

OBSERVAÇÃO DE PLASMÓCITOS NA CAMADA EPITELIAL DO JEJUNO DO RATINHO

M. NASCIMENTO FERREIRA

Departamento de Histologia e Embriologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa

RESUMO

Não foram até hoje descritos plasmócitos diferenciados na camada epitelial do intestino delgado. Neste trabalho o Autor descreve plasmócitos típicos entre as células epiteliais das vilosidades do jejuno do rato. O citoplasma destes plasmócitos apresenta-se repleto de cisternas dilatadas de retículo endoplasmático granular. Foram também observadas formas de transição entre linfócitos e plasmócitos. As observações apoiam a hipótese de que os plasmócitos se podem diferenciar na camada epitelial a partir dos linfócitos B seus precursores — o que constitui mais um aspecto inédito da morfologia do *sistema linfo-plasmocitário intestinal*.

SUMMARY

Observation of plasma cells within the epithelial layer of the mouse jejunum

To our knowledge, no reference to the occurrence of plasma cells in the epithelial layer of the bowel has been published. The present investigation is concerned with the ultrastructure of typical plasma cells localized in the epithelial layer of the villi of the mouse jejunum. The cytoplasm of the plasma cells observed is replete of somewhat dilated rough endoplasmic reticulum. Transitional forms between lymphocytes and differentiated plasma cells were also seen. These observations support the view that intraepithelial plasma cells may differentiate within the epithelial layer of the mouse jejunum from precursor B lymphoblasts under unknown antigenic conditions; this is yet another interesting feature of the *gut-associated-lymphoid-tissue* or GALT.

INTRODUÇÃO

A associação entre as células epiteliais do intestino e alguns tipos de células conjuntivas (células migradoras) é conhecida desde os trabalhos de Heidenhain, citado por Collan.¹ As observações efectuadas com o microscópio electrónico por vários grupos de investigadores contribuíram de modo decisivo para o conhecimento da ultra-estrutura destas células: linfócitos, eosinófilos, macrófagos e mastócitos ou leucócitos-globulares.^{1, 2-9}

No decurso de um trabalho anterior sobre o epitélio do jejuno do rato¹⁰ foram observados ao microscópio electrónico plasmócitos bem diferenciados entre as células epiteliais das vilosidades. Foram também observadas células cuja morfologia as aproxima de formas de transição entre os linfócitos e plasmócitos, tal como estão descritas em trabalhos experimentais.^{1, 11, 12}

A presença de plasmócitos típicos na camada epitelial do intestino não havia ainda sido referida na literatura antes destas observações que foram objecto de uma comunicação prévia.¹³

MATERIAL E MÉTODOS

Ratinhos *swiss albino*, fêmeas, de 30 gramas de peso médio e três meses de idade foram sacrificados por perfusão dos solutos fixadores, sob anestesia ligeira com éter. A perfusão foi feita através do ventrículo esquerdo, usando uma bomba de perfusão.¹⁰ Utilizaram-se separadamente dois solutos fixadores: 1) soluto de paraformaldeído a 4% em tampão fosfato de Sörensen 0,1 M ao pH 7,3 adicionado de cloreto de cálcio; 2) soluto de glutaraldeído a 2,5% no mesmo tampão, adicionado de 0,5% de sucrose.¹⁰ Feita a colheita, os fragmentos de jejuno foram fixados nos mesmos solutos durante 1 hora, à temperatura de 4 °C e, em seguida, foram colocados no soluto de tetróxido de ósmio a 2% no mesmo tampão, durante mais 1 hora, à mesma temperatura. A desidratação fez-se com acetona fria e a inclusão em Epon 812. Os cortes ultrafinos coraram-se com um soluto fresco de acetato de uranilo em álcool a 50% e com citrato de chumbo.¹⁴ Fotografou-se com o microscópio electrónico Siemens Elmiskope I a 80 kV.

