

Chapitre 4: Biochimie du sang

Fonctions du sang

Transport (gaz, substances alimentaires absorbées, produits de déchets du métabolisme inutiles voire toxiques).

Homéostasie et maintien d'équilibre (équilibre acidobasique, pH, concentration d'albumine et de glucose, la température et l'équilibre hydrique).

Immunité (système immunitaires: leucocytes)

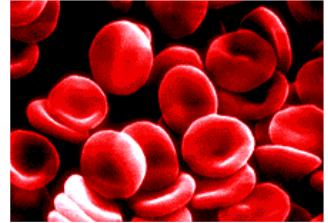
Protection (hémostasie et coagulation, solubilisation de caillots dangereux)

Le globule rouge

- L'érythrocyte aussi appelée hématie, ou plus communément globule rouge, fait partie des éléments figurés du sang.
- Le rôle des globules rouges est de véhiculer l'hémoglobine.
- Cellule anucléée, sans respiration cellulaire, sans possibilités de synthèse, le globule rouge ne possède que les éléments du métabolisme indispensables à ses fonctions essentielles, à savoir :
 - maintenir l'hémoglobine sous forme réduite ;
 - survivre en conservant des équilibres ioniques ainsi que l'intégrité structurale et les propriétés physiques de sa membrane

Aspect et morphologie

- Cellule **anucléée** en forme de **disque biconcave**
- Diamètre moyen: **7,5 μ m**
- Épaisseur **2 μ m**, surface **145 μ m²** (Région centrale : **0,8 μ m**, région périphérique : **2,6 μ m**); la plus apte à une fixation maximale.
- Durée de vie limitée **120 j** (car absence de renouvellement enzymatique).
- Le globule rouge peut être schématiquement représenté comme un **sac (= membrane)** contenant de l'hémoglobine et des enzymes (pour la protection de l'Hb et de la membrane contre l'oxydation).



Membrane érythrocytaire

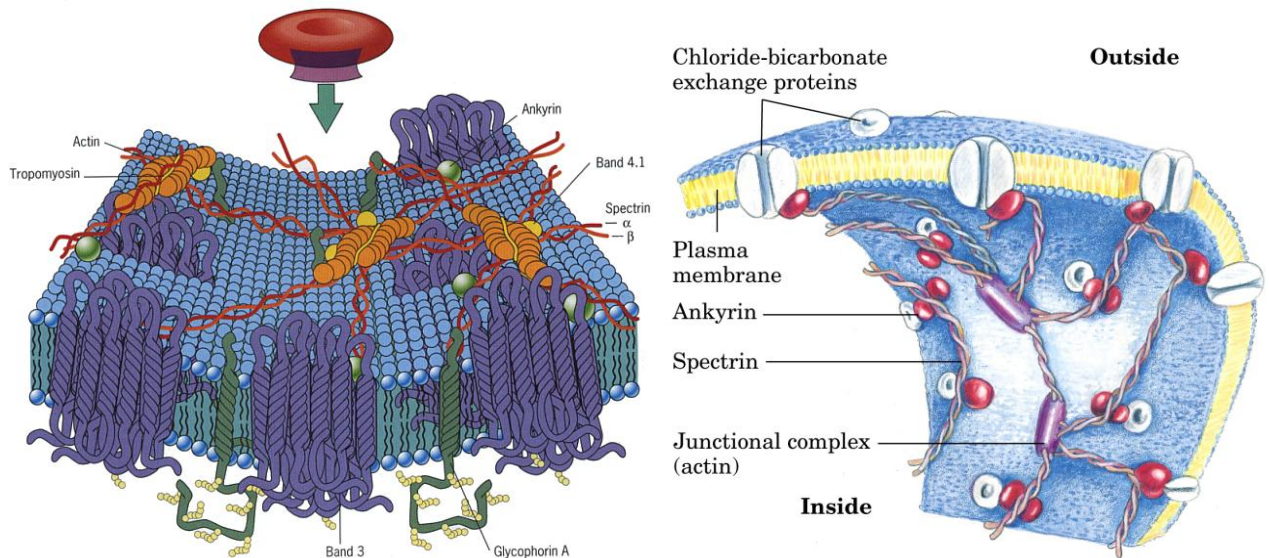
Aspect classique **trilaminaire** (deux couches opaques entourant une couche claire) en microscopie électronique, constituée de :

