ATLAS CITOLÓGICO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE CITOLOGIA CLÍNICA E LABORATORIAL DA ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO-SP

TEMA CITOLÓGICO:

LINFÓCITOS E SUAS ATIPIAS REACIONAIS

Autor: **Adriano Machado de Sousa**

Período do curso: **julho de 2011 a dezembro de 2012**

Endereço para correspondência:
Lambari-Minas Gerais
e-mail: adrianomachadosousa@yahoo.com.br/adrianohemato@hotmail.com
fone (35) 3271-1266

Os Linfócitos e suas Atipias Reacionais

1. **Generalidades**

Até cerca de 50 anos atrás a função dos linfócitos era quase que totalmente desconhecidas. Descrita por Hewson em 1774 e individualizada por Paul Erlich em 1879, essa célula teve o seu estudo incrementado a partir da década de 60 quando se descobriu ser ela a célula central do sistema imunológico.

Desde o início desses estudos, evidenciou-se a existência basicamente de duas populações linfocitárias:

a) O linfócito T com origem medular e marcação no timo e que está envolvido nos processos de imunidade celular e na regulação da síntese de anticorpos.

b) O linfócito B, que nas aves se desenvolvem em um órgão especializado chamados Bolsa de *Fabricius* (no homem os linfócitos B têm origem medular) e que participa apenas nos processos de imunidade, sendo o precursor da principal célula formadora de anticorpos do organismo: o ***plasmócito*.**

Mais recentemente uma terceira população de linfócitos veio a se juntar às duas primeiras:

c) A célula assassina natural ("natural killer" - NK), uma célula não T não B. No esfregaço sanguíneo essas células aparecem como grandes linfócitos granulares. Constituem uma pequena percentagem dos linfócitos circulantes (± 3% segundo Williams). Possuem um citoplasma volumoso e grânulos (lisossomos) bem visíveis, mas não muito numerosos. Possuem a propriedade incomum de destruírem certas células (tumorais principalmente e infectadas por vírus) sem terem tido um contato prévio com os antígenos da célula alvo, ao contrário das células T citotóxicas (efetoras).
A distinção morfológica (no esfregaço) entre as populações B e T é impossível.

2. **Gênese:**

Células T

Os precursores de células T migram a partir da medula óssea ("stem cells") para o córtex do timo. Ali, as células se dividem rápida e repetidamente, mas a maior parte das novas células formadas morre. Esta perda celular resulta de mecanismos de tentativa e erro na produção de um receptor de membrana de superfície, o ***receptor de célula T*** (essa mortandade em massa possivelmente signifique a destruição das células que produzam receptores para antígenos próprios do organismo). Os que sobrevivem, migram para a porção medular da glândula e continuam sua diferenciação (mas não mais a divisão celular). Quando completo ele sai do Timo com o seu receptor de antígeno que está apto a reconhecer duas coisas:

a) O epítopo do antígeno estranho;

b) Se o antígeno de histocompatibilidade de um célula é "self " (próprio) ou "non self " (não próprio), utilizado no momento em que se liga uma outra célula.

Estas células não voltam novamente para o Timo que, todavia libera substâncias solúveis como a timosina que exerce uma ação de suporte, à distância, sobre estas células T no tecidos linfóides.

O processamento de precursores de célula T no Timo começa na vida fetal e aparentemente ocorre durante toda a infância. O Timo, de 70 gramas no final da fase de lactente, pesa no idoso apenas cerca de 3 gramas. A diminuição do suporte hormonal desse órgão no idoso pode explicar a diminuição da resposta imune nos indivíduos nessa faixa etária.

Os linfócitos T liberados pelo Timo são programados para realizar diferentes funções via duas subpopulações principais, ambas em conjunção com os antígenos de histocompatibilidade:

a) Linfócitos T que, após exposição a um antígeno estranho numa célula (ex: antígeno viral na superfície de células próprias infectadas), se tornam células citotóxicas que podem lisar as células alvo, ***Constituem o subgrupo T8***. Nesse subgrupo também se encontram as células T supressoras que agem bloqueado a respostas imune quando o estímulo antigênico cessa.
b) Células T que, após exposição a antígenos, agem como células T imunorreguladoras, com funções auxiliadoras. ***Constituem o subgrupo T4*** (na sua maior parte) e atuam:

- **Promovendo o desenvolvimento de células T citotóxicas;**
- **Estimulam macrófagos promovendo suas propriedades microbicidas;**
- **Estimulam a secreção de anticorpos por células B (função "helper").**

As células T constituem aproximadamente 70% dos linfócitos circulantes. As células B de 10 a 15% dos linfócitos restantes. A movimentação, nos dois sentidos, entre tecidos e sangue é feita pelos dois tipos de linfócitos, mas, menor extensão pelos linfócitos B. Os linfócitos T possuem vida média bem mais longa que a dos linfócitos B.

