



TECIDO SANGUÍNEO

curso • **Histología**

• TECIDO SANGUÍNEO

O sangue consiste em tecido conjuntivo líquido que circula pelo corpo através do bombeamento realizado pelas contrações rítmicas do coração através do sistema cardiovascular. O sangue é composto por células e por um componente extracelular. O volume total de sangue em um adulto médio é de aproximadamente 6 ou 7 litros a 8% do peso corporal total.

O sangue possui a função de garantir o suprimento de nutrientes e de oxigênio direta ou indiretamente às células; o transporte de produtos de degradação e dióxido de carbono a partir das células; o transporte de hormônios e outras substâncias para as células; a manutenção da homeostasia, atuando como tampão e participando da coagulação e da termorregulação; e o transporte de agentes humorais e células do sistema imune.

O sangue consiste em células e em um líquido rico em proteínas, denominado plasma. As células sanguíneas e seus derivados incluem consistem nos eritrócitos (hemácias), leucócitos e plaquetas (trombócitos). O plasma consiste em material extracelular líquido que garante propriedades líquidas ao sangue. O volume de células e de plasma no sangue total é de aproximadamente 45 e 55%, respectivamente.

Os leucócitos e as plaquetas representam apenas 1% do volume sanguíneo, pois em uma amostra de sangue centrifugada, a fração celular (quantidade de células) consiste principalmente em eritrócitos concentrados (aproximadamente 99%). Os leucócitos e as plaquetas se encontram em uma estreita camada de coloração clara entre os eritrócitos e o plasma, o chamado creme leucocitário.

• PLASMA

Mais de 90% do plasma consiste em água, que serve de solvente para uma os solutos, como proteínas, gases dissolvidos, eletrólitos, nutrientes, substâncias reguladoras e materiais de degradação. Os solutos no plasma mantêm a homeostasia, um estado de equilíbrio dinâmico que proporciona pH e osmolaridade ideais para o metabolismo celular.



As proteínas plasmáticas são principalmente a albumina, as globulinas e o fibrinogênio. A albumina é o principal e menor constituinte proteico do plasma, representando quase metade das proteínas plasmáticas totais. A albumina é produzida no fígado e é responsável por manter o gradiente de concentração entre o sangue e o líquido extracelular.

A pressão osmótica sobre a parede do vaso sanguíneo, chamada pressão coloidosmótica, mantém a proporção certa entre sangue e volume de líquido tecidual. Se quantidades importantes de albumina extravasarem dos vasos sanguíneos ou for perdida pela urina, a pressão coloidosmótica do sangue diminui e ocorre acúmulo de líquido nos tecidos, causando edema. A albumina também atua como proteína carreadora ligando-se a hormônios, metabólitos e fármacos.

As globulinas incluem as imunoglobulinas e as globulinas não imunes. As imunoglobulinas consistem em anticorpos, moléculas do sistema imune. As globulinas não imunes são secretadas pelo fígado e contribuem para a manutenção da pressão osmótica no sangue e atuam como proteínas carreadoras para várias substâncias. As globulinas não imunes também incluem lipoproteínas, fatores de coagulação e outras moléculas.

O fibrinogênio, a maior proteína plasmática, é produzido no fígado. Em uma cascata com outros fatores de coagulação, o fibrinogênio é transformado na proteína insolúvel, a fibrina. As fibrinas formadas se polimerizam e forma fibras longas, que, através de ligações cruzadas, criam uma rede impermeável no local de lesão dos vasos sanguíneos, impedindo a perda sanguínea.

As proteínas plasmáticas são frequentemente retidas dentro dos vasos sanguíneos nos cortes teciduais, visualizadas como uma substância homogênea que se cora uniformemente pela eosina nos cortes corados pela hematoxilina e eosina (H&E).

O soro é equivalente ao plasma sanguíneo, exceto que sem os fatores de coagulação. Quando o sangue é removido da circulação, são os fatores de coagulação que garantem que o sangue coagule imediatamente.



O coágulo sanguíneo consiste em eritrócitos em uma rede de finas fibras compostas de fibrina. Assim, para impedir que uma amostra de sangue coagule, acrescentase um anticoagulante, como citrato ou heparina. O citrato se liga aos íons cálcio, que são essenciais para iniciar a cascata da coagulação, e a heparina desativa os fatores de coagulação presentes no plasma.

O soro é o material de escolha para vários exames, pois os anticoagulantes do plasma podem interferir nos resultados. Porém, quando deseja-se realizar testes de coagulação sanguínea, é crucial a preservação dos fatores de coagulação.

O líquido intersticial dos tecidos conjuntivos deriva do plasma sanguíneo, por isso, apresentam uma composição eletrolítica semelhante. Porém, nos tecidos não conjuntivos pode haver modificações devido às atividades de absorção e secreção dos epitélios. Além disso, alguns epitélios também podem criar microambientes especiais compatíveis à sua função, como por exemplo, a barreira hematoencefálica entre o sangue e o tecido nervoso.

O método de preparação para visualizar os tipos celulares do sangue é o esfregaço sanguíneo, que é diferente da preparação habitual porque a amostra não é incluída em parafina nem seccionada. Nesse método, uma gota de sangue é colocada diretamente sobre uma lâmina de vidro e espalhada, com uma outra lâmina, em uma camada fina pela sua superfície. Assim, a preparação é secada ao ar e corada.

Outra diferença do esfregaço sanguíneo comum é que são utilizadas misturas especiais de corantes para corar as células sanguíneas, em vez da H&E. A coloração do tipo Romanovsky modificada, muito usada, consiste em uma mistura de azul de metileno, azures relacionados e eosina. Geralmente, os corantes básicos coram os núcleos, os grânulos dos basófilos e o RNA do citoplasma, e o corante ácido cora os eritrócitos e os grânulos dos eosinófilos.