Lipides = 40% (65% de phospholipides, 23% de cholestérol, 12% d'acides gras),

Glucides = 8% (= la partie oligo-sacharridique des glycoprotéines et des glycolipides),

Protéines = 52%

- ✓ **Protéines extrinsèques transmembranaires** assurant la transmission des messages et des échange extra et intracellulaire
- ✓ **Protéines du cytosquelette** = maintien de la structure de la membrane (forme du GR) essentiellement la spectrine (alpha et bêta) et la protéine 4.1, l'actine et l'ankyrine



Développement du globule rouge

- Pendant la maturation dans la moelle osseuse, les précurseurs des érythrocytes perdent plusieurs organelles afin de faire de la place pour l'hémoglobine (**88%** du volume d'un érythrocyte).
- **L'érythrocyte** s'est développé à partir du **proérythroblaste** en passant par l'**érythroblaste** et le **normoblaste**.
- Le normoblaste expulse son noyau et devient **réticulocyte**, dernier stade avant l'érythrocyte donc anucléé (les restes de l'ARN dans le cytoplasme confère l'aspect réticulé au microscope optique).
- Cette expulsion arrête la synthèse d'hémoglobine.
- Le taux de réticulocytes dans le sang est de 5 à 10% et augmente en cas d'érythropoïèse accrue.
- Les réticulocytes achèvent leur maturation où ils évoluent vers des érythrocytes matures.
- Un érythrocyte ressemble à une cellule, mais sans noyau, ni organites, presque entièrement remplie d'hémoglobine.

Conséquence de la perte d'organelles

- La perte d'organelles a plusieurs conséquences; toutes les voies métaboliques dépendant de ces organelles manquent.
- Avec les mitochondries, il y a perte de la β -oxydation, du cycle de Krebs et de la chaîne respiratoire.
- La seule possibilité pour l'érythrocyte de gagner de l'énergie par lui-même est la glycolyse anaérobie, du glucose au lactate.
- L'oxygène transporté n'est donc pas utilisable par l'érythrocyte lui-même.

Métabolisme énergétique des érythrocytes

- Les érythrocytes reposent uniquement sur la glycolyse anaérobie pour le gain d'ATP.
- Les érythrocytes consomment tout ensemble environ 30g de glucose par jour.

Métabolisme et enzymes érythrocytaires

Les systèmes enzymatiques participent à la survie du GR et à sa fonction en fournissant l'énergie nécessaire. Le GR doit produire de l'énergie pour 2 objectifs principaux :

- Maintient de l'intégrité de la membrane (pour assurer le maintien de l'équilibre ionique par fonctionnement des pompes Na^+ , K^+ , ATPase qui nécessitent de l'ATP).
- La lutte contre l'oxydation: principalement de maintenir l'Hb sous sa forme active (réduite)
- La préservation du capital nucléotidique.

Métabolisme énergétique des érythrocytes

Voie d'EMBDEN-MEYERHOFF (la glycolyse)

C'est la voie principale (glycolyse anaérobie) de l'hématie qui dégrade **90%** du glucose jusqu'à l'acide lactique. Cette voie permet la formation de **l'ATP et de NADH/H⁺**.

- **L'ATP pour la Na⁺/K⁺ ATPase**

L'ATP est nécessaire aux érythrocytes surtout pour faire fonctionner la Na⁺/K⁺ ATPase et contrôler aussi leur concentration ionique interne.

