normal su distribución es igual a la distribución de la hematopoyesis activa. La cavidad medular de los huesos están distribuídos por placas. La médula contenida dentro de los espacios es un tejido de gelatinoso a semifluído rico en grasa (2).

La médula ósea contiene células progenitoras que cuando son estimuladas apropiadamente, proliferan y forman clonas, al parecer estos elementos progenitores dependen de otras células medulares diferentes y potenciales, de naturaleza monocito-macrófago. Los estudios realizados muestran que es necesaria una célula auxiliar para la formación de colonias eritroides y que la actividad potenciadora de esta célula auxiliar influye en la diferenciación aumentando el DNA de los elementos inmaduros, pero no influye en el tamaño de la colonia (4).

Las células de la sangre y médula ósea provienen de un progenitor común. La estimación del número total de células precursoras dentro de la médula ósea se ha realizado por varias técnicas, y así el fierro en el plasma es directamente proporcional al número total de precursores eritroides en la médula ósea tanto del hombre normal como en pacientes con diversas enfermedades. El número aproximado de eritroblastos es  $3.5 \times 10^9$ /Kg. de peso en el hombre normal. Considerando que hay tres células no eritroides por cada eritroide hay aproximadamente  $14 \times 10^9$  células nucleadas/Kg. de peso. Donohue y colaboradores estudiaron la localización del fierro radioactivo en la médula del torax y calcularon un promedio de  $18 \times 10^9$  células/Kg.. La masa medular puede calcularse de la proporción de células maduras, si se ha establecido el número de precursores medulares. Los precursores de neutrófilos se calcularon en  $18 \times 10^9$  células/Kg. de peso (5).

Los aumentos en la producción de células medulares se lleva a cabo como respuesta al incremento en la demanda por pérdida excesiva en pacientes con anemia hemolítica, infección crónica o púrpura trombocitopénica idiopática. El aumento de la producción se realiza por incremento en la celularidad parenquimal con pérdida de grasa en las áreas de hematopoyesis normal, la extirpación de la médula hematopoyética en el tejido adiposo inactivo, acorta la maduración, y quizás acorta el tiempo de generación. En general, la producción aumenta más en respuesta a un estímulo crónico que a un estímulo agudo.

La producción de eritrocitos se ha calculado de seis a doce veces la normal en personas con anemia hemolítica esferocítica congénita. La producción de plaquetas se ha calculado aproximadamente ocho veces la normal en purpura trombocitopénica idiopática. La producción de neutrófilos puede ser cuatro veces la normal en pacientes con infección crónica. No se han precisado los mecanismos por los cuales aumenta la producción, pero al parecer es más importante el número de precursores que el tiempo de maduración de las células tronco. Se piensa que la temperatura de la cavidad medular es un factor regulador para la transformación del tejido activo hematopoyéticamente. El aumento de la producción de una línea celular no se realiza a expensas de otra excepto en circunstancias experimentales. Se puede realizar sobreproducción de una o más líneas celulares simultáneamente en animales que son sangrados. Con respecto a los eritrocitos, tanto

las células maduras como sus precursoras forman parte de un órgano conocido como "eritrón". Este concepto enfatiza la unidad funcional de los eritrocitos y sus precursores. El tejido intersticial del eritrón está representado por el plasma y la grasa de la médula ósea. Considerando como una unidad, el eritrón es un órgano más grande que el hígado (2).

La célula roja nucleada en desarrollo contiene todos los elementos subcelulares necesarios (grupo hemo, cadenas polipeptídicas, receptores de membrana, antígenos, sistemas enzimáticos) para su replicación, maduración y diferenciación. Este último proceso está representado por la síntesis de 300 millones de moléculas de hemoglobina por cada célula y por la creación simultánea de un medio ambiente adecuado, donde el pigmento respiratorio pueda mantenerse en estado funcional durante los 120 días de su vida media y a lo largo de los 250 Km. que recorre durante ese tiempo (1).

En el individuo adulto la producción de hematíes, junto a la de los granulocitos, megacariocitos y monocitos, es función primordial de la médula ósea. Estas líneas diferentes de células proceden de un tronco celular común denominado inicialmente hemocitoblasto, célula primitiva pluripotencial o célula tronco. Es un elemento de características linfoides y que carece de rasgos morfológicos específicos; su reconocimiento ha sido posible merced a técnicas de cultivo celular y la formación de colonias.

La célula tronco tiene el poder de autoperpetuarse, constituyendo así un pequeño "pool" o compartimiento del que se derivan las células primitivas unipotenciales o elementos ya comprometidos en el origen de cada una de las diferentes series medulares. La célula tronco unipotencial también carece, como la pluripotencial, de rasgos morfológicos específicos. El mecanismo responsable del paso de la célula pluripotencial a la unipotencial no se conoce con exactitud en el momento actual. Desde el elemento "comprometido" se produce un proceso de diferenciación multiplicativa que permite que con un reducido número de células primitivas se pueda originar una elevada cantidad de células diferenciadas y funcionantes. Una vez iniciado el camino de la diferenciación-multiplicación ya es posible reconocer morfológicamente las distintas líneas medulares (6).

El precursor eritrocítico primeramente reconocible es el proeritroblasto, el cual pasa por los siguientes estadios: eritroblasto basófilo, eritroblasto policromatófilo, eritroblasto ortocromático, reticulocito y eritrocito maduro (Fig. 1).

Proeritroblasto.- Es redondo u oval, de tamaño moderado (14 a 19  $\mu\text{m}$  de diámetro). Tiene el núcleo relativamente grande y citoplasma basófilo, presenta un nucleólo prominente, el citoplasma es de apariencia granular. Se distingue una estructura perinuclear que posiblemente represente el aparato de Golgi. Se

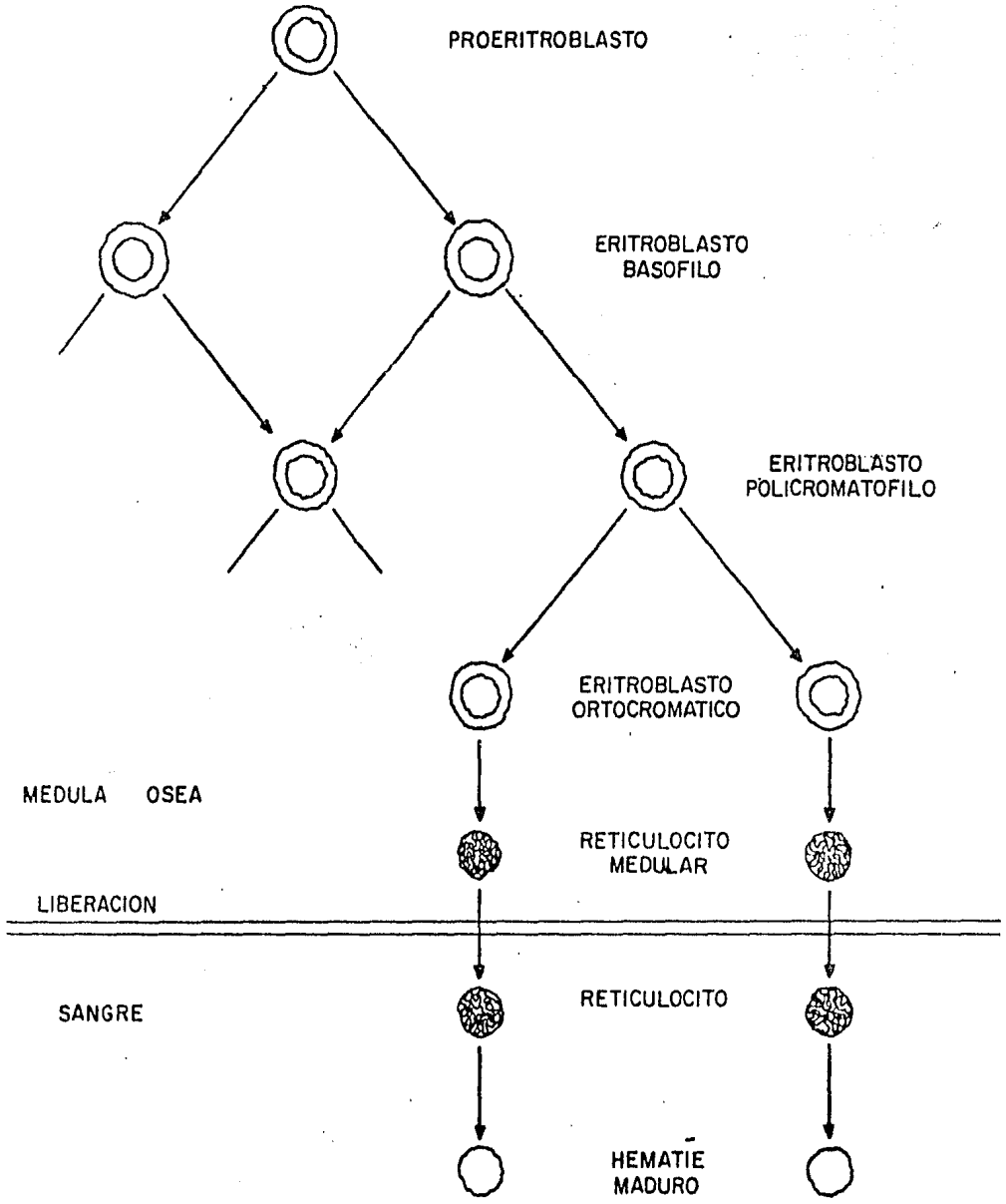


FIG. I ESCALONES MADURATIVOS DE LA SERIE ERITROIDE

puede distinguir algo que pueden ser las mitocondrias. El proeritroblasto comienza inmediatamente un proceso controlado e integrado encaminado a la producción de protoporfirina, síntesis de la globina y a la captación del hierro del exterior. Es en este momento cuando se inicia la síntesis de la hemoglobina, marcador que diferencia a las células eritroides de las restantes células del organismo. También sintetiza proteínas diferentes a la hemoglobina (enzimas fundamentalmente). Las primeras trazas de hemoglobina se pueden detectar en el eritroblasto basófilo, pero no se puede observar por microscopio de luz hasta el estado policromático. Aquí la síntesis de hemoglobina ocurre al máximo. La cual continúa en el estadio ortocromico y persiste en el reticulocito. Las células maduras, carentes de ribosomas, son incapaces de sintetizar hemoglobina.