• ERITRÓCITOS

Os eritrócitos ou hemácias são células anucleadas sem organelas típicas, que funcionam apenas dentro do sangue, onde ligam o oxigênio para suprir os tecidos e, em troca, ligam o dióxido de carbono para a sua remoção dos tecidos. O



tempo de vida dos eritrócitos é de aproximadamente 120 dias. A maioria dos eritrócitos envelhecidos são fagocitados por macrófagos no baço, na medula óssea e no fígado.

Os eritrócitos são extremamente deformáveis e passam facilmente ao longo dos capilares, dobrando-se sobre si mesmos. O formato do eritrócito é mantido por um citoesqueleto especializado, que garante estabilidade mecânica e flexibilidade necessárias para suportar as forças que os atingem na circulação. Além de uma bicamada lipídica, os eritrócitos contêm dois grupos funcionalmente importantes de proteínas.

As proteínas integrais da membrana são a maioria das proteínas na bicamada lipídica. Elas consistem em duas grandes famílias, as glicoforinas e as proteínas da banda 3, que expressam antígenos específicos de grupos sanguíneos. A glicoforina C atua na fixação da rede proteica do citoesqueleto. Já a proteína da banda 3, ligase à hemoglobina e atua como local de fixação para proteínas do citoesqueleto.

As proteínas periféricas da membrana estão presentes na superfície interna da membrana celular e são organizadas em uma rede, composta principalmente de proteínas do citoesqueleto, como a α -espectrina e β -espectrina, que se agregam e formam um heterodímero antiparalelo.

Os filamentos de espectrina são fixados à bicamada lipídica por dois grandes complexos proteicos. O primeiro é o complexo proteico da banda 4,1, que contém banda 1, actina, tropomiosina, tropomodulina, aducina e dematina, e interage com a glicoforina C e outras proteínas. O segundo é o complexo proteico da anquirina, que contém anquirina e proteína da banda 4,2, e interage com a banda 3 e com outras proteínas integrais da membrana.

Esse arranjo citoesquelético contribui para o formato do eritrócito e garante as propriedades elásticas e a estabilidade da membrana a partir das interações flexíveis dos dímeros de espectrina, anquirina e complexos da banda 4,1.

Os eritrócitos possuem altas concentrações de hemoglobina, uma proteína especializada no transporte de oxigênio e de dióxido de carbono. A função da



hemoglobina consiste em ligar moléculas de oxigênio no pulmão as transportar pelo sistema circulatório até os tecidos.

O formato discoide do eritrócito facilita a troca gasosa, pois permite que um maior número de moléculas de hemoglobina fique mais próximo da membrana plasmática do que ficariam em uma célula esférica. Assim, os gases precisam percorrer menor distância para se difundir dentro da célula e alcançar um sítio de ligação na hemoglobina.

A hemoglobina é formada por quatro cadeias polipeptídicas de globina α , β , δ e γ , em que cada uma forma um complexo com um grupo heme contendo ferro. Durante a oxigenação, cada um dos quatro grupos heme com ferro pode se ligar de modo reversível a uma molécula de oxigênio.

Após os períodos gestacional e pósnatal, a síntese das cadeias polipeptídicas da hemoglobina varia, gerando diferentes tipos de hemoglobina. A hemoglobina HbA, um tetrâmero com duas cadeias α e duas cadeias β ($\alpha_2\beta_2$), é a mais prevalente nos adultos, cerca de 96%. A hemoglobina HbA₂, duas cadeias α e duas cadeias δ ($\alpha_2\delta_2$), consiste em 1,5 a 3% da hemoglobina total nos adultos. A hemoglobina HbF, duas cadeias α e duas cadeias γ ($\alpha_2\gamma_2$), representa menos de 1% da hemoglobina total nos adultos e representa a principal forma de hemoglobina no feto.

• LEUCÓCITOS

Os leucócitos são classificados em dois grupos com base na existência ou não de grânulos específicos no citoplasma. As células que contêm grânulos específicos são classificadas em granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos), e as que não contêm em agranulócitos (linfócitos e monócitos). Porém, tanto os agranulócitos quanto os granulócitos contêm um pequeno número de grânulos azurófilos inespecíficos no citoplasma de lisossomos.

1) Neutrófilos

Os neutrófilos consistem nos leucócitos mais numerosos e nos granulócitos mais comuns. Em esfregaços sanguíneos, eles são maiores que os eritrócitos e



facilmente visualizados pelos seus núcleos multilobulados unidos por filamentos nucleares finos, por isso também são chamados de neutrófilos polimorfonucleares.

O citoplasma do neutrófilo contém três tipos de grânulos. Os grânulos azurófilos (primários) são maiores, estão presentes em menor quantidade do que os grânulos específicos e se originam durante a granulopoese. Esses grânulos são os lisossomos do neutrófilo e possuem mieloperoxidase (MPO), que ajuda a produzir hipoclorito bactericida reativo e cloraminas. Além disso, eles também contêm hidrolases ácidas típicas, proteínas catiônicas (defensinas) e o peptídeo antimicrobiano, catelicidina.

Os grânulos específicos (secundários) são os menores e são muito mais numerosos que os grânulos azurófilos. São pouco visíveis ao microscópio óptico e possuem várias enzimas, como colagenase do tipo IV, gelatinase e fosfolipase, e ativadores do complemento e outros peptídeos antimicrobianos.

Os grânulos terciários nos neutrófilos são de dois tipos. Um tipo contém fosfatases (fosfossomo) e o outro tipo de grânulo contém metaloproteinases, como gelatinases e colagenases, que facilita a migração do neutrófilo pelo tecido conjuntivo. Além dos grânulos, os neutrófilos apresentam um pequeno complexo de Golgi e um número pequeno de mitocôndrias.