- **L'ATP pour le renouvellement des lipides**

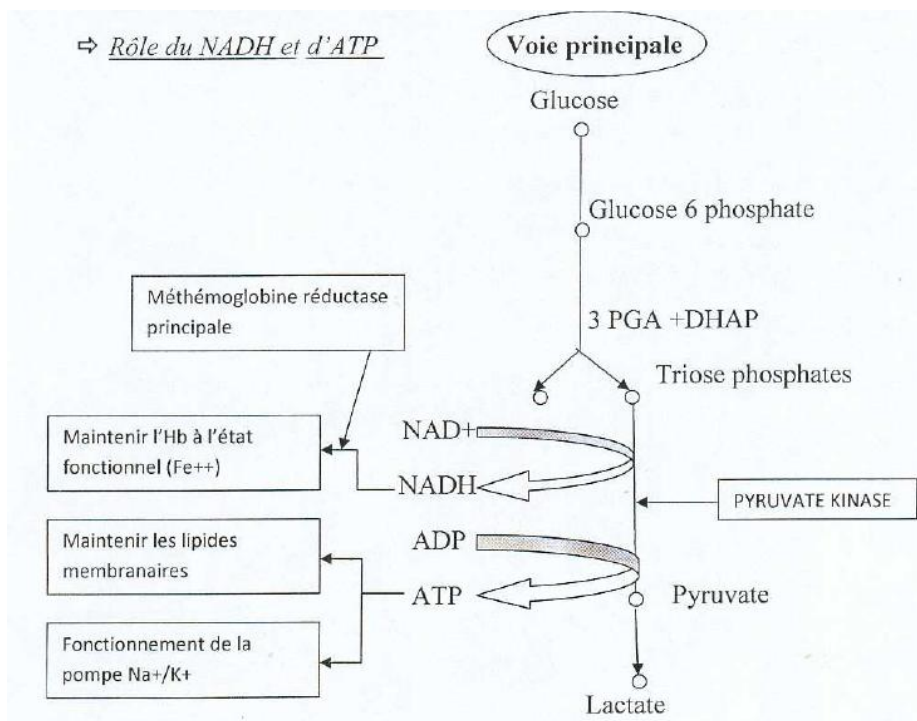
L'ATP est nécessaire à l'entrée des lipides plasmatiques qui seront échangés avec les lipides membranaires.

- **L'ATP pour le glutathion**

L'ATP est utilisée pour la synthèse du glutathion qui protège les érythrocytes contre l'oxydation (cf. plus loin)

- **L'ATP pour le fonctionnement de la glycolyse en début de chaîne**

- **Le NADH pour la réduction de la méthémoglobine** inactive en Hb fonctionnelle (système réducteur le plus efficace pour empêcher l'oxydation de l'Hb]

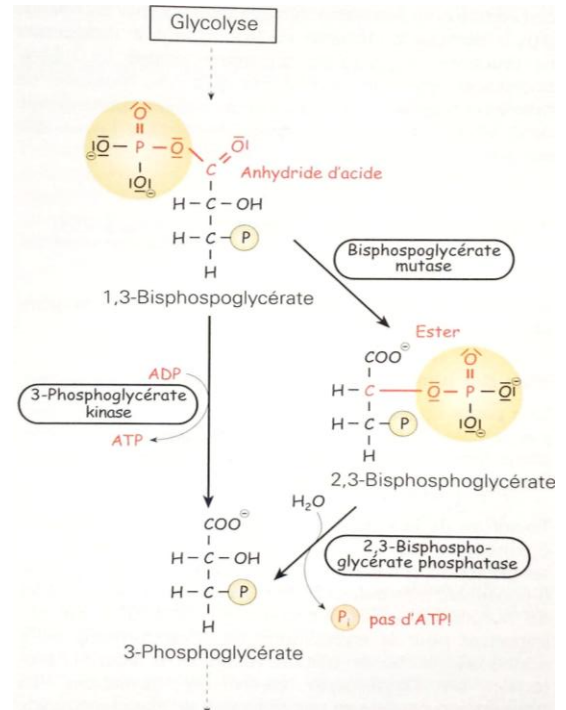


Métabolisme énergétique des érythrocytes

Shunt de RAOPRT- LUEBERING

L'érythrocyte a une voie métabolique particulière qui constitue un détour de la glycolyse par le **2,3-bisphosphoglycérate** (Shunt de 2,3-BPG ou shunt de RAOPRT- LUEBERING).

- La liaison anhydre riche en énergie du 1,3 bisphosphoglycérate est ici remplacée par une liaison ester moins riche en énergie du 2,3-bisphosphoglycérate, celle-ci ne permet pas la formation d'un ATP lors du passage au 3 PGA.



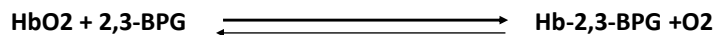
Métabolisme énergétique des érythrocytes

Rôle du 2,3-bisphosphoglycérate

Quel sens a donc ce détour si peu avantageux à première vue?

