

Sangue

Maria das Graças Fernandes Sales¹

Resumo: Neste artigo, descrevemos a origem embriológica do sangue, seus locais de formação durante as fases pré e pós-natal, sua função e seus constituintes. São descritas, também, a origem de cada elemento celular do sangue, na medula óssea, sua morfologia normal e suas principais alterações morfológicas, a partir da observação em distensões sanguíneas, bem como o componente líquido do sangue, o plasma, com seus principais constituintes e respectivas funções.

Introdução

As células sanguíneas se desenvolvem a partir das células endoteliais dos vasos em formação na vesícula umbilical e no alantoide, no final da terceira semana do desenvolvimento embrionário e, posteriormente, nos locais especializados ao longo da aorta dorsal.

A formação do sangue (hematopoiese ou hematopoeose) não começa no embrião até a 5ª semana. Ela ocorre primeiramente ao longo da aorta e, em seguida, nas várias partes do mesênquima embrionário, mudando para o fígado entre o 3º e o 4º mês de gestação, sendo assumida gradualmente pela medula óssea.

Ao nascimento, a hematopoeose está acontecendo principalmente nos ossos por todo o esqueleto, mas vai se tornando gradualmente restrita à medula dos ossos chatos, de tal modo que na puberdade, a hematopoeose ocorre principalmente no esterno, nas vértebras, nos ossos ilíacos e nas costelas.

A medula vermelha encontrada nesses ossos consiste em uma estrutura reticular esponjosa localizada entre as trabéculas. Os espaços nessas estruturas contêm uma rede de sinusóides, preenchidos por sangue e revestidos por células endoteliais ligadas a uma membrana basal descontínua. Fora dos sinusóides estão grupos de precursores de células sanguíneas, em vários estágios de desenvolvimento, assim como células adiposas maduras. Os precursores das células sanguíneas amadurecem e migram pelas membranas

¹ Doutora em Ciências Morfológicas pela UFRJ; Professora Assistente da Escola de Medicina Souza Marques, responsável pela disciplina de Morfologia Funcional II, Chefe do Departamento de Ciências Morfológicas da Escola de Medicina Souza Marques.

basais dos sinusóides e entre as células endoteliais, entrando no ambiente intravascular. Quando a medula óssea é lesada ou quando ocorre uma demanda excepcional na produção de novas células sanguíneas, o fígado e o baço frequentemente tornam-se os locais preferenciais de hematopoese extramedular.

Admite-se que todas as células do sangue são originadas de um único tipo celular da medula *óssea*, chamada de **célula-tronco hematopoiética (hematopoietic stem cell-HSC)**. As HSC são pluripotentes, proliferam e formam duas linhagens: a das **células linfoides**, que vai formar linfócitos e a das **células mieloides**, que origina os eritrócitos, granulócitos, monócitos e plaquetas.

O sangue é um tecido conjuntivo especializado, constituído por células e plasma e estes componentes podem ser separados por centrifugação se o sangue for coletado com anticoagulantes.

Após centrifugação, os eritrócitos (ou hemácias) sedimentados constituem cerca de 45% do volume sanguíneo. Sobre a camada de eritrócitos, fica a camada formada por leucócitos e plaquetas, conhecida como camada leucoplaquetária. A fração sobrenadante e transparente, acima das hemácias sedimentadas, é o plasma, o constituinte líquido do sangue.

Na ausência de anticoagulantes, os elementos celulares do sangue, junto com as proteínas do plasma (principalmente o fibrinogênio), formam um coágulo no tubo de ensaio. O soro é a porção líquida, basicamente formada por plasma sem fibrinogênio.

O sangue é responsável pelo transporte de substâncias (nutrientes, oxigênio, gás carbônico e toxinas), regulação e proteção de nosso corpo. O corpo humano de um adulto contém aproximadamente 5 litros de sangue, isto é, cerca de 7 a 8% do peso corpóreo. O sangue é composto por 2,75 a 3 litros de plasma e a porção restante é composta por células. **Elementos celulares do sangue**

Hemácias

As hemácias conhecidas também como eritrócitos (do grego <erytros>, vermelho; e <kytos>, célula) são células que expulsam seus núcleos durante o processo de maturação, tornando-se anucleadas quando maduras.

As hemácias são derivadas de células progenitoras, denominadas **células formadoras de colônia eritrocítica (ECFC)** que se diferenciam em **células precursoras** (eritroblasto) as quais sofrem modificações morfológicas. De acordo com seu grau de maturação, as células da linhagem eritrocítica, são

chamadas de: pró-eritroblastos, eritroblastos basófilos, eritroblastos policromáticos, eritroblastos ortocromáticos, reticulócitos e hemácias. Os fatores de crescimento hematopoiéticos, também conhecidos como citocinas hematopoiéticas controlam as fases de proliferação e maturação da hematopoiese. Essas citocinas são glicoproteínas produzidas na medula óssea, pelas células endoteliais, estromais, fibroblastos, linfócitos em desenvolvimento e macrófagos.

São conhecidos três grupos de fatores de crescimento hematopoiético: (1) os fatores estimuladores de colônia, (2) a eritropoetina e a trombopoetina (do grego, <thrombos>, coágulo e <poietin>, fazer) e (3) as citocinas. O principal regulador da hematopoiese é a eritropoetina, produzida principalmente no córtex renal, em resposta à hipóxia.

As hemácias maduras possuem um formato bicôncavo e medem $7,8 \mu\text{m}$ de diâmetro. Estas células não possuem organelas e são compostas apenas por uma membrana plasmática, o citoesqueleto abaixo da membrana, hemoglobina e enzimas glicolíticas. Sua plasticidade permite a mudança da forma enquanto se espremem nos capilares.

A função principal das hemácias é transportar oxigênio dos pulmões até as outras células do corpo. Além de transportar o oxigênio para as células do corpo, os eritrócitos também ajudam a remover o dióxido de carbono (CO_2). Esse se forma nas células como um subproduto de várias reações químicas, vai para o sangue pelos capilares e é trazido de volta aos pulmões, onde é liberado e expirado na respiração.

As hemoglobinas possuem uma enzima chamada anidrase carbônica, que ajuda a reação entre o dióxido de carbono (CO_2) e a água (H_2O) acontecer 5 mil vezes mais rápido. O resultado dessa reação é o ácido carbônico, que, por sua vez, se separa em íons hidrogênio e íons bicarbonato.

