

# 1

## HEMATOPOYESIS. HEMATÍES: ESTRUCTURA Y FUNCIÓN

C. García de Insausti, J. M. Moraleda Jiménez

*Introducción. Células madre o células stem. Diferenciación de las células hemáticas. Factores estimuladores del crecimiento de colonias. Factores inhibidores. Eritropoyesis. Hematíe: estructura y función. Estructura del eritrocito. Funciones del eritrocito*

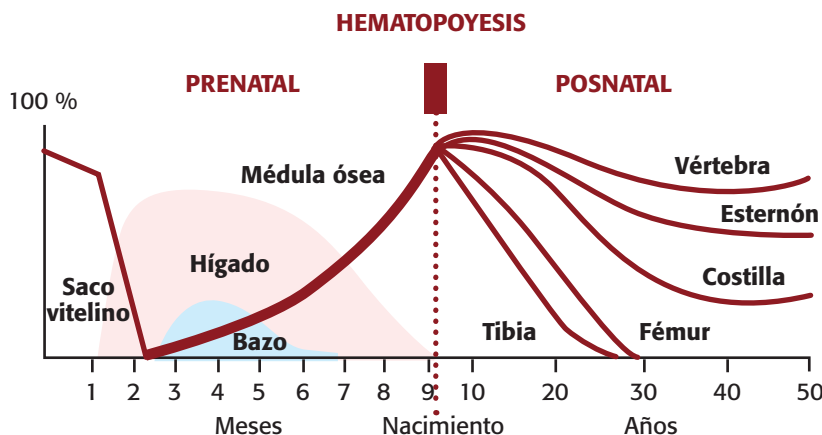
### INTRODUCCIÓN

La hematopoyesis es el proceso biológico que da lugar a la formación de las células sanguíneas: hematíes, leucocitos y plaquetas. Estas células tienen una vida media relativamente corta, por lo que, para mantener sus niveles estables a lo largo de toda la vida, es necesario una renovación permanente y ajustada a la demanda de las necesidades periféricas. La vida media de los hematíes es de unos 120 días, la de las plaquetas, de 8 a 10 días, y la de los leucocitos varía según su tipo. Así, los granulocitos, tras unas 8 o 10 horas en el torrente circulatorio, migran a los tejidos donde sobreviven durante 1 o 2 días, mientras que los linfocitos viven durante varios años. La producción diaria de hematíes y plaquetas se aproxima a las 2.500 millones por kilo de peso, y la de leucocitos, a 1.000 millones/kg.

La hematopoyesis en el ser humano tiene diferentes localizaciones anatómicas a lo largo del desarrollo embrionario. Como puede verse en la **figura 1**, la producción de células sanguíneas comienza en el saco vitelino durante las primeras

semanas de gestación, con agregados de células madre formando islotes sanguíneos. Se piensa que estos agregados primigenios son también precursores de las células endoteliales. Entre el segundo y el séptimo mes, el hígado y en menor grado el bazo, los ganglios linfáticos y el timo, son los lugares más importantes de producción; a partir del séptimo mes, la médula ósea (MO), que es el tejido que se encuentra entre las trabéculas óseas, se convierte en el órgano hematopoyético principal hasta el nacimiento; desde entonces es el único foco de hematopoyesis en condiciones normales. Esto indica que las células madre son capaces de emigrar.

En el recién nacido, el tejido hematopoyético activo (MO roja) rellena las cavidades de todos los huesos. Entre los 5 y los 20 años, los huesos largos van perdiendo lentamente su capacidad de producir células hemáticas y, a partir de los 20 años, el tejido hematopoyético se reduce a las vértebras, al esternón, a las costillas y a la pelvis. El hígado y el bazo mantienen una capacidad residual para la producción de células sanguíneas y, solo en circunstancias patológicas, reasumirán sus funciones



► **Figura 1.** Localización de la hematopoyesis en el ser humano.

hematopoyéticas ocasionando la denominada hematopoyesis extramedular.

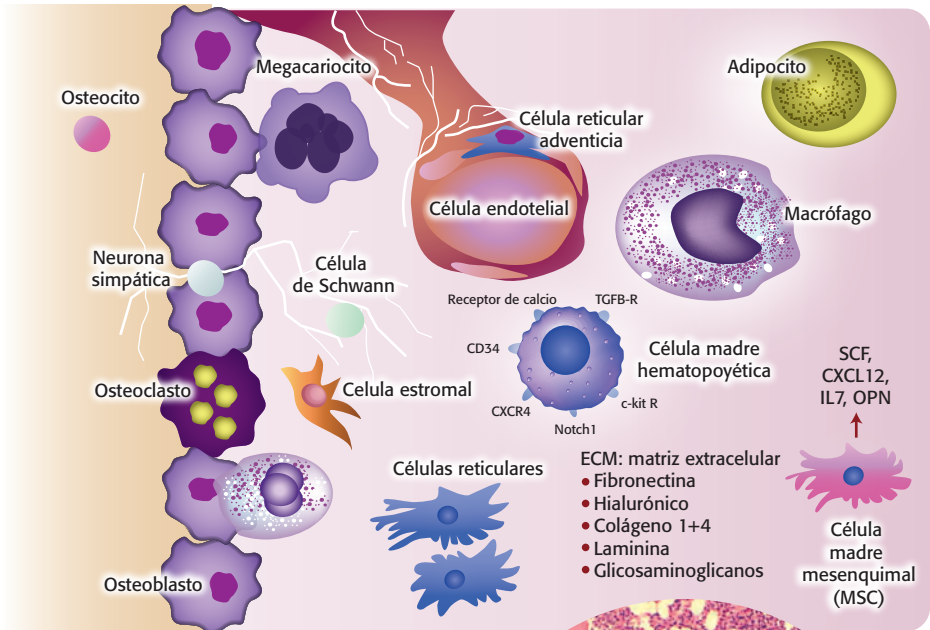
La MO proporciona un microambiente óptimo para el anidamiento, la proliferación y la diferenciación de las células madre hematopoyéticas. El microambiente hematopoyético está constituido por un conjunto de células (endoteliales, reticulares adventiciales, macrófagos, linfocitos, adipocitos, osteoblastos), factores solubles (factores de crecimiento, citocinas, interleucinas, quimiocinas) y proteínas de la matriz extracelular (fibronectina, colágeno, laminina, etc.), esenciales para el desarrollo normal de las células madre y la regulación de sus funciones. La comunicación intercelular y con la matriz extracelular se realiza mediante moléculas adhesivas y sus ligandos, así como por factores solubles.

El tejido hematopoyético, por medio de receptores de anclaje o moléculas de adhesión: VLA-4 (del inglés *very late antigen 4*), VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*), ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule 1*), ICAM-3 (*intercellular adhesion molecule 3*), PECAM-1 (*platelet endothelial cell adhesion molecule 1*),

etc., se sitúa en nichos específicos formados por las células del estroma, entre los sinusoides medulares (**fig. 2**). En un momento crítico de la secuencia madurativa, se produce el paso de las células hematopoyéticas diferenciadas desde los cordones medulares a la sangre periférica (SP) a través de la pared sinusoidal, que está constituida por el endotelio, la membrana basal y la capa adventicia. Las células sanguíneas, a su paso de salida, deben producir aperturas en las endoteliales, lo que supone una barrera selectiva de primer orden; además, la capa adventicia modula la intensidad del paso de las células medulares a la circulación. En determinados procesos patológicos (infiltración neoplásica, fibrosis) se altera la estructura de la pared sinusoidal, lo que facilita el paso de células inmaduras a la SP.

