

A microscopic view of a cell, likely a lymphocyte, with a large, textured nucleus and a thin rim of cytoplasm. The image is rendered in a monochromatic red color scheme. The cell is centered in the upper half of the frame, with other similar cells visible in the background and foreground, slightly out of focus.

PRIMAVERA BORELLI

FUNDAMENTOS DE HEMATOLOGIA

Teoria & prática

Blucher

FUNDAMENTOS DE HEMATOLOGIA: TEORIA & PRÁTICA

Amanda Costa

Dra. Ana Lucia Borges Shimada

Profº. Dr. Antonio Altair Magalhães Oliveira

Cadiele Oliana Reichert

Prof. Dr. Celso Spada

Dra. Dalila C. Oliveira

Profª. Dra. Dulce Marta Schimieguel Mascarenhas Lima

Profº. Dr. Ed Wilson Santos

Profª. Dra. Graziela Batista da Silva

Profº. Dr. JosÉ Guilherme Xavier

Profª. Dra. Ligia Ferreira Gomes

Profº. Dr. Marcelo Macedo Rogero

Mayara Caldas Ramos Cunha

Profª. Dra. Primavera Borelli

Profº. Dr. Ricardo Ambrósio Fock

Profª. Dra. Rita Fontoura-Wendel

Profª. Dra. Sandra Helena Poliselli Farsky

Profª. Dra. Solange Lúcia Blatt

Valéria Pereira Salgado

Fundamentos de Hematologia: teoria & prática

© 2023 Primavera Borelli (org.)

Editora Edgard Blücher Ltda.

Publisher Edgard Blücher

Editor Eduardo Blücher

Coordenação editorial Jonas Eliakim

Produção editorial Aline Fernandes

Diagramação Joyce Rosa

Revisão de texto Flávia Carrara

Capa Laércio Flenic

Imagem da capa: iStockphoto

Desenhos Reynaldo Uezima

Esquemas Primavera Borelli

Blucher

Rua Pedroso Alvarenga, 1245, 4º andar

04531-934 – São Paulo – SP – Brasil

Tel.: 55 11 3078-5366

contato@blucher.com.br

www.blucher.com.br

Segundo o Novo Acordo Ortográfico, conforme 5. ed. do *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*, Academia Brasileira de Letras, junho 2021.

É proibida a reprodução total ou parcial por quaisquer meios sem autorização escrita da editora.

Todos os direitos reservados pela Editora Edgard Blücher Ltda.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Angélica Ilacqua CRB-8/7057

Fundamentos de hematologia: teoria e prática / organizado por Primavera Borelli. – São Paulo : Blucher, 2023.

894 p. : il., color.

Bibliografia

ISBN 978-65-5506-544-2 (eletrônico)

1. Hematologia I. Borelli, Primavera

22-1242

CDD 616.15

Índices para catálogo sistemático:

1. Hematologia

CONTEÚDO

APRESENTAÇÃO	15
PARTE I. FISIOLOGIA DO SISTEMA HEMOPOÉTICO	17
1. CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS E FUNÇÕES DO SANGUE: CONSIDERAÇÕES GERAIS	19
1.1 INTRODUÇÃO	19
1.2 PRODUÇÃO	20
1.3 PLASTICIDADE DO TECIDO	21
1.4 FUNÇÕES DO SANGUE	21
1.5 HOMEOSTASIA E SISTEMA DE TRANSPORTE	21
1.6 SISTEMA DE DEFESA	21
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	22
2. HEMOPOESE	23
LISTA DE ABREVIATURAS	23
2.1 ONTOGENIA E FILOGENIA	24
2.2 HEMOPOESE	26
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	41
3. HISTOFISIOLOGIA DA MEDULA ÓSSEA	43
LISTA DE ABREVIATURAS	43
3.1 PARÊNQUIMA MEDULAR	43
3.2 DEPÓSITOS DE FERRO	57
3.3 CELULARIDADE MEDULAR	57
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	58
4. HISTOFISIOLOGIA ESPLÊNICA	61
LISTA DE ABREVIATURAS	61
4.1 ASPECTOS DA HISTOFISIOLOGIA ESPLÊNICA	61
4.2 O BAÇO, ÓRGÃO ENIGMÁTICO	61
4.3 FILOGÊNESE ESPLÊNICA	62
4.4 ONTOGÊNESE ESPLÊNICA	63
4.5 A ÁRVORE VASCULAR	63
4.6 POLPA VERMELHA	64

4.7 POLPA BRANCA	67
4.8 FOLÍCULOS LINFOIDES	67
4.9 FUNÇÕES	72
4.10 HOMEOSTASE SANGUÍNEA	73
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	74
5. A CÉLULA-TRONCO E SEU NICHOS	77
LISTA DE ABREVIATURAS	77
5.1 CÉLULA-TRONCO	79
5.2 ASPECTOS DA BIOLOGIA DA CÉLULA-TRONCO	80
5.3 CÉLULA-TRONCO HEMOPOÉTICA	83
5.4 CÉLULA-TRONCO MESENQUIMAL	94
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	98
6. CITOCINAS E HEMOPOESE	101
LISTA DE ABREVIATURAS	101
6.1 ASPECTOS GERAIS DAS CITOCINAS: CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, BIOLÓGICAS, RECEPTORES E VIAS DE SINALIZAÇÃO	103
6.2 CITOCINAS E RESPOSTA INFLAMATÓRIA	106
6.3 FATORES DE CRESCIMENTO HEMOPOÉTICOS	114
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	129
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	130
7. MOBILIZAÇÃO LEUCOCITÁRIA NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA: INTERAÇÃO LEUCÓCITO-ENDOTÉLIO E MOLÉCULAS DE ADESÃO	133
LISTA DE ABREVIATURAS	133
7.1 MOLÉCULAS DE ADESÃO NA INTERAÇÃO LEUCÓCITO-ENDOTÉLIO	134
7.2 MOLÉCULAS DE ADESÃO SOLÚVEIS E MARCADORES DE DOENÇA	139
7.3 MOLÉCULAS DE ADESÃO COMO ALVO TERAPÊUTICO: PERSPECTIVAS FUTURAS?	140
CONCLUSÕES	141
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	142
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	142
8. SÉRIE ERITROCITÁRIA	145
LISTA DE ABREVIATURAS	145
8.1 SISTEMA ERITROPOÉTICO	146
8.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DA SÉRIE ERITROIDE	148
8.3 ESTIMULADORES E INIBIDORES DA ERITROPOESE	154
8.4 FATORES NUTRICIONAIS QUE ATUAM NA ERITROPOESE	159
8.5 BIOSÍNTESE DA HEMOGLOBINA	168
8.6 BIOSÍNTESE DE GLOBINAS	169

8.7 MEMBRANA ERITROCITÁRIA	172
8.8 METABOLISMO ENERGÉTICO DOS ERITROCITOS	174
8.9 DESTRUIÇÃO ERITROCITÁRIA	177
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	179
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	180
9. LEUCÓCITOS: GRANULÓCITOS	183
LISTA DE ABREVIATURAS	183
9.1 INTRODUÇÃO	186
9.2 COMPOSIÇÃO E METABOLISMO	188
9.3 GRANULÓCITOS	190
9.4 LINHAGENS GRANULOCÍTICAS	209
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	237
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	238
10. LEUCÓCITOS: MONÓCITOS E MACRÓFAGOS	241
LISTA DE ABREVIATURAS	241
10.1 INTRODUÇÃO	243
10.2 MONÓCITOS	243
10.3 ONTOGENIA	246
10.4 METABOLISMO	248
10.5 PRODUÇÃO, REGULAÇÃO, CINÉTICA E MOBILIZAÇÃO	249
10.6 FUNÇÃO	251
10.7 MACRÓFAGOS	251
10.8 FUNÇÃO DE MONÓCITOS E MACRÓFAGOS	259
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	263
11. LINFOPOESE	265
LISTA DE ABREVIATURAS	265
11.1 INTRODUÇÃO	266
11.2 LINFOPOESE	266
11.3 REGULAÇÃO DA LINFOPOESE	274
11.4 MORFOLOGIA DAS CÉLULAS DA LINHAGEM LINFOIDE	275
11.5 MARCADORES IMUNOFENOTÍPICOS DA LINHAGEM LINFOIDE	278
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	280
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	280
12. MEGACARIÓCITOS E PLAQUETAS	281
LISTA DE ABREVIATURAS	281
12.1 INTRODUÇÃO	282
12.2 ONTOGENIA E REGULAÇÃO DA PLAQUETOPOESE	282
12.3 PRODUÇÃO DE PLAQUETAS	286

12.4 REGULAÇÃO: BASES MOLECULARES	288
12.5 METABOLISMO ENERGÉTICO	296
12.6 COMPOSIÇÃO LIPÍDICA E METABOLISMO LIPÍDICO	297
12.7 FUNÇÃO PLAQUETÁRIA	300
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	307
13. HEMOSTASIA, COAGULAÇÃO E FIBRINÓLISE	309
LISTA DE ABREVIATURAS	309
13.1 INTRODUÇÃO	310
13.2 VASOS	311
13.3 PLAQUETAS: FUNÇÃO E ASPECTOS BIOQUÍMICOS	314
13.4 SISTEMA DA COAGULAÇÃO	315
13.5 SISTEMA FIBRINOLÍTICO	336
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	341
14. NOÇÕES BÁSICAS EM IMUNO-HEMATOLOGIA: ANTÍGENOS ERITROCITÁRIOS, LEUCOCITÁRIO E PLAQUETÁRIOS	343
LISTA DE ABREVIATURAS	343
14.1 NOÇÕES BÁSICAS	343
14.2 ANTÍGENOS E ANTICORPOS ERITROCITÁRIOS	344
14.3 DETECÇÃO DOS ANTÍGENOS E ANTICORPOS ERITROCITÁRIOS	347
14.4 SISTEMA ABO E H	350
14.5 SISTEMA RH	352
14.6 OUTROS GRUPOS SANGUÍNEOS	354
14.7 IDENTIFICAÇÃO DE ANTICORPOS IRREGULARES CONTRA ANTÍGENOS ERITROCITÁRIOS	355
14.8 ANTÍGENOS E ANTICORPOS PLAQUETÁRIOS	356
14.9 ANTÍGENOS E ANTICORPOS GRANULOCÍTICOS	360
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	361
PARTE II. PATOLOGIA SÉRIE ERITROCITÁRIA: ANEMIAS	363
15. ANEMIAS	365
LISTA DE ABREVIATURAS	365
15.1 ANEMIA: ASPECTOS GERAIS	366
15.2 ANEMIA POR DEFICIÊNCIA DE FERRO	376
15.3 ANEMIA NORMOBLÁSTICA REFRATÁRIA (SIDEROBLÁSTICA)	382
15.4 ANEMIA DE DOENÇA CRÔNICA	382
15.5 ANEMIA MEGALOBLÁSTICA	384
15.6 ANEMIA PERNICIOSA	385
15.7 ANEMIA NÃO MEGALOBLÁSTICA	389
15.8 ANEMIAS HEMOLÍTICAS	390
15.9 ANEMIAS DEVIDAS À INSUFICIÊNCIA DA ERITROPOIESE	401

15.10 HEMOGLOBINOPATIAS	406
15.11 TALASSEMIAS	410
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	415
PARTE III. PATOLOGIAS, NÃO MALIGNAS, DOS LEUCÓCITOS	419
16. ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E FUNCIONAIS, NÃO MALIGNAS, DOS LEUCÓCITOS	421
LISTA DE ABREVIATURAS	421
16.1 INTRODUÇÃO	421
16.2 ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS ADQUIRIDAS	422
16.3 ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS HEREDITÁRIAS	428
16.4 ALTERAÇÕES FUNCIONAIS DOS LEUCÓCITOS	431
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	437
17. ALTERAÇÕES QUANTITATIVAS, NÃO MALIGNAS, DOS LEUCÓCITOS: LEUCOCITOSSES E LEUCOPENIAS	439
17.1 INTRODUÇÃO	439
17.2 LEUCOCITOSSES	439
17.3 LEUCOPENIAS	447
17.4 INTERPRETAÇÃO DO HEMOGRAMA EM PROCESSOS INFLAMATÓRIOS E/OU INFECCIOSOS	455
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	457
PARTE IV. PATOLOGIAS, NÃO MALIGNAS, DAS PLAQUETAS	459
18. ALTERAÇÕES QUANTITATIVAS, NÃO MALIGNAS, DAS PLAQUETAS: PLAQUETOPENIAS	461
LISTA DE ABREVIATURAS	461
18.1 INTRODUÇÃO	462
18.2 PLAQUETOPENIAS/TROMBOCITOPENIAS CONGÊNITAS	465
18.3 PLAQUETOPENIAS/TROMBOCITOPENIAS ADQUIRIDAS	470
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	487
19. ALTERAÇÕES QUANTITATIVAS, NÃO MALIGNAS, DAS PLAQUETAS: PLAQUETOSSES	491
LISTA DE ABREVIATURAS	491
19.1 INTRODUÇÃO	492
19.2 PLAQUETOSSES PRIMÁRIAS	493
19.3 PLAQUETOSSES SECUNDÁRIAS OU REACIONAIS	494
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	495
PARTE V. PATOLOGIA DA COAGULAÇÃO E DA FIBRINÓLISE	497
20. PATOLOGIA DA COAGULAÇÃO E DA FIBRINÓLISE	499
LISTA DE ABREVIATURAS	499

20.1 INTRODUÇÃO	501
20.2 COAGULOPATIAS	502
20.3 COAGULOPATIAS ADQUIRIDAS	522
20.4 ALTERAÇÕES NA FIBRINÓLISE	526
20.5 SÍNDROMES DE HIPERCOAGULABILIDADE	528
20.6 TERAPIA ANTICOAGULANTE	540
20.7 TERAPIA ANTIPLAQUETÁRIA	540
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	541
PARTE VI. DOENÇAS ONCO-HEMATOLÓGICAS	545
21. LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA	547
LISTA DE ABREVIATURAS	547
21.1 INTRODUÇÃO	550
21.2 HISTÓRICO DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA (LMC)	550
21.3 INCIDÊNCIA	551
21.4 ETIOLOGIA	551
21.5 GENE BCR	552
21.6 GENE ABL1	552
21.7 CROMOSSOMO PHILADELPHIA E GENE HÍBRIDO BCR-ABL1	552
21.8 VIAS DE SINALIZAÇÃO CELULAR ATIVADAS PELA PROTEÍNA BCR-ABL1 NA LMC	554
21.9 LMC ATÍPICA	555
21.10 ASPECTOS CLÍNICOS E MOLECULARES NAS FASES DA LMC	556
21.11 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	558
21.12 DIAGNÓSTICO MOLECULAR	563
21.13 CLASSIFICAÇÃO DA LMC	565
21.14 TRATAMENTO DA LMC	567
21.15 MONITORAMENTO DA LMC	569
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	570
22. POLICITEMIA VERA	573
LISTA DE ABREVIATURAS	573
22.1 INTRODUÇÃO	573
22.2 HISTÓRICO	574
22.3 ETIOLOGIA E BASES MOLECULARES	575
22.4 INCIDÊNCIA	576
22.5 SINAIS E SINTOMAS	576
22.6 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	577
22.7 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	579
22.8 PROGNÓSTICO E TRATAMENTO	580
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	580
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	581

23. TROMBOCITEMIA ESSENCIAL	583
LISTA DE ABREVIATURAS	583
23.1 INTRODUÇÃO	583
23.2 EPIDEMIOLOGIA, BASES MOLECULARES E ETIOPATOGENIA	583
23.3 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	586
23.4 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	586
23.5 PROGNÓSTICO	587
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	588
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	588
24. MIELOFIBROSE PRIMÁRIA	589
LISTA DE ABREVIATURAS	589
24.1 INTRODUÇÃO	589
24.2 ETIOLOGIA, BASES MOLECULARES E ETIOPATOGENIA	590
24.3 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	592
24.4 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	594
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	595
25. LEUCEMIA LINFOIDE CRÔNICA	597
LISTA DE ABREVIATURAS	597
25.1 INTRODUÇÃO	597
25.2 EPIDEMIOLOGIA	598
25.3 ETIOPATOGENIA, BASES MOLECULARES E PROGNÓSTICO	598
25.4 TIPOS DE LEUCEMIAS LINFOIDES CRÔNICAS	600
25.5 LEUCEMIAS LINFOIDES CRÔNICAS DE CÉLULAS T	606
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	610
26. LEUCEMIAS AGUDAS	613
LISTA DE ABREVIATURAS	613
26.1 INTRODUÇÃO	616
26.2 ASPECTOS HISTÓRICOS	617
26.3 ETIOLOGIA	618
26.4 INCIDÊNCIA	620
26.5 DIAGNÓSTICO CLÍNICO	620
26.6 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	622
26.7 ANÁLISE IMUNOFENOTÍPICA DAS LEUCEMIAS AGUDAS LINFOIDES E MIELOIDES	629
26.8 CITOGENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR DAS LEUCEMIAS MIELOIDES AGUDAS (LMA)	640
26.9 LEUCEMIAS AGUDAS AMBÍGUAS (MPAL)	649
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	650
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	650

27. SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS	655
LISTA DE ABREVIATURAS	655
27.1 INTRODUÇÃO	656
27.2 FISIOPATOLOGIA	658
27.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS NO SANGUE PERIFÉRICO E MEDULA ÓSSEA	660
27.4 CLASSIFICAÇÃO DAS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS	661
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	671
28. LINFOMAS	675
LISTA DE ABREVIATURAS	675
28.1 INTRODUÇÃO	676
28.2 BREVE REVISÃO SOBRE A ESTRUTURA DO TECIDO LINFOIDE	677
28.3 CLASSIFICAÇÃO DOS LINFOMAS	678
28.4 LINFOMA DE HODGKIN	680
28.5 LINFOMAS NÃO HODGKIN	689
28.6 LINFOMAS DE BAIXO GRAU	698
28.7 LINFOMAS DE ALTO GRAU	703
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	708
PARTE VII. TÉCNICAS LABORATORIAIS	713
29. TÉCNICAS ROTINEIRAS EM HEMATOLOGIA	715
29.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE SANGUE	715
LISTA DE ABREVIATURAS	715
29.2 CONTAGEM TOTAL DE CÉLULAS SANGUÍNEAS EM CÂMARA	718
LISTA DE ABREVIATURAS	718
29.3 PREPARO DE EXTENSÕES SANGUÍNEAS	725
LISTA DE ABREVIATURAS	725
29.4 TÉCNICAS DE COLORAÇÕES PANÓPTICAS	728
LISTA DE ABREVIATURAS	728
29.5 CONTAGEM DIFERENCIAL DE LEUCÓCITOS: FÓRMULA LEUCOCITÁRIA RELATIVA E ABSOLUTA	733
LISTA DE ABREVIATURAS	733
29.6 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE HEMOGLOBINA	735
LISTA DE ABREVIATURAS	735
29.7 DETERMINAÇÃO DO VOLUME HEMATÓCRITO	738
LISTA DE ABREVIATURAS	738
29.8 CONTAGEM DE RETICULÓCITOS	742
LISTA DE ABREVIATURAS	742
29.9 DETERMINAÇÃO DA VELOCIDADE DE HEMOSSEDIMENTAÇÃO OU ERITROSSEDIMENTAÇÃO	745
LISTA DE ABREVIATURAS	745
29.10 DETERMINAÇÃO DE CÉLULAS L.E.	752
LISTA DE ABREVIATURAS	752

29.11 PROVA DE FALCIZAÇÃO	754
ABREVIATURA	754
29.12 TESTE DE SOLUBILIDADE DE HEMOGLOBINA	755
LISTA DE ABREVIATURAS	755
29.13 TESTE DE FRAGILIDADE OSMÓTICA	758
LISTA DE ABREVIATURAS	758
29.14 ELETROFORESE DE HEMOGLOBINA	762
LISTA DE ABREVIATURAS	762
29.15 TÉCNICAS DE COAGULAÇÃO	768
LISTA DE ABREVIATURAS	768
29.16 CITOQUÍMICA	782
LISTA DE ABREVIATURAS	782
30. AUTOMAÇÃO EM HEMATOLOGIA	803
30.1 INTRODUÇÃO	803
30.2 AUTOMAÇÃO EM HEMOGRAMA E RETICULÓCITOS	803
30.3 AUTOMAÇÃO EM COAGULAÇÃO	817
30.4 AUTOMAÇÃO EM VELOCIDADE DE HEMOSSEDIMENTAÇÃO	825
30.5 CONTROLE DE QUALIDADE EM AUTOMAÇÃO	827
30.6 ATUALIZAÇÃO EM AUTOMAÇÃO	830
30.7 MONITORAMENTO DA ANTICOAGULAÇÃO ORAL	832
BIBLIOGRAFIA SUGERIDA	833
INFORMAÇÕES SOBRE OS AUTORES	835
ÍNDICE REMISSIVO	839

APRESENTAÇÃO

Este livro, com a importante colaboração dos coautores, aborda temas basilares da hematologia. Seus fundamentos teóricos e práticos destinam-se tanto aos profissionais, quanto aos estudantes e professores que atuam nessa área, assim como para pesquisadores das áreas da saúde e da biologia. Os temas são abordados de forma clara, objetiva e agradável, com uma linguagem acessível, mas não menos rigorosa, técnica e científica, trazendo uma visão integrada do sistema e os fundamentos para a compreensão da fisiologia e da patologia do sistema hemopoético.

A obra é resultado de nossas atividades acadêmicas e de pesquisa na hematologia clínica e experimental, nas disciplinas de hematologia da Faculdade de Ciência Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, bem como da atividade profissional na referida Faculdade e no Laboratório Clínico do Hospital Universitário da USP.

O termo hemopoese, ou hematopoese, deriva do latim *haemus*, ou do grego *haematus* (sangue), e *poiesis* (formação), e envolve os processos relacionados a origem, proliferação, diferenciação, maturação e distribuição das células sanguíneas. É um fenômeno complexo e altamente regulado, sendo influenciado por vários estímulos que atuam em diferentes níveis do processo – central (órgãos hemopoéticos) e periférico (sangue circulante) – caracterizando-se pela contínua produção e liberação de células maduras para a circulação sanguínea.

A área hematológica apresentou, nos últimos quarenta anos, significativos avanços em relação à compreensão da fisiopatologia do sistema hemopoético como, também, nas técnicas diagnósticas e terapêuticas, especialmente na área da onco-hematologia, merecendo destaque os avanços obtidos na biologia da célula-tronco hemopoética.

Desde o século XVIII até meados do século XX, diversas teorias coexistiram, tentando explicar a origem das células sanguíneas bem como o local de sua produção.

Dentre as várias teorias, três se destacaram. Em primeiro lugar, a teoria polifilética, das quais destacamos a teoria dualista de Ehrlich e Naegli, que postulava que as células derivavam de um precursor mieloide e de um precursor linfóide. Em segundo, a teoria trilateralista de Schilling-Aschoff, que defendia a derivação de todas as células sanguíneas a partir de três precursores: o hemocitoblasto mieloide, a célula retículo-histiocitária e a célula linfocitopoética. Por fim, em contraponto a elas, Adolfo Ferrata, hematologista italiano (1880-1946), formulou, entre 1910 e 1918, a teoria monofilética ou unicista, preconizando que as células derivavam de uma célula pluripotente, que ele denominou de hemo-histioblasto, uma vez que essa população celular originaria as células sanguíneas e células do tecido conjuntivo e a existência do hemocitoblasto, célula que originaria as diferentes linhagens sanguíneas. Esta teoria, a partir dos dados experimentais e clínicos, se consolidou a partir da década de 1950, e desde então vem sendo adotada. Atualmente, essas células são denominadas, respectivamente, de célula-tronco embrionária e de célula-tronco hemopoética.

O desenvolvimento teórico e tecnológico nas áreas da genética, biologia celular, molecular, da física, bioquímica e farmacogenômica proporcionaram sensível avanço na elucidação da fisiologia do sistema hemopoético e das patologias que o acometem. Estas técnicas possibilitaram um refinamento no diagnóstico, contribuindo para prognósticos mais precisos e terapêuticas mais eficazes.

Devemos lembrar que os genes, sua transcrição e transdução, necessitam de um ambiente ou um microambiente específico e adequado para sua expressão, sendo necessário além do meio intracelular também o extracelular, permitindo as interações célula-célula e célula-matriz extracelular, e ainda, as interações matriz-matriz.

Nas últimas décadas, a matriz extracelular, representada por células, proteínas adesivas e não adesivas e por substâncias solúveis (citocinas, fatores de crescimento, hormônios e nutrientes) deixou de ser vista apenas como um sistema de sustentação mecânico, mas como parte fundamental do processo regulatório. Esta estrutura extracelular proporciona não só a estrutura mecânica, mas possibilita a fixação de células e moléculas, regulando a osmolaridade, concentração de oxigênio, e demais substâncias e o pH local, o que possibilita a interação celular, sua comunicação e sinalização. Uma vez que as mensagens químicas que podem se traduzir na formação de segundo mensageiros e na sinalização ao genoma, depende da estrutura conformacional dessas moléculas e na forma das células, sem dúvida importante, é um dos aspectos da sinalização celular, pois o controle da transmissão da informação e sinal químico ou físico-químico dependem, também, da sua conexão com a rede externa e interna da célula.

A identificação de substâncias solúveis com ação sinalizadora, como os hormônios, citocinas e fatores de crescimento, e a descoberta dos receptores celulares para essas e para outras diversas moléculas, foram decisivas para a elaboração das vias de sinalização celular, possibilitando desvendar os fenômenos que envolvem a hemopoese: a autorrenovação da célula-tronco, os processos de proliferação, diferenciação das distintas linhagens sanguíneas e a maturação celular e, posteriormente, sua funcionalidade, proporcionando a descoberta de novos alvos-terapêuticos.

Assim, este livro pretende ser um manual importante para aqueles que trabalham com o diagnóstico hematológico e/ou com aspectos funcionais das células sanguíneas. A obra contempla desde a fisiologia do sangue até os procedimentos práticos mais rotineiros utilizados em um laboratório clínico de hematologia.

O livro é organizado em três grandes partes contendo sete seções e trinta capítulos. Os capítulos são ilustrados com esquemas de vias metabólicas e de regulação, desenhos e fotomicrografias dos tecidos e das células (desde precursores até células maduras) e da morfologia celular nos quadros de anemias, leucemias e demais patologias do sistema hemopoético, além de *links* que permitem a verticalização dos temas abordados. A descrição morfológica dos tipos celulares, suas etapas de maturação e as principais alterações morfológicas possibilitam entender as delicadas e complexas interações celulares com sua matriz.

Nesta edição, a Parte I – fisiologia do sistema hemopoético, capítulos de 1 a 14, aborda a fisiologia do sistema. O Capítulo 1 é uma breve introdução aos aspectos físico-químicos e funcionais do sangue e tem como objetivo apresentar, sucintamente, o panorama do mesmo para o organismo, aspectos que serão aprofundados nos capítulos posteriores.

A partir do Capítulo 2, descreve-se, detalhadamente, a ontogenia e fisiologia da produção das células sanguíneas, abordando-se a biologia da célula-tronco e dos órgãos hemopoéticos, com ênfase no microambiente da medula óssea, baço e linfonodos e os processos celulares e moleculares da hemopoese.

Além desses, há capítulos específicos sobre a eritropoese, plaquetopose, granulopose e sobre as séries monocítica e linfóide. Também são abordados os sistemas da coagulação e da fibrinólise, e há ainda um capítulo, com teoria e prática, sobre antígenos eritrocitários, plaquetários e leucocitários (imuno-hematologia).

Completam a primeira parte do livro os temas sobre citocinas, moléculas de adesão, cinética e mobilização de células e sua repercussão no hemograma, assuntos que normalmente não são encontrados nos textos de hematologia, e que ao nosso entender, são fundamentais para a compreensão da fisiologia hemopoética e sua regulação.

Na segunda parte do livro, capítulos 15 a 28, aborda-se a fisiopatologia das doenças que acometem o sistema: anemias (Capítulo 15), leucocitoses e leucopenias não malignas (capítulos 16 e 17), plaquetopenias, plaquetoses e hemorragias (capítulos 18 a 20), doenças onco-hematológicas (capítulos 21 a 28): mieloproliferações, leucemias agudas, mielodisplasias e linfomas, nos quais são tratadas a fisiopatologia e etiopatogenia dos processos, sinais e sintomas, classificações e diagnóstico laboratorial.

Na terceira parte (capítulos 29 e 30) são apresentadas as principais técnicas utilizadas na rotina hematológica, inclusive os testes citoquímicos. Cada técnica aborda: princípio, materiais e reagentes, protocolo de execução e interpretação dos resultados. Ênfase especial é dada no Capítulo 30, que trata da automação na área da hematologia.

Expressamos nossa gratidão aos demais autores que dedicaram seu tempo e *expertise* para a elaboração desta obra. Agradecimento especial às Dras. Amanda Krisma Rabelo e Karina Nakashima pelo auxílio na organização do Capítulo 29 – Técnicas rotineiras em hematologia.

Agradecemos ao Reynaldo Uezima pela execução das ilustrações que compõe este livro e ainda à equipe editorial da Editora Blucher pelo apoio na edição da obra.

Este livro é dedicado aos professores Dr. Domênico H.G.P. Barbieri (*in memoriam*) e Dra. Lucia Helena Meloni Bruneri (*in memoriam*), docentes da disciplina de Hematologia Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas-USP, e meus mestres.

Às minhas filhas Priscilla e Melissa e aos meus netos, Gabriela, Ana Clara, Vitória, Luan e Teo.

Primavera Borelli

São Paulo, 2 de agosto de 2023

PARTE I

FISIOLOGIA DO SISTEMA HEMOPOÉTICO

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS E FUNÇÕES DO SANGUE: CONSIDERAÇÕES GERAIS

Primavera Borelli

1.1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da humanidade, o sangue (do latim, *sanguis*) sempre foi considerado um elemento vital, essencial à vida. Descrições rupestres datadas da Pré-História mostram seres humanos ingerindo sangue. A Bíblia descreve que “a alma da carne é o sangue” (Lev. 17.11) e que “o sangue é a vida” (Deut. 12.23). Desenhos e pinturas da Idade Média evidenciam as primeiras tentativas de transfusões sanguíneas, e várias culturas, ainda hoje, mantêm o hábito de ingerir sangue como uma forma de obter ou manter a saúde. Por exemplo, membros da tribo africana dos Masai ingerem sangue de seu rebanho bovino; vários países europeus, asiáticos e latino-americanos utilizam sangue em diversos pratos da culinária, como o chouriço, o molho pardo e a sopa de osso buco ou “tutano”.

O sangue, na circulação, é um tecido líquido, móvel e disseminado por todo o organismo, sendo constituído por uma parte celular e por uma fração líquida denominada plasma (Figura 1.1).



Figura 1.1 - Tubo com sangue colhido com EDTA, evidenciando a camada de eritrócitos, a camada com leucócitos e plaquetas e o plasma. Fotografia gentilmente cedida por Alice Maria Serpentino.

O plasma representa, em média, 55% da volemia total e contém cerca de 90% de água, encontrando-se dissolvidos nele proteínas e peptídeos com diferentes funções biológicas, aminoácidos, lipídeos, carboidratos, minerais e vitaminas.

O componente celular (Figura 1.2) representa, aproximadamente, 45% do volume plasmático e contém os eritrócitos, leucócitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos) e as plaquetas. Tais células são produzidas nos órgãos hemopoéticos (ver Capítulo 2), que, após o nascimento, em seres humanos, são essencialmente medula óssea, timo, baço e linfonodos. A medula óssea é considerada o principal sítio anatômico da hemopoese extraterina. Em condições fisiológicas apropriadas somente as células sanguíneas maduras atingem a circulação sanguínea.

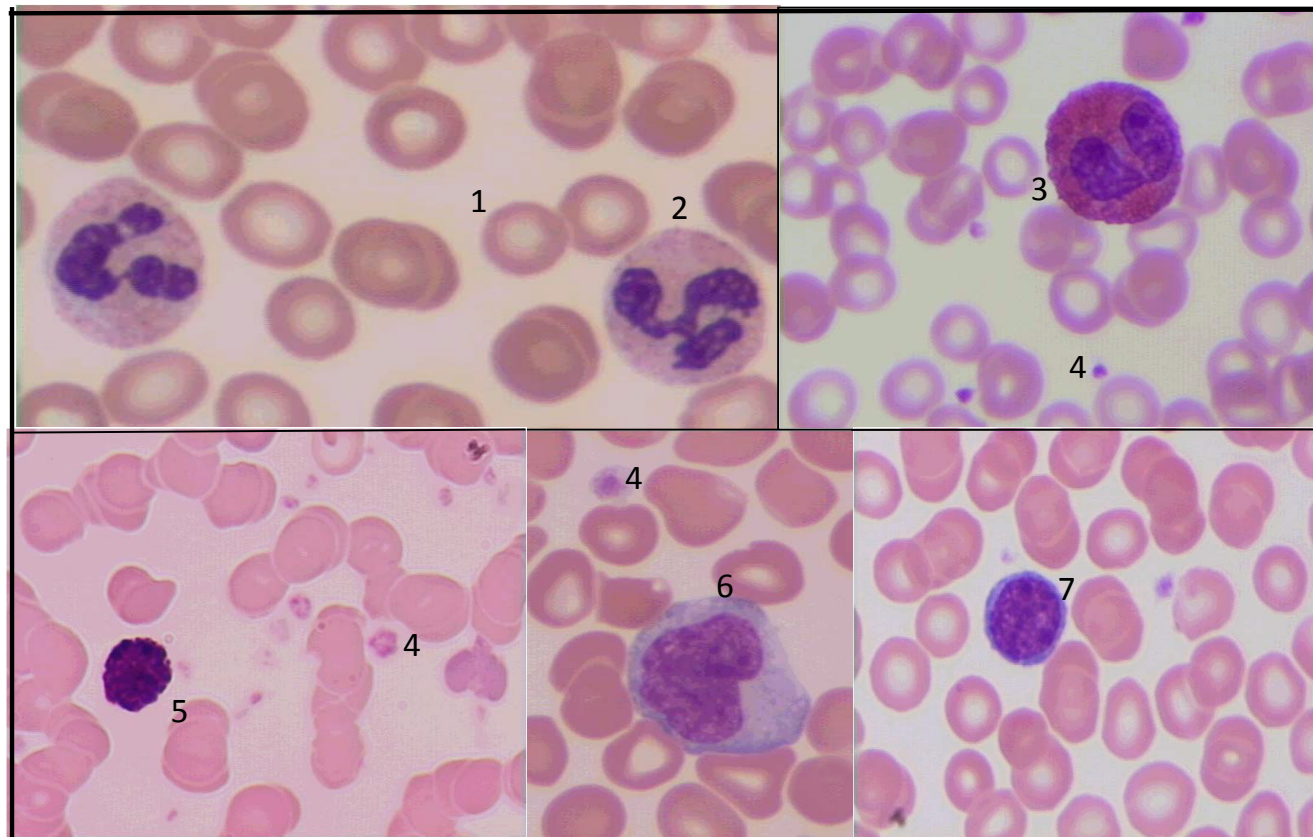


Figura 1.2 – Vista panorâmica de extensão de sangue periférico mostrando eritrócitos normais (1), neutrófilo segmentado (2); eosinófilo segmentado (3); plaqueta (4); basófilo (5); monócito (6) e linfócito (7). Todas as células apresentam morfologia típica. Coloração: May-Grunwald-Giemsa, modificado por Rosenfeld. Aumento 10x100. Fotomicrografia: Profa. Dra. Primavera Borelli, laboratório de Hematologia Clínica e Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

O sangue, diferentemente de outros tecidos, caracteriza-se por ter uma produção localizada em diferentes tecidos e órgãos, dependendo da fase de desenvolvimento do indivíduo (embrião, feto ou após o nascimento), e ainda pelo fato de, em condições normais, somente as células maduras, dotadas de função efetora, migrarem para a circulação periférica. Nesse sentido, podemos dizer que o sistema é móvel e disseminado, ou seja, há células sanguíneas distribuídas por toda a rede vascular ao longo de todo o organismo.