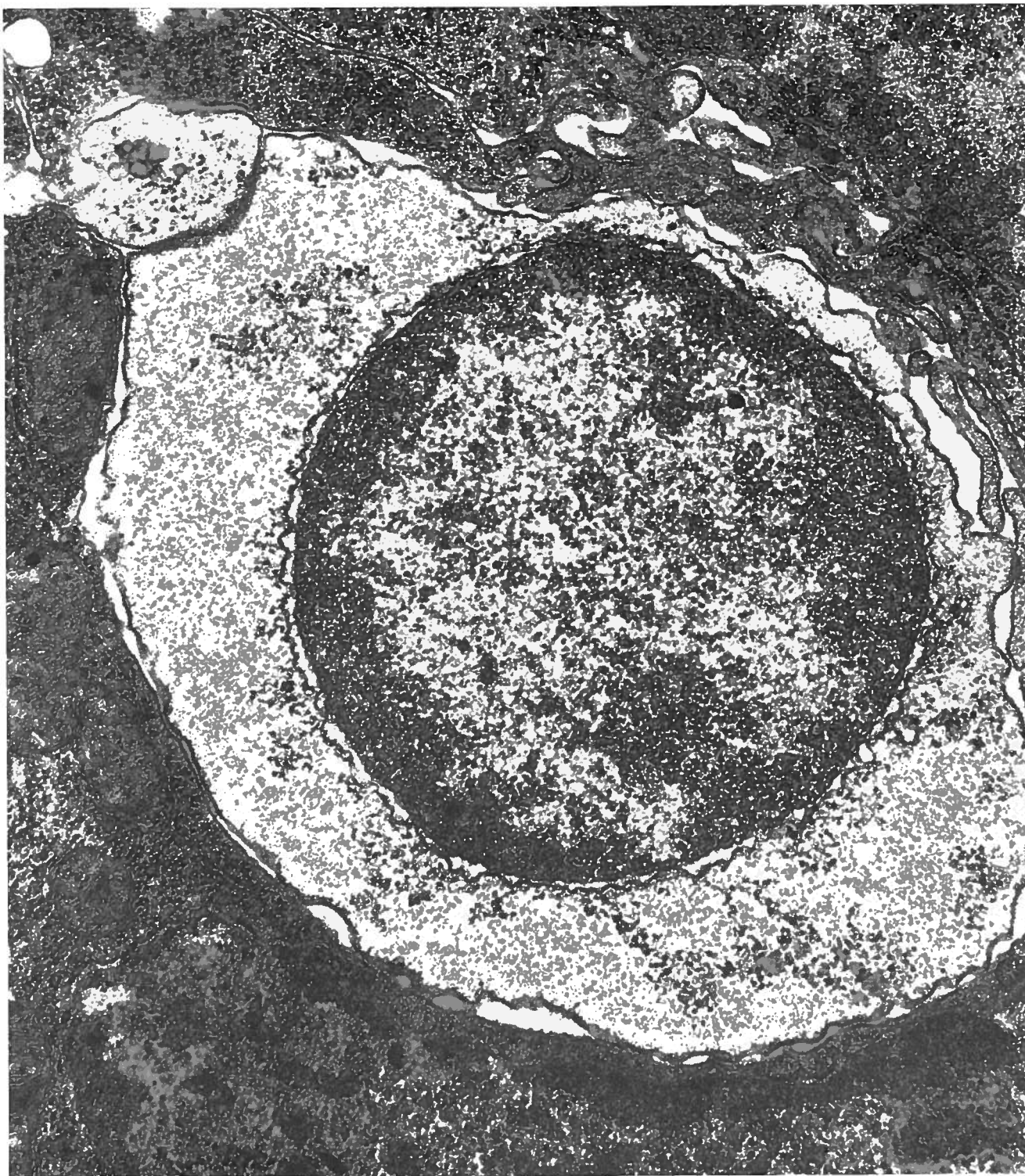


Figura 1: Linfócito localizado na camada epitelial da vilosidade com núcleo esférico e cromatina marginal; o citoplasma possui ribossomas livres. 15 000X

RESULTADOS

1. Ultra-estrutura dos linfócitos observados:

a) Linfócitos pequenos de núcleo esférico com abundante cromatina densa localizada na margem interna da membrana nuclear (cromatina marginal); no citoplasma, de pouca densidade, observam-se raros organelos, estando ausente o retículo granular (Fig. 1). Alguns destes linfócitos podem apresentar à superfície

da membrana celular projecções citoplásmicas que se encontram interdigitadas com idênticas formações dos enterócitos circundantes, o que faz pensar nos aspectos ultra-estruturais dos *linfócitos B* quando observados em microscopia electrónica de varredura, os quais apresentam a superfície ericada. Podem também apresentar grânulos citoplásmicos, que na classificação de Mayrhofer¹⁵ os relaciona igualmente com elementos não timo-dependentes.