Eritroblasto basófilo.- Es similar al proeritroblasto excepto que el nucleólo no es visible y la célula es más pequeña (12 a 17  $\mu\text{m}$  de diámetro). La cromatina tiene la apariencia granular. El núcleo puede acomodarse en forma radial. El citoplasma es más basófilo que en el proeritroblasto, este color se debe a la presencia del RNA. El cambio de color durante los siguientes estadios reflejan la aparición de hemoglobina acidofílica y la desaparición del ácido ribonucléico.

El primer indicio de hemoglobinización lo introduce al siguiente estado llamado eritroblasto policromatófilo, en esta fase

se observa condensación de la cromatina nuclear, se forman agrupaciones irregulares de cromatina, el nucléolo no es visible, el núcleo es pequeño. Con tinción supravital, se observan el número máximo de mitocondrias, con el incremento en la síntesis de hemoglobina las mitocondrias disminuyen progresivamente en número.

Cuando el citoplasma posee casi la totalidad de la hemoglobina, la célula se llamará eritroblasto ortocromático, el citoplasma es similar al del eritrocito maduro. Esta célula es la más pequeña de los precursores eritroides nucleados. En este estadio, la cromatina se condensa aún más, los núcleos se contraen y son incapaces de sintetizar DNA o RNA. Los factores que llevan a cabo el cese de la actividad nuclear no se conocen, pero podrían estar relacionados a la concentración de hemoglobina intracelular. La hemoglobina se encuentra dentro de los núcleos. Después que aumenta la concentración de hemoglobina nuclear, ésta reacciona con nucleohistonas induciendo inactivación de los cromosomas y condensación nuclear. De acuerdo a esta hipótesis, el número de divisiones celulares y el tamaño del eritrocito están relacionados a la cantidad de hemoglobina sintetizada. Por ejemplo, las células microcíticas son producidas por deficiencia de hierro, de este modo se tarda más en alcanzar la concentración crítica de hemoglobina y como el tiempo de generación es el mismo, ocurren más divisiones celulares por inactivación nuclear, y el resultado es una célula



más pequeña. Por el contrario, los macrocitos se forman como resultado de una síntesis de hemoglobina acelerada ocasionada por estímulo a la eritropoyesis, lo cual ocasiona una temprana degeneración nuclear y por lo tanto disminuye el número de divisiones coincide con esta hipótesis, el hecho de que la concentración corpuscular media de hemoglobina permanece constante en diferentes especies mamíferas, aunque el tamaño del eritrocito varía. Después los núcleos degenerados, son expulsados de la célula. Este proceso, se ha observado por microscopía de contraste de fases en eritroblastos activos, se lleva a cabo de 5 a 60 minutos. Durante la expulsión, las mitocondrias y vesículas citoplásmicas se acumulan cerca del borde nuclear. Dentro de la médula, la desnucleación parece ocurrir cuando el eritroblasto cruza la célula endotelial de la pared del sinusoides, a través de los poros de 1 a 4  $\mu\text{m}$  de diámetro pueden pasar el citoplasma y pequeños organelos como los ribosomas y mitocondrias pero el núcleo no. (los núcleos expulsados son fagocitados). Después de la desnucleación, la célula permanece en la médula por varios días como un reticulocito. Después de la liberación al torrente sanguíneo, el reticulocito puede permanecer en el bazo por uno o dos días. Aquí puede ocurrir la maduración total (2).

Ya que la célula eritroide no muestra las características morfológicas del reticulocito, se ha convertido en un hematíe maduro. Este último solo conserva la glucólisis anaerobia, la de-

derivación de las pentosas fosfato y la glucogenogénesis (1).

Dentro del eritrón, la maduración y la proliferación celular son procesos simultáneos. Todos los precursores identificables están destinados a madurar; una vez maduros son incapaces de auto-mantenerse. El mantenimiento del tamaño del eritrón está bajo control hormonal.

El tiempo que una célula pasa en un determinado estado morfológico{(tiempo de tránsito por un compartimiento (TTC)} depende de si los productos de la mitosis están más maduras que la célula madre o si la célula hija es indistinguible de la madre. Dependiendo de cual de los dos tipos de división se trate, el TTC para los eritroblastos basófilos es de 12.4 a 95 horas y para los eritroblastos policromatófilos es de 8.8 a 37.5 horas. El TTC para los proeritroblastos es cerca de 30 horas y para los eritroblastos ortocrómicos es de 19 horas. Así para pasar de proeritroblasto a reticulocito se lleva de 70 a 180 horas, y permanece 2 o 3 días más como reticulocito antes de ser liberado a la sangre.

Ocurren 3 ó 5 divisiones celulares durante la maduración del precursor eritroide. De este modo, de cada proeritroblasto se obtienen de 8 a 32 células maduras. El eritroblasto ortocromático no puede sintetizar DNA y por lo tanto ya no se puede dividir. Este número teórico de células puede disminuir por dos

causas. Una de éstas es que la célula muera en alguna fase de división (eritropoyesis inefectiva). La otra es que se brinque alguna de las fases de división, fenómeno que ocurre por poco contenido de hemoglobina. Estos fenómenos ocurren de manera insignificante en sujetos normales, pero puede aumentar bajo circunstancias patológicas.

Posiblemente, la diferenciación de célula tronco a pronormoblasto se realiza por inducción de ciertos genes, especialmente aquellos que son necesarios para la síntesis de hemoglobina, y represión de los que no son requeridos para la función eritrocítica. El estado de eritroblasto está dominado por la síntesis de RNA, por la presencia de un núcleo grande y activo. Se forman tres especies de RNA-ribosomal, de transferencia ( $RNA_t$ ), y mensajero ( $RNA_m$ ) probablemente en proporción de 80:15:5 respectivamente. La síntesis de RNA disminuye hacia la maduración y probablemente cesa en el estado basofílico.

Liberación de las células por la médula ósea.- No se conoce el mecanismo de liberación. Parece que las células salen del parenquima y entran a los sinoides a través de las células endoteliales que los revisten. Los megacariocitos se han observado en la proximidad de la membrana sinusoidal. Así la liberación de las plaquetas dentro de los sinoides por ruptura del citoplasma requiere la transformación de la membrana citoplasmática de los megacariocitos. Se desconoce el mecanismo de li-

beración de los eritrocitos. El número de eritrocitos maduros aumenta en la médula como respuesta a una hemorragia aguda. Esto sugiere que son vaciadas directamente al parenquima medular. Se considera que la viscosidad del material "intracelular" del parenquima medular es un factor importante en la liberación de eritrocitos. La deformabilidad celular es un factor importante en la liberación. Los reticulocitos, eritrocitos y granulocitos son más deformables que sus precursores. Quizá la liberación esta controlada por una combinación del cambio sanguíneo en el parénquima, volumen sinusoidal y parenquimal, y los niveles de células sinusoidales en la sangre. La liberación de plaquetas o neutrófilos ocurre aisladamente y está regida por factores humorales (2).

## UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS

Cultivando tejido hematopoyético de bazo de ratón se encontró que daba origen a colonias clonales, esto es, que cada colonia formada contenía eritrocitos, neutrófilos, megacariocitos y eosinófilos, indicando con esto que la unidad celular formadora de colonias (CFU-s) es pluripotencial para las líneas celulares eritroides, neutrofílicas, megacariocíticas y eosinofílicas. En dichas colonias no se encontraron linfocitos, lo cual quiere decir que el precursor de los linfocitos es independiente de (CFU-s). Estas células pluripotenciales no han podido ser identificadas, sin embargo por los estudios realizados se piensa que puede tratarse de un linfocito o de un monocito (2). Esta célula tiene la propiedad de autoperpetuarse constituyendo un compartimento del que se derivan las células unipotenciales (BFU-E) que a su vez darán origen a una línea determinada de células ya diferenciadas (Fig. 2) (6). Osgood sugirió que cada división celular forma un compartimento en el cual, cada célula que se divide origina dos células hijas, una de ellas permanece en el compartimento mientras que la otra se diferencia y pasa a formar otro compartimento realizando así una forma asimétrica de división celular que sería el mecanismo por el cual una célula (CFU-s) pasa a ser (BFU-E). Las BFU-E al igual que las CFU-s no se han podido identificar (2).

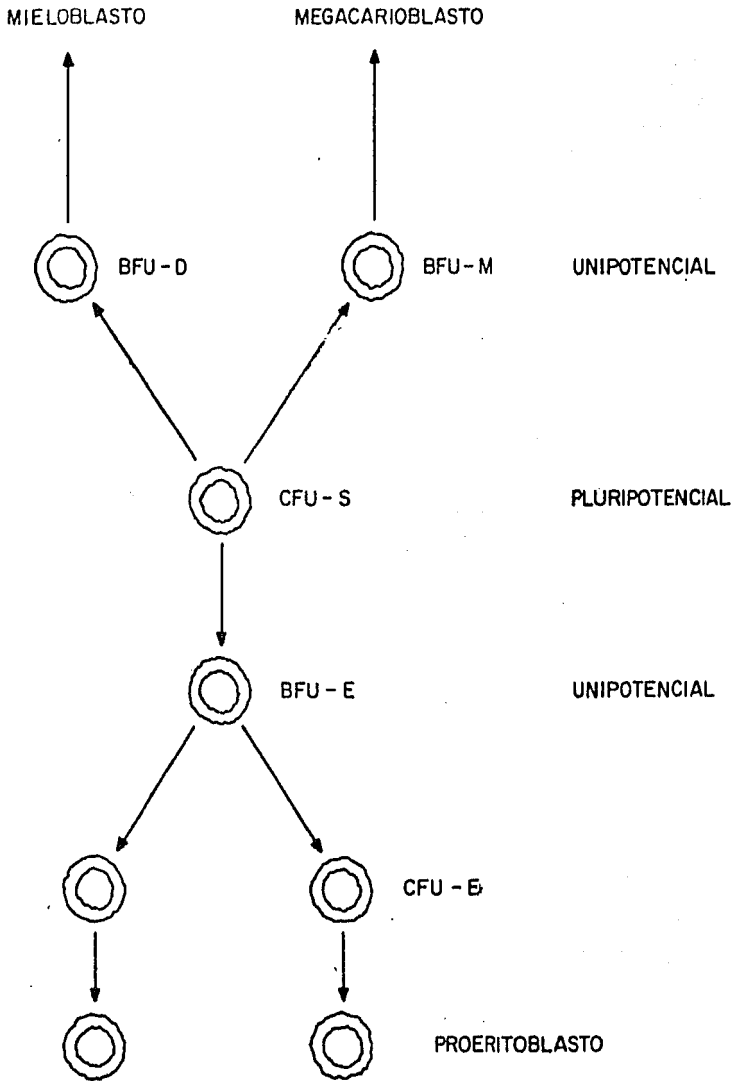


FIG. 2

- BFU-M: Unidades Formadoras de Brotes - Megacariocito.
- CFU-S: Unidades Formadoras de Colonias del Bazo.
- BFU-D: Unidades Formadoras de Brotes - Granulocitos y monocitos.
- CFU-E: Unidades Formadoras de Colonias Eritroides.
- BFU-E: Unidades Formadoras de Brotes Eritroides.

