

## TEMAS DE REVISÃO

## A LINHAGEM LINFÓIDE

### Para Correlação com as Doenças Linfoproliferativas Malignas

LUIZ CARLOS FAMADAS\*

Instituto Nacional de Câncer — Rio de Janeiro — RJ

#### RESUMO

O autor faz uma síntese dos conhecimentos atuais a respeito da linhagem linfóide normal. Mostra que a evolução nesse campo foi possível às custas da identificação de moléculas nas superfícies das células linfóides, principalmente por intermédio de anticorpos monoclonais. Apresenta esquema da linhagem linfóide com seus dois principais eixos, T e B, e destaca as diversas etapas de diferenciação desde a célula mais primitiva até a mais "madura". Tece comentários sobre as etapas de transformação blástica que tem início após o contato do linfócito com o antígeno. Às custas do conhecimento detalhado da linhagem linfóide são feitas as tipagens das doenças linfoproliferativas malignas.

**UNITERMOS:** Fenótipo imunológico, anticorpos monoclonais, linhagem linfóide

Houve sensível evolução no que se refere à compreensão das doenças malignas e suas subtipagens devido às comparações de células patológicas com células das linhagens normais correspondentes. Desta forma, não temos dúvida de que as pesquisas feitas acerca das doenças linfoproliferativas foram as que mais evoluíram neste quadro.

Nos últimos anos têm sido apresentadas diversas classificações para os linfomas, com algumas dando maior ênfase à tipagem citológica<sup>1, 2</sup>. Do mesmo modo, os estudiosos do assunto têm procurado tipar as leucemias linfóides, agudas e crônicas, em bases citológicas<sup>3, 4</sup>.

Há muito tempo acreditava-se que as leucemias e linfomas decorriam de acúmulos de células "estacionadas" em determinado estágio com correspondência na linhagem normal. Atualmente isso tem sido comprovado através de tecnologia mais avançada<sup>5, 6</sup>.

Por estas razões, tem-se procurado delinear a linhagem linfóide e identificar, com a maior precisão possível, as diversas etapas de diferenciação desde a *Stem Cell* mais primitiva até a célula mais "diferenciada".

Durante muitos anos os estudos se basearam na morfologia celular pelas microscopias de ótica e eletrônica auxiliadas por intermédio da citofluorescência.

As dificuldades na identificação das células mais jovens, ou das populações funcionalmente diferentes entre células morfológicamente semelhantes, se constituíam em obstáculos intransponíveis pelas técnicas até então empregadas.

Com a identificação de diferentes moléculas nas membranas celulares, por suas propriedades antigênicas ou por suas funções de receptor, verificou-se um grande avanço nos conhecimentos no que diz respeito à linhagem linfóide.

Com isso, foi possível a distinção mais precisa das diversas etapas de diferenciação celular. Não há qualquer dúvida de que a maior colaboração nesse campo foi dada pelos anticorpos monoclonais<sup>7</sup>.

Importantes subsídios têm sido fornecidos, também, pelo estudo do rearranjo de gens para a síntese de imunoglobulinas<sup>8-12</sup> e para a síntese da cadeia  $\beta$  do receptor de antígenos dos linfócitos T<sup>13-17</sup>. Graças a esse método, tem sido possível tipar a célula mais indiferenciada, morfológicamente, como T e B e provar a natureza monoclonal das doenças linfoproliferativas malignas<sup>18-21</sup>.

Dois grupos de linfócitos com diferentes funções são hoje conhecidos:

1. Linfócitos B que derivam da *Stem Cell* da medula óssea e são preparados na própria medu-

\*Chefe do Serviço de Hematologia do Instituto Nacional de Câncer. Médico do Centro de Hematologia Sta. Catarina. Livre Docente de Hematologia pela UNI-RIO. Agradecimentos: o autor agradece a valiosa colaboração da Prof.<sup>a</sup> Alessandra Attendoli e do Dr. Elzemann Magalhães. Endereço para correspondência: Praça Cruz Vermelha, 23/7º andar, Rio de Janeiro, RJ. CEP 20230.

la. Estas células, após estarem aptas a desempenhar suas funções, apresentam, como característica principal, imunoglobulina na superfície;

2. Linfócitos T que também derivam da **Stem Cell** da medula óssea e recebem preparo no timo. Neste órgão, adquirem o receptor para hemácias de carneiro que é uma das características da célula T<sup>22</sup>.