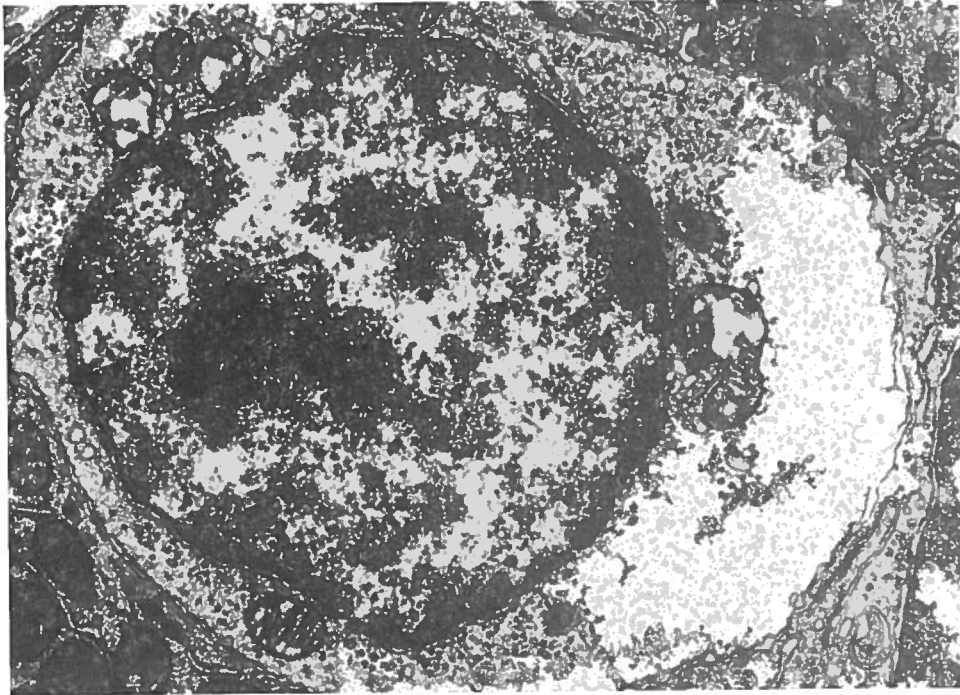


Figura 2: Linfócito inter-epitelial com características morfológicas de linfoblasto tipo I. 10 000X

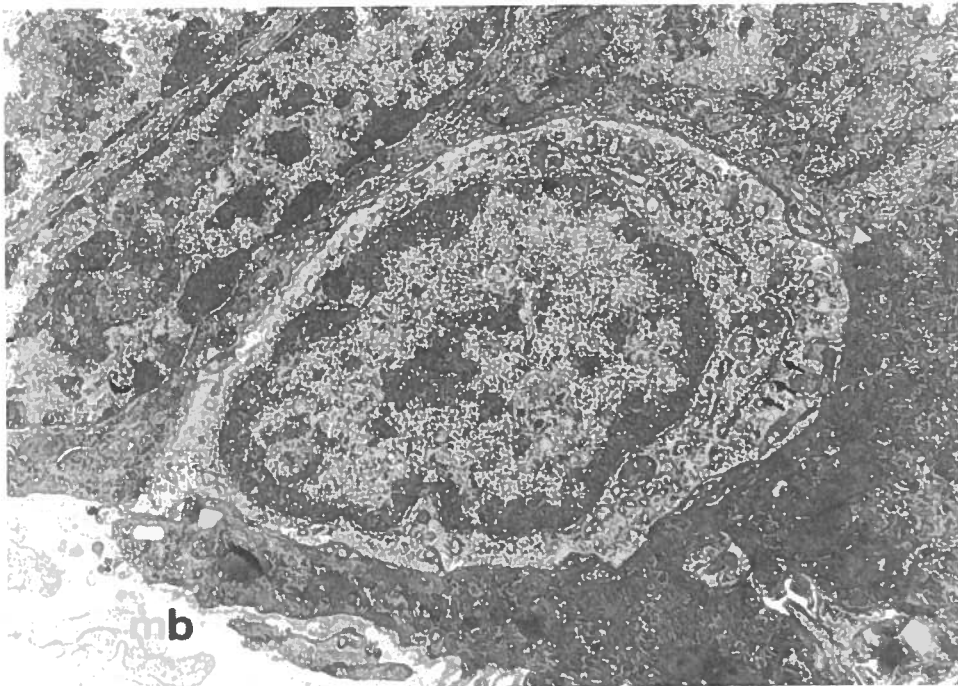


Figura 3: Célula linfo-plasmocitária situada na camada epitelial, próximo da membrana basal (mb) com cisternas de retículo granular no citoplasma (setas); possui características morfológicas de imunoblasto. 10 000X

