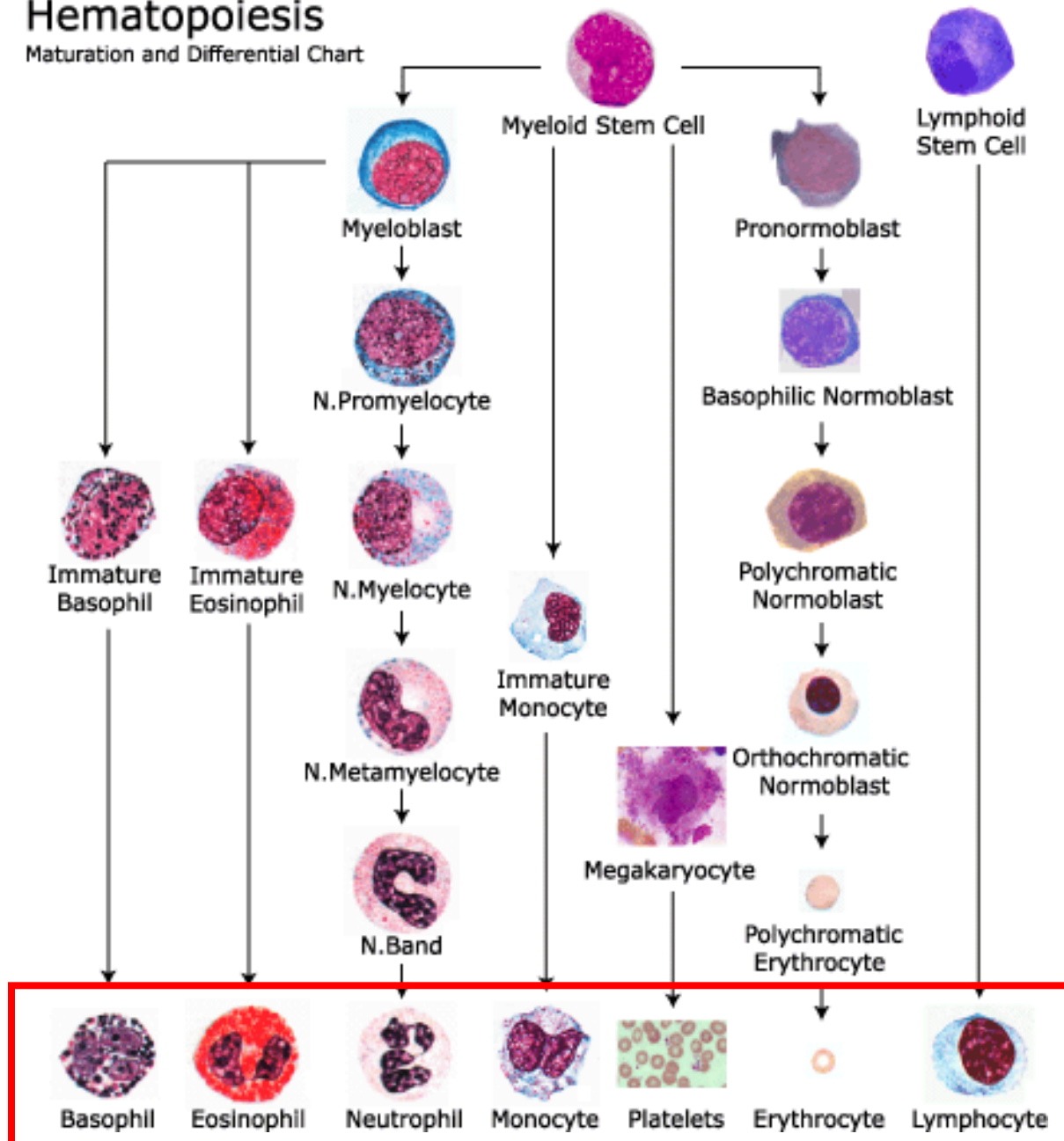


Morfologia e Função dos Leucócitos

Profa Alessandra Barone
Prof. Archangelo P. Fernandes
www.profbio.com.br

Hematopoiesis

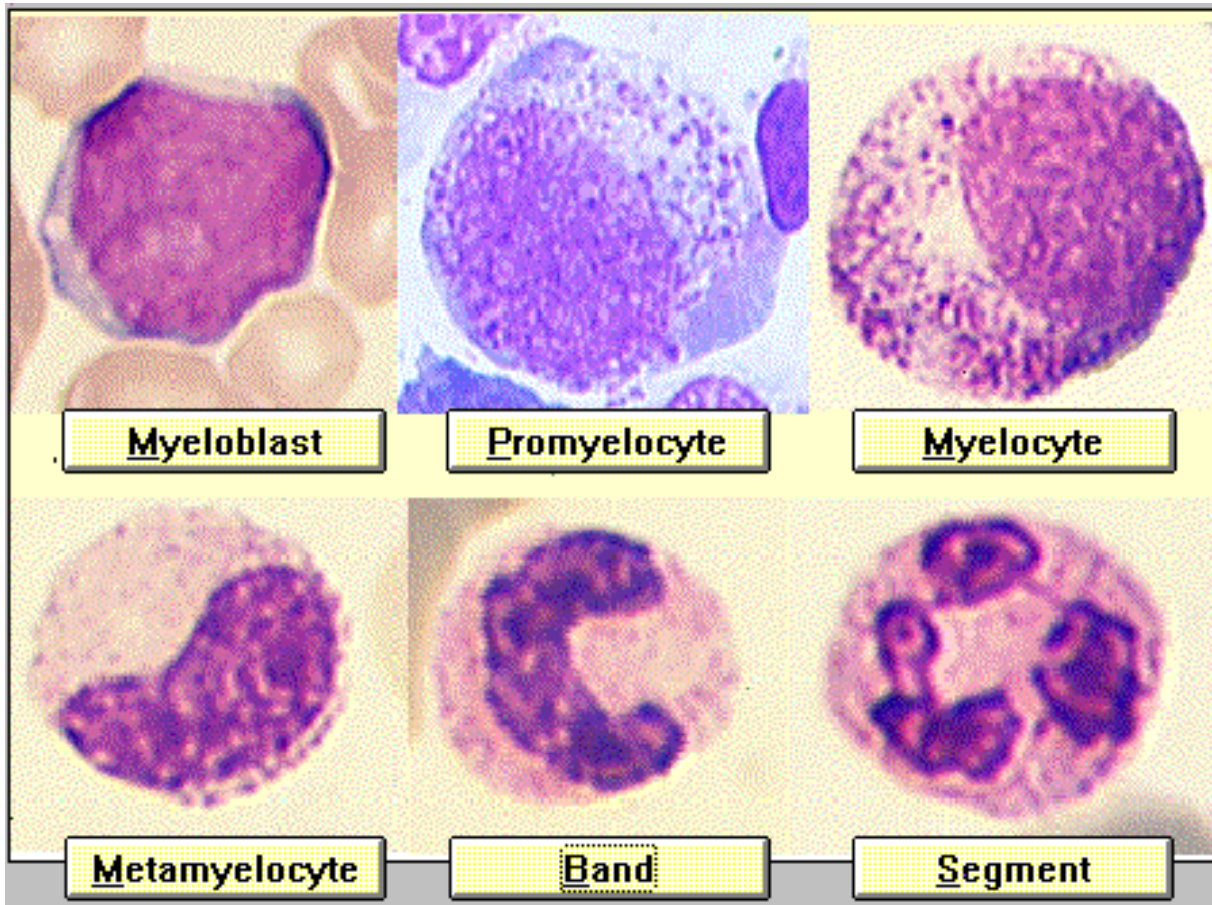
Maturation and Differential Chart



Leucócitos

- Polimorfonucleares / Granulócitos
 - Neutrófilos
 - Eosinófilos
 - Basófilos

Granulopoiesis



Leucócitos

- **Mononucleares**
 - **Monócitos**
 - **Linfócitos**
 - Linfócito B
 - Linfócitos T
 - T auxiliar (“helper”)
 - T supressor e citotóxicos
 - T “Natural Killer”

POLIMORFONUCLEARES

Características gerais

- Diminuição da quantidade de mitocôndrias no processo de maturação das células
- Utilização de CH através da glicólise anaeróbia (rota principal), “shunt hexosemonofosfato” (HMP) e ciclo de krebs
 - Neutrófilos podem utilizar lipídeos com fonte de energia

Características gerais

- Utilização de enzimas oxidativas e hidrolíticas
 - Oxidativas: ingestão e morte dos microorganismos
 - Hidrolíticas: digestão de partículas

Neutrófilos

- Diâmetro ao redor de $12\mu\text{m}$
- Núcleo contendo de 2 a 5 lobos
- Citoplasma ligeiramente acidófilo, com granulações finas de coloração rósea
- Maior quantidade de mitocôndria quando comparado com EO e BA

Neutrófilos

- Vida média na circulação de 7 a 8 horas
- Atuam na defesa do organismo contra processos infecciosos.
- Grande capacidade fagocítica
- Apresentam receptores para porção fc de IgG, IgM e fração C3b do sistema complemento

Neutrófilos

- Presença de granulações primárias (azurófilas)
 - Hidrolases ácidas, fosfatases ácidas, mieloperoxidase, elastase, catepsina, collagenase, lisozima, proteínas catiônicas (ex: proteína bactericida de aumento da permeabilidade), etc

Neutrófilos

- **Proteínas catiônicas:** destroem microrganismos, aumentam a permeabilidade vascular, promovem a quimiotaxia dos monócitos e inibem a movimentação de outros neutrófilos e eosinófilos.
- **Hidrolases ácidas:** degradam bactérias e restos de material em pH ácido
- **Catepsina:** protease
- **Mieloperoxidase:** catalisa a formação de espécies reativas de oxigênio.

