

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ISABELLA KAROLINE MABA

ANÁLISE MORFOFUNCIONAL E MORFOQUANTITATIVA DOS
CONSTITUINTES DOS TECIDOS MIELOIDE E LINFOIDE

CURITIBA

2015

ISABELLA KAROLINE MABA

ANÁLISE MORFOFUNCIONAL E MORFOQUANTITATIVA DOS
CONSTITUINTES DOS TECIDOS MIELOIDE E LINFOIDE

Monografia apresentada como requisito parcial para
obtenção de grau de Bacharela em Biomedicina, pela
Universidade Federal do Paraná.

Orientação: Profa. Dra. Djanira Aparecida da Luz
Veronez.

CURITIBA

2015

Agradecimentos

A Deus, pelas infinitas bênçãos.

A minha família, pelo amor, paciência, apoio e dedicação.

A minha mãe, pela firmeza.

Ao meu pai, pelos mimos.

As minhas irmãs Fernanda e Geovanna, por me acharem capaz.

A minha sobrinha Julia pela companhia.

A minha orientadora Djanira pela infinita paciência e por nunca ter desistido de mim.

Aos meus amigos, que nunca me deixaram enlouquecer.

Aos funcionários da UFPR, por seu zelo.

Aos funcionários do Banco de Sangue do Hospital Erasto Gaertner, por me ensinarem muito mais do que testes pré-transfusionais.

Aos funcionários do Hemobanco, agora meus colegas.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro durante minhas empreitadas científicas.

RESUMO

O sistema hematopoiético é altamente integrado e largamente distribuído, sendo composto pela medula óssea, o baço, o sangue e tecidos relacionados. O estudo deste sistema é abrangido pela área que denominamos hematologia. A hematologia é uma área de complexidade elevada e que exige dedicação especial por parte de quem se propõe a estudá-la. A quantidade de termos técnicos e o número de estruturas a ser estudadas acabam por aumentar a dificuldade do assunto, uma vez que cada componente presente no estudo da Hematologia traz consigo uma ramificação da disciplina, que por sua vez também guarda um alto grau de complexidade. O objetivo deste trabalho, portanto, foi desenvolver um levantamento detalhado de dados morfofuncionais e morfoquantitativos dos constituintes dos tecidos mieloide e linfoide, relatando toda sua composição e funções, de modo a construir uma abordagem ampla e completa do assunto. A investigação foi desenvolvida a partir de pesquisa bibliográfica e pesquisa metodológica por meio de técnica histoquímica e análise histomorfológica. Os resultados obtidos permitiram concluir que o sangue é um tecido fluido formado por uma porção celular (elementos figurados) que circula em suspensão num meio líquido, e que esses elementos têm forma associada com a função, invariavelmente essenciais para o desenvolvimento da vida. Em conjunção com o sistema linfático, contribui, então para a manutenção da homeostase.

Palavras-chave: hematologia, imunologia, imuno-hematologia, sangue.

ABSTRACT

The hematopoietic system is highly integrated and widely distributed, and it is composed by the bone marrow, spleen, blood and related tissues. The study of this system falls within the area called Hematology. Hematology is a very complex area and requires special dedication on the part of anyone planning to study it. The amount of technical terms and the number of structures to considerate eventually increase the difficulty of the subject, because each component present in Hematology study brings a branch of the discipline, which in turn also holds a high degree of complexity. This study therefore aimed to develop a detailed description of morphological, functional and morphoquantitative data of the constituents of myeloid and lymphoid tissues, reporting all their composition and functions, in order to build a broad and comprehensive approach of the subject. The research has been developed from literature and methodological research through immunohistochemical technique and histomorphological analysis. Blood is a tissue is responsible for deliver oxygen and remove carbon dioxide and other metabolites of tissues, thus maintaining a healthy body. Each cell that comprises the blood system has a specific function and different shapes and sizes, and the morphology of these elements is associated with its function. There is anatomic variation in cell morfoquantification, such as age, sex, race and pregnancy status. Along with the circulatory system composed of blood vessels and blood, lymphatic system also plays an important role in maintaining homeostasis, since it acts as a drainage system of the interstitial fluid and operates in the immune system.

Key words: hematology, immunology, imuno-hematology, blood

SUMÁRIO

1.EVIDÊNCIAS DE INTERESSE.....	6
2.OBJETIVOS.....	8
2.1 Objetivo Geral.....	8
2.2 Objetivos Específicos.....	8
3.JUSTIFICATIVA.....	9
4.MATERIAL E MÉTODOS.....	10
5.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
5.1 Medula óssea e hematopoiese.....	12
5.2 Histologia da medula óssea.....	14
5.3 Tecido mieloide e tecido linfoide.....	15
5.4 Células mieloides.....	15
5.5 Células linfoides.....	31
5.6 Sangue.....	33
5.7 Sistema Linfático.....	34
5.8 Análises quantitativas e qualitativas: o hemograma e a distensão sanguínea.....	34
6.CONCLUSÕES.....	39
7.REFERÊNCIAS.....	40

1.EVIDÊNCIAS DE INTERESSE

Apesar de estreitamente misturadas dentro da medula óssea e do sangue, as células mieloides e as células linfoides pertencem a dois tecidos fisiologicamente distintos. O tecido mieloide dá origem a células cujas funções são variadas: as hemácias (eritrócitos), que transportam oxigênio dos pulmões aos tecidos; os polimorfonucleares neutrófilos, que possuem papel essencial nas defesas antibacterianas; os monócitos, que atuam ao mesmo tempo na defesa antibacteriana e nas outras reações imunitárias; os polimorfonucleares basófilos e eosinófilos, cujas funções de defesa são bem menos definidas; as plaquetas, que têm uma função essencial na hemostasia primária e na coagulação. O tecido linfoide é constituído morfologicamente de linfócitos e plasmócitos, células que são suporte das reações imunológicas específicas (BERNARD *et al*, 1998).

Os leucócitos de origem mieloide, como citado anteriormente, têm função vital de defesa do organismo, e junto com os eritrócitos, compõe o tecido mieloide. Os neutrófilos têm como função principal fagocitar os corpos estranhos e principalmente bactérias; têm mobilidade mediada por pseudópodos que permite, portanto, a diapedese (infiltração entre células). O aumento patológico do número de neutrófilos acima do limite de 7000 por milímetro cúbico pode estar associado a um quadro benigno ou maligno, no caso de uma síndrome mieloproliferativa. Já a diminuição patológica do número de neutrófilos pode ser devida à insuficiência de produção ou excesso de destruição dos neutrófilos (BERNARD *et al.*,1998).

Os eosinófilos por sua vez têm por principal função a defesa contra helmintos. Representam 1% a 3% dos polimorfonucleares. Têm núcleo bilobulado, com grande mobilidade e inúmeras vesículas citoplasmáticas. Sua vida média é de aproximadamente 13 dias, sendo seis dias em desenvolvimento na medula óssea, um dia na circulação e seis dias no tecido (MENDES *et al.*, 2000)

Os basófilos são menos estudados, mas sabe-se que estão envolvidos em reações de hipersensibilidade, por conterem grânulos ricos em histamina (HOFFBRAND, MOSS,2013).

Os monócitos são células que possuem núcleo grande, central, oval ou endentado e com cromatina aglomerada, que assim como os neutrófilos, têm por função a fagocitose. Quando o monócito se converte em macrófago, nos tecidos, ele passa a exercer as suas principais funções: remoção de células velhas, debris celulares e atua na gênese da resposta imune (BERNARD *et al*, 1998).

Os leucócitos de origem linfoide são as únicas células do corpo capazes de reconhecer e distinguir especificamente diferentes determinantes antigênicos e, portanto, são responsáveis pelas duas características que definem a resposta imune adquirida, ou seja, a especificidade e a memória. Podem ser classificados em linfócitos B, responsáveis pela produção de anticorpos, linfócitos T auxiliares e citotóxicos (os primeiros responsáveis pela diferenciação de células B e ativação de macrófagos, e os segundos responsáveis pela lise de células infectadas) e células NK (natural killer), que também fazem lise de células infectadas e tumorais bem como citotoxicidade dependente de anticorpo. O tecido linfoide pode ser acometido por síndromes linfoproliferativas como as leucemias linfoides aguda e crônica (ABBAS, LICHTMAN, POBER, 2003).

O estudo dos constituintes dos tecidos mieloide e linfoide com parâmetros normais e patológicos apresenta alta complexidade. A quantidade de termos técnicos e o número de estruturas a ser estudadas acabam por aumentar a dificuldade do assunto, uma vez que cada componente presente no estudo da Hematologia traz consigo uma ramificação da disciplina, que por sua vez também guarda um alto grau de complexidade. Neste sentido, o presente trabalho desmembra-se em um manual, teórico e prático, dos constituintes celulares do sangue com o intuito de disponibilizar como recurso educacional aberto.

2.OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo desta pesquisa foi desenvolver um levantamento detalhado de dados morfofuncionais e morfoquantitativos dos constituintes dos tecidos mieloide e linfoide.

2.2 Objetivos Específicos

- Relatar a constituição do sistema sanguíneo;
- Listar as funções do sangue e as características morfofuncionais de seus elementos figurados;
- Desenvolver um descritivo morfoquantitativo dos constituintes celulares do sangue;
- Descrever a organização, composição e funções dos elementos que compõe o sistema linfático.

3. JUSTIFICATIVA

A hematologia é uma área de complexidade elevada e que exige dedicação especial por parte de quem se propõe a estudá-la. A quantidade de termos técnicos e o número de estruturas a ser estudadas acabam por aumentar a dificuldade do assunto, uma vez que cada componente presente no estudo da Hematologia traz consigo uma ramificação da disciplina, que por sua vez também guarda um alto grau de complexidade.

Aliando o material disponível em livros didáticos que servem como base para o ensino de Hematologia na graduação, com artigos publicados em revistas científicas e outros materiais cientificamente relevantes, justifica-se a criação de um compilado de textos sobre hematologia, revisados e adaptados para melhor entendimento de alunos de graduação, visando melhorar seu rendimento na disciplina e facilitar o trabalho dos docentes, tornando o processo ensino-aprendizagem mais fácil.

Os Recursos Educacionais Abertos, ou simplesmente REA, são definidos como *“materiais de ensino, aprendizado e pesquisa em qualquer suporte ou mídia, que estão sob domínio público, ou estão licenciados de maneira aberta, permitindo que sejam utilizados ou adaptados por terceiros. O uso de formatos técnicos abertos facilita o acesso e o reuso potencial dos recursos publicados digitalmente. Recursos Educacionais Abertos podem incluir cursos completos, partes de cursos, módulos, livros didáticos, artigos de pesquisa, vídeos, testes, software, e qualquer outra ferramenta, material ou técnica que possa apoiar o acesso ao conhecimento”* (UNESCO, 2011). Esse tipo de recurso educacional tem por objetivo principal tornar fácil o acesso à informação, uma vez que o material publicado é livre e disponível a todos.

4.METODOLOGIA

Esta pesquisa foi desenvolvida em duas etapas:

- 1) Pesquisa bibliográfica;
- 2) Pesquisa metodológica.

1) Pesquisa bibliográfica

A pesquisa bibliográfica foi desenvolvida a partir de um minucioso levantamento bibliográfico nos principais bancos de dados de estudos indexados em fontes nacionais e internacionais como: PubMed, Lilacs, Scielo, Periódicos Capes, Mendeley Desktop e na literatura biomédica.