Os neutrófilos são células móveis, pois saem da circulação e migram para o local de ação no tecido conjuntivo. Além disso, são a primeira onda de células a chegar em uma área de dano tecidual e sua migração é controlada pela expressão de moléculas de adesão na superfície de neutrófilo, que interagem com ligantes específicos nas células endoteliais.

O início da migração dos neutrófilos acontece nas vênulas pós-capilares e é regulada por um mecanismo que envolve o reconhecimento da célula endotelial pelo neutrófilo. A E-selectina e a Pselectina (moléculas de adesão celular) encontradas na superfície das células endoteliais de vênulas pós-capilares interagem com os neutrófilos, que fica parcialmente fixado à célula endotelial, diminuem sua velocidade e rolam sobre a superfície do endotélio.



Em seguida, a ligação dos neutrófilos à superfície endotelial é realizada por outro grupo de moléculas de adesão, expressas na superfície dos neutrófilos, as integrinas, que são ativadas por sinais de quimiocinas das células endoteliais. As integrinas expressas na superfície do neutrófilo se ligam a moléculas de adesão da superfamília das imunoglobulinas que residem nas células endoteliais, como a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM1) e a molécula de adesão celular vascular 1 (VCAM-1).

Essas interações proporcionam adesão estável do neutrófilo à superfície endotelial, permitindo que ocorra a diapedese, ou seja, o movimento para fora da circulação. Assim, o neutrófilo emite um pseudópodo em direção a uma junção intercelular.

A histamina e a heparina presentes no local de lesão abrem a junção intercelular e as proteases secretadas pelo neutrófilo rompem a membrana basal, permitindo sua saída do vaso sanguíneo e a entrada no tecido conjuntivo subjacente. Ao MET, o conteúdo do pseudópodo do neutrófilo pode ser visualizado como uma expansão da matriz citoplasmática finamente granular, devido à existência de filamentos de actina, e ausente de organelas membranosas.

Após o neutrófilo entrar no tecido conjuntivo, sua migração para o local de lesão é regulada por um processo denominado quimiotaxia, que consiste na ligação de moléculas quimioatraentes e proteínas da matriz extracelular a receptores específicos no neutrófilo.

Os neutrófilos consistem em fagócitos ativos que possuem diversos receptores de superfície que reconhecem bactérias e outros agentes infecciosos no local de inflamação para que possa realizar fagocitose. Alguns dos microrganismos e agentes podem se ligar diretamente aos neutrófilos e outros precisam ser opsonizados, ou seja, recobertos por anticorpos ou complemento.

Os receptores mais utilizados pelos neutrófilos serão abordados a seguir. Os receptores Fc na superfície do neutrófilo se ligam à região Fc exposta dos anticorpos IgG presentes nas superfícies bacterianas, o que ativa a atividade fagocítica do neutrófilo.



Os receptores de complemento (CR) facilitam a ligação e a captação de imunocomplexos que são opsonizados pela proteína do complemento C3 ativa, a C3b. A ligação dos antígenos recobertos por C3b aos CR desencadeia a fagocitose.

Os receptores de depuração (SR) consistem em um grupo estruturalmente diverso de glicoproteínas transmembrana, que se ligam a formas modificadas das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), que frequentemente estão na superfície de bactérias e corpos apoptóticos. A ligação desses receptores aumenta a atividade fagocítica dos neutrófilos.

Os receptores semelhantes a toll, também conhecidos como receptores de reconhecimento de padrão (PRR), são receptores que reconhecem moléculas patogênicas, como endotoxinas, lipopolissacarídeos, peptidoglicanos e ácidos lipoteicoicos dispostos em padrões moleculares associados ao patógeno (PAMP) que são comumente expressos na superfície das bactérias e de outros agentes infecciosos.

As bactérias fagocitadas pelos neutrófilos são destruídas nos fagolisossomos por intermediários reativos de oxigênio (ROI) reativo produzidos durante a explosão respiratória (aumento da utilização de glicose e oxigênio). Além disso, os grânulos se fundem com a membrana do fagossomo e as hidrolases lisossômicas dos grânulos azurófilos digerem o material estranho.

Duas vias bioquímicas estão envolvidas no processo de destruição dos antígenos dentro dos neutrófilos. Na via da fagócito-oxidase ou sistema phox, a fagocitose ocorre através da sinalização da célula para produzir quantidades suficientes de NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato), que se transforma em doador de elétrons, sendo que o complexo da enzima NADPH transporta os elétrons através da membrana para o O₂ molecular no interior do fagolisossomo, gerando os radicais livres de ânions superóxido (O₂⁻), que são convertidos em ROI.

A morte dependente de oxigênio através da enzima lisossômica mieloperoxidase (MPO) ocorre quando os grânulos azurófilos se fundem com fagossomos contendo bactérias fagocitadas. Durante a explosão respiratória do neutrófilo, a



MPO, catalisa uma reação que produz ácido hipocloroso (HOCl) a partir do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e de um ânion cloreto (Cl⁻). O ácido hipocloroso é ainda metabolizado a hipoclorito altamente tóxico OCl⁻ (alvejante) e cloro (Cl²).

Além disso, o óxido nítrico (NO) e outros intermediários reativos de nitrogênio (RNI) também estão relacionados aos mecanismos de morte microbiana intracelular.

As bactérias fagocitadas também podem ser destruídas por diversos mecanismos de morte independentes de oxigênio, que utilizam enzimas bacteriolíticas e peptídios antimicrobianos. Os neutrófilos possuem grandes quantidades de proteínas antimicrobianas catiônicas, como as defensinas e os peptídios antimicrobianos, denominados catelicidinas.

Assim como os macrófagos se ativam no local de inflamação, os fibroblastos próximos e as células mesenquimatosas indiferenciadas começam a se dividir e a se diferenciar em fibroblastos e miofibroblastos. Essas células secretam as moléculas das fibras e da substância fundamental da ferida em cicatrização.