## CÉLULAS MADRE O CÉLULAS STEM

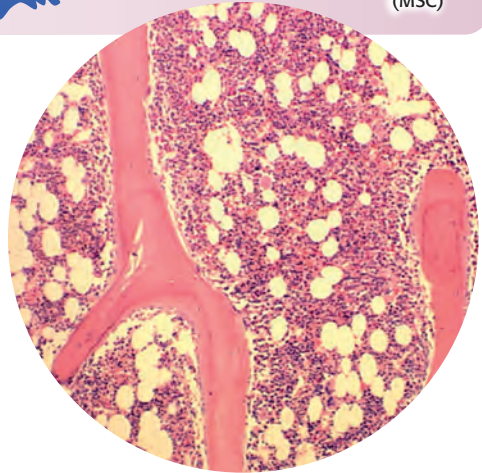
Las células madre o *stem* se definen por su capacidad de autorrenovación para dar origen a otras células madre, y su ca-



► **Figura 2.** Estructura de la médula ósea normal. A la derecha se observa una imagen real de biopsia ósea.

pacidad de diferenciación hacia uno o varios linajes de células diferenciadas maduras. En la actualidad, se distinguen tres grupos de células madre:

- *La célula madre totipotencial*, que es capaz de producir cualquier célula del cuerpo, incluyendo los tejidos extraembrionarios.
- *La célula madre pluripotencial*, que tiene la capacidad de producir células de cualquiera de las tres capas germinales (endodermo, mesodermo y ectodermo). Puede dar origen a cualquier célula fetal o adulta, pero no tiene el potencial para producir tejido extraembrionario, como la placenta.
- *La célula madre multipotencial*, que tiene la capacidad de producir células específicas de una misma



capa germinal (endodermo, mesodermo o endodermo). Se encuentran en todos los tejidos en muy pequeña proporción y son las encargadas de reemplazar las células destruidas en los mismos. La célula madre hematopoyética es el prototipo de célula madre multipotencial que da origen a todas las células de la sangre y del sistema inmune, y mantiene la hematopoyesis durante toda la vida del individuo.

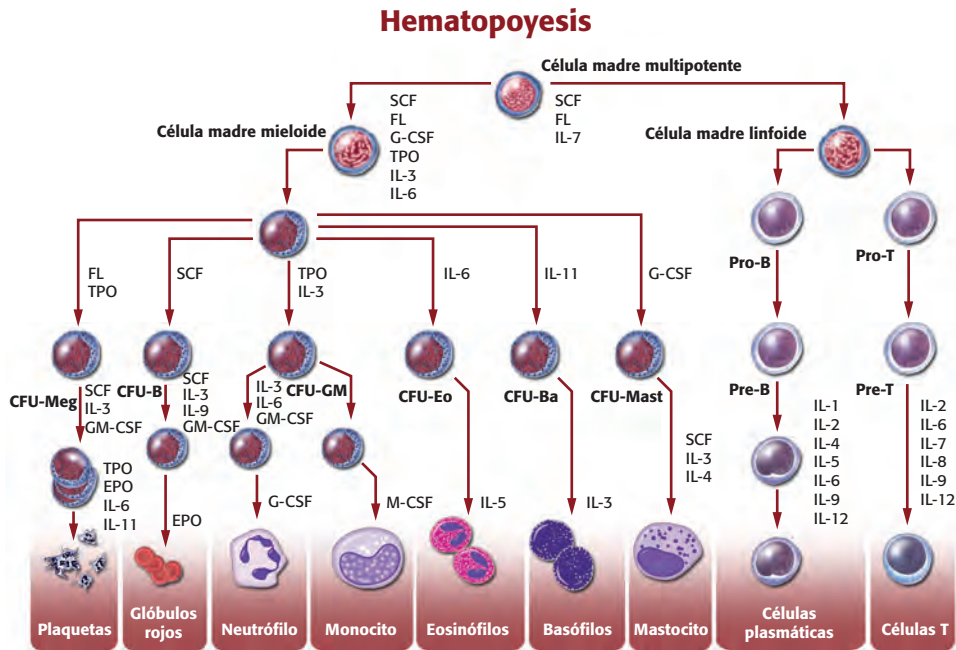
Desde el punto de vista morfológico, la célula madre o *stem* hematopoyética es pequeña, mononucleada e irreconocible por microscopia convencional, por lo que su estudio precisa técnicas de cultivo *in vitro*, selección celular, estudios inmunológicos y ultraestructurales. Su cantidad se cifra en 1-5 por cada 10.000 células nucleadas de la MO, y, aunque en mucho menor número, también están presentes en la SP, donde aumentan significativamente tras la aplicación de quimioterapia o el empleo de factores de crecimiento hematopoyéticos recombinantes.

La utilización de anticuerpos monoclonales que reconocen moléculas de superficie expresadas selectivamente en las células madre hematopoyéticas ha permitido separar estas células de otras células presentes en la MO. El

empleo de estos anticuerpos ha evidenciado que las células madre hematopoyéticas son positivas para los antígenos CD34, c-kit (CD117) y Thy-1 (CD90), y son negativas para HLA-DR, CD15 y CD77. Las células CD34+ son las que se utilizan para el trasplante de progenitores hematopoyéticos.

## DIFERENCIACIÓN DE LAS CÉLULAS HEMÁTICAS

La hematopoyesis se desarrolla de una manera dinámica a lo largo de varios escalones de diferenciación, bajo el influjo del microambiente medular (**fig. 3**). La información obtenida con el empleo de cultivos celulares, inmunofenotipo, secuenciación genética y otras técnicas, ha permitido construir un mo-



► **Figura 3.** Esquema de la hematopoyesis y lugares de actuación de los factores de crecimiento más importantes.

CFU: unidades formadoras de colonias; SCF: *stem cell factor*, factor estimulador de células *stem*; EPO: eritropoyetina; FL: ligando de flt3; IL: interleucina; TPO: trombopoyetina.

delo jerárquico del sistema hematopoyético. Según este modelo, en el vértice de la jerarquía se encuentran las células madre en estado quiescente (fase G0 del ciclo celular), que tienen capacidad de autorrenovación indefinida. Estas células, al ser estimuladas por diversos factores del nicho medular, entran en ciclo celular, y van proliferando y diferenciándose escalonadamente en un complejo proceso de expansión y maduración que puede demostrarse en los cultivos de colonias *in vivo*, en los que podemos identificar los siguientes tipos:

- **Células progenitoras UFC-LM** (unidades formadoras de colonias linfoides y mieloides): con capacidad de autorrenovación y diferenciación hacia la línea celular linfóide y mieloide.
- **Células progenitoras UFC-GEMM** (unidades formadoras de colonias granulocíticas, eritroides, monocíticas y megacariocíticas), cuya capacidad de diferenciación está restringida a la línea mieloide, y las células progenitoras UFC-L (unidades formadoras de colonias linfoides) que se diferencian a la línea linfóide. Ambos tipos de células tienen capacidad de autorrenovación muy limitada.
- **Células progenitoras ya comprometidas en su diferenciación** a cada una de las líneas celulares específicas, eritroide (BFU-E, del inglés *burst forming unit-erythroid*), granulomonocítica (UFC-GM) o megacariocítica (UFC-Meg).
- **Células precursoras**: que corresponden a las células morfológicamente reconocibles con el microscopio (mieloblastos, promonocitos, eritroblastos, megacariocitos, etc.).
- **Células maduras**: las cuales no tienen capacidad de división y son funcionalmente activas (leucocitos, hematíes y plaquetas).

El paso de las células madre a través de los progenitores multipotentes, oligopotentes y específicos de línea se acompaña de un aumento en el índice proliferativo que persiste hasta los precursores morfológicamente reconocibles, y permite la amplificación en el número de células diferenciadas a partir de una célula madre única. Paralelamente, se va produciendo una secuencia de cambios morfológicos, que reflejan el estado madurativo de las células. Inicialmente son muy inmaduras (poseen mucho núcleo y nucléolos, con escaso citoplasma), y, a medida que avanza la maduración, disminuye el núcleo, desaparece el nucléolo y aumenta el citoplasma.

El proceso de diferenciación a una u otra línea parece ser aleatorio (estocástico), pero las condiciones locales del nicho, las concentraciones de factores de crecimiento hematopoyético y las señales directas emitidas por las células del estroma medular inclinan la diferenciación a una línea determinada.

