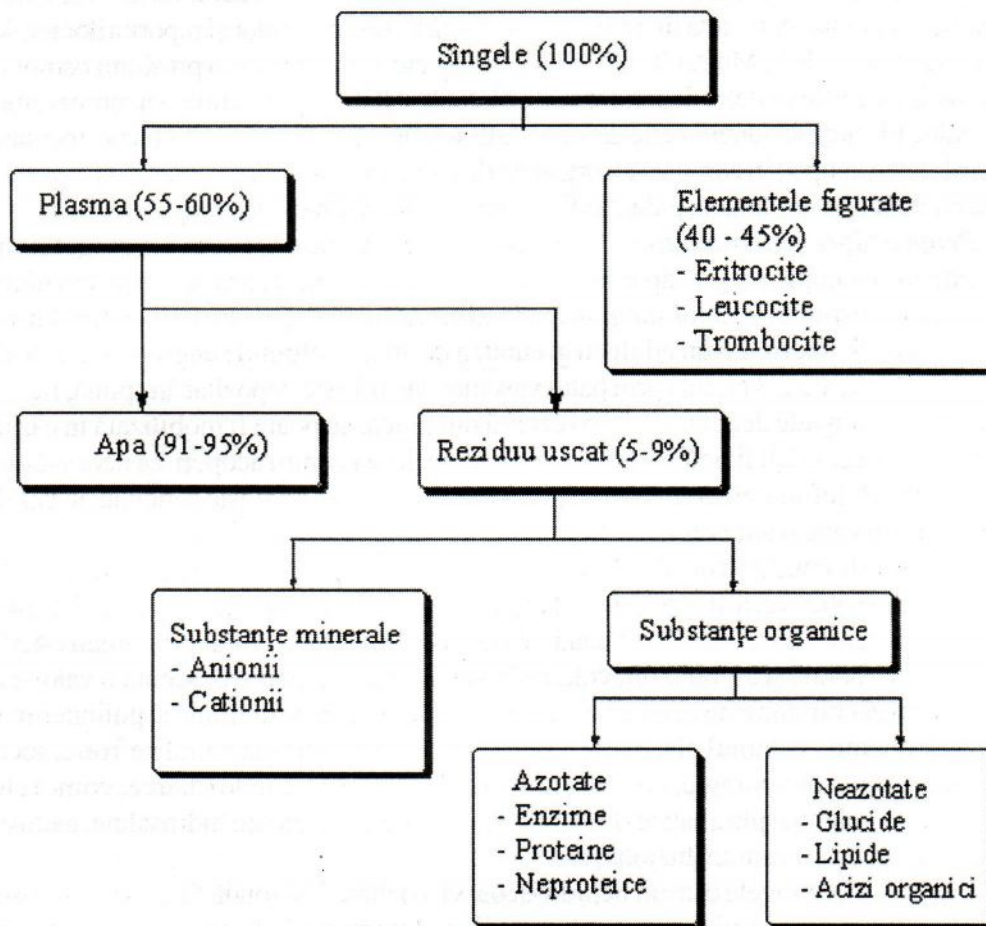


CAPITOLUL VIII. BIOCHIMIA SÎNGELUI ȘI A UNOR ȚESUTURI

Sîngele

Sîngele este unicul țesut lichid din organismul uman care se compune din faza lichidă – plasmă, și faza solidă – elemente figurate. Plasma prezintă o soluție apoasă de compuși minerali și proteide. Elementele figurate includ eritrocitele, leucocitele și trombocitele (schema 8.1).



Schema 8.1 Repartiția componentelor sanguine

Sîngele circulă continuu prin sistemul vascular, forța motrice a mișcării fiind pompa cardiacă. El asigură conexiunea umorală a țesuturilor și organelor.

Compoziția sîngelui reflectă metabolismul țesuturilor și organelor și, astfel, constituie substratul optim pentru efectuarea investigațiilor de laborator.

Funcțiile. În esență, funcțiile sîngelui pot fi rezumate la funcția de transport și cea de reglare homeostatică. Sîngele periferic asigură conexiunea dintre țesuturi și organe, ce se realizează prin racordarea proceselor metabolice, schimbul de substanțe și informație. Efectuînd transportul diversilor compuși, sîngele menține homeostazia organismului. Sîngele vehiculează oxigenul indispensabil oxidării biologice și CO_2 rezultat din oxidări: substanțele nutritive și produșii finali ai catabolismului, compușii ce intervin în reacțiile specifice și nespecifice de apărare. Astfel, funcțiile de transport au trei aspecte principale: respirator, nutritiv și de apărare.

Reglarea homeostaziei presupune menținerea echilibrelor fizico-chimice ale mediului intern (izoionia, izotonia, izotermia și echilibrul acido-bazic) și celui fluido-coagulant sanguin. Izoionia reprezintă menținerea constantă a concentrațiilor și raporturilor ionilor (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Cl^- , HCO_3^- , H_2PO_4^- etc.); izotonia – a presiunii osmotice a sîngelui, ce este în 85% dependentă de Na^+ , Cl^- , HCO_3^- ; izotermia – a temperaturii corpului. pH normal sanguin este de 7,35-7,45 și reflectă echilibrul acido-bazic, menținut de sistemele tampon în complex cu organele de eliminare (pulmonii, rinichii, ficatul etc.). Sistemele coagulant, anticoagulant și fibrinolitic reglează fluiditatea sanguină.

Proprietățile fizico-chimice. Volumul sanguin. Cantitatea totală a sîngelui din organism ce ocupă întregul aparatul cardiovascular (capilare, artere, vene, cavitățile cardiace) constituie *volumul sanguin total*. El constituie 5-7,5% din masa corpului sau 65-76,7 mL/kg/corp. La un adult cu greutatea de 70 kg volumul sanguin total este de 4,5-5,0 L, din care 2/3 circulă prin patul vascular, iar 1/3 este depozitat în splină, ficat și alte organe. Sîngele depozitat este o rezervă dinamică, ce poate fi mobilizată în caz de necesitate. În condiții fiziologice, la rezerve se apelează pentru acoperirea necesităților crescute în O_2 (efort fizic semnificativ, graviditate etc). Rezerva este solicitată în caz de hemoragii masive și alte condiții patologice.

Sîngele este constituit din două faze. Faza solidă – elementele figurate reprezintă 3% din masa corpului și cca 40-45% din volumul total al sîngelui; la bărbați variind între 42-52%, iar la femei între 37-47%. Faza lichidă – plasma – reprezintă aproximativ 4,5% din masa corporală și 55-60% din volumul total sanguin. Raportul procentual valoric al acestor două componente e numit *hematocrit*. El crește în deshidratări, policitemii și scade în anemii. Volumul plasmatic scade (*hipovolemie*) în sindromul nefrotic, șocul traumatic și posthemoragic, arsuri extinse, deshidratări profunde (diaree, vomă) etc. Creșteri ale volemiei plasmatice (*hipervolemie*) se atestă în retenții hidrosaline, inclusiv în graviditate; șoc posttransfuzional etc.

Vîscozitatea. Sîngele este un lichid vîscos, vîscozitatea lui totală fiind de 4-6 poises la 38°C. Ea cuprinde vîscozitatea hematiilor, determinată de eritrocite și plasma dependentă de proteinele respective, cu masa moleculară mare (globuline, fibrinogen). Vîscozitatea plasmei este de 1,6-2,1 poises la 38°C.

Vîscozitatea este puțin influențabilă de aportul alimentar de lichide. *Vîscozitatea totală a sîngelui* crește în policitemii și leucemii, datorită creșterii numărului elementelor figurate, iar în sferocitoză și anemia falciformă – grație sporirii rezistenței eritrocitelor. *Vîscozitatea plasmei* se majorează în hiperproteinemii, în special în hipergamaglobulinemii, și este scăzută în diverse forme de anemii.

Valori semnificativ mari ale vîscozității sanguine se înregistrează la nou-născuți, care scad treptat în primul an al vieții pînă la valorile caracteristice adultului. Deosebirea este condiționată de numărul mai mare de eritrocite în sîngele nou-născuților și al copiilor în primul an de viața (cca 6 mln).

Presiunea coloid-osmotică. Presiunea coloid-osmotică este cauzată de proteinele plasmei, ce reprezintă substanțe macromoleculare coloidale. 80% din presiunea coloid-osmotică este determinată de albumine și doar 20% de globuline. Fibrinogenul nu influențează această presiune. Valoarea normală este de 21-35 mm Hg datorită căreia este menținută faza lichidă a sîngelui în patul vascular. Ea scade în cazul hipoalbuminemiilor renale sau hepatice și, în consecință, lichidul părăsește patul vascular, condiționînd apariția edemelor.

Presiunea osmotică. Sîngele are o presiune osmotică (P_o) de 4,92-5,11 mm Hg (7,5-8,1 atm la 37°) și un punct crioscopic între -0,55°C și -0,60°C. Mai frecvent P_o este exprimată în miliosmoli (mosm). Osmolul este presiunea osmotică dezvoltată de un mol dizolvat într-un litru de apă (22,4 atm la 0°C). Miliosmoli reprezintă raportul concentrației în mg/L la masa atomică a elementului (de exemplu, 23 pentru Na) sau a compusului respectiv (de exemplu, 61 pentru HCO_3^- sau 63 pentru uree).

Plasma sanguină conține 290 mosm, ce sunt repartizați în modul următor:

Cationi (mosm/L)		Anioni (mosm/L)	
Na^+	141,0	Cl^-	104,0
K^+	4,5	HCO_3^-	27,0
Ca^{2+}	2,5	PO_4^{3-}	1,0
Mg^{2+}	1,5	Proteine	2,0
		Acizi organici	6,5
149,5 mosm/L		150,5 mosm/L	

Presiunea osmotică a sîngelui este dependentă de numărul particulelor. Dat fiind faptul că elementele figurate nu influențează presiunea osmotică, cea a sîngelui este practic egală cu a plasmei. Ionii Na^+ , HCO_3^- și Cl^- intervin în proporție de 85% în determinarea presiunii osmotice totale. Compușii organici, nedisociabili (ureea, glucoza etc.) au o contribuție relativ redusă în raport cu componenții ionizabili, la realizarea presiunii osmotice a plasmei. Această presiune osmotică acționează asupra fiecărei celule din plasma sanguină. Ea este echilibrată cu o presiune egală din interiorul celulei, ce previne deformarea ei. Dacă acest echilibru este perturbat prin modificări ale presiunii osmotice sanguine, are loc o alterare a structurii și funcțiilor celulare. Micșorarea presiunii osmotice sanguine duce la pătrunderea apei în interiorul eritrocitului și tumefierea acestuia pînă la hemoliză. Orice creștere a presiunii osmotice plasmatică duce la ieșirea apei din celulă și ratatinarea celulei. Izotonia sanguină apare astfel ca o reacție de apărare a organismului pentru menținerea funcțiilor celulare.

Densitatea sîngelui. Densitatea sîngelui total este cuprinsă între 1,050 și 1,060 la 15°C. Ea este mai mare la nou-născuți și variază în limite mai mari. Densitatea eritrocitelor constituie 1,080-1,093, iar a plasmei - 1,024 - 1,029.

pH-ul sîngelui. pH-ul sîngelui este în medie cuprins între valorile de 7,35-7,40. Sîngele venos este puțin mai acid – 7,35-7,45, deoarece vehiculează acizii proveniți din procesele metabolice (lactic, acetoacetic, β -hidroxi-butiric) și respirația tisulară (H_2CO_3). pH-ul sîngelui arterial este relativ mai alcalin – 7,38-7,46. Mici variații ale pH-ului se atestă în dependență de vîrstă. La copii pH-ul este 7,36-7,45 (la nou-născuți – pH= 7,27), pe cînd la vîrstnici devine mai acid. Limitele pH-ului compatibile cu viața sunt între 7,8 și 6,8.

Proteinele plasmaticе. Prezintă un amestec heterogen de componente proteice cu funcții și proprietăți diferite. Greutățile moleculare variază între 60-130 kDa. Unele dintre ele sunt holoproteine, altele sunt complexe cu glucide, lipide, metale. Într-un volum de sînge de 5,0 L și un hematorit de 40%, cei 3,0 L de plasmă conțin 180-240g de proteine, corespunzînd la 60-80g per litru.

Proteinele plasmaticе permanent se reînnoiesc și prezintă o serie de particularități referitor la metabolismul lor. Ele se află în schimb metabolic continuu cu proteinele tisulare. Sunt sintetizate preponderent în ficat și în țesutul macrofagal, și procesul este supus unei reglări riguroase.