Anidrase carbônica

$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3 + \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ dióxido de carbono

+ água \rightleftharpoons ácido carbônico + íon hidrogênio + íon bicarbonato.

Os íons hidrogênio posteriormente se combinam com a hemoglobina, enquanto os íons bicarbonato entram no plasma. 70% do CO_2 é removido do nosso corpo dessa forma, 7% do CO_2 é dissolvido no plasma e os 23%

restantes se combinam diretamente com a hemoglobina (sem passar pela reação com a água) e são liberados nos pulmões.

As quantidades de hemácias são um pouco diferentes em homens e mulheres: a média nos homens é de 5,2 milhões por mm^3 enquanto nas mulheres essa média é de 4,6 milhões. As hemácias circulam por 120 dias, quando então se tornam senescentes e são removidas por fagocitose pelos macrófagos do fígado, ou destruídas no baço por hemólise.

Certos termos são usados para descrever a morfologia dos eritrócitos. Por exemplo, para descrever as células que apresentam morfologia normal são usados dois adjetivos: normocítico (células de tamanho normal) e normocrômico (células que contém quantidade normal de hemoglobina, Hb, corada normalmente). Entretanto, várias alterações morfológicas podem ser encontradas em uma distensão sanguínea. Abaixo estão listadas algumas dessas alterações.

- Anisocitose- É o aumento da variabilidade do tamanho dos eritrócitos que excede a observada em um indivíduo sadio. É uma anormalidade inespecífica comumente encontrada em desordens hematológicas.
- Microcitose - É a diminuição do tamanho dos eritrócitos. Os micrócitos são notados na distensão sanguínea quando o diâmetro dos eritrócitos é inferior a $7 - 7,2 \mu\text{m}$. A microcitose poderá ser geral ou existir em parte da população de eritrócitos.

- **Macrocitose**- Corresponde ao aumento do tamanho dos eritrócitos. É notada em uma distensão sanguínea pelo aumento do diâmetro celular. A macrocitose pode ser geral, ou afetar apenas uma parte da população de hemácias. Os macrócitos podem ter contorno oval ou arredondado.
- **Hipocromia** - É a redução da coloração dos eritrócitos (aumento da palidez central das hemácias) devido à deficiência de Hb. A hipocromia pode ser geral ou ocorrer em uma parte da população de hemácias. Qualquer uma das condições que leva à microcitose pode causar hipocromia.
- **Policromasia** ou **policromatofilia**- O termo refere-se aos eritrócitos que tem coloração róseo-azulada em consequência da captação simultânea da eosina (pela Hb) e dos corantes básicos (pelo RNA ribossômico). Uma vez que os reticulócitos são células cujo RNA ribossômico absorve corantes supravitais, formando um retículo visível, há um relacionamento entre os reticulócitos e as células policromáticas. Ambos são eritrócitos imaturos, recém-saídos da medula óssea.
- **Poiquilocitose** ou **peilocitose**- Fala-se em poiquilocitose, quando há um número exagerado de células de forma anormal. A altitude produz certo grau de poiquilocitose em indivíduos hematologicamente normais. A poiquilocitose é uma anormalidade comum, inespecífica, encontrada em várias desordens hematológicas: pode resultar de produção de células anormais pela medula óssea ou de dano às células normais após serem liberadas para a corrente sanguínea.

A forma e a flexibilidade normais dos eritrócitos dependem da integridade do citoesqueleto ao qual está ligado à membrana lipídica (Fig. 1).

As alterações do citoesqueleto modificam a forma das hemácias e são de importante significado clínico. Por exemplo, na eliptocitose, um distúrbio autossômico dominante, a hemácia é caracterizada pela forma oval, devido a ligações anormais entre a espectrina e a anquirina, pela autoassociação anômala das subunidades de espectrina e por defeitos na proteína 4.1. A eliptocitose é encontrada na anemia megaloblástica. A esferocitose, no entanto, é causada pela deficiência de espectrina e nessa condição a hemácia se apresenta com forma esférica ao invés de discoide e como o diâmetro de

uma esfera é menor que o de um objeto discoide do mesmo volume, o esferócito parece menor que um eritrócito.

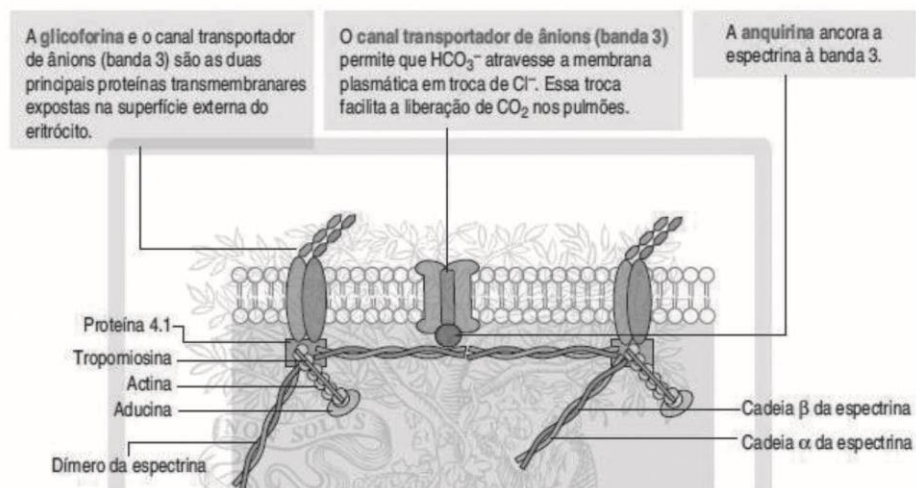


Figura 1. Membrana celular de uma hemácia (Kierszenbaum Histologia e Biologia Celular. Uma Introdução à Patologia)

Defeitos genéticos da hemoglobina ($\alpha_2\beta_2$) causam anemia falciforme e talassemia (do grego, thalassa, mar).

A anemia falciforme é resultado de uma mutação pontual na qual o ácido glutâmico é substituído pela valina na 6ª posição da cadeia β da globina. Os tetrâmeros defeituosos da hemoglobina (HbS), formam agregados e se polimerizam no interior das hemácias desoxigenadas e resulta na alteração do disco bicôncavo, tornando-o falciforme, rígido e menos deformável. A talassemia α ou a talassemia β são causadas pela síntese defeituosa das cadeias α ou β , respectivamente, resultando em anemia e hemólise.