1.2 PRODUÇÃO

O sangue é um tecido renovável. As células sanguíneas são continuamente formadas, uma vez que apresentam vida média limitada e relativamente curta na circulação (por exemplo, os eritrócitos permanecem, fisiologicamente, na circulação pelo período de 110-120 dias – vide Capítulo 8). Assim, as células precisam ser continuamente produzidas, e o sistema hemopoético apresenta elevada capacidade de replicação. Em média, um indivíduo adulto normal, de cerca de 70 kg, produz por volta de $2,5 \times 10^9$ eritrócitos/dia/kg; 1×10^9 plaquetas/dia/kg e 1×10^{10} leucócitos/dia/kg. Essa renovação celular é possível porque o sangue possui uma população de células-tronco denominadas células-tronco hemopoéticas (ou *stem cell*) com alta capacidade de autorrenovação e diferenciação celular (vide Capítulo 5).

1.3 PLASTICIDADE DO TECIDO

O sistema hemopoético é extremamente plástico. Entende-se como plasticidade do tecido a capacidade que tem de adaptar-se às diferentes condições fisiológicas e/ou patológicas, amplificando a produção das células ou, ainda, modulando-as funcionalmente. Cada componente do sistema tem uma população madura imediatamente disponível para uma determinada situação de demanda. O sistema possui alta capacidade regenerativa se for adequadamente estimulado e, como veremos em capítulos posteriores, o sistema é autorregulado, existindo substâncias ativadoras e inativadoras ou inibidoras da hemopoese.

1.4 FUNÇÕES DO SANGUE

As funções de cada constituinte sanguíneo serão vistas em capítulos específicos, contudo, mencionaremos aspectos gerais das funções do sistema. Simplificadamente, podemos relacionar o sangue às funções de transporte, defesa e homeostasia. As diversas células e constituintes do sistema hemopoético atuam de maneira integrada e interdependente, ou seja, a alteração na fisiologia de um componente pode modificar a função e a integridade de outro elemento e do organismo como um todo, como representado na Figura 1.3.

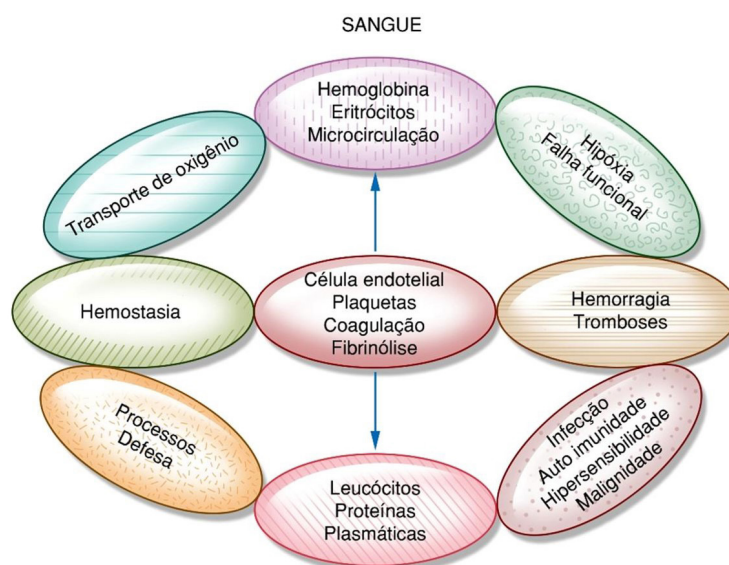


Figura 1.3 – Esquema evidenciando as diferentes funções exercidas pelo sangue, suas inter-relações, bem como o comprometimento funcional em caso de patologias.

1.5 HOMEOSTASIA E SISTEMA DE TRANSPORTE

O plasma regula as características físico-químicas do sangue e da homeostasia orgânica, regulando pH, viscosidade sanguínea, pressão osmótica, equilíbrio hídrico e temperatura corporal.

O sangue é responsável pelo transporte de nutrientes como vitaminas, sais minerais, aminoácidos, açúcares e lipídeos; gases, especialmente oxigênio e gás carbônico; proteínas com funções diversas, como albumina, transferrina e transcobalamina; fatores de coagulação; anticorpos; fatores de crescimento; e hormônios. As próprias células sanguíneas são transportadas pelo sangue.

1.6 SISTEMA DE DEFESA

Os diferentes tipos de leucócitos participam do processo de defesa do organismo, estando associados também aos processos de reparação e regeneração tecidual frente a uma lesão. Tanto a resposta imune específica como a inespecífica envolvem células leucocitárias e proteínas do sistema do complemento, citocinas e fatores do sistema da coagulação e da fibrinólise. As próprias plaquetas, além de participarem dos processos de coagulação e reparação vascular, integram esse processo mais amplo de resposta do organismo diante de uma lesão, participando dos processos iniciais da resposta inflamatória.

BIBLIOGRAFIA SUGERIDA

- Beutler E, Lichtman MA, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT. Williams Hematology. 7^a ed. New York: McGraw-Hill; 2006.
- Lee RG, Bithel TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN. Wintrobe's clinical hematology. 12^a ed. Barueri: Manole; 2007.
- Stiene-Martin EA, Lotspeich-Steiniger CA, Koepke JA. Clinical hematology. Principles, procedure, correlations. 2^a ed. Philadelphia: Lippincott; 1998.

CAPÍTULO 2

HEMOPOESE

José Guilherme Xavier e Primavera Borelli

LISTA DE ABREVIATURAS

AGM: Aorta-gonada-mesonefro

BFU E: Unidade formadora de colônia da linhagem eritrocítica (*Unit forming burst erythrocytic series*)

CFU-G: Unidade formadora de colônia da linhagem granulocítica (*Unity colony forming of granulocytic series*)

CFU-GEMM: Unidade formadora de colônia das linhagens granulocítica, eritrocítica, megacariocítica e monocítica ou mono-macrofágica (*Colony forming units of granulocytic, erythrocytic, megakaryocytic and monocytic series*)

CFU-GM: Unidade formadora de colônia das linhagens granulocítica e monocítica ou mono-macrofágica (*Unity colony forming of granulocytic and monocytic series*)

CFU-M: Unidade formadora de colônia da linhagem monocítica ou mono-macrofágica (*Unity colony forming of monocytic series*)

CFU-Meg: Unidade formadora de colônia da linhagem megacariocítica (*Unity colony forming of megakaryocytic series*)

CFU-MegE: Unidade formadora de colônia das linhagens megacariocítica e eritrocítica (*Unity colony forming of megakaryocytic and erythrocytic series*)

CFU-S: Unidade formadora de colônia do baço (*Colony forming unit-spleen*)

CTH: Célula-tronco hemopoética

EPO: Eritropoietina

GM-CSF: Fator estimulador de colônias granulo-monocíticas (*Granulocitic-monocitic stimulating factor*)

IL-3: Interleucina 3

IL-6: Interleucina 6

IL-9: Interleucina 9

IL-11: Interleucina 11

MEC: Matriz extra celular

SCF: Fator estimulador de célula-tronco (*Stem cell fator*)

2.1 ONTOGENIA E FILOGENIA

2.1.1 DERIVAÇÃO DAS CÉLULAS SANGUÍNEAS

Os estudos sobre o sangue e a circulação sanguínea remontam há cerca de 2000 anos. Galeno (129-199 d.C.) foi um dos pioneiros a descrever, com base em estudos em macacos, a pequena circulação, revelando que no interior dos vasos não existia água, e sim sangue. Miguel Servet descreveu, em 1551, a circulação pulmonar e o retorno do sangue ao ventrículo esquerdo. William Harvey publica em 1628 seus estudos descrevendo a circulação sanguínea e a distribuição de sangue pelo corpo em fluxo contínuo, concluindo que o “coração era uma bomba”. Diante desses conhecimentos, Descartes propôs que as “artérias e veias eram canos que levavam os nutrientes para o corpo”.

O aperfeiçoamento do microscópio realizado pelos holandeses Zacharias Janssen e Cornelius Drebbel e, posteriormente, por Christiaan Huygens (1629-1695) e Johannes Havelke (1611-1687) tornou possível a descoberta das células

Marcello Malpighi (1628-1694), biólogo e médico italiano, demonstrou, em 1661, que o sangue não se formava nos vasos periféricos, e, em 1666, foi o primeiro a observar os glóbulos vermelhos (eritrócitos) e a atribuir-lhes a cor do sangue. Foi Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723), também holandês, quem descreveu, em 1668, a rede de capilares e como as células nela circulavam; em 1674, fez a primeira descrição de uma célula sanguínea: o eritrócito.

Durante os séculos XVIII, XIX e até meados do século XX, diversas teorias coexistiram tentando explicar a origem das células sanguíneas bem como o local de sua produção. Dentre as várias teorias duas se destacaram: a teoria polifilética e a monofilética.

2.1.2 TEORIA POLIFILÉTICA

A teoria polifilética, defendida por cientistas notáveis como Erik Undritz, postulava que as diferentes células sanguíneas derivavam de precursores distintos, independentes entre si (Figura 2.1).

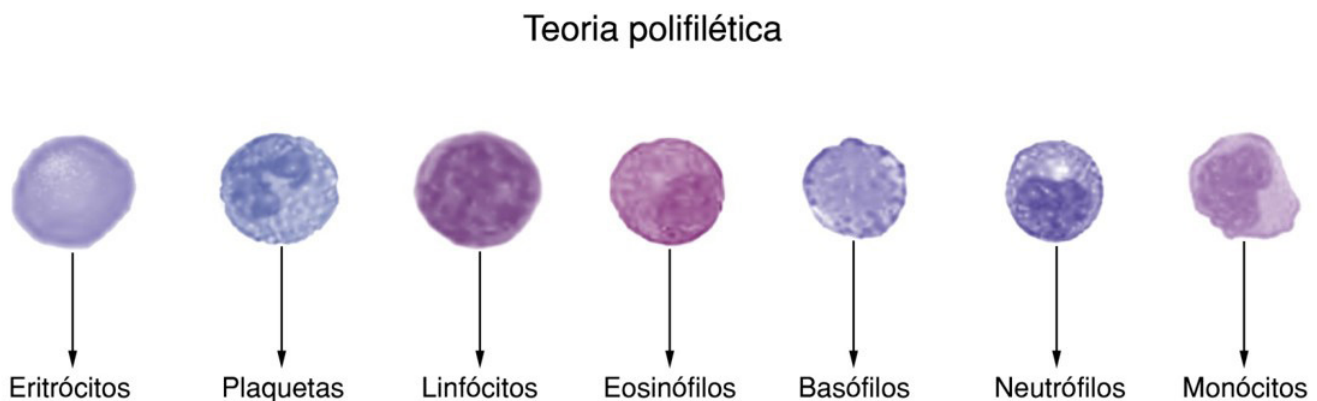


Figura 2.1 – Representação gráfica da teoria polifilética. Essa teoria preconiza que cada tipo celular sanguíneo deriva de um tipo específico de precursor, os quais são independentes entre si.

Variantes da teoria polifilética foram a teoria dualista de Ehrlich e Naegli, que postulava que as células derivavam de um precursor mieloide e de um precursor linfoide (Figura 2.2), e a teoria trialista de Schilling-Aschoff (Figura 2.3), que defendia a derivação de todas as células sanguíneas a partir de três precursores: o hemocitoblasto mieloide, a célula retículo-histiocitária e a célula linfocitopoética.

Teoria dualística

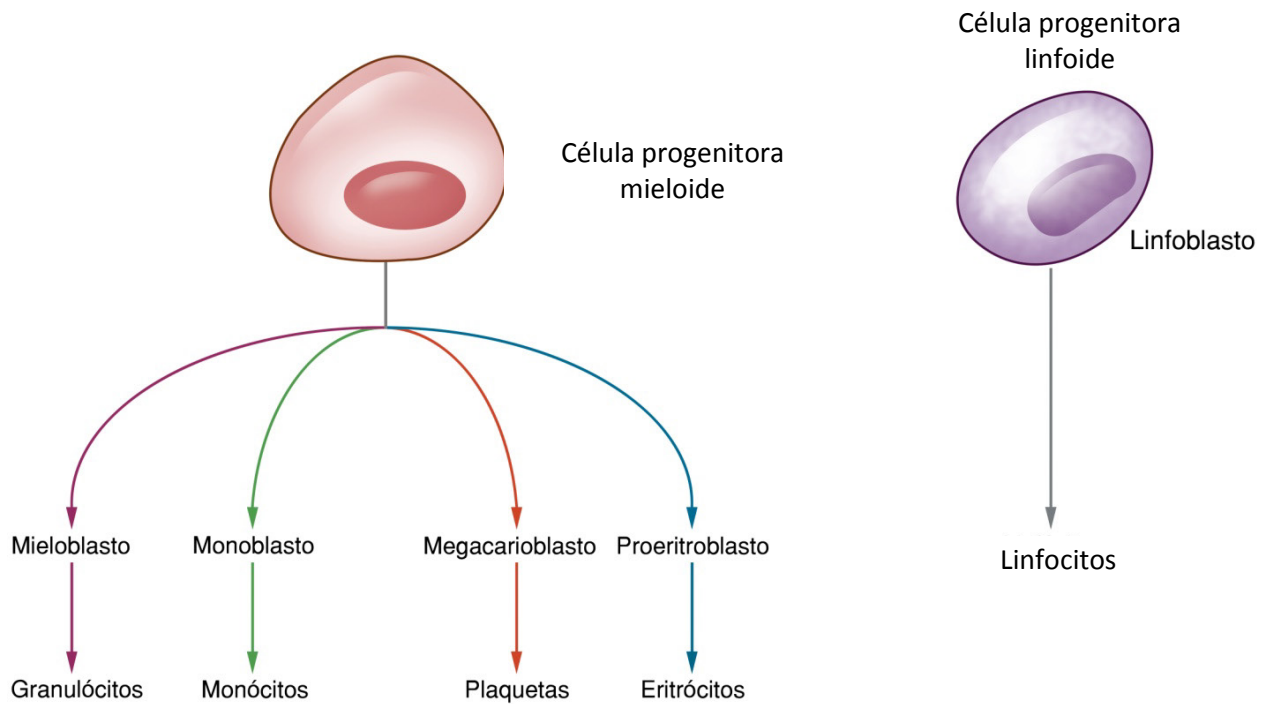


Figura 2.2 - Representação gráfica da teoria dualística. Segundo esta teoria as células maduras do sangue seriam derivadas de dois tipos celulares: o **progenitor mielóide** que originaria os granulócitos, eritrócitos, monócitos e plaquetas e o **progenitor linfóide** ou **linfoblasto** que daria origem aos linfócitos.

Teoria trilateral de Schilling - Aschoff

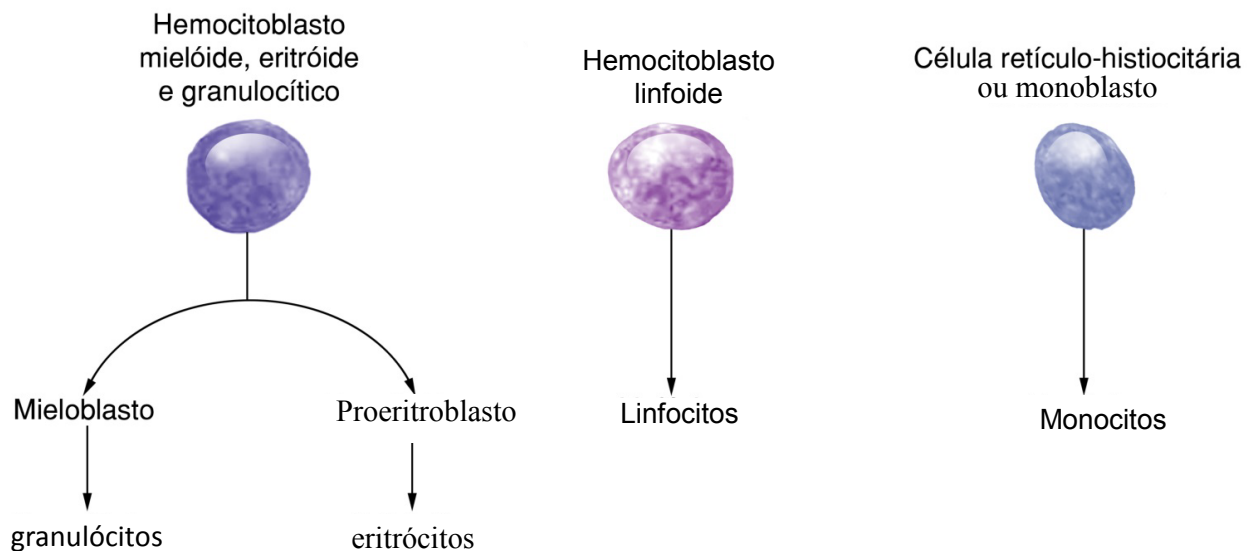


Figura 2.3 – Representação gráfica da teoria trilateral de Schilling-Aschoff. Segundo essa teoria, as células maduras do sangue seriam derivadas de três tipos celulares: o **hemocitoblasto mielóide**, que originaria os granulócitos e eritrócitos, o **hemocitoblasto linfóide** ou **linfoblasto**, que daria origem aos linfócitos, e a **célula retículo-histiocitária** ou **monoblasto**, que originaria os monócitos e macrófagos.

2.1.3 TEORIA MONOFILÉTICA OU UNICISTA

Por sua vez, a teoria monofilética ou unicista, formulada entre 1910 e 1918 pelo hematologista italiano Adolfo Ferrata (1880-1946), preconizava que todas as células sanguíneas derivavam de uma célula blástica pluripotente, presente nos órgãos hemopoéticos e que ele denominou **hemo-histioblasto** (do grego *haima*, *istion*, tecido, e *blas-*

tos, germinativo, primitivo), uma vez que essa população celular poderia originar as células sanguíneas e as do tecido conjuntivo (Figura 2.4).

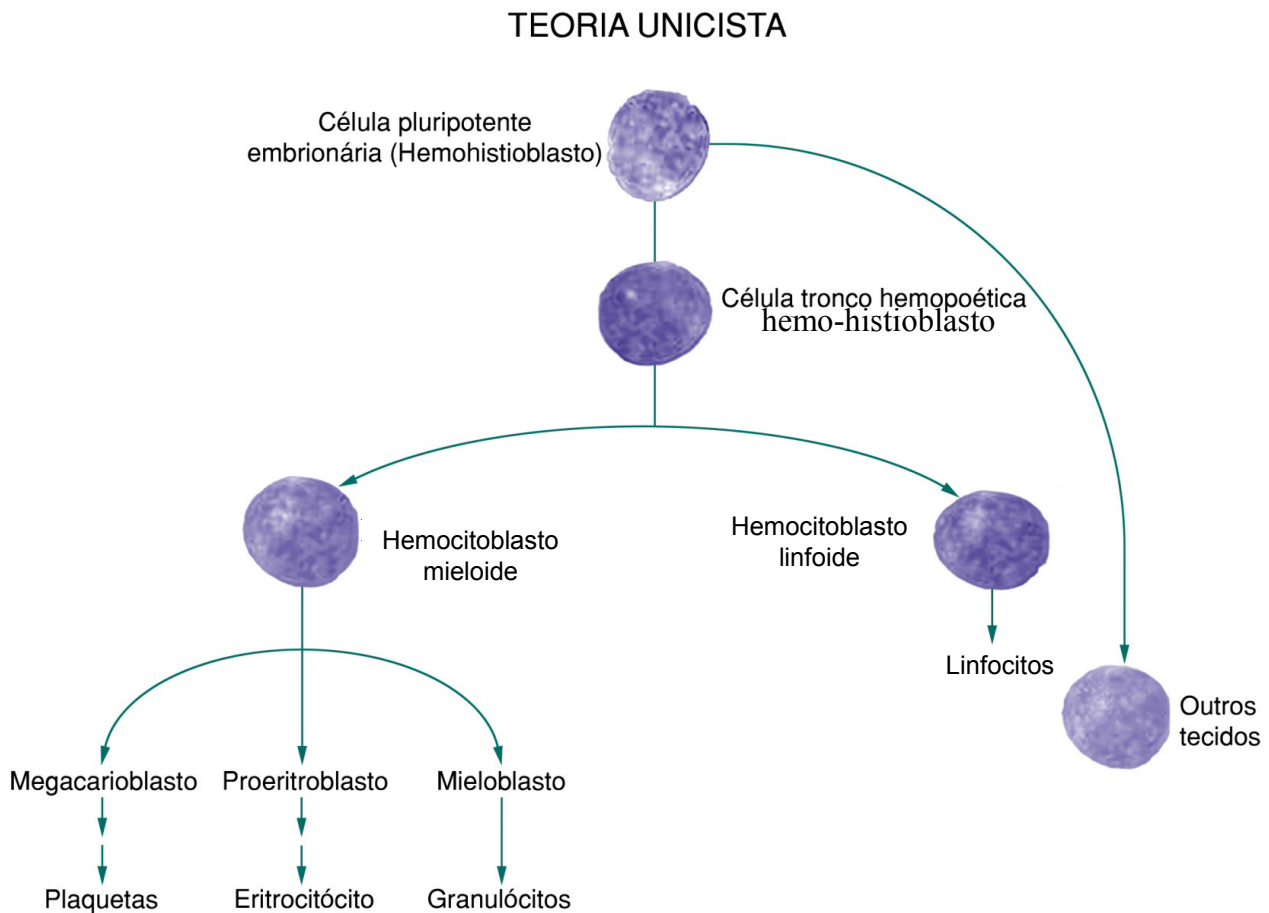


Figura 2.4 – Representação gráfica da **teoria unicista de Ferrata**. Segundo essa teoria, todas as células maduras do sangue seriam derivadas de um único precursor pluripotente denominado **hemo-histioblasto**, atualmente denominado **célula-tronco embrionária**, que, por sua vez, daria origem ao **hemocitoblasto**, atualmente denominado **célula-tronco hemopoética**, precursora de todas as linhagens sanguíneas.

2.2 HEMOPOESE

O termo **hemopoese** ou **hematopoese** deriva do latim *haemus* = sangue ou do grego *haematus* = sangue, e *poiesis* = formação, respectivamente.

A hemopoese envolve processos relacionados a origem, proliferação, diferenciação, maturação e distribuição das células sanguíneas. É um fenômeno complexo e regulado, e influenciado por vários estímulos que atuam em diferentes níveis do processo – central (órgãos hemopoéticos) e periférico (sangue circulante), caracterizando-se pela contínua produção e liberação de células maduras para a circulação sanguínea.

Veremos neste e nos próximos capítulos que a hemopoese envolve fenômenos complexos e altamente regulados e dependentes **(i)** da existência de células primitivas (células-tronco) bem como de sua capacidade proliferativa e de autorrenovação; **(ii)** da ação regulatória de fatores de crescimento e de outros mediadores; **(iii)** dos componentes do microambiente; e **(iv)** da relação arquitetural desse microambiente. Assim, a hemopoese é influenciada por vários estímulos que atuam em diferentes níveis do processo. Dessa maneira, há que considerar as interações célula-célula e célula-MEC, que ocorrem tanto no microambiente indutor da hemopoese como em outras localizações; a ação dos diferentes fatores de crescimento e citocinas (veja Capítulo 6); a ação hormonal, particularmente de corticosteroides, estrógenos, andrógenos, hormônios tireoidianos, e de adrenalina, mediadores plasmáticos e celulares da resposta inflamatória; e, obviamente, o estado nutricional do indivíduo.

2.2.1 BASES CELULARES DA HEMOPOESE

A teoria unicista tinha sustentação clínica, uma vez que explicava, de maneira mais adequada, tanto a fisiologia como as diversas patologias que acometiam o sistema sanguíneo. Foi com os trabalhos de Jacobson et al. (1948,1950 veja mais detalhes e imagens em <http://www.sciencemag.org/content/107/2775/248.long>),



<http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=298287>) que a teoria unicista passou a ser comprovada experimentalmente. Esses autores demonstraram que células obtidas do baço e da medula óssea eram capazes de repopular órgãos hemopoéticos destruídos por irradiação (veja mais detalhes em Ham, 1950).

Em 1961, Till & McCulloch demonstraram que, ao injetar células obtidas da medula óssea de camundongos não irradiados em camundongos irradiados, havia o repovoamento, *in vivo*, de órgãos hemopoéticos além da própria medula óssea, com o aparecimento, no baço, de aglomerados de células hemopoéticas, que eles chamaram de “colonias” e que provavelmente eram decorrentes da proliferação de uma única célula, que os autores denominaram CFU-S (*colony forming unit-spleen*) (Figura 2.5).

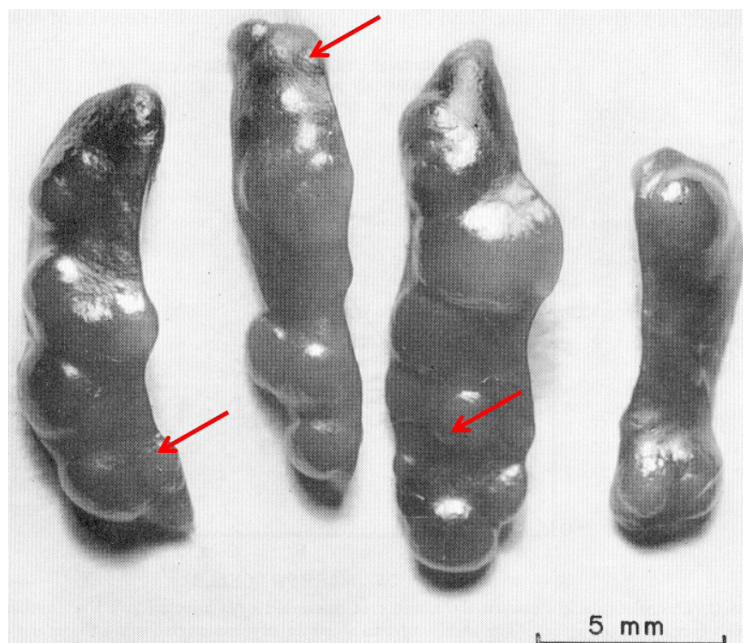


Figura 2.5 – Fotografia de baço de camundongos previamente irradiados e posteriormente injetados com células da medula óssea. Os nódulos (indicados pelas setas vermelhas) observados correspondem às unidades formadoras de colonia. Imagem original de J. E. TILL AND E. A. McCULLOCH: A Direct Measurement of the Radiation Sensitivity of Normal Mouse Bone Marrow Cells , RADIATION RESEARCH 14, 213-222,1961 (URL da imagem https://tspace.library.utoronto.ca/retrieve/4606/RadRes_1961_14_213.pdf)

Durante os anos de 1960-1970, diversos experimentos utilizando técnicas imunológicas, citoquímicas e marcadores cromossômicos comprovaram, em definitivo, a teoria unicista proposta por Ferrata. Assim, atualmente a derivação das células sanguíneas pode ser representada pelo esquema da Figura 2.6.

HEMOPOESE: ESQUEMA GERAL

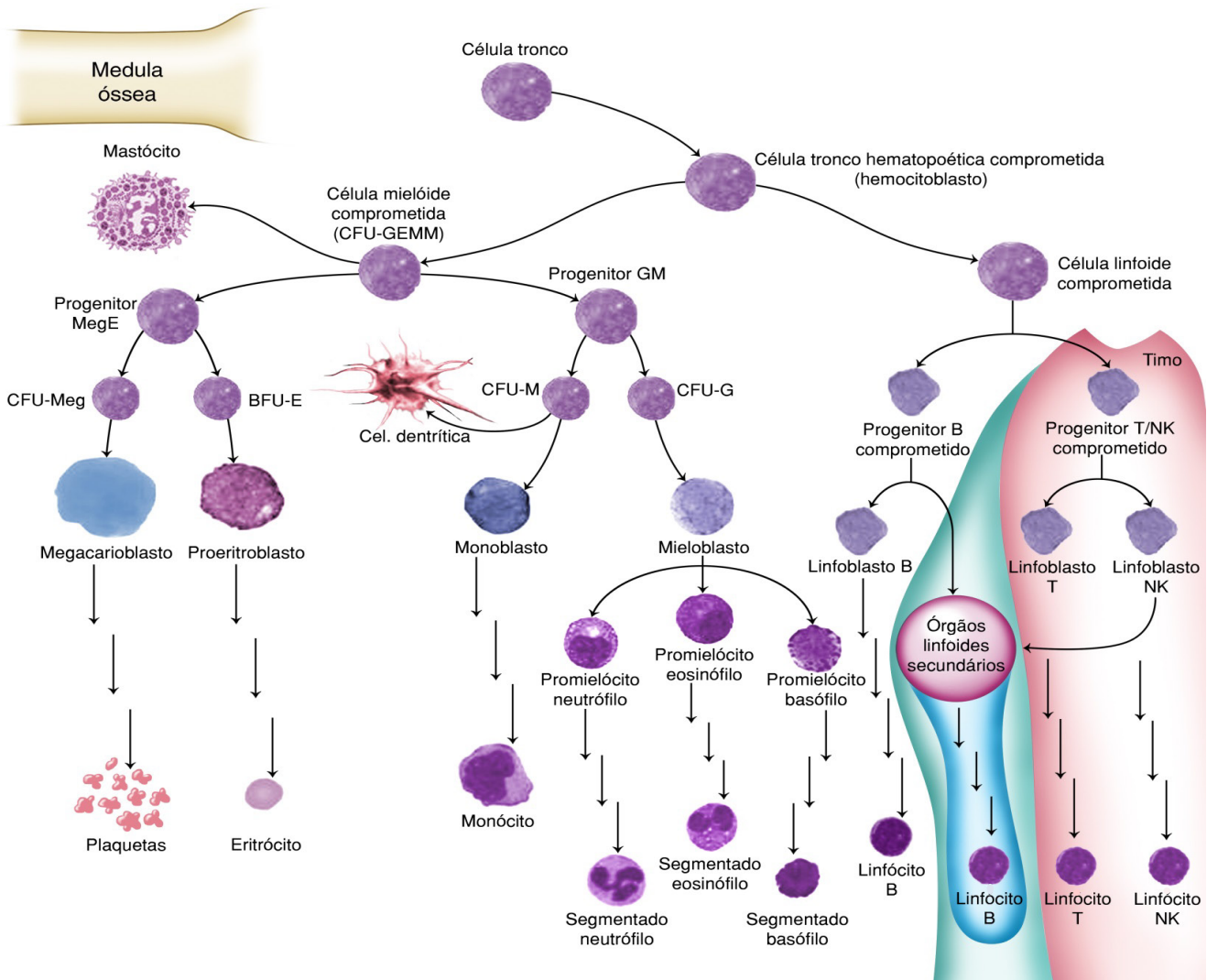


Figura 2.6 – Esquema simplificado da hemopoese segundo a teoria unicista. As células sanguíneas derivam de um precursor pluripotente denominado célula-tronco hemopoética ou hemocitoblasto de Ferrata, que, por sua vez, se origina da célula-tronco embrionária. A célula-tronco hemopoética (CTH) dá origem a duas populações celulares de precursores multipotentes denominados **progenitor mielóide comprometido**, ou unidade formadora de colônias granulocíticas, eritrocíticas, megacariocíticas e monocíticas (**CFU-GEMM – colony forming units of granulocytic, erythrocytic, megakaryocytic and monocytic series**) e **progenitor linfóide comprometido**. As CFU-GEMM originam os precursores megaeritrocíticos, ou unidades formadoras de colônias megacariocíticas e eritrocíticas (**CFU-MegE – unity colony forming of megakaryocytic and erythrocytic series**), e os precursores grânulo-monocíticos, ou unidades formadoras de colônias grânulo-monocíticas (**CFU-GM – unity colony forming of granulocytic and monocytic series**). Por sua vez, os progenitores CFU-MegE se diferenciarão em células progenitoras das linhagens megacariocíticas (**CFU-Meg – unity colony forming of megakaryocytic series**) e em progenitores, ou unidades iniciadoras de eritrocitos (**BFU – unit forming burst erythrocytic series**), que amadurecerão originando, respectivamente, plaquetas e eritrocitos. A população CFU-GM originará os progenitores granulocíticos, ou unidade formadora de granulócitos (**CFU-G – unity colony forming of granulocytic series**), e os progenitores monocíticos, ou unidade formadora monomacrofágica (**CFU-M – unity colony forming of monocytic series**), que por sua vez originarão, respectivamente, os monócitos e macrófagos e as células dendríticas. Admite-se, atualmente, que a população de células mastocitárias deriva diretamente do progenitor CFU-GEMM. Por outro lado, a população linfóide comprometida originará os progenitores dos linfócitos B e os progenitores dos linfócitos T/NK, que, ao migrarem para o timo, irão se diferenciar nas diferentes populações de células T e da linhagem NK (para mais detalhes, veja capítulos 8, 9,10, 11e 12).

Hoje, a hemopoese pode ser representada, simplificada, pelo esquema da Figura 2.6. Devemos mencionar que alguns trabalhos experimentais evidenciam a presença de populações intermediárias entre a célula-tronco hemopoética e os progenitores linfóides e mielóides e optamos por descrever a hemopoese como ainda é aceita na literatura. Como podemos verificar na Figura 2.6, o sangue se origina de uma única população celular pluri-

potente denominada **célula-tronco hemopoética (CTH)** ou *stem cell* hemopoética, e que corresponde ao hemocitoblasto de Ferrata. Como veremos adiante (Capítulo 5), a célula-tronco possui como características funcionais a alta capacidade de **autorrenovação** e a de originar as diferentes linhagens sanguíneas. Como citado na legenda da figura 2.6 essa população celular, sob condições específicas, e em localizações específicas (nicho da célula-tronco) nos órgãos hemopoéticos e na dependência de fatores de transcrição (veja, a seguir, Bases moleculares da hemopoese), é capaz de se comprometer em duas populações distintas: o precursor mieloide, também chamado de **GEMM-CFU** (*unity colony forming of granulocytic, erythrocytic, megakaryocytic and monocytic series*) que corresponde ao hemocitoblasto mieloide de Ferrata, e o precursor linfoide, que corresponde ao hemocitoblasto linfoide descrito por Ferrata.

O precursor GEMM-CFU ou CFU-GEMM irá passar por processos de **ativação e restrição gênicas**, originando duas populações celulares: uma população com bipotencialidade, ou seja, com capacidade de originar duas linhagens celulares, denominada **MegE-CFU** (*unity colony forming of megakaryocytic and erythrocytic series*), e um precursor bipotencial, denominado **GM-CFU** (*unity colony forming of granulocytic and monocytic series*). Por sua vez, o precursor MegE-CFU ou CFU-MegE passará novamente por processos de ativação/repressão gênicas, originando as populações **Meg-CFU** (*unity colony forming of megakaryocytic series*), progenitora da linhagem megacariocítica, e a população progenitora da linhagem eritroide, denominada **BFU-E** (*unit forming burst erythrocytic series*) (vide Capítulos 12 e 8, respectivamente). A população **GM-CFU ou CFU-GM** dará origem ao progenitor da linhagem granulocítica, **G-CFU** (*unity colony forming of granulocytic series*), que, por sua vez, originará as linhagens neutrofílica, eosinofílica e basofílica (vide Capítulo 9), e o precursor **M-CFU ou CFU-M** (*unity colony forming of monocytic series*), que dará origem à linhagem monomacrofágica (monócitos, macrófagos e células dendríticas; vide Capítulo 10). A partir dos progenitores, também chamadas de “células-mãe” das linhagens, as células passam por diversas etapas de amadurecimento até atingir a fase final de células maduras.

O **precursor linfoide**, por sua vez, poderá dar origem ao progenitor de células B e ao progenitor de células T/NK, sendo que este último irá se diferenciar, no timo, em progenitores de células T e NK (vide Capítulo 11).

2.2.2 “COMPARTIMENTOS” HEMOPOÉTICOS

O tecido sanguíneo caracteriza-se por **(i) apresentar alta taxa de renovação**, uma vez que as células maduras apresentam tempo de vida na circulação relativamente curto; e **(ii) por sua plasticidade**, adaptando-se às diferentes situações fisiológicas e patológicas (ver partes II, III, IV e V).