- Os pequenos linfócitos T são indistintos dos pequenos linfócitos B quando se usam apenas critérios morfológicos.
- b) Linfócitos de núcleo com contorno irregular, cromatina densa mais diminuída, citoplasma mais abundante com maior número de organitos (pequenas mitocôndrias e polisomas), mas com raras cisternas de retículo rugoso (Fig. 2). Alguns autores¹⁶ descrevem células com estas características morfológicas como

- linfoblastos I*, cujo tipo funcional só é reconhecível por métodos de imunocitoquímica.
- c) Linfócitos com núcleo ovalado, cromatina densa pouco abundante, citoplasma mais rico de organitos, nomeadamente algumas cisternas de retículo rugoso, pouco dilatadas (Fig. 3); estas células são semelhantes aos *linfócitos transformados*, *linfoblastos* ou *imunoblastos II* da linha linfoplasmocitária.¹⁶

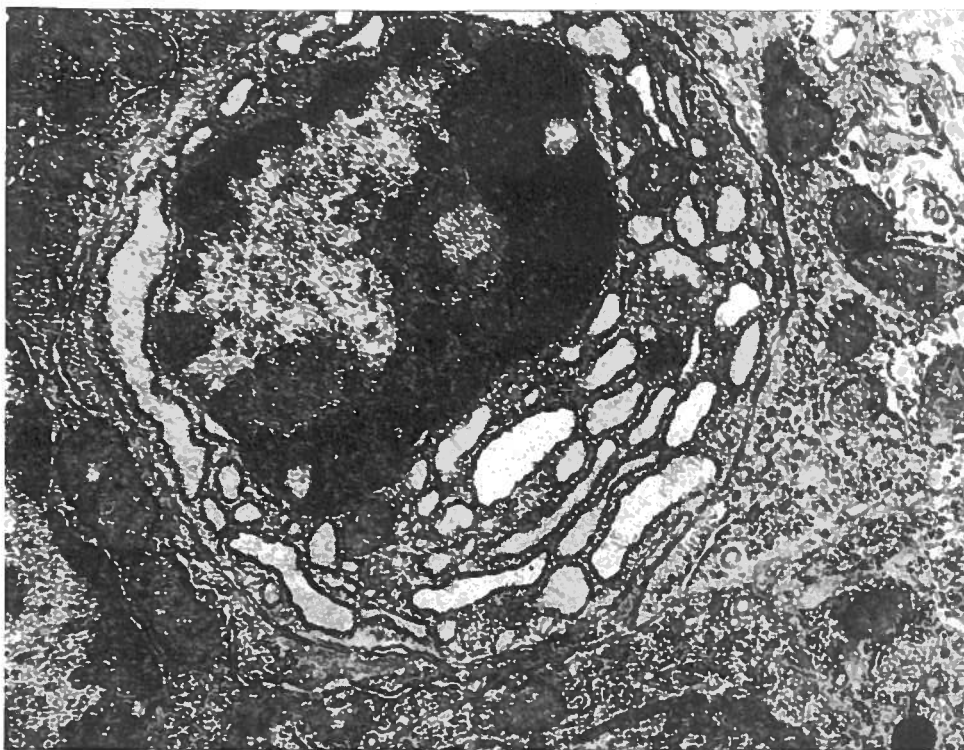


Figura 4: Plasmócito observado entre as células epiteliais da vilosidade, apresentando cisternas dilatadas de retículo granular. 10 000X

2. Ultra-estrutura dos plasmócitos observados:

Os plasmócitos observados entre os enterócitos, quer isolados (Fig. 4), quer em contacto com células de estrutura linfóide (Fig. 5), são facilmente identificados pelas seguintes características morfológicas: forma arredondada, núcleo excêntrico e cromatina densa associada ao folheto interno do envólucro nuclear; no citoplasma observam-se numerosas cisternas de retículo granular com disposição paralela, repletas de material de densidade moderada; entre as cisternas do retículo granular observam-se ribosomas livres e polirribosomas.