Neutrófilos

- Granulações secundárias
 - Lactoferrina, fosfatase alcalina, lisozima, aminopeptidase, histaminase, collagenase tipo IV, etc
- Granulações terciárias
 - Gelatinase

Neutrófilos

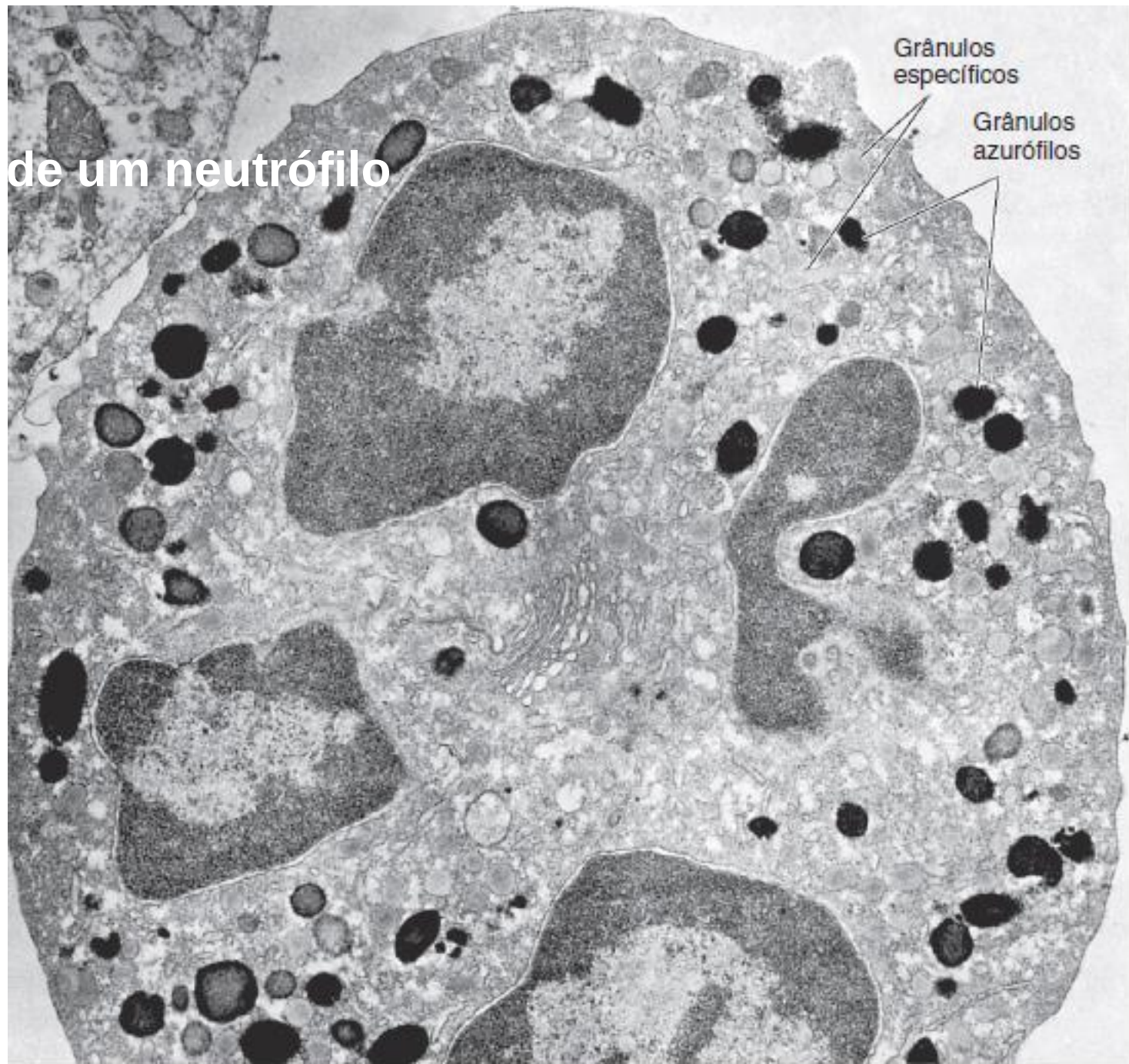
- **Lisozima:**

- Destroi peptideoglicano da parede celular bacteriana

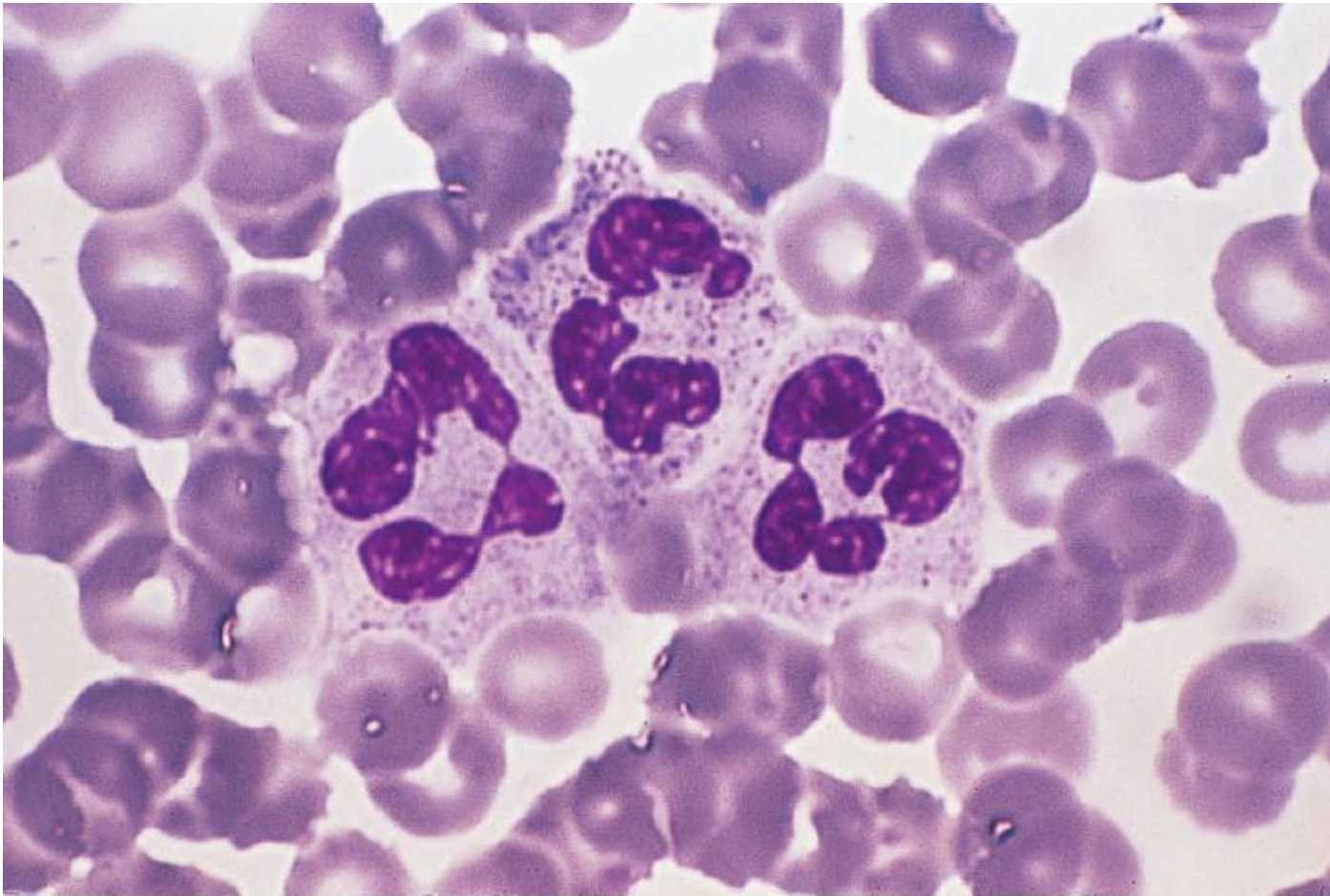
- **Lactoferrina:**

- Sequestra Fe^{2+} importante no metabolismo das bactérias agindo como bacteriostático
- Promove agregação de neutrófilos entre si no foco infeccioso.

Micrografia eletrônica de um neutrófilo



Neutrófilo



Neutrófilos

- Propriedades de defesa
 - Motilidade
 - Quimiotaxia
 - Fagocitose
 - Ação bactericida
 - Digestão de microorganismos

Neutrófilos

- Agentes quimiotáticos para neutrófilos:
 - Quimiocinas ou citocinas quimiotáticas
 - Quimiocinas α
 - As quimiocinas produzidas no foco da infecção são liberadas e atravessam o endotélio para ativar os receptores celulares.
 - Orientam a migração dos NE através do endotélio

Neutrófilos

- Quimiotaxia e fagocitose
 - Estímulos quimiotáticos agem sobre receptores de membrana desencadeando os eventos de quimiotaxia, fagocitose e degranulação dos lisossomos dentro dos vacúolos fagocíticos

Neutrófilos

- Quimiotaxia e fagocitose
 - Dependem das condições do meio externo e de modificações no citoesqueleto
 - Aumento das protusões citoplasmáticas e ligação dos receptores de membrana ao material a ser fagocitado

Neutrófilos

- Ação:
 - Fagocitose dos microorganismos e formação do fagossomo
 - Ativação de oxidases de membrana que produzem superóxidos (O_2^-) e íons H^+ com utilização de NADPH
 - Os grânulos fundem-se com a membrana do fagossomo liberando desta forma seu conteúdo

Neutrófilos

- A queda do pH ativa as hidrolases ácidas
- Durante a metabolização dos produtos fagocitados, o neutrófilo produz espécies reativas de oxigênio (H_2O_2 e O_2^-) que atuam em conjunto com as enzimas na destruição dos microorganismos
- Morte bacteriana