2) Pesquisa metodológica

Lâminas de esfregaço sanguíneo, coradas pela técnica histoquímica de Hematoxilina/Eosina, cedidas pelo Departamento de Biologia Celular e Molecular da Universidade Federal do Paraná.

Técnica de Hematoxilina/Eosina: A hematoxilina é um corante básico que carrega uma carga positiva a porção da molécula que vai conferir cor ao tecido. Os corantes básicos reagem com os grupos aniônicos das células e tecidos, os quais incluem grupos fosfatos, ácidos nucleicos, grupos sulfatos de glicosaminoglicanos e grupos carboxil das proteínas. A habilidade dos grupos aniônicos reagirem com corantes básicos é chamada de basofilia, e as estruturas celulares que são coradas com corantes básicos são denominadas basófilas. Fazem parte das estruturas celulares que podem ser coradas com corantes básicos a heterocromatina, os nucléolos, o RNA ribossômico e a matriz extracelular da cartilagem. A hematoxilina cora geralmente as estruturas de azul. A eosina é a coloração mais adequada para combinar com a hematoxilina alumínica para demonstrar a arquitetura geral do tecido. É principalmente importante pela capacidade de, com adequada diferenciação, distinguir entre o citoplasma de diferentes tipos de células, e entre diferentes tipos de fibras de tecido conjuntivo e matrizes, corando-os de diferentes tons de vermelho e rosa. A eosina é um corante ácido que reage com componentes catiônicos das células e tecidos. Quando usados juntamente com corantes básicos como a

hematoxilina, coram o citoplasma, filamentos citoplasmáticos e fibras extracelulares. A eosina geralmente cora as estruturas em vermelho ou rosa (BANCROFT, STEVENS, 1996). Sendo assim, a hidratação prepara o tecido para receber o primeiro corante, a hematoxilina, que se encontra em solução aquosa, sendo posteriormente coradas pela eosina, que irá conferir o contraste (SOARES, 2013).

Posteriormente, as lâminas foram analisadas no microscópio biológico trinocular plano 0.I. polaris-B.photonics, vinculado a um computador B-Xtreme, processador intelG2030 Dual Core com sistema de captura de imagem Home Mirage I. A fotodocumentação foi feita por meio de uma câmera digital colorida sistema CMOS, software Tsvie. A escala foi adicionada às fotos por meio do software livre ImageJ.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Medula Óssea e Hematopoiese

O sistema hematopoiético é altamente integrado e largamente distribuído, sendo composto pela medula óssea, o baço, o sangue e tecidos relacionados (KOCIBA, KOCIBA, 1990). O sangue e a medula óssea são dois dos maiores componentes do corpo, respondendo por aproximadamente 5% do peso corporal em humanos, sendo também potenciais alvos de exposição química (TRAVLOS, 2006). Apesar de ter destacada sua função hematopoiética, evidências apontam para que a medula óssea seja também local de função ativa e tráfego de células do sistema imunológico, como células T regulatórias, células B, células dendríticas, linfócitos natural killer, neutrófilos, células supressoras derivadas de precursores mieloides e células tronco-mesenquimais. Desta forma, a medula óssea é sítio pré-determinado de metástase de diversos tipos de tumores humanos. Pode-se afirmar, então, que ela está intimamente relacionada com uma rede imunológica, capaz de modular o sistema imune, sendo finalmente um potencial alvo para a imunoterapia (ZHAO *et al*, 2012)

Todas as células sanguíneas maduras derivam de um precursor comum, denominado célula tronco pluripotente. As células tronco são funcionalmente definidas como células de vida longa, que podem se auto renovar ou se diferenciar em múltiplos tipos celulares (SOIFFER, 2008). O processo de hematopoiese é muito dinâmico, e dependente da contínua auto renovação das células-tronco e sua diferenciação na medula óssea. Na figura abaixo, um esquema de como a célula-tronco hematopoiética dá origem a todas as linhagens de células sanguíneas:

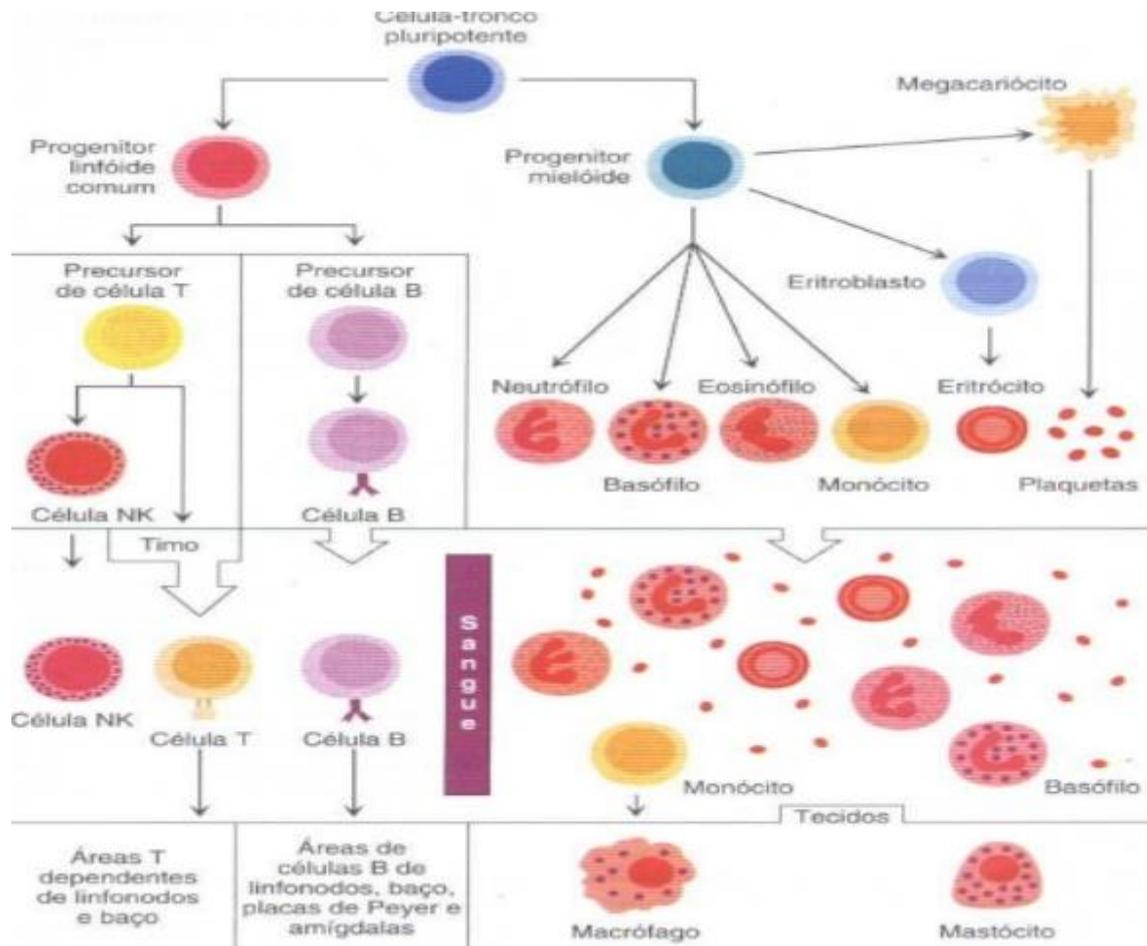


Figura 1: Formação das células sanguíneas a partir do precursor comum célula-tronco pluripotente. Adaptado de: <http://pt.slideshare.net/gildocrispim/celulas-do-sistema-imunologico1>

A medula óssea é a matriz formadora de células sanguíneas, ou seja, é o principal órgão hematopoiético depois do sexto mês de vida fetal; isso porque nas primeiras semanas de gestação, o saco vitelino é o principal local de hematopoiese. Após o nascimento, a medula óssea é encontrada em quase todos os ossos; já nos adultos, é encontrada principalmente nos ossos esponjosos (fêmur, crista dos ossos ilíacos do quadril, esterno e costelas), sendo a única fonte de novas células sanguíneas. Mesmo nessas regiões hematopoiéticas, 50% da medula é composta por gordura (HOFFBRAND, MOSS, 2013).

A medula é formada por ilhas de tecido hematopoiético e tecido adiposo, circundado por uma trama de vasos sanguíneos e trabéculas ósseas, sendo dividida então em dois tipos: a medula óssea vermelha (rubra), rica em vascularização e fortemente ativa; e a medula óssea amarela (flavos), rica em

gordura e praticamente inativa. Até os dois primeiros anos de vida, a medula óssea dos ossos é exclusivamente rubra, e posteriormente vai sendo substituída por gordura, formando a medula óssea amarela ou flavos (VERRASTRO, LORENZI, NETO, 2010).

O componente hematopoiético da medula óssea é denominado parênquima, e o componente vascular, estroma. O parênquima inclui células tronco hematopoiéticas (HSC, em inglês), e células hematopoiéticas progenitoras, que não estão distribuídas aleatoriamente, mas propositalmente localizadas próximas ao endóstio do osso e ao redor dos vasos sanguíneos. Já o estroma é formado por células progenitoras não-hematopoiéticas, capazes de se diferenciar em vários tecidos de origem mesenquimal, incluindo osteoblastos, células endoteliais, reticulares, fibroblastos e adipócitos (ZHAO *et al*, 2011).

5.2 Histologia da Medula Óssea

As células-tronco hematopoiéticas localizam-se em nichos ou ilhas dentro da medula óssea. Estes são compostos por células de suporte, fatores de crescimento extracelular, constituintes metabólicos e fatores da matriz que regulam ativamente a função das células-tronco e permitem que se mantenha uma quantidade sustentável e responsiva dessas células. Dois nichos fisiológicos foram até agora descritos: o endóstio (ou osteoblástico), nicho que se localiza na interface da medula óssea; e o vascular, que se localiza em volta do endotélio vascular especializado (PSAILA, LYDEN, ROBERTS, 2012). As interações entre os nichos e as células-tronco é bidirecional, à medida que o nicho regula a auto-renovação das células e sua nutrição, e as células regulam o microambiente em que residem (SCADDEN, 2013).

O tecido de sustentação das células hematopoiéticas é formado por fibrilas conjuntivas delicadas, fibroblastos, vasos e fibras nervosas que preenchem os espaços existentes entre as trabéculas ósseas que formam os ossos íliacos, esterno, costelas e apófises espinhosas das vértebras, sendo este emaranhado de fibrilas é ricamente vascularizado (VERRASTRO, LORENZI, NETO, 2010).

Com relação à distribuição das células precursoras no interior da medula óssea, é importante salientar que há um arranjo pré-estabelecido no qual as

células pluripotentes têm localização preferencial junto às trabéculas ósseas, tornando-se menos numerosas nas porções mais distantes. Já nas regiões mais centrais, predominam os precursores granunocíticos mais diferenciados e as células mais maduras que penetram nos vasos venosos sinusoidais centrais e aí entram na circulação. Quanto aos monócitos, a distribuição segue a dos demais granulócitos (VERRASTRO, LORENZI, NETO, 2010).

A celularidade da medula óssea depende da idade, e podem ser distinguidas três fases de involução: até os 35 anos o tecido hematopoiético ocupa mais de 50% dos espaços medulares, chegando a 80% ou 90% na criança; dos 35 aos 60 anos em torno de 50%; após os 60 anos é inferior a 40%. A quantidade de tecido hematopoiético é expressa como porcentagem aproximada em relação ao tecido adiposo dentro da cavidade medular (ALVES, 2009).