2) Eosinófilos

Os eosinófilos possuem aproximadamente o mesmo tamanho dos neutrófilos e seus núcleos são bilobulados. Além disso, assim como os neutrófilos, apresenta a heterocromatina compacta adjacente ao envoltório nuclear e a eucromatina no centro do núcleo. Os eosinófilos estão associados a reações alérgicas, infecções parasitárias e inflamação crônica e são ativados através de anticorpos IgG, IgA ou IgA secretora.

O citoplasma dos eosinófilos possui dois tipos de grânulos, os grânulos específicos e alongados e os grânulos azurófilos, e poucas e esparsas organelas membranosas.

Os grânulos azurófilos (primários) são lisossomos e possuem diversas hidrolases ácidas lisossômicas e outras enzimas hidrolíticas que atuam na destruição dos parasitos e na hidrólise dos complexos antígenoanticorpo internalizados pelo eosinófilo.



Os grânulos específicos (secundários) dos eosinófilos apresentam um corpo cristalóide circundado por matriz menos elétron-densa, responsável pela refração dos grânulos na microscopia óptica. Os grânulos específicos contêm quatro proteínas principais, uma proteína rica em arginina, chamada proteína básica principal (MBP), responsável pela acidofilia do grânulo; a proteína catiônica dos eosinófilos (ECP); a peroxidase dos eosinófilos (EPO); e a neurotoxina derivada dos eosinófilos (EDN).

A MBP se localiza no corpo cristalóide e as outras três proteínas na matriz dos grânulos. A MBP, a ECP e a EPO possuem efeito citotóxico sobre protozoários e helmintos parasitos. A EDN causa disfunção do sistema nervoso nos parasitos, a histaminase neutraliza a histamina; e a arilsulfatase neutraliza os leucotrienos dos basófilos e mastócitos. Os grânulos específicos também contêm histaminase, arilsulfatase, colagenase e catepsinas.

3) Basófilos

Os basófilos possuem aproximadamente o mesmo tamanho dos neutrófilos e são os leucócitos menos numerosos, constituindo menos de 0,5% do número total. Por isso, em um esfregaço sanguíneo, necessita-se visualizar centenas de leucócitos até identificar um basófilo. Nos basófilos, a heterocromatina se localiza periféricamente e a eucromatina centralmente, além disso, as organelas citoplasmáticas são esparsas.

A membrana plasmática do basófilo possui diversos receptores Fc de alta afinidade para os anticorpos IgE. Uma proteína chamada CD40L, expressa na superfície do basófilo, interage com o receptor CD40 nos linfócitos B, gerando aumento da síntese de IgE.

O citoplasma dos basófilos possui dois tipos de grânulos, os grânulos específicos e os grânulos azurófilos inespecíficos. Os grânulos azurófilos (primários) são os lisossomos dos basófilos e contêm hidrolases ácidas lisossômicas, semelhante à dos outros leucócitos. Os grânulos específicos (secundários) possuem diversas substâncias, como heparina, histamina, heparam sulfato, leucotrienos, interleucina-4 (IL4) e interleucina-13 (IL-13).



A heparina consiste em um glicosaminoglicano sulfatado e atua como anticoagulante. A histamina e o heparam sulfato garantem a basofilia da célula e são substâncias vasoativas que, causam principalmente dilatação dos pequenos vasos. Os leucotrienos são lipídios modificados que causam contração prolongada dos músculos lisos nas vias respiratórias pulmonares. A IL-4 e a IL13 estimulam a síntese de anticorpos IgE.

Os basófilos possuem função semelhante aos mastócitos do tecido conjuntivo, sendo que ambos atuam se ligando a IgE através dos receptores Fc de alta afinidade expressos na superfície celular. Os basófilos e os mastócitos se originam da mesma célula progenitora de basófilosmastócitos (BMCP). Além disso, os basófilos se desenvolvem, se diferenciam na medula óssea e são liberados no sangue periférico como células maduras.

A exposição ao antígeno específico para IgE ativa os basófilos e mastócitos, que liberam agentes vasoativos dos grânulos celulares. Substâncias estas que são responsáveis pelos distúrbios vasculares graves associados às reações de hipersensibilidade e anafilaxia.

4) Linfócitos

Os linfócitos são as principais células do sistema imune, compondo aproximadamente 30% do total de leucócitos no sangue. A maioria dos linfócitos encontrados no sangue ou na linfa são células imunocompetentes recirculantes, ou seja, que transitam de um tecido linfático para outro e possuem a capacidade de reconhecer e responder à antígenos.

Assim, os linfócitos são diferentes dos outros leucócitos porque diversos motivos: eles não são células totalmente diferenciadas e quando estimulados, podem se dividir e se diferenciar em outros tipos de células efetoras; podem deixar o lúmen dos vasos sanguíneos para os tecidos e vice e versa; apesar de sua origem na medula óssea, são capazes de se desenvolver também em tecidos associados ao sistema imune.

No microscópio óptico, na visualização de um esfregaço sanguíneo, o linfócito maduro apresenta tamanho semelhante ao do eritrócito e um núcleo esférico



discretamente endentado e intensamente corado. O citoplasma aparece como uma faixa azul-pálida fina que circunda o núcleo. Funcionalmente, os linfócitos podem ser classificados em linfócitos T, linfócitos B e células NK.

As células T possuem um longo tempo de vida e estão envolvidas na imunidade celular. Elas expressam proteínas de reconhecimento da superfície celular, os receptores de células T (TCR), que compreendem duas cadeias de glicoproteínas, denominadas cadeias α e β . Além disso, expressam as proteínas marcadoras CD2, CD3, CD5 e CD7 em sua superfície e, por isso, podem ser subclassificadas com base na existência ou não de proteínas CD4 e CD8.