Si alguno de los compartimentos diferenciados se estropea, se activa el compartimiento de (CFU-s) para cubrir las necesidades de los otros sistemas de células tronco. La diferenciación de células CFU se ajusta a la demanda de cada tipo celular. La regulación de la proliferación y diferenciación de las células tronco pluripotenciales (CFU-s) está dada por factores numerales que son liberados por la médula ósea (7).

La diferenciación de las células precursoras eritroides está asociada con una elevación gradual de su actividad proliferativa y a su tamaño celular, provocando una elevación en su número y un aumento en la sensibilidad a la eritropoyetina. El proceso de diferenciación implica tres etapas: 1) La inducción de las células tronco a la línea eritroide, 2) Desarrollo de la forma inmadura y 3) Desarrollo de la etapa final, implicando la hemoglobinización y desnucleación de eritroblastos (8).

Haves y colaboradores identificaron tres clases de progenitores eritroides tanto en humanos como en ratones: BFU-E (P-BFU-E), CFU-E y BFU-E (M-BFU-E) que aparentemente es un intermediario entre los dos anteriores. Las tres clases de progenitores eritroides (P-BFU-E → M-BFU-E → CFU-E) se caracterizaron de acuerdo a su morfología, número de colonias, curva de tiempo de crecimiento y sensibilidad a la eritropoyetina (10).

Es durante la fase de BFU-E que se expresan algunos tipos de antígenos (11).

Se ha visto que las unidades formadoras de colonias provenientes del bazo (CFU-s) producen un gran número de BFU, no así las provenientes de médula ósea. Sugiriendo que su capacidad para formar colonias está determinado por factores extremos (el medio ambiente del bazo es mejor que el medio ambiente de la médula ósea). Puede ser que CFU-s menos encaminadas a la diferenciación tienen una gran capacidad para autorrenovarse y por el contrario si están más encaminadas a la diferenciación tienen baja capacidad para autorrenovarse (12).

Se han reconocido por lo menos dos sustancias que influyen en la eritropoyesis: 1) La eritropoyetina que regula el crecimiento de CFU-E y controla el proceso de diferenciación conduciendo a la hemoglobinización de los precursores eritroides, y 2) El factor promotor de brotes (FPB) (13). La eritropoyetina tiene que actuar al nivel de las CFU-E porque su acción disminuye al nivel de las BFU-E por lo que se piensa que las BFU-E son menos sensibles a la eritropoyetina que las CFU-E. Udupa y Reissman encontraron que la regeneración de las BFU-E dependía de las CFU (14).

El FPB es liberado por la placenta y llevado al hígado fetal por medio de la circulación sanguínea (10) y se diferencia



de la eritropoyetina porque actúa en precursores eritroides más primitivos. Este factor se ha detectado en medios condicionados con células y tejidos como leucocitos, macrófagos, placenta, células T. Está presente en suero y orina (15).

Recientemente se encontró que una línea celular linfoblastoide T humana elaboraba el factor promotor de brotes, así como factores capaces de aumentar la proliferación y/o diferenciación de BFU-E y CFU-E in vitro (13).

También se encontró que dos subpoblaciones de linfocitos T influyen en el crecimiento de BFU-E. Una de las subpoblaciones aumenta el crecimiento de BFU-E y la otra subpoblación lo disminuye, pero la acción conjunta de estas subpoblaciones que se encuentran en sangre periférica normal es aumentar el crecimiento (16).

La incubación de CFU-E y BFU-E de médula ósea, en presencia de glutatión reducido y con una atmósfera de 5% de oxígeno, 5% de dióxido de carbono y 90% de nitrógeno da por resultado un aumento en el número de colonias y en su sensibilidad a la eritropoyetina. Esto puede explicarse porque el glutatión reducido y la baja tensión de oxígeno ocasiona una reducción de la toxicidad del oxígeno de las células (oxígeno tóxico cuando está en forma de peróxido de hidrógeno) aumentando así la vida y el número de CFU-E (17).

La CFU-s puede ser afectada por el litio aumentando la producción de neutrófilos y el tamaño de los precursores granulocíticos, el mecanismo no se conoce, pero algunos investigadores han reportado que el litio causa un aumento en el factor estimulador de la colonia, mientras que otros sugieren un efecto directo sobre la CFU-s (18).

Algunos investigadores afirmaban que los monocitos en altas concentraciones inhiben el crecimiento de BFU-E in vitro, para lo cual hicieron experimentos y encontraron que no ocurre tal inhibición del crecimiento ocasionado por los monocitos (19). Por el contrario se encontró que una línea celular monocítica humana produce un factor que aumenta el crecimiento de BFU-E y CFU-E in vitro, el cual fue llamado factor potenciante eritroide (FPE) para distinguirlo de otros agentes que solo aumentan el crecimiento del BFU-E in vitro. Esta actividad potenciadora se llevó a cabo en ausencia de eritropoyetina (13).

Se ha encontrado que factores quimiostáticos complicados en procesos inflamatorios pueden influir en la proliferación y diferenciación de precursores mieloides (CFU-c) en la médula ósea y pueden afectar la regulación de la mielopoyesis (20).

El comportamiento hematopoyético de la médula ósea esta separado de la sangre periférica por el revestimiento endotelial de los sinoides mieloides. La entrada selectiva de las cé-

lulas sanguíneas a la circulación es un proceso transcelular. Las células penetran en el cuerpo de la célula endotelial. El poro así formado se cierra después que la célula entró al lumen vascular (21).

## REGULADORES DE LA ERITROPOYESIS

El equilibrio que debe existir entre la producción y la destrucción de los hematíes día a día, así como la óptima adaptación de la masa globular a las fluctuaciones que se producen en situaciones patológicas requieren un mecanismo de regulación muy preciso. El grado de oxigenación de los tejidos es el factor modulador principal de esta regulación. Las alteraciones en la concentración de hemoglobina en la sangre conducen a cambios en la tensión de oxígeno en los tejidos del riñón. En respuesta a la hipoxia, el riñón secreta un factor que interactúa con el plasma para producir una hormona, la eritropoyetina. Esta hormona aumenta en todas aquellas situaciones clínicas que cursan con un deficiente aporte de oxígeno a los tejidos tales como reducción en la presión inspiratoria de oxígeno, insuficiencia respiratoria crónica, síndromes anémicos, hemoglobinopatías de alta afinidad por el oxígeno, carboxihemoglobinopatías, etc.. La hormona induce la formación de células rojas. Esto conduce a aumentar el tamaño del eritrón y los niveles de oxígeno tisular. La tensión de oxígeno depende del suministro y demanda del oxígeno. El suministro de oxígeno es una función compleja que afecta variables semi-independientes, incluyendo el flujo sanguíneo, concentración de hemoglobina, saturación de oxígeno y afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. Una de estas funciones puede alterarse para compensar una deficiencia de otra.

Miescher en 1893 fue el primero que sugirió que la hipoxia tisular es un estímulo para la eritropoyesis. No se conoce la naturaleza de los receptores de oxígeno en los tejidos, sin embargo, parece que están localizados en el riñón (2).

El riñón y en especial las células yuxtaglomerulares corticales sintetizan la eritropoyetina y además posiblemente liberan una sustancia con características enzimáticas, la eritrogenina, que al actuar sobre la globulina plasmática, la transforma en la verdadera hormona activa. Las células sensibles a la hipoxia no son las mismas que las encargadas de su producción, las primeras se localizan en la médula renal y transmiten su información a la zona cortical (1).

La eritropoyetina es una glicoproteína que contiene 74% de proteínas, 10% de ácido siálico, 6% de galactosa, 4% de manosa, 4% de glucosamina y 2% de glucosa. Tiene un peso molecular aproximado de 23000. Su capacidad de inducir células rojas se ha medido por la determinación de  $^{59}\text{Fe}$  en dichas células después de la administración de una dosis del radioisótopo (22). Esta hormona puede ser desnaturalizada y renaturalizada sin pérdida de su actividad biológica (23).

Aunque la eritropoyetina es producida principalmente por los riñones, existen también fuentes extrarrenales que la producen, de las cuales la más importante es el hígado. El hígado

es el primer sitio de producción de eritropoyetina en la vida fetal y neonatal. Después la eritropoyesis pasa del hígado a la médula ósea. El sitio celular que origina la eritropoyetina hepática se cree que es la célula de Kupffer.

Existe un factor llamado hepatopoyetina (Hp) que es capaz de estimular la producción hepática de eritropoyetina. Se encontró en suero de ratas hepatectomizadas. En los experimentos realizados por algunos investigadores se encontró que el suero de las ratas macho hepatectomizadas contenía mayor cantidad de eritropoyetina que el de las hembras. El mecanismo posible de la acción de la hepatopoyetina sobre la eritropoyesis es que este factor se produce y/o almacena en la célula parenquimal hepática y se difunde a través del espacio de Disse hacia la célula -- Kupffer, afectando la formación de la eritropoyetina cuando se aplica un estímulo apropiado como lo es la hipoxia (24).