Effet sur l'hémoglobine

- Le 2,3-bisphosphoglycérate a une propriété particulière, il peut se lier à une molécule d'hémoglobine dépourvue d'oxygène (désoxyhémoglobine) et inhiber ainsi la liaison d'oxygène.
- Cette liaison sur les chaînes β de l'hémoglobine modifie la structure spatiale de l'hémoglobine dont l'affinité pour l'oxygène diminue, d'où il est relâché plus facilement (effet allostérique) au bénéfice du tissu.
- Comme le **2,3-BPG** ne peut se lier qu'à une molécule d'hémoglobine, on aura lors de concentrations élevées de 2,3-BPG la réaction suivante: Le 2,3-BPG agit en augmentant la stabilité de la forme désoxy de l'hémoglobine, induisant par conséquent le passage de la forme oxy à la forme désoxy avec libération d'oxygène.



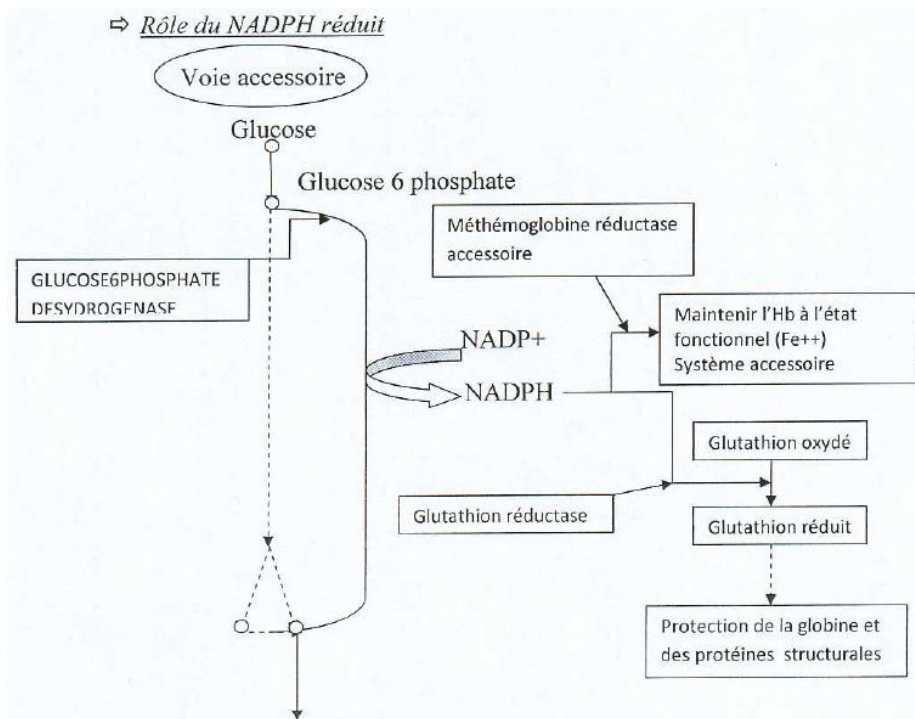
- L'équilibre est déplacé vers la droite: il y a plus d'oxygène libre et moins de désoxyhémoglobine.

Branché sur la voie principale, ce shunt assure une réserve en 2,3 diphosphoglycérate qui joue un rôle essentiel dans la fixation réversible de l'O₂ par l'Hb. C'est un important effecteur de la régulation de l'affinité de l'Hb pour l'O₂.