5.3 Tecido Mieloide e Tecido Linfoide

As células das linhagens mieloide e linfoide pertencem a dois tecidos fisiologicamente distintos: o tecido mieloide dá origem às células vermelhas, aos polimorfonucleares, aos monócitos e às plaquetas. Já o tecido linfoide é formado por linfócitos e plasmócitos, suportes das reações imunitárias específicas (BERNARD *et al*, 1998).

5.4 Células mieloides

-Eritrócito

A cada dia, são produzidos 10^{12} novos eritrócitos por meio do processo complexo e regulado de maneira precisa da eritropoese (HOFFBRAND, MOSS, 2013). Alguns fatores já conhecidos interferem nas várias fases da eritropoese, entre os mais importantes estão a eritropoietina, a vitamina B12, os folatos e o ferro (VERRASTRO, LORENZI, NETO, 2010).

A membrana eritrocitária é a membrana celular mais estudada devido à facilidade na sua obtenção, porque não há presença de material nuclear como em outras células (GALLAGER, 1998). Esta membrana, como os milhares de outras células do organismo humano, é essencialmente constituída de lipídeos e proteínas, consiste de uma bicamada fosfolipídica, que representa aproximadamente 50% de sua massa total e forma a barreira entre dois compartimentos líquidos, intra e extracelular (COOPER, 1997). As trocas moleculares entre estes compartimentos são feitas por meio de bombas e canais de trocas de íons (MURADOR, DEFFUNE, 2007).

Embora os eritrócitos tenham sido tradicionalmente considerados reservatórios inertes de hemoglobina, sabe-se atualmente que, de fato, eles abrigam numerosas moléculas de superfície que participam de vários processos fisiológicos. Algumas destas moléculas são proteínas importantes para a estrutura e função das hemácias, enquanto outras com funções não esclarecidas para os eritrócitos tem demonstrado papéis bem definidos e vitais em outros tecidos. Assim, a elucidação das bases moleculares e bioquímicas dos antígenos de grupos sanguíneos contribui pelo menos em três aspectos: a) no entendimento da estrutura dos epítomos antigênicos; b) identificação e exploração de novas moléculas e suas funções, tanto nas hemácias, quanto em outras células; c) possibilidade de criar reagentes geneticamente obtidos para o uso em laboratórios de transfusão (TELEN, 1995).

A membrana eritrocitária, em toda sua complexidade, tem sua importância até mesmo na deformidade que apresenta e na fluidez de seu citoplasma, que asseguram o transporte de oxigênio e gás carbônico entre os tecidos e os pulmões (MURADOR, DEFFUNE, 2007).

As proteínas que compõem a membrana eritrocitária são estruturalmente classificadas em integrais ou transmembranárias e periféricas ou extramembranárias. Essas proteínas do citoesqueleto membranário formam uma verdadeira malha, que constitui quase uma concha para o material intracelular. Este esqueleto é responsável pela forma, bicôncava normal ou anormal, em caso de defeitos genéticos, dos glóbulos vermelhos, e representa por si só 60% da massa proteica de toda a membrana (WAJCMAN *et al*, 1984).

A eritropoetina (EPO) é um hormônio endógeno de natureza glicoproteica, sintetizado particularmente em células epiteliais específicas que se alinham aos capilares renais peritubulares. Este hormônio é o principal regulador da eritropoiese em humanos e alguns animais. Os rins têm papel importantíssimo na sua síntese, secretando aproximadamente 90% de toda a eritropoetina sistêmica, sendo o fígado responsável pelo 10% restantes (BENTO *et al*, 2003). A EPO humana é sintetizada na célula renal inicialmente como um pró-hormônio possuidor de uma seqüência total de 193 aminoácidos, sendo os 27 primeiros expressos apenas para proporcionar a secreção do hormônio, não possuindo relevância na atividade biológica (RIVER, SAUGY, 2003). A produção de EPO pelas células especializadas renais e seu posterior lançamento no sangue ocorrem quando estruturas celulares sensitivas renais percebem redução na taxa de oxigênio circulante ou deficiência na produção eritrocitária, resultando em diminuição da quantidade de eritrócitos circulantes. As moléculas de EPO produzidas, carregadas pela corrente sanguínea, são conduzidas até a medula óssea, onde encontram células progenitoras eritrocitárias. Constata-se que o aumento da taxa de novos eritrócitos circulantes produzidos pela medula se dá em cerca de um a dois dias após o aumento dos níveis de EPO no plasma. Os eritrócitos produzidos durante a eritropoiese não possuem material genético e maquinaria celular para sua replicação, pois tanto o núcleo quanto organelas citoplasmáticas importantes, tais como o retículo endoplasmático, mitocôndria e ribossomos, são eliminados do compartimento celular, para permitir maior armazenamento de hemoglobina. Portanto, o único modo de produção eritrocitária é através do estímulo hormonal nas células CFC-Es provenientes de células-tronco pluripotentes hematopoiéticas (stem cells) (ALBERTS *et al*, 1994). A eritropoetina é de suma importância em diversas situações clínicas, devido principalmente à sua função transportadora de oxigênio e gás carbônico.

A vitamina B12, ou cianocobalamina, faz parte de uma família de compostos denominados genericamente de cobalaminas. É uma vitamina hidrossolúvel, sintetizada por microrganismos, encontrada praticamente em todos os tecidos animais e estocada primariamente no fígado na forma de adenosilcobalamina. A fonte natural de vitamina B12 na dieta humana restringe-se a alimentos de origem animal, especialmente leite, carne e ovos. A deficiência

dessa vitamina pode ocasionar transtornos hematológicos, neurológicos e cardiovasculares (Paniz *et al*, 2005). Ainda que a vitamina B12 seja sintetizada ativamente por um grande número de bactérias intestinais, pouco se aproveita desta produção, uma vez que o sítio de absorção dessa vitamina está distante de onde estas bactérias a produzem, o que leva a eliminação da vitamina B12 nas fezes. Uma alimentação balanceada é de grande importância para que se mantenha o aporte necessário de vitamina B12 no organismo. A absorção de vitamina B12 começa com a liberação desta pelos alimentos, por meio de peptidases específicas, seguindo-se da ligação da vitamina às cobalofilinas no estômago, digestão destas na parte alta do intestino e transferência das cobalaminas ao fator intrínseco (FI) e por fim adesão do complexo B12-FI ao receptor específico no íleo. A secreção de FI se dá pelas mesmas células secretoras de ácido clorídrico (células parietais do estômago), estimuladas pela presença de alimentos, pela gastrina e histamina e inibida por atropina (BARRIOS *et al*, 1999).

Os folatos fazem parte das vitaminas do grupo B e são importantes para processos bioquímicos, como síntese e reparo de DNA. A deficiência de folatos, que devem ser obtidos através da dieta, está associada à anemia megaloblástica, malformações congênitas, doença de Alzheimer, síndrome de Down, desordens cerebrais, doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer (CATHARINO *et al.*, 2006). Entre as deficiências vitamínicas, a dos folatos é a mais comum entre as mulheres norte-americanas, causando alterações hematológicas em 15 a 30% das gestantes. Em estudo realizado na cidade de São Paulo observou-se que 12,2% das gestantes eram deficientes em folatos e 6,5% apresentavam anemia associada a esta deficiência. Ressalta-se, ainda, que a causa mais comum da redução dos níveis de folato é a baixa ingestão desta vitamina (THAME *et al*, 2003).

O ferro também é um componente importante do grupo heme da hemoglobina, sendo essencial para o mecanismo de oxigenação dos tecidos). O heme, importante componente do processo de oxigenação dos tecidos, é composto por quatro anéis pirrólicos ligados a um átomo de ferro. Além desta molécula, a globina também forma a hemoglobina, proteína transportadora de oxigênio, composta de um tetrâmero polipeptídico (VERRASTRO, LORENZI,

NETO, 2010). As causas genéticas de deficiência de ferro, real ou funcional, ocorrem por defeitos em muitas proteínas envolvidas na absorção e metabolismo de ferro. O ferro funcional não está disponível para os eritroblastos sintetizarem hemoglobina, ou o eritroblasto é incapaz de captar ferro da circulação, mas o ferro está acumulado em tecidos ou nas mitocôndrias. Nos últimos anos, várias descobertas, principalmente oriundas de descrições em humanos ou de modelos animais, ajudaram a elucidar a implicação dos componentes do metabolismo do ferro na deficiência de ferro hereditária, que afetam desde a absorção intestinal até sua inclusão final no heme. Deste modo, neste capítulo foram resumidos aspectos práticos das anemias hereditárias por deficiência de ferro causadas por attransferrinemia hereditária, aceruloplasminemia congênita, mutação no transportador divalente de metal (DMT-1/Nramp2), mutação na serina-protease ligada à membrana tipo 6 (TMPRSS6) ou matriptase-2 e também mutações com perda da função da ferroportina (SAAD, 2010).

Todos estes componentes em conjunto formam um complexo sistema responsável pela oxigenação dos tecidos e implicam no bom funcionamento destes, uma vez que um defeito em qualquer nível do sistema acaba por levar a condições clínicas sérias e de difícil tratamento, tais como problemas neurológicos ou até mesmo anemias severas.

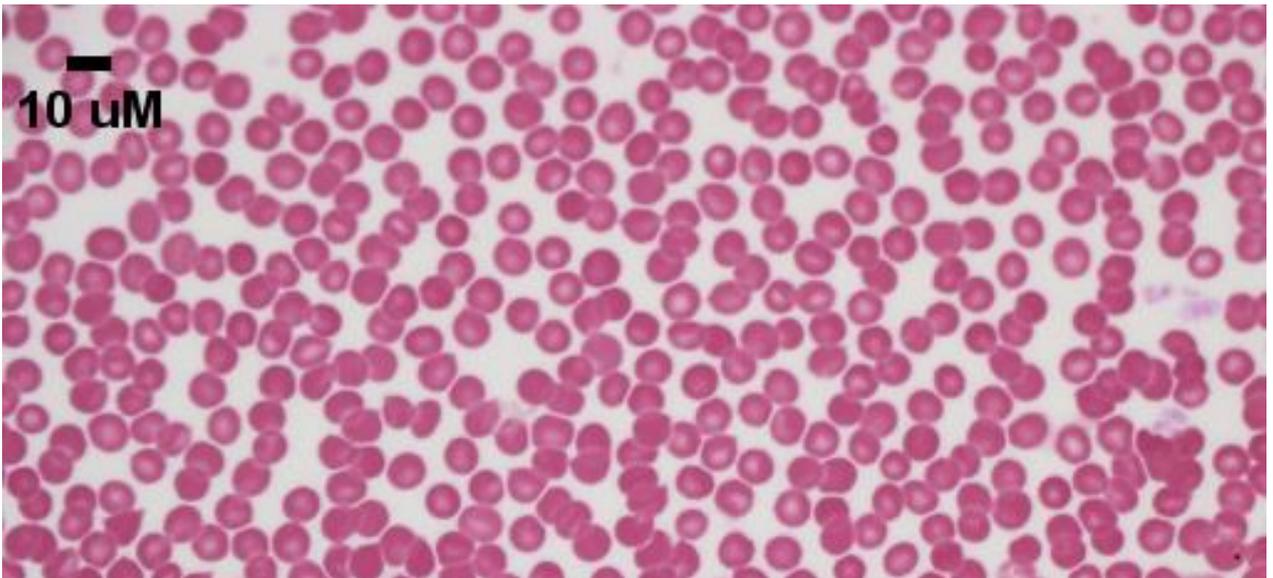


Figura 2: Eritrócitos obtidos de esfregaço sanguíneo corado com hematoxilina e eosina. Pode-se notar a forma e coloração normais, apesar da pequena variação em formas e dimensões, contorno redondo e zona mais clara central na maioria.