Funcțiile. Sunt multiple și constau în următoarele:

- mențin volumul și presiunea coloid-osmotică a sîngelui, de altfel și schimburile dintre capilare și țesuturi. Preponderent, sunt răspunzătoare de această funcție albuminele;
- transportă vitamine, metale, hormoni, pigmenți, lipide, medicamente;
- participă la menținerea echilibrului acido-bazic al sîngelui;
- participă la sistemul de apărare nespecifică și specifică a organismului prin: properdină, lizozim, complement, proteina C reactivă, transferină, imunoglobuline;
- mențin echilibrul fluido-coagulant;
- determină microcirculația și vîscozitatea;
- reprezintă o rezervă proteică importantă în situații deficitare de aport proteic alimentar.

Principalele proteine. Imunoglobulinele și proteinele coagulării vor fi redată în capitolele respective. O importanță biologică deosebită au proteinele reglatoare – citokinele, mediatori endogeni care asigură o comunicare între celule (interleukinele, interferonii, factorul de necroză tumorală – $TNF\alpha$).

În continuare, vom prezenta proteinele plasmaticе de importanță clinică.

Albumina. Este o proteină majoră, reprezentînd 55-60% din totalul proteic plasmatic cu un nivel de 35-45 g/L. Are o greutate moleculară de 69 kDa și un T1/2 egală cu 17-27 zile. Serumalbumina este sintetizată în ficat, are un lanț polipeptidic compus din 580 aminoacizi. Are o construcție spațială deosebită ce-i permite o flexibilitate remarcabilă. Proteina menține presiunea coloid-osmotică a plasmei, intervenind în reglarea schimburilor între plasmă și lichidul interstițial. Albumina transportă o varietate de componente (acizi grași, pigmenți biliari, vitamine, hormoni, medicamente, ioni metalici). Simultan, albumina constituie o importantă sursă de aminoacizi esențiali utilizați în procesele de sinteză.

Scăderea presiunii coloid-osmotice prezintă un puternic stimul în sinteza hepatică de albumină. Hormonii glucocorticoizi și tiroidieni stimulează atât sinteza, cît și catabolismul proteinei. *Hipoalbuminemia* survine în stările patologice virale, în afecțiuni ale parenchimului hepatic în condițiile unei reduceri semnificative a numărului de hepatocite,

în afecțiuni renale și intestinale, în malnutriție și malabsorbție. Analbuminemia este o maladie genetică transmisă autosomal recesiv, manifestată la homoziгоți, cu simptome destul de pronunțate: edeme maleolare, hipotensiune arterială.

Glicoproteinele. Ele conțin proporții variate de glucide (3-30%) – hexoze, hexozamine, acid sialic, legate covalent cu lanțul polipeptidic. Aproximativ 10% din totalul proteinelor plasmatică revin inhibitorilor proteazelor cu rol de protecție. După fixarea inhibitorului de protează, complexul este recunoscut de receptorii celulari specifici, apoi captat și înlăturat din circulație.

Cei mai importanți inhibitori de proteaze fac parte din grupa *serpinelor* (serine proteaze inhibitors). Specificitatea lor este relativă: o anumită protează poate fi blocată de mai mulți inhibitori, afinitate determinată de anumite secvențe aminoacidice.

Alfa-1 antitripsina (α_1 -AT). Sinteza ei în ficat este stimulată de citokinele macrofagelor. Este o glicoproteină cu greutatea moleculară de 53 kDa și o concentrație în ser de 2-6 g/L. Posedă mai multe forme moleculare. Proteina este inhibitor natural al proteazelor, inhibând și chimotripsina, kalicreina, plasminele. α_1 -AT destul de ușor trece în interstițiu și poate proteja țesuturile de activitatea distructivă a proteazelor. Se consideră că fumatul și radicalul superoxid generat de neutrofile pot inactiva proteina prin oxidarea situsului reactiv. În procesele inflamatorii ale căilor respiratorii se eliberează *elastaza* din neutrofilele focarului inflamator. În mod normal proteaza este inhibată de α_1 -AT exudată în țesutul inflamator. În cazurile cu deficit de α_1 -AT elastaza va degrada proteolitic septele interalveolare și va duce implicit la apariția unui enfizem panlobular. Administrarea de α_1 -AT purificată din plasmă sau obținută prin inginerie genetică poate preveni sau stopa apariția bolii la subiecții cu deficit genetic. Deficitul ereditar (*Laurell-Eriksson*) de α_1 -antitripsină se transmite recesiv autosomal.

În această grupă de serpene se includ și: α_1 -*antichimotripsina*, α_2 -*antiplasmina*, *antitrombina III*, *inhibitorii activării plasminogenului (PAI-1, PAI-2, PAI-3)* ș. a.

Macroglobulina α_2 (α_2 -MG) sintetizată de ficat, macrofage și endotelii are o greutate moleculară de 735 kDa și o concentrație plasmatică de 200-300 mg/dL. Este un inhibitor cu un spectru larg de activitate, inhibând enzimele coagulării, plasmina, elastaza, collagenaza, catepsina 6. Proteina nu face parte din clasa serpinelor. α_2 -MG posedă și funcția de a lega majoritatea citokinelor, modulând activitatea lor proinflamatorie. Posedă α_2 -MG și efecte imunoreglatoare, intervenind în sinteza imunoglobulinelor. Efectuează și funcția de transport al insulinei, zincului și altor microelemente.

Deficitul este însoțit de sîngerări pasagere determinate de accelerarea fibrinolizei. Creșteri importante se constată în sindromul nefrotic, diabet zaharat, unde nivelurile α_2 -MG corelează cu prezența nefro- și retinopatiei.

α_1 -*glicoproteina acidă (α_1 -GA)* are o componentă glucidică de 42%. Este sintetizată în ficat și se află în plasmă în concentrație de 44-140 mg/dL. Proteina (*orosomucoid*) nu are specificitate, dar este un indicator important al procesului inflamator, revenind la normal după 2 săptămîni de la vindecare.

Componenta glucidică se fixează nespecific la suprafața unor bacterii, virusuri. De asemenea leagă o serie de medicamente – miorelaxantele, psihotropicele. I se atribuie și un rol de modulare a răspunsului imun, temperînd activarea neutrofilelor. Scăderi ale α_1 -

GA s-au semnalat în malnutriție, ciroza hepatică și sindromul nefrotic.

α_1 -fetoproteina se sintetizează în ficat și tractul intestinal. În hepatom concentrația plasmatică crește pînă la 2 mg/L (normal este de 10 ng/mL).

Proteina C reactivă (CPR) alcătuită din cinci subunități identice, asociate prin legături necovalente. Se sintetizează preponderent în ficat, unde este indusă de IL-6. În condiții normale are o concentrație serică sub 0,5 mg/dL, dar pe parcursul unui proces inflamator poate crește de sute de ori. Poartă denumirea de la afinitatea mare față de polizaharidul C al pneumococului. Poate lega și alte glicoproteide aflate în peretele numeroaselor bacterii, fungilor. CPR reprezintă un indicator important întru detectarea infecțiilor, inflamațiilor acute și cronice. Proteina crește și în inflamații nespecifice.

Haptoglobinele. Sunt o familie de glicoproteine sintetizate în ficat și capabile să lege hemoglobina (1 mol leagă 2 moli de Hb). Complexul este captat din circulație de către macrofage, prevenind o eventuală pierdere de fier pe calea urinară. Compuse din 4 lanțuri polipeptidice (2α și 2β), ultimele comune tuturor tipurilor de haptoglobine, au o concentrație serică de 300 mg/dL. Fenotipurile (10) de haptoglobine sunt folosite în studii de genetică a populației. Haptoglobinele sunt reactanți de fază acută, crescînd în infecții microbiene, arsuri, reacții alergice, leucemii, cancer. Scăderile se evidențiază în insuficiență hepatică, anemii hemolitice. T_{1/2} al haptoglobinelor este de 5 zile, dar sub forma de complex cu hemoglobina acest timp se reduce la 9-30 minute. Se depistează prin imunodifuzie radială.

Ceruloplasmina reprezintă o metalglicoproteină cu o mobilitate α_2 -globulinică. Conține molecula 0,30-0,32% Cu și are o greutate moleculară de 130-160 kDa. Cei opt atomi de Cu sunt transferați către citocromoxidază în decursul sintezei acesteia. Ceruloplasmina e implicată în metabolismul aminelor biogene, intervine în oxidarea Fe²⁺ la Fe³⁺. Sunt descrise mai multe fenotipuri de această proteină. Creșteri reactive nespecifice s-au depistat în procesele inflamatorii și maligne (*limfogramulomatoză malignă*). În *boala Wilson (degenerescența hepatolenticulară)* ficatul și nucleul lenticular din creier conțin cantități anormal de mari de Cu. Se excretă excesiv cu urina, în timp ce plasma conține o cantitate mică de Cu și de ceruloplasmină. Se observă și o absorbție intensivă de Cu în intestin. Depozitarea excesivă de cupru în ficat duce la ciroză, cu deteriorarea sintezei de ceruloplasmină sau a unui defect de încorporare a Cu în globulină și, în consecință, o cantitate mare de Cu liber se combină anormal cu proteinele din creier și ficat. Cuprul acumulat provoacă distrugerea celulelor (inelele *Kaiser-Fleischer* pe cornee). Depunerea poate fi redusă, și sporită eliminarea, prin urină cu ajutorul administrării unor substanțe chelatoare ca D-penicilamina. Poate fi dereglată și reabsorbția cuprului în duoden (*boala Menkes-tricopolidistrofia*), patologie legată de cromozomul X. Valoarea normală a ceruloplasminei în plasmă e de 2,0-3,4 μ mol/L (0,25-0,45 g/L).

Transferina prezintă o β -glicoproteină formată dintr-un lanț polipeptidic cu o masă moleculară de 86 kDa. Se cunosc mai multe forme moleculare ale transferinei genetic determinate. Cele mai cunoscute sunt tipurile B, D, C. Transferina poate fixa 2 atomi de Fe/moleculă (în mediul neutru). Sunt sintetizate preponderent în ficat, dar în cantități reduse și în splină, ganglioni limfatici și celulele epiteliale ale mucoasei intestinale (ileon).

Transferina fixează Fe ionizat de proveniență intestinală sau în organele de depozitare a metalului. În condiții fiziologice numai 1/3 din transferină este saturată cu Fe.

Nivelul *sideremiei* variază între 70-170 γ % pentru bărbați. Capacitatea de fixare a Fe de către transferină (IBC-iron Binding Capacity) corespunde cantității de Fe necesară pentru saturația ei (180-280 $\mu\text{g}\%$ pentru bărbați și 150-250 $\mu\text{g}\%$ pentru femei sau, respectiv, 32-50 $\mu\text{mol/L}$ și 27-45 $\mu\text{mol/L}$). Capacitatea totală de fixare a fierului (TIBC) se obține din suma valorii sideremiei și a IBC (300-400 și 250-350 $\mu\text{g}\%$ sau 54-72 și 45-63 $\mu\text{mol/L}$ la bărbați și femei). Se mai calculează și *coeficientul de saturație* din raportul sideremiei și a TIBC, egal cu 40% și 35% la bărbați și femei, respectiv (16-45).

Transferina este fixată de receptorii celulari specifici, care preiau Fe. În inflamații, macrofagele activate înglobează cantități majore de Fe cu transferină ce duce la o scădere a lor în ser. În anemiile feriprive, concomitent cu scăderea sideremiei se semnalează creșterea marcantă a transferinei. Valori normale: 50-70 $\mu\text{mol/L}$ (0,3-0,4 g/L).

Imunoglobulinele plasmatică, fiind glicoproteine, sunt sintetizate în plasmocite, reprezentând aproximativ 20% din totalul proteinelor plasmatică. Mai detaliat sunt redată în biochimia răspunsului imun.

ELEMENTELE FIGURATE – PARTICULARITĂȚILE COMPOZIȚIEI ȘI METABOLISMULUI

Celulele sanguine au fost studiate foarte intens din trei considerente:

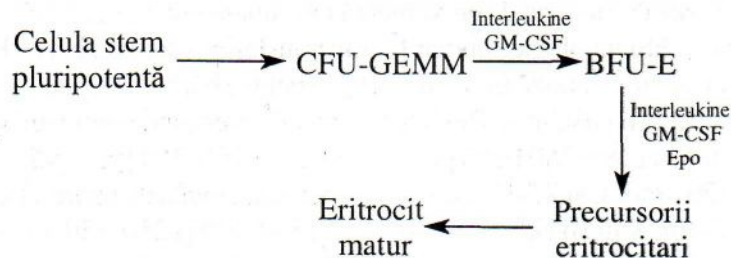
- a) Realizează funcție extrem de importante pentru întregul organism.
- b) Sunt implicate în variate stări patologice și afecțiuni.
- c) Pot fi ușor obținute în scopul cercetării și diagnosticului de laborator.

Eritrocitele exercită transportul gazelor și contribuie la menținerea echilibrului acido-bazic; leucocitele asigură protecția de organisme și corpi străini; trombocitele sunt esențiale în procesele hemostazei. Conștientizarea rolului celulelor sanguine pentru sănătate și în afecțiuni necesită cunoașterea proceselor biochimice fundamentale ce le caracterizează.