Las células madre son capaces de producir células hematopoyéticas en cultivos a largo plazo (LTCIC). Esta capacidad, unida a la posibilidad de reconocerlas y seleccionarlas inmunofenotípicamente por la presencia en su membrana del antígeno CD34, es lo que se aprovecha para su recolección y empleo en los trasplantes de células madre periféricas (**fig. 2**).

## FACTORES ESTIMULADORES DEL CRECIMIENTO DE COLONIAS

El microambiente o nicho medular no solo ofrece un lecho medular a la hematopoyesis, sino que aporta factores estimulantes e inhibidores a través de una acción local directa de naturaleza paracrina.



Las técnicas de cultivo *in vitro* han demostrado la existencia de factores solubles necesarios para la supervivencia, proliferación y maduración de las colonias. Son los denominados factores estimuladores del crecimiento de colonias (CSF, del inglés *colony stimulating factor*) o factores de crecimiento hematopoyético. Dichos factores son sintetizados por los macrófagos, linfocitos T estimulados (linfocinas), células endoteliales y fibroblastos; aunque también se producen en lugares distantes y son transportados a la MO, como la eritropoyetina (EPO), que se produce en las células intersticiales del riñón. Los CSF son glicoproteínas codificadas por genes que se han clonado y actualmente se producen a escala comercial (**tabla I**). Aunque cada factor actúa sobre los receptores de una célula concreta, en general se necesitan varios de ellos actuando de forma coordinada para inducir la diferenciación hacia una línea determinada (**fig. 3**).

A los factores que actúan sobre células más primitivas o inducen diferenciación en cualquier dirección se les clasifica como clase I. Entre ellos cabe destacar

el *stem cell factor* o c-kit, la interleucina (IL) 3, el factor granulocito/monocito (GM-CSF) y la IL-6.

Los factores de clase II actúan sobre progenitores más maduros y son específicos para cada línea celular: granulocito (G-CSF), macrófago (M-CSF), EPO y trombopoyetina (TPO). Estos factores no solo son necesarios para la proliferación y diferenciación de las células progenitoras, sino que también mejoran la función de las maduras.

Es interesante resaltar que los genes para los factores GM-CSF y M-CSF, así como el oncogén *c-fms* (que codifica el receptor celular para el factor M-CSF), están localizados en la región q2-q3 del cromosoma 5. Las anomalías en esta región predisponen a padecer síndromes mielodisplásicos y leucemias mieloblásticas. El gen de la EPO está localizado en el cromosoma 7, región q11-q12, que es una zona asociada con las anomalías cromosómicas presentes en las leucemias secundarias. Estos datos parecen establecer una relación entre estos factores y los procesos hematológicos neoplásicos que se estudiarán en capítulos posteriores.

**Tabla I. Factores de crecimiento hematopoyético y citocinas**

**Estímulo de estadios iniciales de la hematopoyesis**

- *Stem cell factor* (c-kit)
- IL-3, IL-6, IL-11, IL-12
- GM-CSF (progenitores mieloides)
- IL-7 (progenitores linfoides)

**Estímulo de estadios más avanzados**

- Basófilos y mastocitos: IL-4
- Eosinófilos: IL-5
- Neutrófilos: G-CSF
- Monocitos: M-CSF
- Precursores eritroides: eritropoyetina
- Megacariocitos: trombopoyetina

GM-CSF: factor estimulador del crecimiento de granulocitos/monocitos; IL: interleucina; M-CSF: factor estimulador del crecimiento de macrófagos.

## FACTORES INHIBIDORES

Las células hematopoyéticas también son moduladas por sustancias inhibidoras como las isoferritinas ácidas y las chalonas procedentes de los granulocitos maduros, u otras como los interferones o el factor de necrosis tumoral (TNF) y el factor de crecimiento transformante beta (TFG- $\beta$ ). Algunas de estas sustancias tienen acciones opuestas, dependiendo de la serie celular sobre la que actúen; por ejemplo, la prostaglandina E, *in vitro*, inhibe el crecimiento de las UFC-GM, mientras que estimula el de la BFU-E; del mismo modo, la MIP-1 alfa (del inglés *macrophage inflammatory protein-1 alfa*) inhibe la formación de colonias multipotentes y estimula la de los precursores más comprometidos.

Como puede verse en la **tabla II**, existen diferentes circunstancias que influyen en el aumento o disminución de las células sanguíneas. La regulación de las células progenitoras medulares, para que mantengan un nivel adecuado de elementos formes maduros en la SP, es un proceso complejo en el que intervienen tanto las señales del microambiente medular (a través de contactos intercelulares), como señales de retroalimentación generadas en los tejidos periféricos basados en sus necesidades y vehiculadas por diferentes moléculas (factores de crecimiento, hormonas, factores de transcripción) que actúan como ligandos para los que las células madre tienen receptores.

## ERITROPOYESIS

Es el proceso de formación de los hematíes. Su objetivo es mantener un número relativamente constante de eritrocitos circulantes que aseguren las necesidades de oxígeno de los tejidos. Ello requiere unos mecanismos

de regulación que equilibren la tasa de producción con la destrucción fisiológica y la aumenten en condiciones patológicas (**fig. 4**).

La primera célula progenitora comprometida hacia la línea eritroide es la BFU-E (del inglés *burst forming unit-erythroid*), definida así por su capacidad de formar una gran colonia con cientos de células rojas en medio de cultivo. A partir de ella surge la CFU-E (del inglés *colony forming unit-erythroid*), un progenitor más diferenciado que en cultivos semisólidos forma pequeñas colonias eritroides. En contraste con la BFU-E, que en su membrana tiene antígenos de superficie como el CD34, CD133, CD33 y receptores para la IL-3 y el GM-CSF, la membrana de la CFU-E expresa una gran cantidad de receptores para la EPO, la transferrina (CD71) y la glicoforina A. La maduración de la CFU-E da lugar al proeritroblasto, que es el primer precursor eritroide reconocible morfológicamente en la MO.

El proceso de transformación del proeritroblasto, una célula grande con núcleo redondeado, nucléolos bien definidos y citoplasma intensamente basófilo, en el hematíe, una célula con un volumen 10 veces menor, anucleada y llena de hemoglobina, se produce en 45 divisiones sucesivas, durante las cuales el citoplasma va madurando y se expulsa el núcleo. Se elabora así una pirámide en la que cada proeritroblasto, en un periodo de 5 días de maduración en la MO, produce de 16 a 32 reticulocitos. El reticulocito ya no se divide, pero aún permanece 24 horas en la médula antes de pasar a la SP, donde finalmente se transformará en un eritrocito maduro (**fig. 4**).

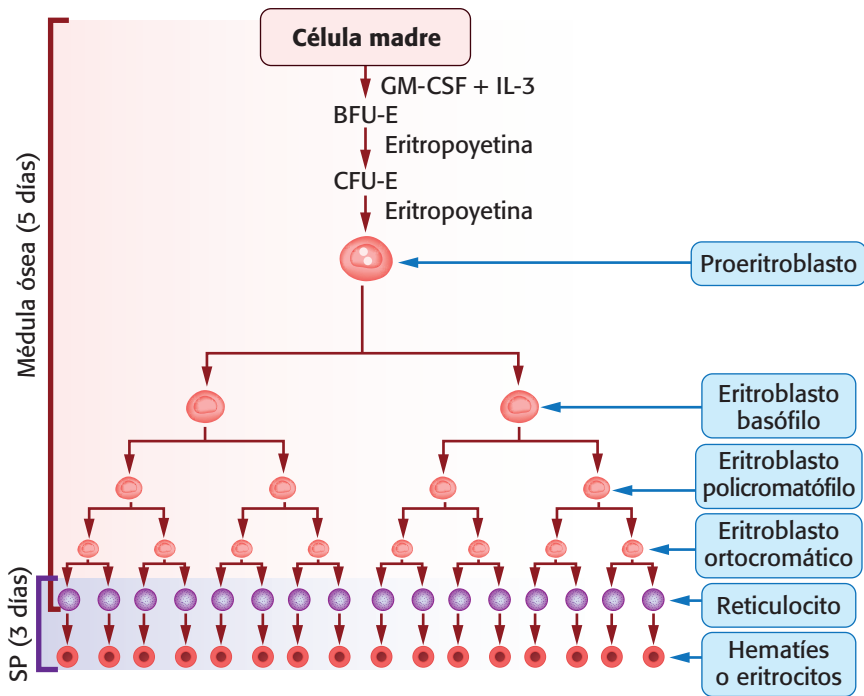
Los cambios morfológicos que se producen desde la célula madre eritroide hasta el eritrocito maduro implican una intensa actividad bioquímica. Los precursores eritroides, al ir madurando, tienen