A existência de diferentes linhagens sanguíneas envolve expansão, diferenciação e maturação das células em cada linhagem, gerando “**compartimentos funcionais**” com particularidades histológicas em cada um deles. Assim, pode-se considerar que os órgãos linfo-hemopoéticos, especialmente a medula óssea (vide Capítulo 3), apresentam os compartimentos de proliferação, de diferenciação e de maturação celular. Em situações de equilíbrio, a proporção entre os diferentes compartimentos permanece constante, embora o influxo e o efluxo entre cada compartimento de células possam não ser iguais. A expansão de uma determinada população celular é determinada tanto pelo aumento do número de células resultante da proliferação como pela redução do processo de apoptose celular ou por ambos os processos. As células hemopoéticas presentes na medula óssea em diferentes fases de diferenciação podem ser classificadas, quanto sua capacidade proliferativa, em quatro populações:

- a) das **células-tronco** ou **células hemopoéticas pluripotenciais**: são células capazes de se autorrenovar e de se diferenciar em qualquer uma das linhagens sanguíneas;
- b) das **células comprometidas** ou **células diferenciadas**: células que já estão definidas com **uma ou mais** linhagens celulares e as amplificam por mitose;
- c) das **células progenitoras ou unipotenciais**: compartimento de células que já estão definidas com uma determinada linhagem celular e a amplificam via mitose;
- d) compartimento de **células maduras**: células com funções especializadas e que não mais se replicam.

O **compartimento proliferativo** é constituído por células primitivas, pluripotentes, pouco diferenciadas, com alta capacidade de autorrenovação (as células-tronco) e de proliferação. O **compartimento de diferenciação** envolve células primitivas com potencial limitado de gerar células de diferentes linhagens celulares e com limitada capacidade de autorrenovação e já comprometidas com determinada(s) linhagem(ns) celular(es). São chamadas de **células precursoras ou de unidades formadoras de colônias**. Dessa forma, tem-se a unidade formadora de colônias granulo-monocíticas, unidade formadora de colônias megacariocítica e eritroide, e as células primitivas linfoides. As células desse compartimento apresentam ainda capacidade proliferativa e respondem à ação de fatores

de crescimento inespecíficos ou também chamados de multilinhagem, como interleucina 3 (IL-3), e a fatores específicos, como GM-CSF, eritropoietina (fator estimulador para colônias eritroides) e trombopoietina (fator estimulador para colônias megacariocíticas).

O **compartimento de células progenitoras**, também denominado **compartimento de maturação**, é constituído de células unipotenciais, morfologicamente reconhecíveis e que praticamente não apresentam mais capacidade de autorenovação; possuem capacidade mitótica até determinados estágios de desenvolvimento e amadurecem. Dessa forma, há um influxo intercompartimental determinado pelo movimento de células provenientes do compartimento de proliferação e de diferenciação, como, por exemplo, proeritroblastos para eritroblastos.

2.2.2.1 Hierarquia do sistema

Em mamíferos, assume-se que o sistema hemopoético é **hierárquico**, ou seja, há uma sucessão de etapas que ocorrem desde a célula-tronco hemopoética até as células maduras que são continuamente produzidas. Esse sistema pode ser representado graficamente por uma pirâmide (Figura 2.7). A pirâmide, além de representar as etapas sequenciais de proliferação, diferenciação e maturação das células sanguíneas, também representa a quantidade de células em cada compartimento, ou seja, no topo da pirâmide encontra-se a população de células-tronco que apresenta um número pequeno de células (cerca de 1 a cada 1.000.000 de células nucleadas da medula óssea). À medida que essa população se diferencia e prolifera, os compartimentos vão aumentando de tamanho até atingirem a maturação completa, situada na base da pirâmide. É o chamado “**escalonamento maturativo**”.

Fisiologicamente, em condições de normalidade, as células saem da medula óssea somente após atingirem o estado final de maturação, quando perdem determinadas proteínas de adesão (integrinas) que se ligam à matriz extracelular do órgão hemopoético. A princípio, considera-se que essa saída é um fluxo unidirecional. A mobilização entre os diversos compartimentos dos órgãos hemopoéticos e entre sangue periférico e a saída para o meio extravascular é um processo dinâmico, modificando-se em situações fisiológicas, patológicas ou sob ação farmacológica, a depender da natureza do estímulo e dos mecanismos envolvidos na liberação medular (vide Capítulo 7).

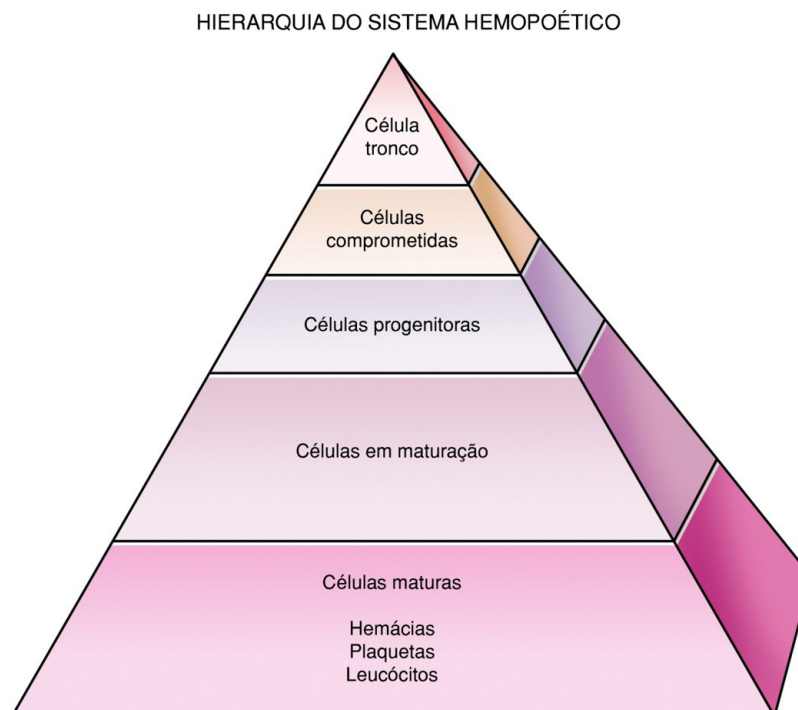


Figura 2.7 – Esquema representando a hierarquia do sistema hemopoético (veja detalhes no texto).

2.2.3 ÓRGÃOS HEMOPOÉTICOS: FILOGENIA E ONTOGENIA

A medula óssea apresenta-se como um órgão complexo distribuído ao longo das cavidades ósseas do esqueleto, apresentando uma massa tecidual, no indivíduo adulto, de 1,6 a 3,7 kg, com aproximadamente 50% de tecido adiposo. Apresenta uma série de atividades, destacando-se a formação e liberação das linhagens sanguíneas, a fagocitose e degradação de material particulado circulante.

O sistema itinerante – mobilidade das células tronco hemopoéticas e criação do sistema

O sistema hemopoético apresenta uma característica ímpar dentre os sistemas biológicos, representada por sua extensa mobilidade. Se recapitularmos a ontogênese da hemopoese teremos uma clara amostra dessa característica. A concentração da atividade hemopoética na cavidade óssea é uma aquisição filogenética, inicialmente detectada em anfíbios anuros (Quadro 2.1).

Filogenia da hemopoese em algumas espécies, ilustrando as diferenças em relação aos períodos em que ocorre a hemopoese e os sítio anatômicos

Espécies	Características da hemopoese
Anuros (gênero rana)	sazonalidade, alternância medular e esplênica
Aves	saco vitelino e regiões mesentéricas até o início do processo medular
Mamíferos	medula óssea/eventualmente baço (na dependência da espécie) Em algumas espécies locais atípicos, como adrenais, ovário, testículo, endocárdio

Quadro 2.1 – Filogenia da hemopoese em algumas espécies, mostrando diferenças com relação aos períodos em que ocorre e aos sítios anatômicos.

Embrionariamente, o sangue deriva da **mesoderme** (Figuras 2.8 e 2.9), possuindo um precursor comum aos vasos (teoria da formação simultânea do sangue e dos vasos; para saber mais veja Palis, McGrath & Kingsley, 1995; e Kennedy, D'Souza, Lynch-Kattman, Schwantz & Keller, 2007), denominado **hemangioblasto** (Figura 2.10), que originará células precursoras do endotélio, e uma célula pluripotencial hemopoeticamente comprometida e comum a todas as linhagens sanguíneas, denominada célula-tronco hemopoética (*stem cell* ou hemocitoblasto).

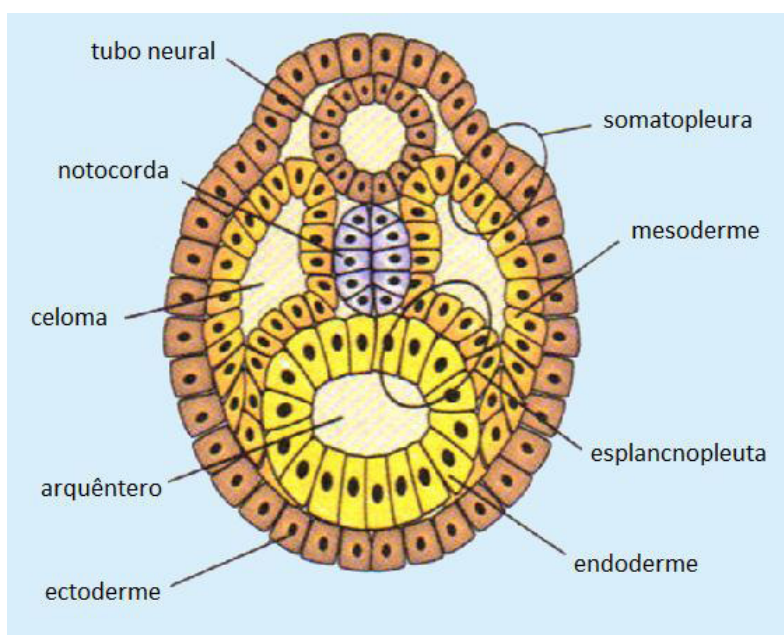


Figura 2.8 – Esquema demonstrando o início da organogênese. (URL da imagem <http://files.embrilogiabiio.webnode.com.200000023-9f14ea00ec/neurula.jpg>)

ONTOGENIA DA CÉLULA HEMOPOÉTICA

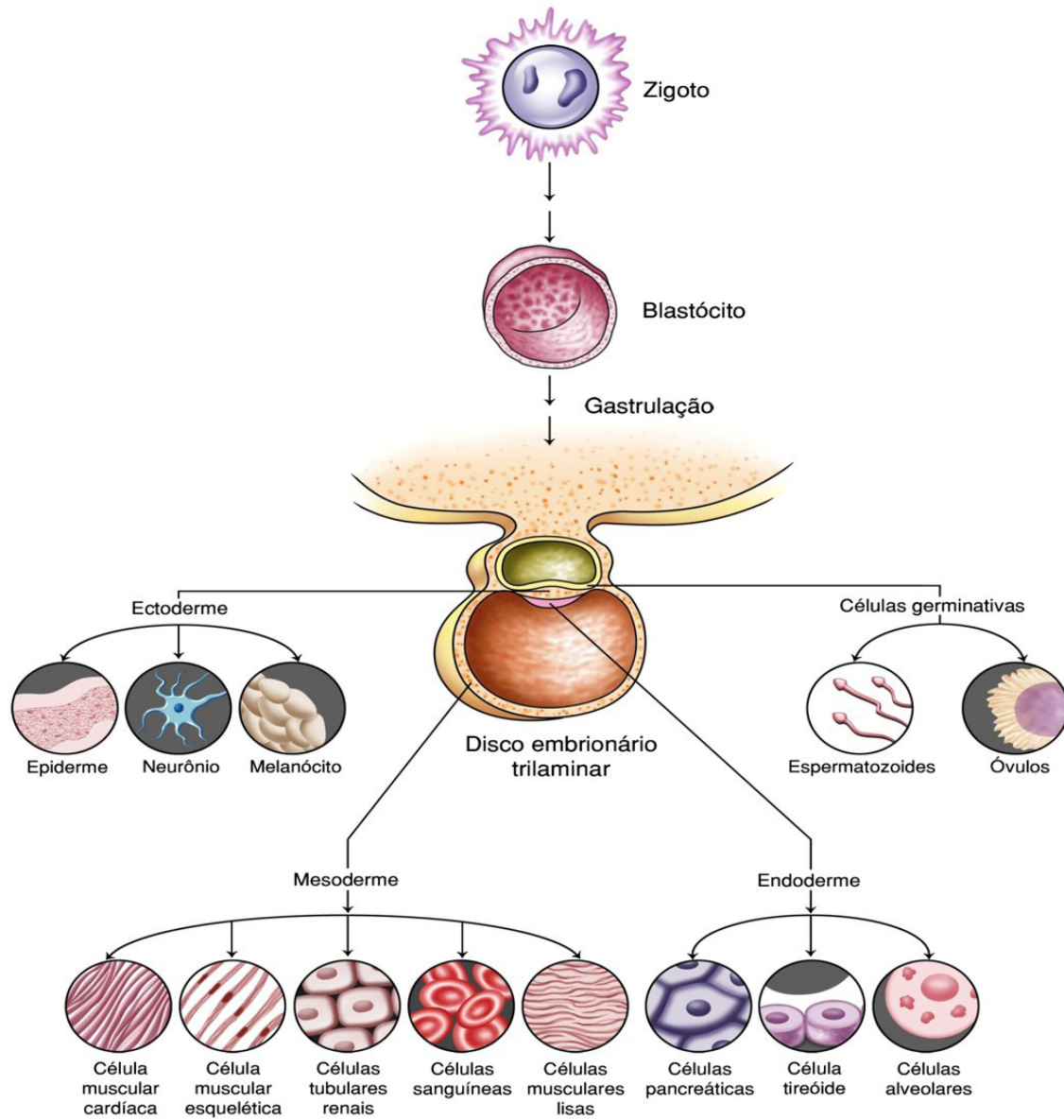


Figura 2.9 – Esquema simplificado representando a origem dos diferentes folhetos germinativos do organismo a partir do período da gastrulação do embrião.

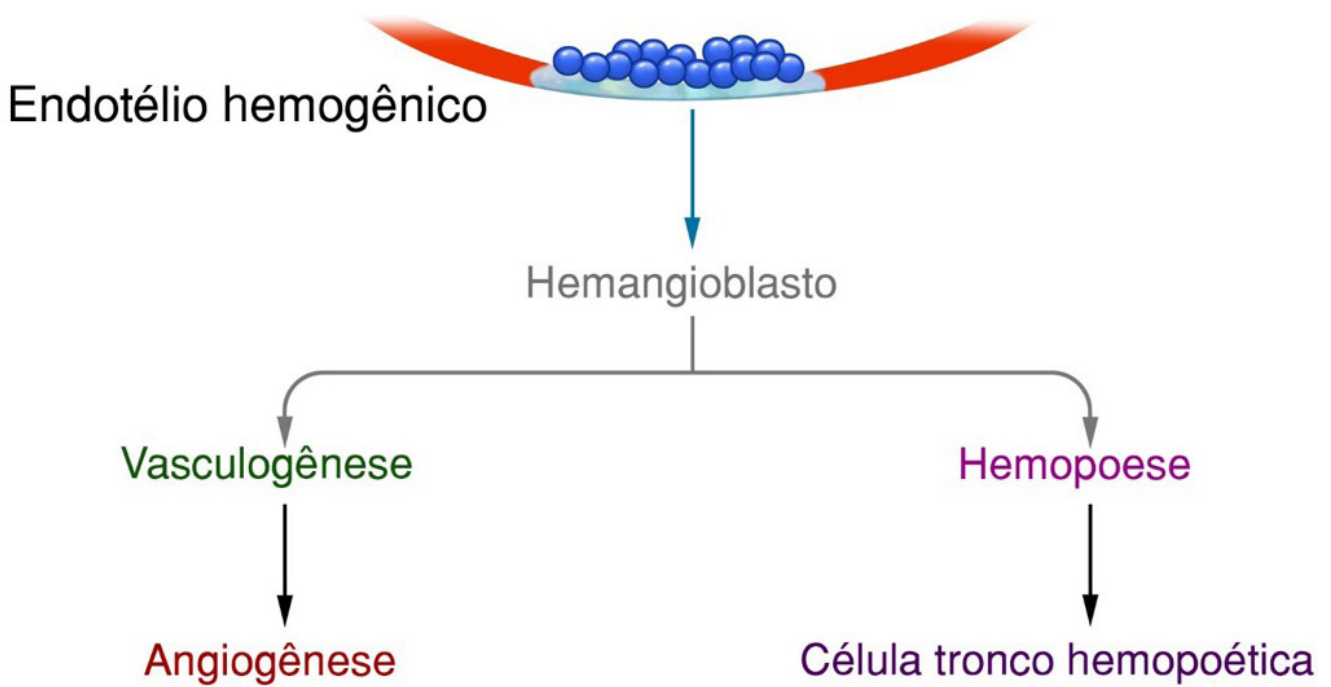


Figura 2.10 – Teoria da formação simultânea das células sanguíneas e das células endoteliais a partir de endotélio hemogênico presente na região da aorta dorsal do embrião e que origina um precursor comum denominado hemangioblasto (veja mais detalhes no texto).

Em mamíferos, a hemopoese assume diversas localizações conforme a espécie e o desenvolvimento do animal (para saber mais, veja Cumano & Godin, 2001). Iniciando-se pelo **saco vitelino**, primeiro sítio extraembrionário de hemopoese (Figura 2.11), avançando para a **esplancnopleura para-aórtica**, região **aorta-gônado-mesonéfrica**, **fígado**, **baço** e **medula óssea**, esboçando uma espécie de roteiro hemopoético, sujeito ainda a eventuais rotas alternativas durante a vida do indivíduo. Essa alternância de sítios hemopoéticos evidencia a dependência do sistema da população de células-tronco hemopoéticas e a possibilidade da criação de nichos propícios à atividade hemopoética em diferentes tecidos (Figura 2.12).

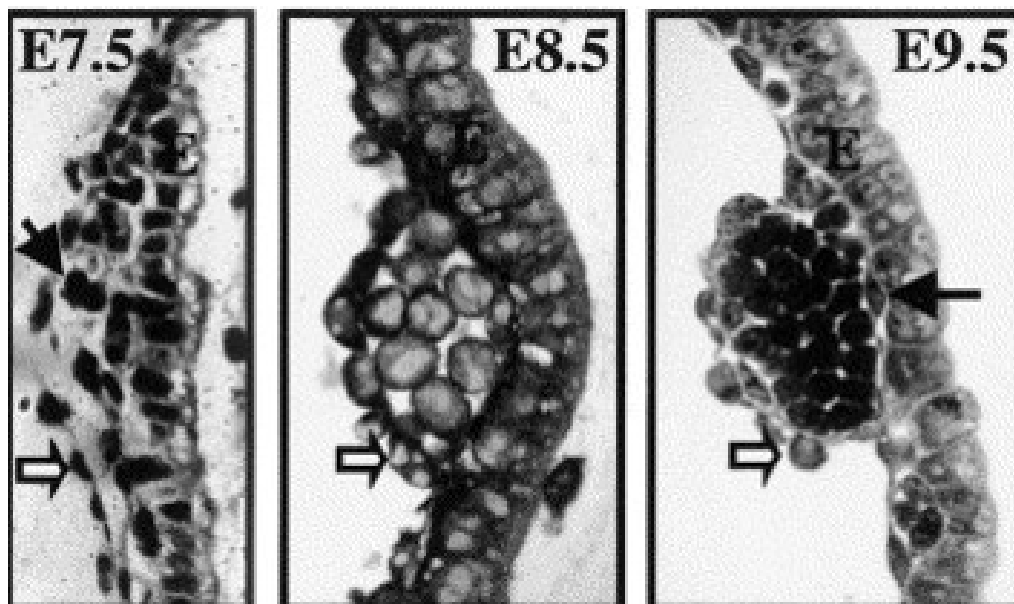


Figura 2.11 – Desenvolvimento do saco vitelino em embrião de camundongo entre os períodos E7.5 e E9. No Quadro E7.5 a seta aberta indica célula mesotelial e a seta fechada indica células indiferenciadas da mesoderme as quais darão origem as ilhotas de Wolf (E9.5, seta fechada), nas quais as células mais internas são células sanguíneas e a camada mais externa será de endotélio. A letra E na figura E9.5 indica a camada da endoderme (URL da imagem <http://origin-ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0301472X01006695-gr1.jpg>). Para detalhes ver James Palis & Mervin C. Yoder: *Yolk-sac hematopoiesis: The first blood cells of mouse and man*. *Experimental Hematology* 29: 927–936, 2001. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301472X01006695#gr4>

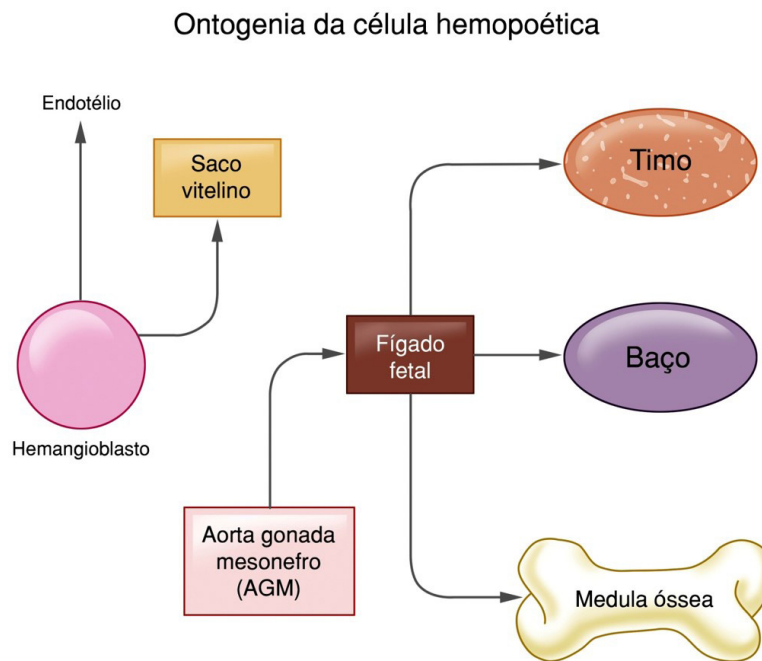


Figura 2.12 – Esquema demonstrando os diferentes locais em que ocorre a hemopoese, em seres humanos, durante os períodos embrionário, fetal e após o nascimento.

Em humanos, a hemopoese é, usualmente, classificada em dois períodos: a **hemopoese pré-natal** e a **hemopoese pós-natal**.

2.2.3.1 Hemopoese pré-natal

As primeiras células eritropoéticas são identificadas em ilhas sanguíneas chamadas de Ilhotas de Wolff, no saco vitelino, aos 19 dias pós-concepção em humanos ou em E7,5 dia em camundongos, e caracteriza a **hemopoese extraembrionária**, também denominada **hemopoese primitiva**, cuja função primária é produzir células eritroides para a disponibilização de oxigênio para o embrião (para mais detalhes, acesse as revisões Orkin & Zon, 2008; Keller & Murry, 2008).

A seguir, a atividade hemopoética expande-se para a esplancnopleura para-aórtica, tendo início a hemopoese embrionária, que se estende para a região aorta-gônado-mesonéfrica, onde perdura até o 30°-45° dias, aproximadamente. Durante esse período são produzidas apenas células vermelhas nucleadas, denominadas **megaloblastos** (Figura 2.13). Nesta fase, a hemopoese é considerada transitória, e esse período é denominado **período mesodérmico** da hemopoese pré-natal.

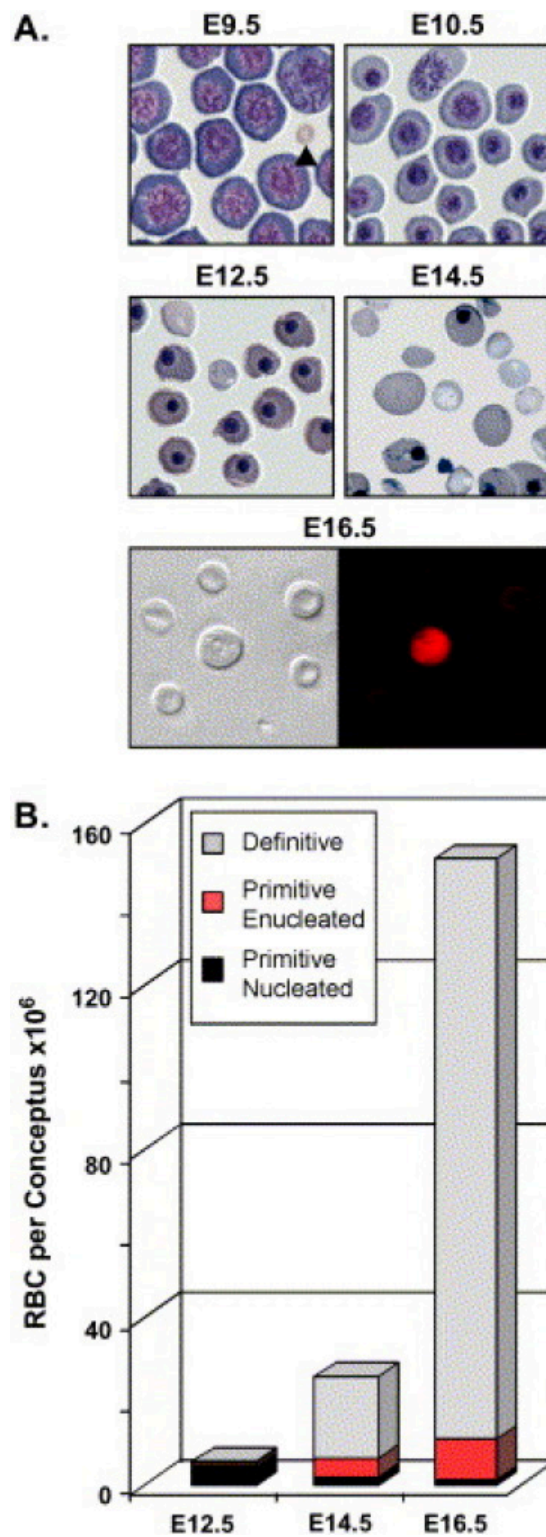


Figura 2.13 – Células eritróides primitivas em embrião de camundongo. (A) células eritróides na circulação de embrião entre E9.5 e E14.5 demonstrando a redução progressiva da basofilia citoplasmática, progressiva condensação da cromatina nuclear e finalmente a exonucleação. Coloração Giemsa. Pode-se observar que as células eritróides primitivas, também chamadas de megaloblastos, apresentam-se de grande tamanho quando comparadas com os eritrocitos de origem materna também presente na imagem em E14.5. (B) Número de eritrocitos definitivos (cinza), células eritróides primitivas (preto) e eritrocitos primitivos (vermelho) em embrião de camundongo. No quadro E12.5 a maioria das células circulantes são eritroblastos primitivos. Já em E16.5 o número de eritrocitos definitivos aumenta significativamente enquanto que as células eritróides primitivas se reduzem. (URL da imagem <http://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0301472X05002948-gr1.jpg>)

Entre a sexta e a sétima semana gestacional, focos hemopoéticos são encontrados em meio aos cordões de hepatócitos, com a eritropoese passando a predominar no fígado no segundo trimestre de gestação; os megaloblas-

tos são substituídos pela linhagem eritroide definitiva. Nesse período, denominado **hepatoesplênico**, tem início a chamada **hemopoese definitiva**, com o baço também assumindo papel hemopoético. Aproximadamente metade das células nucleadas do fígado são eritroides. Poucos granulócitos e megacariócitos são encontrados nesse local. No período hepatoesplênico da hemopoese intrauterina, além do fígado e do baço, o timo e os linfonodos assumem também caráter hemopoético.

A partir do 5º mês de gestação, com a emergência da cavidade óssea, a hemopoese passa a localizar-se na medula óssea, dando início ao **período medular** da hemopoese fetal. Após o sexto mês de gestação, a medula óssea torna-se o principal sítio hemopoético fetal e, paralelamente, ocorre a progressiva redução da hemopoese hepática, com a persistência de algumas colônias eritropoéticas até a primeira semana de vida pós-natal.

2.2.3.2 Hemopoese pós-natal

Após o nascimento, em seres humanos, a hemopoese encontra-se restrita, primariamente, à medula óssea (Figura 2.14).

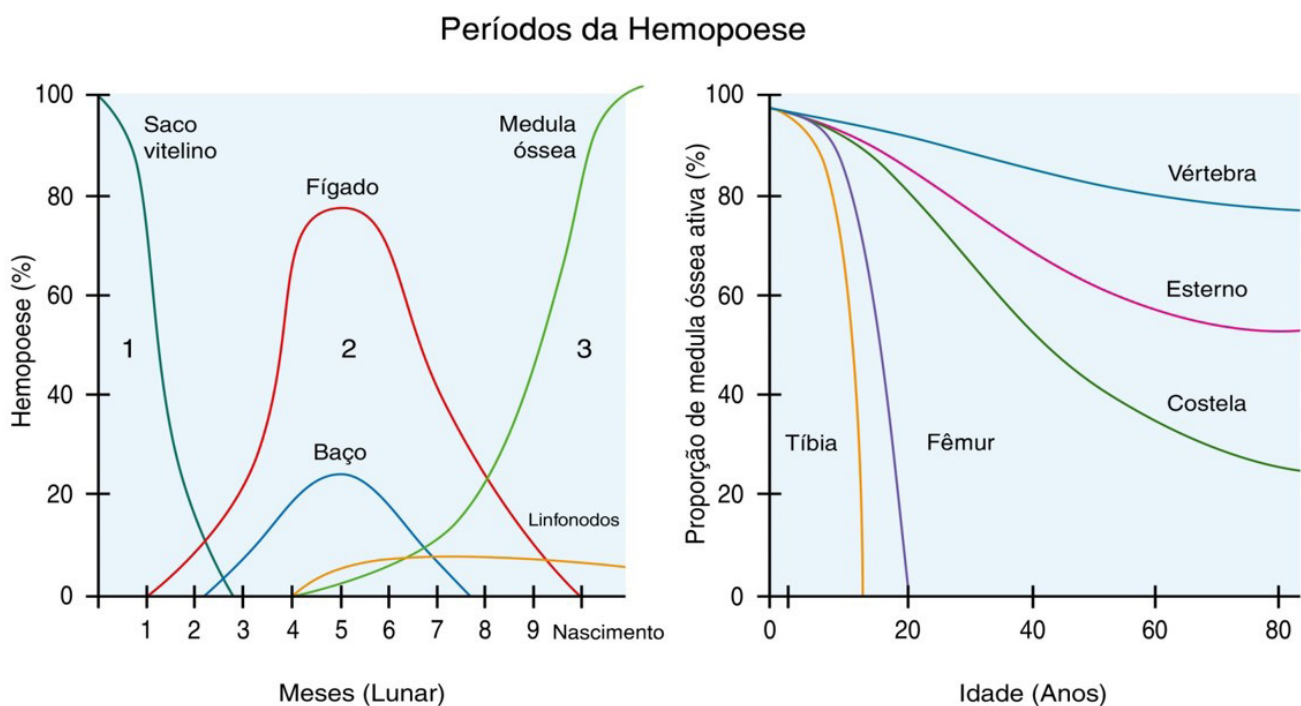


Figura 2.14 – Figuras representativas dos **períodos pré-natal e pós-natal da hemopoese**, evidenciando as suas diferentes localizações anatômicas. Para mais detalhes, veja o texto.

Como descreveremos adiante, o tecido hemopoético, é também denominado **tecido mieloide**, sendo constituído por células em meio a uma matriz extracelular (MEC). O constituinte celular é composto por **células do parênquima hemopoético** (contendo desde células-tronco hemopoéticas até células maduras) e por **células estromais** (células-tronco mesenquimais, adipócitos, fibroblastos-“like”, células endoteliais, dentre outras). Mesmo em território medular, os sítios hemopoéticos variam durante a vida. Assim, em neonatos todas as cavidades ósseas, em toda a sua extensão, são produtoras de células sanguíneas, caracterizando a **medula óssea vermelha ou medula óssea hemopoeticamente ativa** (Figura 2.15). Após os 4 anos de idade identifica-se um número crescente de adipócitos intercalados aos precursores sanguíneos, particularmente nas diáfises de ossos longos. O percentual de adipócitos aumenta progressivamente até cerca dos 18 anos, de modo que a medula óssea agora passa a ter uma proporção maior de adipócitos, passando a ser chamada de **medula óssea amarela**, sem atividade hemopoética. No entanto, a atividade hemopoética pode retornar, como parte de um processo adaptativo, como nas anemias hemolíticas crônicas. Por volta dos 18-25 anos de idade já é possível localizar a medula óssea vermelha restrita a epífises de ossos longos, ossos do crânio, pelve, esterno, porção proximal do sacro, escápula, clavículas, vértebras e costelas, fenômeno referido como **convergência troncular da hemopoese** (Figura 2.15).

Ossos com medula óssea em atividade Hemopoética

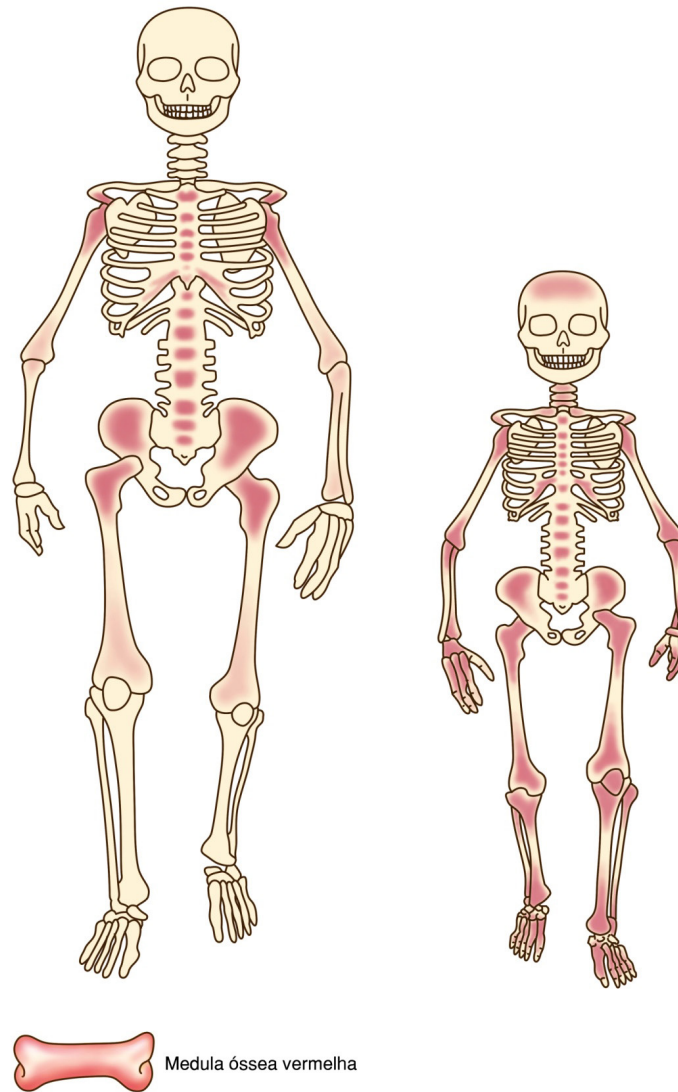


Figura 2.15 – Locais de hemopoese ativa (medula óssea vermelha) em indivíduos adultos e em crianças. Nota-se que na criança tanto os ossos longos como os ossos chatos possuem medula óssea ativa, enquanto no adulto essas regiões estão restritas aos ossos chatos (esterno, crista de osso íliaco, costelas). Para mais detalhes, veja o texto.

Nas diáfises ósseas ocorre a deposição reversível de tecido adiposo, caracterizando a medula óssea amarela (Figura 2.15), em contraposição à **medula óssea vermelha, ativamente hemopoética** (Figuras 2.15, 2.16 e 2.17). O conteúdo de adipócitos progride com a idade, mais acentuadamente após os 70 anos, fato que, associado à perda óssea, pode dar a impressão de um aumento na área cavitária medular. Contudo, a medula óssea vermelha ou ativa persiste nas localizações já citadas durante toda a vida do indivíduo (para mais detalhes ver Gurevitch, Slavin & Feldman, 2007; Malkiewicz & Dziedzic, 2012; Tavassoli & Crosby, 1970).