Células B

Já as células B são processadas na medula óssea, que como a córtex do Timo, contém uma parcela de linfócitos sofrendo rápida divisão celular e uma alta taxa de mortalidade como nas células T. Só que aqui, pelo mesmo mecanismo de tentativa e erro, o organismo tenta selecionar linfócitos B que irão produzir cada um deles, um anticorpo contra os literalmente milhões de antígenos existentes na natureza.

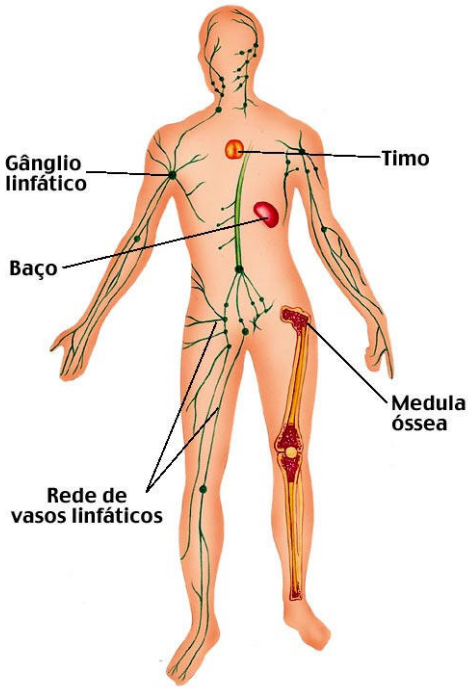
As células cujos DNA codifiquem anticorpos contra os constituintes "self" (próprios) são eliminadas.

Inicialmente são produzidas cadeias pesadas e leves de IgM no citoplasma. Na seqüência do processo maturativo, aparecem cadeias completas de IgM na superfície (nessa fase é que pode ser eliminada, quando pode reconhecer um antígeno "self").

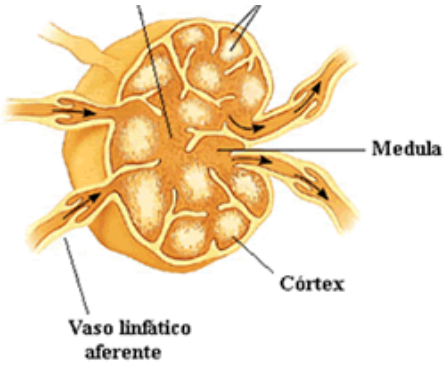
Na fase posterior ao amadurecimento surge também uma IgD na sua superfície.

Com suas IgM e IgD o linfócito B já está pronto para migrar e colonizar os órgãos linfóides periféricos (baço e gânglios linfáticos) onde são encontrados em locais próximos mais distintos. São nesses órgãos que os linfócitos B e T vão entrar em

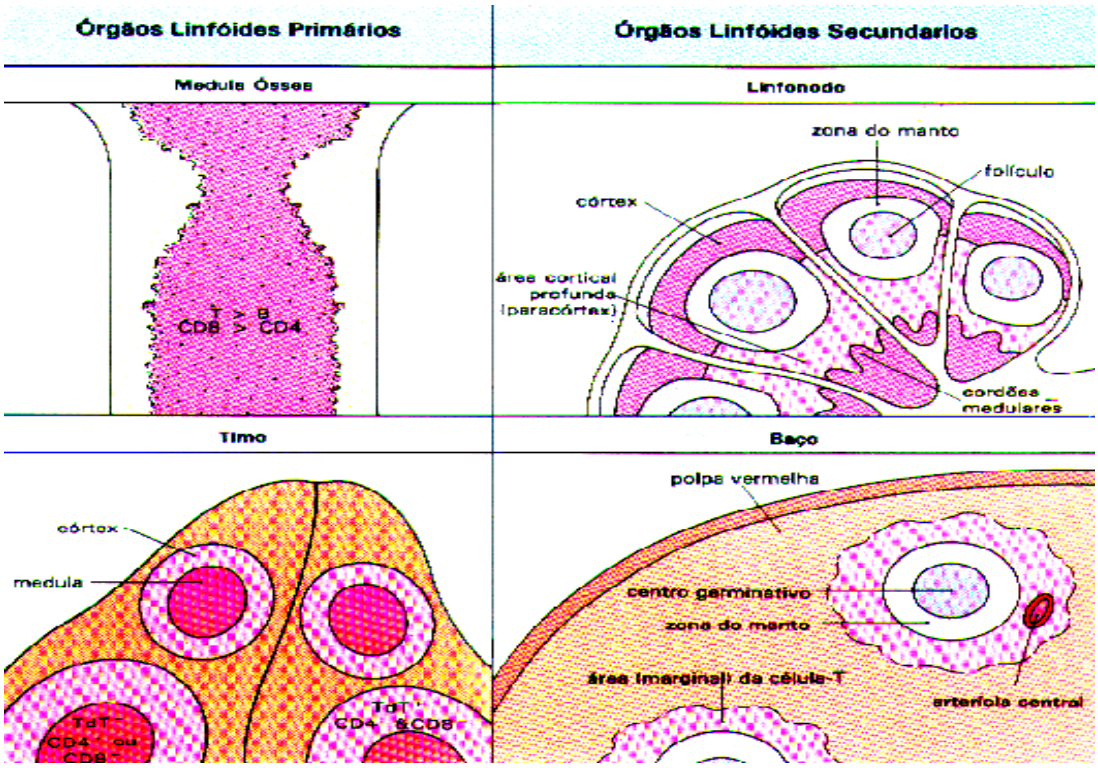
contato e reagir contra os diferentes tipos de antígenos que por ventura penetrem no organismo. Daí a designação para esses órgãos de "***centros reativos***".