**Tabla II. Circunstancias que influyen en la producción de células sanguíneas**

Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos	Monocitos	Linfocitos	Hematíes	Plaquetas
<b>Aumento</b>						
<ul style="list-style-type: none"><li>• Infecciones e inflamaciones</li><li>• Fármacos (esteroides, histamina, adrenalina)</li><li>• Trauma físico</li><li>• Estrés emocional</li><li>• Tumores</li><li>• Idiopáticas</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Enfermedades alérgicas</li><li>• Enfermedades autoinmunes</li><li>• Endocrinopatías</li><li>• Parasitosis</li><li>• Picaduras</li><li>• Hemopatías</li><li>• Neoplasias mucoscretoras</li><li>• Congénitas</li><li>• Idiopáticas</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• SMP (LMC, PV)</li><li>• Mixedema</li><li>• Hipersensibilidad retardada (IV)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Infecciones (TBC, leishmaniosis, brucelosis paludismo)</li><li>• Hemopatías: (LMA, LMMC, Hodgkin)</li><li>• Colagenosis</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Reactivas: víricas, bacterianas, toxoplasma, hipersensibilidad a fármacos</li><li>• No reactivas: LLA, LLC, linfoma</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Hipoxia</li><li>• Tumores renales, hepáticos, hemangiomas cerebelosos</li><li>• Estrés</li><li>• Andrógenos</li><li>• Policitemia vera</li><li>• Familiar</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Tumores</li><li>• Hemorragias</li><li>• Infecciones</li><li>• Inflamaciones</li><li>• Ferropenia</li><li>• Esplenectomía</li><li>• Trauma</li></ul>
<b>Disminución</b>						
<ul style="list-style-type: none"><li>• Infecciones</li><li>• Inmunoalergias: agranulocitosis de Schulz</li><li>• Hiperesplenismo</li><li>• Idiopáticas</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Fiebre tifoidea</li><li>• Brucelosis</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Hipersensibilidad de tipo 1</li><li>• Hipertiroidismo</li><li>• Cushing</li><li>• Heparina</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Esteroides</li><li>• Endotoxinas bacterianas</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Inmunodeficiencias</li><li>• Irradiaciones</li><li>• Citostáticos</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Anemias</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Causa central</li><li>• Hiperesplenismo</li><li>• Infecciones</li><li>• Fármacos</li><li>• Inmunológicas (CID, PTT, SHU)</li></ul>

CID: coagulación intravascular diseminada; LLA: leucemia linfoblástica aguda; LLC: leucemia linfocítica crónica; LMA: leucemia mieloide aguda; LMC: leucemia mieloide crónica; LMMC: leucemia mielomonocítica crónica; PTT: púrpura trombótica trombocitopénica; PV: policitemia vera; SHU: síndrome hemolítico urémico; SMP: síndromes mieloproliferativos; TBC: tuberculosis.





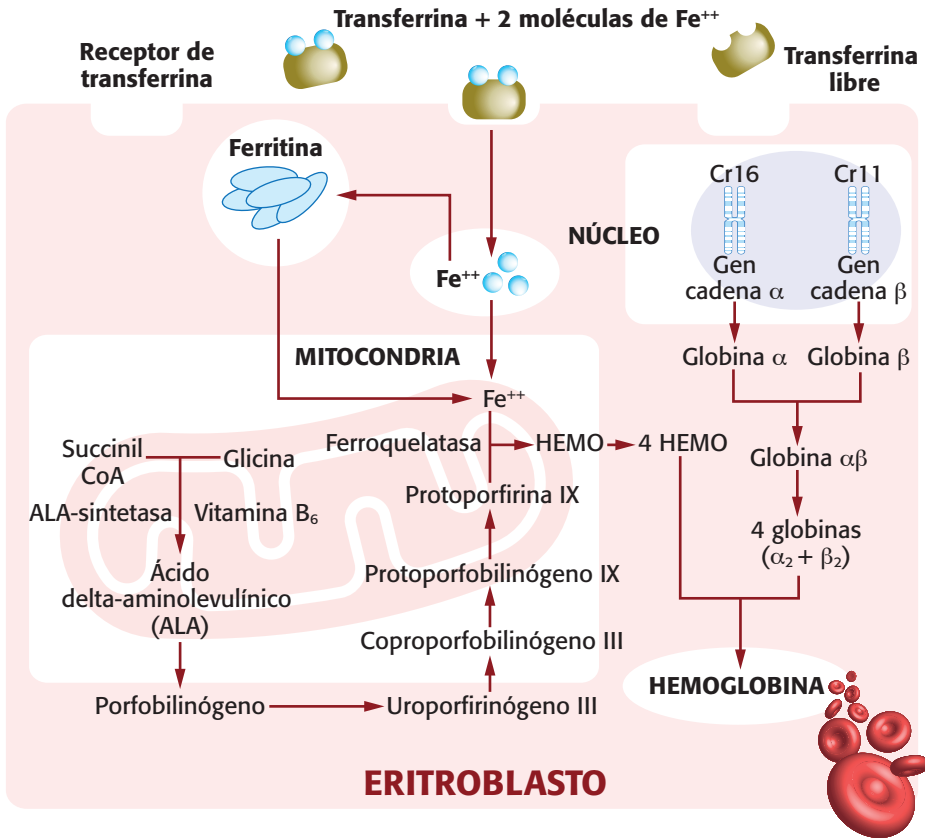
► **Figura 4.** Esquema de la eritropoyesis.

BFU-E: *burst forming unit-erythroid*; CFU-E: *colony forming unit-erythroid*; GM-CSF: factor estimulador del crecimiento de granulocitos/monocitos; IL: interleucina; SP: sangre periférica.

que producir hemoglobina (Hb), lo que requiere la síntesis de cuatro cadenas polipeptídicas de globina y cuatro moléculas del grupo hemo. El eritroblasto en desarrollo tiene intrínsecamente todo lo que necesita para la síntesis de Hb, excepto el hierro, que es transportado desde el plasma por la transferrina, entra en él a través de receptores de la membrana y es transferido a las mitocondrias, donde, por combinación con el anillo de protoporfirina, se sintetiza el grupo hemo. La presencia del grupo hemo tiene un efecto sobre la transcripción del ácido ribonucleico (ARN) mensajero del núcleo a los ribosomas que, ya provistos de la información genética adecuada, inician la síntesis de las cadenas de globina. Se sintetizan también todas las proteínas necesarias para el

desarrollo del hematíe, entre ellas las proteínas de membrana que actúan como receptores, algunos de los cuales son específicos para la transferrina (**fig. 5**).

Paralelamente a la maduración citoplásmica se produce la maduración nuclear. A medida que esta progresa, la cromatina, inicialmente distribuida en finos agregados y en la que pueden observarse nucléolos, se agrega, se condensa y se hace más basófila, hasta que finalmente el núcleo es expulsado de la célula. El núcleo arrojado fuera del eritroblasto está rodeado de una pequeña corona de hemoglobina, lo que explica que aparezca un aumento temprano de estercobilina cuando la eritropoyesis está aumentada: los macrófagos fagocitan rápidamente el núcleo aislado.



► **Figura 5.** Síntesis de hemoglobina en el eritroblasto.