De modo didático costumamos dividir os eixos T e B em duas partes:

1. A parte central, ou de preparo, que corresponde às diversas etapas de diferenciação, desde a célula mais primitiva da linhagem linfóide até o linfócito pronto para reagir com o antígeno (Figura 1). Para os linfócitos B o preparo, no homem, verifica-se na própria medula óssea e para o T, no timo.

2. A parte seguinte, ou periférica, corresponde às modificações pelas quais passam os linfócitos T e B após reagirem com os antígenos (Figura 2). Essa fase é também conhecida como de transformação e se passa nos órgãos linfóides periféricos (linfonodos, baço, amígdalas e formações linfóides dos aparelhos digestivo e respiratório).

Como já fora mencionado anteriormente, é principalmente por intermédio dos anticorpos monoclonais que identificamos a etapa de diferenciação de determinado tipo celular. O ideal seria que fizéssemos essa identificação por meio de um só tipo de anticorpo. Como os antígenos até agora identificados se repetem em várias eta-

pas, faz-se obrigatório usarmos um painel de anticorpos e identificar cada etapa de diferenciação pela combinação de antígenos. Isso é possível porque à medida que as células vão se diferenciando ganham novos antígenos e perdem outros.

Tomemos como exemplo o eixo B, quando, a partir da **Stem Cell**, surgem seguidamente: TdT, B<sub>4</sub>, CALLA, B<sub>1</sub>, cadeia  $\mu$  intracitoplasmática e finalmente a imunoglobulina de superfície, destacando assim a hierarquia das etapas de diferenciação (Figura 1).

Em decorrência da diversidade de fabricantes de anticorpos monoclonais, tem aparecido variada nomenclatura para os anticorpos com propriedades idênticas<sup>23</sup>. A fim de solucionar o problema no primeiro **workshop** sobre antígenos de diferenciação dos leucócitos humanos, procurou-se designar os anticorpos com idênticas propriedades por números precedidos pelas letras CD (**cluster designation**). Assim, os anticorpos OKT6, Anti-Leu-6 Na 1/34 de diferentes fabricantes, que identificam o mesmo antígeno característico de célula linfóide da cortical tímica, são designados por CD1. Outras designações podem ser encontradas no trabalho de Foon e Todd<sup>24</sup>.

**PARTE CENTRAL DA LINHAGEM LINFÓIDE**

Os eixos T e B derivam de uma célula tronco pluripotente (**Stem Cell** pluripotente), que também dá origem às células da linhagem mielóide.

A primeira célula da linhagem linfóide teria como característica principal a enzima nuclear TdT (desoxinucleotidil transferase terminal). Essa enzima toma parte no processo de polimerização do ácido desoxirribonucleico e parece estar presente, apenas, nos elementos mais jovens da linhagem linfóide, B e T, apesar de também ter sido encontrada em células de raros casos de leucemia mielóide aguda<sup>25</sup>. Foi comprovado que na leucemia linfoblástica de células T ela precede o rearranjo de gens para a síntese das cadeias  $\beta$  e  $\gamma$  do receptor de antígenos das células T<sup>26</sup>.

A diferenciação na direção do eixo T caracteriza-se pelo aparecimento do antígeno de membrana identificado pelo anticorpo monoclonal 3A<sub>1</sub>, que permanece nas demais etapas até completar a maturação total. Este antígeno também precede o rearranjo de gens para a síntese de cadeia  $\beta$ <sup>27</sup> (Figura 1).

No timo tem início o preparo da célula T para suas funções na imunidade retardada.