Los niveles de eritropoyetina en un suero de pacientes con policitemia están muy bajos con respecto a los sujetos normales (25). Mientras que sus niveles en pacientes anémicos están relacionados al grado de anemia, así como a la actividad de la médula ósea eritroide (26).

Aparte de la eritropoyetina, existen otros varios agentes farmacológicos y hormonales que tienen una clara acción eritropoyética. En tal sentido, han demostrado estimular la eritropo-

yesis la angiotensina, la noradrenalina, la testosterona, andrógenos anabólicos, la ACTH, los glucocorticoides suprarrenales, especialmente la dexametasona, las hormonas tiroideas, la prolactina, la somatotrofina, la vasopresina, la 5-hidroxitriptamina y las prostaglandinas  $PGE_1$   $PGE_2$ . En la actualidad no se cuenta con eritropoyetina para la utilización terapéutica, por lo tanto los agentes mencionados adquieren un valor - potencial importante en el tratamiento de anemias refractarias a toda terapéutica: anemias aplásticas o hipoplásticas congénitas o adquiridas, anemias por infección, por endocrinopatías, por insuficiencia renal y otras. Por esa razón, la determinación de los mecanismos de acción de los agentes hormonales reviste importancia experimental. En general los agentes hormo-- nales actúan de las siguientes maneras: a) Estímulo de la producción de eritropoyetina por disminución del flujo sanguíneo renal; agentes vasoactivos como la angiotensina, la noradrenalina, la 5-hidroxitriptamina, y la vasopresina, actúan por este mecanismo a raíz de la hipoxia renal que provocan. b) Estímulo de la producción de eritropoyetina renal, por otros mecanismos: de esta manera actúan los glucocorticoides y la ACTH (posiblemente a través del incremento metabólico y aumento de la demanda de oxígeno), la testosterona los andrógenos anabólicos, las hormonas tiroideas (posible incremento del consumo renal de oxígeno), la prolactina y la somatotrofina. En todos estos casos la administración previa de anticuerpos a la eritropoyetina bloquea el estímulo eritropoyético. Las prostaglandas

dinas  $PGE_1$  y  $PGE_2$  estimulan la eritropoyesis de la misma manera. Estas hormonas, en general, estimulan la adenil ciclasa de las membranas celulares incrementando los niveles intracelulares de AMP cíclico. Se ha sugerido que el AMP cíclico estimula una kina sa específica, la que a su vez produce un incremento de la producción de eritrogenina o factor eritropoyético renal, que al pasar al plasma genera eritropoyetina activa. c) Acción directa sobre la médula ósea eritroide: se ha sugerido una acción directa, similar a la eritropoyetina, para la dexametasona, la somatotrofina, las hormonas tiroideas y los andrógenos en estudio in vitro de cultivo de células eritroblásticas. La acción eritropoyética directa de las hormonas tiroideas in vivo cuando los niveles de formas activas libres de tiroxina y triyodotironina se incrementan marcadamente en el plasma de ratas nefrectomizadas (27).

Altas concentraciones de hormona paratiroidea inhiben la eritropoyesis in vitro. La acción de esta hormona se lleva a cabo en la etapa de BFU-E y no afecta la etapa CFU-E. No se sabe con exactitud cual es el mecanismo por el cual la parathormona afecta la eritropoyesis, Perris y Whitefield reportaron una elevación de calcio por administración de la parathormona. Parece que la parathormona estimula el transporte de calcio en las células de mamíferos. Las alteraciones en el ingreso del calcio a las células eritroides tienen importantes efectos sobre la proliferación y diferenciación celular. Por lo tanto es posible que la parathormona afecte la eritropoyesis a través de la estimulación



de la entrada de calcio a las células eritroides. Misiti y Spivak también encontraron que aumentando la concentración de calcio en el medio de cultivo, se suprime la proliferación de colonias eritroides. También se encontró que el efecto inhibitorio de la parathormona sobre la eritropoyesis puede ser contrarrestado por cantidades grandes de eritropoyetina. Levi y colaboradores reportaron 8 u/ml. de extracto paratiroideo inhibió la síntesis de RNA 2 u/ml. fue suficiente para inhibir la síntesis del grupo Hemo en los precursores eritroides de hígado de ratón (28).

Tramezzani y colaboradores demostraron que los cuerpos carótidos influyen en la eritropoyesis en el gato. Estos investigadores mostraron que si se extirpaban los cuerpos carótidos, disminuía el número de reticulocitos y el hematocrito. Y que inyectando homogeinado de cuerpos carótidos producía reticulocitosis. Pero Lugliani y colaboradores hicieron estudios en pacientes a los que les había quitado los cuerpos carótidos como tratamiento del asma y encontraron que solo hubo pequeños cambios en el hematocrito durante los tres años siguientes a la extirpación y algunos presentaron policitemia. Los resultados de estos estudios demuestran que en el hombre los cuerpos carótidos no influyen en la regulación de la eritropoyesis (29).

La aldosterona es otra hormona que influye en la eritropoyesis. Altas dosis de esta hormona aumentan la reabsorción de sodio en el riñón, esto aumenta el consumo de oxígeno y como la

formación de eritropoyetina depende de la demanda de oxígeno, se observa una elevación en los niveles de eritropoyetina. Por los estudios realizados se encontró que los receptores de los estímulos eritropoyéticos en el tejido del riñón pueden estar localizados en las células de los túbulos renales (30).

Halvorsen, Feldman y colaboradores reportaron que la gonadorelina es un estimulador potente para la secreción de eritropoyetina y por lo tanto inductor de eritropoyesis, pero su acción no es igual en todos los sujetos, esto es, que en algunos sujetos no hay aumentos de eritropoyetina cuando se les administró la gonadorelina, la razón o causa de este proceso no se conoce (31).

Wallner y Vautrin han demostrado que el suero de pacientes con enfermedad renal crónica inhiben la eritropoyesis en un sistema in vitro (32).

También las células cancerosas inhiben la eritropoyesis - (33). Las células adherentes de la médula ósea roja normalmente estimulan la eritropoyesis, pero suprimen a las progenitoras eritroides en pacientes con anemia crónica y pueden ser responsables en parte de su misma anemia (34).

La eritropoyesis ineficaz se identifica por los cambios en el volumen corpuscular medio (se encuentra aumentado en las anor

malidades nucleares y disminuído en las anormalidades citoplasmáticas), los niveles de bilirrubina se encuentran de normales a aumentados, y la enzima lactato deshidrogenasa plasmática se encuentra aumentada. El grado de proliferación eritroide lo proporciona la relación eritroide: granulocito (EG) de la médula ósea roja. Las mediciones ferrocinéticas proveen una cuantificación aún más exacta del número de precursores eritroides y son particularmente útiles cuando las anormalidades leucocíticas nulifican la relación EG (35).

## SINTESIS DE HEMOGLOBINA

Desde el punto de vista filogenético, la hemoglobina es un pigmento con estructura tetramérica, es decir esta formado por dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas o dímeros de globina (grupo protéico), cada una de las cuales se encuentra unida en su interior a un grupo prostético funcional, el hemo. La estructura tetramérica aporta enormes ventajas desde la perspectiva del transporte del oxígeno. El grupo hemo resulta de la unión de un átomo de hierro a una protoporfirina IX (que a su vez está constituida por cuatro anillos pirrólicos unidos por puentes meténicos); el hemo es el elemento auténticamente responsable del transporte del oxígeno. Las elevadas concentraciones a las que se encuentra la hemoglobina en el interior del hematíe son posibles gracias a su alta solubilidad. Esta propiedad se ve favorecida por la forma esférica de la molécula. Los cuatro grupos hemo están localizados en pequeñas depresiones en cada una de las cuatro cadenas polipeptídicas. El átomo de hierro ocupa la posición central en el plano del anillo de la porfirina y es hexacovalente; una de las valencias, perpendicular a dicho plano, se reserva para la unión con el oxígeno. La unión del hierro con el oxígeno es reversible siempre y cuando el átomo se mantenga en estado ferroso. La globina normal es un tetrapolipeptido formado a expensas de solo 17 aminoácidos diferentes. Existen diversos tipos de cadenas polipeptídicas normales que dan origen a las distintas variedades de hemoglobinas que difieren en el número y, algunas cambian en la secuencia de los --

aminoácidos que las constituyen. La globina tiene una estructura primaria (secuencia específica de aminoácidos), secundaria (enrollamiento en hélice de tipo alfa), terciaria (plegamientos espaciales) y cuaternaria (interrelación espacial específica y móvil de las cuatro cadenas polipeptídicas que constituyen el tetramero de hemoglobina). La superficie externa de la molécula tetramérica está recubierta por residuos hidrófilos, a lo que se debe en parte su elevada solubilidad en agua. Las zonas internas de la globina son ricas en aminoácidos hidrófobos, lo que contribuye a mantener un espacio no polar, que impide la penetración del agua y, por lo tanto, evita la oxidación del átomo de hierro. En su reacción con el oxígeno el átomo de hierro no se oxida, sino que permanece en estado ferroso, única forma en la que es útil desde el punto de vista del transporte del oxígeno. La estructura cuaternaria de la hemoglobina, mucho más lábil que las otras tres, se mantiene gracias a la formación de múltiples uniones (puentes de hidrógeno, interacciones no polares, etc.). La disposición de los monómeros de hemoglobina en el espacio es de tal naturaleza que las cadenas polipeptídicas distintas están en estrecho contacto, mientras que las iguales se encuentran mucho más distantes entre sí. (36).

La síntesis de hemoglobina es el proceso más importante de la eritropoyesis. Las hemoglobinas se han clasificado por su función biológica, genética y patrones de producción. Durante

las fases tempranas de la eritropoyesis se lleva a cabo la expresión de los genes característicos de las células eritroides, como antígenos de superficie y las enzimas necesarias para la síntesis del grupo hemo (37).