Particularitățile compoziției chimice și ale metabolismului eritrocitului.

Eritrocitele (hematiile) sau globulele roșii sanguine constituie cca 25 mlrd în volumul total de sânge sau 4-6 mln într-un mililitru ($4,0-6,0 \times 10^{12}/\text{L}$). Durata vieții lor este cuprinsă între 110-130 zile, fiind produse cu un debit de 2,4 mln/sec. Eritrocitele mature au forma unui disc biconcav cu diametrul de 7,2-7,9 μm și grosimea de 1,0-2,2 μm .

Mecanismele biochimice ale maturăției eritrocitelor. Eritrocitele sunt produse prin eritropoieză medulară din celula-stem. Procesul este reglat de *eritropoietină*. Eritropoietina umană este o glicoproteină formată din 166 resturi de aminoacizi cu masa moleculară de 34 kDa. Ea este produsă preponderent de rinichi, ce o elimină în circuitul sanguin sub influența hipoxiei. În medula osoasă eritropoietina interacționează cu receptorii specifici de pe membrana precursorilor imaturi ai eritrocitelor – BFU-E (burst-forming unit-erythroid) și CFU-E (colony-forming unit-erythroid), stimulând proliferarea și diferențierea lor. Aceste efecte sunt exercitate doar în complex cu interleukina-3, factorul de creștere insulenic, G-CSF și GM-CSF (granulocyte- and granulocyte-macrophage colony-stimulating factors, respectiv), conform schemei 8.2.

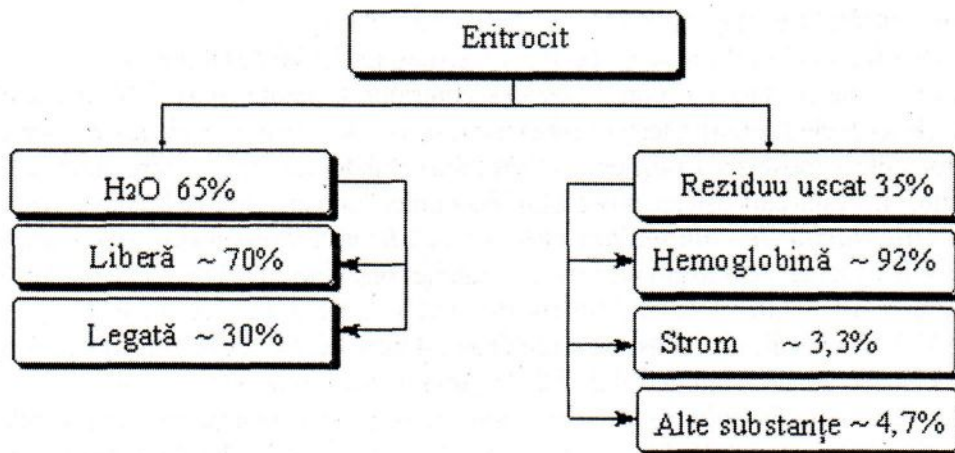


Schema 8.2 Precursorii eritrocitari și mecanismele de reglare (Epo - eritropoietina)

Precursorii eritrocitelor mature sunt celule nucleate și metabolic active. În aproximativ 24 ore după intrarea în circuitul sanguin celulele pierd majoritatea structurilor intracelulare (nucleul, ribozomii, mitocondriile etc.) și numeroase procese metabolice asociate cu ele.

Primar, un inhibitor proteic specific reduce procesele de respirație tisulară prin inhibarea succinat dehidrogenazei, NADH-citocrom reductazei și citocromoxidazei. Paralel, se diminuează activitatea glicolizei, redirecționată spre calea anaerobă. Procesele respiratorii sunt reduse la 1/50 din valoarea corespunzătoare formelor imature. Cantitatea ATP-ului se înjumătățește, ceea ce diminuează semnificativ procesele biosintetice energodependente. Dispare sinteza proteinelor și a diferitelor tipuri de RNA.

Compoziția chimică a eritrocitelor (schema de mai jos)



Compoziția minerală a eritrocitelor este dependentă de specie. La om ele conțin:

- potasiu (K^+) - 125 mEq/L sau 4,8 g/L
- sodiu (Na^+) - 20 mEq/L sau 0,46 g/L
- calciu (Ca^{2+}) - 1,2 mEq/L sau 0,025 g/L
- clor (Cl^-) - 60 mEq/L sau 1,8-2,4 g/L
- bicarbonat (HCO_3^-) - 15 mEq/L
- fosfați anorganici ($H_2PO_4^-$; HPO_4^{2-}) - 1,1 mEq/L sau 0,035 g/L

Cu excepția potasiului, cantitatea celorlalți compuși este mai mică decât nivelul plasmatic. Deosebit de mari sunt diferențele între concentrațiile eritrocitare și plasmatică ale Na^+ / K^+ , menținute prin activitatea Na^+ / K^+ -ATPazei.

Substanțele organice sunt reprezentate în majoritate prin hemoglobină, concentrația ei fiziologică constituind în medie 32 pg, cu variații extreme de 27-34 pg ($1 \text{ pg} = 10^{-12} \text{ g}$) per eritrocit, ce corespunde a circa 28 milioane molecule Hb (120-150 g/L).

În eritrocitele adulților predomină cantitativ HbA_2 (α_2 și β_2), HbA_1 ($\alpha_2\delta_2$), constituind cca 2,5 % din concentrația totală, iar HbF ($\alpha_2\gamma_2$) se conține în cantități infime. În eritrocitele senescente apare HbA_3 , care este o formă îmbătrînită a hemoglobinei.

Proteinele nehemoglobinice de referință sunt localizate în citozol, stromă sau membrana celulei. Din membrană pot fi separate cca 10 proteine inedite, majoritatea fiind glicoproteine. Principalele proteine integrale membranare sunt AEP (*Anion Exchange Protein*) și glicoforinele. AEP străbate membrana de cca 10 ori, formînd un tunel ce asigură schimbul ionilor de clor și bicarbonat. Bioxidul de carbon ce rezultă din procesele oxidative celulare pătrunde în eritrocit în formă de ion carbonat, iar în pulmonii este eliberat în schimbul clorului. Capătul N-terminal al AEP fixează alte proteine, cum ar fi hemoglobina, ankirina, unele enzime glicolitice etc. Glicoforinele (A, B și C) străbat membrana doar o singură dată. *Glicoforina A*, forma majoră, conține 131 resturi de aminoacizi și este extrem de glicozilată. Capătul N-terminal, ce conține 16 catene oligozaharidice, se află pe suprafața externă a membranei și, datorită polimorfismului determină tipul MN al grupelor sanguine. Capătul C-terminal se extinde în citoplasmă și fixează proteina 4.1, atașată la spectrină.

Spectrina (α și β), *ankirina*, *adducina*, *actina*, *tropomiozina* și celelalte proteine periferice contribuie la menținerea formei și flexibilității eritrocitelor. Ele formează citoscheletul celulei. Principala proteină a citoscheletului este *spectrina*. Ea este formată din două lanțuri polipeptidice – α și β . În catene alternează segmente α -helicoidale și secvențe nespiralate. Lanțurile sunt aranjate antiparalele în dimeri care, la rîndul lor, formează tetrameri. Spectrina posedă catene pentru legarea altor molecule de spectrină, a ankirinei, actinei, proteinei 4.1. *Ankirina* în asociație cu *proteina 4.1* securizează legarea spectrinei la membrana eritrocitară, realizînd o conexiune strînsă între membrană și citoschelet.

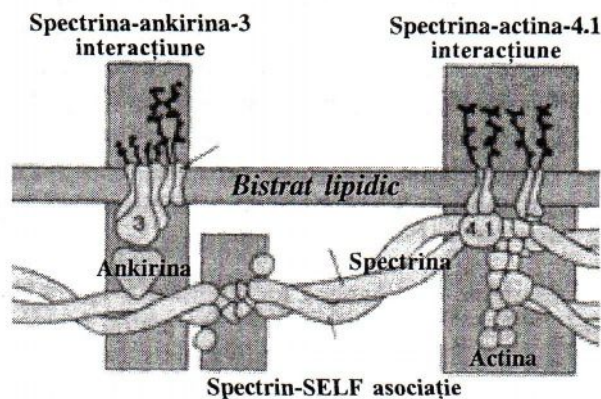


Figura 8.1. Interacțiunea proteinelor citoscheletului cu proteinele membranare eritrocitare

Conexiunea este fortificată de legăturile proteinei 4.1 cu anumite fosfolipide ale bistratului lipidic membranar (fig.8.1).

Carențele proteinelor citoscheletului și ale membranei eritrocitare sau dereglările structurii lor sunt cauzele unor afecțiuni ereditare, ca sferocitoza (*spectrina*) și elipsocitoza (*proteina 4.1* sau *glicoforina C*).

O clasă aparte de proteine reprezentate masiv în eritrocit sunt proteinele-enzime. O activitate mare au enzimele glicolitice ce asigură buna decurgere a glicolizei – principalul furnizor de energie în formă de ATP. Enzimele ce catalizează reacțiile de fosforilare la nivel de substrat: *1,3-bifosfoglicerat kinaza* și *piruvat kinaza* sunt deosebit de active. În eritrocit există o deviere de la glicoliză – specifică doar acestui tip de celule. Această ramificare, numită *ciclul Rappoport - Luebering*, produce *2,3-difosfo-gliceratul* ce reglează afinitatea hemoglobinei față de oxigen. Enzima-cheie a ciclului este *1,3-difosfoglicerat mutaza*.

De asemenea, o activitate mare denota *glucozo-6-fosfat dehidrogenaza*, cât și enzimele ciclului glutatationului (*glutation peroxidaza*, *glutation-S-transferaza* și *glutation reductaza*); enzimele complexului care asigură reducerea la hemoglobină a cantităților insignifiante de metemoglobină ce se formează în condiții normale (*NADH-dehidrogenazele I și II*; *NADPH-dehidrogenazele A și B*); *carboanhidrazele A, B și C* ce contribuie la transportul CO₂ în formă de carbonați.

Compușii organici neproteici esențiali diferă prin compoziție și cantitate atât de plasmă, cât și de alte celule. În cantități reduse, comparativ cu cele plasmatică, sunt glucoza și ureea. Colesterolul este reprezentat predominant de forma liberă, pe când în plasmă el este preponderent esterificat (2/3). În concentrații relativ mari sunt prezenți compușii fosforilați – ADP, ATP, NAD, NADP, fosfolipidele, hexozo-fosfații, *2,3-difosfo-gliceratul* etc. *Glutationul* sanguin este esențial redus și totalmente localizat în eritrocit. Cea mai mare parte a *acidului nicotinic* și a *nicotinamidei* sanguine este concentrată în eritrocit.

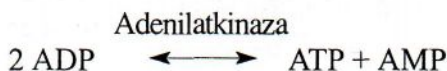
Particularitățile metabolismului eritrocitului

Eritrocitul este o celulă ce consumă puțin oxigen (5 L/h/mL) în raport cu cantitatea lui intracelulară și consumul altor țesuturi. Oxigenul este utilizat în principal pentru autooxidarea flavoproteinelor, a NADH-ului produs în glicoliza anaerobă, a glutatationului prin intermediul metemoglobinei. Consumul redus de oxigen este consecință absenței lanțului respirator și a majorității enzimelor ciclului Krebs.

Utilizarea glucozei are loc în glicoliza anaerobă (cca 90 %) și ciclul pentozo-fosfaților (cca 5-10 %), lipsind calea glicogenogenezei. Glicoliza anaerobă eritrocitară se află în echilibru cu calea 2,3-difosfo-gliceratului (figura 8.2).

Activitatea predominantă a unei sau altei căi metabolice este dictată de cantitatea ADP-ului. La valori scăzute ale raportului [ATP] / [ADP] este facilitată calea glicolitică și inhibată producerea 2,3-difosfo-gliceratului. Astfel, se produce prin fosforilare la nivel de substrat ATP. Când concentrația ATP-ului este mare, predomină acumularea 2,3-difosfo-gliceratului.

Glicoliza anaerobă este calea majoră de generare a ATP-ului în eritrocit, chiar și la un randament foarte redus (30%). A doua cale, cu acțiune limitată, este reacția adenilatkinazică.



Cantitatea de ATP generată sumar este suficientă pentru întreținerea funcției respiratorii a hemoglobinei, a formei discoidale a celulei, a homeostazei ionice etc.