Métabolisme énergétique des érythrocytes

Voie des pentoses phosphates

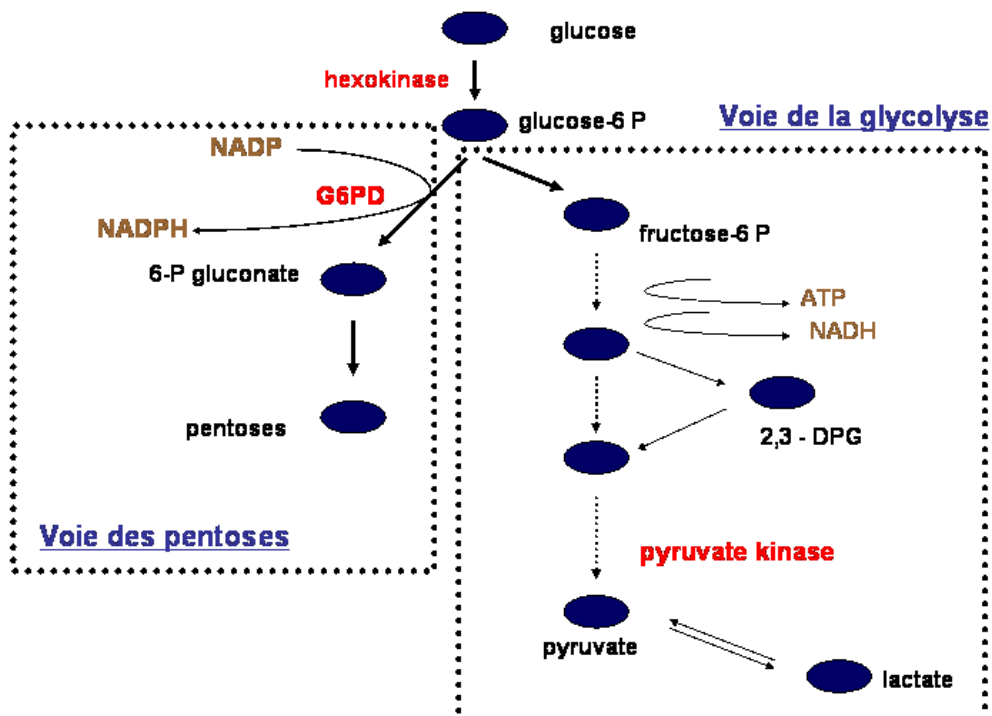
- La voie oxydative des hexoses monophosphates est la voie accessoire ou glycolyse aérobie où **10%** du glucose sont dégradés. Elle se branche sur la voie principale au niveau du **glucose 6 phosphate**.
- Le glucose est transformé en **trioses phosphates** par une chaîne de réactions où interviennent les **pentoses**.
- Dans l'érythrocyte, c'est la partie oxydative de la voie qui est importante, elle transforme le glucose-6-P en ribulose-5-P, car deux molécules de **NADPH/H+** sont produites.
- Le fonctionnement de **NADPH** dépend de celui de la 1ère enzyme de cette voie : **G6PD** (glucose 6 phosphate déshydrogénase).
- C'est la seule source de **NADPH** nécessaire au système d'oxydoréduction du glutathion érythrocytaire.
- Le NADPH/H+ est très important pour la régénération du glutathion qui fonctionne comme réducteur et assure la protection des érythrocytes contre l'oxydation.
- La régénération consiste en la réduction du glutathion oxydé « usagé » à l'aide du NADPH/H+.

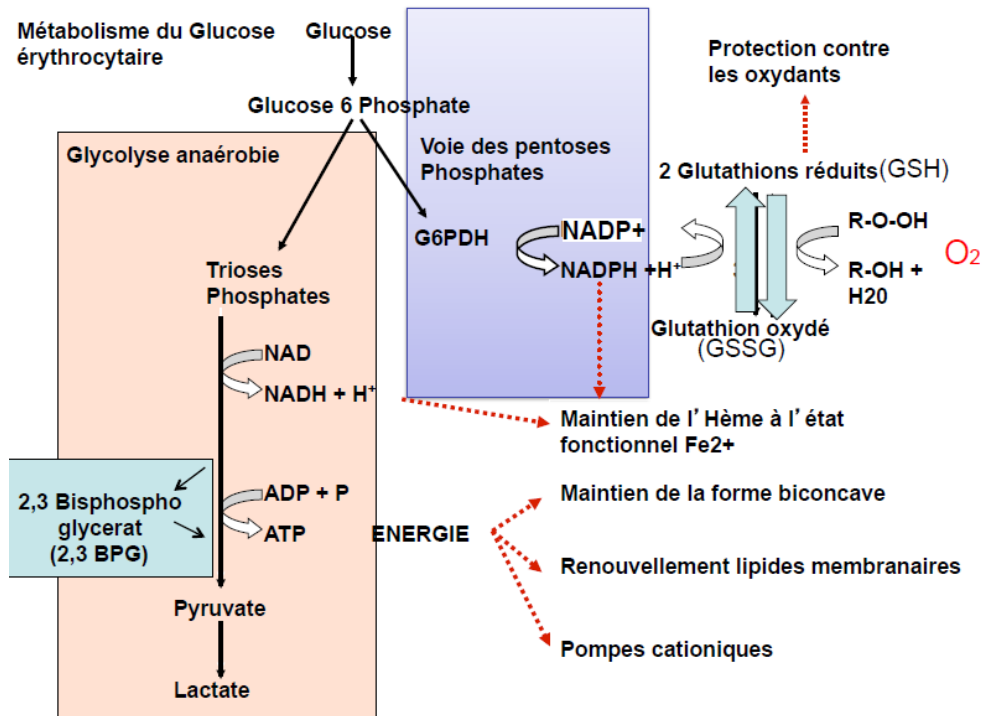


Métabolisme énergétique des érythrocytes

Voie des pentoses phosphate (particularité érythrocytaire)