Assim, os linfócitos T CD4⁺ possuem o marcador CD4 e reconhecem antígenos ligados às moléculas do complexo principal de histocompatibilidade II (MHC II). Os linfócitos T CD8⁺ possuem o marcador CD8 e reconhecem antígenos ligados às moléculas de MHC I.

As células B possuem tempo de vida variável e estão envolvidas na produção de anticorpos. No sangue, os linfócitos B maduros expressam moléculas de IgM e IgD e MHC II em sua superfície. Os marcadores específicos são os CD9, CD19, CD20 e CD24.

As células NK possuem a função de destruir células infectadas por vírus e alguns tipos de células tumorais. Além disso, secretam um agente antiviral, a interferona γ (IFN- γ). Elas são maiores que as células B e T e têm um núcleo reniforme. As células NK exibem vários grânulos azurófilos citoplasmáticos grandes. Seus marcadores específicos consistem em CD16, CD56 e CD94.

Nos esfregaços sanguíneos e nos cortes histológicos, as células T e B são indistinguíveis e, para identificá-las, deve-se utilizar reações imunocitoquímicas para diferentes tipos de marcadores e receptores de superfície. Os linfócitos NK podem ser identificados ao microscópio óptico pelo seu tamanho, formato do núcleo e presença de grânulos citoplasmáticos.

No sangue humano, 60 a 80% dos linfócitos consistem em células T maduras, 20 a 30% são constituídos por células B maduras e cerca de 5 a 10% são constituídos pelas células NK e pelas raras células tronco hemapoéticas circulantes.



Vários tipos diferentes de linfócitos T foram identificados, como os linfócitos T citotóxicos, os auxiliares, os supressores e os gama/delta ($\gamma\delta$). As células T CD8⁺ citotóxicas (CTL) atuam como as principais células efetoras na imunidade celular e reconhecem antígenos através dos TCR de células virais ou neoplásicas do hospedeiro que estejam ligados a moléculas do MHC I. As células T CD8⁺ secretam linfocinas e perforinas que produzem canais iônicos na membrana da célula infectada ou neoplásica, levando à sua lise.

As células T CD4⁺ auxiliares (Th) são muito importantes para a indução da resposta imune à um antígeno estranho. As células apresentadoras de antígeno apresentam o antígeno ligado a moléculas MHC II ao linfócito T CD4⁺ auxiliar, que, através do TCR, é ativado para produzir interleucinas, principalmente IL-2, que atuam de maneira autócrina, estimulando a proliferação e a diferenciação dos linfócitos T CD4⁺ auxiliares. As células recém-diferenciadas sintetizam e secretam linfocinas, que estimulam a função e diferenciação das células B, células T e células NK. As células B diferenciam-se em plasmócitos sintetizantes de anticorpos.

As células T reguladoras (supressoras) são capazes de suprimir funcionalmente uma resposta imune devido à sua ação sobre a atividade de outras células no sistema imune. As células T reguladoras CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺ representam um exemplo clássico de células capazes de regular negativamente a capacidade dos linfócitos T de iniciar respostas imunes.

As células T gama/delta ($\gamma\delta$), também chamadas de linfócitos intraepiteliais, consistem em uma pequena população de células T que apresentam um TCR diferente, composto de uma cadeia γ e uma cadeia δ . Essas células se desenvolvem no timo e migram para vários tecidos epiteliais, como pele, mucosa oral, intestino e vagina, e após estabelecer a sua colonização no tecido epitelial, elas não recirculam entre o sangue e os órgãos linfáticos.

5) Monócitos

Os monócitos são os maiores leucócitos identificados em um esfregaço sanguíneo. Eles passam da medula óssea para os tecidos corporais, onde se diferenci-



am em fagócitos do sistema fagocítico mononuclear. O monócito apresenta um núcleo mais endentado que o do linfócito e o citoplasma do local da endentação nuclear, denominado centro celular, é onde se localiza o complexo de Golgi bem desenvolvido e os centríolos. Os monócitos também contêm retículo endoplasmático liso (REL), retículo endoplasmático rugoso (RER) e pequenas mitocôndrias.

Os monócitos se diferenciam em macrófagos, que atuam como células apresentadoras de antígeno no sistema imune e fagocita bactérias, outros tipos de células e restos teciduais. O macrófago degrada parcialmente os antígenos e, através do MHC II, apresenta seus fragmentos aos linfócitos T CD4⁺ auxiliares.

• PLAQUETAS

As plaquetas, também denominadas trombócitos, consistem em pequenos fragmentos citoplasmáticos anucleados envolvidos por membrana originados nos megacariócitos. Na formação das plaquetas, pequenos fragmentos de citoplasma são separados das regiões periféricas do megacariócito por canais extensos de demarcação de plaquetas.

O desenvolvimento continuado e a fusão das membranas de demarcação das plaquetas resultam na separação completa dos fragmentos citoplasmáticos, formando plaquetas individuais. Saindo da medula óssea, as plaquetas entram no sistema circulatório e sobrevivem por até 10 dias.

As plaquetas podem ser divididas em quatro zonas, com base na sua organização e função. A zona periférica consiste na membrana celular coberta por um revestimento de glicocálice, que consiste em glicoproteínas, glicosaminoglicanos e fatores de coagulação adsorvidos do plasma.

A zona estrutural, próxima da periferia, consiste nos microtúbulos, nos filamentos de actina, de miosina e proteínas ligantes da actina, que juntos formam uma rede de sustentação da membrana plasmática.

A zona das organelas se localiza no centro da plaqueta e abriga mitocôndrias, peroxissomos, partículas de glicogênio e grânulos. Os principais grânulos são os grânulos α , que contêm principalmente fibrinogênio, fatores de coagulação,



plasminogênio, inibidor do ativador do plasminogênio e fator de crescimento derivado das plaquetas. Esses agentes atuam no reparo dos vasos, na coagulação sanguínea e na agregação plaquetária.