Sistema Linfático e seus Centros Reativos



Representação de um Linfonodo



Distribuição dos Linfócitos nos órgãos linfóides (primários e secundários). LT (áreas paracorticais nos linfonodos e bainhas periarteriolares do baço). LB (acumulam nos folículos germinativos do tecido linfóide e periferia subcapsular do córtex e nos cordões medulares dos linfonodos.

3. **<u>Imunofenotipagem</u>**

Recentemente foram produzidos anticorpos monoclonais contra os mosaicos de antígenos que constituem a superfície dos linfócitos. Esses antígenos de membrana podem mudar durante o crescimento e maturação e servem para identificar as células não só quanto ao tipo como também quanto a sua fase de amadurecimento. Essa nova ferramenta de trabalho tornou-se extremamente importante no diagnóstico moderno das leucemias linfóides.

Ex:

CD8 (T8): A designação CD ("clusters of differentiation") indica o anticorpo monoclonal contra antígeno. No caso contra um antígeno que é o receptor para antígenos de histocompatibilidade de classe I, característico das células T8.

CD4 (T4): Anticorpo monoclonal contra antígeno de célula T4 que são receptores para antígeno de histocompatibilidade de classe II, característico das células T4 ("helper").

4. **<u>Funções</u>**

Quando expostos a um determinado antígeno para o qual está programado para responder, o linfócito sofre ativação e se divide dando origem a um clone expandido de linfócitos responsivos.

Quando um antígeno penetra nos tecidos, isso induz no local, uma reação inflamatória, com afluxo para a região de glóbulos brancos. Um pequeno número de células (células epiteliais, células reticulares, macrófagos, células de Langenhans e

mesmo linfócitos) podem capturar esse antígeno e o transportam para o linfonodo regional mais próximo. Essas estruturas são denominadas "***centros reativos"*** e estão estrategicamente colocadas: "cercam" os locais de maior probabilidade de penetração dos antígenos: sangue (baço); a linfa (linfonodos) e mucosas (linfonodos não encapsulados).

Nos gânglios, macrófagos (Fig.-1) podem digerir os antígenos e apresentá-los na sua superfície sob uma forma bem mais reativa (antígenos processados → epítopos). Esse procedimento é importante para a reação a antígenos T dependentes.

Os linfócitos B (Fig. 2) não necessitam do processamento, "agarram" os antígenos por meio dos seus anticorpos de superfície (pela fração Fab).Fig. 3

Tanto os linfócitos T como os B que reagem à apresentação do antígeno, estão previamente programados para reagirem somente contra aquele epítopo. Normalmente, pela presença de vários epítopos nas agregações antigênicas normais, ocorre o aparecimento de vários clones reagentes dando origem à reação policlonal de linfócitos B e T.

No momento da exposição ao antígeno; entram em ação uma série de substâncias reguladoras da resposta imune, denominadas de linfocinas e monocinas, entre elas, as mais importantes são: interleucina 1 e o TNF (caquexina) que são monocinas; gama interferon, interleucina 2, MIF (fator de imobilização do macrófago) e o fator quimiotáctil para macrófagos (todos linfocinas).

Principais atividades:

- Interleucina 1: estimula linfócitos T a produzirem IL-2, um fator de crescimento para linfócitos T. Estimula também linfócitos B a proliferar e evoluir para plasmócitos.
- Gama-Interferon: estimula macrófagos a produzirem IL-I e ativam as propriedades microbicidas dos mesmos (sem essa linfocina, macrófagos podem fagocitar agentes etiológicos veículando-os sem, todavia matá-los).
- Interleucina 2: é um fator de crescimento para linfócitos T.
- MIF: é um fator de imobilização de macrófagos no local.
- Fator quimotáctil para macrófago: é uma substância que atrai macrófagos no local onde é liberada.