- Dans la suite de la voie des pentoses phosphate, il y a une petite différence dans les érythrocytes par rapport aux autres cellules: le ribose-5-phosphate n'est pas utilisé en partie pour la synthèse des nucléotides puriques et pyrimidiques car l'érythrocyte ne peut pas synthétiser des acides nucléiques .
- À la fin de la voie des pentoses phosphate, l'érythrocyte peut avoir recours à une astuce:
- Si son besoin au NADPH/H⁺ est élevé, le fructose-6-phosphate est converti en glucose-6-phosphate grâce à la **glucose-6-phosphate isomérase**. Le glucose-6-phosphate peut à nouveau emprunter la voie des pentoses phosphate pour permettre une nouvelle formation de NADPH/H⁺ (ainsi se déroule un cycle continu de formation de NADPH/H⁺).
- Si par contre il y a suffisamment de NADPH/H⁺ disponible et un besoin élevé en ATP, le fructose-6-phosphate est engagé dans la glycolyse.





Systèmes d'oxydoréduction

1- Voie d'OXYDO-REDUCTION du glutathion

L'érythrocyte a besoin de NADPH/H⁺ pour réduire le glutathion oxydé. Pourquoi?

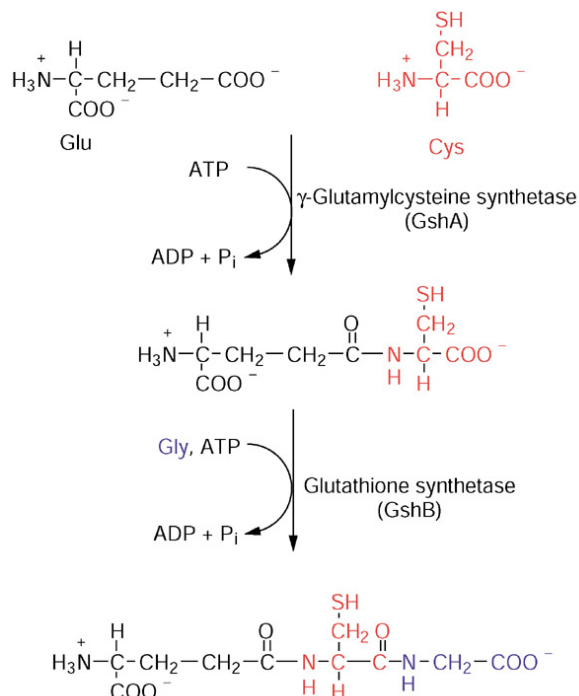
- Le glutathion est un réducteur (protection contre les oxydations dans l'érythrocyte comme dans le reste de l'organisme).
- Il protège donc la membrane (lipides membranaires) de l'érythrocyte, ses enzymes et l'hémoglobine contre les processus oxydatifs.
- En présence d'agents oxydants, le glutathion réduit se transforme en glutathion **oxydé** qui est rapidement **expulsé** du GR. Pour maintenir une quantité suffisante dans la cellule, il faut assurer la réduction d'une certaine quantité de glutathion oxydé par l'action de glutathion réductase en présence de NADPH.
- Le glutathion réduit ainsi libéré sera à son tour utilisé comme substrat de la glutathion peroxydase en vue d'éliminer les peroxydes d'hydrogène présents dans la cellule.

Systèmes d'oxydoréduction

1- Voie d'OXYDO-REDUCTION du glutathion

Structure et biosynthèse

- Le glutathion (**γ -Glutamyl-cystéinyl-glycine**) est un tripeptide atypique constitué de 3 acides aminés (glutamate, cystéine et glycine) dont les deux premiers sont liés par une liaison peptidique particulière entre le groupement carboxyl en γ du Glu et le groupement amine de la cystéine.
- Il est synthétisé en dehors des ribosomes (les trois acides aminés sont liés dans le cytoplasme en utilisant l'ATP), pour cette raison ce peptide peut être produit dans l'érythrocyte malgré l'absence du noyau et des ribosomes.