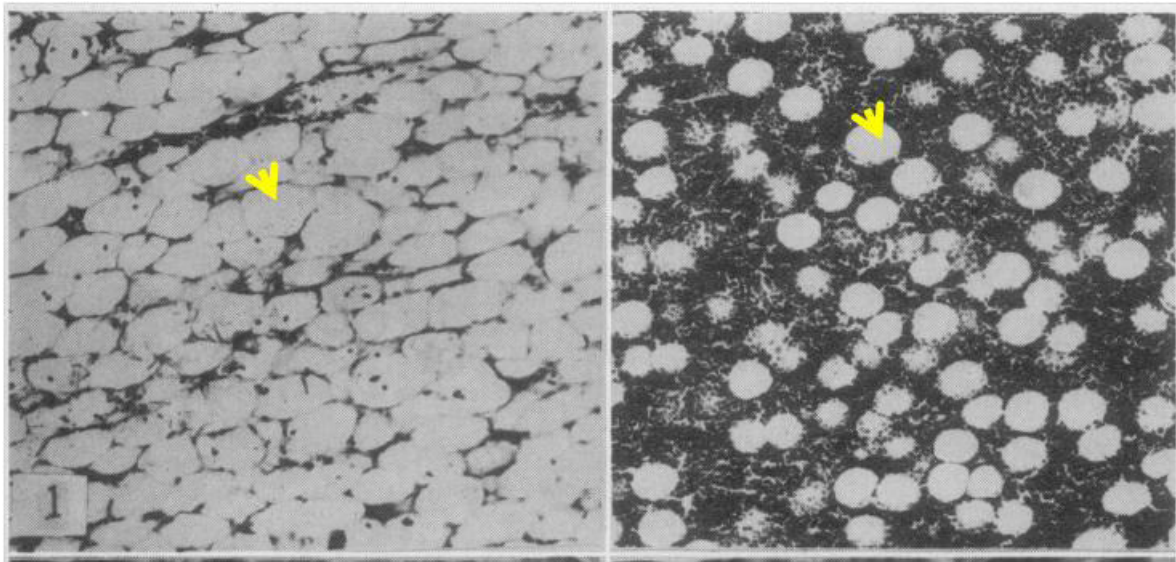


Figura 2.16 – Fotomicrografia de corte histológico, da região distal de tíbia (imagem a esquerda) e da região proximal do fêmur (imagem da direita) de coelho. A seta amarela indica adipócito. Observa-se que a medula óssea amarela (esquerda) é rica em adipócitos quando comparada com a medula óssea vermelha (imagem à direita). Cortes corados com hematoxilina – eosina (x100). Imagem original acessar Mehde Tavassoli & William H. Crosby: Bone Marrow Histogenesis: A Comparison of Fatty and Red Marrow. *Science* **17**: Vol. 169 pp. 291-293,1970. [http://www.sciencemag.org/content/169/3942/291.long.](http://www.sciencemag.org/content/169/3942/291.long))

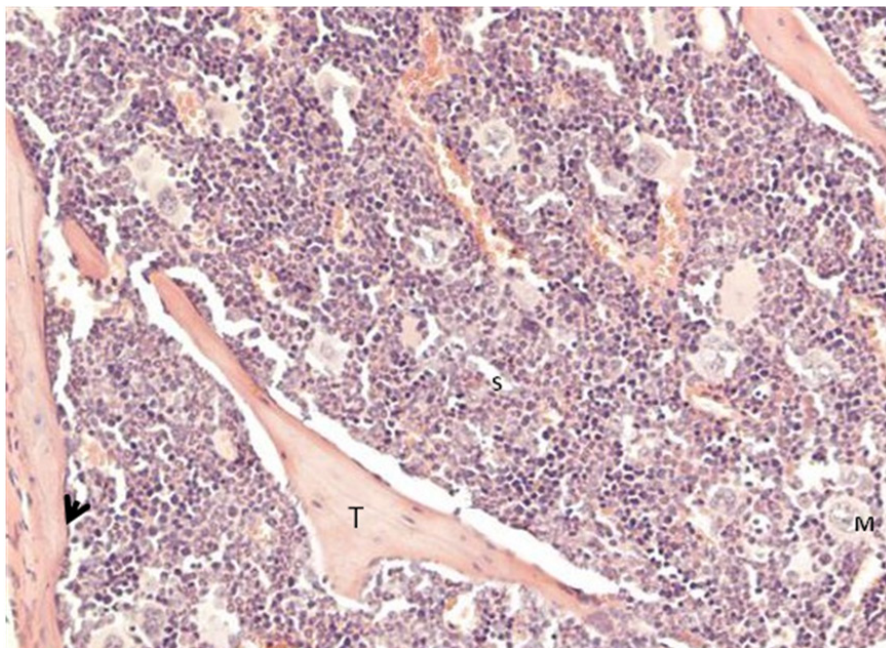


Figura 2.17 – Fotomicrografia de corte histológico de medula óssea de camundongo adulto normal corada pelo método de hematoxilina-eosina, aumento de 4x. Exemplo de medula óssea vermelha, hemopoeticamente ativa. Em relação à medula óssea humana, a de camundongos apresenta-se hipercelular, com frequentes megacariócitos (**M**). Nessa imagem não se observam adipócitos. **T**: trabécula óssea; **M**: megacariócito; **S**: sinusoide. A seta indica a região subendosteal, destacando um osteoblasto. Fotomicrografia: Profa. Dra. Primavera Borelli, Laboratório de Hematologia Clínica e Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

2.2.4 BASES MOLECULARES DA HEMOPOESE

Nas duas últimas décadas significativos avanços tem sido feitos no sentido de esclarecer os mecanismos celulares e moleculares que controlam a fisiologia da hemopoese. Embora se saiba que os eventos moleculares sejam estritamente dependentes do microambiente em que as células se encontram (veja Capítulos 3 e 5) e das mudanças temporais durante a embriogênese, o surgimento da célula-tronco hemopoética ainda não está completamente esclarecido.

Devido às dificuldades técnicas na obtenção e caracterização de células-tronco (veja Capítulo 5), a maioria dos estudos sobre a emergência da célula-tronco hemopoética no período embrionário e fetal tem sido realizada em

embriões de camundongos e de aves. Já a ação de fatores transcricionais da célula-tronco tem sido realizada, mais frequentemente, em animais *knockout* e em células infectadas por retrovírus e/ou que superexpressam esses fatores. Estudos genéticos têm permitido identificar uma série de fatores de transcrição e outras moléculas sinalizadoras que atuam na diferenciação e autorrenovação da célula-tronco hemopoética. Os fatores de transcrição específicos para determinados tipos celulares são elementos importantes para o controle da rede de genes que mantém a autorrenovação, a divisão, a manutenção de precursores, bem como o comprometimento e a diferenciação das linhagens.

Considerando que a hemopoese é um processo que ocorre em distintas localizações anatômicas durante o desenvolvimento (saco vitelino, AGM, fígado e baço fetal, medula óssea), torna-se complexo estudar os fatores envolvidos em cada etapa e em cada localização microambiental. A seguir, descrevemos, sucintamente, os principais fatores transcricionais envolvidos na hemopoese.

Na hemopoese embrionária, a diferenciação a partir do endotélio hemogênico (também chamado de ilhotas de Wolff) parece ser dependente de **Bmp4**, molécula pertencente à superfamília do fator de crescimento TGF- β . A Bmp4, ao ligar-se aos seus receptores, ativa (fosforila) proteínas da família **Smad (Smad1/5)**, as quais regulam a expressão de múltiplos genes (Figura 2.18A). Na fase denominada hemopoese primitiva, em modelos experimentais, empregando *zebrafish* em que a Bmp4 é bloqueada (*knockout*), o número de células-tronco hemopoéticas é reduzido. Esse fenômeno também é observado em mamíferos quando a Bmp4 é bloqueada por agentes químicos. Esses resultados sugerem que Bmp4 é importante no surgimento, na fixação e na sobrevivência da célula-tronco hemopoética na região mesodérmica do embrião. O fator VegfA, produzido nos somitos (Figura 2.18A), é necessário após a gastrulação, para formar o eixo das células endoteliais. Em camundongos, a perda de Vegf induz a danos vasculares que resultam na morte do embrião antes ou após a diferenciação da célula-tronco hemopoética. A expressão de VegfA é dependente da atividade do fator transcricional Tell. Células de somitos deficientes em Tell não secretam VegfA e são deficientes na formação da célula-tronco hemopoética. A via de Notch constitui-se em uma importante via de sinalização célula-célula, participando dos processos de comprometimento e inibição celular. Notch 3 (produzido nos somitos) parece também ser importante, durante a gastrulação, para o surgimento da célula-tronco hemopoética a partir do endotélio hemogênico. No embrião, a via de Notch é regulada, nos somitos, pela cascata de Wnt (Figura 2.18A).

Devemos notar que VegfA é um fator secretado e, portanto, deve se difundir até a aorta dorsal, enquanto Notch está muito próximo (não evidenciado na Figura 2.18A), sugerindo que as disposições espacial e temporal durante a embriogênese são importantes para a ontogenia.

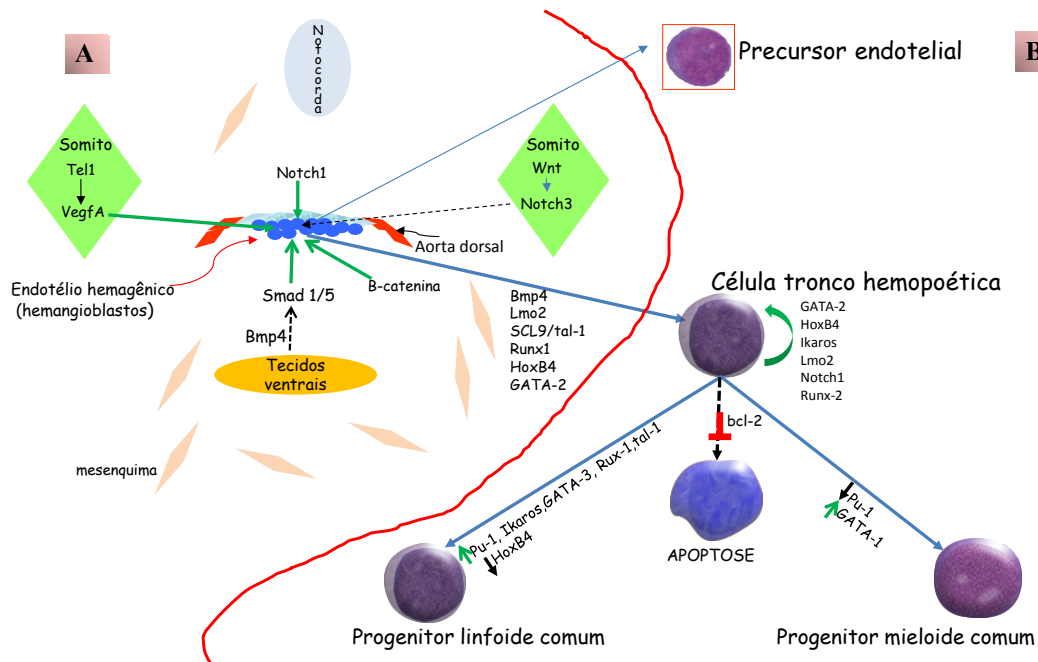


Figura 2.18 – Esquema simplificado das etapas iniciais do aparecimento da célula tronco hemopoética a partir do precursor denominado hemangioblasto. Em função de fatores de transcrição, a célula tronco hemopoética compromete-se com as linhagens mielóides e linfóides. O esquema mostra os fatores de transcrição que atuam nas diferentes fases da hemopoese. Em **A**, vê-se, em corte transversal de embrião de *zebrafish* a ação de fatores de transcrição nas células primitivas (endotélio hemogênico, formado por hemangioblasto) induzindo a diferenciação do mesmo para células primitivas dos vasos e células-tronco hemopoéticas. Em **B**, mostra-se já o estabelecimento das linhagens definitivas e os fatores de transcrição que atuam na célula tronco hemopoética induzindo a autorrenovação, apoptose ou a diferenciação da mesma para o progenitor linfóide e mielóide. Para detalhes veja o texto. Figura adaptada de Kim, A.D.; Stachura, L.D.; Traver, D. *Exp. Cell Resear.* 329, 227-33, 2014

Para a diferenciação da célula-tronco no eixo aorta-gônada-mesonefro outros fatores de transcrição parecem ser importantes para o estabelecimento da chamada hemopoese definitiva (Figura 2.18B). Assim, os fatores de transcrição, como Bmp4, SCL9/tal-1, Lmo2, Runx1, HoxB4 e GATA-2, atuam na população de hemangioblastos induzindo a diferenciação para a célula-tronco hemopoética, mas também são importantes na regulação da célula-tronco hemopoética adulta. Os fatores transcricionais podem não ser requeridos continuamente durante o processo de autorrenovação e/ou diferenciação, podendo ser reprimidos em períodos alternados ou, então, silenciados continuamente. Também podem interagir modificando mutuamente suas ações (*crosstalks*), regulando a autorrenovação ou comprometimento da célula-tronco nos progenitores mieloides ou linfoides na dependência dos seus níveis de expressão.

Como vimos anteriormente, a migração da célula-tronco hemopoética para a região AGM dá início à denominada hemopoese definitiva. A população de células-tronco presentes na região da aorta dorsal, na AGM, no fígado fetal e na medula óssea difere em vários aspectos, como marcadores de superfícies (os denominados *clusters determinants* – CD), pluripotencialidade, estágio do ciclo celular (por exemplo, a célula-tronco presente na região da aorta dorsal produz apenas eritroblastos; a célula-tronco hemopoética do fígado fetal está em maior atividade que a presente na medula óssea, que permanece, em grande parte, em quiescência). Essas características funcionais dependem não só do genoma celular, mas também do “ambiente bioquímico” em que a célula se encontra – o denominado **nicho da célula-tronco** (veja Capítulo 5), localização histoanatômica e regula as funções da célula-tronco em função das diferentes localizações da mesma durante a embriogênese e o desenvolvimento fetal, uma diversidade de substâncias solúveis, como fatores de crescimento e citocinas (veja Capítulo 6), que regulam a atividade gênica, levando à ativação ou inativação de genes que codificam fatores de transcrição. Os estudos genéticos em diferentes modelos (camundongos, *zebrafish*, *Drosophila*, nematoides) indicam que, em função de fatores transcricionais, a célula-tronco hemopoética irá se autorrenovar, ou diferenciar-se na população linfóide ou mielóide. Na Figura 2.18B podemos ver que os fatores Notch1, Ikaros, HoxB4 e GATA-2 controlam a autorrenovação da célula-tronco. Esses fatores são transcritos em função da ação das citocinas IL-3, IL-6, IL-11, IL-9 e *Stem Cell Factor* (veja Capítulo 6).

O processo de comprometimento da célula-tronco hemopoética nas linhagens linfóide e mielóide ainda necessita de esclarecimentos, embora muito já se saiba a respeito. Os experimentos sugerem que existam subpopulações entre a célula-tronco hemopoética e os progenitores mieloides e linfóides, ou seja, esse processo de diferenciação não seria realizado em uma única etapa, e como essa hipótese ainda não foi comprovada, não estamos representando esse provável intermediário em nossos esquemas. De uma maneira bastante simplificada e simplista, representamos o processo de autorrenovação e diferenciação da célula-tronco hemopoética nos progenitores mielóide e linfóide (Figura 2.18B), na qual os fatores transcricionais Pu-1, Ikaros, GATA-3, Rux-1, tal-1 e HoxB4 induzem a diferenciação para o progenitor linfóide comum. O fator PU-1 é necessário para a geração do progenitor linfóide. A mutação em PU-1 induz a redução de progenitores linfóides e mieloides no fígado fetal e, posteriormente, redução na linhagem de linfócitos B. Já os fatores Pu-1 e GATA-1 induzem a diferenciação para o progenitor mielóide comum.

A Figura 2.19 sumariza, esquematicamente, os diversos fatores de transcrição necessários *in vivo* para a diferenciação das linhagens linfóides e mielóide. Contudo, devemos ressaltar que dúvidas permanecem acerca do processo, ou seja, como ocorrem os processos específicos para cada linhagem? Como ocorre a decisão de autorrenovação e/ou diferenciação da célula-tronco hemopoética (veja Capítulo 5)? Ainda não há respostas definitivas para estas questões, mas devemos lembrar que **(i)** as populações primitivas são altamente plásticas e podem, em função das condições do nicho, modificar o programa de diferenciação, daí a existência de diversos esquemas para a hemopoese na literatura e que dependem das condições experimentais; **(ii)** os fatores de transcrição não são os únicos efetores dos processos, podendo participar da diferenciação e do amadurecimento de mais de uma linhagem, como os fatores GATA-1 e C/EBP; **(iii)** alguns dos fatores de transcrição podem interagir entre si e/ou com outras proteínas, modificando a ação. (Para saber mais sobre as bases moleculares veja Zhu & Emerson, 2002; Drevon & Jaffredo, 2012; Orkin & Zon, 2008.)

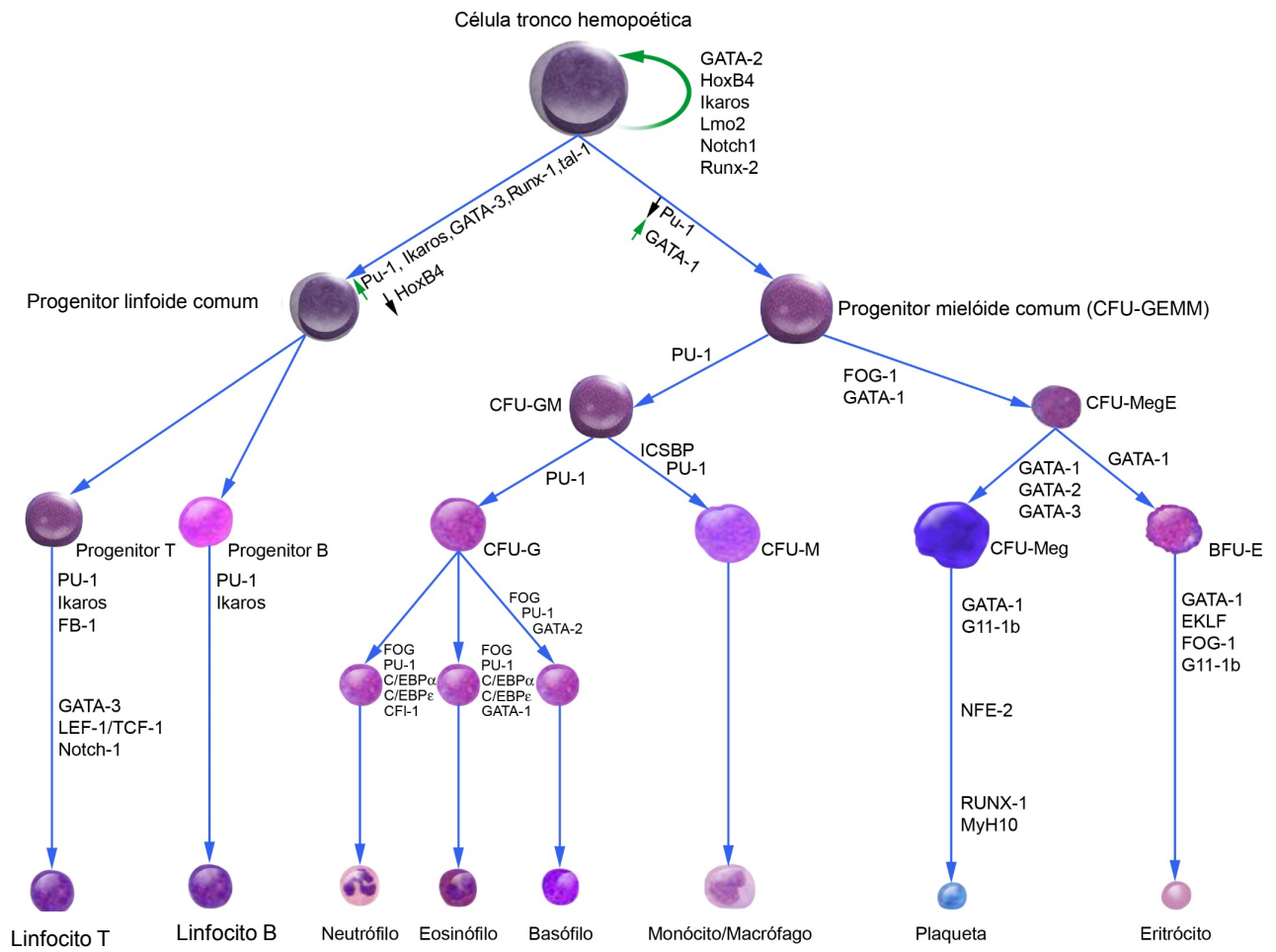


Figura 2.19 – Esquema simplificado da hemopoese e dos principais fatores de transcrição envolvidos no processo. Segundo a teoria unicista, as células sanguíneas derivam de um precursor pluripotente denominado célula-tronco hemopoética ou hemocitoblasto de Ferrata, que, por sua vez, se origina da célula-tronco embrionária. A célula-tronco hemopoética (CTH) dá origem a duas populações celulares de precursores multipotentes denominadas **progenitor mielóide comprometido**, ou unidade formadora de colônias granulocíticas, eritroides, megacariocíticas e monocíticas (**CFU-GEMM** – *colony forming units of granulocytic, erythrocytic, megakaryocytic and monocytic series*), e progenitor **linfóide comprometido**. As CFU-GEMM originam os precursores megaeritrocíticos, ou unidades formadoras de colônias MegE (**CFU-MegE** – *unity colony forming of megakaryocytic and erythrocytic series*), e os precursores grânulo-monocíticos, ou unidades formadoras de colônias grânulo-monocíticas (**CFU-GM** – *unity colony forming of granulocytic and monocytic series*). Por sua vez, os progenitores CFU-MegE se diferenciarão em células progenitoras das linhagens megacariocíticas (**CFU-Meg** – *unity colony forming of megakaryocytic series*) e em progenitores **BFU** (unidades iniciadoras de eritrócitos – *unit forming burst erythrocytic series*), que amadurecerão originando, respectivamente, plaquetas e eritrócitos. A população CFU-GM originará os progenitores granulocíticos (unidade formadora de granulócitos; **CFU-G** – *unity colony forming of granulocytic series*) e os progenitores monocíticos (unidade formadora monomacrofágicas; **CFU-M** – *unity colony forming of monocytic series*), que, por sua vez, originarão, respectivamente, os monócitos e macrófagos e as células dendríticas. Assume-se, atualmente, que a população de células mastocitárias deriva diretamente do progenitor CFU-GEMM. Por outro lado, a população linfóide comprometida originará os progenitores dos linfócitos B e os progenitores dos linfócitos T/NK, que, ao migrarem para o timo, irão diferenciar-se nas diferentes populações de células T e da linhagem NK. Os fatores de transcrição estão mencionados em ordem que não é necessariamente a ordem em que atuam.

BIBLIOGRAFIA SUGERIDA

- Beutler E, Lichtman MA, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT. Williams Hematology. 7ª ed. New York: McGraw-Hill; 2006.
- Drukker M, Tang C, Ardehali R, Rinkevich Y, Seita J, Lee AS et al. Isolation of primitive endoderm, mesoderm, vascular endothelial and trophoblast progenitors from human pluripotent stem cells. Nat Biotech. 2012;30(6):531-544.
- Florida State University. Science, optics & you. Pioneers in optics. Zacharias Janssen [2015 Nov 13; acesso em 2019 April 1]. Disponível em: <http://micro.magnet.fsu.edu/optics/timeline/people/janssen.html>

- Glasgow University Library. De motu cordis [June 2007; acesso em 2019 April 1]. Disponível em: <http://special.lib.gla.ac.uk/exhibns/month/june2007.html>
- Gurevitch O, Slavin S, Feldman AG. Conversion of red bone marrow into yellow: causes and mechanisms. *Medical Hypotheses*. 2007;69(3):5311-536.
- Ham TH. Proceeding of the Forty-second Annual Meeting of the American Society for Clinical Investigation held in Atlantic City, N.J., May 1, 1950. *J Clin Invest*. 1950;29(6):792-853.
- Jacobson LO, Marks EK, Gaston EO, Simmons EL, Block MH. Studies on radiosensitivity of cells. *Science*. 1948;107.
- Jaffredo T, Drevon C. Cell interactions and cell signaling during hematopoietic development. *Exper Cell Res*. 2014;329(2):200-206.
- Keller G, Murry CE. Differentiation of embryonic stem cells to clinically relevant populations: lessons from embryonic development. *Cell*. 2008;132(4):661-680.
- Kennedy M, D'Souza SL, Lynch-Kattman M, Schwantz S & Keller G. *Blood*. 2007;109:2679-2687.
- Kim AD, Stachura LD, Traver D. Cell signaling pathways involved in hematopoietic stem cell specification. *Exp Cell Res*. 2014;329:227-233.
- Lee RG, Bithel TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 12^a ed. Barueri: Manole; 2007.
- Malkiewicz A, Dziedzic M. Bone marrow reconversion: imaging of physiological changes in bone marrow. *Pol J Radiol*. 2012;77(4): 45-50.
- Metcalf D. Hematopoietic regulators: redundancy or subtlety? *Blood*. 1994;82:3515-3523.
- Metcalf D. The hemopoietic regulators: an embarrassment of riches. *Bioessays*. 1992;14:799-805.
- Metcalf, D. *The hemopoietic colony stimulating factors*. Amsterdam: Elsevier. 1984;493p.
- Orkin SH, Zon LI. Hematopoiesis: an evolving paradigm for stem cell biology. *Cell*. 2008;132(4):631-644.
- Palis J, McGrath KE, Kingsley PD. Initiation of hematopoiesis and vasculogenesis in murine yolk sac explants. *Blood*. 1995;86:156-163.
- Palis J & Yoder M. Yolk-sac hematopoiesis: The first blood cells of mouse and man. *Experimental Hematology*. 2001;29:927-936.
- Peschle C, Migliaccio G, Migliaccio AR et al. Identification and characterization of three classes of erythroid progenitors in human fetal liver. *Blood*. 1981;58:565-572.
- Peschle C, Migliaccio G, Lazzaro D et al. Hemopoietic development in human embryos. *Blood Cells*. 1984;10:427-441.
- Servet M. *The restitution of Christianity*. 1553. Disponível em: http://www.godglorified.com/christianismi_restitutio.htm
- Shivdasani RA, Orkin SH. The transcriptional control of hematopoiesis. *Blood*. 1996;87: 4025-4039.
- Stamatoyannopoulos G, Majerus PW, Perlmutter RM, Varmus H. *The molecular basis of blood diseases*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 2001.
- Storti E. Adolfo Ferrata: one of the fathers of hematology on the 50th anniversary of his death. *Hematologica*. 1996;81:101-104.
- Takashina T. Haemopoiesis in the human yolk sac. *J Anat*. 1987;151:125-135.
- Tavassoli M, Crosby WH. Bone marrow histogenesis: a comparison of fatty and red marrow. *Science*. 1970;169(17):291-293.
- Till J., McCulloch E. Ionizing radiation and blood-forming tissue. *Jama*. 1950;144(14): 1182-1183.
- Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiation Research*. 1961;14:213-222.
- Zhu J, Emerson SG. Hematopoietic cytokines, transcription factors and lineage commitment. *Oncogene*. 2002;21:3295-3313.

HISTOFISIOLOGIA DA MEDULA ÓSSEA

José Guilherme Xavier e Primavera Borelli

LISTA DE ABREVIATURAS

- BFU-E:** Unidades (primitivas) formadoras de células eritroides (*Burst-Forming Unit-Erythroid*)
- CAR:** Células adventícias reticulares. (*Cells adventitial reticular*)
- CFU-GEMM:** Unidade formadora de células granulocíticas-eritroides-macrofágicas-megacariocíticas. (*Colony forming unit-Granulocyte-Erythroid-Makrophage-Megakaryocyte*)
- FCH:** Fatores de crescimento hemopoéticos
- FGF:** Fator de crescimento de fibroblasto. (*Fibroblast growth factor*)
- IGF1:** Fator de crescimento similar a insulina. (*Insulin(simile) growth factor-1*)
- BMP:** Proteínas morfogenéticas do osso. (*Bone morphogenetic proteins*)
- GM-CSF:** Fator de crescimento de células granulo-macrofágicas. (*Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*)
- IL-1:** Interleucina 1
- MEC:** Matriz extracelular
- PPAR γ :** Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama; c/EBPS. (*Enhancer binding proteins*)
- TGF β :** Fator de crescimento de transformador beta. (*Transforming growth factor beta*)
- TNF α :** Fator de necrose tumoral alfa. (*Tumor Necrosis Factor Alfa*)
- VLA4:** Antígeno de aparecimento tardio 4 ou integrina $\alpha_4\beta_1$ ou CD49d/CD2. (*Very late antigen 4, or $\alpha_4\beta_1$ -integrin or CD49d/CD2*)
- VLA5:** Antígeno de ativação de aparecimento ou integrina $\alpha_5\beta_1$. (*Very late activation antigen 5 or $\alpha_5\beta_1$ integrin*)

3.1 PARÊNQUIMA MEDULAR

3.1.1 MICROARQUITETURA MEDULAR

A medula óssea é encontrada no canal medular (Figuras 3.1 e 3.2) de ossos longos, até cerca dos 18 anos de idade, e nas cavidades de ossos esponjosos (ossos chatos) a partir dessa idade.

Esquema da estrutura do osso cortical e esponjoso

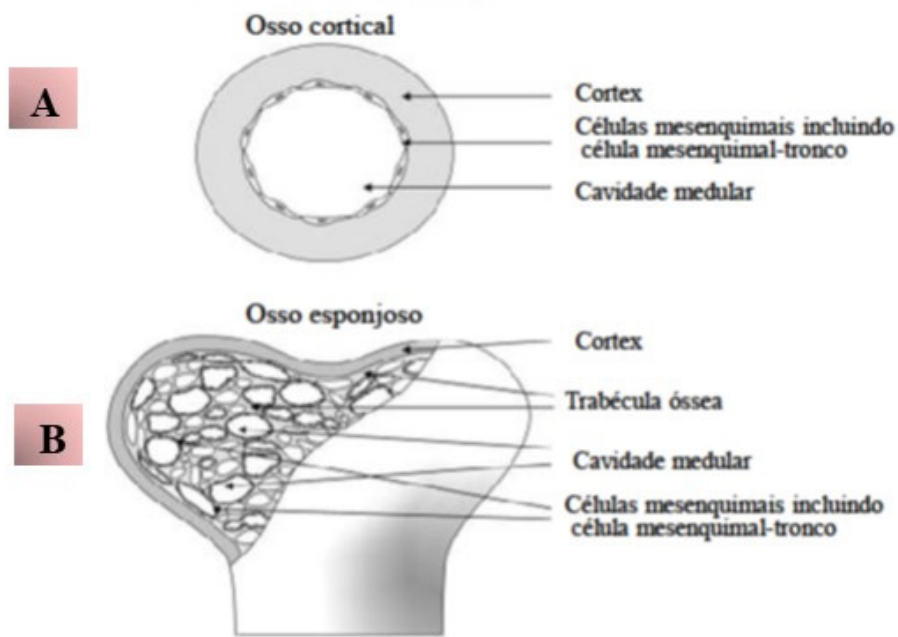


Figura 3.1 – Esquema da estrutura do osso cortical, destacando a região cortical, as trabéculas ósseas e a cavidade medular (A). Esquema da estrutura do osso esponjoso (B). Fonte: <http://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0306987707001132-gr1.jpg>.

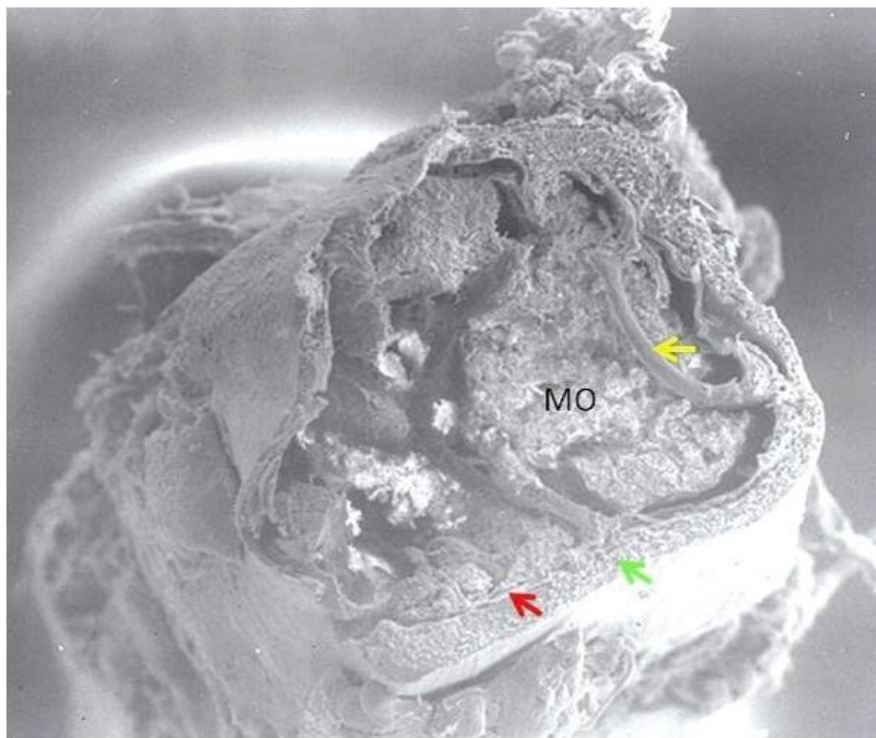


Figura 3.2 – Fotomicrografia de corte longitudinal de fêmur de camundongo, em microscopia eletrônica de varredura ($\times 70$). Observa-se o canal medular preenchido com a medula óssea (MO), a região cortical do osso (seta verde), a região subendosteal (seta vermelha) e a trabécula óssea (seta amarela). Fotomicrografia: Profa. Dra. Primavera Borelli, Laboratório de Hematologia Clínica e Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

À primeira vista, a medula óssea apresenta-se histologicamente como um tecido altamente celular pobre em estroma, de aspecto aparentemente anárquico, destacando-se travess ósseas, células sanguíneas em diferentes estágios de maturação e estruturas vasculares e nervosas. A superfície interna do córtex e a superfície externa das trabéculas ósseas são revestidas pelo endóstio (Figuras 3.1, 3.2 e 3.3), constituído por uma camada simples de células pavimentosas ou poliédricas associadas a um delicado estroma reticular (Figuras 3.3 e 3.4). Procedendo-

-se, porém, a uma observação mais detalhada, pode-se identificar a presença de agregados de células com características morfológicas comuns em áreas específicas da medula, destacando-se o acúmulo de ninhos hemopoéticos distantes das travess osseas e estruturas vasculares de paredes delgadas – os seios venosos medulares (Figuras 3.4 e 3.5). (Para descrição mais detalhada da estrutura histológica da medula óssea, ver <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17067943>).