Eritroblastose fetal

A eritroblastose fetal ou doença hemolítica do recém-nato é induzida por anticorpos e causada por incompatibilidade dos grupos sanguíneos entre a mãe e o feto.

Os antígenos ABO e Rh são de interesse especial. No sistema Rh, o antígeno D é a principal causa de incompatibilidade. Pequenas quantidades do sangue fetal podem passar para o sangue materno, no último trimestre da

gravidez, ou durante o parto, através de pequenas interrupções na membrana placentária. Se o feto é Rh positivo e a mãe é Rh negativa, as células fetais podem estimular a formação de anticorpos anti-Rh pelo sistema imune da mãe. Esses anticorpos passam para o sangue fetal e causam hemólise das células sanguíneas fetais Rh positivas, icterícia e anemia no feto. Entretanto, essa incompatibilidade só acontece depois da primeira gestação, quando há uma nova exposição ao antígeno D e intensa produção de imunoglobulina G (IgG), que consegue atravessar a placenta. Na primeira gestação isto não ocorre, porque há a produção de IgM, que não atravessa a placenta, devido ao seu grande tamanho. Atualmente, a doença hemolítica do recém-nato é relativamente incomum, pois a imunoglobulina Rh(D) administrada à mãe, geralmente previne o desenvolvimento dessa doença no feto.

Leucócitos

Os leucócitos (do grego <leukos>, branco) constituem dois grupos: (1) os **granulócitos** (que contêm grânulos citoplasmáticos primários, ou azurófilos, e específicos) e os (2) **agranulócitos** (que contêm apenas grânulos primários).

Quando estimulados, os leucócitos podem sair da corrente sanguínea, por um mecanismo conhecido como **diapedese** e entrar no tecido conjuntivo, como no processo inflamatório, por exemplo.

Durante a maturação dos granulócitos, ocorrem modificações citoplasmáticas, caracterizadas pela síntese de muitas proteínas que são acondicionadas nos dois tipos de grânulos acima citados, em dois estágios sucessivos. No primeiro estágio ocorre a produção dos grânulos primários que possuem enzimas do sistema lisossomal e afinidade pelos corantes básicos (Giemsa, Wright). No segundo estágio, a célula modifica sua atividade sintética e produz proteínas dos grânulos específicos.

Esses contêm diferentes proteínas, conforme o tipo de granulócito.

Maturação dos granulócitos

O mieloblasto é a célula que origina os três tipos de granulócitos. Quando surgem granulações citoplasmáticas no mieloblasto, a célula passa a ser chamada de promielócito neutrófilo, eosinófilo ou basófilo, de acordo com a granulação presente. Os estágios seguintes incluem o mielócito, o metamielócito, o granulócito com núcleo em bastão e o granulócito maduro (neutrófilo, eosinófilo e basófilo).

Leucócitos granulócitos

São células que possuem núcleo multilobulado e medem de 12 a 15µm de diâmetro. De acordo com os grânulos citoplasmáticos, distinguem-se três tipos de granulócitos: neutrófilos, eosinófilos e basófilos.

Neutrófilos

Os **neutrófilos, ou polimorfonucleares**, são células com 12 a 15 µm de diâmetro, exibindo núcleo lobulado, com dois a cinco lóbulos ligados entre si por pontes de cromatina e citoplasma com grânulos primários e grânulos específicos. Constituem 60% a 70% dos leucócitos circulantes, têm expectativa de vida de 6 a 7 horas, podendo sobreviver no tecido conjuntivo por até 4 dias. Nas pessoas do sexo feminino, os núcleos dos neutrófilos, exibe um pequeno apêndice, muito menor do que um lóbulo nuclear, em forma de raquete. Essa estrutura contém a cromatina sexual, constituída por um cromossomo X heterocromático (condensado) que não transcreve seus genes. A célula muito jovem apresenta o núcleo não segmentado em lóbulos e é chamada de neutrófilo com núcleo em bastonete ou apenas **bastonete** com o núcleo em forma de bastonete curvo. O citoplasma do neutrófilo apresenta predominantemente grânulos específicos e azurófilos (primários). Os grânulos azurófilos contêm proteínas e peptídeos implicados na digestão e morte dos microrganismos. Os grânulos específicos, além de possuir enzimas importantes no combate aos microrganismos, possuem também componentes para reposição de membrana e auxiliam na proteção da célula contra agentes oxidantes. Em distensões sanguíneas coradas, o citoplasma dos neutrófilos exibe cor rosa pálido. (Prancha 1, Fig. 3, A e B).

Os neutrófilos são células importantes no processo inflamatório agudo, atuando na eliminação de bactérias ou limitando a extensão de uma reação inflamatória no tecido conjuntivo. O aumento do número de neutrófilos é denominado **neutrofilia** e frequentemente indica uma infecção bacteriana. A

neutrofilia pode estar associada também a um exercício físico intenso, ao estresse e à ingestão de certos medicamentos à base de epinefrina e cortisona. A diminuição do número de neutrófilos é conhecida como **neutropenia**, podendo ser causada por tratamento farmacológico prolongado ou infecção viral. Os neutrófilos são produzidos na medula óssea e originam-se de uma linhagem comum com os fagócitos mononucleares.

A produção de neutrófilos é estimulada pelo fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF). Durante sua maturação, os neutrófilos passam por diversos compartimentos anatômicos e funcionais, que são: (1) **compartimento medular de formação**, subdividido em compartimento mitótico e de amadurecimento; (2) **compartimento medular de reserva**; (3) **compartimento circulante**; (4) **compartimento de marginação**. Há uma troca constante de células entre o compartimento circulante e o de marginação com um mesmo número de neutrófilos nos dois compartimentos. O 5º compartimento é constituído pelo tecido conjuntivo, de tamanho desconhecido, onde os neutrófilos permanecem cerca de 4 dias e depois morrem por apoptose, mesmo não tendo exercido sua função sendo fagocitados por macrófagos residentes no fígado ou no baço.