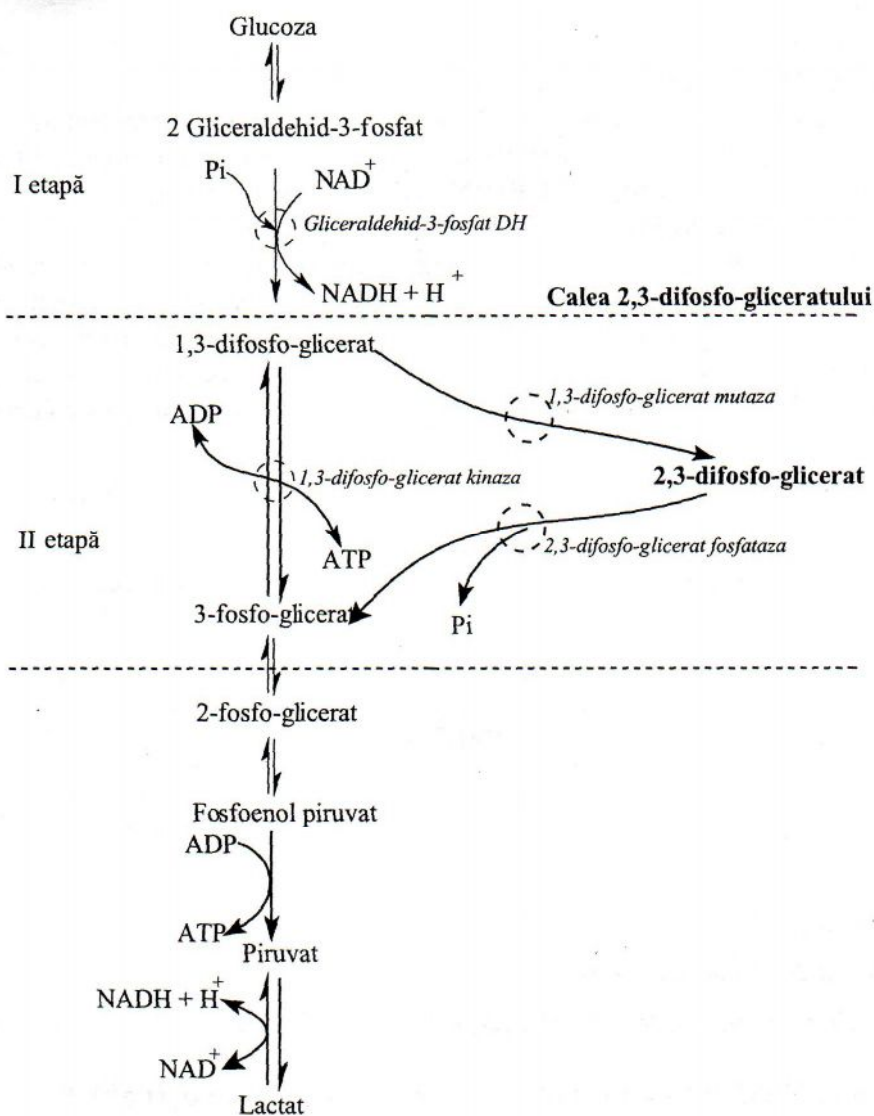


Figura 8.2. Glicoliza anaerobă cu ciclul Rappoport-Luebering

În decursul glicolizei anaerobe, în eritrocit se acumulează, în concentrație sporită, *glucozo-1,6-difosfatul*. Se consideră că producerea și acumularea lui ar fi datorată fosforilării G-6-P pe seama 1,3-DPG printr-o reacție de transfosforilare:



Rolul metabolic al G-1,6-dP este însă neelucidat complet. Ciclul Rappoport-Luebering are menirea de a produce 2,3-difosfo-glicerat. Compusul este un potențial modulator alosteric al afinității hemoglobinei față de oxigen, ce favorizează cedarea lui țesuturilor.

Secundar, 2,3-difosfo-gliceratul:

- constituie o rezervă energetică utilizată în condițiile reducerii activității glicolitice;
- contribuie indirect la reducerea methemoglobinei;
- facilitează energetic exportul K⁺ din eritrocit.

Ciclul pentozo-fosfaților consumă cca 5-10% din glucoza eritrocitară cu scopul formării NADPH+H⁺ în reacția catalizată de glucozo-6-fosfat dehidrogenază. Rata producerii pentozo-fosfaților în eritrocit este neglijabilă, iar calea în sine nu are semnificație în acest tip de celule. Șuntul pentozo-fosfaților are o intensitate suficientă pentru a menține valoarea optimă a raportului NADPH/NADP⁺, de care depinde reducerea methemoglobinei și a glutationului.

Contactul hemoglobinei cu oxigenul, în concentrații mari, decurge spontan, neenzimatic oxidat la methemoglobină (Fe³⁺), incapabil să transporte oxigen. În condiții fiziologice, mai puțin de 3% din hemoglobina eritrocitară este oxidată. Menținerea Hb în stare redusă (Fe²⁺) este realizată de *methemoglobin reductazele NADH dependente (I și II) și NADPH dependente (A și B)*. Furnizorii NADH-ului și NADPH-ului sunt glicoliza și ciclul pentozo-fosfaților, respectiv (fig.8.3).

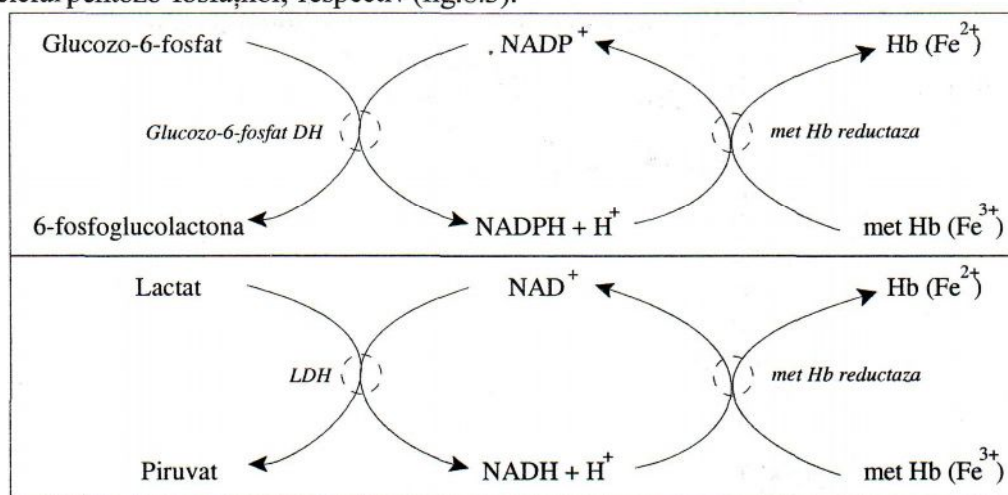
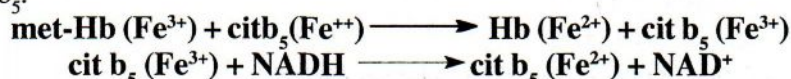


Figura 8.3. Reducerea methemoglobinei

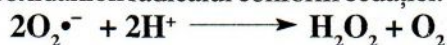
Methemoglobin reductazele NADH-dependente I și II funcționează în complex cu citocromul b₅:



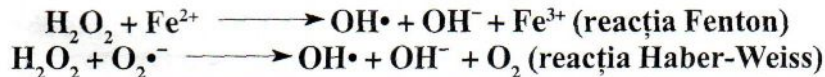
Autooxidarea Hb la methemoglobină este însoțită de generarea superoxidanion radicalului:



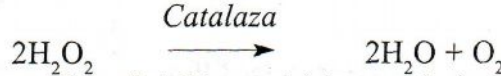
Ultimul declanșează producerea altor specii agresive ale oxigenului, ce induc oxidarea peroxidică a lipidelor membranare, inactivarea enzimelor și altor procese nocive în celulă. Protecția antioxidantă a eritrocitului este deosebit de puternică și eficientă. Ea include superoxididismutaza, catalaza, glutationul și sistemul său enzimatic. *Superoxididismutaza (SOD)* neutralizează superoxidanion radicalul conform ecuației:



Peroxidul de hidrogen rezultat este, de asemenea, o specie reactivă a oxigenului, ce poate interacționa cu superoxidanion sau Fe²⁺ pentru a genera cel mai toxic compus – *radicalul hidroxil (OH•)*:



Aceste reacții sunt limitate prin intervenția catalazei și a glutation peroxidazei.



Glutition peroxidaza neutralizează și alți peroxizi, în special, ai acizilor grași polienici din membrana eritocitară. Enzima necesită glutation redus (GSH), cantitatea căruia este menținută de glutation reductaza (NADPH). Astfel, acționînd în tandem, enzimele mențin raportul optim GSH/GSSG, de care depinde supraviețuirea celulei (fig. 8.4).

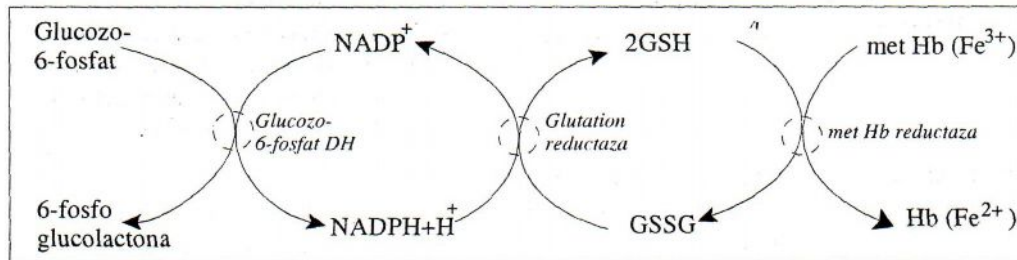


Figura 8.4. Șuntul pentozo-fosfat și metabolismul glutationului

Eritrocitele sunt lipsite de sistemele enzimatice necesare biosintezei acizilor nucleici, proteinelor și acizilor grași. Unele lipide, spre exemplu colesterolul, pot fi acumulate prin schimb din plasma sanguină. Eritrocitele posedă unele enzime ale degradării nucleotidelor (AMP-dezaminaza, pirimidin nucleotidaza), dar procesul catabolic respectiv nu este intens. Generarea conținutului de AMP favorizează refacerea rezervei de ATP.

Afecțiunile majore ale eritrocitului

Cele mai frecvente afecțiuni ale eritrocitelor se manifestă prin anemii (micșorarea numărului celulelor), apariția unor celule cu forme anormale și rezistență scăzută la acțiunea factorilor hemolizanți. Ele pot fi ereditare sau dobîndite. Tabelul 8.1 însumează aceste afecțiuni.

Particularitățile compoziției și ale metabolismului leucocitelor

Seria mielocitară include leucocite: neutrofile, eozinofile și bazofile; limfocite și monocite. Numărul leucocitelor din sângele circulant variază între 3,200-9,800/mm³ (3,2-9,8 x 10⁹/L) și în mod normal cota granulocitelor neutrofile este de 56-69%, a eozinofilelor de 1-4% și bazofilelor pînă la 1%. Limfocitele reprezintă 20-40% și monocitele, respectiv, 4-8%.

Granulocitele *neutrofile* sunt produse în măduva osoasă, în interval de 12 zile. Ele au diametrul de 10-15 μm și se pot deplasa cu o viteză de 2-3 mm/oră, prin emitere de pseudopode. Numărul de neutrofile variază între 2500-5700/mm³.

Granulocitele *eozinofile* au un diametru de 10-16 μm și o durată de viață de 5-8 ore. Ca și neutrofilele, au proprietatea de a migra și a fagocita sub acțiunea factorilor chemotactici. Valoarea normală a eozinofilelor este cuprinsă între 100-200/mm³.