Na porção subcapsular da cortical aparecem os antígenos T<sub>9</sub>, T<sub>10</sub> e T<sub>11</sub>. Este último corresponde ao receptor de hemácias de carneiro. Ao migrar para o restante da cortical, o timócito

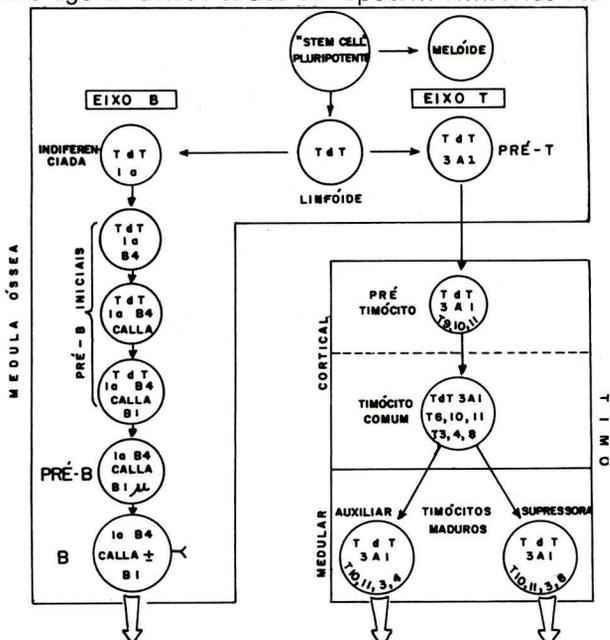
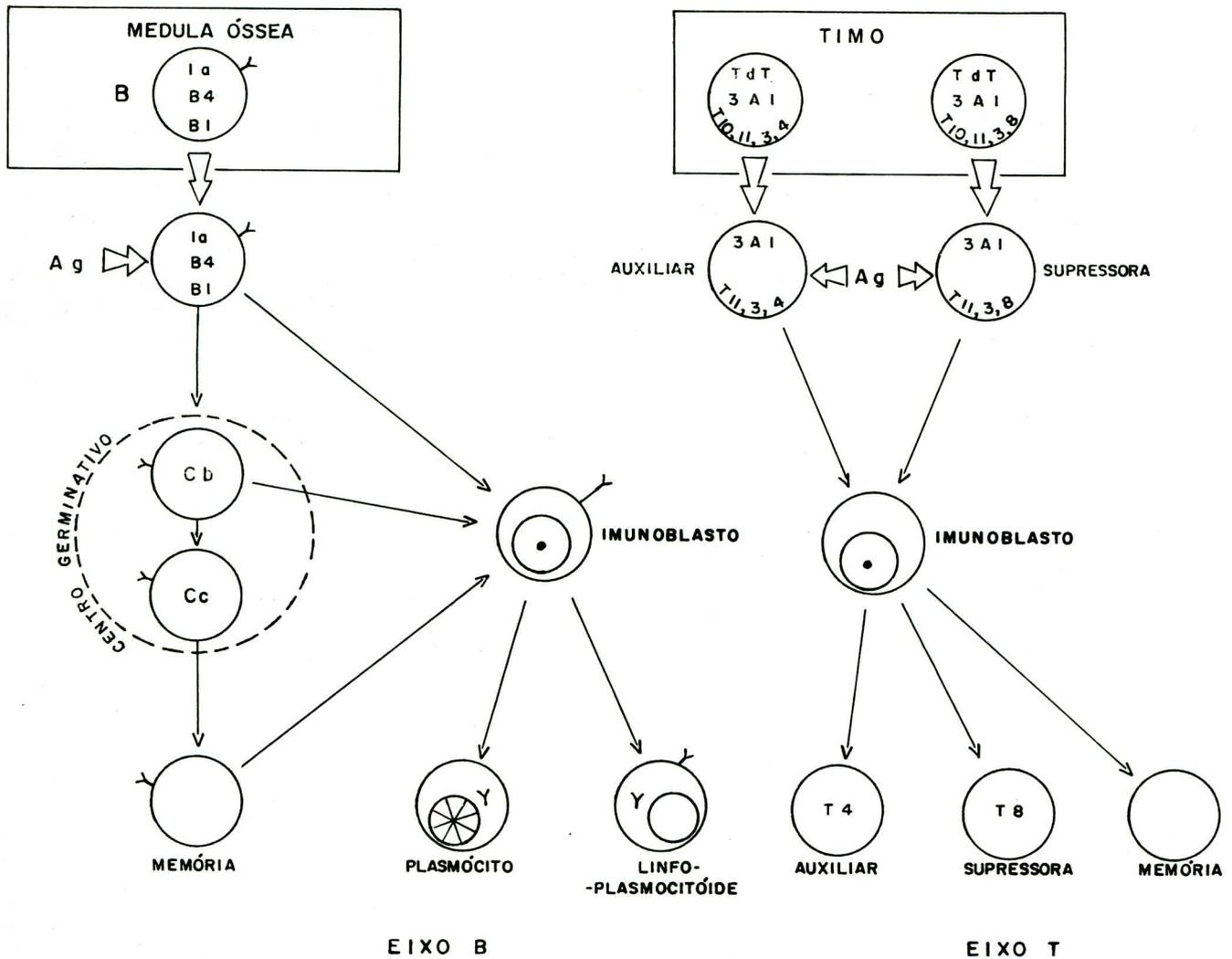