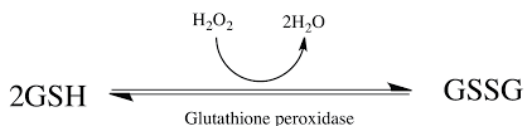


Systèmes d'oxydoréduction

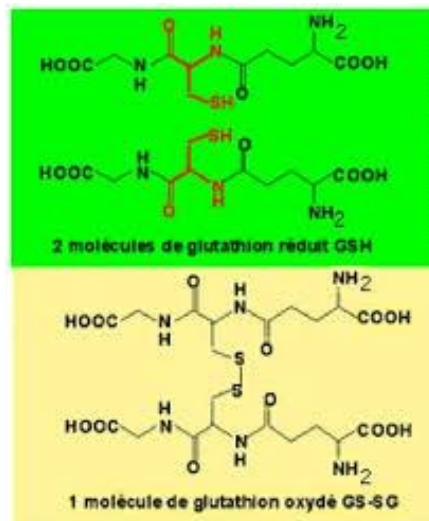
1- Voie d'OXYDO-REDUCTION du glutathion

Rôles et mode d'action du glutathion

Le glutathion est un réducteur grâce à son groupement thiol (cystéine), deux molécules de glutathion peuvent céder deux électrons sous forme de deux atomes d'hydrogène qui peuvent être cédés à une substance oxydée pour la régénérer. Il se forme un dimère oxydé du glutathion avec un pont disulfure liant les deux tripeptides grâce à la **glutathion peroxydase**.



Nomenclature: le glutathion tout court (le monomère) évoque le **glutathion réduit**, le dimère est appelé **glutathion oxydé** ou **glutathion disulfure**

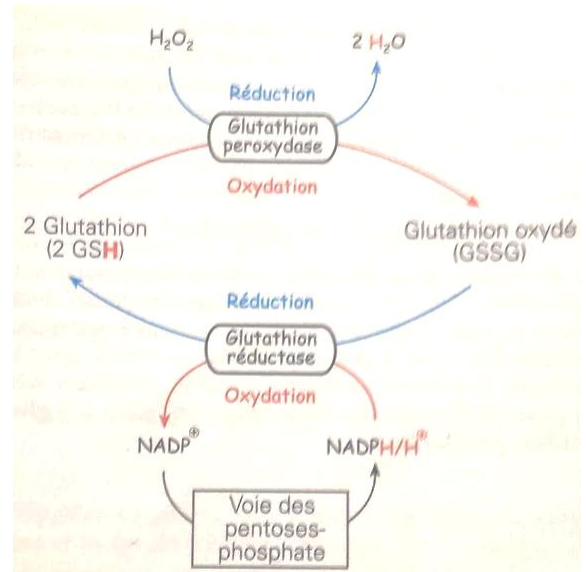


Systèmes d'oxydoréduction

1- Voie d'OXYDO-REDUCTION du glutathion

Régénération du glutathion

Elle s'effectue grâce à la **glutathion réductase** qui utilise comme coenzyme le NADPH/H^+

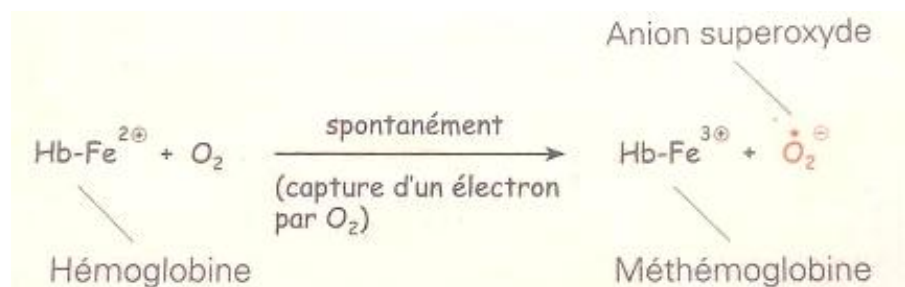


Systèmes d'oxydoréduction

Formation des radicaux libres de l'oxygène:

L'érythrocyte est particulièrement menacé car il doit transporter l'oxygène et se trouve par conséquent en permanence exposé (il devrait recevoir pour cela une prime!).

- Des radicaux libres de l'oxygène peuvent se former lors de l'oxydation spontanée de l'hémoglobine (à Fe^{2+}) en méthémoglobine (à Fe^{3+}).