-Granulócitos

Os macrófagos e os neutrófilos são as células centrais da imunidade inata. Na medula óssea, células da linhagem mieloide se diferenciam nas linhagens granulocítica e monocítica, amadurecem e vão para a circulação sanguínea. Os neutrófilos originam-se da linhagem granulocítica, assim como os eosinófilos, basófilos e mastócitos, porém os neutrófilos são produzidos em maior número na medula (CALICH, VAZ, 2009)

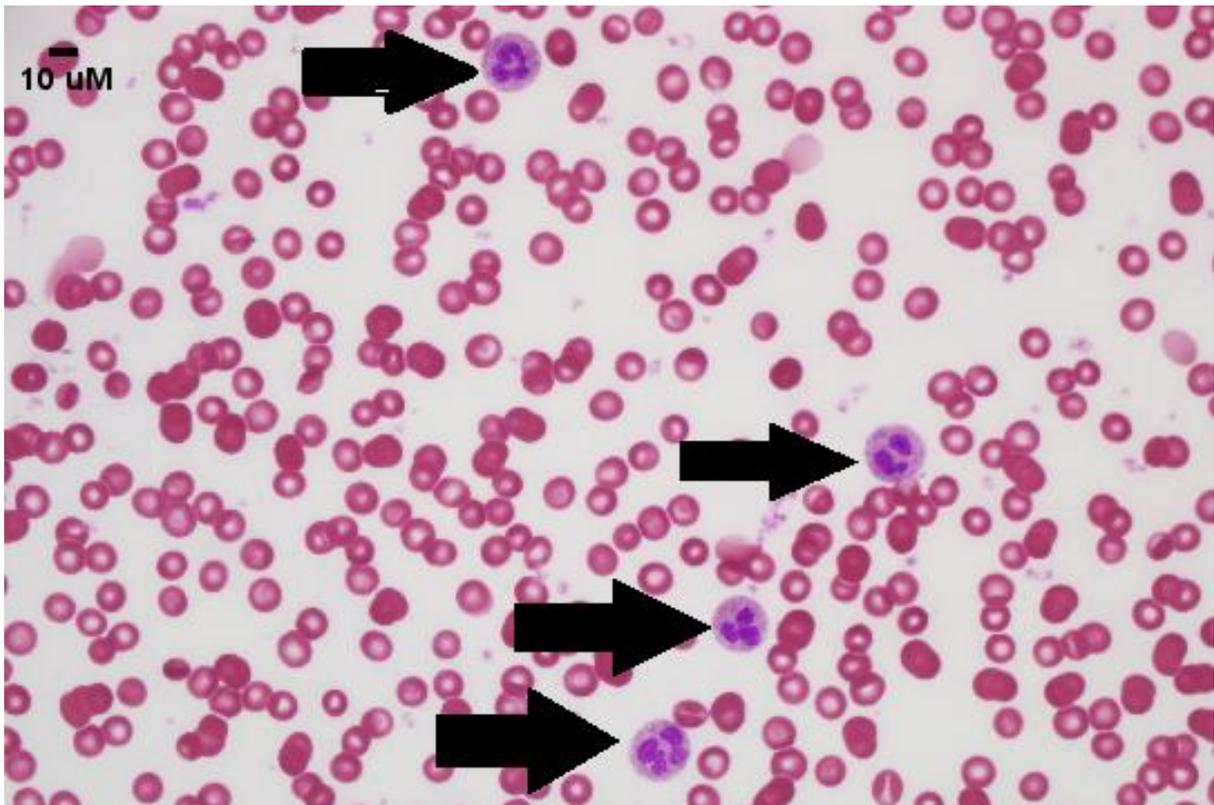


Figura 3: Granulócitos neutrófilos em esfregaço de sangue corado com HE. Os neutrófilos são os leucócitos encontrados em maior número na corrente sanguínea.

-Neutrófilos

Os neutrófilos, também denominados polimorfonucleares por conta das características de seu núcleo, denso e lobulado, têm citoplasma pálido com contorno irregular. O citoplasma é rico em grânulos de origem lisossômica, e a sobrevivência dessas células é de 6 a 10 horas. O precursor neutrofílico está presente na medula óssea e passa por várias fases de maturação até alcançar a forma de neutrófilo maduro, que cai na circulação sanguínea e atinge os tecidos (HOFFBRAND, MOSS, 2013).

Os neutrófilos são considerados a primeira linha de defesa contra infecções bacterianas e fúngicas, respondendo na presença de uma infecção ou de uma lesão inflamatória. A formação dos neutrófilos na medula leva de 10 a 14 dias, sendo imprescindível a ação de fatores hematopoiéticos para controlar o processo de proliferação e maturação celular. A primeira célula da linhagem

mieloide passível de ser reconhecida é o mieloblasto; são células grandes com nucléolo e pobres em grânulos no citoplasma, que por meio do processo de maturação e diferenciação celular virão a produzir grânulos primários que contém importantes substâncias microbicidas. A vida média destas células é de aproximadamente 8 horas, o que requer certa rapidez no processo de renovação e amadurecimento celular. Qualquer perturbação no processo pode levar a distúrbios decorrentes da hipo ou hiperprodução de neutrófilos, comprometendo os mecanismos de defesa do organismo (OZALLA *et al*, 2001).



Figura 4: Neutrófilo maduro apresentando núcleo trilobulado, circundado por eritrócitos.

-Monócitos

As células do sistema fagocítico mononuclear originam-se na medula óssea, circulam no sangue, amadurecem e tornam-se ativadas em vários tecidos. O primeiro tipo de célula que entra no sangue periférico depois de deixar a medula é incompletamente diferenciado e é chamado de monócito, que é a maior célula do sangue. Os monócitos têm de 10 a 15μM de diâmetro, possuem um núcleo em forma de feijão e um citoplasma finamente granuloso contendo lisossomas, vacúolos fagocíticos e filamentos de citoesqueleto. O núcleo cora-

se de azul-acizentado, que pode ser vacuolizado ou conter fina granulação azurófila (BAIN, 1996). Essas células, uma vez acomodadas nos tecidos, amadurecem e tornam-se macrófagos. Os macrófagos podem assumir diferentes morfologias. Alguns desenvolvem abundante citoplasma e, em razão da sua semelhança com células epiteliais da pele, são conhecidos como células epitelioides. Os macrófagos são encontrados em todos os órgãos e tecidos conjuntivos e têm recebido nomes especiais para designar localizações específicas (ABBAS, LICHTMAN, POBER, 2003).

Os fagócitos mononucleares funcionam como células acessórias nas fases de reconhecimento e ativação da resposta imune adquirida, atuando como células apresentadoras de antígenos e produzindo proteínas de membrana e secretadas que sirvam como sinal para células T. Porém, os macrófagos também possuem um importante papel efetor, seja atuando como célula fagocitária ou produzindo citocinas para recrutamento de outras células inflamatórias (ABBAS, LICHTMAN, POBER, 2003).

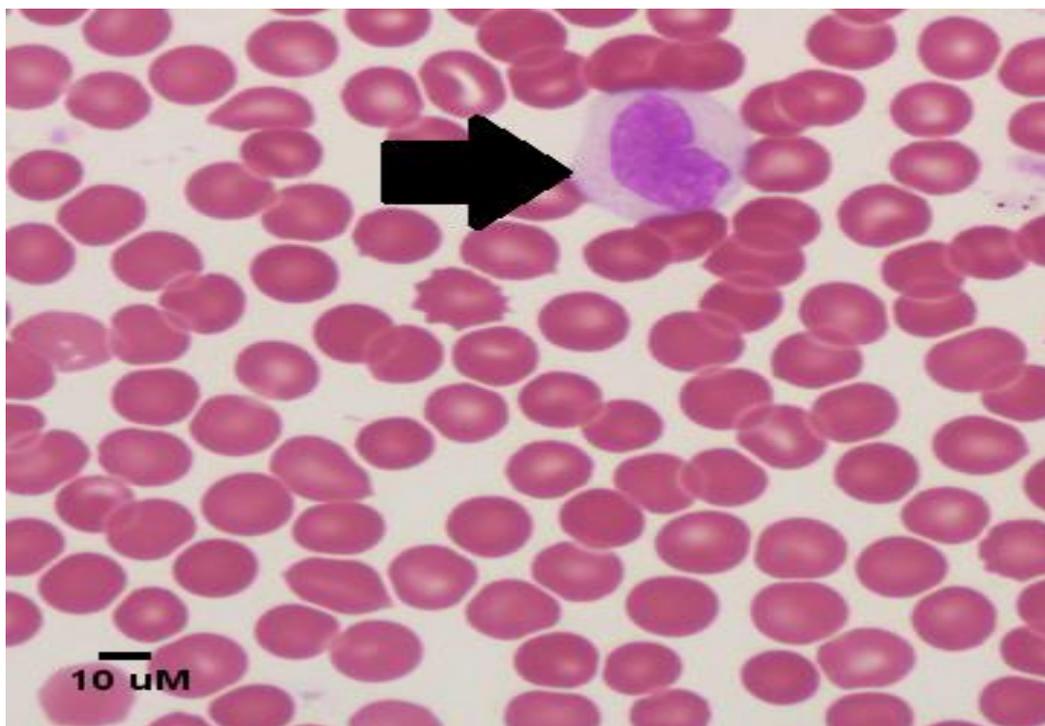


Figura 5: Monócito apresentando núcleo lobulado, em forma de feijão. Pode-se notar a diferença de tamanho entre os eritrócitos e o monócito. Citoplasma apresenta finíssima granulação. Notam-se algumas plaquetas.

-Eosinófilos, Basófilos e Mastócitos

Esses três tipos celulares são células efetoras das reações de hipersensibilidade imediata e da doença alérgica. Embora cada um desses tipos tenha características peculiares, os três tipos celulares contêm grânulos citoplasmáticos cujos conteúdos são os principais mediadores das reações alérgicas e os três tipos celulares produzem mediadores lipídicos e citocinas que também contribuem para a inflamação (ABBAS, LICHTMAN, POBER, 2003).

Os eosinófilos são células do sistema imune inato que têm papel central na defesa contra helmintos e em doenças alérgicas como a asma. Na medula óssea, e respondem por aproximadamente 2 a 5% de todos os leucócitos circulantes. Essas células se diferenciam de células tronco totipotentes em uma linhagem granulocítica (WONG, JELINEK, 2013). Eventualmente, os eosinófilos vão se tornar maduros, sair da medula óssea para cair na circulação sanguínea para residir em tecidos como o intestino, útero, glândulas mamárias e timo (KITA, 2011). Os eosinófilos possuem grânulos citoplasmáticos maiores do que os grânulos dos neutrófilos, e seu núcleo raramente possui mais do que três lóbulos. A função dos eosinófilos é de grande importância nas respostas alérgicas, defesa contra parasitos e remoção de fibrina formada durante a inflamação (VERRASTRO, LORENZI, NETO, 2010). Respondem a estímulos quimiotáticos, fagocitam e podem matar microrganismos ingeridos, são importantes na defesa contra parasitas teciduais, pois são capazes de liberar o conteúdo dos grânulos, o que causa sérios danos aos parasitas.