FIGURA 1 – Parte central da linhagem linfóide. CALLA = antígeno da leucemia linfóide aguda comum. TdT = desoxinucleotidil transferase terminal.



**FIGURA 2** – Parte periférica da linhagem linfóide. Cb = centroblasto; Cc = centrócito.

perde o antígeno T<sub>9</sub>, ganhando os antígenos T<sub>6</sub>, T<sub>4</sub> (de função auxiliar), T<sub>8</sub> (de função supressora, citotóxica) e T<sub>3</sub>.

Na etapa seguinte, após migrar para a zona medular tímica, verifica-se dicotomia do eixo T com as células se tornando apenas auxiliar (T<sub>4</sub>) ou simplesmente supressora (T<sub>8</sub>) e, desse modo, aptas para suas respectivas funções.

Mais informações sobre esse assunto poderão ser encontradas no trabalho de Tridente<sup>28</sup>.

A diferenciação na direção do eixo B tem início quando a célula TdT positiva ganha o antígeno Ia do sistema HLA.

As etapas de diferenciação do eixo B, reconhecidas atualmente, são caracterizadas conforme a seqüência mostrada na Figura 2. A mais indiferenciada seria aquela (TdT, I<sub>a</sub>) positiva. Posteriormente, viriam quatro etapas denominadas "pré-B iniciais" com as seguintes seqüências fenotípicas: (I<sub>a</sub>, TdT), (I<sub>a</sub>, TdT, B<sub>4</sub>), (I<sub>a</sub>, TdT, B<sub>4</sub>, CALLA) e (I<sub>a</sub>, TdT, B<sub>4</sub>, CALLA, B<sub>1</sub>)<sup>7</sup>. A diferenciação seguinte, que caracteriza a clássica

etapa pré-B, decorre do surgimento da cadeia  $\mu$  no citoplasma. Finalmente, na etapa de linfócito B propriamente dito, aparece a imunoglobulina de superfície ou de membrana celular, ficando a célula pronta para reagir com o antígeno.

### PARTE PERIFÉRICA DA LINHAGEM LINFÓIDE

Esta parte corresponde às transformações dos linfócitos B e T após o estímulo antigênico, com a finalidade de ampliar o clono e produzir as células efectoras para reagir especificamente com o antígeno.

Os linfócitos B e T e suas etapas de transformação estão distribuídos em locais específicos nos órgãos periféricos<sup>29</sup>.

Os linfócitos B, após contacto com o antígeno, sofrem transformação de dois modos diferentes<sup>30</sup> (Figura 2):

1. Fora do centro germinativo se transformam em imunoblasto e este, por sua vez, vai a plas-

mócito, ou à célula linfoplasmocitóide, produtora de IgM (resposta imune primária).