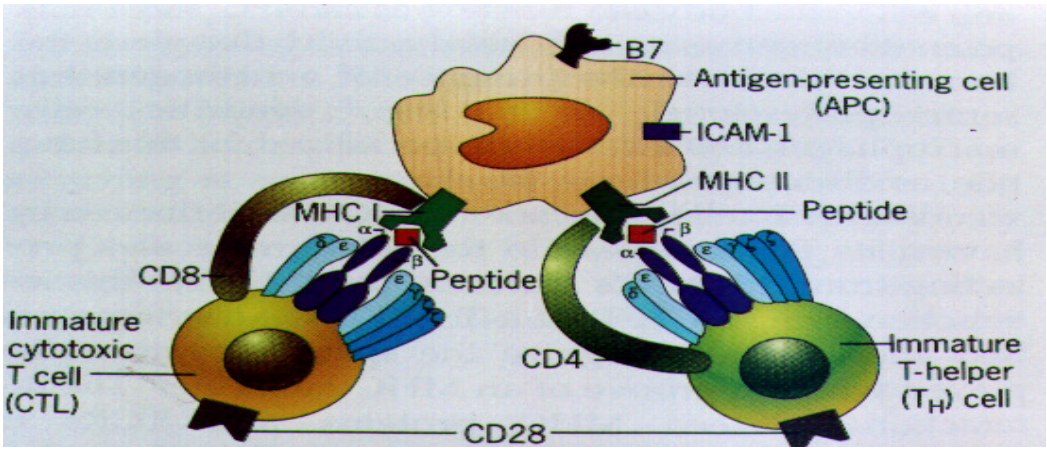


Fig 1 Representação esquemática -macrófago/linfócitos e seus receptores celulares

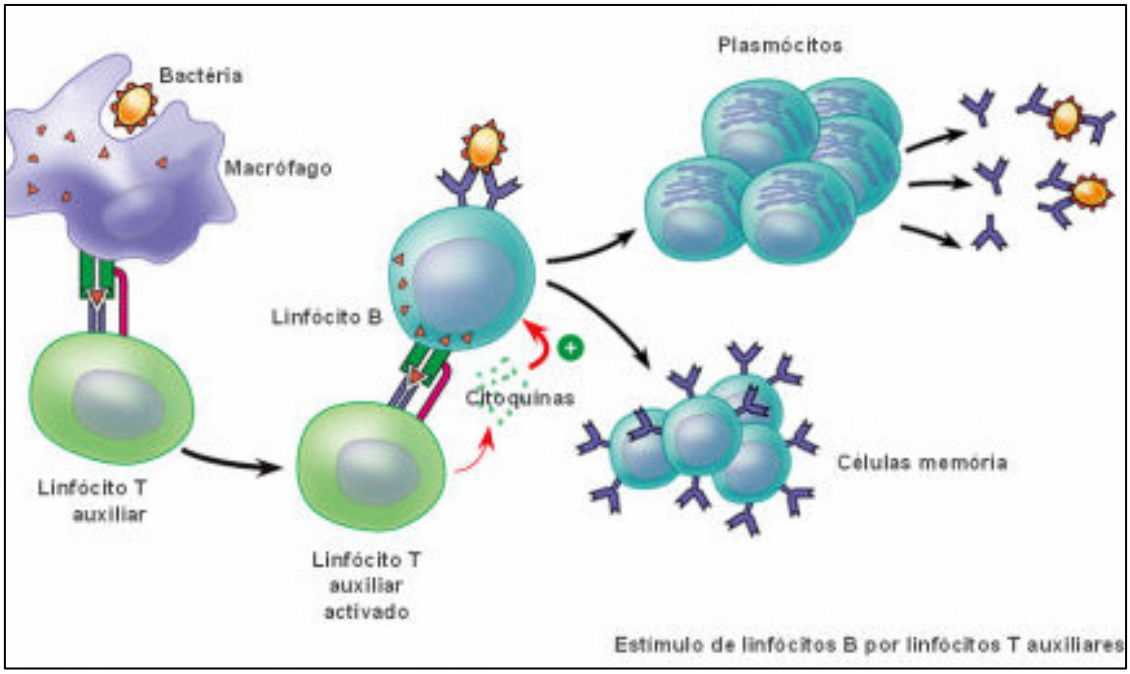


Fig 2 Desenvolvimento da resposta Humoral através do LT (CD4)