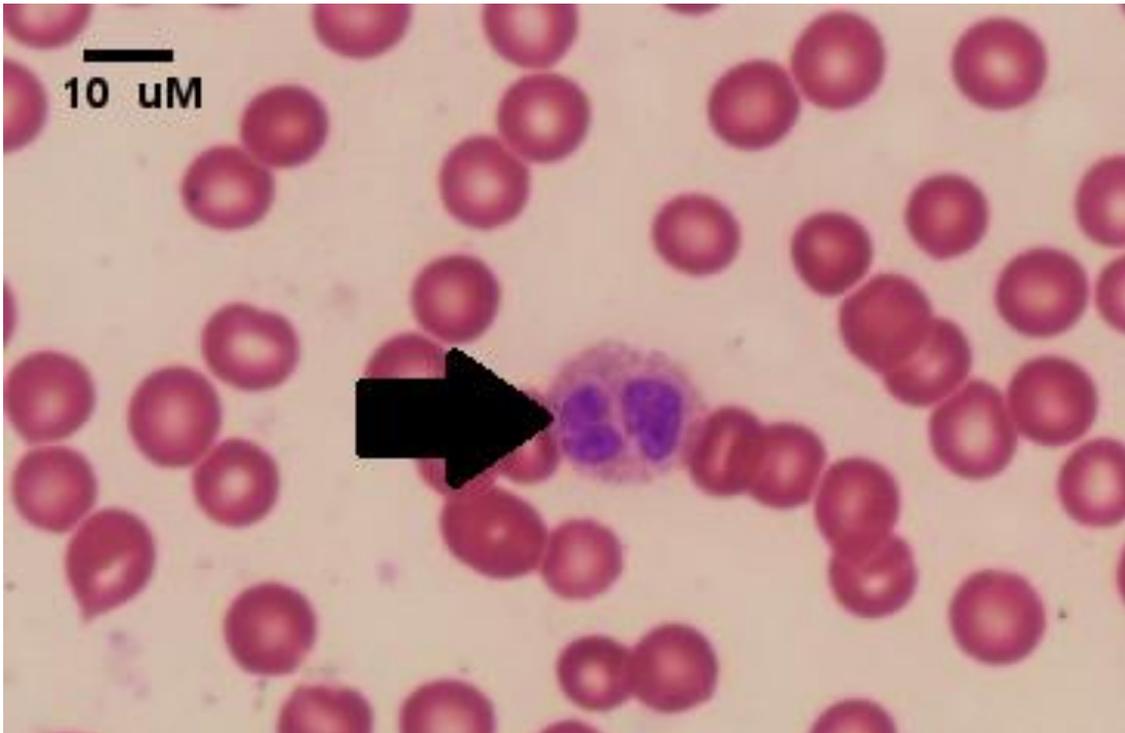


Figura 6: Eosinófilo bilobulado normal, com citoplasma cheio de grânulos. Fotografia tirada da cauda de esfregaço sanguíneo corado com HE.

Já os basófilos, que estão em menor número na corrente sanguínea em relação aos outros leucócitos, possuem numerosos grânulos no citoplasma que acabam por encobrir o núcleo (VERRASTRO, LORENZI, NETO, 2010). Os basófilos são granulócitos inflamatórios com semelhanças estruturais e funcionais aos mastócitos, porém são derivados de uma linhagem celular diferente (ABBAS, LICHTMAN, POBER, 2003). Representando apenas 1% dos leucócitos circulantes, os basófilos possuem núcleo segmentado com cromatina altamente condensada e são comumente identificados por sua coloração metacromática com corantes como o azul de toluidina. Desenvolvem-se a partir de células-tronco pluripotentes CD34+, diferenciam-se por estímulo de IL-3 e maturam na medula óssea para enfim cair na circulação (KEPLEY *et al*, 1998). Os basófilos estocam histamina pré-formada e liberam por degranulação, em consequência da ligação de um anticorpo IgE com uma substância alérgica. Essa ligação também desencadeia a produção de mediadores lipídicos da inflamação (KEPLEY *et al*, 1998).

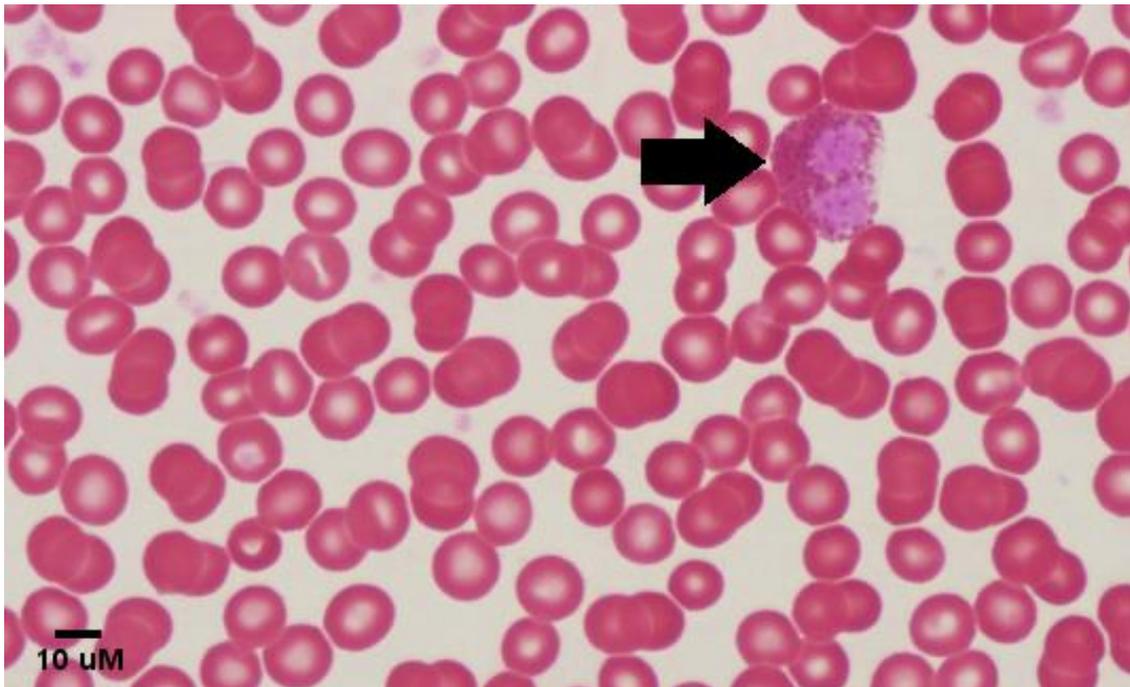


Figura 7: Basófilo normal com núcleo bilobulado, citoplasma repleto de grânulos púrpura contendo substâncias inflamatórias pré-formadas.

Os mastócitos geralmente não são encontrados maduros na circulação. Os mastócitos maduros são encontrados em sua maioria nas proximidades dos vasos sanguíneos e dos nervos e abaixo dos epitélios. A ativação dos mastócitos resulta em secreção do conteúdo pré-formado de seus grânulos por um processo de exocitose regulada, síntese e secreção de mediadores lipídicos e secreção de citocinas, assim como acontece nos basófilos (ABBAS, LICHTMAN, POBER, 2003).

-Plaquetas

O sistema hemostático é composto por vários elementos, incluindo os vasos, as proteínas de coagulação do sangue, os anticoagulantes naturais, o sistema de fibrinólise e, não menos importante, pelas plaquetas. O equilíbrio funcional deste sistema é garantido por uma variedade de mecanismos, envolvendo interações entre proteínas, respostas celulares complexas e regulação do fluxo sanguíneo (FRANCO, 2001).

As plaquetas são produzidas na medula óssea por fragmentação do citoplasma dos megacariócitos. Em um estágio variável de desenvolvimento, o citoplasma torna-se granuloso e as plaquetas são liberadas (HOFFBRAND, 2004). A maioria das plaquetas têm 1,3 a 3,5 μ M de comprimento, mas pode ser maior em algumas situações patológicas. Elas não têm núcleo e são cercadas por uma membrana de duas camadas lipídicas (LEWIS, 2006)

Os megacariócitos são células raras na medula óssea, porém além da formação de plaquetas, outras funções vêm sendo atribuídas a este tipo celular, como por exemplo a geração e manutenção do nicho da medula óssea. Os megacariócitos têm sido implicados na diferenciação de osteoblastos e osteoclastos, tanto *in vitro* como *in vivo* (MALARA *et al*, 2014).

Estes elementos figurados do sangue atuam no processo de hemostasia, cicatrização e re-epitelização. Elas liberam diversos fatores de crescimento que estimulam a angiogênese, promovendo o crescimento vascular e proliferação de fibroblastos, que por sua vez promovem o aumento da síntese de colágeno (VENDRAMIN, 2006).

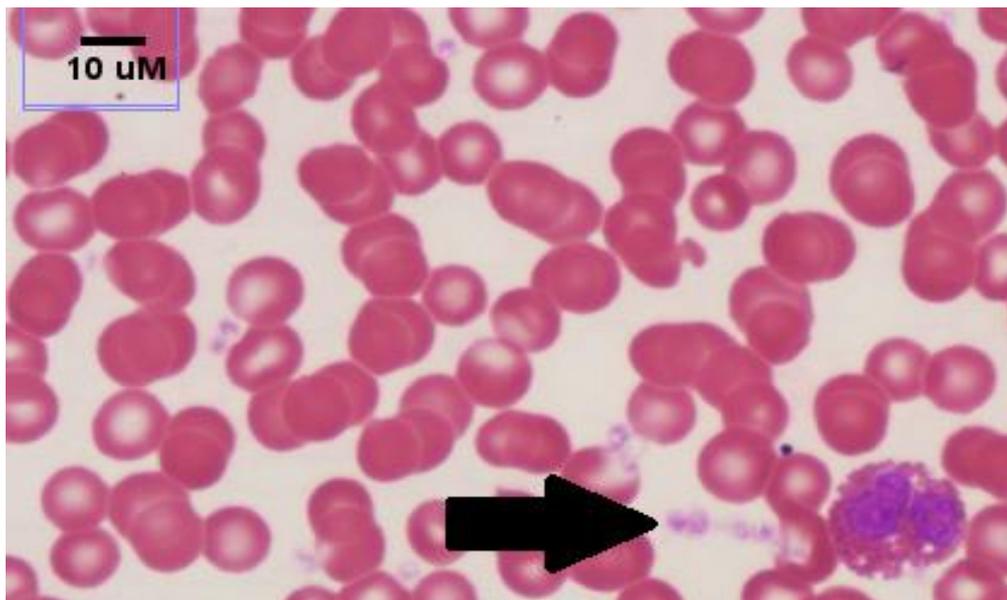


Figura 8: Demonstração de plaquetas em esfregaço sanguíneo. Pode-se notar que estas aglomeram-se e são difíceis de visualizar quando comparadas aos outros elementos sanguíneos.

5.5 Células linfoides

O tecido linfoide está distribuído em um certo número de órgãos como os linfonodos, o baço, o timo e as tonsilas. Ele pode estar difuso ou agrupado em órgãos que, à exceção do timo, são formados por folículos linfoides células. Os linfócitos e os plasmócitos, que deles derivam, originam-se de células indiferenciadas da medula óssea, passando por poucas fases intermediárias até a célula madura (BERNARD *et al*, 1998).

Os órgãos linfoides primários são os locais onde ocorre a linfocitopoiese, e são eles o baço e a medula óssea. Os linfócitos podem do tipo T ou do tipo B, e também do tipo NK (natural killer). Há também subtipos de linfócitos dentro desta classificação, que serão apresentados posteriormente (VERRASTRO, LORENZI, NETO, 2010).

Linfócitos T

São os linfócitos que amadurecem no timo, e são encarregados da imunidade mediada por células, atuando em sincronia com os linfócitos B e os macrófagos (ABBAS, 2012).