2. No centro germinativo, o linfócito B se transforma em centroblasto e posteriormente em imunoblasto. O imunoblasto se transforma em célula plasmática ou em célula linfoplasmocitóide que sintetizam as demais imunoglobulinas (resposta imune secundária)<sup>31</sup>. O centroblasto pode também se transformar em centrócito, dentro de centro germinativo, e, posteriormente, em linfócito memória (armazenados da memória do antígeno que estimulou o clone).

A transformação do imunoblasto em célula plasmática e em célula linfoplasmocitóide ocorre nas zonas interfoliculares e paracortical. Por esta razão, encontram-se nesses locais as etapas intermediárias denominadas: plasmablastos e proplasmócitos.

Ao contrário do linfócito B, o linfócito T, ao receber estímulo antigênico, se transforma diretamente em imunoblasto na zona paracortical. Nessa região do linfonodo são encontradas todas as etapas de transformação dos linfócitos até as células efectoras (auxiliar, supressora) e memória com passagem por imunoblasto.

Baseados na linhagem linfóide assim delineada, é possível obtermos classificações mais precisas referentes às doenças linfoproliferativas malignas<sup>24, 31</sup>.

Novas modificações certamente virão. Porém, não devemos pôr em dúvida que este é o caminho mais indicado para a subdivisão das leucemias linfóides e dos linfomas em grupos mais homogêneos, possibilitando assim a mais perfeita avaliação do prognóstico e dos resultados terapêuticos.

## SUMMARY:

*The presente text is a review of current knowledge on normal lymphoid lineage. Recent developments in this field were mainly due to the identification of molecules on lymphoid cells surfaces through monoclonal antibodies. The development of lymphoid lineage is depicted and axis T and axis B are shown, as well as the differentiation steps from the most primitive to the most mature cell. Blastic transformation steps are also discussed since its beginning after contact between lymphocyte and antigen. The author states that minute knowledge of lymphoid lineage is basic to malignant lymphoproliferative diseases classification.*