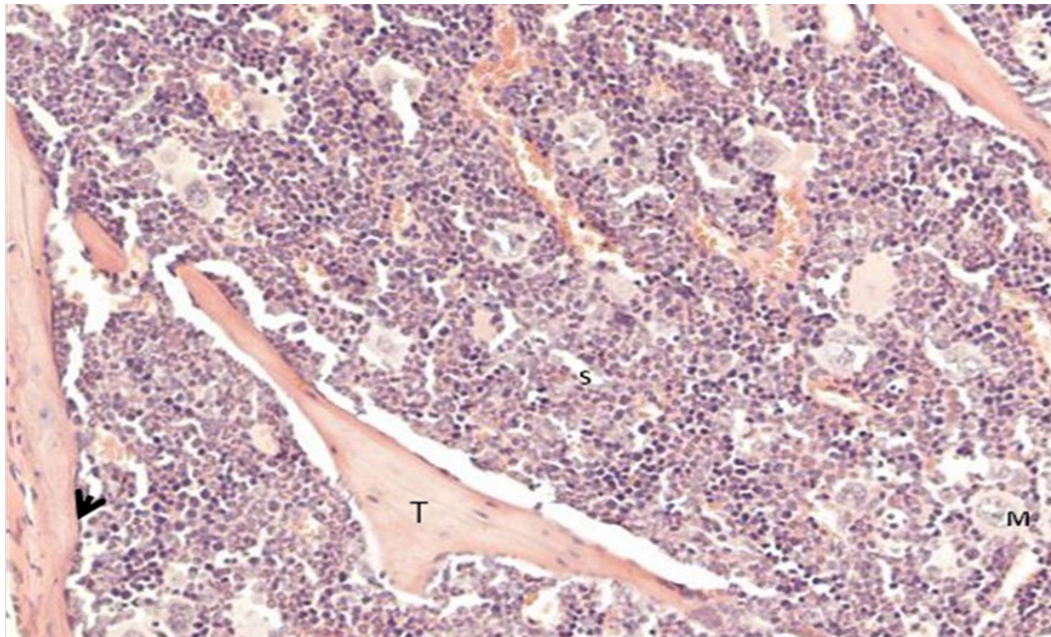


Figura 3.3 – Fotomicrografia de corte histológico de medula óssea de camundongo, adulto, normal, coloração por hematoxilina-eosina, aumento de 4x. Medula óssea vermelha. Em relação à medula óssea humana, a de camundongos apresenta-se hipercelular, com frequentes megacariócitos (M). Nessa imagem não se observam adipócitos. T: trabécula óssea; S: sinusoide. A seta indica a região subdosteal, destacando um osteoblasto. Fotomicrografia: Profa. Dra. Primavera Borelli, Laboratório de Hematologia Clínica e Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

A circulação da medula óssea é composta por artérias aferentes, veias aferentes e eferentes e sinusoides. O sangue vindo da circulação adentra o osso via artéria nutriente a qual penetra na medula óssea e desemboca nos capilares endosteais. Estes sinusoides se ramificam no interior da cavidade medular para posteriormente formarem o sinusoide coletor que desemboca no sinusoide central o qual por sua vez, que desemboca na veia central. O tecido hemopoético localiza-se entre os sinusoides e tanto as células sanguíneas aí produzidas como substâncias solúveis são levadas para o sistema circulatório periférico via sinusoides (Figuras 3.4, 3.5, 3.6)

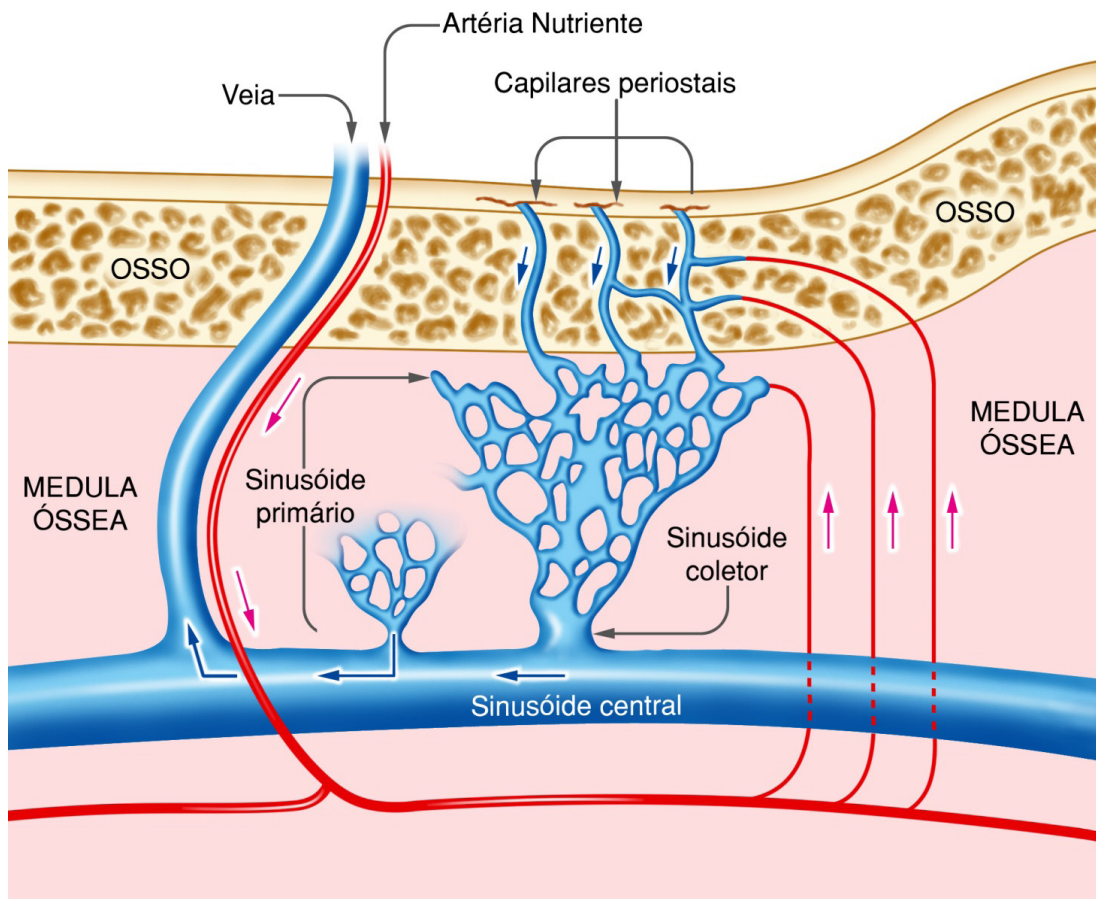


Figura 3.4 – Esquema representativo da circulação na medula óssea. O sangue vindo da circulação adentra o osso via artéria nutriente a qual penetra na medula óssea e desemboca nos capilares endosteais. Estes sinusóides se ramificam no interior da cavidade medular para depois formarem o sinusóide coletor que desemboca no sinusóide central que desemboca na veia central. O tecido hemopoético entre os sinusóides e tanto as células sanguíneas aí produzidas como substâncias solúveis são levadas para o sistema circulatório periférico via sinusóides.

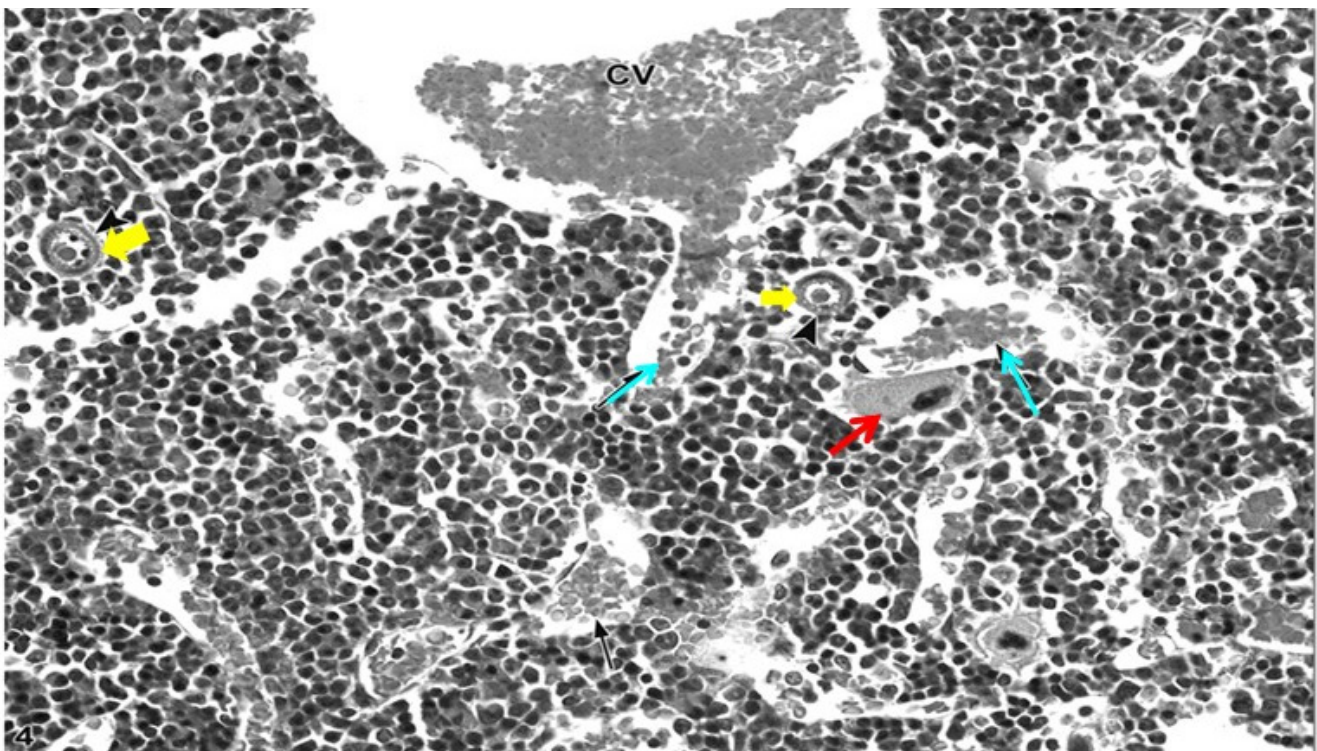


Figura 3.5 – Fotomicrografia de corte histológico de fêmur de camundongo exibindo uma medula óssea ricamente celular. Pode-se observar uma veia central (CV), uma artéria nutriente (ponta de seta amarela), seios venosos (setas pretas). A seta vermelha indica um megacariócito na região perisinusoidal (modificado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17067943>)

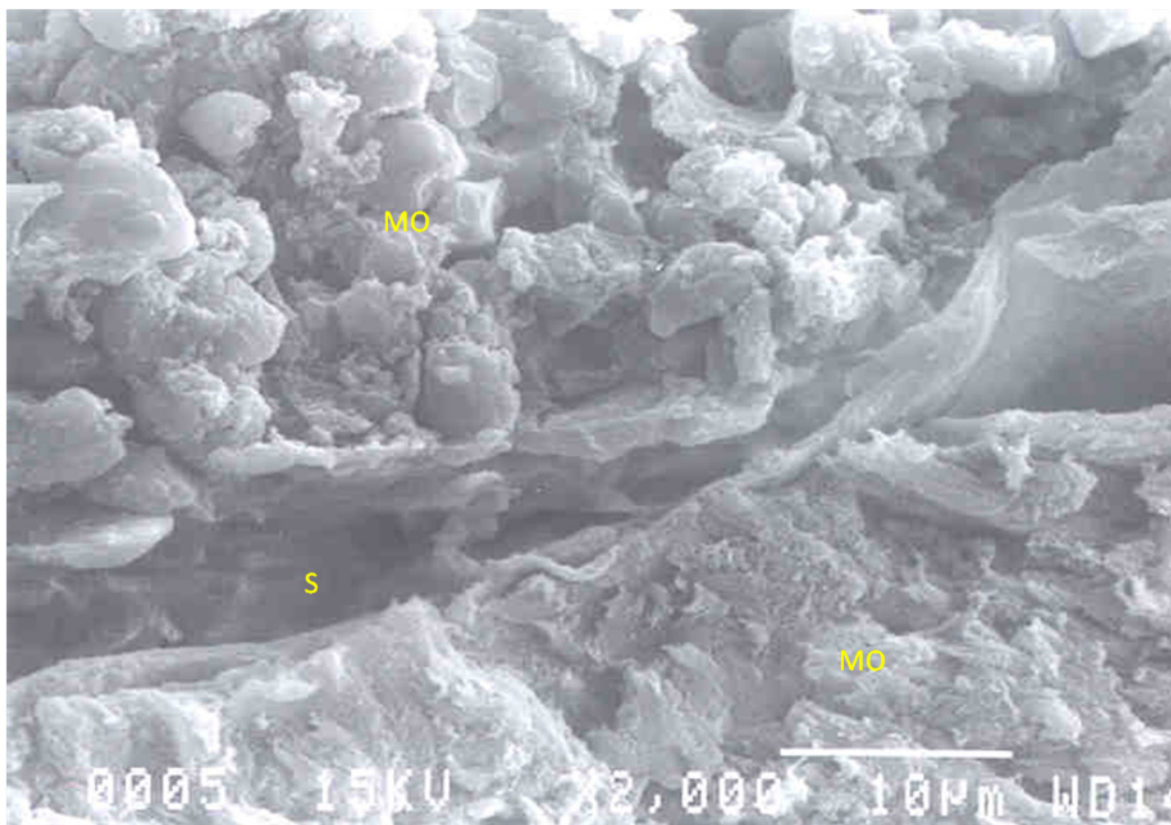


Figura 3.6 – Fotomicrografia de corte longitudinal de fêmur de camundongo observado em microscopia eletrônica de varredura. Observa-se a celularidade da medula óssea (tecido mieloide) com diferentes tipos celulares em íntima associação célula-célula, e na região central, um sinusóide (S) (MEV $\times 2.000$). Fotomicrografia: Profa. Dra. Primavera Borelli, Laboratório de Hematologia Clínica e Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

Em 1978, Schofield propôs, com base em estudos *in vitro* e *in vivo*, a existência de **nichos** de células-tronco (para saber mais, veja <https://www.stembook.org/node/518>) organizados como um compartimento funcional do estroma medular, que oferece condições de autorrenovação à célula-tronco, denominado **microambiente hemopoético** (ver detalhes a seguir e no Capítulo 5), envolvendo células estromais (células reticulares, macrófagos, células endoteliais, adipócitos), células acessórias (linfócitos T e monócitos), matriz extracelular (MEC) e substâncias solúveis, como citocinas e fatores de crescimento.

Dentro desse enfoque podemos identificar diferentes regiões medulares, vinculadas à expansão e à maturação de populações celulares específicas. Assim, os elementos hemopoéticos distribuem-se de maneira ordenada dentro da cavidade medular – os **precursores** localizam-se geralmente nas **adjacências do endóstio** enquanto os **elementos mais maduros** projetam-se em direção ao **interior da cavidade medular**. Linhagens distintas tendem a arranjar-se em padrões específicos em relação aos seios venosos, sendo os produtos celulares liberados em seu interior objetivando o ingresso na corrente sanguínea como, por exemplo, a localização de células megacariocíticas em regiões perissinusoidais (Figura 3.3).

3.1.2 ESTROMA MEDULAR

O compartimento hemopoético medular está contido dentro de cordões irregulares de tecido interposto, formando uma estrutura denominada estroma medular (Figura 3.7): uma composição particular de células reticulares estromais (células adventícias, fibroblastos), macrófagos, adipócitos e sua matriz extracelular (MEC) associada.

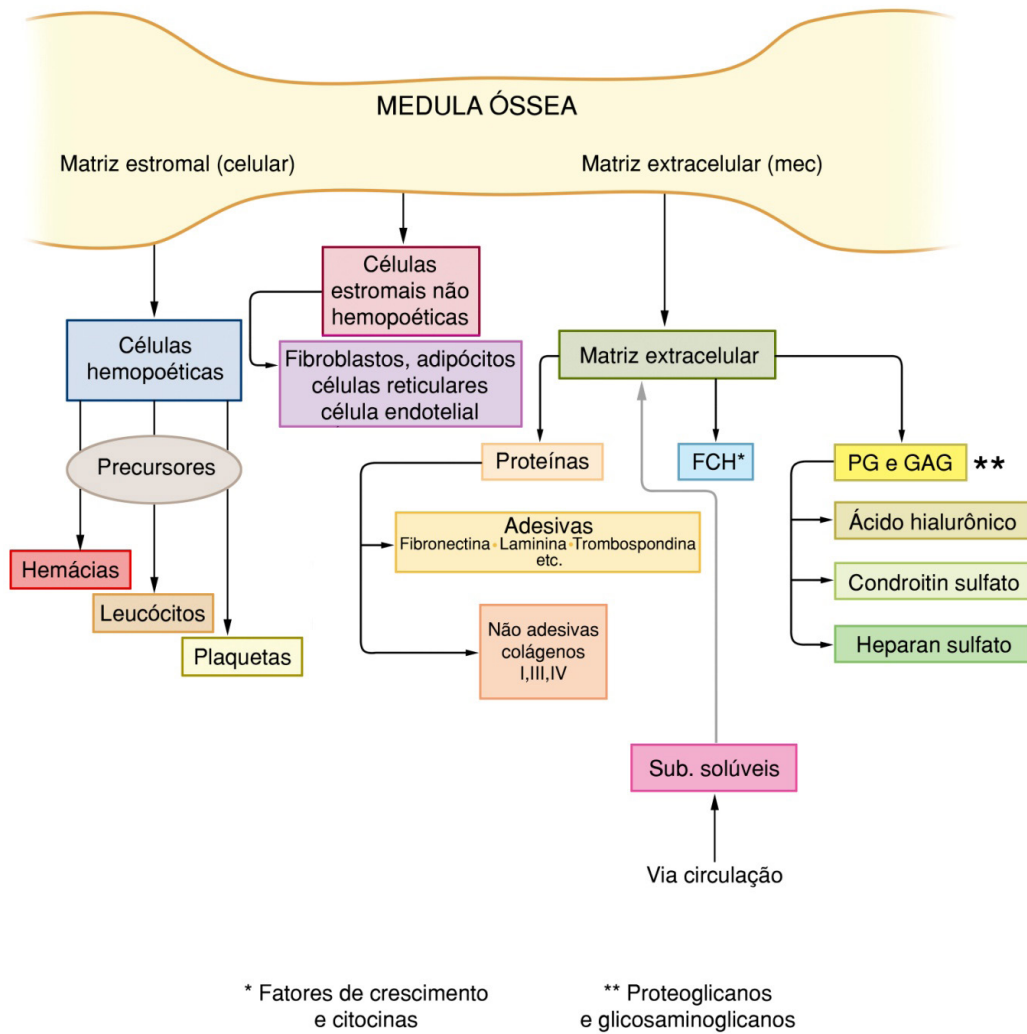


Figura 3.7 – Esquema representativo dos diferentes componentes do tecido mieloide presente na medula óssea e que compõe o estroma medular. Ver detalhes no texto.

Deve-se destacar que a MEC contribui não só para o suporte mecânico da população de células hemopoéticas como também para o favorecimento de interações indutivas e o fornecimento de fatores de crescimento, capazes de influenciar a autorrenovação, a proliferação e a diferenciação de células-mãe e progenitores hemopoéticos, consistentes com o conceito de nicho hemopoético (Figura 3.8) (para mais detalhes ver o Capítulo 5 e <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19944675>; [https://www.exphem.org/article/S0301-472X\(13\)00560-2/fulltext](https://www.exphem.org/article/S0301-472X(13)00560-2/fulltext); <http://www.eurkaselect.com/97215/article>).



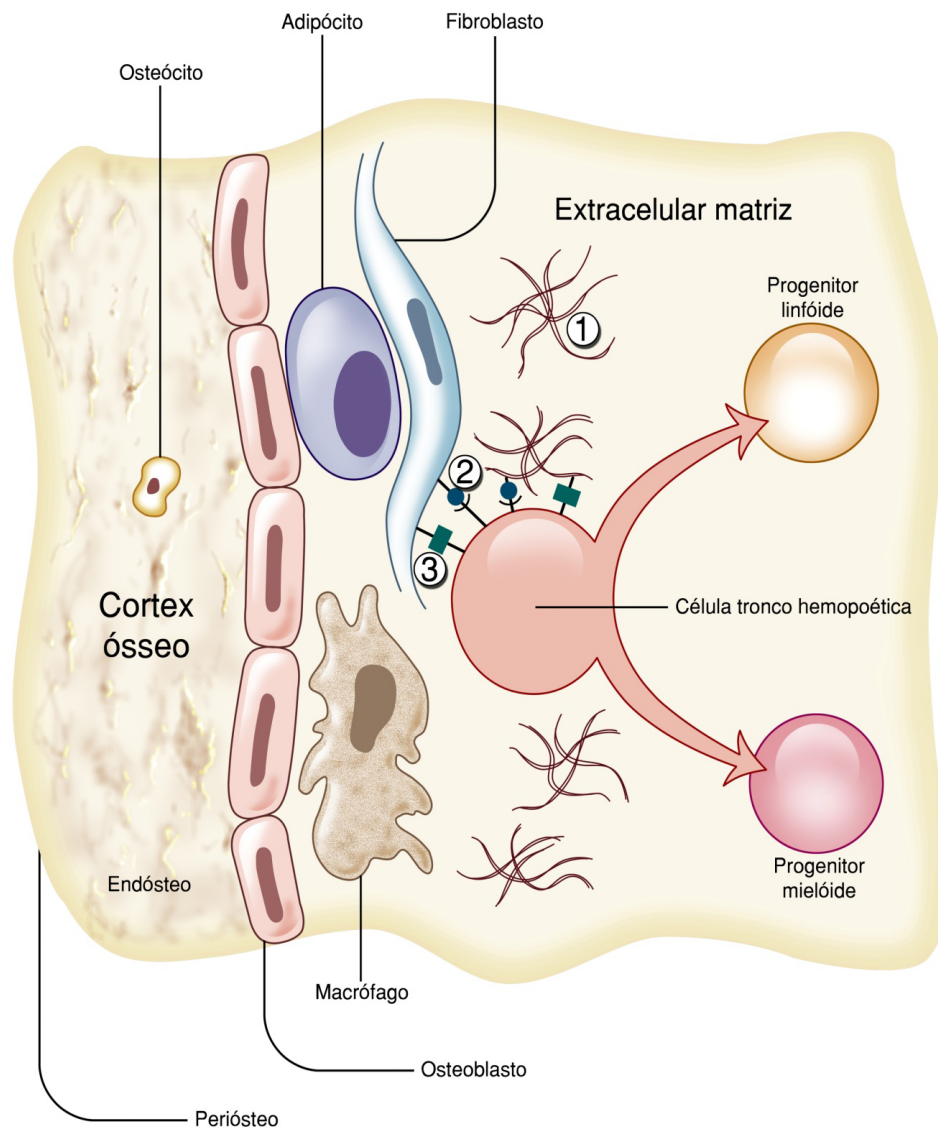


Figura 3.8 – Esquema representativo do microambiente medular, evidenciando as interações células-células e células-matriz extracelular. Em função dessas interações, as células-tronco podem se autorrenovar ou se diferenciar nos progenitores mielóides ou linfóides (veja texto e Capítulo 5). Esquema de glicoproteínas da MEC (1); interação entre receptores de fibroblastos e proteínas da MEC (2); interação entre receptores de fibroblasto e a célula-tronco (3)

3.1.2.1 Células estromais

As células estromais derivam de uma **célula-tronco mesenquimal** ou **célula estromal mesenquimal** multipotente (ver Capítulo 5), também localizada na medula óssea, capaz de originar, sob diferentes estímulos, células dos tecidos ósseo, cartilaginoso, adiposo e muscular além de células reticulares (Figura 3.9).

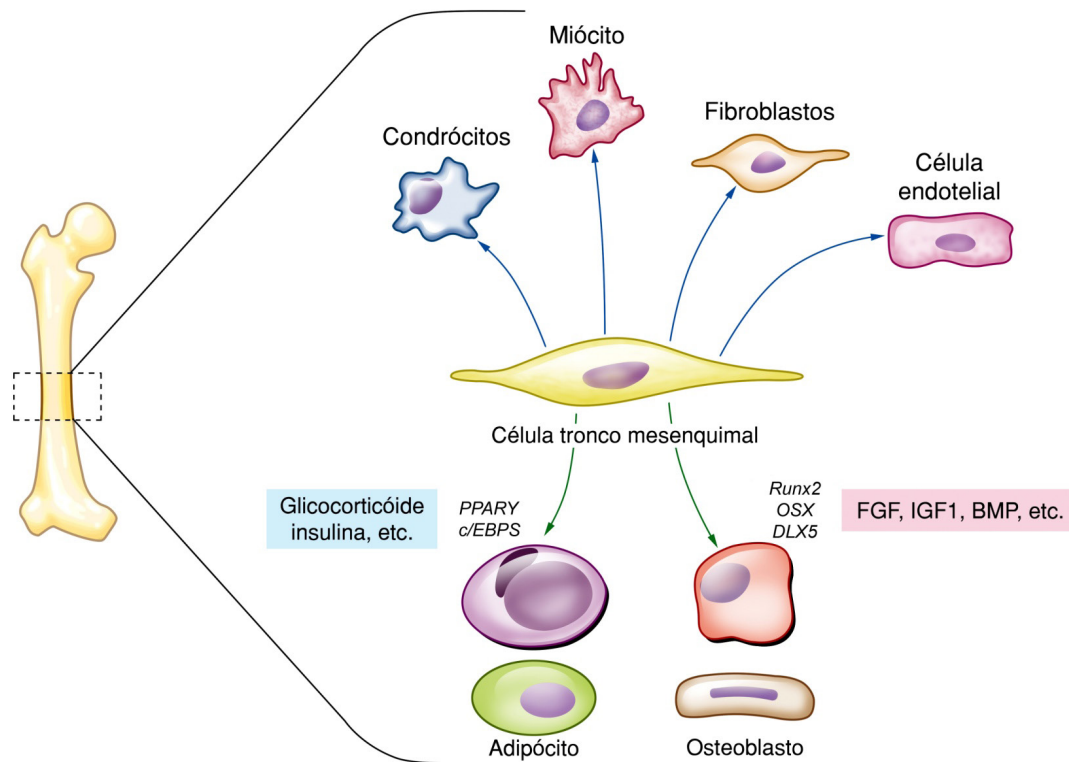


Figura 3.9 – Esquema representativo da origem das células estromais não hemopoéticas derivadas da célula-tronco mesenquimal. Em função de fatores de crescimento, citocinas e hormônios, os fatores de transcrição da célula-tronco mesenquimal podem ser ativados ou inativados, originando as linhagens de osteoblastos e adipócitos. FGF: *Fibroblast growth factor*; IGF1: *Insulin(simile) growth factor-1*; BMP: *Bone morphogenetic proteins*, PPAR γ : Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama; c/EBPS: *enhancer binding proteins*.

As células reticulares, de natureza fibroblástica, são o principal componente do estroma medular, havendo dois tipos distintos: as células reticulares adventícias (CAR, *Cells Adventitial Reticular*) e as fibroblásticas (ou fibroblastos-*like*). As primeiras, **situadas ao redor dos seios venosos**, formam uma camada que recobre a superfície abluminal vascular e estão envolvidas na **regulação da migração de células sanguíneas maduras para a circulação**; as últimas **integram o interior dos cordões hemopoéticos**, emitindo extensões citoplasmáticas que envolvem as células hemopoéticas em maturação, em especial granulócitos, evento que sugere uma relação funcional entre elas. As células fibroblásticas produzem substâncias solúveis como citocinas (TNF α e IL-1, por exemplo) e fatores de crescimento (TGF β , FGF, GM-CSF etc.), além de glicoproteínas da MEC, como colágeno, laminina e fibronectina.

Os macrófagos, de origem hemopoética, constituem o segundo elemento celular estromal em importância, situando-se em três regiões medulares: as **ilhas eritroblásticas** (ver Capítulo 8), caracterizando os macrófagos centrais e funcionando como elementos importantes na maturação eritroblástica (Figura 3.10); os **macrófagos perissinusoidais**, povoando a superfície abluminal do endotélio sinusal e emitindo prolongamentos citoplasmáticos que se projetam para a luz vascular englobando células senescentes ou defeituosas; e **macrófagos dispersos** entre as células hemopoéticas.

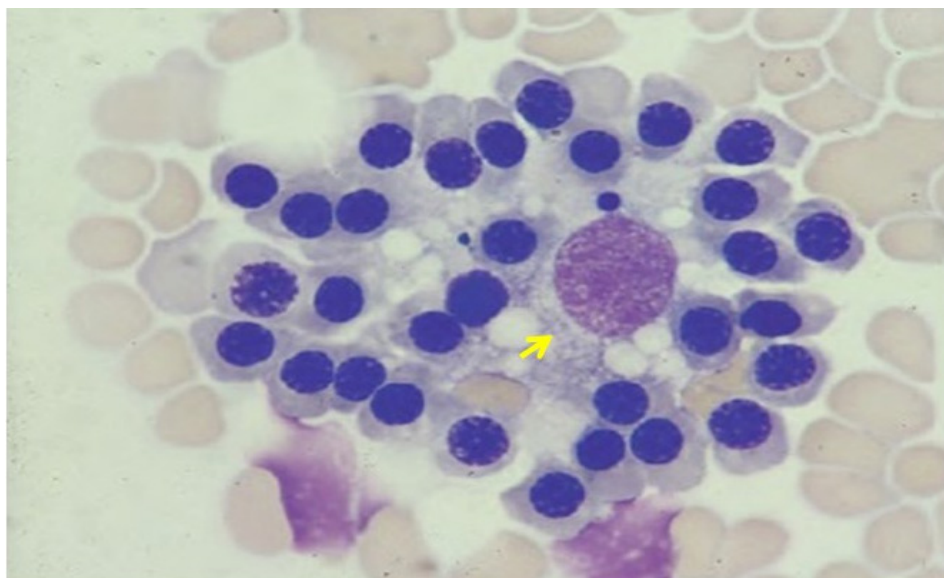


Figura 3.10 – Fotomicrografia de corte histológico de medula óssea evidenciando a ilha eritroide. A seta indica macrófago rodeado de eritroblastos. Fonte: <http://3.bp.blogspot.com/-ALr-eE300Q/UazWTbtCvtI/AAAAAAAAABlw/I7DqXMRRDWI/s1600/2.jpg>.

Compõem ainda o quadro estromal medular as células endoteliais e os adipócitos. Os adipócitos medulares apresentam uma constituição de ácidos graxos semelhante à de outros depósitos de gordura corpóreos. Essas células originam-se de células adventícias da parede sinusoidal, as células reticulares adventícias, enquanto o adipócito extramedular origina-se de uma célula semelhante ao fibroblasto. Funcionalmente, os adipócitos medulares podem ser compreendidos como células preenchedoras de espaços, como fornecedoras de suporte metabólico para a atividade hemopoética e, principalmente, como **reguladoras da intensidade da hemopoese** (para saber mais, ver Tavassoli, 1977). Em um animal normonutrido, atuam na síntese de ácidos graxos e glicerol e na esterificação de ácidos graxos livres provenientes do fígado e dos intestinos. Durante o jejum, atuam na hidrólise de triglicérides estocados, liberando ácidos graxos e glicerol e produzindo energia. Diferentes sítios de adipócitos respondem distintamente ao estímulo lipolítico, existindo áreas onde a atividade do tecido é **mais estrutural (tecido lipídico marrom)** do que **metabólica (tecido lipídico branco)**. Atualmente, sabe-se que os adipócitos, além de sua função metabólica, exercem **função regulatória**, produzindo hormônios como adiponectina e leptina, citocinas, como TNF α , e fatores de crescimento, como GM-CSF.

3.1.3 MATRIZ EXTRACELULAR (MEC)

A MEC apresenta-se como uma complexa rede de macromoléculas (Figura 3.11) que, além de preencherem os espaços extracelulares, exercem **papel regulatório**. Ela é constituída por **proteínas e polissacarídeos** que são secretados localmente, principalmente pelos **fibroblastos**, sendo distribuídas na forma de uma rede organizada, em íntima associação com a superfície das células que as produziram. A matriz extracelular, em **função de sua composição e organização**, é capaz de **determinar a forma, a orientação, a diferenciação e o comportamento metabólico das células do tecido**.

Os principais elementos da MEC da medula óssea são **glicosaminoglicanos (ácido hialurônico, heparan sulfato e condroitin sulfato)**, glicoproteínas, como **colágeno**, e proteínas multiadesivas não colagênicas, como **fibronectina, tenascina, laminina, vitronectina**.

Há cerca de trinta anos a matriz extracelular era considerada um suporte inerte destinado a estabilizar a estrutura física dos tecidos. Hoje já se sabe que a MEC exerce funções importantes no controle da hemopoese, como permitir a fixação de células precursoras ao estroma medular, propiciando o contato íntimo entre essas células e os fatores de crescimento hemopoético (FCH) secretados pelas células estromais. Esse controle depende da interação entre as células mediada por moléculas de adesão e citocinas. A atividade de diversos fatores de crescimento depende da ligação destes aos glicoconjugados da membrana celular ou da matriz extracelular.

MATRIZ EXTRA CELULAR

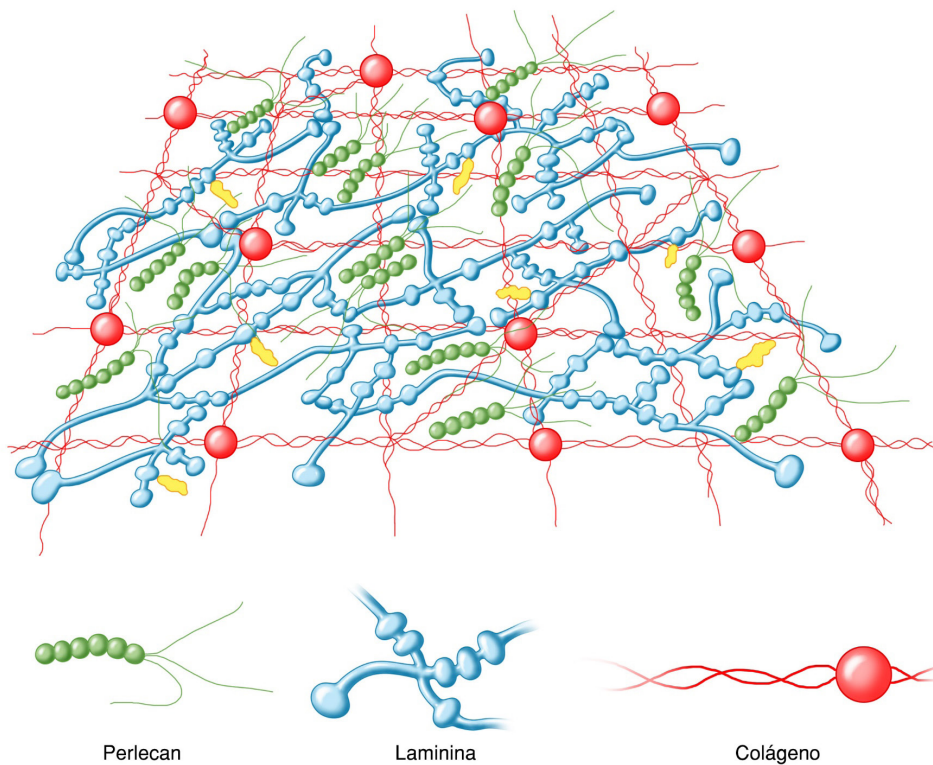


Figura 3.11 – Representação da matriz extracelular (MEC), que se constitui em uma complexa rede de macromoléculas cujas moléculas se ligam especificamente. A figura evidencia as interações entre as diferentes proteínas e os glicosaminoglicanos. Para mais detalhes veja o texto.

Colágeno: Os colágenos fazem parte de uma grande família de proteínas cuja característica principal é sua estrutura longa, rígida e que se organiza em fita tripla helicoidal. Existem 19 tipos diferentes de colágenos nos organismos vertebrados, predominando na **medula óssea** de seres humanos os **tipos I, III e IV**. A síntese dessas moléculas é realizada principalmente por **fibroblastos e células endoteliais** do estroma medular. O **colágeno tipo I** localiza-se, principalmente, na região do endóstio (Figura 3.12), enquanto o colágeno tipo III concentra-se no perióstio, e o colágeno tipo IV restringe-se aos vasos da medula óssea.