Neutrófilos

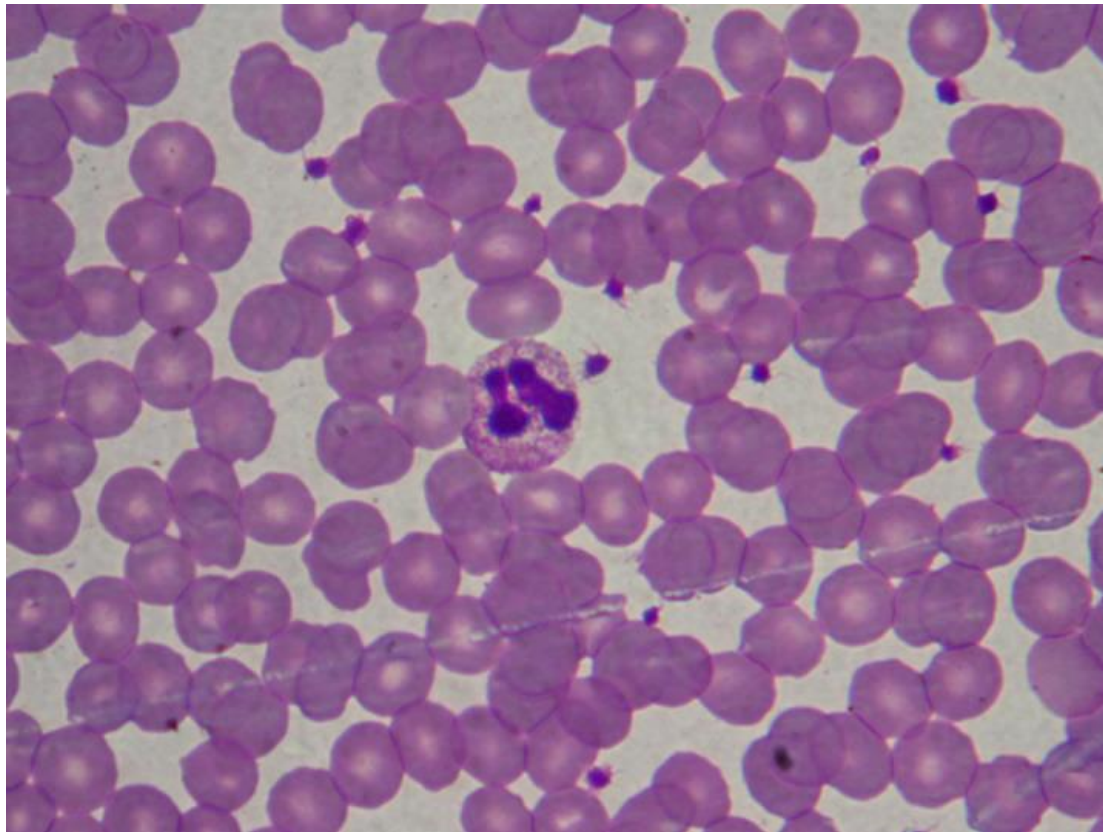


Separação de Neutrófilos e Quimiotaxia.mp4

Alterações dos neutrófilos

- Vacúolos citoplasmáticos
 - Fusão dos grânulos com vacúolos fagocíticos com posterior exocitose
- Granulações tóxicas
 - Grânulos primários permanecem intensamente azurófilos

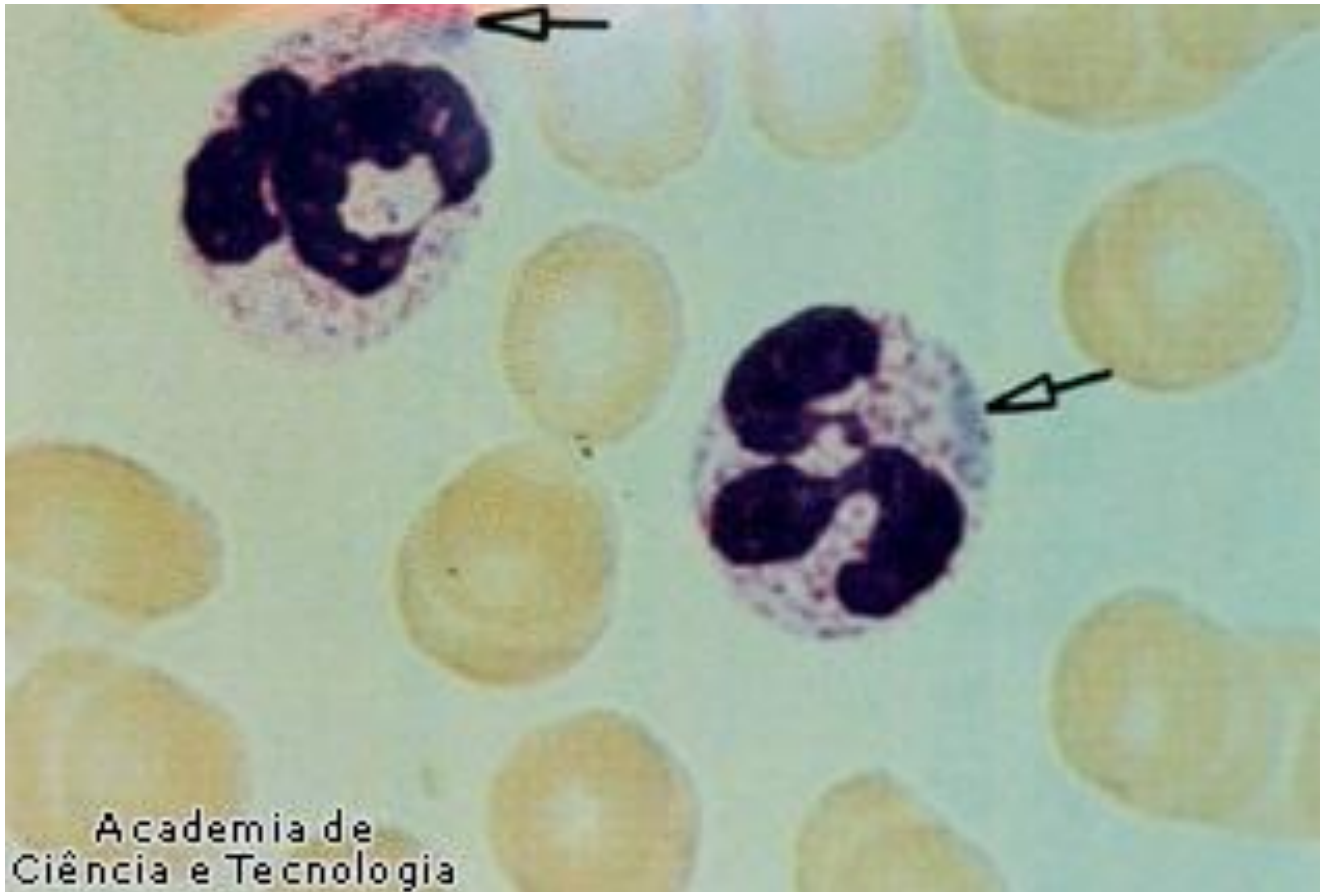
Granulações tóxicas de neutrófilos



Alterações dos neutrófilos

- Corpúsculo de Dohle
 - Inclusões azul-pálidas encontrados próxima a periferia da célula
 - Caracterizados por precipitações de RE e grânulos de glicogênio

Corpúsculo de Dohle



Neutrofilia

- Aumento absoluto dos neutrófilos no sangue.
- Ocorre em infecções sistêmicas devido a bactérias, fungos ou vírus.
 - Apendicite: neutrofilia com bastonetes e metamielócitos (D. E.),
 - Recém nascido, gravidez, exercício e stress

Neutropenia

- Origem genética
- Associada a infecções
- Medicamentos tóxicos para tratamento medular
- Comprometimento da produção medular(anemia megaloblástica)
- Aumento de utilização celular
- Excesso de destruição celular

Eosinófilos

- Pouco maior que os neutrófilos: 12 a 17 μm .
- Maturação através da ação de IL 3 e **IL5**
- Meia-vida de 3 a 8 horas na circulação
- Migram para os tecidos (pele, glândula mamária, útero, TGI, TR) permanecendo por aproximadamente 12 dias
- Após exercerem sua função, são eliminados pelos macrófagos

Eosinófilos

- Fatores quimiotáticos para eosinófilos:
 - IL5
 - linfócitos Th2 e mastócitos
 - Fator quimiotático para eosinófilos
 - mastócitos e basófilos
 - Fator ativador de plaquetas
 - eosinófilos, plaquetas, neutrófilos, macrófagos, monócitos, basófilos e células endoteliais

Eosinófilos

- GM-CSF
 - linfócitos T, fagócitos mononucleares, células endoteliais vasculares e fibroblastos
- Quimiocinas

Eosinófilos

- Eosinófilos maduros, na presença de citocinas (IL-3, IL-5 e GM-CSF), apresentam a característica de alterarem seu fenótipo.
- Podem apresentar maior tempo de sobrevivência no tecido brônquico, retardando a apoptose por 7 a 14 dias

Eosinófilos

- Morfologia
 - Núcleo bilobulado
 - Presença de granulações citoplasmáticas grosseiras e alaranjadas.
 - Menos numerosas e maiores que as granulações neutrófilas
 - Acidófilas

Eosinófilos

- Grânulos primários
 - Grânulos com ausência de núcleo cristalino contendo lisofosfolipase que formam os cristais de Charcot-Leyden
 - Degradam o lisofosfolípídeo precursor do PAF (ação broncoconstritora)

Eosinófilos

- Grânulos eosinófilos
 - Grânulos específicos
 - Apresentam em microscopia eletrônica um núcleo central cristalóide denso circundado por uma área menos densa