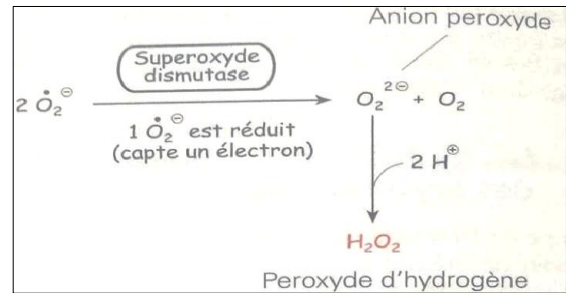


Systèmes d'oxydoréduction

Élimination des radicaux : formation de H₂O₂

Les radicaux superoxyde réagissent pour former H₂O₂ grâce à la **superoxyde dismutase**.

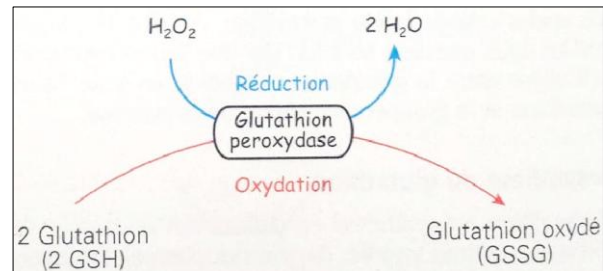
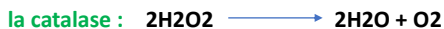
Les protons de la deuxième réaction se trouvent dans le cytoplasme à pH physiologique (réactions en face).



Élimination des radicaux de H₂O₂

Ici se termine le cycle. Le H₂O₂ peut être décomposé par la glutathion peroxydase (réaction décrite précédemment).

Le H₂O₂ peut être aussi décomposé par une autre enzyme:



Systèmes d'oxydoréduction

Glutathion peroxydase et catalase

Les deux enzymes sont responsables de la même tâche : **élimination de H₂O₂**, mais il existe une différence décisive entre les deux réactions : **le donneur d'hydrogène**.

Pour former 2 H₂O à partir de H₂O₂, on a besoin d'hydrogène (H₂).

- Dans le cas de la catalase, une deuxième molécule d'H₂O₂ est nécessaire et il se forme une molécule d'O₂.
- Par contre, dans le cas de la glutathion peroxydase, c'est le glutathion réduit qui l'hydrogène en se transformant en glutathion oxydé.

La glutathion peroxydase et la catalase ont une composition semblable : les deux enzymes ont le même coenzyme : l'hème. La glutathion peroxydase possède en plus du sélénium.

Systèmes d'oxydoréduction

Formation des radicaux libres hydroxyl

Si la glutathion peroxydase et la catalase ne désamorcent pas le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), il pourrait alors réagir avec le radical superoxyde :



Le radical libre hydroxyl formé est encore plus actif que le radical superoxyde. Il semble être le principal responsable des dégâts dus à l'oxygène.

Comment agissent les radicaux libres ?

Le radical libre hydroxyl lèse les acides gras et la double couche lipidique de la membrane des hématies. Il peut entraîner leur réticulation.

Avec le radical superoxyde et le peroxyde d'hydrogène, ils lèsent les acides aminés conduisant à une réticulation des chaînes peptidiques par l'établissement de pontages. Ceci peut altérer leurs fonctions et leur solubilité.

Protection des érythrocytes

Pour que ces conséquences leur soient épargnées, les hématies possèdent des molécules auxiliaires de défense récapitulées en :

- Le glutathion comme donneur d'hydrogène pour réductions protectrices contre les oxydations ;
- La glutathion réductase et le NADPH/ H^+ pour la régénération du glutathion réduit à partir du glutathion oxydé ;
- La superoxyde dismutase pour l'élimination des radicaux superoxyde ;
- La glutathion peroxydase et la catalase pour l'élimination du peroxyde d'hydrogène.

Systèmes d'oxydoréduction

2- Système de réduction de la méthémoglobine

La méthémoglobine est une hémoglobine oxydé inapte à transporter l'oxygène d'où la présence d'un système permettant sa réduction : système de la méthémoglobine réductase, constitué de deux type de méthémoglobine réductase :

- Méthémoglobine réductase à NADH ou NADH Diaphorase (NADH-cytochrome b5 réductase) : réduit d'abord le cytochrome b5 :67% de l'activité réductrice.
- Méthémoglobine réductase à NADPH : 5% de l'activité réductrice.