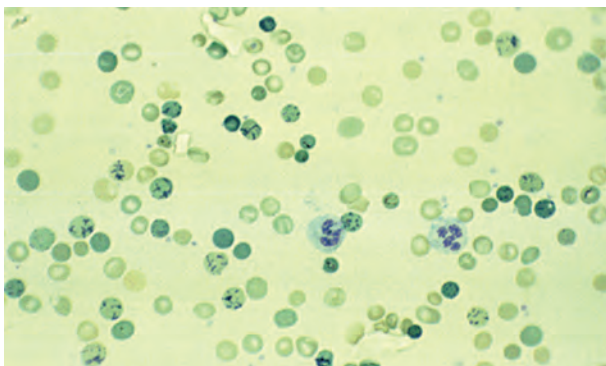
Fe: hierro.

El eritroblasto anucleado es el reticulocito que, al contener polirribosomas y monorribosomas, y por tanto capacidad para sintetizar globina, y también mitocondrias (sintetiza hemo y utiliza oxígeno), mantiene la capacidad de síntesis de Hb. El reticulocito es ligeramente mayor que el eritrocito maduro y se identifica fácilmente por su basofilia difusa, que es conocida como policromatofilia.

El nombre de *reticulocito* proviene del hecho de que su exposición a colorantes supravitales (azul cresil brillante o azul de metileno) produce la agregación de los orgánulos internos, que aparecen como un fino retículo en el citoplasma de la célula (**fig. 6**).

El reticulocito es el estadio en el que se produce el paso a la SP, al perder esta célula sus receptores para la fibrinectina, una proteína adherente que mantiene a los precusores de la serie roja anclados a su nicho medular. Una vez en la SP, el reticulocito se transforma durante las siguientes 24-48 horas en hematíe maduro.

Este proceso se realiza en los estrechos sinusoides del bazo, que permiten un íntimo contacto del reticulocito con los macrófagos esplénicos. Aquí el reticulocito pierde sus receptores para la transferrina, los ribosomas y las mitocondrias, con lo que desaparece su capacidad para sintetizar Hb y de metabolismo oxidativo.



► **Figura 6.** Tinción de azul de cresil brillante. Obsérvense los reticulocitos.

Como veremos en capítulos posteriores, el nivel de reticulocitos en SP es el índice clínico más utilizado para valorar la actividad de la eritropoyesis y está aumentado en las hemorragias y en las anemias hemolíticas.

### Regulación de la eritropoyesis

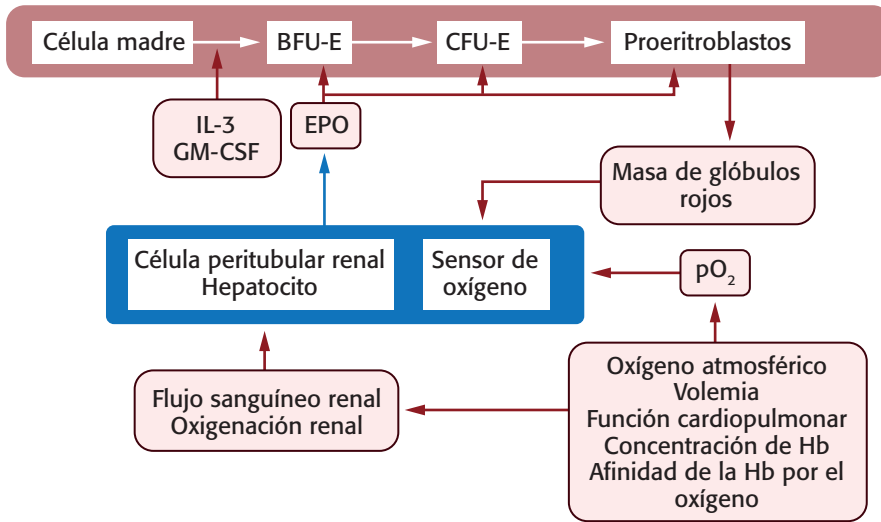
El mecanismo fundamental por el cual los tejidos periféricos expresan su necesidad de oxígeno y regulan la masa de eritrocitos circulantes es la secreción de EPO. Esta es una glicoproteína con residuos de ácido siálico de 34.000 dalton de peso molecular, sintetizada en un 90% por las células peritubulares del riñón y en un 10% por los hepatocitos. La disminución de la presión parcial de oxígeno ( $pO_2$ ) dispara un mecanismo celular conocido como sensor de oxígeno a través del HIF-1 (del inglés *hypoxia-inducible factor-1*), que tiene como resultado la activación de la transcripción del gen de la EPO y un incremento en su producción (**fig. 7**). Como otros factores de crecimiento, la EPO actúa por medio de receptores de superficie y segundos mensajeros citoplasmáticos. La BFU-E contiene pocos receptores y es poco influenciada por la EPO, pero a medida que estos progenitores maduran, el nivel de receptores va aumentando, siendo máximo en la CFU-E y algo menor en los proeri-

troblastos. La EPO es necesaria para la supervivencia de estos progenitores e induce la proliferación y diferenciación de CFU-E en proeritroblastos. Los altos niveles de EPO disminuyen el tiempo de tránsito medular de los eritroblastos con liberación precoz de reticulocitos jóvenes a la SP. Los andrógenos, los esteroides y la tiroxina parecen estimular la eritropoyesis, aumentando la producción de EPO y potenciando su efecto. De igual modo, la TPO favorece la eritropoyesis a diferentes niveles.

La eritropoyesis es influenciada, además, por otros mecanismos independientes de la EPO poco conocidos, entre los que se especula con la existencia de algún producto de la destrucción de los hematíes que actúe como factor estimulante. Ello explicaría el incremento de la producción de hematíes en las anemias hemolíticas crónicas que cursan con niveles normales de EPO. Para una producción celular adecuada y armónica, además de la EPO, se necesitan otros componentes como el hierro, el ácido fólico, las vitaminas  $B_{12}$ ,  $B_6$ ,  $B_1$  y E, cobre, proteínas y carbohidratos.

### HEMATÍE: ESTRUCTURA Y FUNCIÓN

El hematíe (eritrocito, glóbulo rojo) es la célula más numerosa de la sangre



► **Figura 7.** Esquema de la regulación de la eritropoyesis.

BFU-E: *burst forming unit-erythroid*; CFU-E: *colony forming unit-erythroid*; EPO: eritropoyetina; GM-CSF: factor estimulador del crecimiento de granulocitos/monocitos; Hb: hemoglobina; IL: interleucina; pO<sub>2</sub>: presión parcial de oxígeno.

( $4.5 \times 10^{12}/l$ ). Su vida media en la circulación es de 120 a 140 días. Tiene forma de disco bicóncavo, anucleado, de 7,5  $\mu m$  de diámetro, 2  $\mu m$  de espesor en la periferia, 1  $\mu m$  en su parte central y un volumen de 90 fl. El exceso de superficie en relación con el volumen contribuye a su deformabilidad, lo que es clave para su función.

La actividad más importante del eritrocito es la distribución de oxígeno (O<sub>2</sub>) a los tejidos y la retirada de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) de los mismos. Para cumplir dicha función, el eritrocito cuenta con una estructura básica constituida por tres partes que interactúan entre sí, a saber: la membrana, la hemoglobina y los componentes no hemoglobínicos.

proteínas y carbohidratos (**fig. 8**), distribuidos de tal forma que le aseguran al eritrocito su forma circular discoide y lo ayudan a mantener la deformabilidad y la elasticidad necesarias para los múltiples pasos que realiza a través de los estrechos capilares de la microvasculatura. Además, dicha composición le permite al eritrocito el control de su propio medio interno de aniones, cationes y agua. Su cara externa, cargada negativamente, deja difundir aniones libremente y aporta las fuerzas repulsivas electrostáticas necesarias para evitar que se adhiera o agregue al endotelio. La membrana eritrocitaria es responsable, además, de su diversidad antigénica.