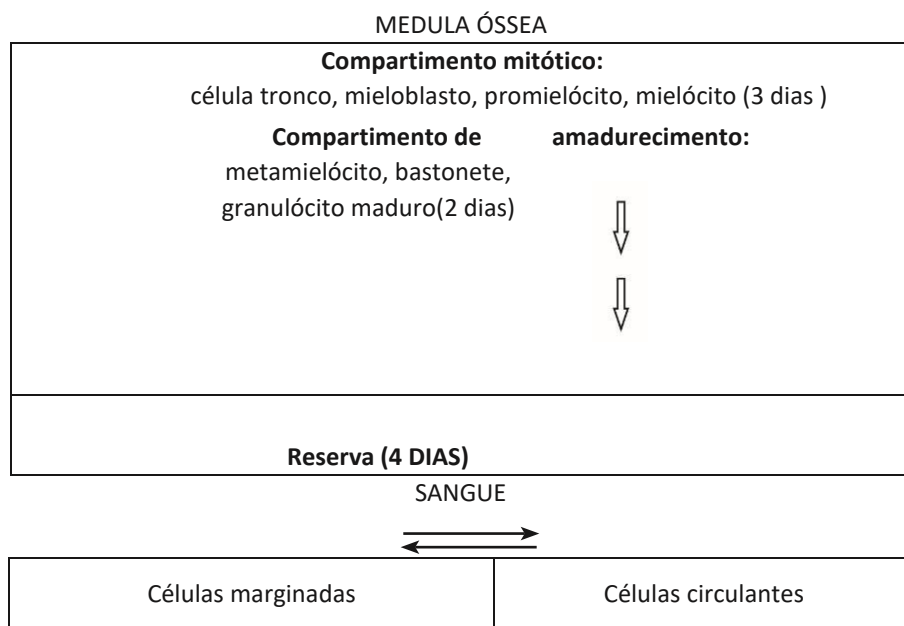


Figura 2. Esquema ilustrando os diversos compartimentos anatômicos e funcionais dos neutrófilos (adaptado a partir de Junqueira e Carneiro, *Histologia Básica*)

Eosinófilos

Os **eosinófilos** são células do sistema imune, com 12 a 15 μm de diâmetro, responsáveis pela ação contra parasitas multicelulares e certas infecções nos vertebrados. Constituem apenas 2 a 4% do total de leucócitos sendo, portanto muito menos numerosos que os neutrófilos. Em indivíduos normais seu número varia de 50 a 500/ μl no sangue periférico. A contagem periférica apresenta variação diurna em humanos, com valores mais baixos pela manhã e mais altos à tarde, conforme diminui o nível de estrógenos no decorrer do dia.

Os eosinófilos exibem núcleo bilobulado característico. Seu citoplasma é preenchido por grandes grânulos refringentes que se coram de vermelho, pela eosina, nos esfregaços sanguíneos. Nas eletromicrografias, os grânulos exibem um centro cristalino, paralelo ao seu eixo maior, ou **internum**, alongado, que contém a proteína básica principal (PBP), rica em arginina, responsável pela sua acidofilia. O papel da proteína básica principal é ligar-se à membrana dos parasitas, via receptor Fc, rompendo-a. A camada que envolve o internum denomina-se **externum** e é rica em proteína catiônica eosinofílica que junto com a PBP provoca a fragmentação dos parasitas. Além disso, o externum contém também peroxidase eosinofílica e neurotoxina derivada de eosinófilos. A proteína catiônica e a neurotoxina são ribonucleases com ação antiviral. A proteína catiônica promove, também, o aparecimento de poros nas células-alvo, induz a degranulação de mastócitos e basófilos e modula negativamente a atividade linfocitária. A peroxidase está envolvida na geração de espécies reativas de oxigênio, importantes no mecanismo de defesa. Entretanto, quando esses mediadores são liberados após a ativação do eosinófilo, podem promover também dano tecidual, por serem tóxicos para os tecidos do parasita e hospedeiro. Os eosinófilos secretam também citocinas e mediadores inflamatórios lipídicos (leucotrienos), que exacerbam a resposta inflamatória. (Prancha 1, Fig.4).

Os eosinófilos persistem na circulação por 8-12 horas, e podem sobreviver nos tecidos por um período adicional de 8-12 dias, na ausência de estimulação.

Os eosinófilos desenvolvem e amadurecem na medula óssea. Originam-se de células progenitoras mieloides, conhecidas como célula eosinofílica formadora de colônias (EoCFC), em resposta às citocinas interleucina 3 (IL3), interleucina 5 (IL-5), e fator estimulador de colônias de (GM-CSF). Após a maturação, circulam no sangue e migram para locais de inflamação nos tecidos, ou para os locais de infecção por helmintos, em resposta a citocinas

como CCL11 (eotaxina-1), CCL24 (eotaxina-2), CCL5 (RANTES), e leucotrienos como o leucotrieno B4 (LTB4). Nos locais de infecção são ativados por citocinas tipo 2 e por um subconjunto específico das células T helper (Th2).

Eosinofilia é o aumento de eosinófilos no sangue.

O processo inverso (diminuição da concentração) é denominado **eosinopenia**.

A eosinofilia é frequente na prática clínica, principalmente quando os valores estão entre 500 e 1000 eosinófilos/uL e indica a presença de doença parasitária, alérgica ou reação a medicamentos. Afora essas situações, a eosinofilia pode ser devida a doenças do tecido conjuntivo, infecções e, mais raramente, a doença hematológica maligna ou a tumores sólidos.

Basófilos

A principal característica dos basófilos é a presença de grânulos grandes, grosseiros e escuros que preenchem o citoplasma e com frequência encobrem os núcleos. Esses grânulos são compostos de peroxidase, heparina, histamina e calicreína; esta *última*, uma substância que atrai eosinófilos. A formação dos basófilos é bem menos conhecida, principalmente devido à sua quantidade reduzida no sangue. Representam de 0 a 1% dos glóbulos brancos. Sua elevação ocorre em processos alérgicos e estados de inflamação crônica, assim como em doenças mieloproliferativas. (Prancha 1, Fig.5)

No tecido conjuntivo, existem células estruturalmente semelhantes aos basófilos, conhecidas como mastócitos, que são maiores que os basófilos e localizam-se próximo aos vasos sanguíneos. Uma diferença entre esses dois tipos celulares é que os mastócitos contêm serotonina, ausente nos basófilos. A membrana plasmática dos basófilos, como a dos mastócitos, possui receptores para a imunoglobulina E (IgE). Eles liberam seus grânulos para o meio extracelular, sob a ação dos mesmos estímulos que promovem a expulsão dos grânulos dos mastócitos. No entanto, apesar das semelhanças, basófilos e mastócitos não são aspectos diferentes do mesmo tipo celular, pois se originam de precursores diferentes.