A imunidade celular mediada por essas células é a responsável por matar organismos como vírus e algumas bactérias intracelulares, que não estão acessíveis aos anticorpos circulantes. Os linfócitos T têm por função, então, eliminar esses organismos ou as células que os abrigam, visando eliminar o reservatório de infecção (ABBAS, 2012).

Os linfócitos T são divididos em tipos, e esta divisão foi elaborada em virtude das diferenças de função existentes entre eles:

-Linfócitos T auxiliares: são aqueles que induzem à síntese de imunoglobulinas pelos linfócitos B. Atuam através do estímulo à proliferação destes linfócitos frente à antígenos denominados timo-dependentes (VERRASTRO, LORENZI, NETO, 2010). Em resposta à estimulação antigênica, as células T auxiliares secretam proteínas, denominadas citocinas, que são

responsáveis por muitas das respostas celulares da imunidade natural e adquirida e que, portanto, atuam como moléculas mensageiras do sistema imunológico. As citocinas secretadas pelos linfócitos T auxiliares estimulam a proliferação e a diferenciação das próprias células T e ativam outras células, incluindo as células B, os macrófagos e outros leucócitos. (ABBAS, 2012)

-Linfócitos T supressores: estes atuam principalmente para inibir a resposta imunológica, na maioria das vezes a antígenos próprios.

-Células NK: células naturalmente citotóxicas são células CD8+ que não têm receptor de células T. São células grandes com grânulos no citoplasma e normalmente expressam moléculas de superfície CD16, CD56 E CD57. As células NK são orientadas para matar células alvo que tenham baixo nível de expressão de moléculas HLA classe 1, o que pode ocorrer durante infecção viral ou em células de proliferação maligna. As células NK desempenham essa função exibindo em sua superfície vários receptores de moléculas HLA. Quando há HLA expresso nas células-alvo, estas enviam um sinal inibitório para a células NK. Quando as moléculas HLA estão ausentes na célula-alvo, esse sinal inibidor é perdido, e então a células NK pode matar seu alvo. Ademais, as células NK exibem citotoxicidade anticorpo-dependente mediada por células. Neste processo, o anticorpo liga-se ao antígeno na superfície da célula e então a células NK liga-se à porção Fc do anticorpo e mata a célula- alvo (HOFFBRAND, MOSS, 2013).

Linfócitos B

A memória imunológica é um marco na resposta imune adaptativa de vertebrados superiores e é responsável pela imunidade de longo prazo contra uma variedade de agentes infecciosos. Esta capacidade de responder rapidamente a um patógeno em virtude de exposição prévia faz com que o sistema imune seja mais efetivo no combate às infecções e responda prontamente frente a uma ameaça. A memória imunológica permitiu avanços na área da vacinologia, uma vez que há manipulação do sistema imune por meio de exposição prévia ao agente infeccioso sem desenvolvimento de doença ou apenas com sintomatologia branda, de modo a imunizar o indivíduo, que irá

responder prontamente à uma segunda exposição ao patógeno (KOMEAGAE, 2010).

Os linfócitos B, como já citado anteriormente, são as células produtoras de anticorpos. São derivados das mesmas células indiferenciadas que originam outras linhagens de medula óssea (VERRASTRO, LORENZI, NETO, 2010).

A evolução geral que leva as células B do pequeno linfócito ao plasmócito ocorre após estímulos antigênicos em todos os órgãos periféricos e na medula. Após estímulo antigênico e interação com linfócitos T, é possível a secreção de diferentes tipos de imunoglobulinas (BERNARD *et al.* 1998).

Em termos de memória imunológica, há duas hipóteses a respeito da persistência de células B de memória. A primeira é que estas células permanecem mesmo na ausência do antígeno que as gerou (MURUYAMA *et al.*, 2000); a segunda é a hipótese de que esse antígeno permaneça na forma de imunocomplexos presentes na superfície de células dendríticas foliculares, e que este seria um fator essencial para a sobrevivência das células B de memória e para a produção de anticorpos específicos (GATTO *et al.*, 2007).

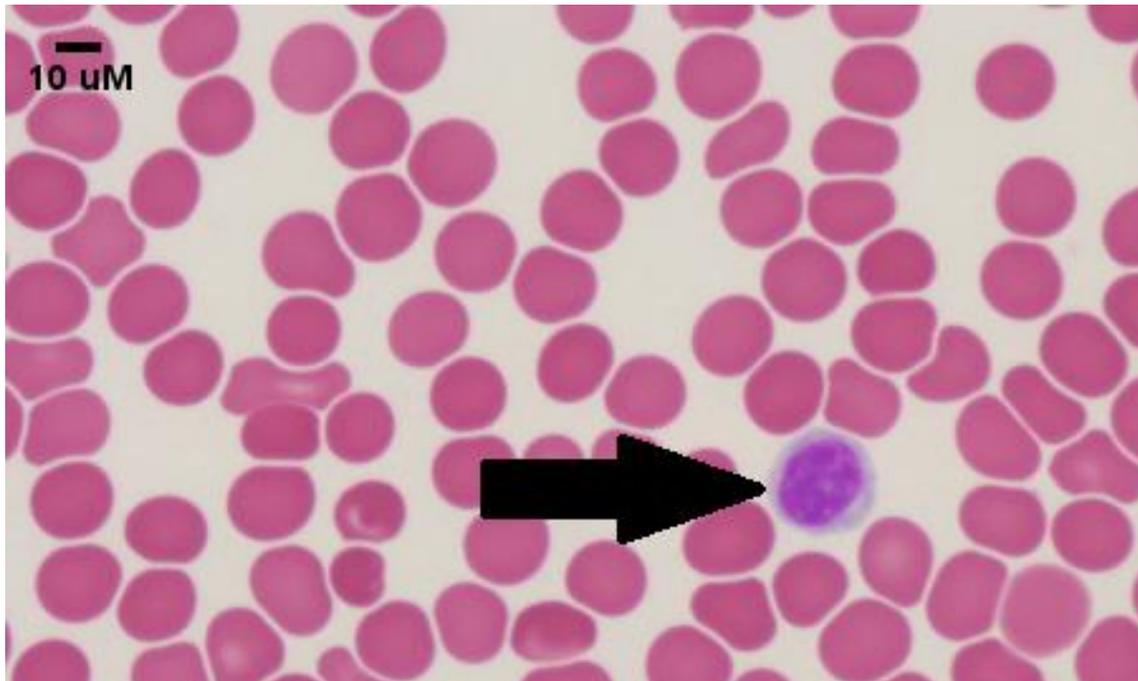


Figura 9: Linfócito pequeno em cauda de esfregaço sanguíneo. Os linfócitos não são distinguíveis morfolologicamente entre si, logo, aqui serão apresentadas imagens de linfócitos genericamente, sem distinção de subtipo.

5.6.Sangue

O sangue é um tecido fluído, formado por uma porção celular que circula em suspensão em um meio líquido, o plasma. A parte celular do sangue é denominada hematócrito, e representa até 45% do sangue; o restante (55%) contém proteínas dissolvidas (principalmente a albumina), sais, outros componentes orgânicos e água. O hematócrito é basicamente composto por eritrócitos (hemácias), uma vez que a quantidade de leucócitos e plaquetas é consideravelmente menor que a de glóbulos vermelhos (VERRASTRO, LORENZI, NETO, 2010).

Este fluído é indispensável à vida, circula pelo coração e vasos sanguíneos levando oxigênio e nutrientes aos tecidos e resíduos catabólicos inúteis para os pulmões, o fígado e os rins, onde são excretados. O sangue removido dos vasos forma um coágulo sólido, porém, se na presença de um anticoagulante em um tubo, separa-se por gravidade em três camadas (Figura). A camada inferior, vermelho-escura, é composta de eritrócitos. A camada superior, denominada plasma, é translúcida, amarelo-palha e rica em proteínas

dissolvidas. Entre essas duas camadas está o buffy coat, camada onde se localizam os leucócitos e plaquetas (BAIN, 1998).

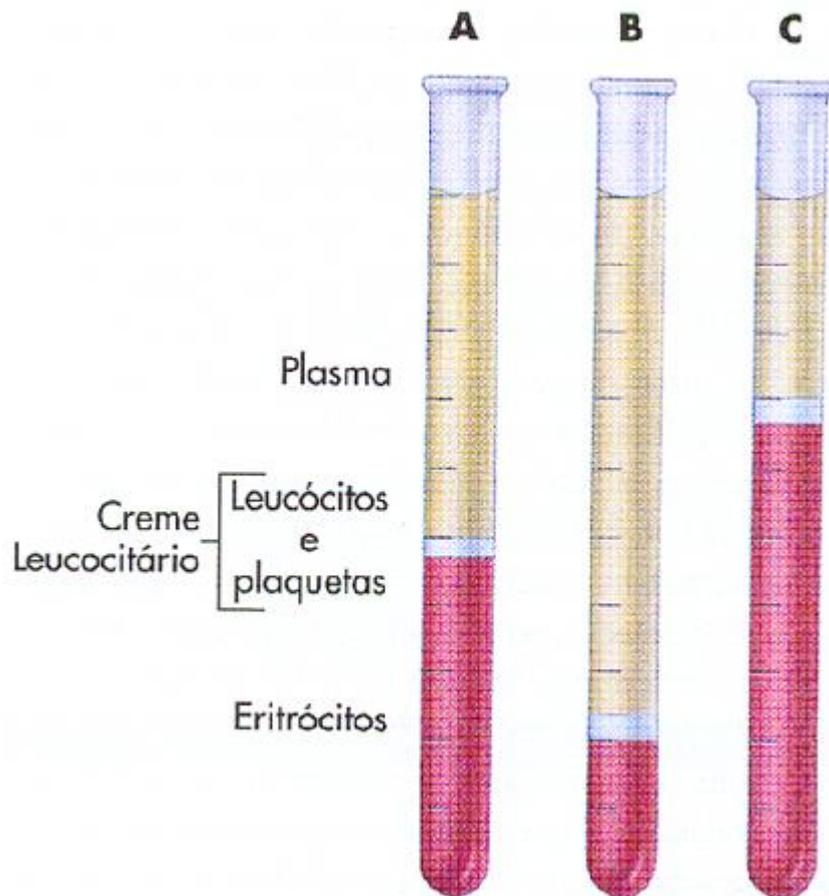


Figura 10: A, B e C mostram diferentes valores de hematócrito em um mesmo volume de sangue. Fonte: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAFKOcAH/universidade-comunitaria-regiao-chapeco>

A medida da fração ocupada pelos eritrócitos no tubo, expressa em relação ao volume total, denomina-se hematócrito. O valor do hematócrito tem uma boa relação com a dosagem de hemoglobina, logo, é um dos métodos utilizados para detecção de anemias (BAIN,1998). Uma vez que o número de eritrócitos predomina largamente sobre os demais elementos figurados (normalmente 500 hemácias para cada leucócito e 30 minúsculas plaquetas), o valor do hematócrito depende praticamente do volume ocupado pelos eritrócitos. Normalmente, no adulto, o valor do hematócrito oscila entre 36% a 50%, com uma média de 42% na mulher e 47% no homem. Em todas as anemias o valor do hematócrito está abaixo da média esperada. Já sua elevação pode ser

resultado de um aumento na produção de eritrócitos (poliglobulia, policitemia, eritremia ou eritrocitose) ou da diminuição do volume plasmático (hemoconcentração), como ocorre nas desidratações, no choque e nas queimaduras (MILLER, GONÇALVES, 1999).