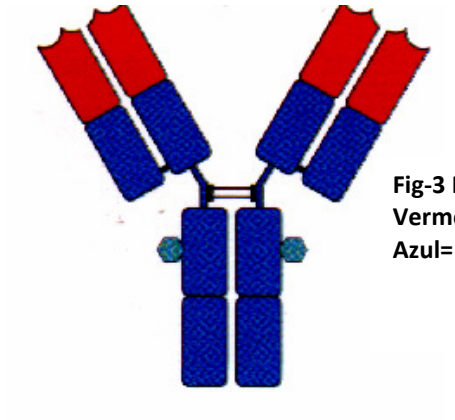


Fig-3 Molécula de imunoglobulina:
Vermelho= região variante que faz contato com antígeno (Fab)
Azul= região constante da molécula

5. **Linfócito atípico (transformação blástica)**

Entrando então em contato com o antígeno para o qual está programado, o linfócito, tanto o LT como o LB, aumentam de tamanho, adquirem aspecto de linfócitos jovens (linfoblastos) (Fig.4), com 20 a 30 micrometro de diâmetro apresentado o citoplasma intensamente basófilo, devido a síntese acelerada de RNA (ribossomos). Eventualmente esse citoplasma pode apresentar vacúolos e o retículo endoplasmático rugoso (REF) pode ser visualizado como microcanalículos às vezes, em lâminas coradas. O núcleo torna-se maior, com a rede de cromatina mais delicada, sendo visível muitas vezes os nucléolos (Fig.5). Após algum tempo esse linfócito, assim modificado, entra em mitose, dando a um clone celular idêntico à célula de origem (na realidade a vários clones considerando o mosaico antigênico que caracteriza a maior parte das infecções). A resposta local espalha-se então para todo o organismo. Nessa condições essas células recebem a designação de linfócitos ativados.(Fig.6,7,8)

Linfócitos hiperbasófilos (a condição mais específica e característica da ativação dos linfócitos) observados no esfregaço sanguíneo são denominados no Brasil e na Inglaterra de "linfócitos atípicos". Nos EUA, atualmente o termo mais empregado é "(Variant Lymphocyte)". O termo Virócito deve ser evitado, pois nem sempre são vírus os responsáveis pelo aparecimento dessas células.

No tronco dos linfócitos B, algumas células se diferenciam em uma célula com propriedades intermediárias entre linfócito B e o plasmócito. São os linfócitos plasmocitóides (Fig.9) (não possuem, como os plasmócitos (Fig.10) o núcleo excêntrico nem o halo justonuclear mais claro, as outras características são iguais) que secretam anticorpos IgM, os primeiros a serem produzidos (baixa afinidade). As células B ativadas restantes sofrem mais alterações que incluem:

a) Substituição das imunoglobulinas de superfície: IgM e IgD por IgG, IgA e mais raramente IgE.
b) Expressão de um segundo grupo de receptores de superfície para um segundo fator originário de células T: o fator de diferenciação de células B (FDCB).

Com a exposição ao FDCB os linfócitos B evoluem finalmente para plasmócitos, células de vida curta que secretam uma das imunoglobulinas: IgG, IgA ou IgE de alta afinidade.

Tanto o tronco T como o B cessado o estímulo antigênico há produção de linfócitos de memória.

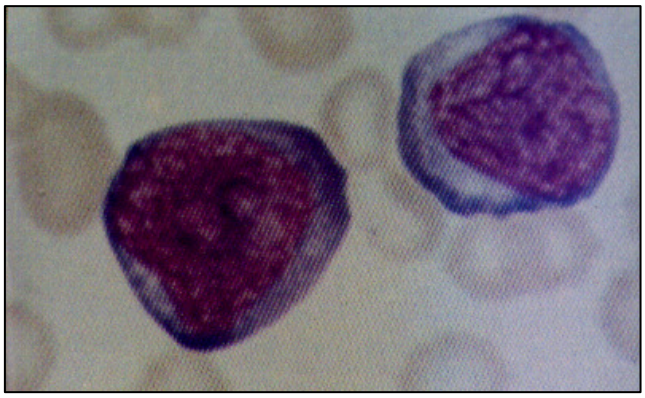


Fig. 4 Linfoblastos

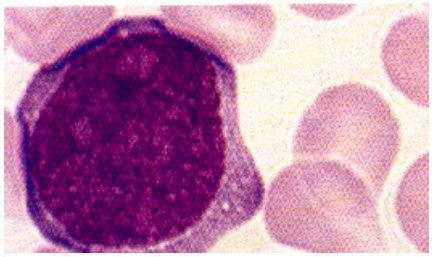


Fig-5 Linfócito atípico por aumento de tamanho e basofilia citoplasmática e núcleo com nucléolos evidentes