Leucócitos agranulócitos

Os agranulócitos incluem os linfócitos e monócitos. Possuem núcleo arredondado ou recortado, contendo apenas grânulos primários (lisossomos).

Linfócitos

A maioria dos linfócitos (97%) são células pequenas, medindo de 6 a 8 μm de diâmetro. O restante, (3%), são células grandes, com 9 a 12 μm . Em todos eles, o núcleo é redondo, podendo ser levemente recortado. O citoplasma dos linfócitos é basófilo e frequentemente é restrito a uma borda delgada em torno do núcleo. Os linfócitos são divididos em duas classes principais com diversos subtipos: os **linfócitos B (células B)** e os **linfócitos T (células T)**. Os linfócitos B e T são produzidos a partir de uma célula tronco linfóide na medula óssea, que gera os precursores dos linfócitos B e T.

Os **linfócitos B** são assim chamados por terem sido inicialmente estudados na bursa de Fabricius, uma massa de tecido linfático localizada próximo à cloaca das aves. Quando se remove, experimentalmente, a bursa de Fabricius de embriões de galinha, o animal que se desenvolve não é capaz de produzir imunoglobulinas.

Em humanos, os **linfócitos B** amadurecem na medula *óssea*, por ação da interleucina 7 (IL-7), produzida por células estromais da medula. Durante o processo de maturação, os linfócitos B expressam imunoglobulinas M (IgM) ou D (IgD) na sua superfície que interagem com duas proteínas adicionais ligadas entre si, as imunoglobulinas α (Ig α) e β (Ig β). A IgM ou IgD de superfície, junto às Ig α e Ig β , coligadas formam o **complexo receptor antigênico de linfócito B**.

Nos tecidos, quando estimulados, os linfócitos B se diferenciam em **plasmócitos**, células produtoras de imunoglobulinas e em células memória (com maior longevidade que os plasmócitos), participando da **imunidade humoral**. As células B representam 5 a 10% dos linfócitos do sangue. Os plasmócitos possuem um retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido com a capacidade de produzir anticorpos em massa. As células de memória possuem a capacidade de reconhecerem um determinado antígeno caso o encontrem de novo na corrente sanguínea. Após este reconhecimento, os linfócitos B memória clonar-se-ão em outras células B memória e plasmócitos.

Os **linfócitos T (células T)**, representam 65-75% dos linfócitos do sangue e também são produzidos na medula *óssea*, por uma célula precursora de T, mas completam sua maturação no timo. A prova de que os precursores de células T amadurecem no timo é verificada quando, experimentalmente, o órgão é removido de camundongos recém-natos. Nesses animais ocorre uma deficiência profunda na **resposta imunitária de base celular**, que depende diretamente da presença de células, ao contrário das respostas humorais,

dependentes de gamaglobulinas circulantes, produzidas pelos plasmócitos. Após seu amadurecimento e diferenciação em subpopulações, no timo, os linfócitos T, migram pela corrente sanguínea e se instalam em áreas definidas em outros órgãos linfáticos (baço, linfonodos, tonsilas e placas de Peyer), conhecidas como áreas **timo- dependentes**.

As células T reconhecem um antígeno quando este é apresentado pelas células apresentadoras de antígeno. Essa apresentação é realizada por proteínas especializadas codificadas em genes localizados no locus de histocompatibilidade principal e presentes na superfície das células apresentadoras. Estas células encontram e fagocitam antígenos, quebrando-os em fragmentos peptídicos antigênicos e os ligam a moléculas no seu **complexo principal de histocompatibilidade (MHC, major histocompatibility complex)**, de modo que o **complexo fragmento peptídico antigênico-MHC** seja exposto na superfície de linfócitos T.

Os linfócitos voltam dos tecidos para o sangue, recirculando continuamente, ao contrário dos outros leucócitos que não retornam ao sangue após migrarem para os tecidos.

O aumento do número de linfócitos no sangue é conhecido como

linfocitose, frequentemente associado a infecções virais. Denomina-se **linfopenia** ao número reduzido de linfócitos e geralmente está associado à imunodeficiência ou a terapia farmacológica por tempo prolongado.

O estudo das células precursoras dos linfócitos é difícil porque estas células não apresentam grânulos específicos nem lobulação nuclear. Os precursores dos linfócitos são identificados principalmente pelo tamanho, estrutura da cromatina e presença de nucléolos.

À medida que os linfócitos amadurecem, a cromatina se condensa, os nucléolos se tornam menos visíveis e a célula diminui de tamanho.

A célula mais jovem é o **linfoblasto**, que se diferencia em **prolinfócito** e por último em **linfócito maduro**. O **linfoblasto** é maior célula da linhagem, possuindo forma esférica com citoplasma basófilo, com a cromatina relativamente condensada, sem granulações azurófilas e exibindo dois a três nucléolos. O **prolinfócito** é menor que o linfoblasto, com citoplasma basófilo, podendo conter granulações azurófilas. Sua cromatina é condensada, porém menos do que nos linfócitos maduros. Os nucléolos não são visíveis. Em esfregaços sanguíneos corados pelas técnicas de rotina não se distinguem os linfócitos B dos T, pois possuem morfologia semelhante. A diferenciação é possível através da utilização de técnicas de imunocitoquímica que identificam as diferentes moléculas localizadas nas superfícies de ambos os tipos e seus subtipos. (Prancha 2, Fig.6)

Monócitos

Os monócitos estão presentes no sangue, constituindo-se de 2 a 8 % dos leucócitos circulantes, com um diâmetro que varia de 15 a 20 μm , sendo, portanto os maiores leucócitos.

A célula mais jovem da linhagem é o **pró-monócito**, encontrada somente na medula óssea, com um diâmetro de aproximadamente 20 μm . Os pró-monócitos se dividem duas vezes e se transformam em **monócitos**, que passam para o sangue, onde permanecem cerca de 8 horas, migrando, posteriormente, para o tecido conjuntivo.