A zona da membrana consiste em dois tipos de canais de membrana. O sistema canalicular aberto (OCS) é o primeiro tipo de canal de membrana e consiste em um remanescente de desenvolvimento dos canais de demarcação das plaquetas e, constitui uma membrana que não participou na subdivisão do citoplasma do megacariócito. O sistema tubular denso (DTS) é o segundo tipo de canal de membrana e contém um material elétron denso que se origina do RER do megacariócito, que serve de local de armazenamento para íons cálcio.

As plaquetas atuam na vigilância dos vasos sanguíneos, na formação do coágulo sanguíneo e no reparo do tecido lesado. O difosfato de adenosina (ADP), um nucleotídeo, e a molécula de sinalização, tromboxano A₂, são responsáveis pela maior agregação das plaquetas, formando um tampão hemostático primário que interrompe o extravasamento de sangue. As plaquetas ativadas liberam seus grânulos α e δ , que contêm fatores de coagulação, como o fator tromboplástico plaquetário (PF3) e serotonina.

As plaquetas também atuam no reparo de tecidos lesados além do próprio vaso. O fator de crescimento derivado das plaquetas, que é liberado dos grânulos α , estimula a divisão das células musculares lisas e dos fibroblastos, estimulando o reparo do tecido.

• FORMAÇÃO DAS CÉLULAS SANGUÍNEAS: HEMOCITOPOESE

A hemocitopoese, também denominada hematopoese, inclui a eritropoese (desenvolvimento dos eritrócitos), a leucopoese (desenvolvimento dos leucócitos, respectivamente) e a trombopoese (desenvolvimento das plaquetas).

As células sanguíneas possuem um tempo de vida limitado e, por isso, são continuamente produzidas e destruídas. O objetivo final da hemocitopoese consiste em manter um nível constante de diferentes tipos celulares encontrados no sangue.



Tanto o eritrócito quanto a plaqueta nos humanos se encontram somente no sangue circulante. Já os leucócitos, provenientes da medula óssea, migram para fora da circulação e passam a maior parte da sua vida nos tecidos, desempenhando suas funções. No adulto, os eritrócitos, os granulócitos, os monócitos e as plaquetas são formados na medula óssea vermelha e os linfócitos, na medula óssea vermelha e nos tecidos linfáticos.

Durante a vida fetal, os eritrócitos e os leucócitos são formados em vários órgãos antes de sua diferenciação ocorrer na medula óssea, sendo o fígado, o principal órgão formador de sangue no feto durante o segundo trimestre. Depois do nascimento, a hemocitopoese ocorre somente na medula óssea vermelha e em alguns tecidos linfáticos.

1) Teoria monofilética da hemocitopoese

A teoria monofilética da hemocitopoese afirma que as células sanguíneas se originam de uma célula-tronco hematopoética (CTH) comum. Essa célula-tronco, também conhecida como célula-tronco pluripotente (CTPP), é capaz de se diferenciar em todas as linhagens de células sanguíneas e de se autorrenovar. Estudos também indicam que as CTH possuem o potencial de se diferenciar em múltiplas linhagens de células não sanguíneas e de contribuir para a regeneração de vários tecidos e múltiplos órgãos.

As CTH humanas expressam proteínas marcadoras moleculares específicas, como CD34 e CD90, e não expressam marcadores específicos de linhagem, assim como são encontrados nos linfócitos, granulócitos, monócitos, megacariócitos e eritrócitos. A CTH pode ser identificada pelos marcadores de superfície celular Lin^{-} , $CD34^{+}$, $CD90^{+}$ e $CD38^{-}$.

Na medula óssea, as células descendentes da CTH se diferenciam em duas colônias principais de células progenitoras multipotenciais, que são as células progenitoras mieloides comuns (CMP) e as células progenitoras linfáticas comuns (CLP). As células progenitoras mieloides comuns (CMP) se diferenciam em progenitoras restritas de linhagem, que incluem as células abordadas a seguir.



A primeira delas são as células progenitoras de megacariócitos/eritrócitos (MEP), que dão origem às células progenitoras dos megacariócitos (MKP ou CFUMeg) e às células progenitoras dos eritrócitos (ErP ou CFUE), que dão origem à linhagem dos eritrócitos.

A segunda delas são as células progenitoras de granulócitos/monócitos (GMP ou CFUGM), que dão origem às células progenitoras de neutrófilos (NoP ou CFUG), às progenitoras dos eosinófilos (EoP ou CFUEo), às progenitoras dos basófilos/mastócitos (BMCP) e às progenitoras dos monócitos (MoP ou CFUM). Além disso, as células GMP também dão origem às células dendríticas (CD), que consistem em células apresentadoras de antígenos.

As células progenitoras linfáticas comuns (CLP) se diferenciam em células T, células B e células natural killer (NK). Essas células CLP multipotenciais eram antigamente chamadas de unidades formadoras de colônias–linfáticas (CFU-L). As células dendríticas também podem se desenvolver a partir das células CLP.

2) Desenvolvimento dos eritrócitos: eritropoese

A eritropoese começa a partir das células CMP que sob a influência da eritropoetina, da IL3 e da IL-4, diferenciam-se em células MEP, que, a partir da expressão do fator de transcrição GATA1, transformam-se em progenitoras comprometidas com os eritrócitos sensíveis à eritropoetina (ErPs ou CFUE), que dão origem ao pró-eritroblasto.

A primeira célula precursora microscopicamente reconhecível na eritropoese é denominada preritroblasto, pois este consiste em uma célula relativamente grande, e contém um núcleo esférico volumoso. O citoplasma do pró-eritroblasto apresenta uma discreta basofilia devido à existência de ribossomos livres.