Las enzimas que sintetizan el hemo son: la aminolevulinato sintetasa (ALAS), aminolevulinato deshidratasa (ALAD), y la hemosintetasa. Se encuentran en el hígado fetal del 13° al 17° días de gestación (38).

La síntesis del grupo hemo, se inicia y llega a su máxima expresión en los precursores eritroides. Konijn y colaboradores demostraron que la absorción de hierro y la síntesis de ferritina son máxima durante la diferenciación de los precursores eritroides (Speyer y Fielding encontraron que la ferritina es un intermediario en la síntesis de hemoglobina). Después de cada división celular las dos células hijas incorporan hierro procedente de la ferritina. El número de células aumenta dentro de los primeros tres días de crecimiento. El hierro ferritínico participa en la síntesis de hemoglobina y la mayoría de este hierro proviene del hierro que había estado almacenado en forma de ferritina (39).

En los mamíferos, son cuatro los lugares eritropoyéticos que se vuelven activos durante el desarrollo embrionario. Estos

an en el saco vitelino (el cual es res-  
-eritropoyesis "primitiva"), el hígado, el bazo  
-en la médula ósea (que son los lugares de la eritropo-  
-yesis "definitiva". Estos lugares producen poblaciones eritroi-  
-des que difieren entre sí por sus características citológicas  
-así como también por el patrón de la síntesis hemoglobínica.  
-Las células originadas en el saco vitelino producen dos o más  
-hemoglobinas embrionarias diferentes. Lo mismo que todas las  
-otras hemoglobinas, las hemoglobinas embrionarias están com-  
-puestas de cuatro subunidades de globina, dos son alfa o pare-  
-cidas a las alfa y dos son parecidas a las beta. Estas subuni-  
-dades son en parte hemoglobinas exclusivamente embrionarias y  
-en parte mezclas con hemoglobinas fetal y adulta. En general,  
-la hemoglobina producida por los embriones esta compuesta úni-  
-camente de cadenas de globina embrionaria, de las cuales una es  
-parecida a la alfa y la otra parecida a la beta. Las hemoglobi-  
-nas embrionarias tienen mayor afinidad por el oxígeno que las  
-hemoglobinas adultas y similar a la de las hemoglobinas feta-  
-les. En consecuencia las hemoglobinas embrionarias y fetales  
-tienen la misma capacidad de saturación de oxígeno, esta carac-  
-terística facilita la unión del oxígeno a estas hemoglobinas a  
-través de la barrera placentar. La afinidad por el oxígeno de  
-las hemoglobinas fetales y adultas disminuye cuando el pH está  
-por debajo de 7.25, entonces la liberación de oxígeno de las he-  
-moglobinas fetal y adulta es estimulada por la acidosis tisular.

Esta propiedad se define como el "efecto Bohr" y es muy importante para la fisiología del intercambio  $\text{CO}_2/\text{O}_2$  (40).

**Función de la hemoglobina.**- El tetrámero de hemoglobina se halla en equilibrio entre dos configuraciones espaciales estables distintas entre sí: la configuración oxigenada (oxi-hemoglobina) y la desoxigenada o reducida (desoxihemoglobina). En la primera la afinidad por el oxígeno es grande, mientras que en la segunda es pequeña. Las estructuras cuaternarias intermedias entre una y otra configuración parecen muy inestables. La entrada del oxígeno en el interior de la molécula de hemoglobina desestabiliza a la configuración reducida, que tiende a pasar a la oxigenada, con la creación de nuevos puentes que incrementan la afinidad por el oxígeno de otras cadenas que aún no hayan reaccionado con él. Estos cambios de configuración son la base del denominado efecto heme-heme, responsable de la elevación progresiva en la afinidad por el oxígeno que experimenta la hemoglobina a medida que aumenta la  $\text{PO}_2$ . En definitiva, este efecto es el responsable de la característica forma *sinoide* de la curva de disociación de la hemoglobina, forma que presenta notables ventajas desde la perspectiva del transporte de oxígeno a los tejidos. La posición de esta curva con respecto al eje de las abscisas, expresada numéricamente por el parámetro llamado  $P_{50}$ , se modifica por una serie de factores, que de ese modo aumentan o disminuyen la liberación del oxígeno a nivel de los tejidos. Aumentos en la temperatura,



en la  $PCO_2$ , en la concentración intraeritrocitaria del metabolito 2,3-difosfoglicerato o en la tasa plasmática de hidrogeniones (pH) desplazan la curva de saturación hacia la derecha y, por lo tanto, mejoran la oferta histórica de oxígeno. El 2,3-difosfoglicerato estabiliza la configuración reducida de la hemoglobina al introducirse en su cavidad central y bloquear los movimientos relativos de las cadenas necesarias para que se lleve a cabo la transición a la forma oxigenada; por ello, el 2,3-difosfoglicerato disminuye la apetencia globular por el oxígeno y favorece su liberación en la periferia (1).

El 2,3-difosfoglicerato es un mediador de la función de la hemoglobina intracelular. En la mayor parte de las células rojas, el 2,3-DPG es el fosfato orgánico más abundante. En contraste, este compuesto está presente en cantidades micromolares en otros tejidos. La concentración de 2,3-DPG está determinada por el pH, cantidad de glicólisis y fosfato inorgánico, y la saturación de oxígeno en las células rojas. La función de la hemoglobina está determinada por las propiedades intrínsecas de la misma, así como por su interacción con cofactores intracelulares y se encuentra mediada por fosfatos orgánicos. La hemoglobina interviene también en el transporte del  $CO_2$  desde los tejidos a los alveolos pulmonares; al mismo tiempo actúa como sistema buffer al tamponar aproximadamente un 70% del  $CO_2$  total producido a nivel celular, sin que se produzcan variaciones simultáneas en el pH plasmático (41).

## FISIOLOGIA DEL ERITROCITO

La función del eritrocito es mediar al cambio de gases respiratorios, oxígeno y dióxido de carbono, entre los pulmones y los tejidos; esta función se lleva a cabo gracias a la hemoglobina que contienen (2).

El aire atmosférico es una mezcla gaseosa formada, esencialmente por oxígeno (21%), nitrógeno (77%) y gases nobles. A nivel del mar, con una presión parcial del oxígeno ( $PO_2$ ) es de 159 mmHg. Esta presión parcial disminuye progresivamente en el árbol respiratorio, el gas alveolar, la sangre arterial y los capilares, para alcanzar su nivel más bajo en las mitocondrias donde finalmente es consumido. Por debajo de una presión crítica de oxígeno de unos 2 mmHg cesan el metabolismo aerobio y la fosforilación oxidativa.

El mecanismo del transporte de oxígeno debe permitir, en el individuo normal, un consumo medio de 10 milimoles de oxígeno por minuto (unos 4ml/Kg de peso/min). En el individuo sano la cantidad total de oxígeno que la sangre aporte a los tejidos por minuto es una función del gasto cardíaco y del contenido arterial de oxígeno, el cual a su vez depende de la concentración de hemoglobina circulante y de su saturación. La cantidad total de oxígeno transportado excede con mucho a la que es liberada a los tejidos, ya que, en condiciones basales, sólo se consume un

25% aproximadamente del gas disponible. Como consecuencia del papel central de la hemoglobina que es la función de transporte del oxígeno a los tejidos es necesario que su cantidad permanezca dentro de unos estrechos límites; esto se consigue gracias a que el número de hematíes circulantes y la masa eritrocítica corporal total se mantienen constantes (2).

El oxígeno presente en los alvéolos pulmonares es transportado por la sangre a los tejidos en dos formas distintas. La mayor parte lo hace en combinación química reversible con la hemoglobina, y una pequeña cantidad lo hace en solución física en el plasma; esta última fracción está en relación con el coeficiente de solubilidad del gas y es directamente proporcional a la  $PO_2$ . La combinación química de la hemoglobina con el oxígeno constituye la base cuantitativa de su transporte en la sangre. Cuando está totalmente saturada, cada gramo de hemoglobina fija 1.34 ml. de oxígeno, por lo que la capacidad máxima de transporte de 100 ml. de sangre, con una concentración de hemoglobina de 15g/100 ml., es de unos 20.8 ml. de oxígeno. El oxígeno que se encuentra unido a la hemoglobina se expresa mediante el parámetro denominado saturación de oxígeno, resultado de la proporción entre la oxihemoglobina y la hemoglobina total (oxihemoglobina/hemoglobina total  $\times 100$ ). La relación entre la tensión de oxígeno y la saturación de la hemoglobina se describe por la curva de disociación de oxígeno (Fig. 3). Las características de esta curva están relacionadas en parte a las

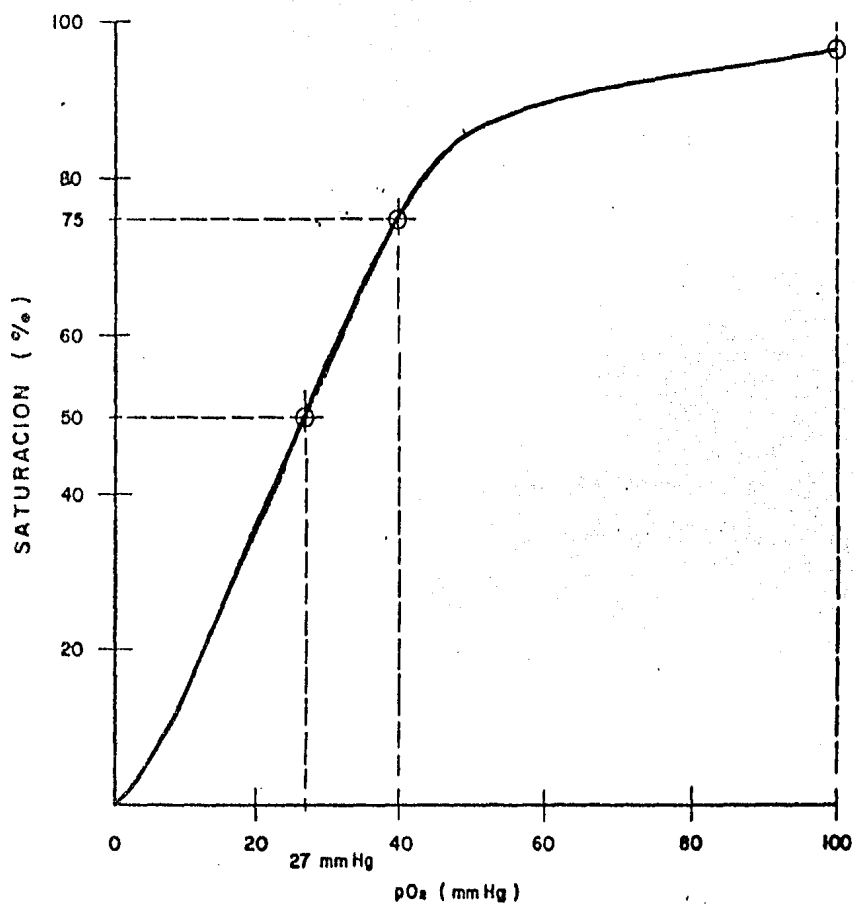


FIG. 3 CURVA DE DISOCIACION DE OXIGENO DE LA HEMOGLOBINA

propiedades de la hemoglobina y en parte al medio ambiente dentro del eritrocito, incluyendo pH, temperatura, fuerza iónica, y concentración de compuestos fosforilados, especialmente 2,3-difosfoglicerato (1).