Os monócitos tem núcleo em forma de rim e em posição excêntrica. O citoplasma cora-se, pelas técnicas usuais, em azul acinzentado, com grânulos azurófilos pequenos, dando um aspecto granular delicado.

Os monócitos são heterogêneos e consistem em pelo menos dois subtipos, distinguíveis pelas proteínas de superfície celular e cinética de migração para os tecidos. Uma população é denominada inflamatória porque é rapidamente recrutada do sangue para os locais de inflamação tecidual. O outro tipo pode ser a fonte de macrófagos residentes do tecido e algumas células dendríticas. Uma vez que entram nos tecidos, esses monócitos amadurecem e tornam-se macrófagos. Os macrófagos têm denominações especiais em diferentes tecidos, de acordo com a localização específica. Por exemplo, no sistema nervoso central são chamados de micróglia; quando revestem os capilares sinusoides do fígado, são denominados células de Kupffer; nos alvéolos, são chamados de macrófagos alveolares; no tecido ósseo, são denominados osteoclastos. Todos esses tipos fazem parte de um sistema chamado de **sistema fagocítico mononuclear**, cuja função primária é a fagocitose. (Prancha 2, Fig. 7).

O aumento do número de monócitos circulantes denomina-se **monocitose**, que pode estar associado a uma doença hematológica (por exemplo, leucemia), a infecção bacteriana ou parasitária ou doença autoimune. A diminuição do número de monócitos circulantes, conhecida como **monocitopenia**, pode ser causada pelo tratamento com corticosteroides.

Plaquetas

As **plaquetas** ou **trombócitos** (do grego <thrombos>, coágulo) são corpúsculos anucleados, com 2 a 4 μm de diâmetro, derivados dos **megacariócitos**, células gigantes e poliplóides da medula óssea. Estes, por sua vez derivam da diferenciação dos **megacarioblastos**. O megacariócito tem de 35 a 100 μm , exibindo lobulação nuclear irregular, sem núcleólos visíveis nos esfregaços. O citoplasma dessas células, rico em retículo endoplasmático liso e rugoso, é levemente basófilo contendo granulações que vão formar os cromômeros das plaquetas.

Neutrófilos, eosinófilo e basófilo em distensões sanguíneas coradas.

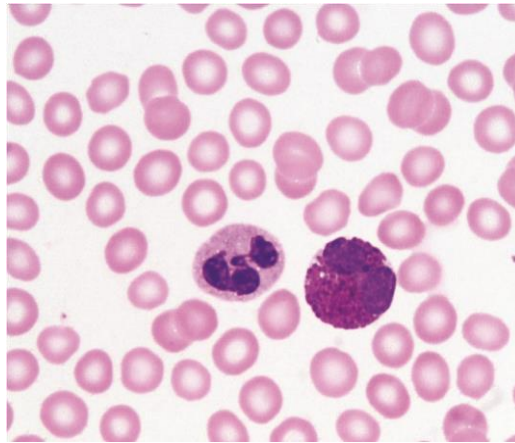


Fig. 3A. Neutrófilo maduro exibindo núcleo segmentado. À direita, observa-se um eosinófilo.

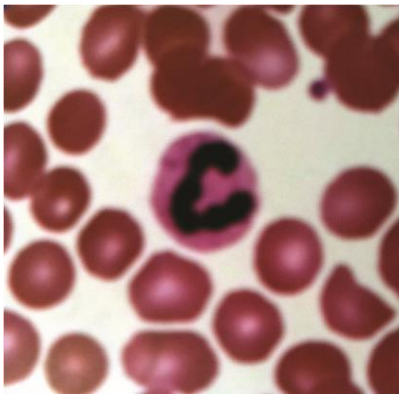


Fig. 3B. Forma jovem de neutrófilo núcleo em bastão.

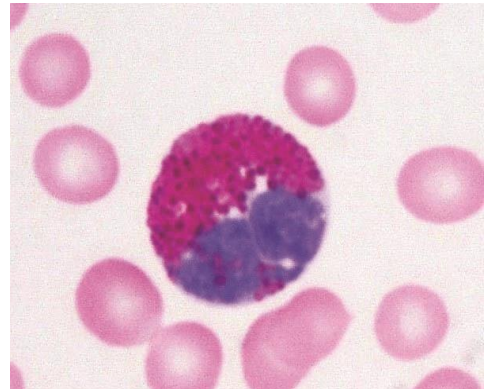


Fig. 4. Distensão sanguínea mostrando um eosinófilo com seu núcleo bilobulado típico e granulações citoplasmáticas.

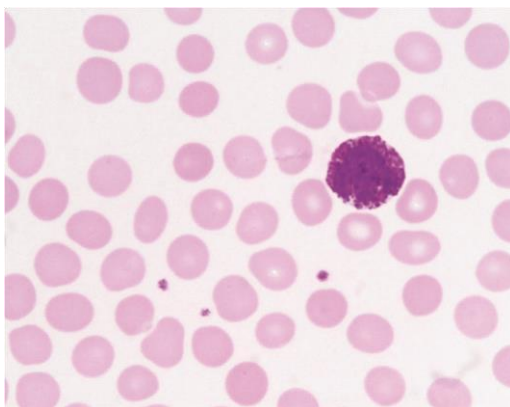


Fig. 5. Distensão sanguínea mostrando um basófilo com o núcleo encoberto pelas granulações.

Linfócitos, monócito e plaquetas em diferentes distensões sanguíneas.