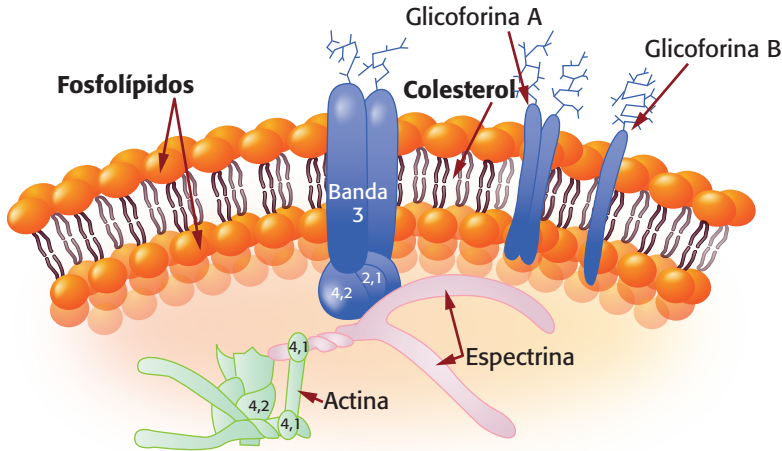
## ESTRUCTURA DEL ERITROCITO

### Membrana

Como todas las membranas biológicas, está compuesta por lípidos,

### Lípidos

Constituyen aproximadamente el 40% de la membrana del hematíe y están representados básicamente por fosfolípidos, colesterol no esterificado



► **Figura 8.** Esquema de la membrana del hematíe.

y escasos glicolípidos. Se disponen formando una doble capa en la que los fosfolípidos y el colesterol no esterificado se distribuyen equimolecularmente. Las porciones hidrófilas de los fosfolípidos están en contacto con las soluciones acuosas del interior y del exterior de la célula, mientras que los grupos hidrófobos, conjuntamente con el colesterol, se orientan hacia la parte interna de la bicapa. En la doble capa, los cuatro fosfolípidos más importantes están distribuidos irregularmente; así, la fosfatidilcolina y la esfingomielina se ubican predominantemente en la capa externa, y la fosfatidiletanolamina y la fosfatidilserina, junto con los constituyentes fosfoinosíticos menores, hacia la capa interna. El colesterol se encuentra distribuido igualmente entre las dos capas (**fig. 8**). El confinamiento de la fosfatidilserina hacia la parte interna le asegura la supervivencia al eritrocito, puesto que el macrófago reconoce y fagocita a los eritrocitos que la exponen hacia la superficie externa. Tal confinamiento evita igualmente la adhesión de los eritrocitos a las células del endotelio

vascular. La proporción de colesterol/fosfolípidos es un factor determinante de la deformabilidad de la membrana, de modo que un aumento de colesterol tiende a hacer a la membrana más rígida y a producir los cambios de forma, que se conocen como acantocitosis.

Los lípidos de la membrana del hematíe están en continuo y lento intercambio con los lípidos del plasma, de forma que los cambios en la composición lipídica del plasma que pueden ocurrir en algunas enfermedades (por ejemplo, hepatopatías) son responsables de los cambios que se observan en la morfología de los hematíes en dichas patologías.

### Proteínas

Constituyen el 50% de la membrana del hematíe y comprenden dos grandes grupos: las proteínas integrales y las del esqueleto o periféricas, ambas estudiadas mediante técnicas de electroforesis en geles de poliácridamida, que las separa según su peso molecular en diferentes bandas fácilmente identificables.



Las proteínas integrales se hallan parcial o totalmente integradas en la bicapa lipídica, a la que se unen mediante enlaces de carácter apolar, de manera que pueden desplazarse a lo largo de la misma libremente. Se han caracterizado más de 50 proteínas integrales; la mayoría son glicoproteínas ricas en ácido siálico, con los residuos hidrocarbonados dispuestos hacia el exterior de la membrana, lo que contribuye a formar los antígenos de los grupos sanguíneos y otros determinantes antigénicos en una estructura denominada glicocálix (**fig. 8**). Las más importantes son la banda 3 y las glicoforinas, las cuales participan en el mantenimiento de la forma eritrocitaria mediante anclajes o interacciones verticales con proteínas del citoesqueleto, lo que permite la fijación de este último a la capa lipídica. La banda 3 mantiene contacto con la ankirina (proteína 2,1) y las proteínas 4,1 y 4,2, mientras que la glicoforina C se une a la proteína 4,1.

La función de las proteínas integrales es variada, algunas sirven como proteínas de transporte, otras como moléculas de adhesión, algunas como receptoras de señales, y a otras no se les conoce su actividad. Entre las que cumplen funciones de transporte están: la banda 3 (transportadora de iones cloro y bicarbonato); acuaporina (transporte de agua); glut 1 (transportadora de glucosa y de ácido dehidroascórbico); proteína antigénica Kidd (transportadora de urea); glicoproteína asociada al Rh (transportadora de gases, probablemente CO<sub>2</sub>), y ATPasa (bombas enzimáticas reguladoras del intercambio de sodio y potasio transmembrana). Como molécula de adhesión funciona la proteína de membrana ICAM-4, que interactúa con integrinas y lamininas.

Las proteínas periféricas forman la malla interna o citoesqueleto del hematíe y están en íntimo contacto con

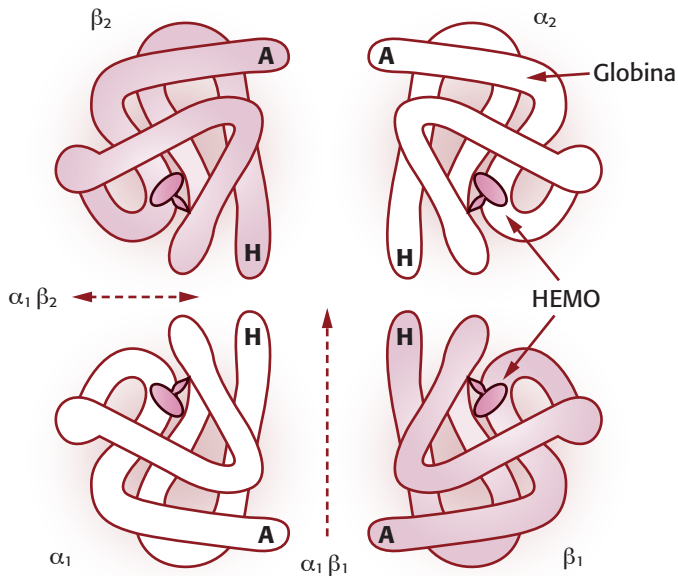
la hemoglobina. Estas proteínas se disocian fácilmente de la membrana, son relativamente solubles en medio acuoso y desempeñan un papel clave en la forma del hematíe. Las más importantes son la espectrina, la actina (proteína 5), la ankirina (proteína 2,1), la proteína 4,1, la aducina, la dematina, la tropomiosina y la tropomodulina. La más abundante es la espectrina, que es una proteína fibrilar compuesta por dos cadenas (alfa y beta) que interactúan entre sí y con el resto de las proteínas citadas, lo que confiere estabilidad estructural al esqueleto y permite la característica deformabilidad del eritrocito.

### **Carbohidratos**

Suponen el 10% de la membrana del hematíe y están presentes como glicolípidos y glicoproteínas. Suelen actuar como determinantes antigénicos de sistemas de grupos sanguíneos como el ABO, Lewis, li, etc.

### **Hemoglobina**

Representa aproximadamente un tercio del volumen del eritrocito. Es una molécula de 68 kDa constituida por cuatro subunidades, cada una de ellas compuesta por una cadena de globina (subunidad proteica) y por un grupo hemo (**fig. 9**). Las cuatro cadenas de globina se disponen en parejas de dos globinas idénticas (p. ej.,  $\alpha_2 \beta_2$ ), y forman una estructura globular con unos huecos o cavidades donde se ubican los grupos hemo. Cada uno de estos está compuesto por un anillo de protoporfirina y hierro que se une a la cadena de globina por un enlace covalente en sitios específicos de la cadena polipeptídica. Las cadenas de globina dejan también un espacio en su región central, para el 2,3-difosfoglicerato



► **Figura 9.** Representación esquemática de la hemoglobina y de la relación entre las cadenas alfa y beta.