DISCUSSÃO

A mucosa digestiva, exposta a uma grande variedade de estímulos antigénicos, desenvolveu em toda a sua extensão um sistema imuno-celular importante (tecido linfo-plasmocitário associado à mucosa digestiva).¹⁷⁻²⁰ Os mecanismos de imunidade local, a recirculação de linfócitos e a sua localização nas estruturas linfóides (placas de Peyer, gânglios linfáticos mesentéricos, tecido linfóide disperso na lâmina própria e linfócitos do epitélio) são alguns dos aspectos mais estudados deste sistema celular.^{19, 21, 22}

A presença de linfócitos na camada epitelial do intestino, tanto ao nível das criptas, como das vilosidades, é um fenómeno normal que tem sido analisado em pormenor por muitos investigadores.^{20, 23} A sua origem a partir das placas de Peyer está demonstrada.²⁴ Estas são constituídas por vários folículos linfóides, ricos de linfócitos B; entre os folículos encontra-se uma área timo-dependente rica de células T que representam cerca de 20-40% dos linfócitos destas formações.²²

Uma grande percentagem de linfoblastos B das placas de Peyer, embora possuam imunoglobulinas de superfície, parecem imaturos para a síntese intracitoplasmática de IgA.^{25, 26} Estas células (bem como os linfócitos T das zonas timo-dependentes) migram por via linfática para os nódulos mesentéricos, atingem o canal torácico e passam à corrente sanguínea. Migram depois selectivamente para a lâmina própria do tubo digestivo (e de outras mucosas) através das vénulas post-capilares.^{22, 23, 27}

A recirculação linfocitária de células B contribui para povoar a mucosa digestiva com uma população de células imuno-competentes para a síntese de IgA dimérica, a qual tem a possibilidade de atingir as células epiteliais e unir-se à *peça secretora* para formar IgA-secretora, cujas moléculas são transferidas para o lumen intestinal.

Os imunoblastos B que chegam à lâmina própria, também designados células plasmocitárias *secundárias* ou *recirculadas* perdem a sua motilidade e estabelecem-se na lâmina própria como células produtoras de anticorpos, sendo constantemente substituídos por novos elementos. O seu tempo de vida média é de cerca de 4,7 dias.^{27, 28}

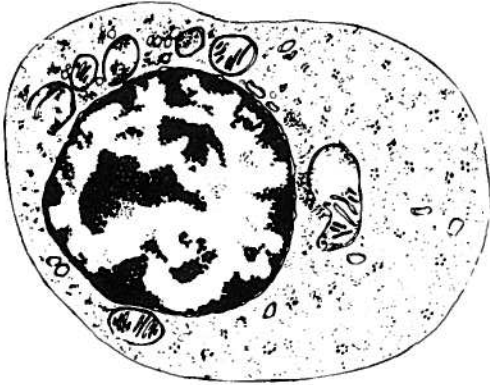
Os imunoblastos T das placas de Peyer que atingem a lâmina própria (segundo o mesmo trajecto dos linfoblastos B) atravessam a membrana basal sub-epitelial e vão localizar-se entre as células do epitélio.⁶

Os linfócitos *epiteliais* constituem, pois, um grupo heterogéneo de células, com morfologia diferente, tempo de vida média variável e diversas funções.²⁹⁻³¹ Kopke e Everett mostraram que os linfócitos presentes na camada epitelial do intestino delgado são na maior parte (50 a 95%) linfócitos T. Os restantes são linfócitos B recém-formados e recém-chegados à camada epitelial, bem como células T e células B de longa duração.³²

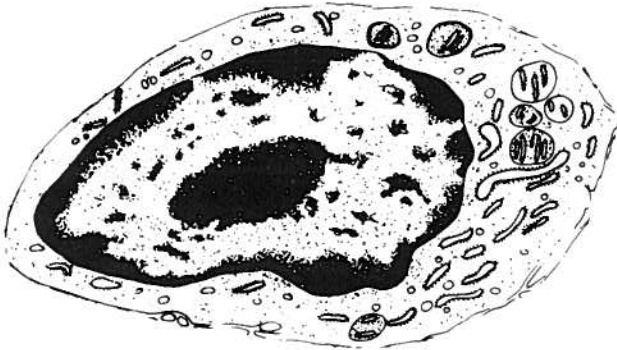


Figura 5: Plasmócito (P) em contacto com uma célula linfóide (L) próximo da membrana basal (mb) da vilosidade. 15 000X.