Eosinófilos

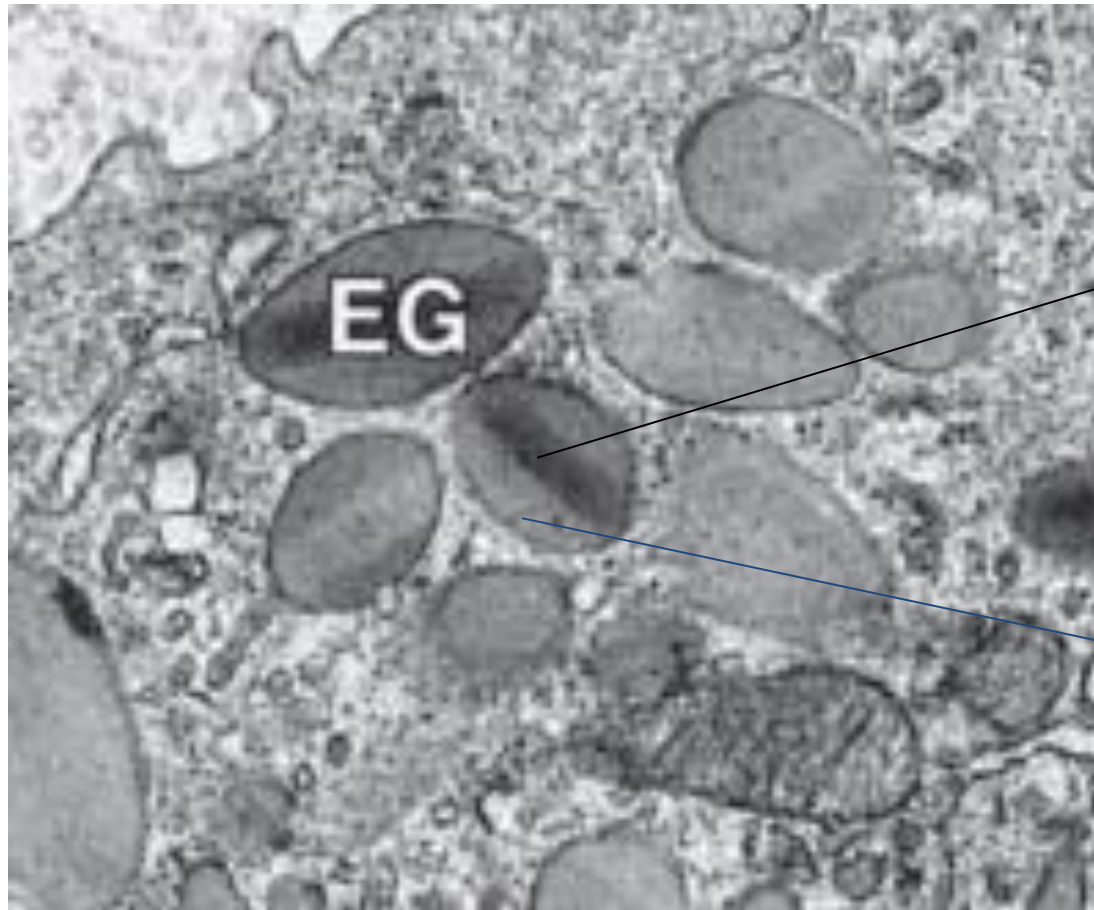
- Cristaloide denso – *internun*
 - formado principalmente por **proteína básica maior**.
- *Externum* -
 - formado por **proteína catiônica eosinofílica**, neurotoxina eosinofílica , peroxidase eosinofílica e proteína X eosinofílica

Micrografia eletrônica de um eosinófilo

EG: grânulo eosinofílico
N: núcleo
M: mitocôndria



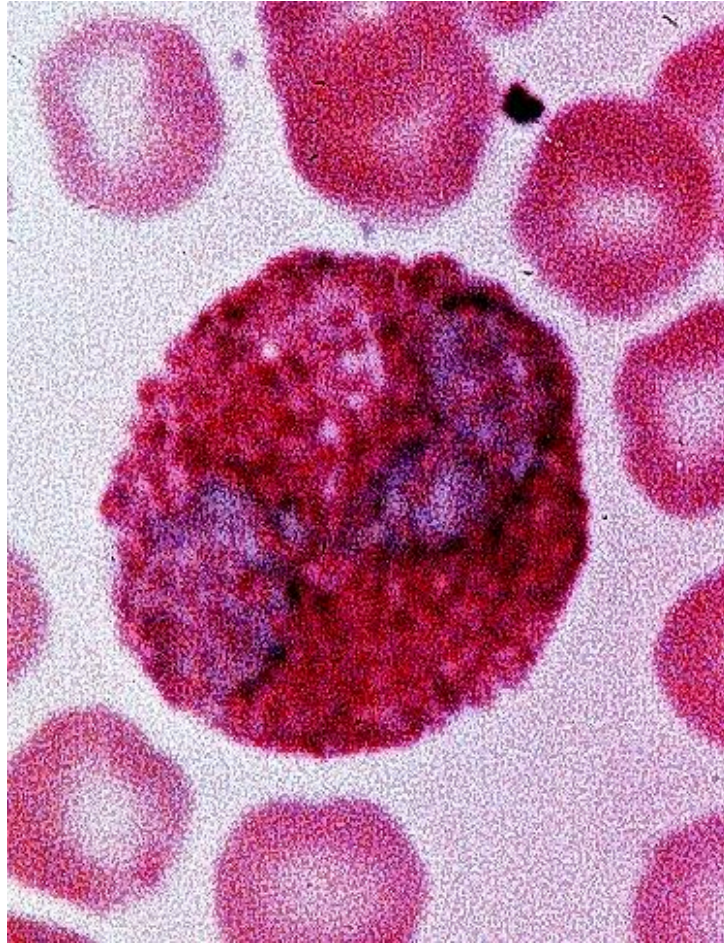
Micrografia eletrônica de um eosinófilo demonstrando a localização do cristaloide



*Internun ou
cristaloide*

externum

Eosinófilo



Eosinófilos

- Função:
 - Modulam respostas inflamatórias nas reações alérgicas
 - Produzem ILs, quimiocinas, fatores de crescimento IFNs, leucotrienos, histaminases, aril sulfatase B, etc
 - Defesa contra parasitoses helmínticas

Eosinófilos

- São atraídos para áreas inflamatórias através de mediadores químicos (IL5, histamina , PAF) liberados por vários tipos celulares.
- Ação defensiva pela liberação do conteúdo dos grânulos para o meio extracelular bem como a liberação de mediadores químicos
- Apresentam na membrana celular receptores para imunoglobulinas

Eosinófilos

- Ação lesiva no trato respiratório:
 - Lesão do epitélio das vias respiratórias
 - Estímulo para liberação de histamina armazenada nos basófilos
 - Contração da musculatura lisa brônquica
 - Produção de muco
 - Alteram a permeabilidade vascular causando edema

Eosinófilos

- Destruição dos parasitos
 - Através dos receptores Fc, os eosinófilos se conjugam com os parasitos recobertos com anticorpos, degranulam e liberam o seu conteúdo granular sobre a cutícula dos parasitos.
 - Produção e liberação de citocinas e outros mediadores

Eosinófilos

- Proteína catiônica eosinofílica - *Schistosoma mansoni*.
- Pesquisas relatam o encontro de ECP, neurotoxina derivada de eosinófilos, proteína X eosinofílica no soro e urina de pacientes infectados por alguns nematódeos intestinais

Eosinófilos

- Eosinofilia: presente em processos alérgicos (asma e eczemas) e doenças parasitárias.
- Eosinopenia: processos infecciosos agudo e utilização de glicocorticóides

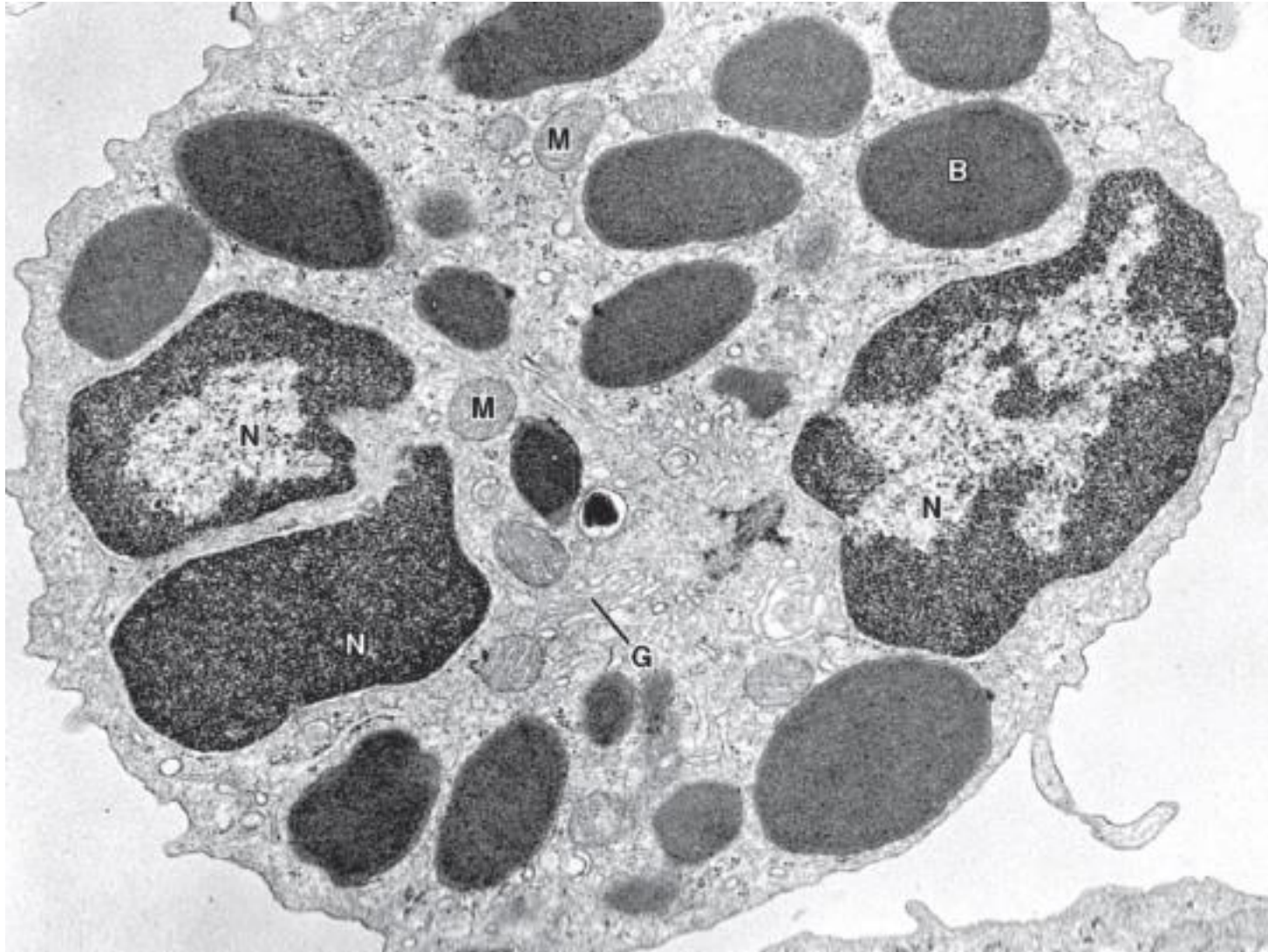
Basófilos

- Encontrados em pouca quantidade no sangue periférico (0 a 1%)
- Núcleo raramente apresenta mais de dois lobos
- Citoplasma apresenta grandes grânulos eletrôn-densos que obscurecem o núcleo
 - Grânulos basófilos pela presença de mucopolissacarídeos ácidos
- Células semelhantes – mastócitos tissulares que se originam do clone monócito-macrófago.