(2,3-DPG) de gran importancia funcional (**figs. 10 y 11**). El 65 % de la hemoglobina se sintetiza en el eritroblasto, y el 35 % en el reticulocito (**fig. 5**).

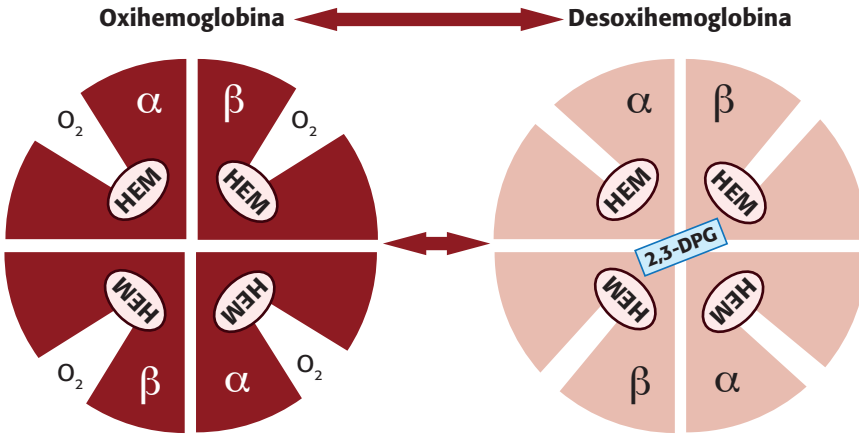
- **Globinas:** el ser humano puede sintetizar seis tipos diferentes de cadenas de globina: alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ), gamma ( $\gamma$ ), delta ( $\delta$ ), épsilon ( $\epsilon$ ) y zeta ( $\zeta$ ), codificadas por genes situados en los cromosomas 11 y 16. Cada molécula de hemoglobina contiene cuatro cadenas, iguales dos a dos. La síntesis de las diferentes cadenas de globina va cambiando durante el desarrollo, de manera que en el feto predomina la hemoglobina F ( $\alpha_2\gamma_2$ ), mientras que en el adulto el 96 % es hemoglobina A ( $\alpha_2\beta_2$ ). El conocimiento de la secuencia de aparición de las cadenas de globina permite comprender la patología

y clínica de los síndromes talasémicos (véase el capítulo 6).

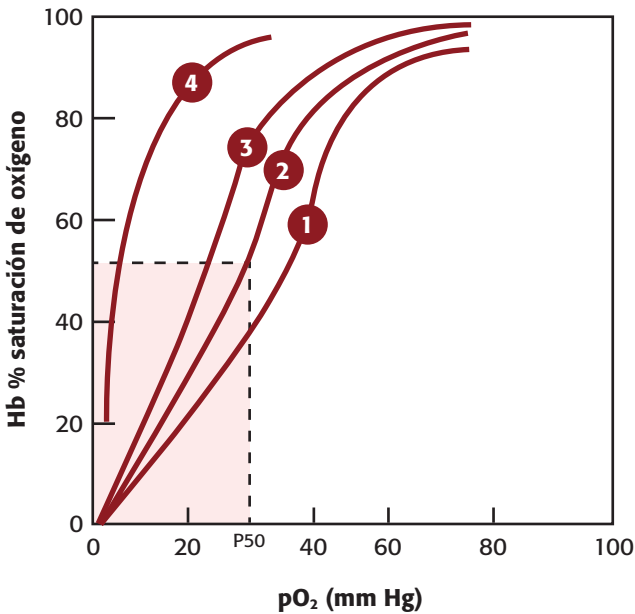
- **Grupo hemo:** compuesto por protoporfirina IX y  $\text{Fe}^{++}$ . La síntesis de protoporfirina se realiza en las mitocondrias tras múltiples reacciones enzimáticas a partir de la glicina y el succinil-CoA, que son transformados en ácido delta-aminolevulínico (ALA) por medio del ALA-sintetasa y la vitamina B<sub>6</sub>. El hierro en estado reducido ( $\text{Fe}^{++}$ ) se incorpora al anillo de la porfirina por acción de la enzima hemo-sintetasa o ferroquelatasa (**fig. 5**). Cuando al grupo hemo se oxida ( $\text{Fe}^{+++}$ ), la hemoglobina se convierte en metahemoglobina y pierde su capacidad de unión con el oxígeno.

### Componentes no hemoglobínicos

Corresponden al agua, sales, sustratos, cofactores y enzimas que permiten



► **Figura 10.** Cambios moleculares de la hemoglobina.  
 2,3-DPG: 2,3-difosfoglicerato.



**\*Variantes de Hb con baja afinidad por oxígeno:**

1. Descenso del pH;  
aumento de 2,3-DPG,  
CO<sub>2</sub> o temperatura.
2. Curva normal de  
disociación Hb.  
Con una pO<sub>2</sub> = 27 mm Hg  
la mitad de las moléculas  
de Hb se encuentran  
saturadas.

**\*Variantes de Hb con mayor afinidad por oxígeno:**

3. Aumento del pH;  
descenso de 2,3-DPG,  
CO<sub>2</sub> o temperatura.
4. Metahemoglobina.

► **Figura 11.** Cursos de disociación de la hemoglobina en diferentes condiciones.  
 2,3-DPG: 2,3-difosfoglicerato; Hb: hemoglobina; pO<sub>2</sub>: presión parcial de oxígeno.

al glóbulo rojo realizar las actividades metabólicas para obtener la energía necesaria para su supervivencia. Como el eritrocito carece de núcleo y de la mayoría de organelas como mitocondrias, no puede sintetizar lípidos o proteínas, ni utilizar el metabolismo oxidativo.

El eritrocito obtiene la energía a través de diversas vías metabólicas que permiten la formación de cuatro sustancias fundamentales para la función de la hemoglobina y para el mantenimiento de las características físicas que necesita el hematíe para sobrevivir en la circulación. Estas son:

- **Adenosina trifosfato (ATP)**, que aporta la energía para:
  - El mantenimiento de la forma y flexibilidad del hematíe.
  - El mantenimiento de los lípidos de la membrana.
  - La puesta en marcha y mantenimiento de las bombas metabólicas que controlan el flujo del sodio y del potasio transmembrana.
- **Dinucleótido de nicotinamida reducido (NADH)**, necesario para reducir el hierro de la metahemoglobina.
- **Glutación reducido (GSH)**, necesario para proteger a la Hb de la desnaturalización oxidativa producida por los peróxidos.
- **2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG)**, requerido para facilitar la liberación de oxígeno desde la Hb en los tejidos e implicado en las reacciones con las proteínas del citoesqueleto de la membrana para el mantenimiento de la deformabilidad normal del hematíe.

Las vías metabólicas se dividen, con fines didácticos, en una principal, la vía glicolítica de Embden-Meyerhof, y dos auxiliares, la derivación de la hexosa-monofosfato y la del 2,3-DPG (**fig. 12**).

### **Vía de Embden-Meyerhof**

El hematíe utiliza el 90% de la glucosa a través de esta vía, produciendo el 75% de la energía que requiere. La degradación de la glucosa a lactato mediante una serie de reacciones anaeróbicas genera una ganancia neta de dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa oxidada. El papel esencial del ATP en el hematíe se ha demostrado al menos en dos condiciones: muerte precoz del hematíe (síndrome hemolítico), debido a defectos heredados de esta vía, y pérdida de viabilidad de los hematíes almacenados *in vitro*, relacionada con la depleción progresiva de ATP.