Fig. 6. Fotomicrografia de sanguínea, mostrando linfócito

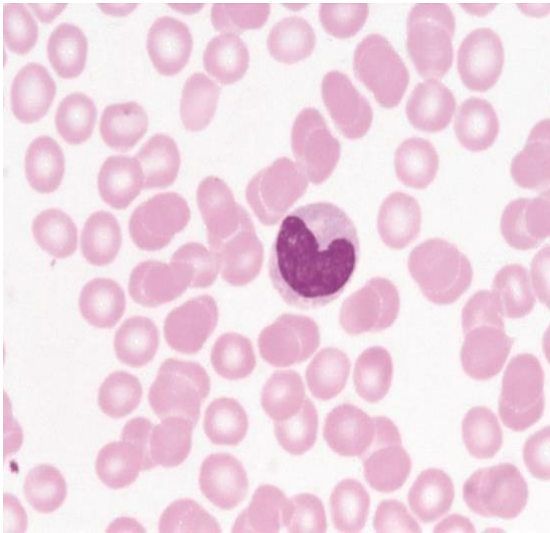
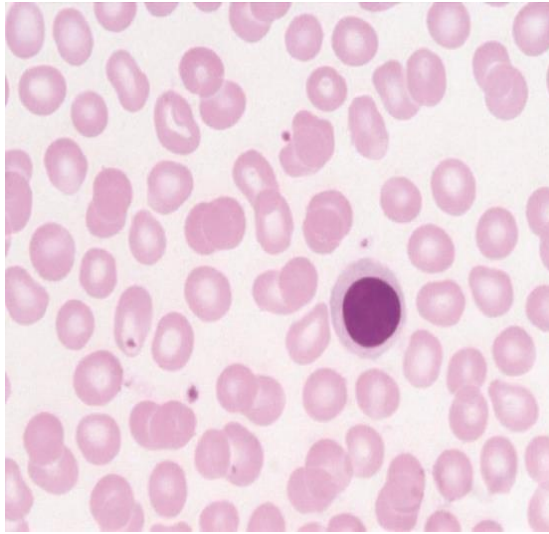
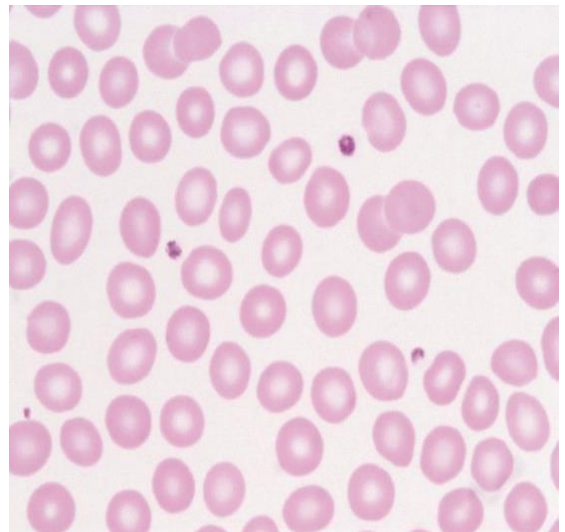


Fig. 7. Distensão sanguínea mostrando um monócito com o núcleo em forma de rim e excêntrico.

Fig. 8. Distensão sanguínea mostrando as plaquetas grumos. Individualmente, cada plaqueta exibe diâmetro bem menor do que os eritrócitos ao lado.



Durante a maturação do megacariócito, citoplasmáticos, os quais são precursores do hialômero das plaquetas e contêm várias substâncias ativas, como o fator de crescimento derivado das plaquetas, o fator de crescimento fibroblástico, o fator de von Willebrand e o fator IV das plaquetas.

À medida que o megacariócito amadurece, ocorre um aumento na quantidade de membranas lisas, as quais vão formar os canais de demarcação. Essas membranas acabam confluindo, originando as membranas das plaquetas. As interleucinas 6 (IL-6) e 7 (IL-7) e a trombopoetina são fatores importantes na formação dos megacariócitos.

A **trombopoetina**, é uma glicoproteína produzida nos rins e no fígado, que além de estimular a proliferação e diferenciação de progenitores de megacariócitos, estimula também o desenvolvimento das linhagens eritróide e mielóide. A fragmentação das projeções citoplasmáticas dos megacariócitos gera as **pró-plaquetas**, que se fragmentam em **plaquetas**, um processo que leva de 10 a 12 dias.

A membrana plasmática de uma plaqueta invagina-se para formar um sistema de canalículos citoplasmáticos, chamado de **sistema canalicular aberto**, que se comunica com a membrana plasmática da plaqueta, cuja importância funcional é a de facilitar a liberação de moléculas ativas armazenadas nas plaquetas.

A porção central da plaqueta contém grânulos e lisossomos e é denominada **granulômero**. A periferia da plaqueta, denominada **hialômero**, contém microtúbulos e microfilamentos que regulam a forma e o movimento das plaquetas. Os grânulos contidos no granulômero são classificados como **grânulos delta** e armazenam ADP, ATP e serotonina. Os **grânulos alfa** contêm fibrinogênio e fator de crescimento plaquetário. Os **grânulos lambda** são lisossomos carregados de enzimas próprias dessas organelas.

O papel das plaquetas é promover a coagulação do sangue e auxiliar a reparação da parede dos vasos sanguíneos, impedindo a perda de sangue de vasos lesados. Normalmente existem de 150.000 a 450.000 plaquetas por microlitro de sangue. Nos esfregaços sanguíneos as plaquetas aparecem em grupos (Prancha 2, Fig 8).

A redução do número de plaquetas do sangue (menos de 150.000/ μ L) denomina-se **trombocitopenia** e pode ter várias causas, incluindo a diminuição da produção, o aumento da destruição de plaquetas (como na púrpura trombocitopênica autoimune, gerada por anticorpos contra antígenos das plaquetas ou dos megacariócitos), por alguns fármacos e pela agregação de plaquetas nos vasos da microcirculação (púrpura trombocitopênica trombótica). A doença de von Willebrand, distúrbio hemorrágico congênito mais frequente, é causada pela deficiência do fator de mesmo nome. A **síndrome das plaquetas cinzentas** é uma doença autossômica dominante caracterizada por **macrotrombocitopenia** (trombocitopenia e aumento de volume das plaquetas) é causada pela redução de conteúdo dos grânulos alfa.

A **trombocitose** é o termo referente a um número excessivo de plaquetas no sangue. Quanto à origem, pode ser reativa ou primária (também denominada essencial, provocada por doença mieloproliferativa). Apesar de frequentemente ser assintomática (particularmente quando se origina como uma reação secundária), pode provocar uma predisposição para a trombose.

Plasma

É o componente líquido do sangue, contendo componentes de pequeno e de elevado peso molecular, que correspondem a 10% do seu volume. Mais de 90% do plasma, em peso, é água

que serve como solvente para diversos **solutos**, incluindo proteínas, gases dissolvidos, eletrólitos, nutrientes, substâncias reguladoras e materiais de excreção. Os solutos no plasma ajudam a manter a **homeostase**, um estado de equilíbrio dinâmico que proporciona um nível ótimo de pH e de osmolaridade para o metabolismo celular.