O volume sanguíneo varia em torno de 5 litros, sendo frequentemente menor nas mulheres do que nos homens. O peso, idade e outros fatores também colaboram para a variação desse volume (BERNARD *et al*, 1998). Por outro lado, durante a gestação, o volume sanguíneo materno se eleva em torno de 40 a 50%, em decorrência tanto do aumento do volume plasmático quanto do aumento da massa total de eritrócitos e leucócitos na circulação. Apesar disso, a análise dos parâmetros hematológicos gestacionais deve ser feita com muito cuidado, uma vez que as mudanças em tais parâmetros se dão sob controle de diferentes mecanismos (SOUZA *et al*, 2002).

Quando se centrifuga um tubo de sangue colhido por via venosa ou arterial e acrescenta-se anticoagulante, separam-se as células (eritrócitos, leucócitos e também plaquetas) do plasma, os primeiros frequentemente chamados de elementos figurados do sangue. O exame desses elementos figurados do sangue se faz por meio do hemograma, que permite tanto uma análise quantitativa quanto morfológica dos elementos do sangue. A análise quantitativa permite mensurar o número absoluto de células contidas por unidade de volume de sangue, utilizando-se de um contador eletrônico na maioria das vezes (BAIN, 1998).

5.7 Sistema Linfático

O sistema linfático possui várias funções fundamentais como o controle da homeostase macromolecular, absorção de lipídeos, metástases, função imunológica e controle dos fluidos teciduais. Tem como principal característica a capacidade de remover líquidos e proteínas dos espaços intersticiais. A remoção desses elementos, por sua vez, só é possível por meio da membrana capilar linfática, que é mais permeável que a membrana capilar sanguínea. Dessa forma, quando ocorre a falência do sistema linfático, associada à inadequada

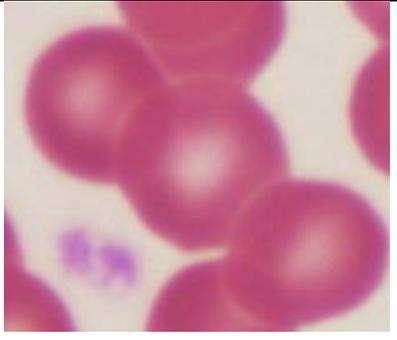
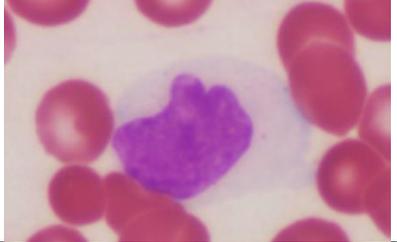
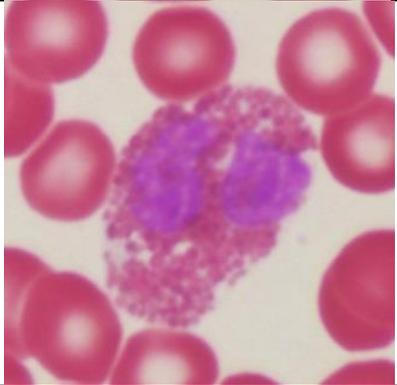
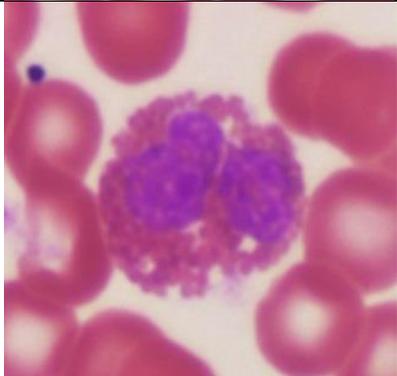
ação dos macrófagos e consequente estagnação de proteínas plasmáticas, pode-se observar o surgimento do linfedema (REZENDE *et al*, 2008).

Este sistema circulatório é uma rede de vasos linfáticos e órgãos linfáticos secundários, que, em contraste com o sistema circulatório sanguíneo, termina de forma brusca, no qual fluídos teciduais, células e uma grande quantidade de moléculas teciduais, coletivamente chamados de linfa, são drenados para os vasos capilares linfáticos. Estes têm sua origem no espaço intersticial, vão aumentando gradualmente seu calibre, penetram nos linfonodos e eventualmente retornam a linfa à corrente sanguínea por meio da veia subclávia. Adicionalmente à manutenção da homeostase dos fluidos teciduais, o sistema linfático serve como via de passagem para células do sistema imunológico, tais como linfócitos e células apresentadoras de antígeno para linfonodos regionais. Estes linfonodos acabam entrando em contato com antígenos de tecidos periféricos, e são estimulados por citocinas secretadas por células B durante a inflamação (CHOI, LEE, HONG, 2012).

Morfologicamente falando, os vasos linfáticos têm estrutura mais delicada do que os vasos sanguíneos. Os primeiros são mais delicados, formados por uma única camada de células linfáticas endoteliais, e os últimos são formados por células vasculares endoteliais, uma camada fina de músculo liso e uma membrana endotelial, sendo, portanto, mais resistentes (TAMMELA, ALITALO, 2010).

5.8 Análises quantitativas e qualitativas: o hemograma e a distensão sanguínea

O hemograma é o nome dado ao conjunto de avaliações de células do sangue que, reunidas aos dados clínicos, permite conclusões diagnósticas e prognósticas de grande número de patologias. Entre todos os exames solicitados por médicos de todas as especialidades, o hemograma é o mais requerido (NAOUM, 2005).

Célula		Tamanho
Eritrócitos		7 a 10 micrometros de diâmetro
Neutrófilo		20 micrometros de diâmetro
Monócito		20 micrometros de diâmetro (variável)
Eosinófilo		20 a 22 micrometros de diâmetro
Basófilo		15 a 20 micrometros de diâmetro

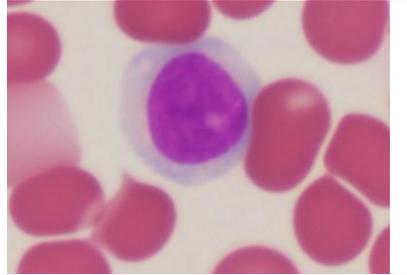
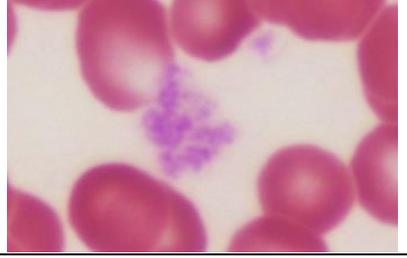
Linfócito		18 micrometros de diâmetro
Plaquetas		2micrometros de diâmetro

Tabela 1: Tamanho médio dos elementos figurados do sangue, com base em dados encontrados na literatura biomédica.

Os dados fornecidos pelo hemograma são essenciais para a investigação de doenças hematológicas. Um bom exemplo é o aumento das cifras eritróides no hemograma. Esta alteração pode indicar eritrocitose verdadeira ou aparente, o que não é possível distinguir apenas considerando os dados apresentados no hemograma, logo faz-se necessária uma investigação mais profunda (BAIN, 1998). Adicionalmente, um simples hemograma pode indicar pancitopenia, ou seja, uma diminuição conjunta de três linhagens de células sanguíneas: eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Uma das causas da pancitopenia é a aplasia de medula, que resulta em anemia aplástica, que por sua vez tem consequências graves como retardo no crescimento (HOFFBRAND, MOSS, 2013). Os contadores automatizados constantemente têm incorporado novas tecnologias que permitem uma análise mais detalhada das células. Informações referentes tanto a aspectos quantitativos como morfológicos das células sanguíneas podem ser úteis na análise da medula óssea (GROTTO, 2009).

A união de aspectos quantitativos e aspectos morfológicos nos proporciona uma visão mais clara e potencialmente diagnóstica das alterações hematológicas. Logo, o hemograma, quantitativo, e a análise da distensão sanguínea, qualitativa, têm grande valor para o clínico.

Abaixo, uma adaptação de um hemograma retirado da internet:

Hemograma			
Material: Sangue total com EDTA (coletado em 27/06/2012)			
Método: Automação - Micros 60 / ABX			
ERITROGRAMA			
Eritrócitos	5,2 milhões/mm³		4,5 a 5,9 milhões/mm ³
Hemoglobina	12 g%		12,0 a 17,5 g%
Hematócrito	46 %		40 a 52 %
VCM	88,46 U ³		80 a 100 U ³
HCM	23,08 pg		26 a 34 pg
CHCM	26,09 %		31 a 36 %
Observações:			
LEUCOGRAMA			
Leucócitos	8.700 /mm³		4.500 a 11.000 /mm ³
Neutrófilos	67 %		
Metamielócitos	0 %	0 /mm³	0 a 1 % Até 100 /mm ³
Bastonetes	0 %	0 /mm³	0 a 4 % Até 400 /mm ³
Segmentados	67 %	5.829 /mm³	36 a 66 % 2000 a 7500 /mm ³
Eosinófilos	3 %	261 /mm³	0 a 4 % 100 a 400 /mm ³
Basófilos	0 %	0 /mm³	0 a 1 % Até 100 /mm ³
Linfócitos	28 %	2.436 /mm³	20 a 40 % 900 a 4400 /mm ³
Monócitos	2 %	174 /mm³	2 a 8 % 200 a 800 /mm ³
Plaquetas	280.000 /mm³		150.000 a 400.000 / μ L

Figura 11: Exemplo de hemograma sem alterações quantitativas. Pode-se observar os parâmetros de normalidade estabelecidos do lado direito da imagem. Tais parâmetros podem variar com o equipamento utilizado, porém dentro de uma margem pequena. Fonte: <http://laboratorionossodecadadia.blogspot.com.br/2013/05/entenda-o-hemograma.html>

Juntamente com o hemograma, ou ainda, parte dele, a distensão sanguínea nos permite avaliar morfológicamente as linhagens de células sanguíneas. Esse método consiste em distender o sangue em uma lâmina de vidro, fixá-lo com álcool metílico para preservação das células e corá-lo, em muitos casos, com corante de hematoxilina-eosina. Há muitos cuidados a se tomar quando preparando uma distensão. Deve-se atentar para o tempo entre a coleta e o preparo, a formação de artefatos de preparação e conservação das células. Qualquer falha no processo pode levar à uma interpretação errônea dos resultados, e em última instância, um diagnóstico equivocado.

A respeito da dinâmica hematológica, ainda há muito a se descobrir. Dentro de padrões considerados normais há uma vasta gama de variações, variações estas que podem ser justificadas com base no gênero do indivíduo,

sua idade, hábitos, região onde vive, alimentação, genética e idade, por exemplo (BAIN, 1998).

O olhar crítico se faz estritamente necessário ao se analisar dados laboratoriais, uma vez que equipamentos modernos fazem uma leitura mais precisa e acurada dos dados, porém estes mesmos equipamentos não são capazes de considerar todos os parâmetros que um profissional capacitado enxerga ao analisar números gerados por uma máquina. Assim sendo, só é possível chegar a um resultado fidedigno aliando-se os dados gerados por um equipamento com um olhar humano crítico, que considera as variações da espécie humana como ponto importante para diagnóstico.