O eritroblasto basófilo, que se origina do pró-eritroblasto, é menor que ele e seu núcleo se torna heterocromático conforme as mitoses se ocorrem. O citoplasma apresenta intensa basofilia pelos ribossomos livres responsáveis pela síntese da hemoglobina. O acúmulo de hemoglobina na célula faz com que a basofilia seja substituída pela acidofilia evidenciada pela eosina. Quando o cito-



plasma exibe tanto acidofilia, quanto basofilia, é denominado eritroblasto policromatófilo.

O estágio seguinte da eritropoese resulta na formação do eritroblasto ortocromático ou normoblasto, que possui um núcleo pequeno, compacto e densamente corado. O citoplasma é eosinófilo, pelo fato de conter grande quantidade de hemoglobina. Nessa fase, essa célula não sofre mais divisão.

A seguir, o eritroblasto ortocromático expulsa seu núcleo da célula, tornando-se preparado para passar através do lúmen dos sinusoides sanguíneos da medula óssea vermelha. Alguns polirribossomos que ainda são capazes de sintetizar hemoglobina são retidos na célula, o que as deixa discretamente basófilas, mesmo que sejam, na maioria, eosinófilas. Por isso, elas são denominadas eritrócitos policromáticos.

Os polirribossomos dos novos eritrócitos também podem ser vistos com corantes especiais, que faz com que essas estruturas se agrupem e formem uma rede reticular. Por isso, os eritrócitos policromáticos também são denominados reticulócitos.

2.1. Cinética da eritropoese

Ocorrem vários ciclos de divisão nos pró-eritroblastos, nos eritroblastos basófilos e nos eritroblastos policromáticos. O processo de diferenciação para que a linhagem de um eritroblasto basófilo alcance a circulação é de 1 semana, sendo que quase todos eritrócitos são liberados na circulação assim que são formados.

A formação e a liberação dos eritrócitos são reguladas pela eritropoetina, um hormônio glicoproteico sintetizado e secretado pelo rim em resposta a uma diminuição na concentração sanguínea de oxigênio. A eritropoetina atua sobre os receptores das células ErP.

Quando os eritrócitos alcançam aproximadamente 120 dias eles se tornam senescentes e o sistema de macrófagos do baço, da medula óssea e do fígado os fagocitam e degradam.



4) Desenvolvimento das plaquetas: trombopoese

A medula óssea do adulto produz cerca de 10^{11} plaquetas por dia, que, em caso de necessidade, pode aumentar em até 10 vezes esse valor. As plaquetas (trombócitos) se desenvolvem a partir de uma célula progenitora de megacariócitos/eritrócitos (MEP) bipotente, que se diferencia em uma célula progenitora comprometida com megacariócitos (MKP ou CFU-Meg).

A célula MKP se desenvolve no megacarioblasto, uma célula volumosa com núcleo não lobulado. Não há evidência de formação de plaquetas nessa fase. Porém, a partir da estimulação da trombopoetina, um hormônio glicoproteico produzido pelo fígado e pelo rim, a ploidia aumenta de $8n$ para $64n$ antes do fim da replicação cromossômica.

Por fim, essa célula se diferencia em um megacariócito produtor de plaquetas, que apresenta um núcleo multilobulado complexo e grânulos azurófilos dispersos. Em um esfregaço de medula óssea, grupos de plaquetas são observados preenchendo a maior parte do citoplasma periférico do megacariócito.

5) Desenvolvimento dos granulócitos: granulopoese

Os granulócitos se originam da célula tronco progenitora mieloide comum (CMP) multipotente, que se diferencia em células progenitoras de granulócitos/monócitos (GMP) a partir do estímulo de citocinas, como GM-CSF (fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos), fator de estimulação de granulócitos (G-CSF) e IL-3. O GM-CSF é uma citocina secretada pelas células endoteliais, células T, macrófagos, mastócitos e fibroblastos. Estimula as células GMP a produzir granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e monócitos.

As células GMP, quando induzidas pelo GM-CSF, pela IL3 e pela IL5, se diferenciam em células progenitoras de eosinófilos (EoP), que amadurecem em eosinófilos. A ausência de IL-5 faz com que as células GMP sofram diferenciação em células progenitoras de basófilos (BaP), que produzem basófilos. Ao microscópio óptico, não é possível diferenciar morfologicamente os precursores dos eo-



sinófilos ou basófilos dos precursores dos neutrófilos até que as células estejam no estágio mielocítico.

A célula progenitora de neutrófilos (NoP) possui 6 fases durante seu processo de maturação: mieloblasto, prómielócito, mielócito, metamielócito, célula em bastonete (imatura) e neutrófilo maduro. Os eosinófilos e os basófilos possuem um processo de maturação morfológica semelhante a este.

O mieloblasto é a primeira célula reconhecível ao exame microscópico na medula óssea. Ele possui um grande núcleo esférico e eucromático, com três a cinco nucléolos e a pequena quantidade de citoplasma é basófilo. O pró-mielócito possui um núcleo grande e esférico com grânulos azurófilos (primários) no citoplasma, que são produzidos apenas nestas células.

Os mielócitos imaturos possuem um núcleo quase esférico e heterocromático e o reconhecimento das linhagens de neutrófilos, eosinófilos e basófilos é possível somente a partir desse estágio, quando começa a haver formação dos grânulos específicos (secundários) e terciários. Os grânulos específicos começam a surgir da superfície convexa do complexo de Golgi, enquanto os grânulos azurófilos se localizam na face côncava do Golgi.

Na fase de metamielócitos, o núcleo se torna mais heterocromático, e a endentaçãõ se aprofunda e adquire um formato de feijão. O estágio de metamielócito na granulocitopoese é seguido do estágio de bastonete e segmentado. Porém, eles raramente são observados nas linhagens de eosinófilos e de basófilos e estão presentes nas dos neutrófilos.