As proteínas plasmáticas correspondem a 7% e os sais inorgânicos a 0,9%. O restante é formado por compostos orgânicos como aminoácidos, vitaminas, hormônios, glicose, imunoglobulinas. As principais proteínas do plasma são as albuminas, as alfa, beta e gama globulinas, as lipoproteínas e as proteínas que participam da coagulação do sangue, como protrombina e fibrinogênio.

A **albumina** é o principal componente proteico do plasma, constituindo aproximadamente metade das proteínas plasmáticas totais. É a menor proteína plasmática (cerca de 70 KD) e é produzida no fígado. A albumina é responsável por exercer o gradiente de concentração entre o sangue e o líquido extracelular. Essa importante pressão sobre a parede dos vasos sanguíneos, conhecida como **pressão coloidosmótica**, mantém a proporção correta de sangue para o volume líquido tecidual. Caso uma quantidade significativa de albumina extravase dos vasos para o tecido conjuntivo frouxo, ou seja, perdida através da urina, a pressão coloidosmótica diminui e há acúmulo de líquido nos tecidos (edema). A albumina também age como proteína transportadora, ligando e transportando hormônios (tiroxina), metabólitos (bilirrubina) e medicamentos (barbitúricos).

As **globulinas** incluem as imunoglobulinas (γ -globulinas), o maior componente da fração de globulinas e as **não-imunoglobulinas** (α e β -globulinas).

As não-imunoglobulinas são segregadas pelo fígado e ajudam a manter a pressão osmótica no sistema vascular, servindo também como proteínas transportadoras para diversas substâncias, como o cobre, o ferro e hemoglobina. As não-imunoglobulinas incluem também fibronectina, lipoproteínas, fatores de coagulação e outras moléculas que possam fazer intercâmbio entre o sangue e o tecido conjuntivo.

O **fibrinogênio**, a maior proteína plasmática (340 KD), é produzido no fígado. Numa série de reações em cascata com outros fatores de coagulação, o fibrinogênio solúvel é transformado em fibrina. Os monômeros de fibrina se polimerizam e formam fibras longas e insolúveis. Essas fibras elaboram ligações cruzadas e formam uma rede impermeável no local de vasos sanguíneos lesados que impede uma perda de sangue ainda maior.

Com exceção das grandes proteínas e das substâncias reguladoras, que são pequenas proteínas ou polipeptídeos, muitos componentes do plasma são pequenos o suficiente para atravessar a parede dos vasos e passar para o espaço extracelular do tecido conjuntivo adjacente.

O **soro** é o mesmo que o plasma sanguíneo, exceto por terem sido retirados os fatores de coagulação. Para fins de laboratório, ao sangue colhido de uma veia é adicionado um **anticoagulante**, geralmente citrato ou heparina. O citrato fixa os íons cálcio, que são essenciais para desencadear a cascata de coagulação; a heparina desativa os fatores de coagulação no plasma. O plasma desprovido de fatores de coagulação é denominado **soro**, utilizado para alguns testes específicos. Os testes de coagulação, entretanto, exigem que todos os fatores de coagulação estejam preservados; nesses casos o soro não é adequado.

Exame das células sanguíneas

O melhor método para observarmos os tipos de células do sangue periférico é a **distensão sanguínea** (impropriamente conhecida como esfregaço sanguíneo). A preparação inclui em se colocar uma gota de sangue diretamente sobre uma extremidade da superfície da lâmina e, com a borda de outra lâmina, faz-se a distensão da gota, produzindo uma fina camada de células

sanguíneas. A preparação e então secada ao ar e corada. A coloração do tipo Romanovsky, modificada, usada comumente para distensões sanguíneas, utiliza uma mistura de azul de metileno (corante básico), azures (também corantes básicos) e eosina (corante ácido). São muito usadas as misturas de Leishman, Wright e Giemsa, designadas com os nomes dos pesquisadores que as introduziram. Com essas misturas de corantes, as estruturas **acidófilas** se coram em **rosa**, as **basófilas** em **azul** e as que possuem afinidade pelos azures, as **azurófilas** aparecem na **cor púrpura**.

Referências bibliográficas

- Abbas, AK, Lichtman, AH, Pillai, S. Imunologia celular e molecular. 7ª ed. São Paulo: Elsevier, 2011.
- ComenzoRL, BerckmanEM: Hematopoietic stem cell and progenitor cells from blood. Transfusion 35:335, 1995.
- Couissinier-Paris P. [Activated eosinophils: techniques to characterize them]. Presse Med. 2006; 35:125-34.
- Gartner LP, Hiatt JL. Atlas colorido de Histologia. 3ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
- Geissmann F, Manz MG, Jung S et al. Development of monocytes, macrophages and dendritic cells. Science 327:656-661, 2010
- Hoffbrand AV, Moss, PA, H; Pettit J E. Fundamentos em hematologia. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.
- Janeway, CA, Travers P, Walport M, Capra JD. Imunobiologia: o sistema imunobiológico na saúde e na doença. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.
- Junqueira LC, Carneiro J. Histologia Básica 11ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- Kierszenbaum AL, Tres LL. Histologia e Biologia Celular. Uma Introdução à Patologia. 3ª Ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2012. Lacy P, Becker AB, Mobel R. The human eosinophil. In: Wintrobe's Clinical Hematology 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004.
- Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. Embriologia clínica, 9ª ed, Rio de Janeiro, Elsevier, 2012.
- Ross, M H, Pawlina W. Histologia: texto e atlas. Em correlação com biologia celular e molecular. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008
- Rottenberg ME, Hogan SP. The eosinophil. Annu Rev Immunol 24: 147, 2006.
- Sampson AP: The role of eosinophils and neutrophils in inflammation. Clin Exp Allergy 30 9(suppl): 22, 2000.
- Verrasto T, Hematologia e hemoterapia Fundamentos de Morfologia, Fisiologia, Patologia e Clínica, Atheneu, São Paulo: 2005.

Fonte das figuras:

Leboffe, MJ. Atlas Fotográfico de Histologia. Wheater, Burkitt e Daniels. Histologia Funcional.
<http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140>