Basófilos

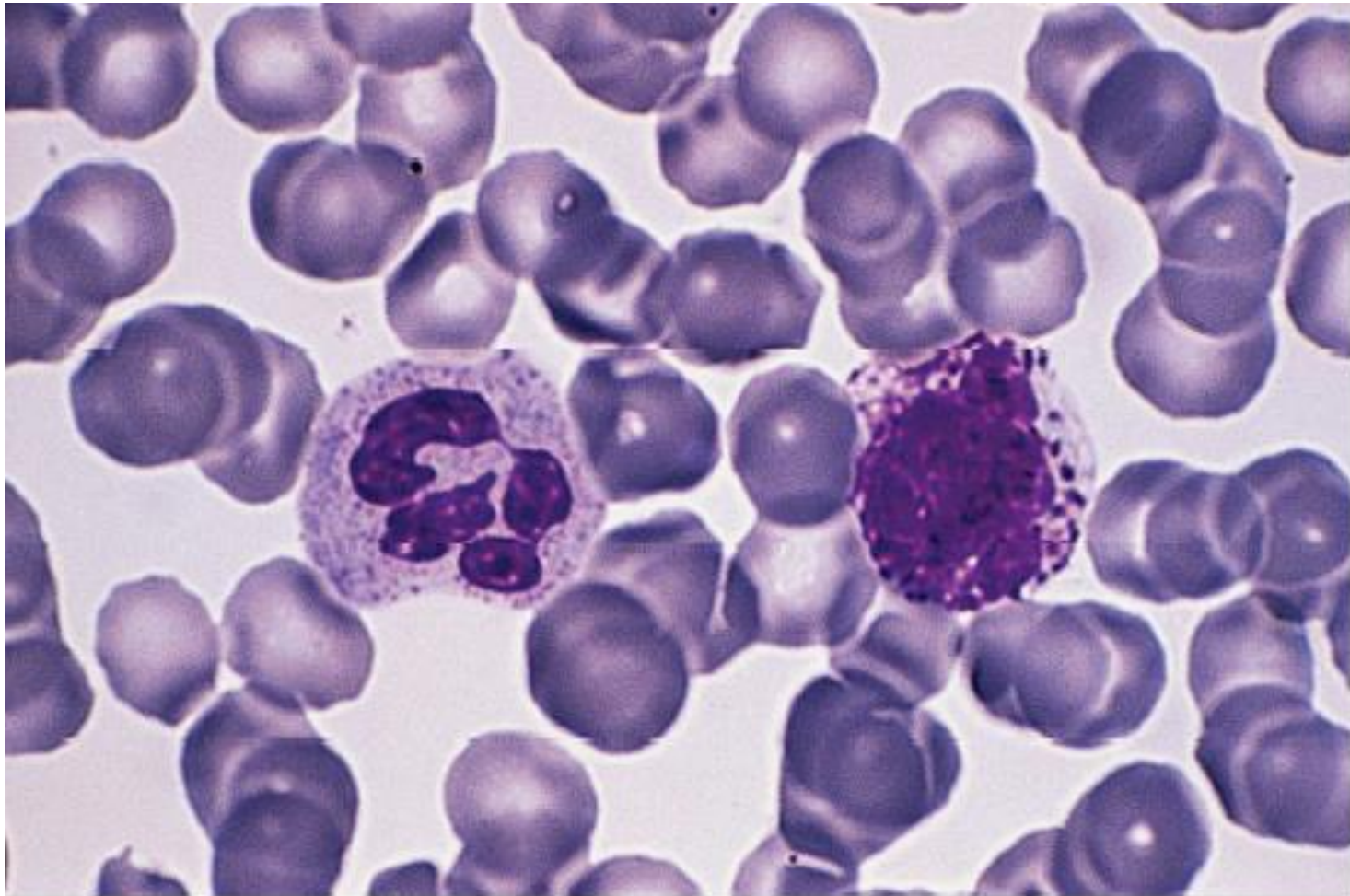
- Granulações basófilas
 - Histamina
 - Heparina
 - Serotonina
 - Peroxidase
 - Fator quimiotático de eosinófilos
 - Fator de ativação de plaqueta
 - Proteína básica maior

Micrografia de um basófilo contendo grânulos (B)



Neutrófilo

Basófilo



Basófilos

- Função:
- Envolvidos principalmente em reação alérgica
 - hipersensibilidade do tipo I
- Apresentam receptores para a porção Fc da IgE, que quando ativados produzem a degranulação

Basófilos

- São ativados pela presença das anafilatoxinas (complementos C3a, C4a e C5a) e os complexos IgE - antígeno.
- A resposta dos basófilos traduz-se em degranulação com liberação de histamina e síntese e liberação de derivados do ácido araquidônico.

Basófilos

- Basofilia: alergias, lipemia pós prandial, Policitemia Vera e LMC.
- Os basófilos desaparecem em processos infecciosos agudos.

MONONUCLEARES

Linfócitos

- Células apresentando 10 a 12 μm de diâmetro
- Escasso citoplasma com basofilia discreta de coloração azul clara
- Cromatina nuclear condensada
- Presença de nucléolos (pouco visualizados)
- 10% das células apresentam-se na forma irregular, citoplasma abundante e cromatina menos condensada.

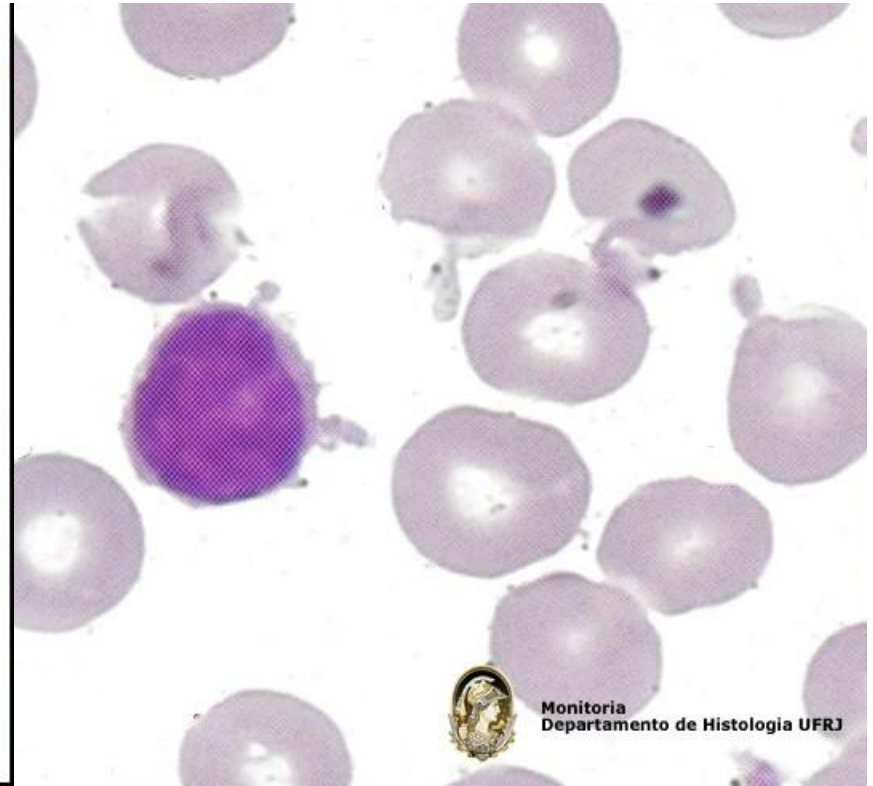
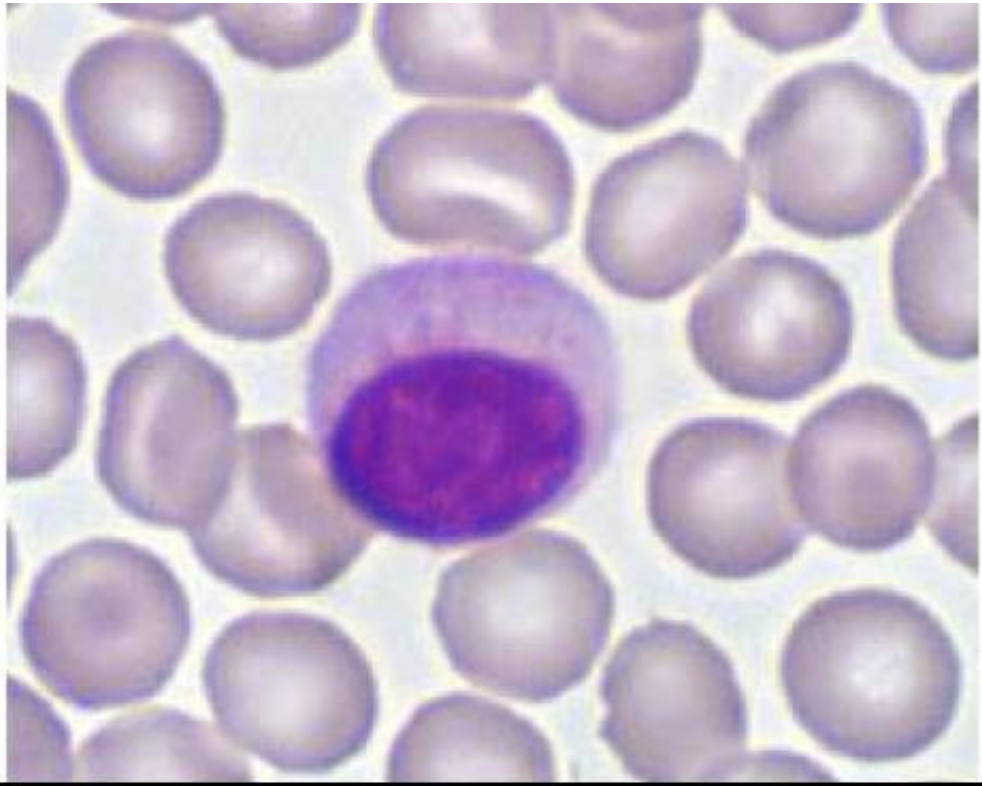
Linfócitos