**UNITERMS:** Immunologic phenotype, monoclonal antibodies, lymphoid lineage

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gerard-Marcant R, Hamlin I, Lennert K, et al. Classification of non-Hodkin's lymphomas. *Lancet* 1974; 2: 406-408.
2. Lukes RJ, Collins RD. Immunological characterization of human malignant lymphomas. *Cancer* 1974; 34: 1488-1503.
3. Bennet JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. *Brit J Haematol* 1976; 33: 451-451.
4. Melo JV, Catovsky D, Galton AG. The relationship between chronic lymphocytic leukaemia and prolymphocytic leukaemia. *Brit J Haematol*. 1986; 63: 377-387.
5. Greaves MF e Janossy G Patterns of gene expression and cellular origins of human leukaemias. *Bioch Bioph Acta* 1978; 516: 193-230.
6. Vogler LB, Crist WM, Bockman DE, et al. Pre-B cell leukaemia. A new phenotype of childhood lymphoblastic leukaemia. *N Engl J Med* 1978; 298: 872-878.
7. Nadler LM, Korsmeyer SJ, Anderson KC, et al. B cell origin of non-T cell acute lymphoblastic leukemia. A model for discrete stages neoplastic and normal pre-B cell differentiation. *J. Clin. Invest* 1984, 74: 332-340.
8. Korsmeyer SJ, Arnold A, Bakhshi A, et al. Immunoglobulin gene rearrangement and cell surface antigen expression in acute lymphocytic leukemias of T cell B cell precursor origins. *J. Clin. Invest* 1983, 71: 301-313.
9. Early P, Huang H, Davis M, et al. An immunoglobulin heavy chain variable region is generated from three segments of DNA: Vh, D and Jh. *Cell* 1980, 19: 981-992.
10. Korsmeyer SJ, Hieter PA, Ravetch JV, et al. Developmental hierarchy of immunoglobulin gene rearrangements in human leukemic pre-B cells. *Proc. Natl Acad Sci USA*, 1981, 78: 7096-7100.
11. Ravetch JV, Siebenlist U, Korsmeyer SJ, et al. Structure of the human immunoglobulin  $\mu$  locus: characterization of embryonic and rearranged J and D genes *cell* 1981, 27: 583-591.
12. Arnold A, Cossman J, Bakhshi A, et al. Immunoglobulin gene rearrangements as unique clonal markers in human lymphoid neoplasms. *N. Engl J. Med* 1983, 309: 1593-1599.
13. Flug F, Pelicci P-G, Bonetti F, et al. T-cell receptor gene rearrangements as markers of lineage and clonality in T-cell neoplasms. *Proc Natl Acad Sci. USA* 1985, 82: 3460-3464.
14. Acuto O, Hussey RE, Fitzgerald KA, et al. The human T cell receptor: Appearance in ontogeny and biochemical relationship of and subunits on IL - 2 dependent clones and T cell tumors. *Cell* 1983, 34: 717-716.
15. Toyomaga B, Yanagi Y, Sucin-Foca N, et al. Rearrangements of T-cell receptor gene YT 35 in human DNA from thymic leukaemia, T-cell lines and functional T-cell clones, *Nature*, 1984, 311: 385-387.
16. Mindam M, Toyonaga B, Ha K, et al. Somat rearrangements of T-cell antigen receptor gene in human T-cell malignancies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 1224-1227.
17. O'Connor NTJ, Weatheral DJ, Feller AC, et al. Rearrangement of the T-cell-receptor chain gene in the diagnosis of lymphoproliferative disorders *Lancet* 1985; i: 1295-1297.
18. Waldmann TA, Davis MM, Bongiovanni KF, et al. Rearrangements of genes for antigen receptor on T-cells as markers of lineage and clonality in human lymphoid neoplasms. *N. Engl. J. Med* 1985; 313: 776-783.
19. Aisenberg AC, Krontiris TG, Mark TW, et al. Rearrangement of the gene for beta chain of the T-cell receptor in T-cell chronic lymphocytic leukemia and related disorders. *N. Engl. J. Med.* 1985; 313: 529-538.
20. Minden MD e Kak TW. The structure of the T-cell antigen receptor genes in normal and malignant T-cells. *J. Am Soc Hematol* 1986; 68: 327-336.
21. Knowles II DM. The human T-cell leukemias. Clinical, cytomorphologic, immunophenotypic, and genotypic characteristics. *Human Pathol* 1986; 17: 14-3

22. Abdou NI e Richter. The role of bone marrow in the immune response, *Adv Immunol.* 1970; 12: 201-270.
23. Messner HA e Griffin JD. Biology of acute myeloid leukemia. *Clin Hematol* 1986; 15: 641-667.
24. Foon KA e Todd, III RF. Immunologic classification of leukemia and lymphoma. *J. Am. Soc. Hematol* 1986; 68: 1-31.
25. Cuttner, J, Seremetis S, Najfeld V, et al. TdT-positive acute leukemia with monoclonal monocytoid characteristics: clinical, cytochemic, cytogenetic, and immunologic finding. *Blood* 1984; 64: 237-243.
26. Greenberg JM e Kersey JH. Terminal deoxynucleotidyl transferase expression can precede T cell receptor chain and chain rearrangement in T cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1987; 69: 356-360.
27. Pittaluga S, Raffeld M, Lipford EH, et al. 3A<sub>1</sub> (CD7) expression precedes T gene rearrangement in precursor T (lymphoblastic) neoplasms. *Blood* 1986; 68: 134-139.
28. Trident G. Immunopathology of the human thymus. *Sem hematol.* 1985; 23: 56-67.
29. Gelfand EW, Biggar WD e Orange RP. Immune deficiency. Evaluation, diagnosis, and therapy. *Ped Clin N Am.* 1974; 21: 245-776.
30. Lennert K. Histopatologia de non-Hodgkin's lymphomas (based on the kiel classification). 1th ed. New York Heidelberg Berlin. Springer-Verlag, 1981: 12.
31. Lennert K e Stein H. The germinal center: morphology, histochemistry, and immunohistology. In Goos M e Christophers E, eds. *Lymphoproliferative diseases of the skin.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1982: 3-15.