Limfocitele sunt localizate în modul următor: 4% în sângele periferic, 70% în organele limfatice, 10% în măduva oaselor, și restul în alte țesuturi. După durata vieții se diferențiază

Tabela 8.1. Afecțiunile eritrocitare mai frecvente

Nr	Afecțiunea	Cauza	Manifestările
1.	Anemia falciformă (drepanocitară)	-Codonul 6 din gena lanțului β Hb se transformă din GAG (sau GAA) în GTG (sau GTA), ce determină înlocuirea în proteină a Val cu Glu.	- Eritrocitele au formă de seceră, datorită agregării moleculelor HbS. - Anemie severă.
2.	Talasemiile: A. α -talasemia; B. β -talasemia.	-Mutații variate în gena lanțului α sau β al Hb (deleții extinse, nonsens mutații, crossing-over defectuos etc).	- Încetinirea biosintezei lanțurilor α sau β ale Hb-ei. - Hiperproducerea celuilalt tip de lanț. - Producerea de lanțuri atipice - g, d etc. - Incapacitatea de oxigenare a țesuturilor. - Deces precoce la homozigoți.
3.	Sferocitoza ereditară	-Deregări structurale sau cantitative ale α - sau β -spectrinei, ankirinei, proteinelor 3 sau 4.1.	- Microsferocitoză. - Scade elasticitatea lor și ele sunt deteriorate în patul microcirculator. - Celulele deteriorate sunt distruse accelerat în splină, conducând la anemie.
4.	Deficiența ereditară a glucozo-6-fosfat dehidrogenazei	-Mutații punctiforme în gena glucozo-6-fosfat dehidrogenazei (X).	- Scade sinteza NADPH-ului și reducerile glutationului și ale metHb. - Se modifică structura și permeabilitatea membranei. - Apar anomalii ale ATP-ului. - Anemie hemolitică.
5.	Deficiența ereditară a piruvatkinazei	- Mutații în gena izoenzimei eritrocitare a piruvatkinazei.	- Scade viteza glicolizei și cantitatea ATP-ului. - Scade cantitatea 2,3-difosfogliceratului. - Crește cantitatea NADH-ului. - Anemie și reticulocitoză.
6.	Methemoglobinemia	- Aportul excesiv de oxidanți (xenobiotici sau medicamente). - Carență genetică a met Hb reductazelor NADH-dependente I și II. - Hemoglobinoza Hb M - His (8) este substituită prin Tyr.	- Fierul este trivalent (Fe^{3+}). - Reducerea afinității față de O_2 . - Policitemie (creșterea numărului celulelor roșii).
7.	Anemie megaloblastică	- Carența vitaminei B_{12} datorată absorbției scăzute în stomac. - Carența acidului folic din cauza aportului scăzut, dereglării absorbției sau a necesităților crescute (de exemplu, la gravide).	- Macrocitoza ($12 \mu m$ și mai mult). - Poichilocitoză. - Creșterea concentrației hemoglobinei eritrocitare cu hiperchromie. - Leucopenie. - Trombocitopenie.

două grupe de limfocite: a) cu durată scurtă – 7-12 zile ce constituie 10% din total; b) cu durată lungă – 500-800 zile (90%). În sângele periferic 65-80% sunt T-limfocitele, 10-30% – B-limfocitele și 2-10% – NK-limfocitele (Natural Killer). Valoarea normală a limfocitelor este de 1000-4500/mm³ (1,0-4,5 x 10⁹/L).

Monocitele sunt produse în măduva osoasă și organele limfopoetice. Ele (300-800/mm³) rămân în circulație cca 24 ore, după care migrează în țesuturi și se transformă în macrofage.

Mecanismele biochimice ale granulocitopoiezei

Medula osoasă conține cca de 24 ori mai multe granulocite decât sunt prezente în circulația periferică. Sinteza celulelor mielocitare este reglată de *granulopoietină* și de *factorul stimulator al coloniilor celulare (FSC)*. Trecerea celulelor imature din vasele și sinusoidale medulare în circuitul periferic este condiționată de acțiunea “inductorului leucocitozei”. În sânge proliferarea granulocitară este reglată de doi factori antagoniști: *chalone* – inhibitorul proliferării granulocitare, și *antichalone* – stimulatorul ei. Evolutiv, metabolismul celular (de la promieloblast la granulocit) parcurge două faze. În celulă inițial (I fază) predomină procesele energetice în raport cu cele hidrolitice: lipsesc peroxidazele specifice mielocitelor, enzimele metabolismului glicogenului și substanța în sine. În faza a doua (delimitată de apariția granulațiilor) începe producerea mieloperoxidazelor, enzimelor glicogenogenezei și glicogenolizei. Semnificativ se activează hidrolazele, enzimele ciclului pentozo-fosfaților și glicolizei anaerobe. Concomitent, se reduce aproape pînă la dispariție aparatul mitocondrial energogenerator.

Particularitățile compoziției granulocitelor

Celulele precursorare (promielocit, mielocit) conțin granulații primare azurofile. Celulele mature se devizează în dependență de natura și colorația granulației în neutrofile, eozinofile și bazofile. Aceste granulații secundare sunt în conexiune cu aparatul Golgi. *Granulațiile neutrofile* conțin proteine bazice și numeroase enzime hidrolitice: fosfataza alcalină, β-glucuronidaze, lizozimul, nucleotidaze, ribonucleaza, peroxidaza, collagenaza și alte peptidaze. De asemenea, ele conțin urme de fosfatază acidă, un eter al acidului hialuronic, o cantitate importantă de glicogen și *fagocitină*. Ultima este o substanță intens bactericidă. *Granulațiile eozinofile* sunt compuse dintr-un nucleu dens de fosfolipide și enzime înconjurat de o membrană. Bagajul enzimatic este bogat în oxidaze, peroxidaze, catalază, fosfatază alcalină, lipază, amilază, dar nu conțin lizozim și fagocitină. *Granulațiile bazofile* sunt depozite de histamină, heparină, bradikinină, serotonină și enzime lizozomale.

În *granulocite* sunt prezente numeroase substanțe implicate în protecția organismului de bacterii, virusuri și compuși străini. Neutrofilele conțin (cu excepția fagocitinei menționate anterior) *defensine* și *lactoferina*. Defensinele sunt peptide bazice (20-33 resturi de aminoacizi), cu proprietăți antibiotice. Ele distrug bacteriile, deteriorându-le membranele celulare. Lactoferina este o proteină fixatoare de fier, ce inhibă creșterea anumitor bacterii sensibile la fier, acționând ca agent prooxidant. De asemenea, ea poate fi un regulator al proliferării celulelor seriei mielocitare.

Eozinofilele conțin o proteină bazică bogată în arginină cu rol de protecție contra paraziților, o peroxidază eozinofilică ce produce peroxidul de hidrogen, care distruge

microorganismele, și o proteină de tip neurotoxic cu efect marcat.

Bazofilele și mastocitele nu conțin substanțe bactericide specifice, dar sunt sursa unor cantități semnificative de mediatori, în principal, histamina.

Mediatorii sunt prezenți și în celulele celorlalte serii granulocitare. Astfel, în neutrofile au fost identificate prostaglandinele, leucotrienele și factorul activator al plachetelor (Platelet Activating Factor - PAF), iar în eozinofile–leucotriene (C_4).

Membranele granulocitelor conțin o clasă de proteine specifice – *integrinele*. Ele asigură aderarea granulocitelor, în special a neutrofilelor, la celulele endoteliale vasculare ce posedă receptori specifici sau liganzi. Integrinele sunt dimeri formați din subunități α și β de diferite tipuri. Ele posedă 3 domenii distincte – extracelular, transmembranar și intracelular. Integrinele realizează conexiunea dintre mediul ambiant celulei și cel interior și contribuie la răspunsul ei la schimbările mediului. Răspunsul celular include migrarea chemotactică, penetrarea în țesut și fagocitoza.

Membranele neutrofilelor sunt înzestrate cu receptori specifici domeniilor γ_2 ale IgG. Receptorii fixează complexe antigen-anticorp, facilitând fagocitoza.

Bazofilele și mastocitele posedă receptori față de IgE. Atașarea complexelor antigen-anticorp la ele induce eliberarea mediatorilor și declanșează reacțiile vasculare și tisulare locale, care reprezintă cauza manifestărilor alergice.

Particularitățile metabolismului granulocitelor

Metabolismul energetic este asigurat prin catabolismul glucidelor. Glicogenul (1-2% din greutatea celulei) scade rapid în timpul fagocitozei. Concomitent sunt activate glicoliza și consumul de oxigen.

Granulocitele se caracterizează printr-o intensitate deosebit de mare a glicolizei. În formele imature procesul este preponderent aerob, urmat de căile mitocondriale de generare a ATP-ului. În celula matură predomină glicoliza anaerobă, activitatea enzimelor ciclului Krebs și a fosforilării oxidative, cu intensitate moderată. Generarea ATP-ului prin glicoliza anaerobă atinge cote înalte în fagocitoză, pentru întreținerea energetică a procesului.

În granulocit o activitate mare are și ciclul pentozo-fosfaților, care produce NADPH utilizat ulterior la formarea H_2O_2 necesara bactericidiei. Catabolismul lipidelor reprezintă o sursă energetică secundară ce completează degradarea glucidelor. Sinteza proteinelor în granulocite este intensă și este asigurată de conținutul înalt de aminoacizi liberi. Procesele metabolice menționate anterior susțin funcțiile fundamentale ale granulocitelor.

Neutrofilul exercită două funcții. Funcția majoră: *fagocitoza* – o parte a mecanismelor de protecție. Funcția secundară este cea secretorie. Granulocitele neutrofile secretă *transcobalamina I* – o α_2 -globulină care leagă și transportă vitamina B_{12} (cobalamina).

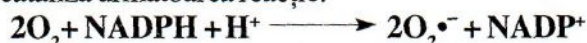
Fagocitoza se desfășoară în 3 etape:

- a) activarea neutrofilului și chemotaxia;
- b) fagocitoza propriu-zisă;
- c) bactericidia.

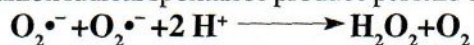
Activarea neutrofilelor este indusă de atașarea la receptorii specifici de pe membrana celulară a bacteriilor, complexelor antigen-anticorp sau a unor factori chemotactici, ca

proteine ale sistemului complementului (îndeosebi C₃), produse ale degradării colagenului și fibrinei, mediatori ai inflamației (kalicreina) etc. Creșterea rezultantă a concentrației Ca²⁺ citoplasmatic influențează asamblarea sistemului de tubuli și a sistemului actin-miozină. Aceste două sisteme sunt implicate în secreția conținutului granulațiilor și în motilitatea celulară. Granulocitul emite pseudopode ce captează și înglobează în celulă compusul străin. Se formează *fagosomul* – vacuola de fagocitoză ce fuzionează cu granulațiile neutrofilelor. Se elimină enzimele hidrolitice ce distrug peretele bacterian-primar și ulterior celelalte elemente celulare.

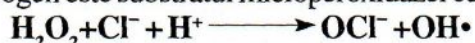
Fagocitoza și bactericidia sunt însoțite de o amplificare extremă a consumului oxigenului ce poartă denumirea de “explozie respiratorie” (“*respiratory burst*”). Oxigenul este utilizat pentru a produce cantități mari de derivați activi ca: peroxidul de hidrogen (H₂O₂), radicalii superoxid și hidroxil (O₂•⁻ și OH•), ionul hipoclorid (OCl⁻). Acești compuși sunt agenți microbicizi. O₂•⁻ este sintetizat de NADPH-oxidaza. Enzima este organizată și funcționează ca un lanț de transport al electronilor, similar cu lanțul respirator. Lanțul include NADPH-ul, cit.b₅₅₈ și două proteine citoplasmatic, ce se atașează la membrana pentru a cataliza următoarea reacție:



Din superoxidanion radical spontan se produce peroxid de hidrogen, conform ecuației:



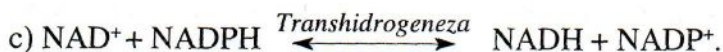
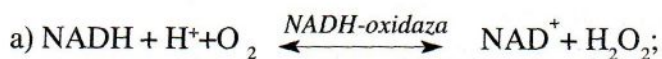
Peroxidul de hidrogen este substratul mieloperoxidazei ce produce hipocloridul:



Cel mai frecvent este Cl⁻, datorită concentrației intracelulare considerabile a ionului, dar pot fi și anionii de Br⁻, I⁻, SCN⁻.

Enzimele și substanțele active ce participă la bactericidia sunt izolate primar în granulațiile neutrofilelor și ulterior în fagosom. Astfel, celula și mediul ambiant sunt protejate de acțiunea lor distructivă. Linia a doua de protecție este realizată de: a) superoxidismutaza, catalaza, sistemul glutationului ce inactivează formele agresive ale oxigenului; b) antiproteinazele ce neutralizează acțiunea enzimelor proteolitice lizozomale.

Fagocitoza poate fi stopată prin utilizarea *acidului monoiodacetic* (inhibitor al glicolizei anaerobe). Consumul de oxigen crescut și producerea de apă oxigenată ar proveni și din oxidarea NADH prin acțiunea NADH-oxidazei. Legătura între cele două sisteme NADPH-oxidază și NADH-oxidază se stabilește prin reacții auxiliare de tipul *transhidrogenazei* (vezi reacțiile):



Implicarea glutationului în sistemul de apărare poate fi ilustrat în modul următor:





Vacuola fagocitară (fagosoma) nu poate fi eliminată din celulă și conținutul ei se revarsă în celulă, distrugînd-o.

Eozinofilele funcțional sunt implicate în procesele alergice. Ele limitează afectările produse prin complexe imune. Funcția lor principală este fagocitarea complexelor antigen-anticorp și eliminarea histaminei secretate de bazofile în timpul reacției alergice. Migrarea chemotaxică a eozinofilelor spre elementul fagocitat este stimulată de complexe antigen-anticorp, proteinele sistemului complementului (C_5 ; C_6 ; C_7), fibrină, serotonină, histamină, imunoglobulinele G. Mecanismele fagocitării și dezintegrării corpului străin nu sunt cunoscute în detalii.