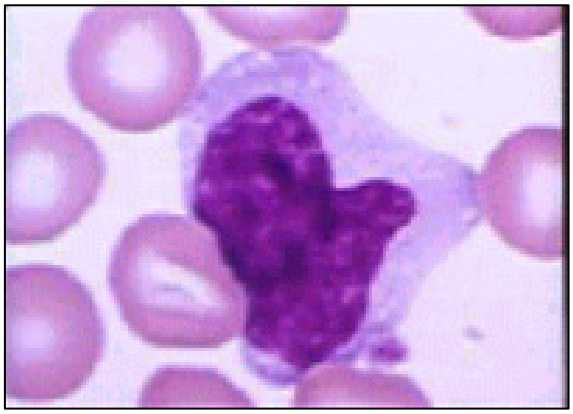


Fig-6 Linfócito atípico por aumento de tamanho, polimorfismo nuclear e discreto aumento da basofilia citoplasmática

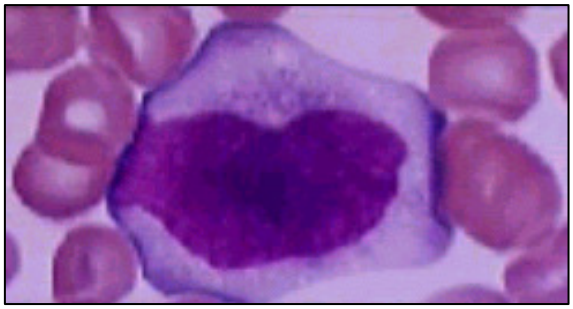


Fig-7 Linfócito atípico por aumento de tamanho, polimorfismo nuclear e basofilia citoplasmática heterogênea com granulações

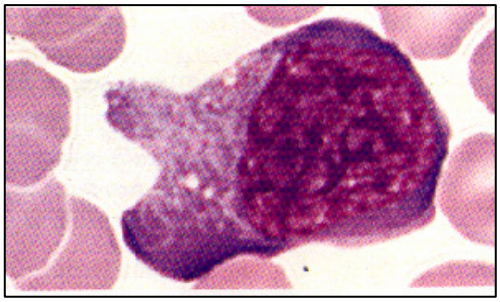


Fig-8 Linfócito atípico por aumento de tamanho, polimorfismo e basofilia citoplasmática

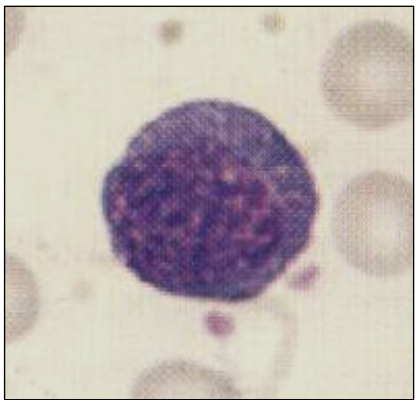


Fig 9 Linfócito plasmocitóide

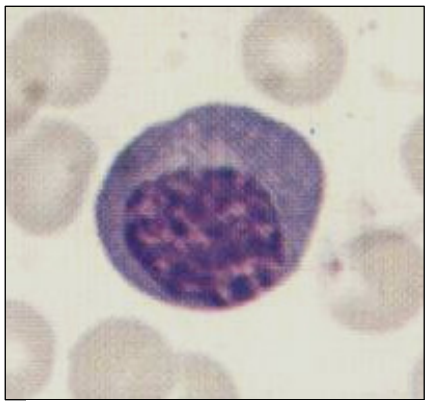


Fig 10 Plasmócito

6. **Morfologia linfocitaria**

Em um indivíduo normal, 80% dos linfócitos são células pequenas (6 a 9Um) constituídas por um núcleo que corresponde a 9/10 do total da célula (Fig 11). A maior parte restante são linfócitos médios (10 a 15 Um) (Fig. 12) com um pouco mais de citoplasma as vezes com grânulos citoplasmáticos (Fig. 13) e, menos de 0,5% são células hiperbasófilas de grande porte com morfologia típica de imunoblastos.(Fig.14)

Em crianças, é normal até 5% (linfócitos reacionais) dessas células, mesmo na ausência de doença.

Em algumas doenças, principalmente de origem viral, o número dessas células (linfócitos atípicos) aumenta bastante e, devem ser relatados em porcentagem no hemograma.