LINFOBLASTO I



LINFOBLASTO II



PLASMÓCITO

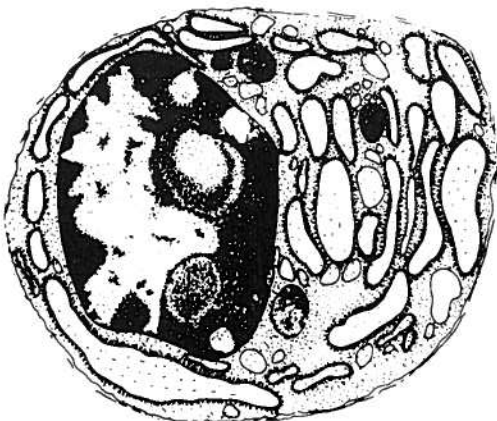


Figura 6: Fases da diferenciação dos plasmócitos inter-epiteliais (interpretação baseada nas imagens anteriores).

Uma pequena percentagem de ambos os tipos funcionais de linfócitos (T e B) podem regressar à lâmina própria e às placas de Peyer, para recirculação,^{6, 18, 22, 33, 34, 35} enquanto os outros são eliminados. Não ficam, entretanto, entre as mesmas células epiteliais, mas deslocam-se nos espaços intercelulares.

Sabe-se, pelo uso dos métodos autoradiográficos com timidina-tritiada que linfócitos inter-epiteliais possuem capacidade proliferativa.^{18, 32} São frequentes as imagens de mitoses pertencentes a estas células migradoras. Pode aceitar-se que as imagens de transformação celular destas células sejam semelhantes às observadas em outros tecidos e órgãos, nomeadamente no que respeita à diferenciação dos plasmócitos.

O desenvolvimento de células ricas de ribosomas não podem ser excluídas de uma linha celular precursora de plasmoblastos e plasmócitos²⁶ e as imagens descritas no presente trabalho permitem admitir esta diferenciação entre as células da camada epitelial (Fig. 6). A absorção de material antigénico pela mucosa do intestino provoca o aparecimento de plasmócitos que sintetizam anticorpos específicos na lâmina própria, nomeadamente IgA e as próprias células epiteliais têm uma função importante neste mecanismo de diferenciação celular.³⁵⁻³⁷

Considerando as observações aqui descritas, poder-se-á admitir que, em determinadas circunstâncias antigénicas, linfócitos B da camada epitelial podem diferenciar-se em plasmócitos típicos — se as células precursoras não forem eliminadas.

Pode agora aceitar-se, com base nestas imagens, o que Collan¹ apenas suspeitava: *If differentiation of the lymphocytes in the epithelium proceeds in the same direction morphological features common to plasma cells could be expected in them (...). Hence the development of ribosome-rich cells remains unclear and the possibility cannot be totally excluded that these cells are precursors of plasma cells.*¹

O presente trabalho favorece essa possibilidade.

AGRADECIMENTOS

O autor agradece ao Sr. João Carlos Silveira o trabalho de fotografia e desenho e à Sr.^a D. Ana Paula Simas a dactilografia do manuscrito.

BIBLIOGRAFIA

1. COLLAN, J.: Characteristics of nonepithelial cells in the epithelium of normal rat ileum. A light and electron microscopical study. *Scand J. Gastroenterol.* 1972; 7 (suppl. 18): 1-66.
2. CARR, C. E. e WHUR, R.: Ultrastructure of globule leucocyte inclusions in the rat and mouse. *Zeit. Zellforsch.* 1968; 86: 153-162.
3. CARRIERE, R. e BUSCHKE, M.: The influence of thyroid and testicular hormones on globule leucocytes in the rat duodenal crypt epithelium. *Anat. Rec.* 1978; 192: 407-422.
4. DYM, M. e ROMPELL, L. J.: Intraepithelial lymphocytes in the male reproductive tract of rats and rhesus monkeys. *J. Reprod. Fert.* 1975; 42: 1-7.
5. FELDMANN, M. ROSENTHAL, A. e ERB, P.: Macrophage-lymphocyte interactions in immune induction. *Int. Rev. Cytol.* 1979; 60: 149-178.