Bazofilele sunt celule implicate în reacțiile inflamatorii și alergice, prin producerea și depozitarea mediatorilor. Prin degranularea lor se elimină histamină, bradikinină, serotonină și numeroase enzime lizozomale. Aceste celule joacă rol important în reacțiile alergice determinate de IgE, deoarece ele au tendința de a se atașa de celulă. Bazofilele sunt corelate și cu echilibrul fluido-coagulant, prin producerea și eliberarea heparinei.

Afecțiunile majore ale leucocitelor

Se cunosc mai multe afecțiuni ereditare ale leucocitului ce dereglează principala funcție a celulei.

Deficiența aderenței leucocitelor de tip I (type I- leukocyte adhesion deficiency) este cauzată de deficiența subunităților de tip β_2 în integrinele LFA-1 ale neutrofilelor și macrofagelor. În această afecțiune este diminuată aderența leucocitelor la celulele endoteliale și un număr mai scăzut de neutrofile pot pătrunde în țesuturi pentru a combate infecția. Astfel, persoanele afectate suferă de infecții bacteriene și micoze recurente.

Mutațiile în genele ce codifică componentele sistemului NADPH-oxidazic sunt cauza *granulomatozei cronice*. Afecțiunea este relativ rară și se manifestă prin infecții recurente și granuloame întinse pe piele, în pulmoni și ganglionii limfatici. Granuloamele se formează în tentativa de a izola și elimina bacteriile ce nu au fost distruse din cauza activității insuficiente a sistemului NADPH-oxidazic. Defectul genetic afectează producerea a patru proteine-enzime ale sistemului și diminuează sever producerea substanțelor bactericide (H_2O_2 , $\text{O}_2^{\bullet-}$, OH^{\bullet}).

Caracteristica biochimică a monocitului

Monocitele se produc în măduva osoasă și organele limfopoietice. După o circulare de 24 ore în sânge, ele migrează în țesuturi și se diferențiază în macrofage. Fenomenul este concordat cu modificarea metabolismului celulei respective.

Monocitele-macrofage sunt localizate în ganglionii limfatici, splină, măduva osoasă, la nivelul tuturor seroaselor (pleură, pericard, peritoneu), piele, pulmoni, ficat, sistem nervos central.

Macrofagele pulmonare se caracterizează prin metabolism energetic aerob, cu activitate semnificativă a enzimelor ciclului Krebs și a lanțului respirator. În celelalte țesuturi ele sunt energetic dependente de glicoliza anaerobă. Toate macrofagele au conținut bogat și variat de esteraze. Atît monocitele, cît și macrofagele secretă substanțe cu activitate bactericidă (*lizozim*), antivirală (*interferonul*) și stimulatori ai activării și diferențierii limfocitelor în plasmocite (*interleukina-1*).

Monocitele-macrofage în țesuturi fagocitează intens bacterii, resturi celulare mari și celule sanguine îmbătrânite.

Caracteristica biochimică a limfocitelor

Limfocitele se formează în sistemul limforeticular (timus, măduvă osoasă, ganglioni limfatici, splină, țesut limfatic al tractului digestiv, amigdale) și ajung în circulație pe cale limfatică. Limfocitele circulă continuu pe traseul: organe limfatice – limfă – sînge – țesut – limfă. Limfocitele se divizează în tipurile T și B, în dependență de origine – timus (T) și medula osoasă (B).

Limfocitele T fixează la suprafața lor cantități minime de imunoglobuline. Ele îndeplinesc multiple funcții – mediază protecția organismului față de microorganisme, virusuri și fungi; controlează funcțiile limfocitelor B și cooperează cu ele în producerea anticorpilor; resping grefele de organe incompatibile; intervin în reacțiile de hipersensibilitate.

Limfocitele T realizează *imunitatea celulară*. Ele posedă în membrana celulară receptori specifici pentru diverse antigene, ce determină existența a numeroase clone individualizate prin capacitatea de a interacționa specific cu un anumit antigen. Imunitatea celulară se realizează prin două mecanisme: producerea limfokinelor și activitatea citotoxică. Limfokinele sunt mediatori cu structură variată care au anumit efect asupra celulelor-țintă. Prin acțiunea citotoxică se asigură distrugerea citolitică a celulei-țintă. Ambele efecte condiționează eliberarea organismului de microorganisme, virusuri, celule tumorale etc.

Limfocitele B exercită *imunitatea umorală* mediată de anticorpi (imunoglobuline). Limfocitele B se divid în numeroase “familii”, fiecare avînd propria specificitate de interacțiune cu un anumit antigen. În urma acestei interacțiuni, ele se transformă în plasmocite ce produc imunoglobuline specifice.

Limfocitele NK (“Natural Killer”) nu posedă receptori specifici membranari față de anumiți antigeni. Ele distrug celulele tumorale și cele infectate de virusuri. Din majoritatea studiilor se confirmă concluzia că profilul energetic al limfocitului, celulă funcțional multipotentă, este de tip oxidativ, aerob.

Particularitățile compoziției chimice și ale metabolismului trombocitelor

Trombocitele sunt cele mai mici elemente figurate sanguine. Diametrul lor constituie 2,5-5 μm . Trombocitele sunt produse de măduvă osoasă, cu o viteză medie de 3300/ minut. Au o durată de viață medie de 8-10 zile. Sîngele periferic conține 1300-400 000/ μm^3 (130-400 $\times 10^9$ /L), din care 2/3 în circulație și 1/3 rezervate în splină.

Particularitățile compoziției chimice a trombocitului

Proteinele constituie o parte importantă din trombocite (cca 52% din masa uscată). Importanță deosebită o au *integrinele membranare* ce asigură aderarea trombocitelor la suprafața lezată a vasului. În acest proces intervin GP Ia – IIa și GP Ib – V – IX ce asigură fixarea plachetelor direct la collagen sau prin intermediul *factorului von Willebrand*. Principalele integrine membranare sunt prezentate în tabelul 8.2.

De asemenea, membrana trombocitelor conține receptori la ADP, serotonină și adrenalină – substanțe ce participă la hemostază.

N	Glicoproteina	Rolul funcțional
1	GP I a (s)	Aderența trombocitelor
2	GP I b	Receptori pentru factorul von Willebrand și trombină
3	GP II b	Receptori pentru fibrinogen și factorul von Willebrand
4	GP V	Receptori pentru trombină
5	GP IX	Se leagă cu GP Ib.

Tabela 8.2 Principalele integrine trombocitare

În citoplasmă se găsesc *plecstrina*, *calmodulina* și *kinaza lanțurilor ușoare ale miozinei* ce intervin în activarea plachetelor, în coagularea sîngelui. Lanțurile ușoare ale miozinei sunt parte integrală a *actomiozinei* – proteină contractilă ce modifică forma trombocitului din discoidală în sferică, în cadrul metamorfozei vîscoase a celulei.

Setul enzimatic al trombocitelor este adaptat la realizarea funcției hemostatice. El conține adenilatciclaza, Na^+/K^+ - ATPaza, fosfolipaza A_2 , ciclooxigenaza, tromboxan sintetaza ce generează mediatorii intracelulari ai hemostazei. Necesitățile energetice sunt acoperite prin glicoliză, ciclul pentozo-fosfaților, ciclul Krebs și lanțul respirator, enzimele cărora sunt extrem de active. Cantitatea de ATP produsă este de cca 150 ori mai mare decît în eritrocit, iar conținutul de ADP depășește concentrațiile medii din alte celule. ADP-ul trombocitar este nu afit compus macroergic, cît mediator al hemostazei. Hidrolazele acide (proteazele, esterazele etc.) sunt concentrate în lizozomi. Ei mai conțin un șir de factori proprii și depozitați, responsabili de buna decurgere a coagulării sanguine – fibrinogenul, fibronectina, β -trombomodulina, adevinele, factorii chemotactici leucocitari etc.

În granulele dense ale trombocitelor sunt concentrați ionii de Ca^{2+} sub formă legată de *calsechestrină*. Ca^{2+} este eliberat în timpul activării plachetelor și acționează ca mesager secund intracelular.

Factorii plachetari ai coagulării sunt depozitați în plachete, dar provin afit din celulă, cît și din plasmă (descriși mai jos).

Particularitățile metabolismului trombocitelor

Metabolismul trombocitelor este analogic, în multe aspecte, cu metabolismul mușchiului striat de “salt” (ce funcționează periodic cu lungi intervale de repaus) pînă în momentul activării hemostazei. Activarea hemostazei și a trombocitului este însoțită de intensificarea maxim posibilă a proceselor energogeneratoare și a consumului ATP-ului. ATP-ul este generat afit în fază de repaus, cît și în timpul activării prin glicogenoliză, glicoliză, ciclul Krebs și fosforilare oxidativă. Consumul ATP-ului în procesul metamorfozei vîscoase și a retracției cheagului este catalizată de ATP-aza. În trombocit ATP-ul nu poate fi refăcut din contul creatin fosfatului din lipsa enzimei creatinfosfat kinaza. ATP-ul este necesar pentru fosforilarea lanțurilor miozinei și asamblarea actomiozinei. Proteina contractilă participă la modificarea formei celulei în cadrul metamorfozei vîscoase. Fosfatul ATP-ului este utilizat și pentru fosforilarea *plecstrinei* ce realizează agregarea granulelor trombocitului și eliberarea conținutului lor.

Metabolismul proteinelor este intens în trombocit. Sinteza lor este în principal localizată în ribozomi. Cantități mici de proteine se sintetizează în mitocondrii ce posedă DNA și

RNA. De exemplu, în mitocondrii este sintetizat *factorul XIII – factorul de stabilizare a fibrinei*. O cantitate considerabilă de aminoacizi sunt deturnați din sinteza proteică spre producerea mediatorilor necesari hemostazei – serotoninei, adrenalinei, noradrenalinei.

Un șir de mediatori interni și externi sunt produși din lipidele trombocitare. Activarea plachetară este însoțită de scindarea fosfolipidelor și eliberarea acidului arahidonic. Ultimul este precursorul tromboxanului A_2 , sintetizat pe calea ciclooxygenazică. *Fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfatul* este substratul din care se produc concomitent doi mediatori ai activării plachetelor – *diacilglicerolul și inozitol-1,4,5-trifosfatul*.

Mecanismele biochimice ale funcțiilor trombocitelor

Hemostaza este funcția fundamentală a trombocitelor. Ele participă în toți cei patru timpi ai procesului. Secundar, plachetele sanguine intervin în protecția imună, prin fagocitoza complexelor imune și a particulelor virale, și în protecția peretului vascular, prin infiltrarea lor în stratul endotelial.

În condiții normale, trombocitele circulă în sânge în formă neactivă, discoidală. În hemostază sau tromboză, ele se activează și contribuie la formarea cheagului. Procesul activării are 3 etape: 1) aderența lor la colagenul vascular; 2) eliberarea conținutului granulelor; 3) agregarea celulelor.

Trombocitele aderă la colagenul vascular expus prin receptorii specifici de pe membrana celulară – GP Ia-IIa ($\alpha_2\beta_1$ -integrina) într-o reacție ce implică factorul von Willebrand. Ultimul se leagă concomitent la trombocite prin GP Ib-V-IX și colagen sau subendoteliul vascular. Plachetele ce au aderat la colagen, își modifică forma și pătrund în subendoteliu, unde eliberează conținutul granulelor dense și alfa (α).

Secreția granulară este, de asemenea, stimulată de trombină. Ea se formează în cascadele coagulării, este cel mai puternic activator al trombocitelor și inițiază procesul, interacționând cu un receptor membranar. Evenimentele ce urmează sunt similare transmiterii mesajului hormonal în interiorul celulei. Complexul trombină-receptor, prin intermediul proteinei G, activează fosfolipaza C care, la rândul său, hidrolizează fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfatul membranar la două molecule mesagere intracelulare – diacilglicerolul și inozitol-1,4,5-trifosfatul.

Diacilglicerolul activează *proteinkinaza C* ce fosforilează *plecstrina*. Ca rezultat, are loc agregarea granulelor și eliberarea conținutului lor. Serotonina și adrenalina eliminate determină constricția vasului lezat, iar ADP-ul activează alte trombocite, amplificând agregarea lor.

Inozitol-1,4,5-trifosfatul induce eliberarea Ca^{2+} din sistemul tubular. Ca^{2+} interacționează cu calmodulina și kinaza lanțurilor ușoare ale miozinei. Activarea lor induce fosforilarea miozinei, interacțiunea ei cu actina și modificarea formei trombocitului din discoidală în sferică.

Interacțiunea receptorilor plachetari cu colagenul vascular denudat activează o altă cale mesagerială. Complexul colagen-receptor activează *fosfolipaza A_2* ce hidrolizează acidul arahidonic din fosfolipidele bistratului membranar. Arahidonatul servește drept substrat în biosinteza *tromboxanului A_2* care, într-o manieră receptor-mediată, activează *fosfolipaza C*, promovând agregarea trombocitelor.