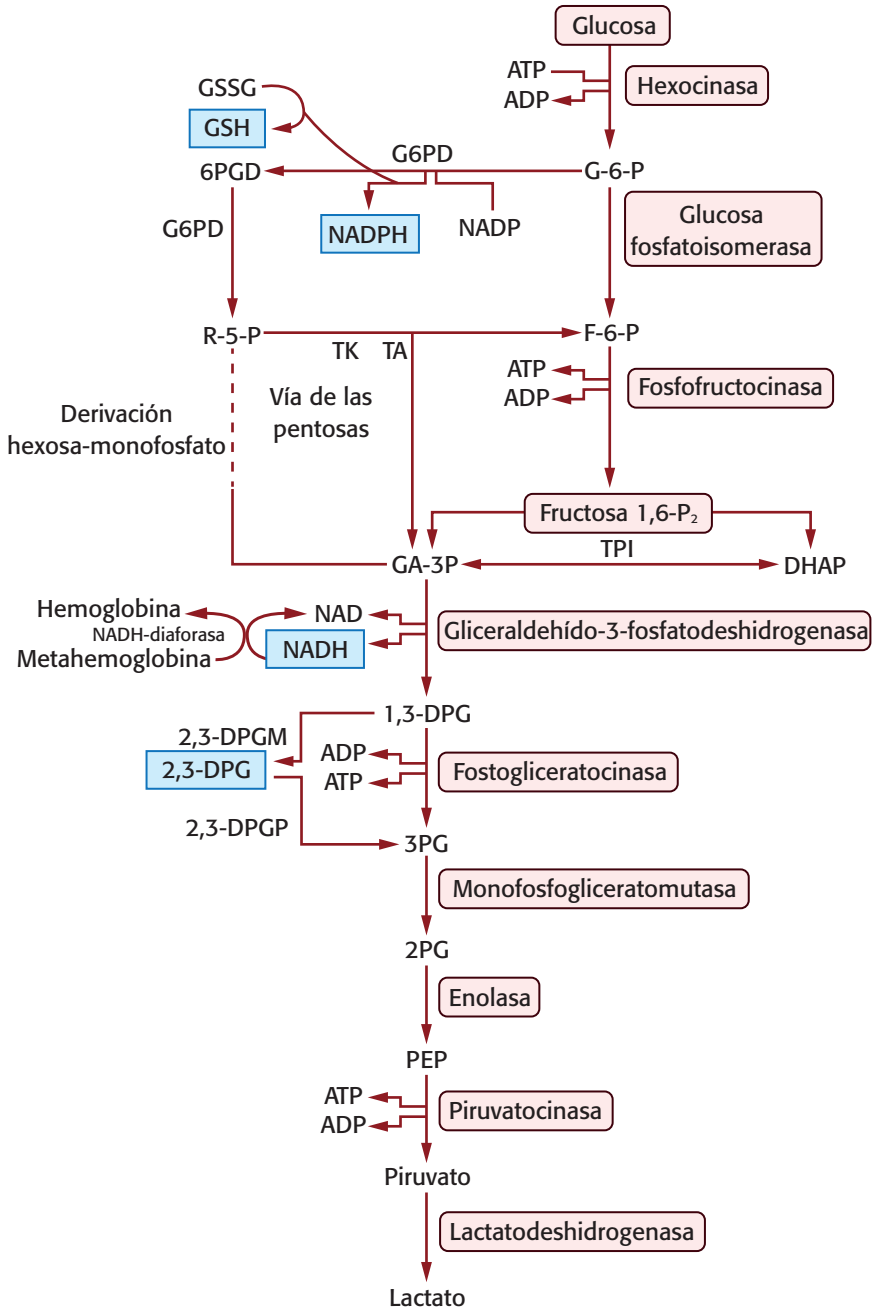
### **Derivación de la hexosa-monofosfato**

Esta vía oxidativa utiliza el 5-10% de la glucosa y produce el 25% de la energía. Es fundamental para la supervivencia normal del hematíe, ya que a través de ella se genera la forma reducida del NADH (NADPH), que se precisa para reducir el glutatión. Si esta vía es deficiente, el GSH será insuficiente para neutralizar los oxidantes que desnaturalizan la Hb y producen su precipitación como agregados unidos a la membrana (cuerpos de Heinz), los cuales son eliminados junto con la porción de la membrana a la que están unidos por los macrófagos del bazo.

Una enzima clave de esta vía es la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G6PD), cuyo déficit congénito constituye la enzimopatía hereditaria más frecuente.

### **Vía de Luebering-Rapaport**

Permite la acumulación de 2,3-DPG en el hematíe, el cual tiene un efecto muy importante sobre la afinidad de la Hb por el oxígeno, al asegurar el man-



► **Figura 12.** Vías metabólicas del eritrocito.

1,3-DPG: 1,3-difosfoglicerato; ADP: adenosina difosfato; ATP: adenosina trifosfato; DPGM: difosfoglicerato-mutasa; DPGP: 2,3-difosfoglicerato-fosfatasa; G6PD: glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa; GA3P: gliceraldehído-3-fosfato; GSH: glutatión reducido; GSSG: glutatión oxidado; NADP: dinucleótido de nicotinamida; NADPH: dinucleótido de nicotinamida reducido; PEP: pentosa-fosfato; PG: fosfogluconato; TA: transaldolasa; TK: transcetolasa; TPI: triosafosfato-isomerasa.



tenimiento de una buena oxigenación tisular en condiciones normales de transporte de oxígeno y garantizar que cuando este disminuya en los tejidos periféricos, la proporción que se extrae en los capilares periféricos aumente.

El 2,3-DPG tiene posiblemente otra función importante, pues al unirse a la espectrina y a la actina debilita las uniones cruzadas entre ellas y facilita la movilidad lateral de las proteínas integrales, con lo cual el hematíe adquiere la deformabilidad necesaria para deslizarse a través de los microcapilares.

## FUNCIONES DEL ERITROCITO

La principal función del eritrocito es el transporte de gases, es decir, del  $O_2$  desde los pulmones a los tejidos y del  $CO_2$  en sentido inverso. Esta función la ejerce completamente a través de la Hb, que además interviene en la regulación del pH sanguíneo merced a su capacidad amortiguadora. La Hb sanguínea tiene dos formas en constante equilibrio: la oxihemoglobina (predominio arterial) y la desoxihemoglobina, que se encuentra en mayor proporción en la sangre venosa (**fig. 10**). La proporción de ambas depende de la concentración de  $O_2$  o  $pO_2$  y de otros factores, como la concentración de 2,3-DPG, el pH y la temperatura. Cuando el hierro del grupo hemo está en estado reducido ( $Fe^{++}$ ) puede unirse reversiblemente con el  $O_2$  y el  $CO_2$ .

Al incorporar la primera molécula de  $O_2$ , la Hb sufre un cambio conformacional que expande la molécula y favorece la incorporación de nuevas moléculas de  $O_2$ . Esto ocurre en lugares con alta  $pO_2$ , como en los capilares pulmonares, de modo que cuanto mayor sea la  $pO_2$ , mayor será la proporción de oxihemoglobina.

En los tejidos, la  $pO_2$  es baja, y la concentración de 2,3-DPG relativamente elevada. Este último se incorpora a su cavidad central y contrae la molécula de Hb, favoreciendo la liberación de oxígeno y la formación de desoxihemoglobina (**fig. 10**).

Estos cambios moleculares se representan gráficamente mediante una curva sigmoidea en la que se puede determinar la afinidad del  $O_2$  por la Hb mediante la  $pO_2$  a la que la Hb se satura en el 50% (P50). Si la curva de disociación de la Hb se desplaza a la derecha, la P50 aumenta y la afinidad por el  $O_2$  disminuye (**fig. 11**).

Para llevar a cabo su función, el hematíe de 7,5  $\mu$  de diámetro tiene que deformarse, pasar a través de capilares de 3  $\mu$ , resistir la presión a través de la válvula aórtica y sobrevivir el paso por el bazo y otros órganos del sistema reticuloendotelial. El eritrocito ha de tener, por tanto, capacidad de deformarse, deslizarse y circular a través y junto a otras células, sin que se produzca su agregación, fragmentación o fusión, características que son aseguradas por su estructura y su maquinaria metabólica.