- Pequeno linfócito
 - Diâmetro variando entre 7 a 8 μ .
 - Célula arredondada, com relação núcleo/citoplasma grande
 - O núcleo ocupa 9/10 da célula

Linfócitos

- Grande linfócito:
 - Diâmetro entre 10 a 16 μ
 - Apresenta algumas granulações azurófilas
 - Núcleo discretamente chanfrado e levemente excêntrico
 - Relação núcleo-citoplasma é menor que no linfócito pequeno

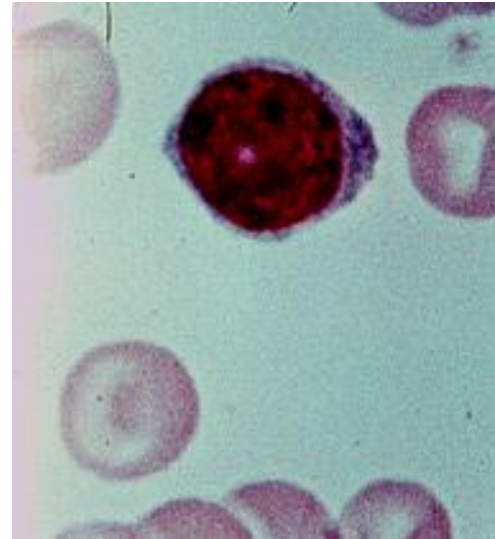
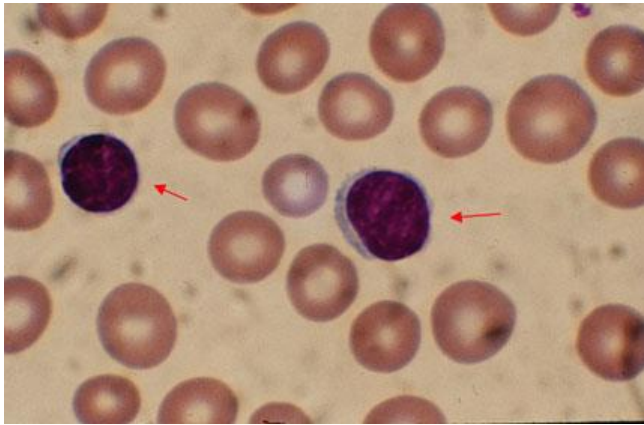
Linfócito



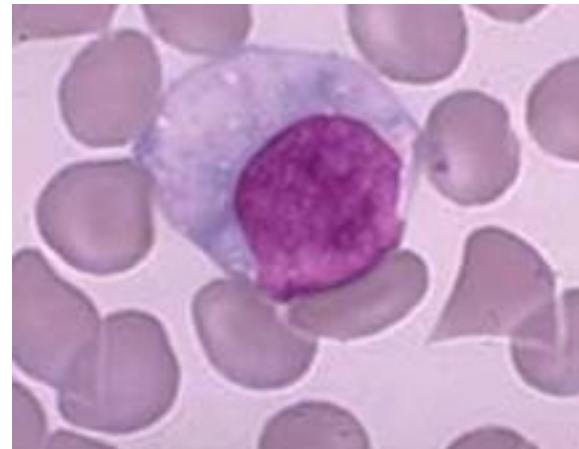
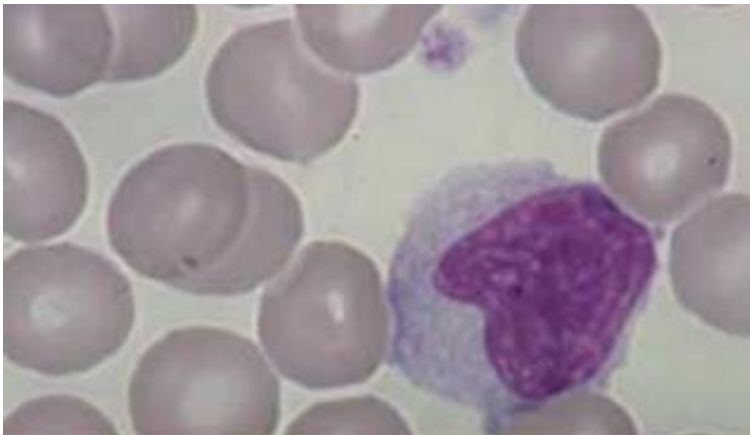
Linfócitos

- Linfócito ativo/atípico
 - Encontrados em infecções virais
 - Maior tamanho
 - Contorno celular irregular
 - Citoplasma basófilo e coloração azulada
 - Nucléolos visíveis
 - Núcleo irregular
 - Cromatina mais frouxa
 - Vacuolização citoplasmática
 - Capacidade mitogênica

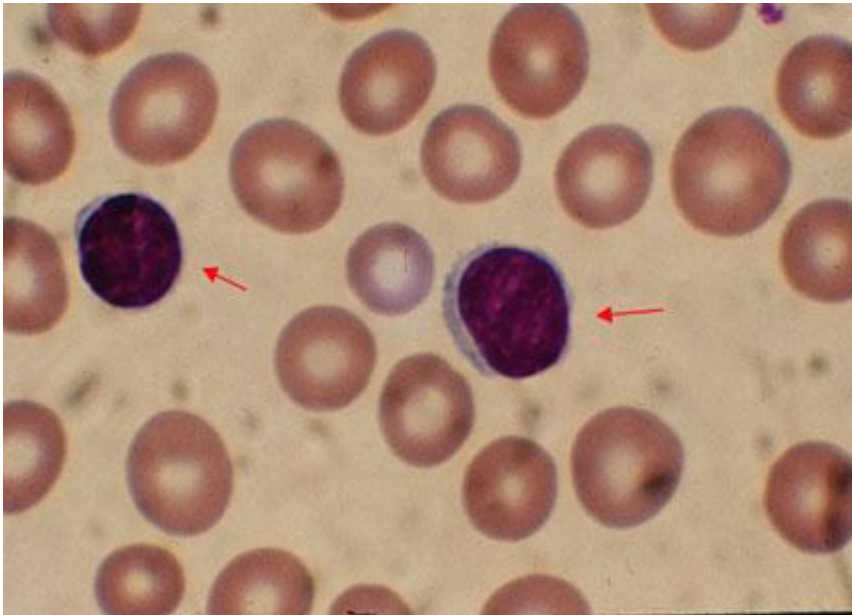
Linfócito típico



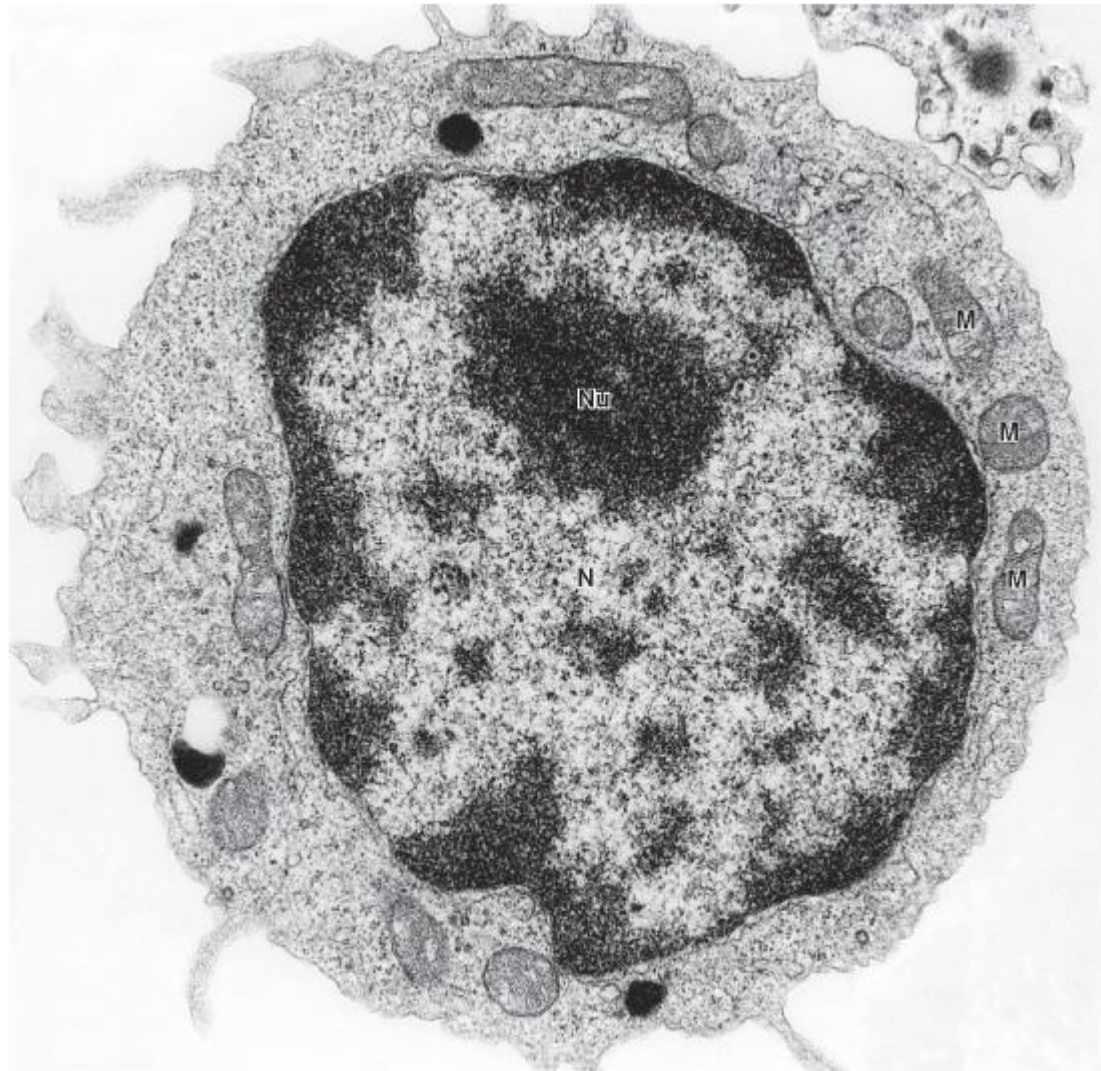
Linfócito atípico



Linfócito típico x atípico



Micrografia eletrônica de um linfócito



Linfócito T

- Constituem 75% dos linfócitos
- Atuam na imunidade mediada por células e regulação da proliferação de LB através da liberação de IL.
- Linf. T → IL → Linf. B → Plasmócito → A.C.
- Linhagem T apresenta Ag CD3 de membrana