A hematologia é uma ciência integradora que agrega disciplinas como imunologia, genética, hemoterapia, biologia celular, morfologia, entre outras grandes áreas. Devido à essa grande complexidade, seu estudo é de fato extremamente árido e requer dedicação especial. Mais do que saber o que está vendo, é preciso analisar cuidadosamente o que se vê, atentar aos detalhes para que nada passe despercebido. Um hemograma normal pode falsamente indicar uma doença grave como uma leucemia, se não passar pelo crivo de um bom profissional analista.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitiram concluir que:

1. O sangue é um tecido fluido formado por uma porção celular que circula em suspensão num meio líquido, o plasma, este que é constituído por aproximadamente 92% de água. Este tecido é o responsável por carrear oxigênio e retirar o gás carbônico e outros metabólitos dos tecidos, mantendo assim o bom funcionamento do organismo.
2. Os constituintes do sistema sanguíneo são elementos indispensáveis à vida, circulam pelo coração e pelos vasos sanguíneos levando oxigênio e nutrientes aos tecidos, ao mesmo tempo que constroem barreiras de defesa contra organismos nocivos. Cada célula que compõe o sistema sanguíneo tem uma função específica definida por fatores de crescimento que estimulam sua diferenciação em uma linhagem, seja ela mieloide ou linfoide.
3. Os elementos figurados do sangue têm formas e tamanhos diferentes, e a morfologia desses elementos está associada à sua função. Existe variação anatômica na morfoquantificação celular quanto a idade, sexo, raça e estado gestacional.
4. Em conjunto com o sistema circulatório composto pelos vasos sanguíneos e o sangue, o sistema linfático também tem papel importante na manutenção da homeostase, uma vez que funciona como um sistema de drenagem do líquido intersticial e atua no sistema imunológico.
5. O sistema linfático e o sangue são dois grandes sistemas circulatórios presentes no organismo que guardam algumas similaridades anatômicas. Apesar do sistema linfático ter sido, por muito tempo, considerado secundário ao sistema circulatório sanguíneo, este panorama vem sendo questionado à medida que novos estudos vêm sendo desenvolvidos e novas descobertas vêm trazendo à luz dados preciosos a respeito do sistema linfático.

7.REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.K., LICHTMAN, A.H., POBER, J.S. **Imunologia Celular e Molecular**, Rio de Janeiro, Ed. Revinter, 4^o edição, 2003.
- ALBERTS, B., BRAY. D., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K., WATSON, J.D. **Molecular biology of the cell**. 3rd ed. New York: Garland Publishing, 1994
- ALVEZ, A.C. Histologia da Medula Óssea. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Vol , n. 2009.
- BAIN,B.J., **Células Sanguíneas: consulta rápida**. 1^a edição, São Paulo, Ed. ArtMed, 1998.
- BANCROFT, J. D., STEVENS, A. **Theory and Practice of Histological Techniques**. Churchill Livingstone, 1996.
- BARRIOS, M.F., HÉRNANDEZ, I.G., GÓMEZ, H.G.D. Vitamina B12: metabolismo y aspectos clínicos de su deficiência. **Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter** v.15 n.3 Ciudad de la Habana sep.-dic. 1999
- BENTO, R.M.A., DAMASCENO, L.M.P., NETO, F.R.A. Recombinant Human Erythropoietin in sport: a review. **Rev. Bras. Med. Esporte**, Vol. 9, n. 3. 2003.
- BERNARD, J., LÉVY, J-P., VARET, B., CLAUVEL, J-P., RAIN, J-D., SULTAN, Y. **Hematologia**, Rio de Janeiro, Ed. Médica e Científica, 9^o edição, 1998.
- CALICH, V., VAZ, C. **Imunologia**. Rio de Janeiro, Ed. Revinter, 2^o edição, 2009.
- CATHARINO, R.R., GODOY, H.T., LIMA-PALLONE, J.A., Metodologia Analítica para Determinação de Folatos e Ácido Fólico em Alimentos. **Quím. Nova**, vol. 29, n. 5, pp. 972-976, 2006.
- CHOIN, I., LEE, S., HONG, Y.K., The new era of the lymphatic system: no longer secondary to the blood vascular system. **Cold Spring Harb Perspect Med**. 2012 Apr; 2(4).
- COOPER, G.M. The cell surface In: *The cel: a molecular approach*. Washington: **ASM Press** 1997, cap.12, p.467-517
- FARIAS, M.G., CASTRO, S.M. Diagnóstico Laboratorial das Leucemias Linfoides Agudas. **J. Bras. Patol. Med. Lab**. Vol. 40., n. 2. Pp. 91-98, 2004.

FRANCO, R.F., Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. **Simpósio de Hemostasia e Trombose**, cap.1, 229,237, 2001.

GALLAGER, P.G, FORGET, B.G., LUX, S.E. Disorders of Erythrocyte Membrane. In: NATHAN, D.G., OSKI, F.A., ORKIN, S.H. **Nathan and Oski's Hematology of Infancy and childhood**. 5ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. cap.16, p.544-664

GATTO, D., MARTIN, S.W., BESSA, J., PELICOLI, E., SAUDAN, P., HINTON, H.J., BACHMANN, M.F. Regulation of memory antibody levels: the role of persisting antigen versus plasma cell life span. **J. immunology**, v. 1, pp. 67-76, 2007.

GROTTO, H.Z.W., O hemograma: importância para interpretação da biópsia. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** vol.31 no.3 São Paulo, 2009

HOFFBRAND, A.V., MOSS, P.A.H., **Fundamentos em Hematologia**. Porto Alegre, Ed. Artmed, 6ª edição, 2013.

KEPLEY, C.L., PFEIFFER, J.R., SCHWARTZ, L.B., WILSON, B. S., OLIVER, J.M. The identification and characterization of umbilical cord blood-derived human basophils. **Journal of Leukocyte Biology**, Volume 64, 1998. Pp. 474-475.

KITA, Eosinophils: multifaceted biological properties and roles in health and disease. **Immunol Rev.** 2011; 242:161–177. [PubMed: 21682744]

KOMEGAE, E.N., Papel dos receptores inatos TLR na formação de memória humoral e linfócitos B de longa vida: ação das proteases natterinas, proteínas majoritárias do veneno de *Thalassophryne nettereri*.

LEWIS, S.M. **Hematologia prática de Dacie e Lewis**, São Paulo, Artmed, 2006.

MALARA, A., CURRAO, M., GRUPPI, C., CELESTI, G., VIARENGO, G., BURACCHI, C., LAGHI, L., KAPLAN, D.L., BALDUINI, A., **Megakaryocytes contribute to the bone marrow-matrix environment by expressing fibronectin, type IV collagen and laminin**. NIH-PA, 2014.

MENDES, D.M., CAMARGO, M.F., AUN, V., FERNANDES, M.F.M., AUN, W.T., MELLO, J.F. Eosinofilia. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**. Vol 23, n.2, pp. 84-91, 2000.

MILLER, O., GONÇALVES, R.R., Laboratório para o clínico. Ed. Atheneu, 8ª edição, São Paulo, 1999.

MURADOR, P.; DEFFUNE, E. Aspectos estruturais da membrana eritrocitária. **Rev.bras.hematol.hemoter.**,29(2):168-178,2007.

MURUYAMA, M., LAM, K.P., RAJEWSKY, K., Memory B-cell persistence is independent of persistente immunizing antigen. **Nature**, v. 407, pp 636-642, 2000.

NAOUM, P.C., NAOUM, F.A., **Hematologia Laboratorial. Eritrócitos**. Editora Academia de Ciência e Tecnologia, S.J. Rio Preto, 2005.

OLIVEIRA, A.P., MARCHIORI, E., SOUZA JR. A.S. Comprometimentos Pulmonar nas Leucemias: Avaliação Pulmonar por Tomografia Computadorizada de Alta Resolução. **Radio Bras**. Vol. 37, pp 405-412. 2004.

OZALLA, C.B.A., RUBIO, M.L., SUÁREZ, J.G., LLORENTE, M., Alteraciones funcionales de los granulocitos. *Enfermedades de la sangre*, 2001; 8(52): 2743-2748.

PANIZ, C., GROTTTO, D., SCHMITT, G.C., VALENTINI, J., SCHOTT, K.L., POMBLUM, V.J., GARCIA, S.C. Fisiopatologia da deficiência da vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Vol 41, n.5, pp. 323-34, 2005.

PSAILA B., LYDEN D., ROBERTS, I. Megacaryocytes, malignancy and bone marrow vascular niches. **J Thromb Haemost**. 2012 February ; 10(2): 177–188.

QUIXABEIRA, V.B.L., SADDI, V.A. A importância da imunofenotipagem no diagnóstico das leucemias: uma revisão da literatura. **RBAC**, vol. 40(3): 199-202, 2008

RAZOUK, F.H., REICHE, E.M.V., Caracterização, produção e indicação clínica dos principais hemocomponentes. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**, Vol. 26, pp. 126-134, 2004.

REZENDE, L.F., PEDRAS, F.V., RAMOS, C.D., GURGEL, M.S.C. Avaliação das compensações linfáticas no pós-operatório do câncer de mama com dissecação axilar através de linfocintilografia. **J Vasc Bras**. 2008;7(4):370-375

RIVER, L., SAUGY, M. Peptides hormones abuse in sport: state of the art in the detection of growth hormone and erythropoietin. **J Toxicol-Toxin Reviews**. In press 2003.

SAAD, S.T.O., Causas genéticas da deficiência de ferro. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**. vol.32 supl.2 São Paulo June 2010 Epub June 18, 2010

SCADDEN, D.T. The stem cell niche as na entityof action. **Nature**. 2006. 441:1075-9. PubMed.

SOARES, T.F.A. **Comparação da marcação nuclear para evidência de ADN**. Dissertação de Mestrado, Universidade de Coimbra, 2013.

SOUZA, A.I., FILHO, M.B., FERREIRA, L.O.C. Alterações hematológicas e gravidez. *Rev. Bras. Hemot. Hematol.* 2002, 24 (1), pp. 29-36.

TAMMELA, T., ALITALO, K. Lymphangiogenesis: Molecular mechanisms and future promise. *Cell* 140: 460–476, 2010.

TELEN, M.J. **Erythrocyte Blood Group Antigens: Not Simple After All**. *Blood*, v.85, p.299-306, 1995

THAME, G., SHINOHARA, E.M.G., SALSONE, C.M., SANTOS, J.C., UEHARA, D.Y., MORON, A.F. Determinação de valores de ácido fólico sérico em gestantes com até 22 semanas de gestação. *NewsLab* 1996; 4:57-61.

TRAVLOS, G.S. Normal Structure and Function of the Bone Marrow. *Toxicologic Pathology*, Vol. 34, Nº 5, 2006, pp.548-565.

VENDRAMIN, V.S., FRANCO, D., NOGUEIRA, C.M., PEREIRA, M.S., FRANCO, T.R. Plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento: técnica de preparo e utilização em cirurgia plástica. *Rev. Col. Bras. Cir.*, vol.33, n.1, 2006

VERRASATRO, T., LORENZI, T., WENDEL NETO, S. **Hematologia e Hemoterapia: Fundamentos de Morfologia, Fisiologia, Patologia e Clínica**. Rio de Janeiro, Ed. Atheneu, 1ª edição, 2010.

WAJCMAN, H, LANTZ, B., GIROT, R. Les Maladies du globule rouge. Paris: Les éditions INSERM. *Médecine–Sciences Flammarion*;1984. cap. 3, p.31–44.

WONG, T.W., JELINEK, D.F., Purification of functional eosinophils from human bone marrow. *J Immunol Methods*. 2013 January 31; 387(1-2): 130–139.

ZHAO, E., XU, H., WANG, L., KRYKZEK, I., WU, E., HU, Y., WANG, G., ZOU, W. Bone marrow and the control of immunity. *Cellular & Molecular Immunology*, 2012, 9, 11–19.