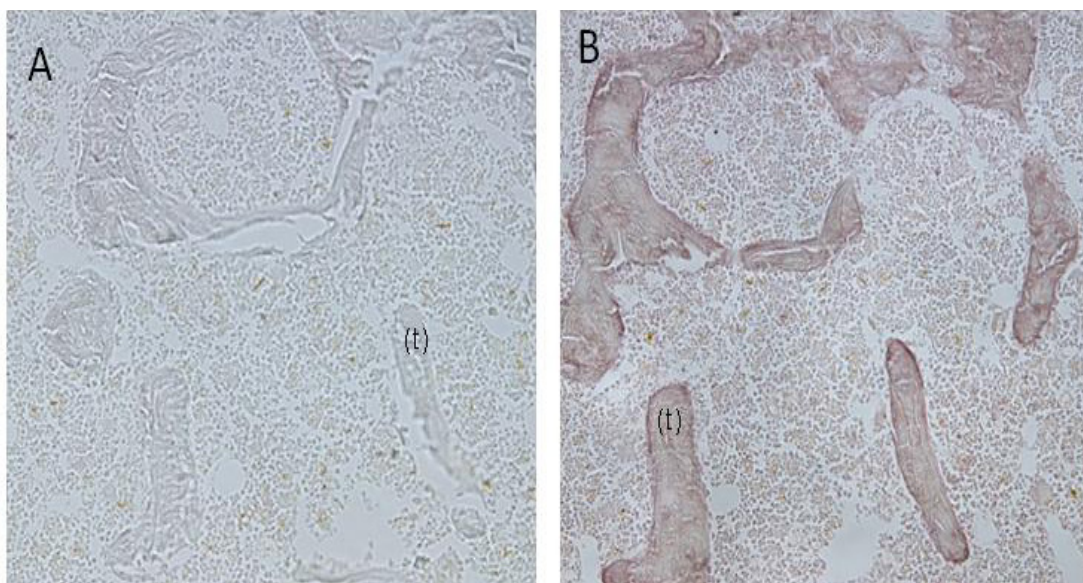


Figura 3.12 – Fotomicrografias de cortes histológicos de fêmures de camundongos evidenciando regiões (t) trabecular marcadas por imuno-histoquímica para colágeno tipo I (corado em castanho). **(A)** Controle negativo da reação; **(B)** reação positiva para colágeno I. Aumento de 20×. Imagens obtidas em microscópio Nikon modelo Eclipse 80i, gentilmente cedidas pela Profa. Dra. Maristela Tsujita, Laboratório de Hematologia Clínica e Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

Fibronectina: A fibronectina é uma glicoproteína adesiva que pode ser sintetizada pelas **células estromais** da medula óssea. Esta molécula está presente na forma solúvel no plasma e na forma insolúvel na MEC (Figura 3.13). As células precursoras hemopoéticas expressam receptores para a fibronectina **VLA4** (*very late antigen 4*, ou $\alpha_4\beta_1$ -*integrina*, ou CD49d/CD2) e **VLA5** (*very late activation antigen 5* ou integrina $\alpha_5\beta_1$), determinando sua ancoragem à matriz. Durante o desenvolvimento eritroide a expressão de receptores para fibronectina é perdida na fase de exonucleação dos eritroblastos, resultando em perda da adesão celular ao estroma e liberação dos eritrócitos para a circulação.

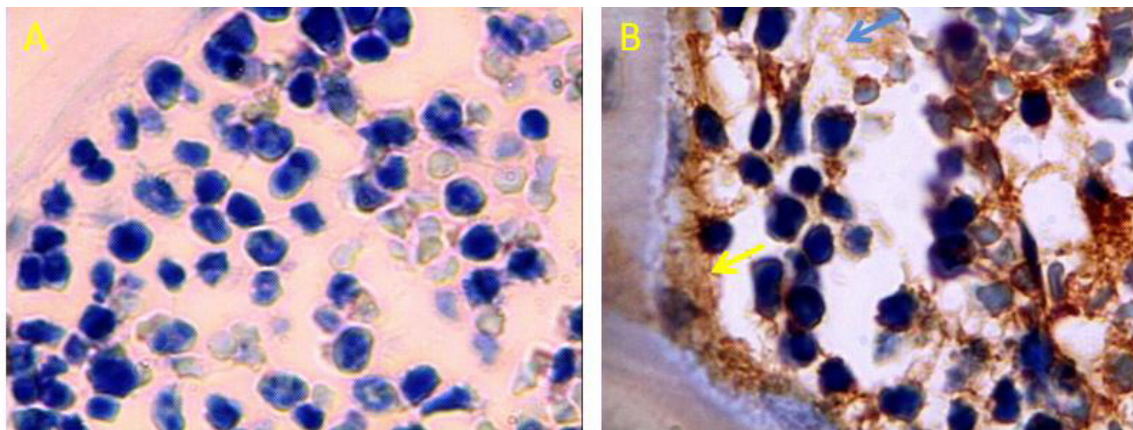


Figura 3.13 – Fotomicrografias de cortes histológicos de fêmures de camundongos evidenciando as regiões subendosteal (seta amarela) e mais central da medula óssea (seta azul) marcada por imuno-histoquímica para fibronectina (corado em castanho). **(A)** Controle negativo da reação; **(B)** reação positiva para fibronectina. Aumento de 100 \times . Imagens obtidas em microscópio Nikon, modelo Eclipse 80i, gentilmente cedidas pela Profa. Dra. Maria Emília Fávero, Laboratório de Hematologia Clínica e Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

Laminina: A laminina também é uma glicoproteína adesiva importante no estroma medular. As diversas atividades biológicas descritas para a laminina incluem interações com **colágeno tipo IV**, **elastina**, **heparan sulfato**; ligação com outras glicoproteínas da MEC e regulação de desenvolvimento celular e diferenciação. A deposição de laminina é intensa nos sinusoides, vasos e arteríolas e fraca na medula central e no endósteo.

Trombospondina: A trombospondina é uma glicoproteína multifuncional. Essa molécula é **sintetizada** e secretada por uma variedade de células incluindo **plaquetas**, **células do músculo liso** e **célula endotelial**. Está envolvida na adesão celular e na ligação a outros componentes da matriz, como glicosaminoglicanos. **Células progenitoras pluripotentes** (CFU-GEMM) e **progenitoras comprometidas** (CFU-GM, BFU-E) aderem à trombospondina. Durante a diferenciação e maturação, os granulócitos apresentam redução na adesão a ela, o mesmo acontecendo com os eritroblastos, o que possibilita, quando estas células amadurecem, a perda da fixação à MEC e a sua migração para o sangue periférico.

Proteoglicanos e glicosaminoglicanos: Os proteoglicanos são macromoléculas complexas presentes na MEC dos tecidos, nas **membranas basais** e nas **membranas que revestem a superfície** das células. São constituídos por um eixo proteico que se liga covalentemente a mais de 100 glicosaminoglicanos. Estes, por sua vez, são carboidratos não ramificados, formados por repetidas unidades de dissacarídeos. Os quatro principais grupos de glicosaminoglicanos são **ácido hialurônico**, **condroitin sulfato**, **heparan sulfato** e **queratan sulfato**, que diferem em relação aos resíduos de açúcar, tipo de ligação entre seus resíduos e pelo número e localização de seus grupos sulfato (Figura 3.14).

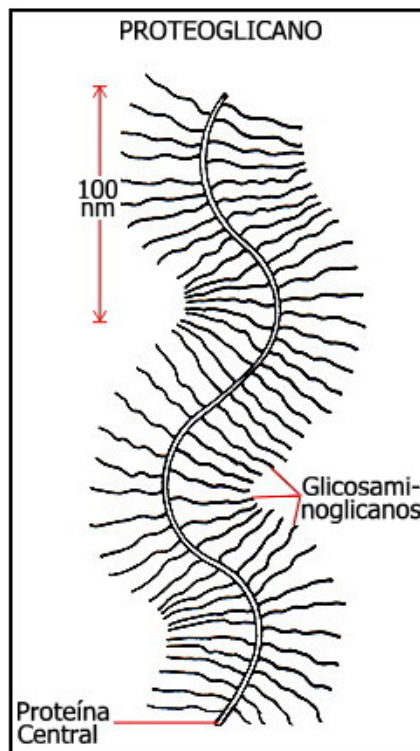


Figura 3.14 – Representação de uma molécula de glicosaminoglicano formada por uma molécula central de proteína, à qual se ligam glicosaminoglicanos. Fonte: <http://www.creces.cl/images/articulos/2q13b2-3.jpg>.

Com exceção do ácido hialurônico, todos os demais glicosaminoglicanos são encontrados em associação com proteínas, formando os proteoglicanos. Aproximadamente 79% do conteúdo de glicosaminoglicanos da medula óssea é de condroitin sulfato, localizado exclusivamente na MEC, 6% de ácido hialurônico e 5% de heparan sulfato. Trabalhos experimentais demonstraram que os glicosaminoglicanos participam, na medula óssea, da **compartimentalização das citocinas e de fatores de crescimento** produzidos localmente pelas células do estroma ou vindos da circulação, e na sua apresentação sob forma biologicamente ativa para as células progenitoras hemopoéticas (para mais detalhes ver <http://jcs.biologists.org/content/104/2/477.long>; http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-84842000000300007&script=sci_arttext).

O **ácido hialurônico** é produzido pelas células estromais da medula óssea e seu papel parece ser o de fixar fatores de crescimento hemopoéticos produzidos localmente, como o GM-CSF, induzindo a atividade proliferativa e maturativa local.

Como já mencionado, as proteínas da MEC estão dispostas principalmente em território endosteal, como a fibronectina, os colágenos tipo I e IV, sendo escassa a presença desses elementos nas regiões centrais da medula óssea, excetuando-se paredes vasculares, onde é frequente a identificação de colágeno tipo IV e laminina. Esse tipo de distribuição dos componentes da MEC suscitou a hipótese da existência dos nichos hemopoéticos, em especial nas cercanias do endósteo, onde uma associação entre componentes microambientais e células pluripotentes viabilizaria a atividade hemopoética (ver Capítulo 5). Dentro desse contexto, a deposição de fibronectina seria a responsável pela criação de uma delicada compartimentalização medular, fato que otimizaria a diferenciação de linhagens hemopoéticas (Figura 3.15).

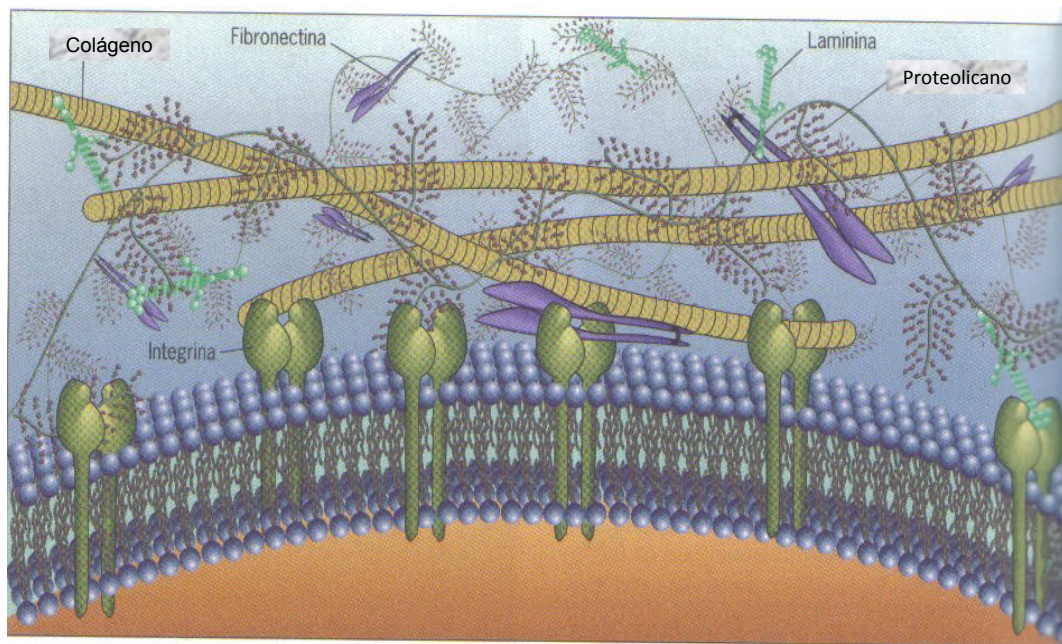


Figura 3.15 – Representação esquemática das interações entre proteínas e proteoglicanos da matriz extracelular e os receptores (integrinas) presentes nas células hemopoéticas. Essas interações regulam os processos de proliferação, diferenciação, maturação e migração das células hemopoéticas. Para mais detalhes veja o texto. Fonte: http://2.bp.blogspot.com/_P1w05EdHKio/SwoMkd00wWI/AAAAAAAA-AB0/mV7cUGxPSI/s1600/organizaci%7Bon%2Bmacromolecular%2Bde%2Bla%2Bmatriz.jpg.

As alterações do estroma podem ser observadas pela coloração com o método de Grocott para fibras de reticulina (Figura 3.16). Em condições normais, observamos fibras delicadas e esparsas ao redor de alguns vasos e traves ósseas. Em diversas circunstâncias patológicas, a maioria de natureza neoplásica, teremos aumento na quantidade e da espessura dessas fibras que podem ser observadas em todos os espaços medulares. Diversos métodos de quantificação subjetiva são adotados, sendo a graduação realizada por meio de escores, ou simplesmente pela quantificação em discreto, moderado e intenso aumento. O aumento das fibras de reticulina pode ser observado em áreas de infiltrações neoplásicas, em doenças linfoproliferativas, em doenças granulomatosas e doenças mieloproliferativas agudas e crônicas, dentre outras. Em doenças hematopoéticas os aumentos mais intensos são observados na mielofibrose primária e na trombocitemia essencial. Aumentos discretos em áreas não habituais são úteis para detectar possíveis infiltrações mínimas de neoplasias diversas, incluindo infiltrações pelos linfomas de Hodgkin e não Hodgkin.

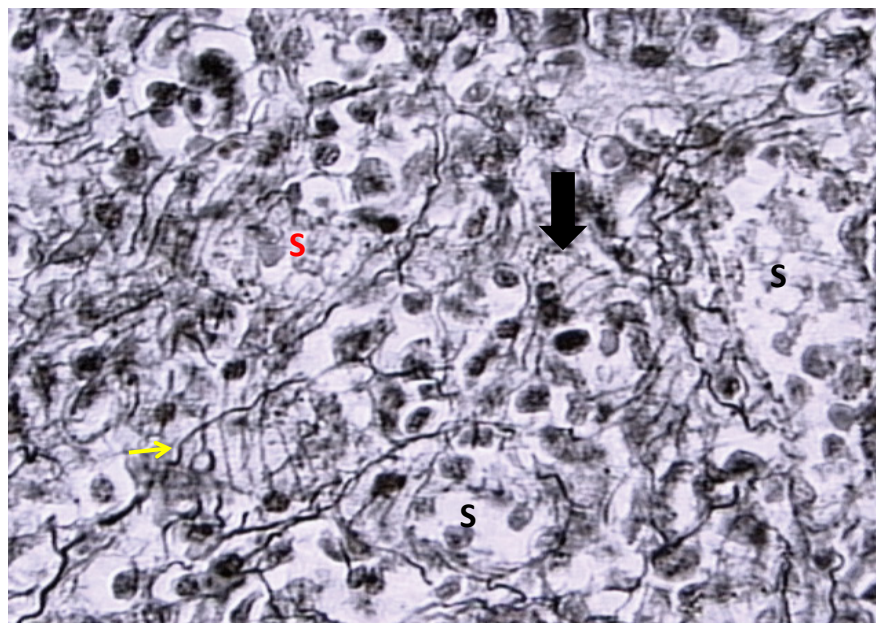


Figura 3.16 – Detalhe da polpa vermelha esplênica evidenciando a organização da trama reticular, identificando-se as fibras reticulares dispostas em arco em paredes vasculares (seta) e os espaços sinusais (S). Baço canino, reticulina, 100×. Fotomicrografia: Prof. Dr. José Guilherme Xavier, Instituto de Ciências da Saúde, UNIP.

3.1.4 MICROAMBIENTE OU NICHOS

As células hemopoéticas estão específica e intimamente associadas às células do estroma medular e às substâncias sintetizadas por essas células, formando estruturas histoanatômicas específicas, definidas por Schofield (1978) como **nichos** ou **microambientes hemopoéticos** (para mais detalhes ver <https://www.nature.com/articles/nature12984>).

Topograficamente, a composição da MEC é distinta e associada ao desenvolvimento das diferentes linhagens sanguíneas, o que sugere a existência de interações específicas entre as células e determinados elementos estromais, ou seja, interações **célula hemopoética-célula estromal**, **célula hemopoética-MEC**, **célula estromal-MEC** e **interações de MEC-MEC** (Figura 3.17), sendo que tais interações são mediadas por receptores e ligantes específicos denominados moléculas de adesão (ver Capítulo 7). Simplificadamente, cada linhagem celular localiza-se em regiões específicas no tecido mieloide, inclusive as células-tronco hemopoéticas.

O microambiente apresenta-se como uma estrutura compartimentalizada e dinâmica que, além de **fornecer o parênquima de sustentação** para as células hemopoéticas, permite um “**ambiente bioquímico**” fundamental para a **proliferação, a diferenciação e a maturação dessas células**. Assim, supõe-se a **existência de fatores regulatórios que formariam microambientes indutivos**. O termo **microambiente indutivo** é aplicado, mais especificamente, aos fatores que atuam em associação com o estroma. Acredita-se que o microambiente indutivo possa controlar a hemopoese pela produção e secreção local de citocinas pelas células estromais, pela colocalização de citocinas e/ou outras substâncias solúveis ou, ainda, por estímulo direto pelo contato celular. As interações celulares são mediadas por diferentes grupos de moléculas de adesão, as quais influenciam processos diversos como o crescimento e a diferenciação celular, a formação de junções e a polaridade celular (Figura 3.17) (para mais detalhes ver <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2199285>; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1706206>).

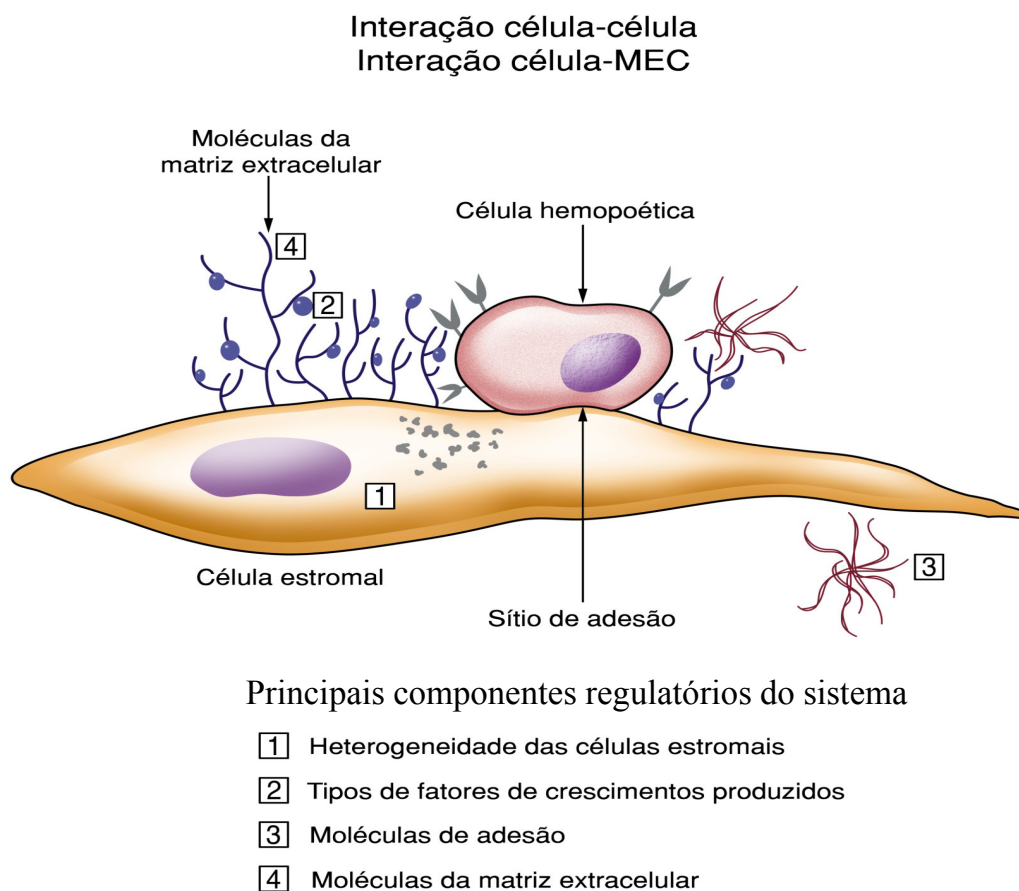


Figura 3.17 – Representação das interações célula-célula, célula-matriz extracelular e interação com fatores de crescimento.

As interações célula-célula e célula-MEC são mediadas por diferentes grupos de receptores presentes na superfície celular denominados moléculas de adesão.

As interações diretas célula-célula podem ocorrer via moléculas de adesão celular ou via *gap junctions*. Tais interações podem regular o comportamento celular, via sinalização, mediada pelos receptores celulares ou modulando a resposta celular desencadeada por fatores de crescimento

3.2 DEPÓSITOS DE FERRO

O ferro está presente na medula óssea sob a forma de **ferritina** e **hemossiderina**, que aparecem como granulos delicados em citoplasma de macrófagos, células endoteliais e no interstício. Em preparações coradas pela hematoxilina-eosina aparecem como pigmentos acastanhados, mas são mais bem visualizados em preparações coradas por método de Perls como granulos azuis (Figura 3.18), sendo mais frequentes no interstício. Vários métodos para quantificação ou avaliação dos depósitos de hemossiderina podem ser utilizados em aspirados ou cortes histológicos. O método mais simples adota zero para ausência de hemossiderina, normal para pequenos e esparsos granulos em células reticulares; 1+ para numerosos pequenos granulos em células reticulares e no interstício; 2+ para grandes granulos intersticiais com tendência a agregação; 3+ para granulos maiores formando aglomerados intersticiais; e 4+ para aglomerados grandes e densos intersticiais. Quando da utilização de cortes histológicos deve-se lembrar que a descalcificação retira parte desses depósitos.

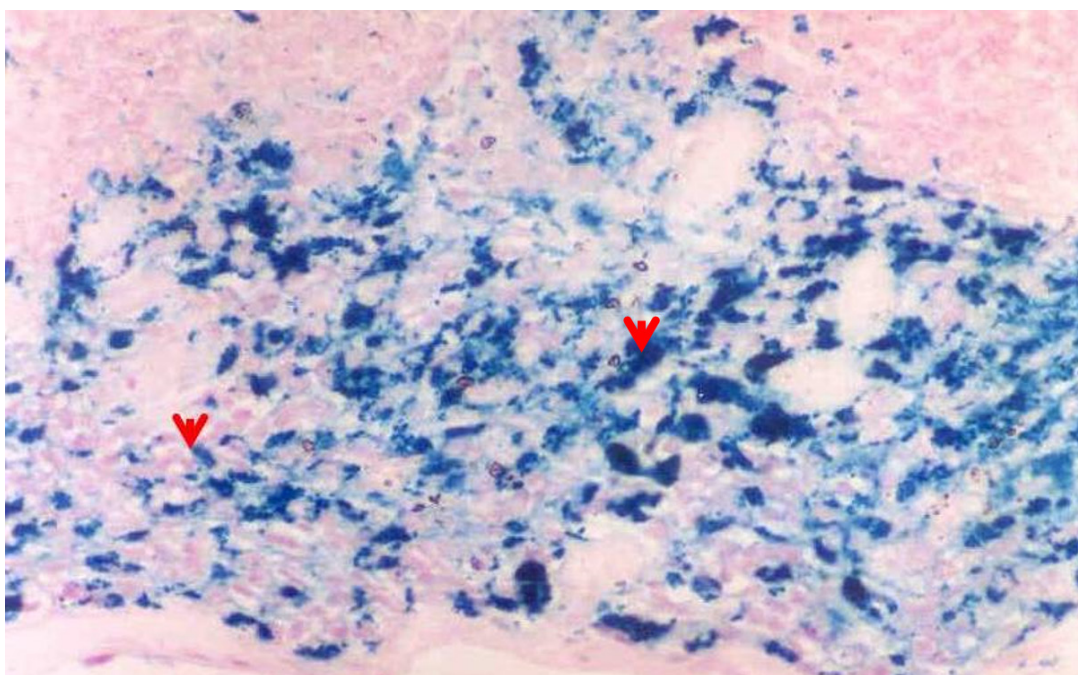


Figura 3.18 – Fotomicrografia de corte histológico de baço de camundongo corado pelo azul-da-Prússia (Reação de Perls). A imagem (x40) detalha a polpa vermelha do baço, evidenciando intenso depósito de ferro identificado pela coloração azul (seta vermelha). No caso específico, este animal apresentava aumento nos depósitos de ferro em função de eritropoese ineficaz. Fotomicrografia: Prof. Dr. José Guilherme Xavier, Laboratório de Patologia da Universidade Paulista (Unip).

3.3 CELULARIDADE MEDULAR

O termo celularidade medular em geral refere-se à proporção da cavidade medular ocupada por células hemopoéticas, expressa em porcentagem, excluindo-se as células adiposas e o tecido ósseo. É um indicador objetivo da atividade hemopoética como um todo, podendo ser avaliada subjetivamente ou por métodos histomorfométricos. Estes utilizam objetivas graticuladas ou sistemas de análise de imagens computadorizados com adequada correlação dos resultados. O método subjetivo por avaliação visual, muito utilizado em medicina diagnóstica, mostrou boa correlação com os métodos histomorfométricos. A avaliação da celularidade medular em aspirados e biópsias de um mesmo local e indivíduo pode apresentar alguma variação, pois, usualmente, o tecido apresenta certo grau de retração em consequência do processo de descalcificação e parafinização. Enquanto no neonato a celularidade medular aproxima-se de 100%, em indivíduos adultos ela apresenta grande variação, admitindo-se em geral valores aceitáveis entre 30 e 70%. Acima dos 80 anos de idade a celularidade tende a cair, atingindo níveis próximos aos 20%. Em indivíduos adultos celularidade medular abaixo de 30% ou acima de 70% podem indicar hipoplasia e hiperplasia, respectivamente. Outro aspecto que deve ser observado é a distribuição regular do tecido hemopo-

ético em medulas ósseas normais. A irregularidade em sua distribuição na amostra pode sinalizar doença mielodisplásica ou regeneração da medula, devendo-se, nessas circunstâncias, proceder-se a avaliação em conjunto com os dados clínicos e laboratoriais. Devido à ampla distribuição da medula óssea pode haver uma variação da celularidade em amostras de locais diferentes no mesmo indivíduo. Além disso, em avaliações subjetivas pode haver uma variação de 10% para menos em relação aos métodos histomorfométricos e de 10% para mais ou menos entre diferentes observadores. Estes fatos, bem como o peso do órgão, que só tem equivalente no fígado, tornam a avaliação da celularidade passível de erro se a amostra de medula óssea não tiver ao menos cinco regiões ou espaços intertrabeculares. A amostra ideal da biopsia deve medir no mínimo de 20 a 30 mm de comprimento e estar livre de artefatos. Os artefatos mais comuns são esmagamento do tecido, fraturas das traves ósseas e hemorragia, que advém da coleta da amostra. O tecido hemopoético mostra distribuição regular em medulas ósseas normais. Todas estas considerações permitem poucas generalizações sobre a celularidade medular.

BIBLIOGRAFIA SUGERIDA

- Albelda SM, Buck CA. Integrins and other cells adhesion molecules. *Faseb J*. 1990;4(11):2868-2880.
- Alvarez-Silva M, Silva LC, Borojevic R. Cell membrane-associated proteoglycans mediate extramedullary myeloid proliferation in granulomatous inflammatory reactions to schistosome eggs. *J Cell Science*. 1993;104:477-484.
- Anjos AR, Alvares-Silva M, Borelli P. Matriz extracelular e leucemia. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2000;22(3).
- Cao H, Oteiza A, Nilsson SK. Understanding the role of the microenvironment during definitive hemopoietic development. *Experim Hematol*. 2013;41(9):761-768.
- Morrison SJ, Scadden DT. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature*. 2014;505:327-334.
- Purton LE, Scadden DT. The hematopoietic stem cell niche. *StemBook*, 2008 November 15 [acesso em 2019 apr. 3]. Disponível em: <https://www.stembook.org/node/518>
- Renström J, Kröger M, Peschel C, Oostendorp RAJ. How the niche regulates hematopoietic stem cells. *Chem-Biol Interac*. 2010;184(1-2):7-15.
- Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood cells*. 1978;4(1-2):7-25.
- Sugiyama T, Nagasawa T. Bone marrow niches for hematopoietic stem cells and immune cells. *Inflam & Allergy*. 2012;11(3).
- Tavassoli M. Intravascular phagocytosis in the rabbit bone marrow: a possible fate of normal senescent red cells. *Brit J Haematol*. 1977;36(3):323-326.
- Travlos GS. Normal structure, functions, and histology of the bone marrow. *Toxicol Pathol*. 2006;34:548-565.
- Yong K, Khwaja A. Leucocyte cellular adhesion molecules. *Blood Rev*. 1990;4(4):211-225.

Além das referências citadas no texto recomendamos:

- Alberts B. et al. Cell junctions, cell adhesion and the extracellular matrix. In: _____. *Molecular biology of the cell*. 3ª ed. New York: Garland, 1994. p. 949-1009.
- Arai F, Hirao A, Suda T. Regulation of hematopoiesis and its interaction with stem cell niches. *Int J Hematol*. 2005;82(5):371-376.
- Bentley SA. et al. Connective tissue elements in rat bone marrow: Immunofluorescent visualization of the hematopoietic microenvironment. *J Histochem Cytochem*. 1984;32(1):114-116.
- Conget P, Minguell J. IL-3 increases surface proteoglycans synthesis in haemopoietic progenitors and their adhesiveness to the heparin-binding domain of fibronectina. *Br J Haematol*. 1995;89:1-7.
- Corselli M, Chin CJ, Parekh C, Sahaghian A, Wang W, Ge S et al. Perivascular support of human hematopoietic stem/progenitor cells. *Blood*. 2013;121:2891-2901.

- Drzeniak Z et al. Heparan sulfate proteoglycan expression is induced during early erythroid differentiation of multipotent hemopoietic stem cells. *Blood*. 1999;93(9):2884-2897.
- Fernández M, Minguell J. The role of collagen in hematopoiesis. *Braz J Med Biol Res*. 1996;29(9):1201-1207.
- Giet O et al. Increased binding and defective migration across fibronectin of cycling hemopoietic progenitor cells. *Blood*. 2002;99(6):2023-2031.
- Gordon MY. Extracellular matrix of the marrow microenvironment. *Br J Haematol*. 1988;70:1-4.
- Greenbaum AM, Revollo LD, Woloszynek JR, Civitelli R, Link DC. N-cadherin in osteolineage cells is not required for maintenance of hematopoietic stem cells. *Blood*. 2012;120(2):295-302.
- Gupta P et al. Structurally specific heparan sulfates support primitive human hematopoiesis by formation of a multimolecular stem cell niche. *Blood*, 1996;92(12):4641-4651.
- Kiel MJ, Yilmaz OH, Iwashita T, Yilmaz OH, Terhorst C, Morrison SJ. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells. *Cell*. 2005;121(7):1109-1121.
- Kolset SO, Gallagher JT. Proteoglycans in haemopoietic cells. *Biochem Biophys Acta*. 1990;1032:191-211.
- Kresse H, Schönherr E. Proteoglycans of the extracellular matrix and growth control. *J Cell Physiol*. 2001;189:266-274.
- Mayack SR, Wagers AJ. Osteolineage niche cells initiate hematopoietic stem cell mobilization. *Blood*. 2008;112(3):519-531.
- Mayani H, Guilbert LJ, Janowska-Wieczorek A. Biology of the hematopoietic microenvironment. *Eur J Haematol*. Copenhagen 1992;49:225-233.
- Metcalf D. The hemopoietic regulators: an embarrassment of riches. *Bioessays*. 1992;14:799-805.
- Nardi NB, Alfonso ZZC. The hematopoietic stroma. *Braz J Med Biol Res*. 1999;32(5):601-609.
- Nilsson SK. Spatial localization of transplanted hemopoietic stem cells: inferences for the localization of stem cell niches. *Blood*. 2001;97(8):2293-2299.
- Oguri K et al. Isolation, characterization, and localization of glycosaminoglycans in rabbit bone marrow. *Blood*. 1987;70(2):501-510.
- Ploemacher RE, Mayen AE, De Koning AE, Krenacs T, Rosendaal M, Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells*. 1978;4(1-2):7-25.
- Sapozhnikov A, Pewzner-Jung Y, Kalchenko V, Krauthgamer R, Shachar I, Jung S. Perivascular clusters of dendritic cells provide critical survival signals to B cells in bone marrow niches. *Nature Immunology*. 2008;9(4):388-395.
- Sherman L et al. Hyaluronate receptors: key players in growth, differentiation, migration and tumor progression. *Curr Opin Cell Biol*. 1994;6:726-733.
- Siczikowski M. Binding of primitive hemopoietic progenitor cells to marrow stromal cells involves heparan sulfate. *Blood*. 1992;80(4):912-919.
- Sponcer E et al. Regulation of haemopoiesis in long term bone marrow cultures. IV glycosaminoglycans synthesis and the stimulation of haemopoiesis by xylosides. *J Cell Biol*. 1983;96:510-515.
- Tavassoli M, Minguell J. Homing of hemopoietic progenitor cells to the marrow. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1991;196(4):367-373.
- Weinstein R, Riordan MA, Wenc K, Kreczko S, Zhou M, Dainiak N. Dual role of fibronectin in hematopoietic differentiation. *Blood*. 1988;73:111.
- Wickramasinghe SN, Bain BJ. Pathology of the marrow: general considerations. In: Symmers W. *Systemic pathology*, vol.2, 3^a. ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1986.
- Wilson A, Trumpp A. Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches. *Nature reviews. Immunology*. 2006;6(2):93-106.
- Xie Y, Yin T, Wiegand W, et al. Detection of functional haematopoietic stem cell niche using real-time imaging. *Nature*. 2009;457(7225):97-101.

Zhang J, Niu C, Ye L, et al. Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size. *Nature*. 2003;425(6960):836-841.

Zhao Y, Lin Y, Zhan Y et al. Murine hematopoietic stem cell characterization and its regulation in BM transplantation. *Blood*. 2000;96:3016-3022.

CAPÍTULO 4

HISTOFISIOLOGIA ESPLÊNICA

José Guilherme Xavier

LISTA DE ABREVIATURAS

PALS: Bainha linfocitária periarteriolar. (*Periarteriolar Lymphoid Sheath*)

interdigitantes (IDCs)

MHC-II+: Antígenos maior de histocompatibilidade II (*Major Major Histocompatibility*)

CAP: Cápsula esplênica

TNF: Fator de necrose tumora (*Tumor necrosis factor*)

IDC: Célula interdigitante

DAB: Diaminobenzidina

FDCs: Células foliculares dendríticas

SIRP α : Proteína alfa reguladora de sinal

4.1 ASPECTOS DA HISTOFISIOLOGIA ESPLÊNICA

O baço exibe algumas características que o tornam único dentro do organismo como um todo, pois apresenta-se como uma estrutura híbrida, relacionando-se aos sistemas linfo-hemopoético e circulatório. Como um órgão linfoide secundário, grupo do qual fazem parte também os linfonodos e os tecidos linfoides associados às mucosas, compartilha a capacidade de construir localmente uma resposta imunitária, apresentando, para tanto, uma população linfoide representativa, de componentes da imunidade inata e adaptativa, dispostos estrategicamente ao longo de sua extensão. No que tange ao sistema circulatório, ocupa uma posição central na circulação esplênica, funcionando como uma espécie de filtro, comprometido com a retirada de eritrócitos senescentes e com a reciclagem de ferro, exibindo em paralelo uma função específica na defesa imune contra antígenos carregados por via hematogena. A complexidade estrutural aliada à diversidade filogênica contribuíram para o relativo desconhecimento da histofisiologia do tecido até os dias de hoje. Em sequência, abordaremos a evolução histórica da compreensão do baço e suas principais características histofisiológicas, com especial referência à sua participação na biologia hemopoética.