Trombocitele active sunt necesare nu numai pentru formarea cheagului alb instabil plachetar, dar și pentru activarea unor factori plasmatici ai coagulării. Fosfolipidele anionice membranare accelerează reacțiile activării *factorilor Stuart-Prower (X)* și a protrombinei (II), ce constituie etapele-cheie ale cascadelor coagulării sanguine.

Toți agreganții trombocitelor (colagenul, trombina, ADP, factorul activator al plachetelor etc.) modifică suprafața celulei în așa mod încât să fie favorizată atașarea fibrinogenului la complexul GP IIb-IIIa ($\alpha_{IIb}\beta_3$ integrina) de pe membrana trombocitului activat. Astfel, se formează o rețea de fibrinogen divalent și trombocite agregate. Sinergiștii acestui proces sunt adrenalina, serotonina și vasopresina.

Dereglările metabolismului trombocitelor

Tulburările metabolismului trombocitar implică faza vasoplachetară a coagulării și pot fi ereditare și dobândite. Dereglările ereditare ale funcțiilor plachetelor afectează adeziunea la peretele vascular, eliberarea factorilor plachetari ai coagulării sau agregarea celulelor la porțiunea lezată a vasului.

Sindromul plachetelor gigante sau Bernard-Soulier este determinat de absența glicoproteinelor GP Ia (s) și GP Ib ce afectează agregarea celulelor. Afecțiunea se transmite autozomal recesiv. Ea se manifestă prin mărirea semnificativă a dimensiunilor trombocitelor (sunt similare celor ale limfocitelor); prelungirea marcantă a timpului de sîngerare-coagulare (cca 15 min); hemoragii intracutanate în mucoase, pulmonari, tractele digestiv și urogenital.

Sindromul Willebrand-Jurgens reprezintă o afecțiune cu transmitere autozomal dominantă. Este dereglată biosinteza *factorului von Willebrand (F-vW)* ce este parte integrală a complexului VIII. Carența F-vW diminuează capacitatea de adeziune a plachetelor și, ca urmare, se mărește timpul de sîngerare-coagulare.

Sindromul Glanzmann sau trombostenia ereditară are transmitere autozomal recesivă. Pacienții denotă lipsa glicoproteinelor membranare GP IIb și GP IIIa ce asigură interacțiunea cu fibrinogenul și F-vW. Trombocitele sunt mici și rotunde și nu se supun metamorfozei vîscoase. Este modificată eliberarea F-3 și nu se retractă cheagul.

Storage pool disease (boala rezervorului de depozitare) este o tulburare a eliberării factorilor plachetari. Cauza ei este dereglarea sintezei ciclooxygenazei și scăderea considerabilă sau lipsa Ca^{2+} din plachete.

CONSTITUENȚII MINERALI AI PLASMEI

Principalul constituent mineral al plasmelor este *apa* care îndeplinește funcția de solvent pentru toate componentele ei. Gazele sanguine, oxigenul și bioxidul de carbon sunt parțial dizolvate în plasmă, proporțional cu presiunea parțială a fiecărei componente. Preponderent, gazele sunt legate chimic de hemoglobină. CO_2 din sînge se găsește și în plasmă, sub formă de combinații multiple cu ionii bicarbonici – HCO_3^- .

Substanțele minerale dizolvate în plasmă sunt în stare ionică, determinînd echilibrul între anioni și cationi.

Cationii. *Sodiul (Na^+)* este principalul factor al reglării presiunii osmotice și echilibrului acido-bazic. Na^+ prezintă cationul umorilor, atingînd în plasmă concentrația de 152 mEq/L. Între concentrația ionilor de Na^+ (extracelular) și ionului de K^+ (intracelular) există un echilibru ce se realizează printr-un mecanism activ la nivelul membranelor celulare – Na^+/K^+ -ATP-aza. Dereglările concentrației ionului de Na^+ depind de repartitia apei în

diferite compartimente. Valori normale: 133 -147 mmol/L.

Potasiul (K^+) este cationul spațiilor intracelulare, reprezentînd 90% din totalul de K^+ al organismului (150 g ce corespund la 3500 mEq la omul de 70 kg); concentrația în plasmă este de $4,7 \text{ mEq} \pm 0,2$, mEq/L plasma. Valori normale: 3,4 - 4,5 mmol/L.

Se cunosc variații patologice – hiper- și hipokalemii. *Hipokalemia* este însoțită de tulburări neuromusculare și cardiace asociate cu alcaloza metabolică. Mult mai rare sunt *hiperkalemiile*, dar ele pot duce la consecințe grave, adesea ireversibile, cu paralizie și oprirea inimii în diastolă.

Calciul are un conținut plasmatic de 2,3 - 2,75 mmol/L. La omul adult conținutul total constituie 1100-1500g. Cationul este reprezentat prin trei fracțiuni: a) ultrafiltrabilă ionizată, ce prezintă 60% din total, fiind forma activă implicată în osificare, coagulare, excitabilitate neuromusculară; b) ultrafiltrabilă neionizată, reprezentînd 4% din total – fixat în combinații saline sau complexe nedisociabile; c) neutră filtrabilă, cu o cotă de 36% din calciul total sub formă de proteinat de calciu.

Ionii de Ca^{++} sunt necesari pentru activitatea unor enzime, cum ar fi cele implicate în procesele de coagulare și pentru agregarea plăcuțelor sanguine. Ei reduc excitabilitatea neuromusculară în musculatura scheletică, producînd însă o creștere a contractilității miocardului – intervenții realizate prin modificări în permeabilitatea membranelor celulare. Grație încărcăturii pozitive (2^+) și volumului lor mic, ionii de calciu formează legături cu radicalii electronegativi ai moleculelor proteice și fosfolipidelor membranare. Aceste modificări influențează repartiția ionilor și potențialului electric al celulelor, respectiv excitabilitatea lor. În lipsa unor stimulenți, calciul se găsește în celulă sub formă inactivă, neionizată, stocată în forme de depozit. Stimulenții (inozitolfosfații) produc un flux de calciu ionic spre citoplasmă, activînd sistemele enzimatice și modificînd funcția celulelor.

Se descriu variații sub formă de hipo- și hipercalcemii. În patologia umană, mai ales a copilului, *hipocalcemia* este asociată cu sindromul de tetanie. Insuficiența paratiroidiană, rahitismul, lipsa vit.D, osteodistrofia renală sau valorile majore de tireocalcitonină – toate pot duce la hipocalcemia severă. *Hipercalcemiile* se întîlnesc în distrugerile osoase, mielomul multiplu, osteoliza malignă, hiperparatiroidism ș.a.

Magneziul – conținutul variază între 0,7-1,2 mmol/L. Magneziul plasmatic este 70% ultrafiltrabil, restul fiind legat de albumine, α_1 și β_2 globuline. În organism este distribuit inegal, avînd o concentrație mai mare în țesuturile cu activitate metabolică majoră – creierul, inima, ficatul, tiroida, rinichii.

Principalele organe implicate în metabolismul Mg sunt intestinul și rinichii. Provine magneziul, în special, din verdețuri, pește, carne. 30-50% din Mg ingerat este asimilat la nivelul intestinului prin absorbție facilitată și pasivă. Majorează absorbția vit.D și forma sa activă. Alcoolul sporește eliminările urinare de magneziu.

Veriga importantă în reglarea metabolismului Mg este situată la nivel renal, filtrînd circa 2,5g Mg, din care reabsoarbe 95%, excretînd 100 mg/zi. Controlul eliminării renale e influențat de multipli factori – PTH, T_4 , glucocorticoizii, aldosteronul. Magneziul este implicat într-o gamă largă de reacții biochimice, avînd un impact activator direct asupra unor enzime, ca: fosfofructo-kinaza, creatin kinaza, adenilatciclaza. Intervine în sinteza, transportul și utilizarea compușilor macroergici – ATP; asigură în mitocondrii cuplarea

oxidării cu fosforilarea. Participă la sinteza acizilor nucleici și a proteinelor, intervenind în activarea aminoacizilor. Are importanță majoră în reglarea contracției musculare și conducerea impulsului nervos. Mg intervine în transferul ionic (K^+) și modulează activitatea canalelor de calciu. Magneziul are misiunea de stabilizator al membranelor celulare, precum și al ribozomilor și lizozomilor, în deficitul de Mg se intensifică degranularea mastocitelor și bazofilelor.

Deficitul de magneziu este întâlnit frecvent. Aportul deficitar în alimentația parenterală, creșterea eliminărilor urinare la administrarea soluțiilor glucozate, curele de slăbire sunt însoțite de instalarea unei hipomagneziemii. În maladiile ce evoluează cu malabsorbție, în alcoolismul cronic deficitul de Mg poate agrava manifestările clinice ale carenței unor vitamine (B_1 , B_6 , B_{12}). În hiperaldosteronismul primar sau secundar, în exces de catecolamine se accentuează deficitul de Mg, asociat cu hipokalemii în insuficiența cardiacă.

Anionii. Clorul e anionul cel mai important al compartimentului extracelular, avînd o concentrație plasmatică de 94-111 mmol/L. Concentrația clorului urmează pasiv modificările de concentrație ale ionilor de Na^+ . Excepție prezintă: în alcaloza metabolică se întâlnește hipocloremia, iar în acidoza metabolică – hipercloremia.

Concentrațiile plasmatică de Cl și de Na depind mult de modificările volumului de apă extracelulară și, implicit, de gradul de diluție a electroliților.

Sulfur se găsește în plasmă sub mai multe forme care, însumate, alcătuiesc sulfurul total, corespunzător unei concentrații de 1,40 g/L. Partea majoră este reprezentată de aminoacizi, proteine sanguine. Sulfurul neproteic conține două fracții: sulfurul neutru (aminoacizii și derivații tiol) și sulfurul oxidat (sulfatul, esterii), cu un nivel cuprins între 0,01-0,03 g/L.

Fosforul este un element abundent în organismul uman. Circa 80% din toată cantitatea (700g la omul adult) este depozitată în schelet sub formă de hidroxiapatită. Restul se găsește în lichidul extracelular și în țesuturile moi. Majoritatea fosforului este combinată cu lipide, proteine și hidrați de carbon, participînd la formarea fosfolipidelor, nucleotidelor, compușilor macroergici. De asemenea, fosfații constituie unul din sistemele - tampon ale organismului.

Concentrația fosforului variază în limitele 0,8-1,51 mmol/L. Copiii în creștere au niveluri mai înalte, între 1,3-2,25 mmol/L. O dietă bogată de glucide poate scădea nivelul fosforului. Fosforul practic este prezent în toate alimentele și o carență alimentară poate fi exclusă. Majoritatea fosforului provine din lapte și produse lactate. Crește necesarul de fosfați în timpul sarcinii și lactației.

Se consideră că 2/3 din fosforul ingerat este absorbit în jejun printr-un proces activ energodependent. În malabsorbție, în boli hepatice, intoxicații cu metale grele și aport alimentar crescut de fitați este diminuată absorbția lui intestinală. În cazul unei diete sărace în calciu, absorbția fosforului sporește.

Fosfatul este o substanță cu prag renal: la o concentrație plasmatică sub 1 mmol/L, această nu se elimină prin urină. La nivelul glomerulilor sunt absorbite 80-95% din fosfatul filtrat. Parathormonul stimulează eliminarea renală a fosfaților, reducînd reabsorbția lor. O creștere a fosfaților plasmatici are drept consecință o scădere imediată a calcemiei.

Hipofosfatemia poate surveni în *hiperparatiroidism*, *rahitism*, *sindrom Fanconi*,

precum și în cazul administrării parenterale de lichide lipsite de fosfați și, în special, în urma perfuziei intravenoase de glucoză, în cantități mari.

Deficitul sever de fosfați duce la astenie musculară, parastezii, hiporeflexie, tremor, ataxie. În unele cazuri, celulele musculare sărăcite de compuși macroergici pot ajunge la liza miofibrilelor, cu creșterea consecutivă în ser a CPK.

Deficitul de fosfați perturbă funcția elementelor figurate sanguine: scade capacitatea fagocitară a leucocitelor, ce predispune la apariția infecțiilor, este deficitară rețracția cheagului și plachetele au o durată de viață scăzută; prezintă fragilitate crescută și hematiile. Scăderea fosfaților din eritrocite diminuează generarea de 2,3 difosfo-glicerat, ce modifică curba de disociere a hemoglobinei, și se ajunge la o hipoxie tisulară în prezența unei saturații cu oxigen relativ normală a sîngelui. Este evident că se înrăutățește, în așa caz, starea pacienților cu patologii cardiace, pulmonare, anemii.

Hiperfosfatemia se constată în hipoparatiroidism, insuficiență renală, hipervitaminaza D, sarcoidoza.

Oligoelemente. Fierul. Cea mai mare parte a celor 4,5-5,0g fier din organismul unui adult se găsește sub formă de hem. Se află în combinație cu diverse proteine, generînd *hemoproteinele* (hemoglobina, mioglobina și heminele celulare-citocromii, peroxidazele, catalazele, xantin oxidaza, fenilalanin și tirozin hidroxilaza). Aproximativ 25% din totalul de fier se găsește sub formă de *feritină* și *hemosiderină*, și numai cca 1% se află în plasmă și în lichidul interstițial, în formă de *transferină*.