La afinidad de la hemoglobina por el oxígeno se expresa por el parámetro llamado  $P_{50}$  que es la presión parcial de oxígeno a la cual la hemoglobina se encuentra saturada en un 50%. Cuando aumenta la afinidad por el oxígeno, la curva de disociación se desplaza hacia la izquierda, y el valor de  $P_{50}$  disminuye. Por el contrario, si la afinidad disminuye, la curva se desplaza a la derecha y aumenta la  $P_{50}$  (2).

Con la mioglobina la curva de disociación es hiperbólica, y la afinidad es mayor que en la hemoglobina. En contraste, la curva de disociación de la hemoglobina es sinoidal. Esta diferencia entre las curvas de disociación de la hemoglobina y mioglobina resulta de la interacción entre las cuatro unidades de polipéptidos de la hemoglobina. Este fenómeno es conocido como "interacción heme-heme". El cambio de la afinidad debido al pH se conoce como efecto Bohr. La afinidad se reduce cuando la acidez aumenta. El efecto Bohr es una manifestación del equilibrio ácido-base de la hemoglobina. La constante de disociación ( $p^k$ ) de la reacción  $\text{HHb} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{Hb}$  es 7.9, después de la oxigenación, la  $p^k$  disminuye a 6.7. Estos cambios son importantes no solo para la liberación de oxígeno, sino además

para el transporte de dióxido de carbono. Otro factor importante que afecta la afinidad de oxígeno es la concentración de compuestos fosforilados, especialmente 2,3-DPG. Los cambios en los niveles de 2,3-DPG juegan un papel importante en la adaptación a la hipoxia. En hipoxemia, los niveles de 2,3-DPG aumentan, se reduce la afinidad por el oxígeno y se facilita la entrega de oxígeno a los tejidos. No se conocen los factores que controlan los niveles de 2,3-DPG. Sin embargo, probablemente uno podría ser la velocidad de la glicólisis. La glicólisis se estimula por alcalosis y se deprime por acidosis, probablemente por el efecto del pH sobre la fosfofructocinasa. Así la alcalosis respiratoria aumentará la glicólisis y los niveles de 2,3-DPG.

El transporte de dióxido de carbono es diferente al del oxígeno. En soluciones acuosas, el dióxido de carbono realiza la siguiente reacción:



El dióxido de carbono difunde libremente hacia el eritrocito donde la enzima anhidrasa carbónica facilita la reacción. El  $\text{H}^+$  liberado es captado por la hemoglobina desoxigenada, proceso facilitado por el efecto Bohr. El bicarbonato difunde hacia

fuera y una parte se combina con  $\text{Cl}^-$  del plasma. Aproximadamente el 70% del dióxido de carbono es procesado en el camino. Del restante, el 5% es llevado en solución y 25% se liga a la hemoglobina desoxigenada, formando carbamino-hemoglobina (2).

Membrana citoplasmática del hematíe. — La membrana celular del hematíe desempeña dos funciones primordiales; en primer lugar, mantener la hemoglobina aislada en un medio interno globular independiente del plasmático y, en segundo lugar, permitir el paso del hematíe a través de espacios (capilares hísticos) de diámetro muchas veces inferior al del propio hematíe esta última función se consigue gracias a las propiedades viscoelásticas de la membrana. La membrana eritrocitaria está formada por una capa lipídica con islotes protéicos. La zona más externa de la membrana está constituida por glucoproteínas y es en ella donde se localizan los mucopolisacáridos integrantes de los grupos sanguíneos, además de otras proteínas adsorbidas desde el plasma y embebidas en esta capa externa. La capa media está formada por fosfolípidos, estabilizados por colesterol, tanto libre como esterificado, y orientados perpendicularmente a las capas protéicas. La función primordial de la membrana es mantener las características hidroelectrolíticas intracorpúsculares y se consigue gracias a su especial permeabilidad selectiva a los diferentes cationes, permeabilidad que es mantenida

por una bomba de sodio dependiente del ATP (1). La membrana del eritrocito regula la entrada y salida del calcio mediante una unión efectiva Ca-Mg-ATPasa. El calcio regula muchas funciones celulares, incluyendo la plasticidad de la membrana y muerte celular, el menor cambio en los niveles de calcio produce cambios importantes en las propiedades eritrocíticas. Los eritrocitos jóvenes tienen mayor capacidad de acumular calcio que los eritrocitos viejos. En la anemia los eritrocitos acumulan grandes cantidades de calcio en la membrana (42, 43).

La elasticidad de la membrana citoplasmática es, junto a la forma bicóncava característica del hematíe normal, el factor más importante responsable de su capacidad de deformabilidad. La forma se adquiere gracias a la especial relación entre la superficie de la membrana y el volumen globular; cuando dicha relación se pierde, se produce la balonización del hematíe y con ello desaparece en gran parte su poder de deformabilidad. Algo similar sucede cuando se altera la solubilidad o la estabilidad de la hemoglobina, que precipita y da lugar a la formación de cuerpos de inclusión intracorpusculares. La consecuencia final en ambos casos es la fragmentación, el atrapamiento y destrucción del hematíe a nivel del sistema reticuloendotelial (1).



## REQUERIMIENTOS ENERGETICOS

Las dos rutas metabólicas principales en el hematíe maduro son las que se refieren al metabolismo de la glucosa y al del glutati6n. La glucosa se metaboliza en el hematíe por dos vías: la glucólisis anaerobia de Embden-Meyerhof, en virtud de la cual una molécula de glucosa se transforma en dos moléculas de lactato, y la derivaci6n o ciclo de las pentosas-fosfato. El lactato formado en la glucólisis anaerobia no puede ser degradado en el ciclo de Krebs debido a la carencia de mitocondrias propia del hematíe maduro. El 90% de la glucosa consumida por el hematíe es a través de la vía glucolítica, mientras que el resto lo hace por el ciclo de las pentosas. El glutati6n es sintetizado por dos enzimas: la glutamilecisteína sintetasa y la glutati6n-sintetasa (44).

El ciclo de Embden-Meyerhof proporciona energía en forma de ATP; el balance neto es de dos moléculas por cada una de glucosa consumida. Pero además, la glucólisis anaerobia es fuente de origen de otros dos compuestos de vital importancia para el hematíe: el 2,3-difosfoglicerato y el NADH (nicotinamida-adenin-dinucleótido reducido (Fig. 4). El NADH es el cofactor principal de la metahemoglobina-reductasa, enzima encargada de mantener el átomo de hierro de la hemoglobina en estado ferroso o reducido. ( $\text{Fe}^{++}$ ). La vía de las pentosas es