4.2 O BAÇO, ÓRGÃO ENIGMÁTICO

Em 1706, sir Richard Blackmore publicou uma dissertação crítica acerca da natureza e cura da cólica e da melancolia, questionando, entre outras coisas, a utilidade do baço. Na verdade, essa discussão já atravessara séculos. O próprio termo “*spleen*” linguisticamente relaciona-se a melancolia em francês. Erisistrato médico alexandrino, fundador da anatomia, atraído pela simetria, sugerira que o baço contrabalançava, fisicamente, o fígado. Essa seria uma explicação para a sua existência, já que, ao contrário de outras vísceras, como os rins, o estômago, o fígado, o coração e os pulmões, vísceras historicamente relacionadas à descarga de urina, quimo, bile, sangue e ar,

respectivamente, o baço parecia não ter nenhuma comunicação com outras estruturas, constituindo-se em um órgão cego. Até mesmo o cérebro era compreendido, pois drenava pelo nariz. Tal perplexidade perdurou até os estudos de Galeno, que identificou uma pequena comunicação gastrolíenial, relacionando o baço ao aparelho digestivo, visão que perdurou por mais de 1400 anos. Essa evidência só foi refutada por Vesalius, que demonstrou a inexistência de tal comunicação, reconduzindo o baço à condição de órgão enigmático. Apenas no século XVI o estudo de anatomia esplênica apresentou novidades, graças a Malpighi, que descreveu a presença da polpa vermelha e da polpa branca, esta última caracterizada pelos folículos, que lhe pareciam ácinos de glândulas endócrinas. Porém, na ausência de ductos excretórios, tais estruturas foram tidas como secretórias para a circulação sanguínea. Já no século XIX, Billroth dividiu a polpa vermelha em seios venosos e cordões linfocitários, sendo posteriormente caracterizada sua atividade de reservatório sanguíneo por um cirurgião estadunidense, Benjamin Rush. Há 140 anos, von Koliker, autor do primeiro livro de Histologia, caracterizou a hemocaterese esplênica, considerando-a, apesar da forte oposição de cientistas, dentre eles Rudolph Virchow, como um evento fisiológico. A última das funções centrais esplênicas a ser identificada foi a imunitária. Em 1975, Veerman & van Ewijk realizaram uma descrição detalhada da polpa branca do baço de ratos, dividindo-a em três compartimentos: a bainha linfocitária periarteriolar (PALS), intimamente associada a ramificações da artéria esplênica, os folículos linfóides, localizados na periferia da PALS, e a zona marginal, circundando ambas as estruturas.

4.3 FILOGÊNESE ESPLÊNICA

Em termos filogenéticos, o baço é uma estrutura exclusiva de vertebrados, sendo o primeiro tecido análogo a uma condensação linfomieloide encontrada no intestino de vertebrados primitivos, os ciclóstomos, como a lampréia. Também nesses animais surgem as primeiras formas de eritrócitos, sugerindo, desde há muito, uma relação entre esses elementos. A primeira aparição do baço como órgão isolado ocorre em peixes ósseos. Estruturalmente o compartimento esplênico primordial é a polpa vermelha, presente desde os peixes. A colonização linfóide esplênica é um evento posterior, estabelecendo-se inicialmente no entorno arterial, seguindo-se evolutivamente a organização de folículos linfóides, bainha linfocitária periarteriolar e centros germinativos. Os mecanismos moleculares envolvidos nessa organização ainda são desconhecidos. Apesar das diferenças no sistema imune entre os vertebrados, a organização histológica esplênica e sua participação na filtração sanguínea mantiveram-se preservadas, desde peixes, passando por anfíbios, répteis, aves e mamíferos. Nesse sentido, o baço pode ser percebido como uma espécie de filtro discriminatório constituído por estruturas vasculares especializadas e um estroma reticular. Ambos funcionam como sítios de passagem de sangue, sobre o qual exercem sua atividade, com a contribuição, em especial, de diferentes populações macrofágicas, distinguindo-se macrófagos associados aos elipsoides, macrófagos da zona marginal e macrófagos metalofílicos, e de componentes linfóides, distribuídos em compartimentos de células B e T e uma zona mista de interação.

Em mamíferos, com base em referências morfológicas, de acordo com a espécie animal, o baço pode ser identificado com duas configurações, descritas como primitiva e arquetípica.

O **baço primitivo** é o predecessor do baço típico dos mamíferos, sendo encontrado em monotrêmatos, insetívoros e sirênios. Neste identificam-se a **cápsula**, dotada de colágeno, fibras elásticas e musculatura lisa, seguindo-se três camadas: a polpa branca, a polpa vermelha e, entre elas, a zona intermediária, rica em sinusoides. A **polpa branca** já apresenta a compartimentalização clássica, composta de bainha linfocitária periarteriolar (PALS) e folículos linfóides. As arteríolas originárias da polpa branca comunicam-se diretamente com as vênulas, tanto na zona intermediária quanto na polpa vermelha, constituindo uma **circulação fechada**. Na **polpa vermelha** são observados os sinusoides venosos e os **cordões esplênicos**, nos quais o fluxo sanguíneo é lento. A atividade eritropoética é mantida e, em ornitorrincos, predominante sobre a medular.

Nos demais mamíferos evidencia-se o **baço arquetípico**, com a presença da **zona marginal na polpa branca**, topograficamente equivalente à zona intermediária do baço primitivo. Nessas espécies identifica-se um espaço vascular distinto, o seio marginal. Várias arteríolas correm externamente a partir das artérias centrais na polpa branca, formando capilares terminais que se encerram na zona marginal ou no seio marginal, enquanto outras adentram a polpa vermelha liberando o sangue na trama reticular dos cordões esplênicos, drenando para as vênulas da polpa.

Alguns autores preferem categorizar o baço de acordo com as características funcionais predominantes, destacando as atividades de "armazenamento sanguíneo" e de imunidade. Assim, referem o "**baço de armazenamento**", dotado de maiores dimensões e importante musculatura lisa, prestando-se particularmente ao armazenamento de sangue, presente em equídeos, cervídeos, felídeos e pinípedes. Em contrapartida, em algumas espécies o elemento de

destaque no tecido esplênico é o linfoide, tipificando o chamado "**baço defensivo**", com exuberante polpa branca. Neste as terminações abertas dos seios venosos representam uma via de fluxo sanguíneo de baixa resistência, presente em alguns primatas, inclusive o homem, lagomorfos, cobaias e ratos.

Por fim, em algumas espécies existe um equilíbrio entre as atividades de "armazenamento" e defesa, sendo referidos como baços de características intermediárias, conforme observado em suínos e ruminantes.

4.4 ONTOGÊNESE ESPLÊNICA

A ontogenia pode ser considerada um importante indicador de relações funcionais entre o estroma e o parênquima esplênico. A organogênese esplênica depende de interações complexas e sinalizações relacionando células mesenquimais, endoteliais e elementos hemopoéticos imigrantes, sendo o conhecimento acerca da circuitaria molecular envolvido no processo ainda rudimentar. Evidências sugerem que o baço é uma estrutura mesodérmica, derivada do mesênquima pancreático dorsal. Na espécie humana ele é identificado inicialmente na **11ª semana de gestação** a partir de suas células reticulares, formando espaços semelhantes a seios contendo células eritroides maduras com **células mielomonocíticas** esporádicas, constituindo a **polpa vermelha primitiva**. **Linfócitos** de pequenos a médios aparecem ao redor da 12ª a 13ª semana, mostrando-se pobremente arranjados na vizinhança das arteríolas. Entre a **15º e a 16º** semana de desenvolvimento inicia-se a separação entre áreas T e B, com ordenação progressiva do microambiente esplênico, constituindo-se a bainha periarteriolar primitiva, com a evidência inicial de células S-100+, MHC-II+, isto é, **células interdigitantes (IDCs)**, circundadas por linfócitos T. Especula-se uma possível atividade de IDCs na distribuição de linfócitos T, análoga à de células foliculares dendríticas, relatadas antecedendo e acompanhando o povoamento dos folículos pelos linfócitos B. Até o nascimento estabelecem-se os **folículos primários** e a **PALS** como compartimentos linfoides, sendo posterior a formação do **centro germinativo** e da **zona marginal**, ambos decorrentes da interação com componentes exógenos, resultado da atividade imunitária. Nos camundongos o primórdio esplênico aparece como um estreito tecido avermelhado no mesogástrio dorsal. Nesses territórios macrófagos imaturos podem ser observados previamente às células hemopoéticas. Entre o 16 e o 17º dia de prenhez os seios aparecem preenchidos por eritrócitos e reticulócitos. Os cordões esplênicos abrangem poucas células hemopoéticas, das linhagens granulocítica, linfocítica, eritroide, monocítica e megacariocítica. O volume esplênico estabiliza-se ao redor de 40 dias de idade.

4.5 A ÁRVORE VASCULAR

O baço, em um homem adulto, pesa cerca de 175 g, recebendo aproximadamente 5% do débito cardíaco via artéria esplênica. A cápsula e as trabéculas são constituintes fundamentais na organização esplênica, aparecendo como os principais sustentáculos de tecido conjuntivo do baço. Ambas as estruturas apresentam grande quantidade de **miofibroblastos** e de fibras **colagênicas, elásticas e nervosas** não mielinizadas. A **cápsula** é recoberta pelo mesotélio peritoneal, como uma camada única de células cubóides, frequentemente perdida em cortes histológicos.

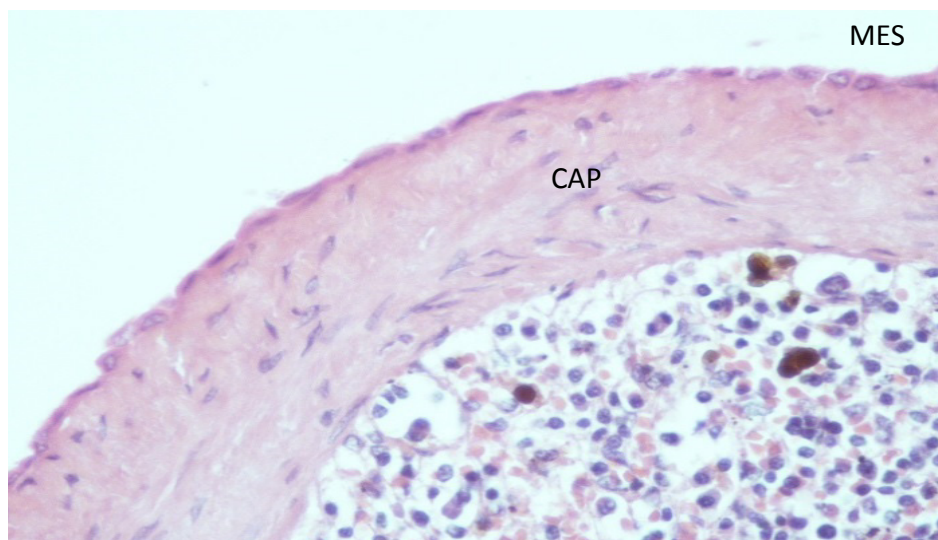


Figura 4.1 – A cápsula esplênica (CAP) apresenta espessura variável e revestimento por mesotélio (MES). Baço canino, HE, 40×. Fotomicrografia: Prof. Dr. José Guilherme Xavier, Instituto de Ciências da Saúde (Unip).

A organização vascular é a base para o entendimento da estrutura e função esplênicas. Se esboçarmos a trajetória do sangue ao longo do baço (Figura 4.2) podemos pensar em uma circulação aberta, iniciando-se na aferência arterial, seguindo para os sinusoides da zona marginal, seios venosos da polpa vermelha e veias eferentes. Assim, a entrada no tecido se dá pelo sistema arterial e a saída pelo sistema venoso, incluindo a drenagem linfática como via alternativa. A **artéria esplênica** ingressa no **hilo**, ramificando-se ao longo das trabéculas, acompanhada por elementos venosos e linfáticos, constituindo as **artérias trabeculares**. Ao deixarem as trabéculas, as ramificações arteriais são rapidamente envolvidas por linfócitos, especialmente T, que formam a **bainha linfocitária** periarteriolar (PALS). Durante seu trajeto, periodicamente, surgem **folículos linfóides**, constituídos principalmente por linfócitos B. O padrão de ramificação desses vasos varia dentre as espécies. Nos roedores alguns tributários das artérias centrais limitam-se à bainha linfocitária, outros terminam nos seios marginais ou nos cordões da polpa vermelha, drenando para os seios venosos. Algumas ramificações alcançam a periferia das bainhas, curvando-se em sequência, acompanhando o perímetro das zonas marginais e formando o seio marginal, que funciona como uma interface entre a polpa branca e a vermelha. Na espécie humana os ramos arteriais menores desaguam na zona perifolicular, território situado entre as porções interna e externa da zona marginal, com algumas delas exibindo um espessamento terminal, constituído por macrófagos e células reticulares, denominados **elipsoides** (Figura 4.5). Estes são segmentos capilares especializados encontrados no baço do homem e de alguns mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes ósseos, estando ausentes em camundongos, ratos e coelhos. Estudos clássicos demonstraram a participação dos elipsoides como uma espécie de filtro de substâncias endógenas e exógenas presentes no sangue, como complexos imunes, fungos e bactérias. Evidenciou-se, em mustelídeos, a partir da inoculação intracardiaca de complexos imunes, a retenção destes complexos nos elipsoides em minutos. Em espécies desprovidas de elipsoides, os complexos imunes são capturados na zona marginal com migração posterior para os folículos linfóides. Seguem-se aos elipsoides os capilares da polpa vermelha, que drenam para os seios ou sinusoides venosos, posicionados entre os cordões esplênicos.

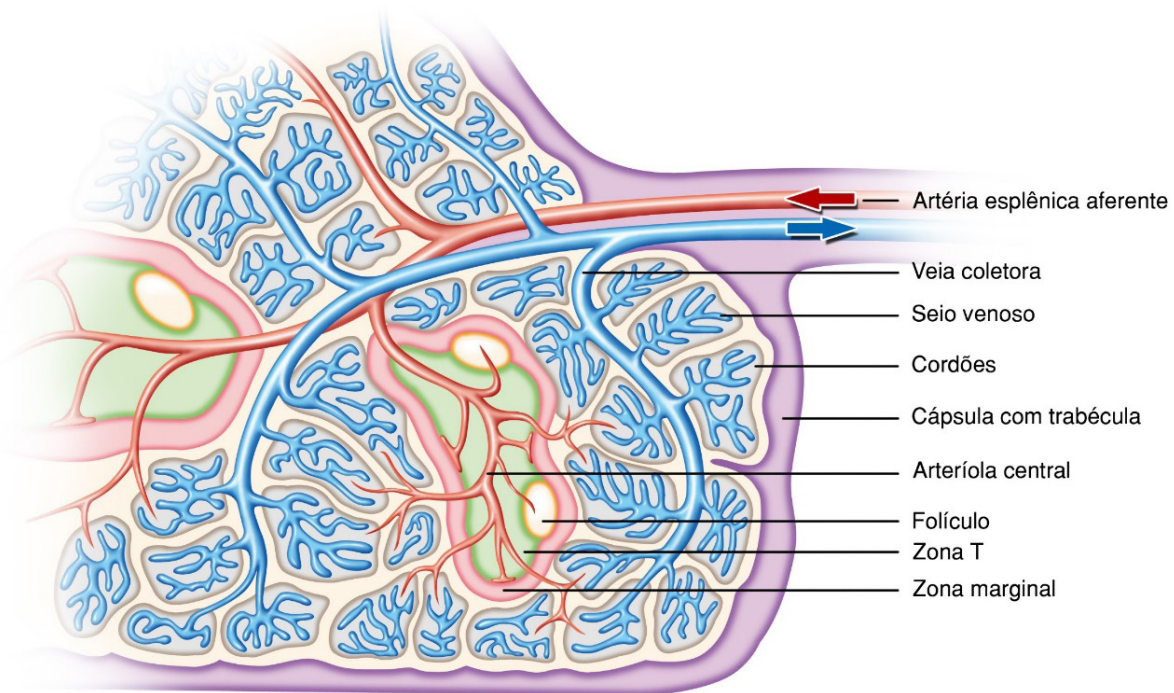


Figura 4.2 – Desenho esquemático de corte longitudinal do baço. A artéria aferente ramifica-se em arteríolas, as quais penetram pela polpa branca; posteriormente, adentram a polpa vermelha zonas de células T (também denominadas bainha linfóide periarteriolar PALS – *periarteriolar lymphoid sheath*). As arteríolas terminam nos cordões da polpa vermelha, os quais, por sua vez, confluem para os sinusoides, que são coletados pela veia esplênica. Adaptado de Mebius & Kraal, 2005.

4.6 POLPA VERMELHA

Na espécie humana a polpa vermelha corresponde a aproximadamente **75% do volume** esplênico, cabendo aos sinusoides cerca de 30% desse total, com pequena variação estrutural dentre as espécies, destacando-se a ausência de contratilidade esplênica em humanos, o que diminui sua atividade como "reservatório" de sangue. A **arquite-**

tura esplênica possibilita fluxo lento na polpa vermelha e no seio marginal da polpa branca, permitindo um íntimo e prolongado contato entre antígenos e fagócitos, contribuindo para a fagocitose de antígenos pobremente opsonizados. Os seios são separados por cordões celulares, os cordões da polpa, anteriormente denominados cordões de Billroth. Nos cordões da polpa vermelha, a partir de um arcabouço reticular, distribuem-se durante o **período fetal**, macrófagos, megacariócitos, granulócitos, plasmócitos, linfócitos B e T e plaquetas, correspondendo a áreas não filtrantes esplênicas, apresentando espessura variável. Nesses territórios frequentemente se estabelecem nichos delimitados por processos originários de células reticulares.

O microambiente esplênico está alicerçado na distribuição de células não linfóides, destacando-se dois grandes grupos: as células reticulares fibroblásticas/células endoteliais, derivadas de precursores locais, e os fagócitos mononucleares, derivados de precursores medulares. Ambos os grupos são heterogêneos, apresentando especificações morfofuncionais de acordo com a sua localização. Os **seios** ou **sinusoides venosos** (Figura 4.3) são delimitados, na maioria das espécies, por células endoteliais, enquanto em primatas, incluindo a espécie humana, essa delimitação deve-se a células alongadas, denominadas **células litorais**, de núcleo clivado, citoplasma rico em vesículas pinocitóticas e lisossomos, apoiadas sobre uma membrana basal descontínua, dotada de poros. No interior dessas células é frequente a presença de material fagocitado, incluindo hemácias, leucócitos, hemossiderina ou *debris*. Embora inicialmente compreendida como uma célula endotelial, o perfil de expressão de moléculas de superfície indicou uma diferença entre elas, sugerindo a atuação das células litorais no controle da população eritroide. A queda na expressão de CD47, observada em eritrócitos senescentes, aparentemente funciona como um sinal para a fagocitose na célula litoral, desencadeando a destruição do eritrócito. A ativação dessas células leva à aquisição de um fenótipo contrátil, potencialmente envolvido na liberação de sangue armazenado no baço. Esse evento é possível pela presença de miofibrilas que circundam células endoteliais ou litorais, exibindo filamentos semelhantes aos de actina e de miosina, que conferem contratilidade a esse território, sendo responsáveis, em particular, pela formação de fendas interendoteliais, importantes no trânsito de elementos dos cordões para os seios venosos. A passagem dos eritrócitos, dos cordões da polpa para os seios, ocorre através dessas fenestraçãoes. Eritrocitos senescentes exibem um enrijecimento de membrana, comprometendo sua passagem e facilitando sua fagocitose. Em associação, a contratilidade das fibrilas contribui para a retenção de eritrócitos no baço constituindo uma área de reserva eritroide, auxiliando na função cardíaca por reduzir a viscosidade sanguínea.

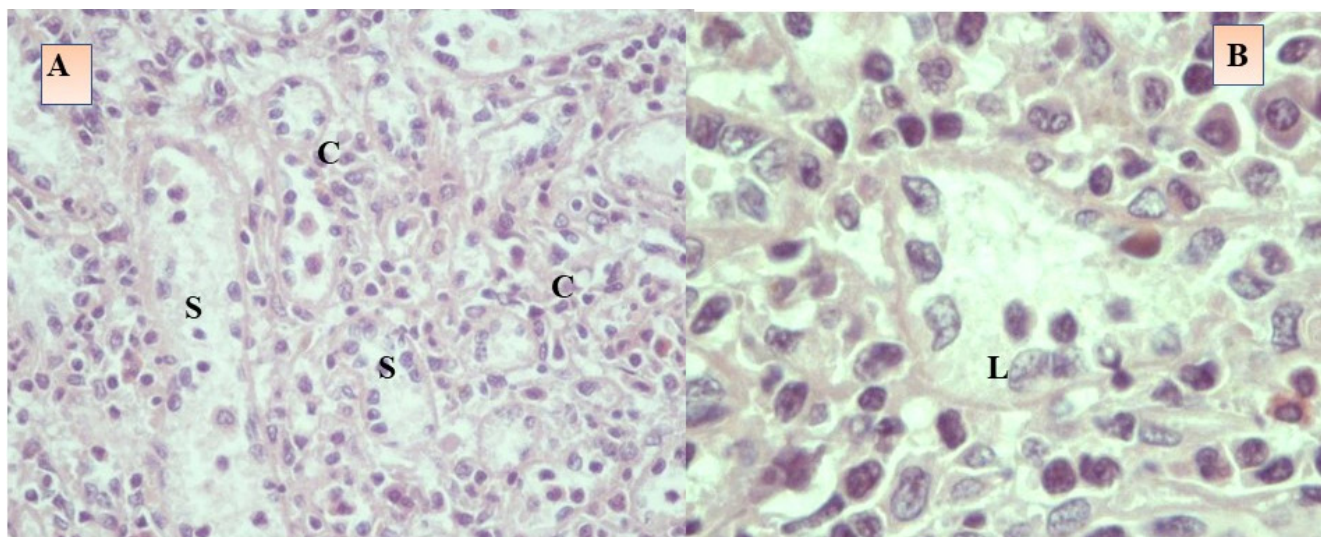


Figura 4.3 – (A) Polpa vermelha esplênica apresentando seios venosos (S) e cordões da polpa vermelha (C). Baço murino, HE, 40×. (B) Detalhe de polpa vermelha evidenciando seio venoso delimitado por células litorais (L), com núcleo alongado e eventual clivagem. Baço murino, HE, 100×. Fotomicrografia: Prof. Dr. José Guilherme Xavier, Departamento de Patologia, (Unip).

O arcabouço reticular da polpa vermelha aparece em continuidade com o da zona marginal. As células reticulares fibroblásticas e as células endoteliais formam uma rede tridimensional celular associada à MEC, que interage com células imunocompetentes, particularmente via integrinas. A adesão célula/célula mediada por integrinas aumenta a eficiência da célula T por diminuir a quantidade de peptídeo antigênico necessária para iniciar a lise e a afinidade do receptor antigênico a ele para o início da resposta.

Particularmente em **roedores** a polpa vermelha funciona adicionalmente como um território hemopoético, dando lugar à produção de elementos das linhagens eritroide, mieloide e megacariocítica.

Na polpa vermelha e na zona perifolicular esplênica de algumas espécies, conforme referido anteriormente, podem ser identificados **cordões macrofágicos** envolvendo capilares arteriais, também conhecidos como elipsoides, particularmente proeminentes em cães e gatos, sendo mais delicados em humanos, possivelmente atuando como um filtro de partículas (Figuras 4.4 e 4.5).

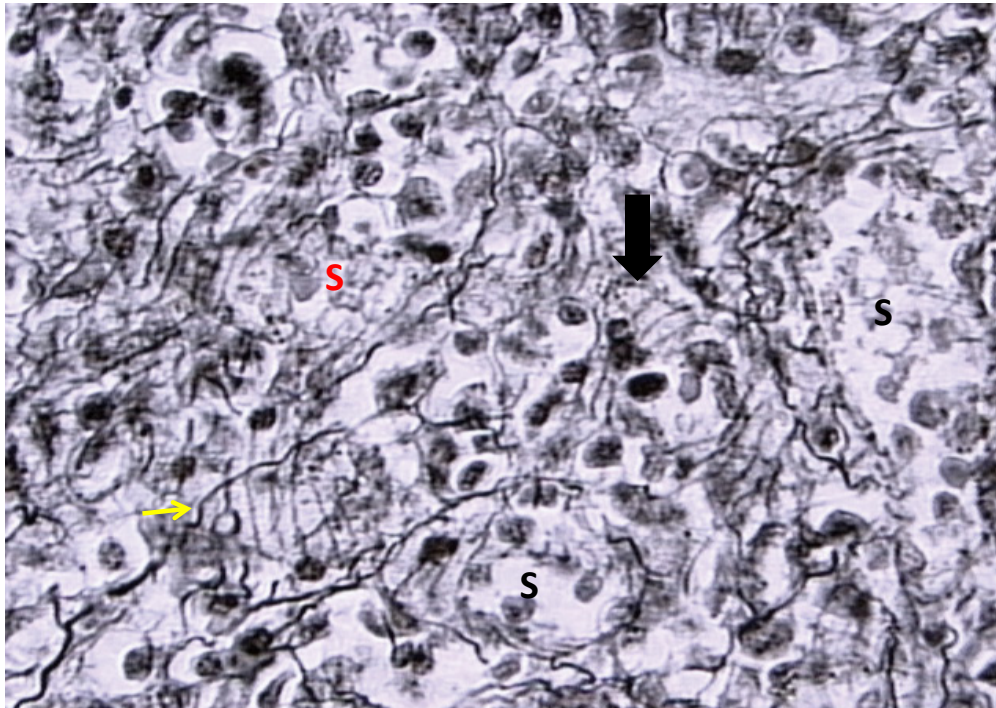


Figura 4.4 – Detalhe da polpa vermelha esplênica evidenciando a organização da trama reticular, identificando-se as fibras reticulares dispostas em arco em paredes vasculares (seta) e os espaços sinusais (S). Baço canino, reticulina, 100×. Fotomicrografia: Prof. Dr. José Guilherme Xavier, Instituto de Ciências da Saúde, Unip.

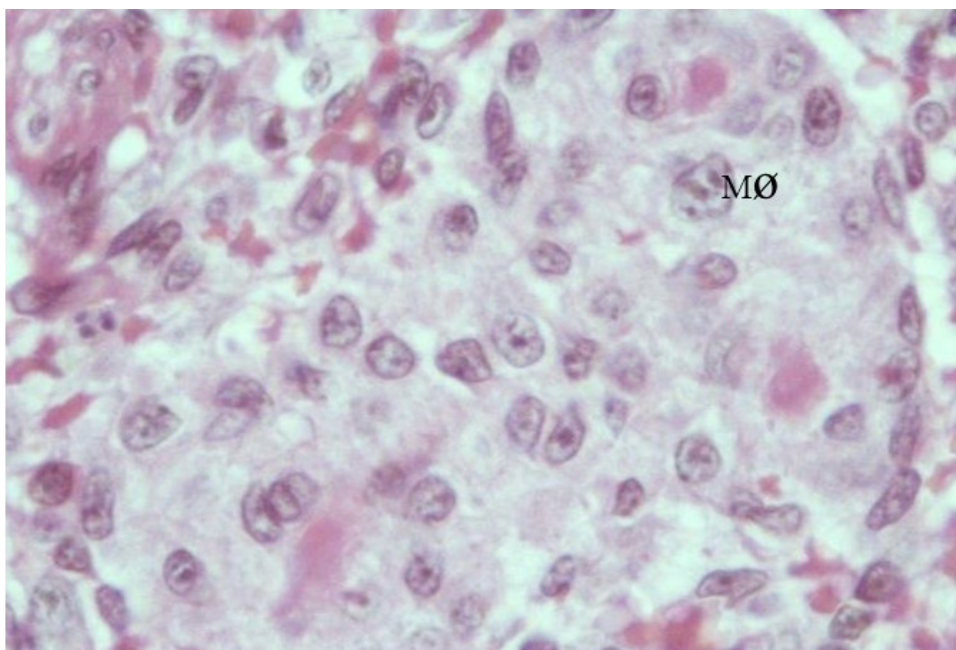


Figura 4.5 – Fotomicrografia de corte histológico de baço. Detalhe de elipsoide evidenciando densa população macrofágica (**MØ**) local. Baço canino, HE, 100× Fotomicrografia: Prof. Dr. José Guilherme Xavier, Instituto de Ciências da Saúde, Unip.

De forma geral, pode-se compreender esse microambiente como adequado à atividade linfocitária, relacionada a migração, encontro com o antígeno, interação, proliferação, diferenciação e resposta imune efetiva.

4.7 POLPA BRANCA

A **polpa branca** esplênica (Figura 4.6) corresponde ao território linfóide local, exibindo uma compartimentalização estratégica entre áreas B e T, estabelecidas por meio da produção de quimiocinas locais, que atraem populações linfocitárias distintas. A linfotóxina e o TNF controlam a expressão dessas quimiocinas.

4.7.1 BAINHA LINFOCITÁRIA PERIATERIOLAR

A zona que concentra células T é denominada **bainha linfocitária periarteriolar (PALS)**, permitindo a interação entre linfócitos T, células dendríticas e linfócitos B em trânsito. As quimiocinas CCL19 e CCL 21 estão envolvidas na atração a linfócitos T e células dendríticas para esse território. Em geral essa região é menos evidente no homem, organizando-se uma borda periarteriolar de linfócitos T relativamente pequena. Um dos constituintes estromais mais relevantes da PALS é a célula interdigitante (IDC), integrante de uma família de células que agrega células veladas, **células de Langerhans** e células dendríticas, derivadas de um precursor medular comum. Apresenta alta taxa de renovação e grande capacidade de apresentação antigênica a linfócitos T, sendo muito mais efetiva nessa função do que os macrófagos clássicos, especialmente em respostas dependentes de linfócitos T. Ao microscópio óptico as IDCs são de difícil visualização, devido ao seu núcleo pálido e irregular e citoplasma fracamente acidofílico. Na microscopia eletrônica aparecem como células de formato irregular, dotadas de projeções citoplasmáticas, núcleo ovalado ou alongado, apresentando pouca heterocromatina e eventual denteamento; pequena quantidade de fagossomos; retículo endoplasmático granular escasso e retículo liso abundante. Expressam proteína S-100, MHC classe I e II, CD11a, b, c, DEC-205, coestimulador B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), CD40, CD44, CD54, CD58. Durante sua maturação passam por três estágios principais. Inicialmente apresentam a maior parte de suas moléculas de classe II intracelularmente, em lisossomos. Posteriormente, tais moléculas deslocam-se para vesículas não lisossomais, até alcançarem a maturação completa, condição em que assumem seu posicionamento na membrana plasmática – modificação fundamental para a eficácia de sua atividade apresentadora.

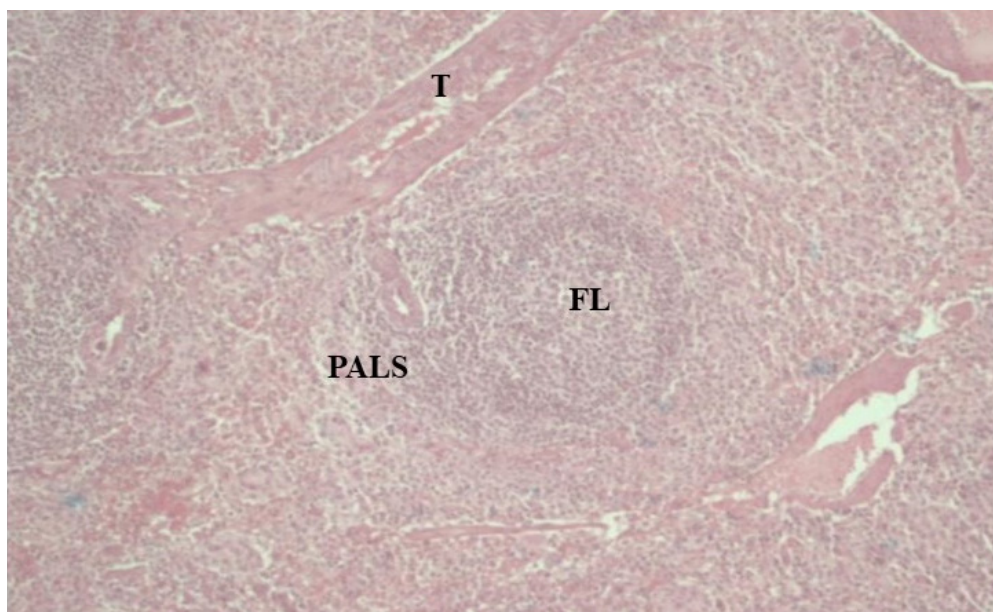


Figura 4.6 – Visão panorâmica da polpa branca esplênica, observando-se trabécula (T), da qual emergem ramos vasculares arteriais, bainha linfocitária periarteriolar (PALS) e folículos linfóides (FL). Baço canino, HE, 10×. Fotomicrografia: Prof. Dr. José Guilherme Xavier, Instituto de Ciências da Saúde, Unip.

4.8 FOLÍCULOS LINFOIDES

Os **folículos linfóides** são acúmulos ovoides ou esféricos de linfócitos, sendo designados como primários ou secundários. Os primeiros caracterizam-se pela agregação de pequenos linfócitos, enquanto os últimos associam-se à existência de um centro germinativo (Figuras 4.7 e 4.8) em sua porção central. Periféricamente, ao centro do folículo secundário, observa-se um halo de linfócitos em geral pequenos, caracterizando a **zona do manto** ou

corona linfoide. Assim, os linfócitos do folículo primário e da zona do manto possuem núcleo pequeno, hipercromático, ovoide e irregular e citoplasma escasso, sendo as células da porção mais externa da zona do manto discretamente maiores.

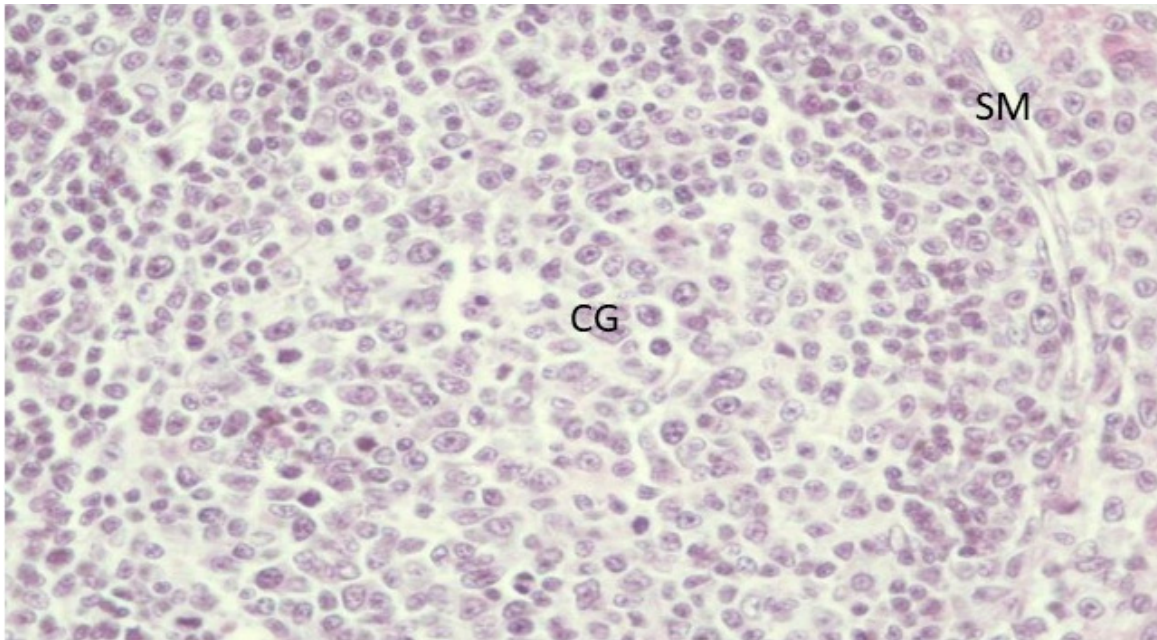


Figura 4.7 – Detalhe de polpa branca esplênica, com destaque para folículo linfoide exibindo o predomínio de células blásticas ao centro (CG). Na periferia da área branca identifica-se canal delgado, o seio marginal (SM). Baço murino, HE, 40×. Fotomicrografia: Prof. Dr. José Guilherme Xavier, Instituto de Ciências da Saúde, Unip.