5.1. Cinética da granulocitopoese

A fase mitótica (proliferativa) na granulocitopoese dura aproximadamente 1 semana e cessa no estágio de mielócito maduro. A fase pósmitótica, quando ocorre a diferenciação celular do metamielócito em granulócito maduro também tem duração de cerca de 1 semana. A medula óssea possui uma grande reserva de neutrófilos funcionais, prontos para repor ou suplementar os neutrófilos circulantes em ocasiões de aumento das demandas.



Hormônios específicos, como a eritropoetina e trombopoetina, regulam o desenvolvimento dos eritrócitos e das plaquetas. Outros fatores, como os fatores de estimulação de colônias (CSF), são subclassificados de acordo com a célula ou o grupo de células específicas que estimulam, como os que estimulam a formação de granulócitos e de monócitos, GMCSF, GCSF e o fator de estimulação de colônias de macrófagos (MCSF). As interleucinas, produzidas pelos linfócitos, atuam sobre outros leucócitos e suas células progenitoras.

5.2. Desenvolvimento dos monócitos

A célula tronco CMP multipotencial também dá origem às células que se desenvolvem pela via de monócitos-macrófagos. Os monócitos são produzidos na medula óssea a partir de uma célula tronco GMP. A proliferação e a diferenciação das células CMP em célula GMP comprometida são controladas pela IL-3 e a subsequente diferenciação em células progenitoras de monócitos (MoP) é estimulada pela IL3 e pelo GM-CSF.

A transformação das células MoP em monócitos leva em torno de 55 horas. Os monócitos permanecem na circulação por aproximadamente 16h antes de migrar para os tecidos, onde sob estímulo do GMCSF e do MCSF, diferenciam-se em macrófagos teciduais.

6) Desenvolvimento dos linfócitos: linfocitopoese

Apesar do desenvolvimento os linfócitos ocorrer continuamente nos órgãos linfáticos periféricos, a medula óssea continua sendo o principal local de linfocitopoese nos humanos. Os fatores de transcrição membros da família Ikaros atuam na diferenciação das CTH pluripotentes em células progenitoras linfáticas comuns (CLP).

A progênie das células CLP que expressam o fator de transcrição GATA3 deixam a medula óssea na forma de prélinfócitos T e seguem o seu trajeto até o timo, onde terminam sua diferenciação. Já o fator de transcrição Pax5 ativa genes específicos das células B nas células CLP destinadas a se tornar linfócitos B. Nos mamíferos, as células B se originam em órgãos equivalentes à bursa de



Fabricsius, como a medula óssea e o tecido linfático associado ao intestino e o baço.

Os fatores de transcrição envolvidos na linhagem das células NK ainda não foram identificados. Mas, provavelmente, as células NK diferenciam-se pela influência da IL2 e da IL-15 em pré-células NK imaturas.

• MEDULA ÓSSEA

A medula óssea vermelha se localiza dentro dos espaços dos ossos, como na cavidade medular dos ossos longos jovens e em espaços do osso esponjoso. A medula óssea consiste em vasos sanguíneos comuns, vasos sanguíneos especializado (sinusoides) e células hematopoéticas.

Os sinusoides se localizam entre as artérias e as veias e acredita-se que eles derivem de ramificações de vasos sanguíneos que nutrem o tecido ósseo cortical, na região da junção corticomedular. A parede do sinusóide consiste em um revestimento endotelial (do tipo simples pavimentoso), uma membrana basal descontínua e uma cobertura de células adventícias.

A célula adventícia, também chamada de célula reticular, emite extensões que se estendem até os cordões hemocitopoéticos, para proporcionar suporte para as células sanguíneas em desenvolvimento. Essas células também produzem fibras reticulares e participam da estimulação da diferenciação das células progenitoras em células sanguíneas.

Após ocorrer a formação de células sanguíneas, as células adventícias e a lâmina basal são deslocadas pelas células sanguíneas maduras conforme estas se aproximam do endotélio, permitindo sua entrada no sinusóide a partir da cavidade da medula óssea como o objetivo de entrar na circulação.

Conforme a célula sanguínea em amadurecimento ou um prolongamento de um megacariócito exerce pressão contra uma célula endotelial, a membrana plasmática albuminal é pressionada contra a membrana plasmática luminal até a sua fusão, formando uma abertura ou passagem transitória.



Quando a célula sanguínea passa pela abertura ou ocorreu extrusão do megacariócito, as plaquetas retraem os seus prolongamentos, a célula endotelial volta ao seu estado anterior e a abertura desaparece.

Na medula óssea vermelha ativa, os cordões de células hematopoéticas possuem predominantemente células sanguíneas e megacariócitos em desenvolvimento, além de macrófagos, mastócitos e adipócitos.

A medula óssea não ativa na formação de células sanguíneas contém principalmente adipócitos, dando-lhe aparência de tecido adiposo. A medula óssea inativa é denominada medula óssea amarela e pode ser encontrada nos adultos em alguns locais onde a hemocitopoese não está mais ativa, como nos ossos longos dos braços, das pernas e dos dedos das mãos e dos pés.

A medula óssea amarela, em caso de necessidade, como quando o indivíduo sofre perda grave de sangue, pode reverter para a medula óssea vermelha, tanto pela extensão do tecido hemocitopoético na medula óssea amarela quanto por repovoamento da medula óssea amarela por células-tronco circulantes.

O exame do aspirado de medula óssea e de biopsia por agulha de calibre grosso é muito importante para o diagnóstico de distúrbios da medula óssea. Ambos os métodos são complementares e proporcionam avaliação abrangente. Algumas indicações para o exame de medula óssea são anemia sem causa aparente, morfologia anormal no esfregaço de sangue periférico, diagnóstico e estadiamento de distúrbios hematológicos malignos e suspeita de metástases na medula óssea.

Geralmente, o diagnóstico final resulta da combinação de achados clínicos e de diversos procedimentos diagnósticos, como exame do sangue periférico, aspirado de medula óssea e biopsia com agulha de calibre grosso e outros exames específicos.