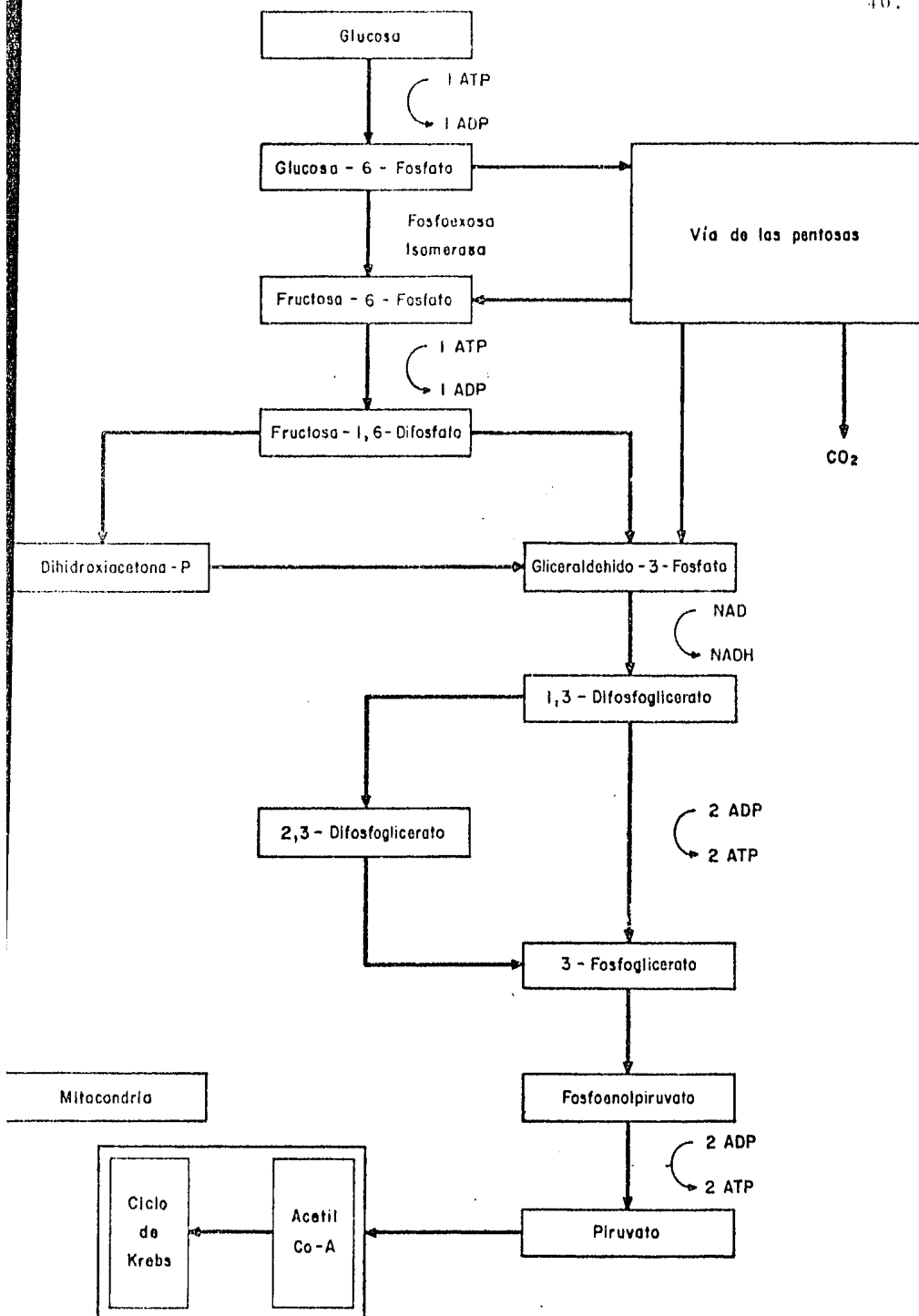


FIG. 4 METABOLISMO DE LA GLUCOSA EN EL HEMATIE MADURO

fuerza del metabolito NADPH (nicotinamida-adenín-dinucleótido-fosfato reducido), cofactor también del sistema enzimático de la metahemoglobin-reductasa, aunque de menor importancia que el anterior. El NADPH es además pieza clave para la reducción del glutatión en presencia de la enzima glutatión-reductasa, de la que el NADPH es cofactor. El glutatión reducido es imprescindible para que los grupos tioles de las proteínas (hemoglobinas, enzimas y membrana citoplasmática) se mantengan en forma reducida. La oxidación de los radicales sulfhidrilos conlleva la desnaturalización y precipitación protéica. La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PMD) es una enzima clave en la derivación de las pentosas fosfato, sistema generador del potencial reductor eritrocitario. Menos importante al respecto, desde un punto de vista clínico, es la 6-fosfogluconato-deshidrogenasa. Otros sistemas enzimáticos de importancia en el hematíe son el de la carbónico-anhidrasa, que facilita el paso del dióxido de carbono a ácido carbónico; el de la catalasa, que destruye al peróxido de hidrógeno, poderoso agente oxidante en continua formación en el interior del hematíe, la función de la colinesterasa, que se encuentra a elevadas concentraciones intracorporales, y no ha sido aún totalmente aclarada. La incapacidad del hematíe maduro para sintetizar proteínas obliga a que la totalidad de las enzimas requeridas para conservarse durante los 120 días que es su vida media se encuentran presentes en el eritrocito cuando éste es liberado al torrente circulatorio. Cuando esto no sucede así, tal y como ocurre en

determinadas situaciones patológicas, el hematíe es destruído antes de tiempo, lo que en definitiva es el origen de la anemia hemolítica. La proporción de hematíes que mueren diariamente es del 1% de la masa globular total; la totalidad de esta masa se renueva cada tres o cuatro meses (1).

## SITIOS DE DESTRUCCION

Al final de la vida del eritrocito suceden una serie de cambios en la membrana citoplasmática, reflejo de la incapacidad de los sistemas enzimáticos para mantener una actividad metabólica adecuada, que le convierten en un elemento susceptible de ser fagocitado por el sistema reticuloendotelial (hígado, médula ósea y sobre todo, bazo). Una pequeña tasa de esta destrucción ocurre dentro de los vasos (hemólisis intravascular normal), pero su trascendencia es escasa en el individuo sano (1).

Durante el envejecimiento del eritrocito la actividad de la glutatión peroxidasa (glutatión: hidrógeno-peróxido oxido reductasa) disminuye, en cambio la catalasa (peróxido de hidrógeno: peróxido-hidrógeno oxidorreductasa) no cambia su actividad (45).

Existen cinco posibles mecanismos de destrucción: (1) Fragmentación.—Pérdida de una parte de la membrana eritrocítica acompañada por pérdida de contenidos celulares, como la hemoglobina. (2) Lisis osmótica.—Entrada de agua a la célula aumentando su volumen ocasionando aberturas por las cuales puede pasar la hemoglobina y otras macromoléculas. (3) Eritro-fagocitosis.—Ingestión de células por macrófagos del sistema reticuloendotelial. (4) Citólisis por inducción de comple-

mento.--El complemento induce la lisis. (5) Desnaturalización de la hemoglobina.-- Se rompe en sus dos componentes: el heme y la globina. Esta última se desintegra en sus aminoácidos constituyentes, que pasan al "pool" general del organismo para ser posteriormente reutilizados. El anillo del heme se abre merced a la acción de la enzima hemo-oxigenasa y lo degrada a hierro, monóxido de carbono y un pigmento verde, conocido como biliverdina, gracias a la biliverdin-reductasa y NADPH ésta se convierte posteriormente en bilirrubina. Después de que es liberada de los sitios de catabolismo, la bilirrubina aparece en el plasma. El hierro liberado pasa al plasma unido a la transferrina, para ser nuevamente reutilizado para acumularse en los depósitos en forma de ferritina o de hemosiderina. Aproximadamente del 80 a 90% de la destrucción eritrocítica normal ocurre sin liberación de la hemoglobina. Porque la mayor parte de la destrucción es extravascular, probablemente dentro de los macrófagos del sistema reticuloendotelial. El grado de destrucción en el hígado y bazo depende del grado de daño de los eritrocitos, si el daño es severo su destrucción se llevará a cabo en el hígado, y si el daño es ligero entonces la destrucción será en el bazo. Solo del 10 al 20% de la destrucción es intravascular. Existen situaciones en las que la destrucción eritrocítica ocurre dentro de la circulación en lugar del sistema reticuloendotelial. Cuando esto sucede, la hemoglobina se descarga directamente en la circulación de la cual sale por varios mecanismos (2).

## C O N C L U S I O N E S

Cinética eritrocitaria es el estudio del origen del eritrocito, lugares donde se origina, células que le dan origen y la transformación que éstas sufren, la función que desempeña en el organismo y que es de vital importancia como lo es el transporte de gases respiratorios. También estudia las causas y los lugares de destrucción de los eritrocitos.

Durante la fase embrionaria y fetal, la eritropoyesis se lleva a cabo en el saco vitelino, el hígado y el bazo; después del nacimiento y hasta los cinco años se realiza en la médula ósea de casi todos los huesos y de los cinco años hasta la edad adulta la mayor parte de los eritrocitos se producen en la médula de huesos membranosos.

La reactivación de focos hematopoyéticos extramedulares en la vida adulta tiene lugar solamente en situaciones patológicas. En general la hematopoyesis extramedular está asociada con enfermedades en las que hay producción de uno o más tipos de células como la eritoblastosis fetal, anemia perniciosa, talasemia, esferocitosis hereditaria y varias leucemias.

Las células de la sangre y médula ósea provienen de un progenitor común llamado hemocitoblasto, célula primitiva pluri-potencial o célula tronco. Esta célula tronco tiene el poder de

autoperpetuarse, constituyendo un pequeño compartimento del que se derivan las células primitivas unipotenciales que darán origen a cada una de las diferentes series medulares. Se han identificado tres clases de progenitores eritroides: BFU-E (P-BFU-E) → BFU-E (M-BFU-E) y CFU - E que se diferencian por su morfología, número de colonias, curva de tiempo de crecimiento y sensibilidad a la eritropoyetina.

El precursor eritrocítico primeramente reconocible es el proeritroblasto, el cual pasa por los estadios de eritroblasto basófilo, eritroblasto policromatófilo, eritroblasto ortocromático, reticulocito y eritrocito maduro. Es durante la fase de eritroblasto basófilo cuando comienza a sintetizarse la hemoglobina. La síntesis de hemoglobina es lo que diferencia a las células eritroides de las restantes células del organismo.

La hemoglobina es un pigmento formado por cuatro cadenas polipeptídicas (globina), cada una de las cuales se encuentra unida en su interior a un grupo prostético funcional, el heme. El grupo heme resulta de la unión de un átomo de hierro a una protoporfirina, el heme es el elemento auténticamente responsable del transporte de oxígeno.

En el organismo existe un equilibrio entre la producción y destrucción de los hematíes, el cual se lleva a cabo mediante un mecanismo de regulación muy preciso. El factor modulador



principal de esta regulación es el grado de oxigenación de los tejidos. Cuando existe hipoxia, se produce la eritropoyetina, ésta es una hormona que induce la formación de células rojas.

Aparte de la eritropoyetina, existen otros agentes farmacológicos y hormonales que tienen acción eritropoyética. En tal sentido, han demostrado estimular la eritropoyesis: la angiotensina, la noradrenalina, la testosterona, andrógenos anabólicos, los glucocorticoides suprarrenales, las hormonas tiroideas, la prolactina, la vasopresina, la somatotrofina, las prostaglandinas  $PGE_1$  y  $PGE_2$ , la aldosterona y la paratiroidea.

La función del eritrocito es el transporte de oxígeno presente en los alveólos pulmonares hacia los tejidos y el bióxido de carbono de los tejidos hacia los alveólos pulmonares. El transporte de oxígeno se lleva a cabo gracias a la hemoglobina que contienen.

Al final de la vida del eritrocito suceden una serie de cambios en la membrana celular que le convierten en un elemento susceptible de ser fagocitado por el sistema reticuloendotelial.

Aún no se concluye la investigación de la homeostasis en

la cual, la cinética eritrocitaria juega un papel muy importante. Los conceptos aquí revisados continúan siendo objeto de revisión y de nuevas investigaciones.