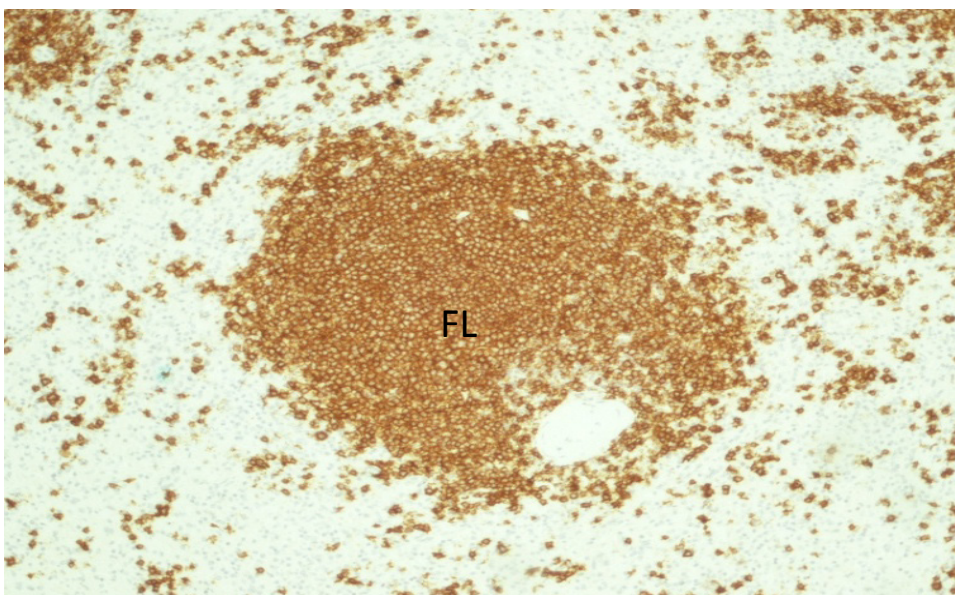


Figura 4.8 – Densa agregação nodular linfoide CD20+ em polpa branca correspondendo a folículo linfoide (FL). Baço humano, DAB (diaminobenzidina), 10×. Fotomicrografia: Prof. Dr. José Guilherme Xavier, Instituto de Ciências da Saúde, Unip.

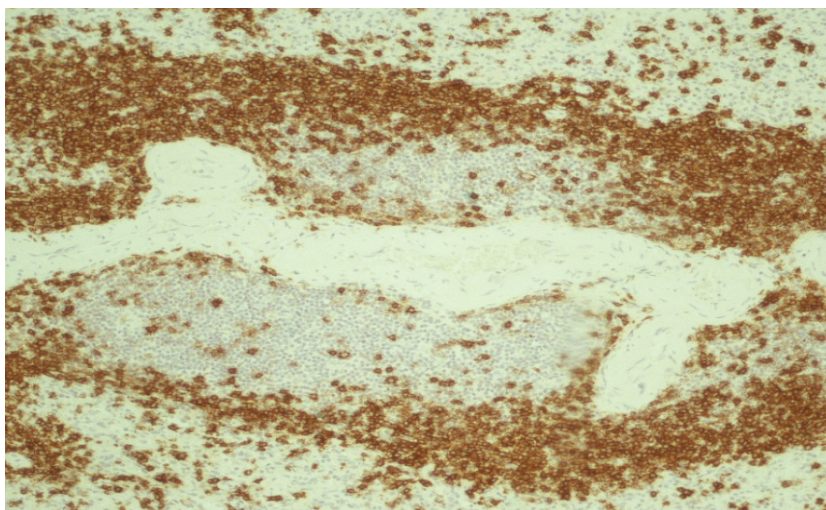


Figura 4.9 – População linfocitária B CD20+, em território perivascular, intercalada com agregados de células T. Baço humano, DAB, 10×. Fotomicrografia: Prof. Dr. José Guilherme Xavier, Departamento de Patologia, Unip.

Os **centros germinativos** são áreas histologicamente definidas no interior dos folículos (Figuras 4.8 e 4.9) em órgãos linfoides periféricos de mamíferos e aves, de caráter transitório e de natureza reacional, desenvolvendo-se em sequência a uma estimulação antigênica, constituindo-se em sítios de expansão clonal de linfócitos B, seu componente principal. No centro germinativo é identificada uma grande concentração de células jovens que formam as zonas escura e clara do centro germinativo. Na primeira predominam **centroblastos** submetidos à mutação somática dos genes que codificam para as regiões variáveis das imunoglobulinas, ocorrendo, em sequência, sua migração para a zona clara. Os centroblastos são células grandes, medindo entre 9 e 18 μm , dotadas de núcleo grande irregular, de aspecto vesicular, contendo de 1 a 3 nucléolos pequenos periféricos e citoplasma estreito e basofílico. São células proliferativas no centro germinativo, sendo frequente a verificação de figuras de mitose nessas áreas. Na zona clara predominam **centrócitos** e **células foliculares dendríticas (FDCs)** carreando complexos imunes, ocorrendo o “teste” de afinidade ao antígeno nesse local. Estudos morfológicos e experimentais situam os centrócitos como derivações de centroblastos, apresentando-se como células grandes ou médias, medindo de 8 a 15 μm , exibindo núcleo clivado com nucléolos marginais, possuindo citoplasma escasso. A ligação às FDCs é competitiva, persistindo no centro germinativo apenas os linfócitos com maior afinidade, os quais retornam à zona escura. Nesta zona, sofrem novas mutações até a seleção de uma população altamente específica de linfócitos àquele antígeno, sendo os elementos com baixa afinidade rapidamente eliminados por apoptose.

Em menor proporção no centro germinativo são identificados, células com núcleo médio, eventualmente com ausência de nucléolos e citoplasma basofílico diminuído. **Plasmócitos, imunoblastos** e pequenos linfócitos (provavelmente representando linfócitos T) podem aparecer localmente. Outro componente celular notório dos centros germinativos são os macrófagos, denominados “*tingible body macrophages*” (TBM). São células grandes, apresentando citoplasma abundante e contendo *debris* celulares fagocitados. O núcleo, de tamanho médio, é bastante visível. Sua presença em meio ao tecido linfóide denso determina o aparecimento de máculas claras ao microscópio óptico, configurando o aspecto de “céu-estrelado” ao tecido.

Os linfócitos T, embora presentes em pequeno número nessa região, são em geral células auxiliares, fundamentais na formação do centro germinativo, visto a inexistência deste em animais atímicos. A formação do centro germinativo inicia-se com a transferência do antígeno de uma FDC para um linfócito T específico, o qual realiza a internalização, o processamento e a reexpressão do peptídeo no contexto do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe II, ativando o linfócito T auxiliar e principiando a secreção de citocinas, essenciais para a reação. Os **linfócitos B** ativados aparecem em associação física com outros linfócitos (B e T), mononucleares e FDCs. **A ativação dos linfócitos B** é caracterizada por uma série de eventos metabólicos, bioquímicos e moleculares. Estes incluem o **aumento da concentração de cálcio**, a expressão do **proto-oncogene c-myc**, o **aumento do volume celular pelo incremento em suas organelas e a síntese de RNA**. Com estimulação subsequente e interação com uma variedade de fatores de crescimento, essas células progridem para a **fase S** do ciclo celular e proliferam. Essa sequência de eventos é denominada **transformação blástica**.

4.8.1 ZONA MARGINAL

A **zona marginal** (Figura 4.10) localiza-se estrategicamente entre a polpa branca e a vermelha, recebendo sangue de arteríolas terminais, que deságuam em um sistema sinusoidal, apresentando variações de acordo com a espécie considerada, sendo mais ampla em ratos, envolvendo toda a polpa branca, e mais restrita em humanos.

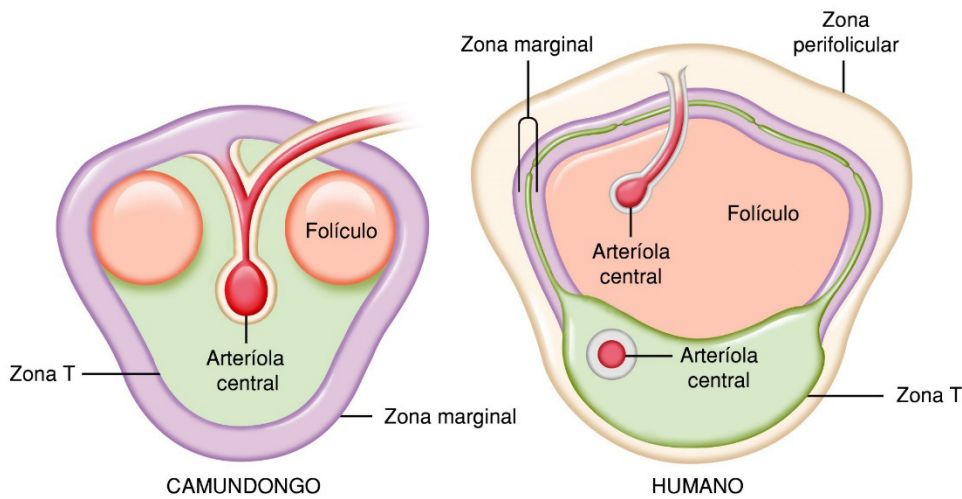


Figura 4.10 – Comparação da estrutura da polpa branca em roedores e primatas. As principais diferenças relacionam-se à zona marginal, que circunda a polpa branca. Distintamente de camundongos, em humanos existe a zona marginal dividida em interna e externa, circundada por uma grande zona perifolicular, na qual terminam alguns vasos envolvidos por macrófagos. Adaptado de Mebius & Kraal, 2005.

Os componentes fundamentais desse território são as células que revestem os seios, as quais se continuam ao revestimento endotelial das arteríolas aferentes, e os **fibroblastos** reticulares, que constituem o arcabouço local. A estes elementos somam-se as populações macrófagicas, compostas pelos macrófagos da zona marginal e pelos macrófagos metalofílicos, além de linfócitos B da zona marginal, linfócitos T, predominantemente de fenótipo auxiliar, e células apresentadoras de antígenos.

Ausentes em humanos, os seios marginais, estruturas identificadas no baço dos roedores, aparecem entremeados à PALS e aos folículos, separando os compartimentos da zona marginal, referidos como interno e externo. Em seu interior destacam-se os metalófilos marginais (células macrófagicas assim denominadas por sua afinidade pela prata), que participam da resposta a polissacarídeos neutros em animais jovens. Apresentam elevada expressão de **sialoadesina (CD169)**, potencialmente envolvida na eliminação de células apoptóticas e na migração linfocitária, contribuindo para sua adesão e retenção na zona marginal para subsequente ingresso na polpa branca. Considerando-se o frequente transtorno na glicosilação em células neoplásicas, os macrófagos metalofílicos poderiam também atuar na destruição dessas células.

Os **macrófagos** da zona marginal apresentam variações morfofuncionais de acordo com a espécie considerada. Assim, enquanto em humanos são em linhas gerais similares aos macrófagos da polpa vermelha, em ratos assemelham-se fenotipicamente aos metalófilos sinusais, expressando sialoadesina, e em camundongos exibem atividade prioritariamente direcionada à fagocitose a partir da expressão de moléculas detectoras de padrão. Também foi bem caracterizada a interação entre tais células e linfócitos B na zona marginal. Esses linfócitos são principalmente células que não recirculam, **IgM⁺IgD⁻**, especializadas na elaboração de respostas rápidas a antígenos carregados pelo sangue, surgindo como uma primeira linha de defesa local, sendo no homem restritos a territórios perifoliculares. Também células **IgM⁺IgD⁺** são observadas, porém em menor proporção, correspondendo a pequenos linfócitos B recirculantes. Uma parcela dessa população linfocitária apresenta características de célula de memória.

A região funciona como um local de entrada de linfócitos no baço a partir da corrente sanguínea, aparecendo acoplada ao seio marginal, atuando como um eficiente armazém e filtro de sangue. Os linfócitos que ingressam no baço a partir da circulação sanguínea progridem da zona marginal para o seio marginal, e deste avançam para a PALS e os folículos linfoides mediante estimulação antigênica. Na ausência desta retornam à circulação provavelmente via seio marginal. É importante ressaltar a existência de um trânsito bidirecional de células B envolvendo folículos e zona marginal, abarcando cerca de 20% da população linfocitária local, com diferenças funcionais de acordo com o sentido do fluxo. Assim, as células que caminham no sentido do folículo são mais alongadas e exi-

bem projeções de membrana, liberando antígenos captados a partir da circulação no microambiente folicular. Já os linfócitos B que seguem em sentido oposto, em decorrência da pobre expressão de **integrinas**, são em geral arrastados pelo fluxo sanguíneo em direção à polpa vermelha. A passagem pela zona marginal (Figura 4.11) pode ser rápida, como observado para eritrócitos e granulócitos, ou longa, como o sugerido para populações de **células B e T recirculantes e células dendríticas**. **Nos territórios de baixo fluxo, a zona marginal apresenta-se vocacionada para o desenvolvimento da resposta imune humoral** a agentes infecciosos circulantes, particularmente à resposta imune primária a antígenos pobremente imunogênicos presentes na corrente sanguínea. Potencializa esse processo a presença de linfócitos B IgM^+IgD^- equipados para a elaboração de uma resposta imune humoral rápida e geração de IgM precocemente após exposição a antígenos sanguíneos. Células análogas aparecem em outros locais, mas não em concentração semelhante. Caracteristicamente, após a ativação, as células B migram para os folículos ou para a PALS, levando o antígeno até as células foliculares dendríticas ou a linfócitos T e células interdigitantes, sendo os linfócitos B direcionados a locais plenos de sinalização proliferativa e de diferenciação. Merecem destaque os **linfócitos T auxiliares (CD4+)** e as **APCs**, participando na resposta a antígenos timo-dependentes e a produção de citocinas contra antígenos timo-independentes tipo 2, como alguns polissacarídeos capsulares bacterianos. Tal arranjo leva a localização desses antígenos em zona marginal, especificando geograficamente esse tipo de resposta. Após a esplenectomia a probabilidade de morte em decorrência de processos infecciosos cresce cerca de 100 vezes, principalmente como consequência da infecção por pneumococos, exemplo de antígenos timo-independentes tipo 2. É sabido que a resposta a esse tipo antigênico depende da preservação de tecido esplênico, em especial de linfócitos B presentes na zona marginal. A eliminação de macrófagos esplênicos diminui o afluxo de linfócitos B, população que só retorna ao normal com o repovoamento específico dos macrófagos da zona do manto.

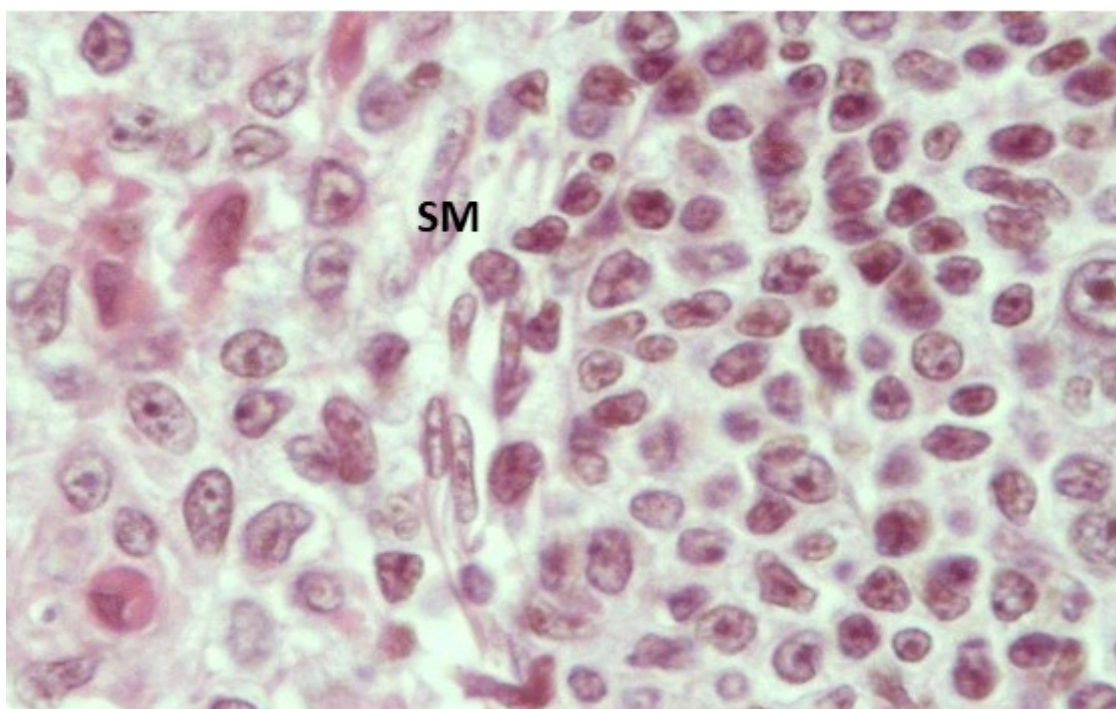


Figura 4.11 – Detalhe de transição entre tecido linfóide denso e zona marginal, separados pelo seio marginal (SM). Baço murino, HE, 100×. Fotomicrografia: Prof. Dr. José Guilherme Xavier, Instituto de Ciências da Saúde, Unip.

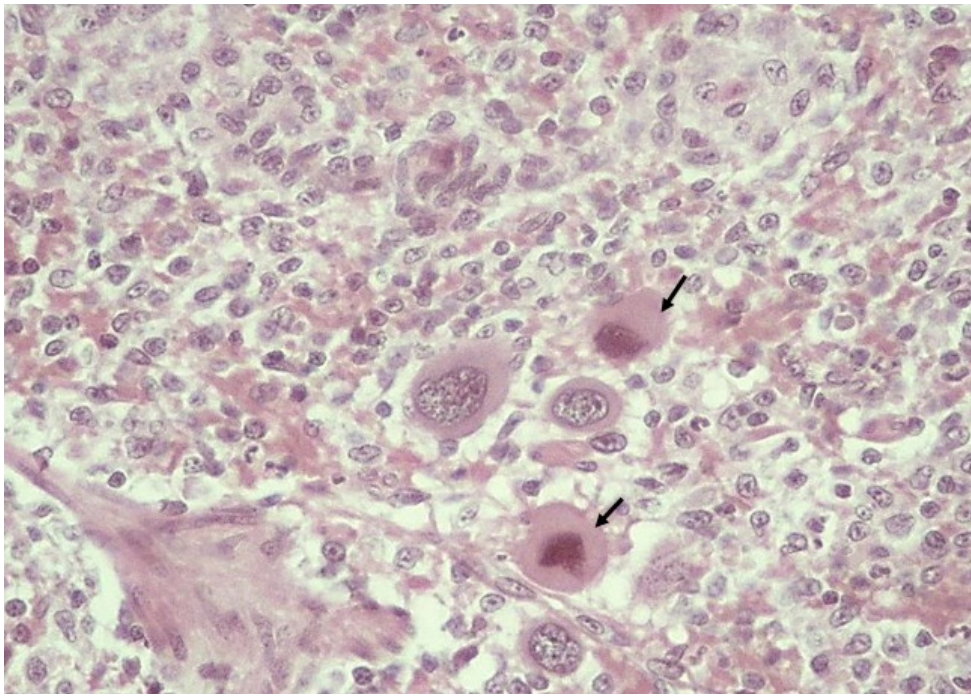


Figura 4.12 – Frequentes policariontes (setas) em seios venosos da polpa vermelha. Baço canino, HE, 40×. Zona perifolicular. Fotomicrografia: Prof. Dr. José Guilherme Xavier, Instituto de Ciências da Saúde, Unip.

No baço humano, entre a PALS e os folículos linfoides, identifica-se uma área de tecido reticular, a zona perifolicular, que compreende cerca de 8% do baço humano, de difícil caracterização em cortes corados pela hematoxilina-eosina. Nesse território evidencia-se um maior espaçamento entre as fibras reticulares do que aquele presente nos cordões da polpa vermelha, observando-se capilares ordinários e elipsoides, assim como um elevado número de leucócitos e hemácias.

4.9 FUNÇÕES

O baço não é um órgão vital, não sendo observadas consequências imediatas frente à sua retirada após traumatismo abdominal ou doença neoplásica. No entanto, desempenha uma pluralidade de atividades, podendo ser compreendido de diferentes formas. O imunologista diria que ele é um órgão linfóide secundário, o fisiologista provavelmente o definiria como um grande filtro sanguíneo, enquanto o hematologista destacaria sua atividade na **gênese e remoção de células** sanguíneas. De maneira geral, podemos referir as atividades esplênicas relacionadas à **imunidade** e à **homeostase sanguínea**.

4.9.1 FUNÇÃO IMUNE

É a função esplênica clássica, fundamentada na atividade de macrófagos, linfócitos T e linfócitos B. **No adulto, o baço vincula-se à produção e diferenciação de linfócitos B e T.** Além disso, recebe células linfocitárias recirculantes, centrais na construção de respostas imunes a partir de sua interação com antígenos e células apresentadoras, que são encaminhadas aos respectivos compartimentos em meio à polpa branca. Associam-se duas populações de monócitos, uma de células circulantes que, ao ingressar no tecido, diferencia-se em células dendríticas ou em macrófagos; outra **residente**, agregada em ninhos subcapsulares presentes na polpa vermelha que aumentam sua mobilidade após injúria miocárdica isquêmica, sendo capazes de ganhar a circulação e migrar até o parênquima lesionado, contribuindo para o **reparo local** e funcionando como uma população reparativa emergencial.

Em camundongos asplênicos desaparece a população de **linfócitos B1a**. Estes apresentam três funções principais: **produção de anticorpos naturais, disparo de respostas imunes independentes de T e diferenciação em plasmócitos IgA** na mucosa intestinal. Os anticorpos naturais são principalmente da classe IgM, ligando-se a vários antígenos com baixa afinidade e elevada avidéz, sendo importantes na limitação de infecções primárias e na facilitação na localização dos antígenos no baço, otimizando o disparo da resposta imune adaptativa. Atualmente surgem evidências da participação dos anticorpos naturais na proteção à aterosclerose e ao câncer.

Estima-se que cerca da metade da IgA de mucosa do trato entérico derive de **linfócitos B1a**. A IgA de mucosa desempenha um papel de destaque na homeostase entérica regulando o número e a diversidade bacteriana local e protegendo o organismo de uma expansão de populações bacterianas patogênicas. Em pacientes asplênicos esse processo é comprometido pela perda da população de linfócitos B1a.

Também pacientes esplenectomizados apresentam risco 10 a 20 vezes superior de desenvolverem septicemias, geralmente disparadas por bactérias encapsuladas, como *Streptococcus pneumoniae* (pneumococos), *Haemophilus influenzae* e *Neisseria meningitidis* (meningococos) em pacientes jovens.

Distúrbios semelhantes ocorrem em pacientes que sofrem de distúrbios metabólicos e hematológicos que cursam com a destruição do parênquima esplênico: **hipoesplenismo** ou **asplenia** funcional. As consequências mais severas referem-se à perda esplênica em neonatos. A incidência de asplenia congênita é baixa, com possível subestimação devido ao óbito precoce por quadro infeccioso nos primeiros meses de vida. Particularmente, a geração de linfócitos B de memória está relacionada ao microambiente esplênico, na zona marginal. Durante infecções sistêmicas, a resposta combinada de macrófagos e células B de memória na zona marginal pode eliminar bactérias que adentram o baço via seio marginal.

4.10 HOMEOSTASE SANGUÍNEA

A participação esplênica na homeostase sanguínea estende-se ao longo da vida do indivíduo, envolvendo desde a produção até o descarte de células sanguíneas. Durante a **vida intrauterina** o baço exibe importante atividade hemopoética, estando a eritropoese vinculada ao tecido, na espécie humana, até o quinto mês de desenvolvimento, atividade que pode retornar no indivíduo maduro em consequência a transtornos hemopoéticos medulares.

Em algumas espécies o tecido funciona também como um reservatório eritroide, como nos equinos, que podem estocar até cerca de 50% dos eritrócitos do corpo em sua polpa vermelha, em condição de repouso. A liberação dos eritrócitos do baço está sob controle do sistema simpático. A estimulação do nervo esplênico ou a administração de adrenalina determina a contração do órgão, propulsionando o sangue para a veia esplênica. A função do baço como reservatório, na espécie humana, está mais relacionada, em condições emergenciais, a monócitos jovens. As plaquetas são importantes carreadores de serotonina, útil na modulação da proliferação de linfócitos T e de células “*natural killer*”, explicitando uma relação entre esse neurotransmissor e a atividade imunitária.

Também no processo de destruição de eritrócitos anômalos a participação é relevante, envolvendo polpas branca e vermelha. Os macrófagos (Figura 4.13) removem em torno de 0,8% dos eritrócitos circulantes diariamente. O mecanismo envolvido nesse processo é ainda alvo de intensa investigação, não estando até o momento completamente esclarecido. À medida que envelhecem, os eritrócitos exibem progressiva redução em sua atividade metabólica, com remodelamento membranal e vesiculação, tornando-se menores e mais densos, caminhando para a chamada eriptose. A fagocitose desses elementos não dispara uma resposta inflamatória. Alguns mecanismos de ação são postulados para explicar a atuação macrofágica na destruição de eritrócitos.

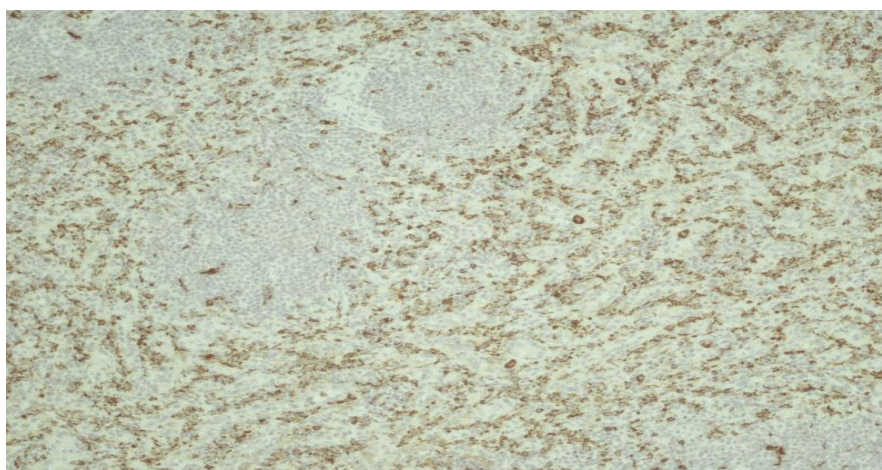


Figura 4.13 – Distribuição de macrófagos CD68+ (corados em castanho) em polpa vermelha. Baço humano, DAB (diaminobenzidina), 10×. Fotomicrografia: Prof. Dr. José Guilherme Xavier, Instituto de Ciências da Saúde, Unip.

Uma possibilidade estaria relacionada à ligação de anticorpos naturais à **banda 3**, uma proteína transmembranaral expressa em grande quantidade no eritrocitos. Em células senescentes, como resultado do dano oxidativo prolongado, os domínios de membrana tendem a se agregar, tornando-se alvo de anticorpos naturais, levando à ativação da via clássica do complemento e opsonização via **C3b**. Os macrófagos da polpa vermelha expressam **CR1** e **CR3**, possibilitando o reconhecimento dos eritrocitos opsonizados por **C3b**. Outra alternativa seria o reconhecimento via receptores de **fosfatidilserina**, expressos em macrófagos da polpa vermelha, como **Axl**, **Tim4** e **estabilina-2**. Em condições de normalidade a fosfatidilserina encontra-se na face interna da bicamada lipídica de membrana. Durante o processo apoptótico ocorre uma “flipagem” da molécula, tornando-a exposta na superfície externa da membrana, viabilizando interações com macrófagos da polpa vermelha. Um elemento adicional a ser considerado refere-se à ligação entre a **proteína alfa reguladora de sinal (SIRPa)** e a molécula **CD47**, funcionando como um forte sinal inibitório para a fagocitose. No entanto, com o envelhecimento do eritrocitos ocorre uma redução na expressão de **CD47**, enfraquecendo esse “bloqueio” fagocitário. Dados adicionais indicam a possibilidade de alterações conformacionais na molécula de **CD47** decorrentes do contato com eritrocitos senescentes, revertendo a sinalização, de anti-para pró-fagocítica. **CR1** de eritrocitos liga-se a partículas opsonizadas pelo complemento na circulação. Essas partículas são transportadas para o baço e o fígado, locais em que são removidas pelos macrófagos residentes, sem a fagocitose dos eritrocitos. A remoção eritroide associa-se à reciclagem de **ferro**, o qual, após a digestão da **hemoglobina**, é liberado ou estocado em **macrófagos esplênicos**. Também são eliminadas plaquetas danificadas ou senescentes e células apoptóticas.

O baço albergando cerca de um terço das plaquetas corpóreas mas não é, classicamente, considerado um órgão de armazenamento das mesmas. Continuamente elas são removidas da circulação e armazenadas ou destruídas por linfócitos esplênicos. Em condições como o hiperesplenismo e a esplenectomia, naturalmente são observadas trombocitopenia e discreta trombocitose, respectivamente. Macrófagos e outras populações estromais esplênicas encontram-se envolvidos na regulação da produção plaquetária.

A eliminação das células apoptóticas resulta na formação de células T reguladoras e anticorpos, desempenhando um papel importante na manutenção da tolerância periférica e modulação da resposta imune. Durante infecções sistêmicas os macrófagos esplênicos filtram bactérias, protegendo o hospedeiro frente ao risco de septicemias e contribuindo para a ativação de populações linfoides T e B da polpa branca. A interação entre os componentes da resposta imune inata e adaptativa ocorre no seio marginal, em camundongos, e na zona perifolicular, em humanos. Dentre as atividades anabólicas esplênicas, encontra-se ainda a produção de opsoninas, **properdina** e **tuftsin**.

BIBLIOGRAFIA SUGERIDA

- Arnon TI, Horton RM, Grigorova IL et al. Visualization of splenic marginal zone B cell shuttling and follicular B cell egress. *Nature* 2013;493:684-688.
- Brendolan A, Rosado MM, Carsetti R et al. Development and function of the mammalian spleen. *BioEssays* 2007;29:166-177.
- Cesta MF. Normal structure, function and histology of the spleen. *Toxicologic Pathology* 2006;34:455-465.
- Mebius RE, Kraal G. Structure and function of the spleen. *Nature Reviews Immunology* 2005;5:606-616.
- Ogembo JG, Milner DA, Mansfield KG et al. SIRPa/CD172a and FHOD1 are unique markers of litoral cells, a recently evolved major cell population of red pulp of human spleen. *Journal of Immunology* 2012;188:4496-4505.
- Periasamy P, Petvises S, O'Neill HC. Development of two distinct dendritic-like APCs in the context of splenic stroma. *Frontiers in Immunology* 2013;4:1-11.
- (SAIO et al., 1988)
- Sorby R, Wien TN, Husby G et al. Filter function and immune complex trapping in splenic ellipsoids. *Journal of Comparative Pathology* 2005;32:313-321.
- Steiniger B, Timphus EM, Barth PJ. The splenic marginal zone in humans and rodents: an enigmatic compartment and its inhabitants. *Histochemistry and Cell Biology* 2006; 126:641-648.
- Swirski FK, Nahrendorf M, Etzrodt M et al. Identification of splenic reservoir monocytes and their development to inflammatory sites, *Science* 2009;325:612-616.
- Tarantino G. Spleen: a new role for an old player? *World Journal of Gastroenterology* 2011;17:3776-3784.

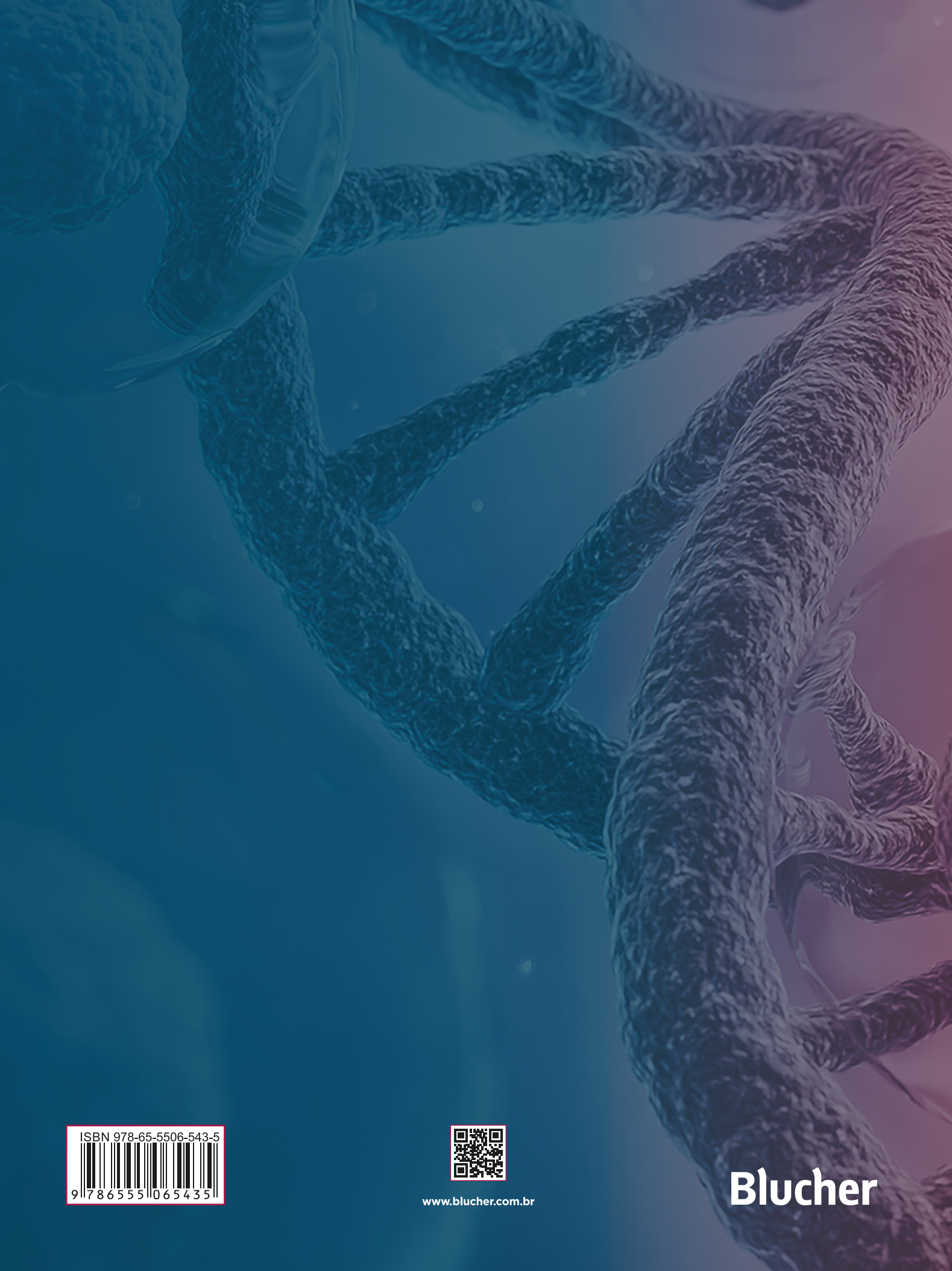
Tarantino G, Scalera A, Finelli C. Liver-spleen axis: intersection between immunity, infections and metabolism. *World Journal of Gastroenterology* 2013; 19:3534-3542.

(TARLINTON, 1998)

Timens H. The human spleen and the immune system: not just another lymphoid organ. *Research in Immunology* 1991;142: 316-320.

Van Krieken JHJM, Velde J. Normal histology of the human spleen. *American Journal of Surgical Pathology* 1988;12:777-785.

Weiss L. The spleen. In: Weiss L, Greep RD. *Histology*, 4^a. New York: Mc Graw-Hill Book Company; 1977; 545-573.



www.blucher.com.br

Blucher



Clique aqui e:

[VEJA NA LOJA](#)

Fundamentos de hematologia

Teoria & prática

Primavera Borelli

ISBN: 9786555065442

Páginas: 894

Tipo: eBook

Ano de Publicação: 2024