Subgrupos de linfócitos T

- **Linfócitos T auxiliares (“helper”):**
 - CD4 de membrana
 - Ativação celular através do reconhecimento de ag apresentado via MHC II
 - Th1 → liberação IL2, IFN γ , TNF β , IL12, etc
ativação de macrófago
presença de ag intracelular obrigatório
 - Th 2 → liberação de IL4, IL5, IL10, etc
ativação da célula B
presença de ag extracelular

Linfócitos

- **Linfócitos T supressores e citotóxicos:**
 - CD8 de Membrana
 - Ativação celular através do reconhecimento de ag apresentado via MHC I
 - Essenciais na defesa do hospedeiro contra os agentes patogênicos que vivem no citosol – vírus
 - Atuam na célula alvo

Linfócitos

- **Linfócitos “natural killer”:**
 - CD56 e CD16 de membrana
 - 10% dos linfócitos do sangue periférico
 - Resposta inata a infecções virais
 - Rejeição de transplantes e ataque de células tumorais
 - Podem lisar células sem necessidade de apresentação prévia via MHCI

Linfócito B

- Compreendem 15% dos linfócitos
- Atuam na imunidade humoral diferenciando-se em plasmócitos e sintetizando anticorpos
- Apresentam IgM e IgD de superfície e receptores de C3 do sistema complemento.
- Caracterizados pela presença de marcadores CD19 e CD20

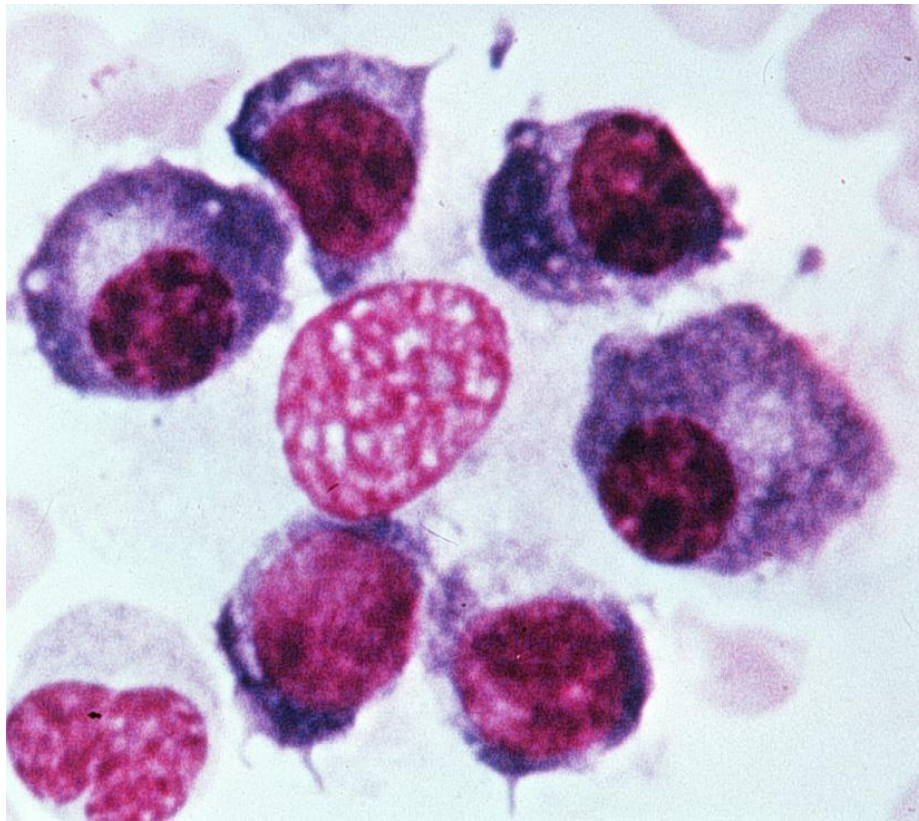
Linfócitos

- Linfocitose:
 - Ocorre frequentemente em infecções virais.
 - Trato respiratório, mononucleose, hepatite viral, citomegalovírus, etc

Linfócitos

- Linfocitopenia
 - Stress agudo
 - Queimaduras, trauma, infecções agudas
 - Insuficiência renal
 - Síndrome de Cushing ou uso de corticóides
 - Estágios avançados da AIDS
 - Irradiação
 - Alcoolismo

Plasmócito



Plasmócito



Monócitos

- Maior célula no sangue periférico - 15 a 18µm.
- Núcleo irregular por vezes lobulado.
- Cromatina com aspecto reticular e mais frouxa do que os linfócitos
- Citoplasma azul acinzentado, com finas granulações azurófilas - grânulos ricos em esterase
- Presença de vacúolos ou inclusões citoplasmáticas

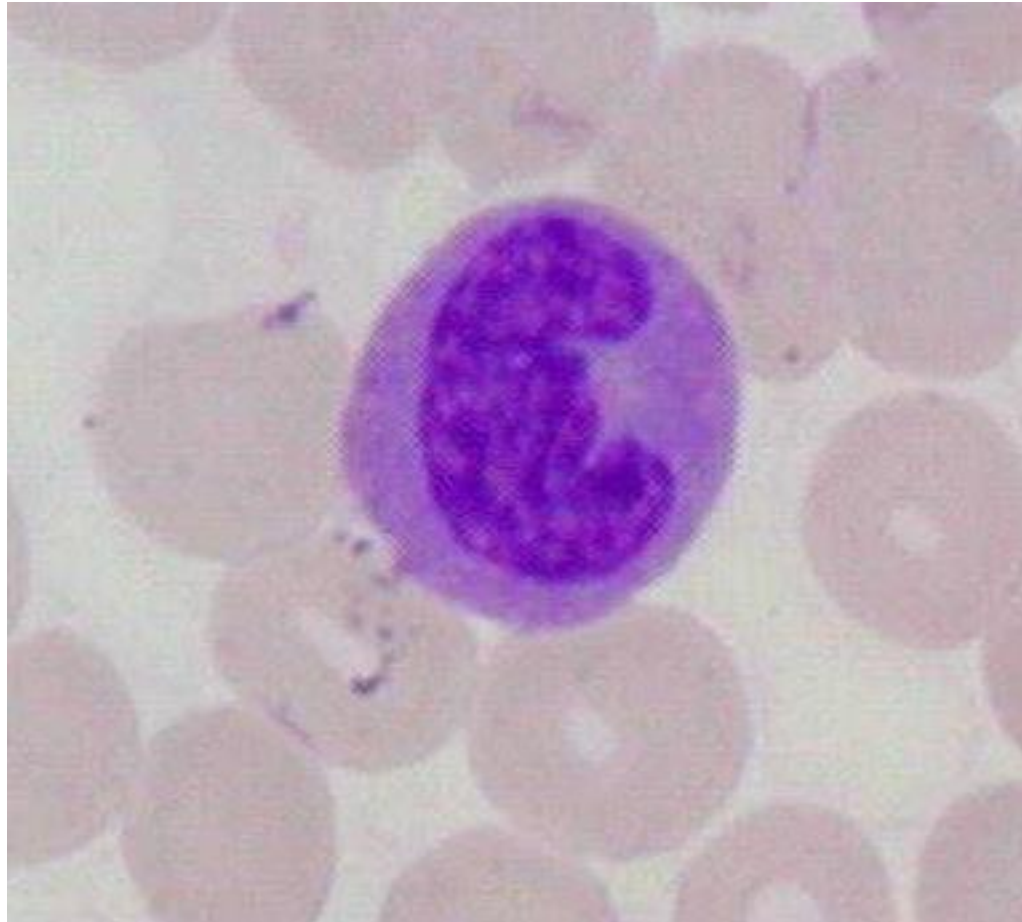
Monócitos

- Permanecem cerca de 8 horas no sangue periférico
- Passam para o tecido onde atuam como macrófagos fazendo parte do Sistema Mononuclear Fagocitário (SMN).
- Principal função: fagocitose e integração da imunidade celular X humoral → Cel.APC aos Linf.T