Consideramos que esta revisión quedará incompleta si no continúa siendo revisada, con las nuevas aportaciones que día a día aparecen en la literatura científica médica.

Esta lectura permitirá al estudiante actualizarse en poco tiempo acerca del tema tratado.

Lograr lo anterior, así como despertar en el lector la inquietud por investigar más acerca del tema, nos hará sentir que alcanzamos el objetivo propuesto.

## B I B L I O G R A F I A

1. D. Espinós Pérez y W. Alvarez-Sala. Fisiología de la Serie Eritrocítica y Clasificación Etiopatogénica de las Anemias. MEDICINE. Primera Serie No. 7. Editada por Publicaciones Americanas de México, S.A. 1982.
2. M. Myer Wintrobe. Clinical Hematology. Seventh Edition. LEA & FEBIGER Philadelphia. Pags. 41-208.
3. W. Calvo, W.M. Ross, and T.M. Fliedner. Stimulation of Extramedullary Hemopoiesis by Dextran Sulfate. BLUT. 46: 39-45. 1983.
4. N. Williams, H. Jackson, P. Ralph, and Ilona Nakoinz Cell Interactions Influencing Murine Marrow Megakaryocytes: Nature of the Potentiator Cell in Bone Marrow. BLOOD. 57(1): 157-163. 1981.
5. C.A. Finch, L.A. Harker, and J.D. Cook. Kinetics of the Formed Elements of Human Blood. BLOOD. 50 (4): 699-706. 1977.
6. A.J. Erslev, Gabuzda Tg. Pathophysiology of blood. Philadelphia. W.B. Saunders Company, 2d. Edition. Pags. 20-35.
7. M. Tubiana and E. Frindel. Regulation of Pluripotent Stem Cell Proliferation and Differentiation: The Role of Long-Range Humoral Factors. Journal of Cellular Physiology Supplement 1: 33-21. 1982.

8. L.M. Hoffman and J. Ross. The Role of Heme in the Maturatio of Erythroblasts: The Effects of Inhibition of Pyridoxine Metabolism. BLOOD. 55(5): 762-771. 1980.
9. G.S. Kuncio and L. Goldstein. Small Nuclear RNAs in Cellular Growth and Differentiation. 1: Metabolic Alterations Seen in Friend Erythroleukemic Cells. Journal of Cellular Physiology. 109: 235-241. 1981.
10. C. Peschle, A.R. Migliaccio, G. Migliaccio, R. Ciccariello, F. Lettieri, S. Quattrin, G. Russo, and G. Mastroberardino. Identification and Characterization of Three Classe of Erythroid Progenitors in Human Fetal Liver. Blood. 58 (3): 565-572. 1981.
11. J.H. Fitchen, C. Le Fèvre, S. Ferrone, and M. J. Cline. Expression of Ia-Like and HLA-A,B Antigens on Human Multipotential Hematopoietic Progenitor Cells. Blood. 59 (1): 188-190. 1982.
12. G.R. Johnson, G.M. Keller, and N.A. Nicola. Differentiation and "Renewal" of Multipotential Cells In Vitro. Journal of Cellular Physiology Supplement 1: 23-30. 1982.
13. J.L. Ascensao, N.E. Kay, T. Earenflight-Engler, H.S. Koren and E. D. Zanjani. Production of Erythroid Potentiating Factor(s) by a Human Monocytic Cell Line. Blood. 57(1): 170-173. 1981.
14. K. Harigaya, E.P. Cronkite, M.E. Miller, and G. Moccia. Further Evidence of the In vivo Role of Erythropoietin or Companion Molecules Induced by Hypoxia on Proliferation and Continuing Differentiation of BFU-e in PCDC. Blood. 57 (2): 298-303. 1981.

15. A.W. Hamburger. Enhancement of Human Erythroid Progenitor Cell Growth by Media Conditioned by a Human T-Lymphocyte Line. *Blood*. 56 (4): 633-638. 1980.
16. B. Torok-Storb, P.J. Martin, and J.A. Hansen. Regulation of In Vitro Erythropoiesis by Normal T Cells: Evidence for Two T-Cell Subsets With Opposing Function. *Blood*. 58 (1): 171-174. 1981.
17. I.N. Rich and B. Kubanek. The Effect of Reduced Oxygen Tension on Colony Formation of Erythropoietic Cells in Vitro. *British Journal of Haematology*. 52: 579-588. 1982.
18. W.P. Hammond and D.C. Dale. Cyclic Hematopoiesis: Effects of Lithium on Colony-Forming Cells and Colony-Stimulation Activity in Grey Collie Dogs. *Blood*. 59 (1): 179-184. 1982.
19. J.M. Lipton, N.A. Link, J. Breard, P.L. Jackson. Monocytes Do Not Inhibit Peripheral Blood Erythroid Burst Forming Unit Colony Formation. *J. Clin. Invest.* 65 (1): 219-223. 1983.
20. P.A. Mora, J. Valle, A. Salvado, and D.G. Wright. Inhibition of Bone Marrow Myeloid Precursor Cell Proliferation by Chemotactic Oligopeptides. *Blood*. 59 (1): 185-187. 1982.
21. P.P.H. De Bruyn and S. Michelson. An Anionic Material at the Advancing Front of Blood Cells Entering the Bone Marrow Circulation. *Blood*. 57 (1): 152-156. 1981.
22. J. Espada, M. Dorado, N.C. Brandan, y L.M. Fernández. Estructura y Dosaje de Eritropoyetina. *Acta Physiol. Lat. Am.* 27(6): 357-358. 1977.
23. A.J. Sytkowski. Denaturation and Renaturation of Human Erythropoietin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 96(1): 143-149. 1980.

24. B.A. Naughton, P. Liu, G.A. Kolks, J.M. Arce, S.J. Piliere, and A.S. Gordon. Evidence for a Sexual Variation in Production of a Hepatic Erythropoietic Factor by Hepatectomized Rats. *A.M.J. Physiol.* 238(3): 245-252. 1980.
25. G. de Klerk, P.C.J. Rosengarten, R.J.W.M. Vet, and R. Goudsmit. Serum Erythropoietin (ESF) Titers in Polycythemia. *Blood.* 58 (6): 1171-1174. 1981.
26. G. de Klerk, P.C.J. Rosengarten, R.J.W.M. Vet, and R. Goudsmit. Serum Erythropoietin (ESF) Titers in Anemia. *Blood.* 58(6): 1164-1170. 1981.
27. L.A. Malgor. Influencias Hormonales sobre la Eritropoyesis. *Acta Physiol. Lat. Am.* 27 (6): 363. 1977.
28. D. Meytes, E. Bogin, A. Mr., P.P. Dukes and S.G. Massry. Effect of Parathyroid Hormone on Erythropoiesis. *J. Clin. Invest.* 67 (5): 1263-1269 . 1981.
29. R. Lugliani, B.J. Whipp, PH. D., B. Winter, K.R. Tanaka, and K. Wasserman. The Role of the Carotid in Erythropoiesis in Man. *The New England Journal of Medicine.* 285(20): 1112-1114. 1971.
30. J. Zivny, J. Neuwrit, and J. Borová. The Effect of Aldosterone on Erythropoietin Production and Erythropoiesis. *J. Lab. Clin. Med.* 80(2): 217-223. 1972.
31. T. Hashimoto, K. Miyai. Gonadorelin and Erythropoiesis. *Arch. Intern. Med.* 141(2): 267. 1981.
32. C. Alfrey, and S.A. Riggs. Erythropoietin-an Elusive Hormine. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine.* 97 (2): 141-143. 1981.

33. S. Zucker, R.M. Lysik, and J.F. Distefano. Cancer Inhibition of Erythropoiesis. *The Journal Clinical Medicine*. 96(5): 770-781. 1980.
34. G.D. Roodman, V.W. Horadam, and T. L. Wright. Inhibition of Erythroid Colony Formation by Autologous Bone Marrow Adherent Cells From Patients With the Anemia of Chronic Disease. *Blood*. 62(2): 406-412. 1983.
35. C.A. Finch. Erythropoiesis, Erythropoietin, and Iron. *Blood*. 60 (6): 1241-1246. 1982.
36. P.A. Marks and R.A. Rifkind. Protein Synthesis: Its Control in Erythropoiesis. *Science*. 175 (3): 955-961. 1972.
37. A.W. Nienhuis, and E.J. Benz. Regulation of Hemoglobin Synthesis During the Development of the Red Cell. *The New England Journal of Medicine*. 297 (24): 1318-1325. 1977.
38. R.I. Freshney, J. Paul and D. Conkie. Effect of Erythropoietin on Haemoglobin Synthesis and Haem Synthesizing Enzymes of Mouse Fetal Liver Cells in Culture. *J. Embriol. Exp. Morph.* 27(3): 525-532. 1972.
39. S. Ofer, E. Fibach, M. Kessel, E.R. Bauminger, S.G. Cohen, J. Eikelboom, and E.A. Rachmilewitz. *Blood*. 58(2): 255-262. 1981.
40. A. Fantoni, M.G. Farace, and R. Gambari. Embryonic Hemoglobins in Man and Other Mammals. *Blood*. 57(4): 623-631 1981.
41. H.F. Bunn. Evolution of Mammalian Hemoglobin Fuction. *Blood*. 58 (2): 189-196. 1981.

42. S.L. Schrier, M. Johnson, I. Junga, and J. Krueger. Calcium Distribution Within Human Erythrocytes. *Blood* 56(4): 667-677. 1980.
43. J. Misiti and J.L. Spivak. *The Journal of Clinical Investigation*. 64(6): 1573-1578 . 1979.
44. P.W. Majerus, M.J. Brauner, M.B. Smith, and V. Minnich. Glutathione Synthesis in Human Erythrocytes. *The Journal of Clinical Investigation*. 50: 1637-1643. 1971.
45. G. Bartost and A. Bartkowiak. Aging of the Erythrocyte. II. Activities of Peroxide-Detoxifying Enzymes. *Experientia*. 37: 722. 1981.