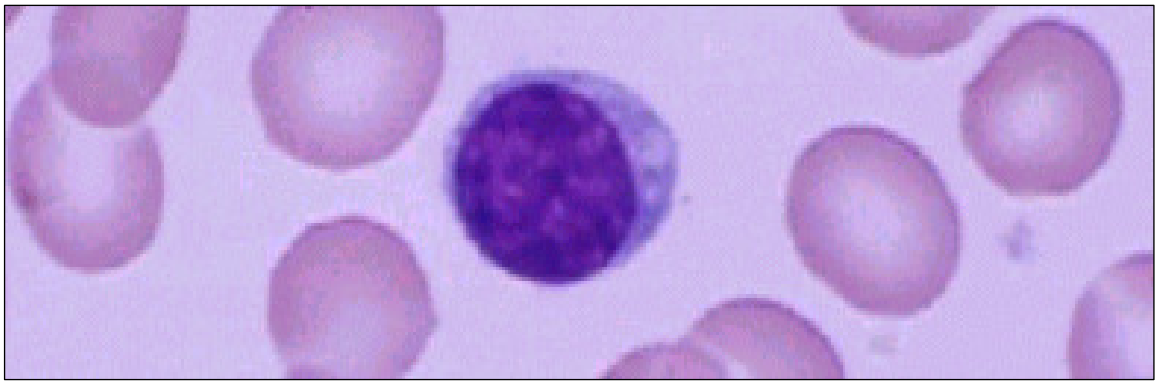


Fig. 11 citoplasma escasso, ligeiramente basófilo, núcleo com cromatina condensada e nucléolo não visualizado

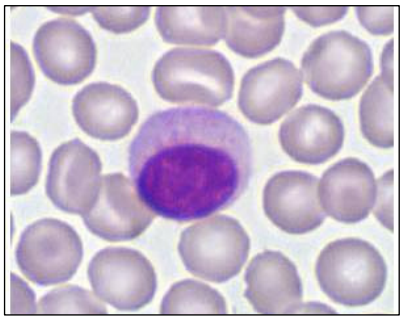


Figura-12 citoplasma mais abundante basófilo e com núcleo com cromatina menos condensada

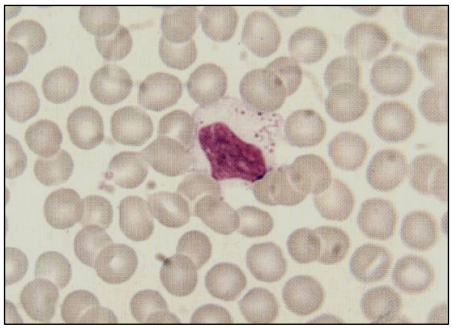


Figura-13 Linfócito grande com grânulos azurófilos

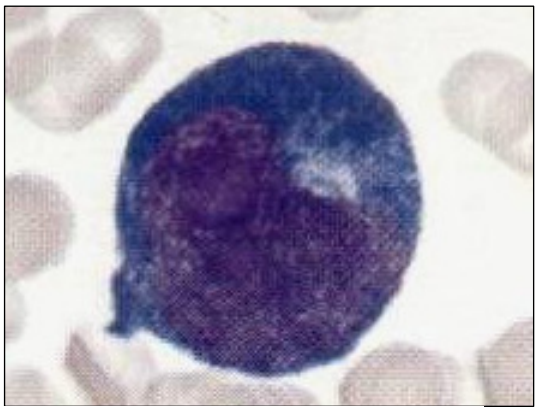


Fig. 14 Imunoblasto

6.1 **Algumas causas de atipia linfocitárias**

- Mononucleose infecciosa (vírus de Epstein-Barr): é a maior causa de aparecimento de atipias. Os linfócitos atípicos que surgem no esfregaço são célula T reagindo a linfócitos B parasitados pelos vírus Epstein-Barr.
- Infecção por Citomegalovirus*
- Adenovírus*
- Rubéola
- Varicela
- Herpes (simples e zoster)
- Meningite linfocitária
- AIDS inicial (2ª semana após contaminação pelo HIV)
- Infecção bacteriana: brucelose, tuberculose e sífilis.
- Infecção por protozoários: Toxoplasmose*, Malária, Babesiose.
- Hipersensibilidade a drogas*: fenotiazimas, ácido-aminosalísilico, mensantonia, sulfasalazina, etc.

*Condições que podem causar o aparecimento de um grande número de linfócitos atípicos semelhante à mononucleose infecciosa.

7. **<u>Linfocitoses e linfocitopenias patológicas:</u>**

Existe, na literatura, divergência quanto aos limites normais dos valores de linfócitos preferindo adotar limites superiores com 3.500/mm3 e inferiores como 800/mm3 (B Bain).