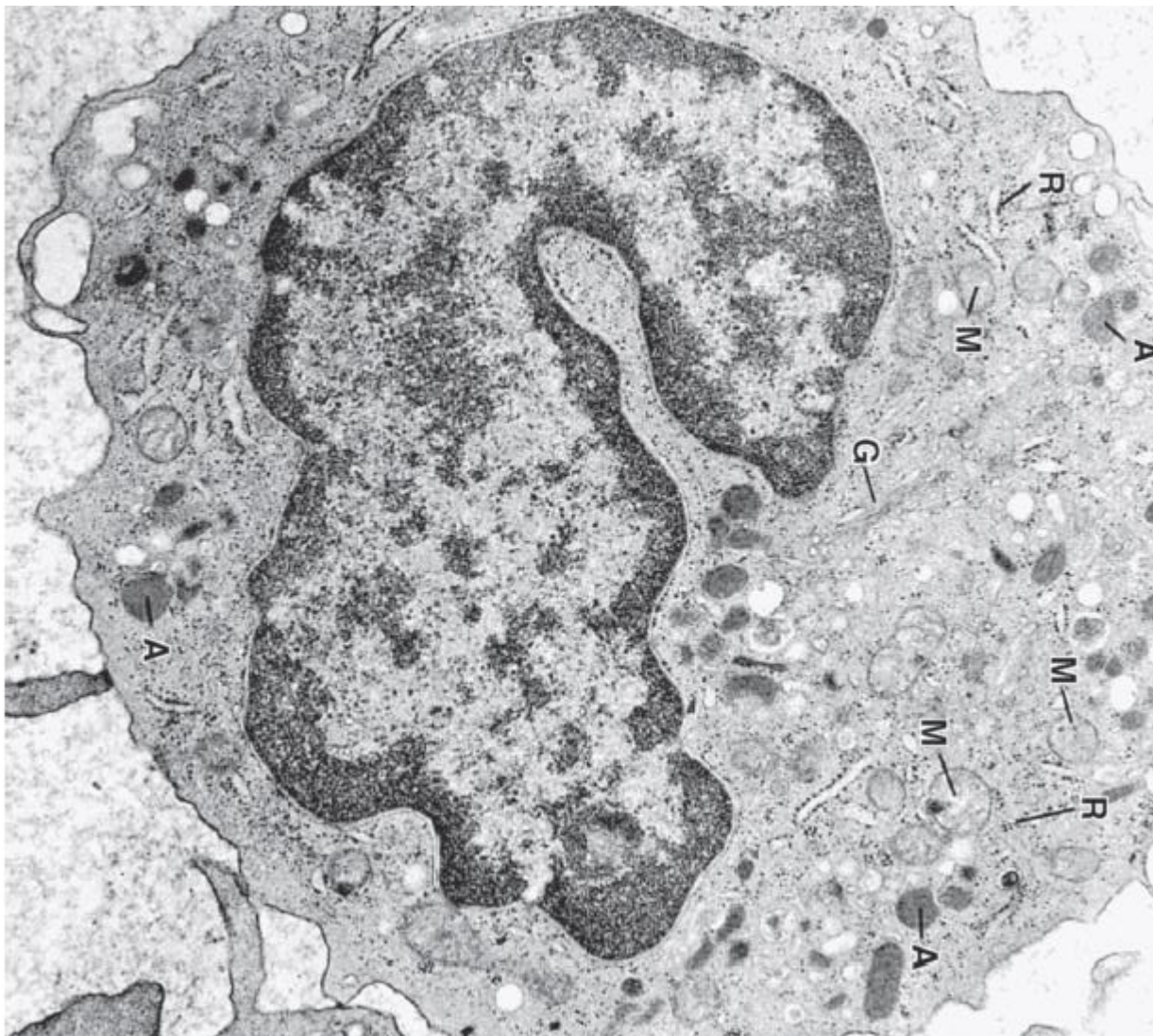
Monócitos

- Monocitose
 - Presente em infecções crônicas como tuberculose e sífilis
 - Presente em processos inflamatórios como artrite reumatóide e lúpus eritematoso.
 - Bom prognóstico na recuperação de infecções agudas.

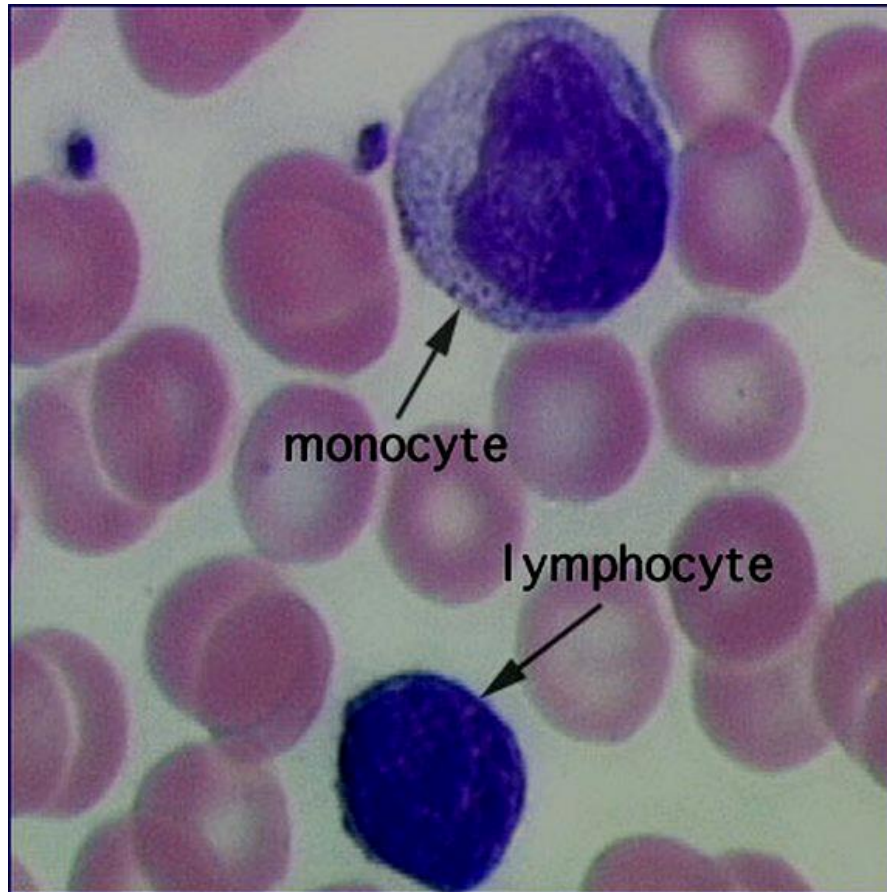
Monócito



Micrografia eletrônica de um monócito



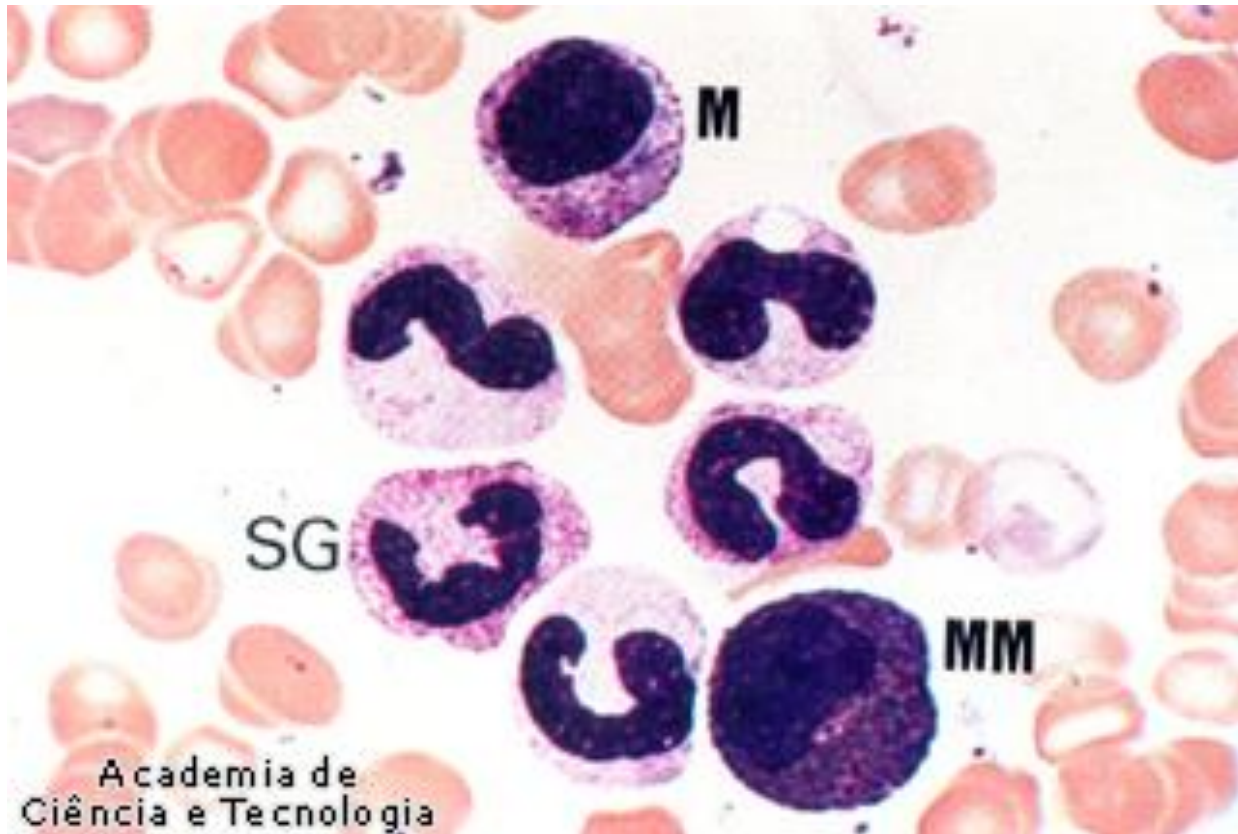
Monócito X linfócito



Alterações Leucocitárias nos Processos Agudos

- Infecções agudas apresentam modificações no Leucograma (3 fases distintas):
 - 1. Neutrofilia com desvio a esquerda escalonado (Bt,Mtm,M,PM) → desaparecem os eosinófilos, linfócitos e monocitos.
 - 2. Fase monocitária defensiva (pós tratamento): desvio diminui e reaparecem os eosinófilos e monócitos.
 - 3. Fase de recuperação:neutrófilos voltam ao normal,ocorrendo linfocitose e monocitose com discreta eosinofilia.

Desvio à esquerda



Reação leucêmica X reação leucemoide

- Reação Leucemoide:
 - Aumento exagerado dos glóbulos brancos, podendo confundir com (LMC).
 - Reacional e consequente a um processo infeccioso
 - As alterações hematológicas serão corrigidas com erradicação da infecção.

	Reação leucemoide	Reação leucêmica
N. de glóbulos brancos	30 a 60.000/mm ³ de sangue	20 a 500.000/mm ³ de sangue
Neutrófilos	D.E escalonado Presença de granulações tóxicas	D.E não escalonado
Eosinófilos e basófilos	Diminuídos ou ausentes	Aumentados
Plaquetas	Aumentadas ou diminuídas	Aumentadas ou normais. Plaquetas gigantes
F.A dos neutrófilos	Aumentada	Reduzida ou ausente

Leucócitos nos Processos Crônicos

- Infecções de evolução lenta (ex. sinusite, colite), permitem hiperplasia granulocítica da M.O. resultando em neutrofilia (sem desvio a esquerda).
- Neutrófilos com mais de 5 lobos (hipersegmentados ou pleocariócitos)
 - Bons marcadores para mielodisplasias e anemia megaloblástica.

Índice de segmentação:

Nº Neutrófilos > ou = a 5 lobos **X** 100

$$\frac{\text{Nº Neutrófilos de 4 Lobos}}{\text{Nº Neutrófilos de 5 Lobos}} =$$

Valores superiores a 16,9 são considerados
anormais

FIM