Feritina prezintă un grup de proteine hidrosolubile, relativ termostabile, cu o greutate moleculară în jur de 460 kDa. Moleculele de feritină alcătuite din subunități au o formă de sferă goală, miezul fiind ocupat cu incluziuni de fier. Un astfel de complex poate fixa pîna la 4500 atomi de Fe, dar de regulă numai 20% din capacitatea de fixare a fierului este ocupată. În lipsa incluziunilor de fier se constată prezența *apoferitinei*. Dacă procentul de fier depășește 37 (în unele cazuri chiar și 50%) și complexe Fe - proteină sunt incomplet învelite de subunitățile proteice, se condensează și devin insolubile, se ajunge la *hemosiderină*. Preponderent, 70% din fierul depozitat se găsește sub formă de feritină, și restul de 30% e reprezentat de *hemosiderină*. Creșterea concentrației de hemosiderină denotă o suprasaturare cu fier a feritinei.

Conținutul de feritină este reglabil – sinteza de apoferitină crește în condițiile unei încărcări cu fier și scade în caz de carența lui. Dozarea feritinei serice, glicozilată și lipsită de fier, poate stabili modificările în rezervele de fier. S-a constatat că 8-10 mg fier depozitat corespunde 1 μg feritină serică pe litru. Este concludent că în cazul unui deficit de fier, nivelul feritinei serice scade și la o supraîncărcare cu fier concentrația serică a ei va crește evident. În condițiile unei absorbții optime cantitatea fierului absorbit din alimente nu depășește 4 mg/zi. Durata vieții unei molecule de feritină cu fier este de cîteva zile și deci procesul de degradare și sinteză contribuie ca rezervorul intracelular de fier să fie ușor supus mobilizării.

Gradul de absorbție a fierului depinde de forma în care se administrează fierul din alimente. Se absoarbe mai greu fierul trivalent. În prezența vit. C și în mediul acid fierul se reduce la forma fieroasă (bivalent) care este mai ușor absorbabilă. Se consideră că compușii care formează complexe insolubile cu fierul, ca de exemplu fosfații din lactate

precum și oxalații, acidul fitic din cereale îi reduc gradul de absorbție.

Cuprul – un constituent esențial în activitatea unor enzime ca: *citocromoxidaza*, *peroxidaza*, *monoaminoxidaza*, *superoxidismutaza*.

S-a demonstrat ca cuprul din rația alimentară este absorbit rapid, dar procesul poate fi dereglat (inhibat) de prezența în lumenul intestinal a sărurilor de moliuden. În plasmă, cuprul se fixează labil de albuminele serice, fiind vehiculat la țesuturi. După 24 ore toată cantitatea în plasmă se regăsește la nivelul α_2 globinelor – *ceruloplasmina*. Atomii de Cu, fixați inițial de albuminele serice labil, sunt captați în ficat, încorporați în ceruloplasmina sintetizată în acest organ, apoi reînțorși în plasmă. Se consideră că ceruloplasmina nu este un adevărat transportator de Cu, și metalul incorporat nu participă la schimburi cu țesuturile, fiind scos din circuitul metabolic. Complexul Cu - ceruloplasmina este degradat în ficat, iar cuprul eliberat se elimină pe cale biliară.

Concentrația cuprului seric oscilează între 90-140 $\mu\text{g/dL}$ sau 14-22 $\mu\text{mol/L}$. Valori ridicate ale cuprului seric și ale ceruloplasminei se întâlnesc în infecții acute și cronice, infarct miocardic, leucemii acute și diverse procese neoplazice. Ceruloplasmina se comportă ca o proteină de fază acută, creșterea ei corelând cu alți indicatori de fază acută ca: fibrinogenul, proteina C. În stările menționate, nivelul transferinei serice scade. Scăderi patologice ale cupremiei și ceruloplasminei s-au descris în *sindromul nefrotic sever*, în enteropatii cu pierderi de proteine și perturbarea gravă a sintezei hepatice de proteine.

Sugarii hrăniți exclusiv cu lapte de vacă, un aliment deosebit de sarac în cupru, pot face o hipocupemie, anemie hipocromă microcitară, hipoproteinemie și edeme. O situație mai gravă are loc la un deficit de cupru în *maladia Menkes* – defect genetic cu dereglarea proceselor de absorbție și utilizare a cuprului. Suferă copiii de sex masculin, boala e transmisă printr-un mecanism recesiv legat de cromozomul X. Se observă perturbări în dezvoltarea fizică și intelectuală, crize convulsive și un păr aspru, fără luciu, țepos, friabil și răsucit, care la palpare dă senzația de sîrmă de oțel (steely-hair sau kinky hair syndrome). Copilul este susceptibil la infecții, hipotermie și decesul survine pînă la vîrsta de 3 ani. Defectul de transport al cuprului prin celulele mucoasei intestinale survine și la nivelul transportului transplacentar. Blocarea cuprului în mucoasa intestinală iar în cazul administrărilor intravenoase în ficat, se datorează unei proteine cu structură anormală care imobilizează metalul, făcîndu-l inaccesibil țesuturilor. În consecință, se instalează deficite ale sistemelor enzimactice dependente de cupru, ce sunt responsabile de anomaliile somatice și neurologice.

Zincul – element structural al carboxi-peptidazelor, alcool dehidrogenazei, carbanhidrazei. Conține zinc și insulina, leucocitele. Concentrația plasmatică variază între 11-17,6 $\mu\text{mol/L}$. Aproximativ 30-40% din zincul seric este fixat de α_2 *macroglobulină*, iar restul este fixat labil de albumine.

Deficitul de zinc survine la un aport insuficient sau la pierderi exagerate urinare. În cazul unei depleții acute apar: diareea, stări depresive, dermatita perinazală și periorală, alopecie. Manifestările clinice dispar după cîteva zile de la începutul tratamentului cu zinc. Este descrisă o maladie cu caracter genetic, caracterizată prin dereglari severe ale absorbției zincului denumită *aerodermatita enteropatică*. Are un mecanism de transmitere

autosomal recesiv și se exprimă prin diaree, alopeție și leziuni erozive în jurul orificiilor, precum și cruste localizate pe coate, genunchi și glezne. Se consideră ca subiecții afectați de această maladie prezintă o anomalie în structura unei proteine secretate de pancreas, cu rol de fixare a zincului, facilitând absorbția. Laptele de mamă conține o astfel de proteină, similară cu cea din pancreasul subiecților sănătoși. Fenomenele respective apar după înțărcare și trecerea la o alimentație cu lapte de vacă.

Manganul. In vitro activează fosfatazele, arginaza, carboxilazele și cholinesteraza. Experimental a confirmat că locul cardinal unde este concentrat elementul este mitocondria, ceea ce evident presupune rolul manganului drept coenzimă în activitatea enzimelor lanțului respirator.

Cobaltul – element structural al vit. B₁₂ – este implicat în activitatea enzimelor ce conțin B₁₂ ca cofactor. Deficitul de cobalt afectează formarea sîngelui.

COMPONENTE ORGANICE

Substanțe azotate neproteice. Azotul neproteic. Se consideră că produșii finali sau intermediari ai metabolismului reprezintă substanțele azotate neproteice. În ansamblu, acești compuși alcătuiesc azotul neproteic ce cuprinde: uree (50%), aminoacizi (25%), acid uric (4%), creatină (5%), creatinină (2,5%), indican (0,5%), purine, bilirubină, polipeptide. Evaluarea azotului neproteic se face în filtratul obținut după sedimentarea proteinelor.

Diferența între azotul neproteic și azotul ureic constituie *azotul rezidual (restant)*. La un adult sănătos variațiile în concentrațiile azotului neproteic sunt minime, dar dependente de cantitatea proteinelor ingerate. În unele procese patologice nivelul azotului neproteic crește, ducînd la *azotemie*. Deosebim *azotemie de retenție*, cauzată de micșorarea eliminării prin urină a produselor azotate, care poate fi de natură renală sau extrarenală. În azotemie de retenție de origine renală majorarea azotului neproteic e cauzat primordial de creșterea conținutului de uree (90%). Azotemia retențională extrarenală apare în insuficiența cardiovasculară, micșorarea tensiunii arteriale și scăderea fluxului sanguin renal. *Azotemia extrarenală* poate fi cauzată și de dereglări în eliminări de urina, după formarea ei. *Azotemia de producție* se depistează la un flux majorat de compuși azotați în sînge, ca consecință a lizei proteinelor tisulare în inflamații, arsuri, traume.

Ureea – produsul final al metabolismului proteic la speciile ureotelice. Se produce în ficat și reprezintă unul din mecanismele principale de detoxifiere a amoniacului. Se atestă creșteri de uree în insuficiența renală, tumori, iradieri, degradări excesive de proteine, sindroame cu dezechilibru hidroelectric, aport excesiv de proteine alimentare.

Acidul uric – produs final al catabolismului purinic, poate fi de proveniență endo- și exogenă. Fixat de proteine, are un maxim de solubilitate plasmatică la o concentrație de 380 μmol/L. 99% de acid uric se găsește sub formă de urați de sodiu. Se întîlnesc hiperuricemii primare și secundare. Cele secundare se produc prin hiperproducție de acid uric în leucoze, policitemie, cură de slăbire, plasmocitom. În insuficiența renală sau catabolism purinic crescut, la utilizarea unor medicamente, de asemenea se depistează nivel majorat de acid uric. Hipouricemiile sunt mai rare.

Creatina are o concentrație de 25-35 μmol/L, deținătorul principal este eritrocitul.

Cel mai fix constituent azotat al sîngelui, neinfluențat de alimentație și corelat cu metabolismul muscular este *creatinina*.

Creatinina. Nivelul creatininei serice este un indicator sensibil al funcției renale și variază între 62-97 $\mu\text{mol/L}$ la bărbați și 44-88 $\mu\text{mol/L}$ la femei.

Aminoacizii. Nivelul de concentrație plasmatică exprimă echilibrul dintre aportul alimentar, utilizarea lor în biosinteza și degradarea lor. Variații patologice apar în erori înnăscute ale metabolismului, preponderent cu dereglări în transportul tubular. Deseori apar sindroame de mare severitate, asociate cu debilitate mintală și des incompatibile cu viața.

În suprimarea funcției detoxifiante a ficatului și creșterea putrefacției intestinale va crește concentrația *amoniacului* plasmatic, care normal se găsește în concentrații foarte mici (25 $\mu\text{mol/L}$). În cantitate mică, în plasmă, se găsesc și *polipeptidele* care provin de la degradarea incompletă a proteinelor. Va crește cantitatea lor după arsuri extinse. În concentrație mică, în plasmă se depistează și *bilirubina* (17 $\mu\text{mol/L}$), alcătuită din 80% bilirubina neconjugată, legată de proteine și fosfatide și cea directă, conjugată cu glucuronizii.

SUBSTANȚE ORGANICE NEAZOTATE

Glucoza. Valorile normale variază între 3,3-5,5 mmol/L și este rezultanta intervenirii unui complex de factori endocrino-enzimatici. Glucoza plasmatică provine din alimentație, glicogenoliză (ficat) și gluconeogeneză (ficat, rinichi). Variațiile patologice se manifestă preponderent în diabetul zaharat (valori mari), iar hipoglicemiile se pot întâlni în hiperinsulinism, tulburări de resorbție renală, afecțiuni ale ficatului, insuficiență suprarenală și altele. Sunt descrise mai multe metode de depistare, dar cea cu ortoluidină este internațional standardizată. În ultimul timp intră în practica de laborator și metodele enzimatic.

Dintre principalele *componente lipidice* ne referim la următorii constituenți: colesterol, trigliceride, acizii grași liberi, fosfatidele, acizii biliari. Ultimii se găsesc în ser la indivizii sănătoși, în concentrații mici. Creșterea concentrației acizilor biliari se produce în icterele obstructive și în cele hepatocelulare.

Dintre *acizii organici* este prezent în ser un important produs al glicolizei anaerobe – *acidul lactic*. E de origine eritocitară sau musculară, organe unde este intensă glicoliza anaerobă. Sunt descrise valori mari în ser după efort fizic, în insuficiență cardiacă, în hepatopatii.

O concentrație mică o are și *acidul piruvic* – produs intermediar (0,14-2 $\mu\text{mol/L}$) al metabolismului. Crește vădit concentrația lui în deficiența de vit. B , în alcoolism și în efort fizic intensiv. În insuficiența renală apare în concentrații majoré *acidul guanidino-succinic*.

Sunt prezenți în sînge, în concentrație mică, și *corpții cetonici* (100-600 $\mu\text{mol/L}$). Creșteri deosebite sunt depistate în diabet, inaniție și alte patologii.