Algumas causas de Linfocitose:

- A maioria das infecções virais: mononucleose infecciosa; rubéola; varicela; influenza; hepatite infecciosa; linfocitose infecciosa (algumas coxsackie vírus, adenovírus tipo 2, 5 e 12, ecovírus 7); citomegalovirus e AIDS (fase inicial).
- Algumas infecções bacterianas incluindo: brucelose (crônica), sífilis (congênita principalmente) e principalmente a coqueluche (*Bordetella pertussis e para pertussis).* Na coqueluche observa-se um grande aumento de linfócitos pequenos na circulação. Valores de 15.000 a 30.000 linfócitos/mm3 são comuns podendo chegar às vezes a cifras de 100.000/mm3. A bactéria libera um fator (denominado fator promotor de linfocitose) que "in vivo" inibe a migração dos linfócitos do sangue para gânglios linfáticos e baço. Esses linfócitos são, na sua maior parte, linfócitos T. "helper". Uma confusão com a leucemia linfóide crônica é descartada, pois são doenças que afetam faixas etárias bem diferentes e o quadro clínico é totalmente distinto.
- Reações alérgicas a drogas: doenças do soro; esplenomectomia; doença de Addison.
- Doença linfoproliferativas: leucemia linfóide crônica, linfoma não hodgkin, micose fungóide, síndrome Sésary, etc.
- A leucemia linfóide aguda (LLA) pode ser simulada eventualmente pela mononucleose infecciosa e outras infecções virais as quais causam linfócitos atípicos, e por tuberculose e sífilis congênita. Quando um teste para o anticorpo heterófilo é negativo e os achados clínicos e do sangue periférico não mostram a distinção entre LLA e a reação leucemóide linfóide, uma aspiração da medula óssea deve ser realizada, e, se necessário, estudos com marcadores imunológicos da célula também.

Algumas causas de linfopenias ou linfocitopenias

- É extremamente comum como parte da resposta aguda ao estresse, embora seja freqüentemente obscurecida pelas alterações neutrofílicas coexistentes.
- Deficiências nutricionais por vitamina B12, folato e zinco
- Aumento na destruição: AIDS, radioterapia e quimioterapia
- Glicocorticóide
- Infecções bacterianas agudas

8. **Plasmócitos**

Os plasmócitos são normalmente células tissulares, porém em algumas ocasiões podem estar presentes no sangue periférico. O padrão de cromatina em "roda de carroça" ou "mostrador de relógio" visto em cortes de tecido corados pela técnica da Hemotoxilina / Eosina (HE) é bem menos comum em plasmócitos circulantes corados pelos corantes hematológicos (Romanowsky).

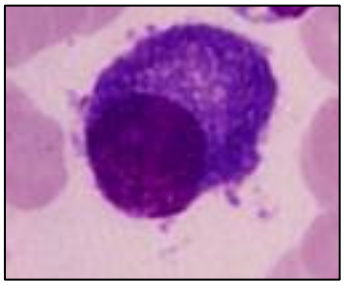


Fig 15 Plasmócito

Plasmocitoses:

O aparecimento, no sangue periférico de um número apreciável de plasmócitos caracteriza a plasmocitose que pode ser reativa ou ainda pode ser parte de uma discrasia da célula plasmática.

As condições que incluam a plasmocitose reativa são: infecções virais (principalmente) e bacterianas; imunizações, reações de hipersensibilidade a drogas, herpes, lúpus eritematoso sistêmico e linfadenopatia angioimunoblástica. Nessas condições, com raras exceções, o número de plasmócitos é usualmente baixo e as células presentes são maduras embora ocasionalmente plasmoblastos possam ser detectados. Podem apresentar vacúolos citoplasmáticos os quais contém seus produtos de secreção ou, raramente podem apresentar cristais nessa mesma região.

Alterações Morfológicas

- **Plasmócito "flamejante"** apresentam-se com o citoplasma corado em vermelho e reflete acúmulo de imunoglobulinas não secretadas no citoplasma. Não tem um significado clínico evidente
- **Célula Mott** (Fig.16)apresenta-se com inclusão globular abundante ou com vacúolos grande pela dissolução das inclusões globulares pelo corante hematológico. Surgem comumente nas hiperplasias crônicas de plasmócitos (doenças crônicas de estimulação constante: malária Kalazar, Tripanossomíase e tumores malignos principalmente)

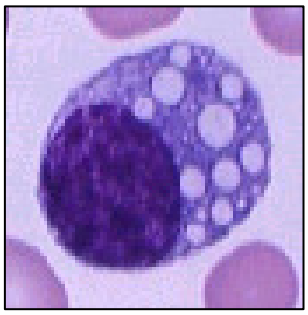


Fig 16 Célula de Mott

Referências

Hoffbrand A V, Petit J E- Hematologia Clínica
Naoum P C, Naoum FA - Hematologia Laboratorial-Leucócitos
Lorenzi T F - Manual de Hematologia-Propedêutica e Clínica
Failace R – Hemograma – Manual de interpretação
Bain B J – Células Sangüíneas
Rapaport S I – Introdução a Hematologia
Grotto H Z W- Interpretação Clínica do Hemograma
Atualização em Hematologia Clinica e Laboratorial FCF/UNESP – Araraquara- 2000
Hematologia Laboratorial pela Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto- 2001