6. FICHTELIUS, K. E.; YUNIS, J. E. e GODD, R. A.: Occurrence of lymphocytes within the gut epithelium of normal and neonatally thymectomized mice. *Proc. Soc. Exp. Biol.* 1968; 128: 185-188.
7. GEPPERT, M. e BOHLE, A.: The lymphocyte-epithelial cell ratio in tubal mucosa of patients with cervical carcinoma. *Path. Res. Pract.* 1981; 173: 82-87.
8. TONER, P. G.: The fine structure of the globule leucocyte in the fowl intestine. *Acta Anat.* 1965; 61: 321-330.
9. WILHELM, D. L., YONG, L. C. J. e WATKINS, S. G.: The Mast cell: Distribution and Maturation in the Rat. *Agents and Actions.* 1978; 8: 146-152.
10. FERREIRA, M. N.: Ultra-Estrutura e Cinética do Epitélio Intestinal. Tese de Doutorado, 1971.
11. PAPIERNIK, M.: La maturation des lymphocytes thymiques et sanguins faetaux humains. Étude de la transformation blastique. *Path. europ.* 1969; 4: 75-92.
12. SCHANERMANN, D. W.: Proliferation and transformation of lymphocytes in the lung capillaries of the rat: ultrastructure, acid phosphatase and peroxidase cytochemistry. *Acta Anat.* 1982; 113: 264-280.
13. FERREIRA, M. N.: Presença de plasmócitos na camada epitelial do jejuno do ratinho. VII Reunião Anual da Sociedade Portuguesa de Microscopia Electrónica. Resumo das Comunicações: 31, Oeiras, 1972.
14. REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 1963; 17: 208-213.
15. MAYRHOFER, G.: Thymus-dependent and thymus-independent subpopulations of intestinal intraepithelial lymphocytes: a granular subpopulation of probable bone marrow origin and relationship to mucosal mast cells. *Blood*, 1980; 55: 532-535.
16. OLÁH, I. RÔLICH, P. e TÖRÖ, I.: Ultrastructure of lymphoid Organs. An Electron Microscopic Atlas. Eds. Mason e cie, Paris, e J. B. Lippincott Company, Philadelphia, 1975.
17. BEFUS, A. D. e BIENENSTOCK, J.: The mucosa-associated immune system of the rabbit. In: Hay, J. B. ed. Animal models of immunological processes. *New-York, Academic Press*, 1982; 167-220.
18. FICHTELIUS, K. E.: The gut epithelium — a first level lymphoid organ? *Exp. Cell Res.* 1968; 49: 87-104.
19. HALL, J. G.: An essay on lymphocyte circulation and the gut. In: Trnka, Z., Cahill, R.N.P. eds. Essays on the anatomy and physiology of lymphoid tissues. Basel: S. Karger., 1980; 16: 100-111.
20. ORLIC, D. e LEN, R.: An electron microscopic study of intraepithelial lymphocytes in human fetal small intestine. *Lab. Invest.* 1977; 37: 554-561.
21. HALL, J. G. e SMITH, M. E.: Homing of lymph-borne immunoblasts to the gut. *Nature*, 1970; 226: 262-263.
22. PABST, R. e TREPPEL, F.: Selective labeling of mesenteric lymphnodes: cell production and emigration of newly formed lymphocytes to other organs. *Anat. Rec.* 1979; 195: 341-356.
23. PARROT, D. M. V. e FERGUSSON, A.: Selective migration of lymphocytes within the mouse small intestine. *Immunology*, 1974; 26: 571-588.
24. FRIEDBERG, S. H. e WEISSMAN, J.: Lymphoid tissue architecture II. Ontogeny of peripheral T and B cells in mice: evidence against Peyer's patches as site of generation of B cells. *Journal of Immunol.* 1974; 113: 1477-1492.
25. HALL, J. G. PARRY, D. M. e SMITH, M. E.: The distribution and differentiation of lymph-borne immunoblast after intravenous injections into syngeneic recipients. *Cell Tissue Kinet.* 1972; 5: 269-281.
26. POTASH, M. J.: B lymphocyte stimulation. *Cell*, 1981; 23: 7-8.
27. ROUX, M. E., PHILLIPS-ANAGHIATA, J. M. e LAMM, M. E.: Differentiation pathway of Peyer's patch precursors of IgA plasma cells in the secretory immune system. *Cellular Immunology*, 1981; 61: 141-153.
28. REYNOLDS, J.: Gut-associated lymphoid tissues in lambs before and after birth. IN: Trnka, Z. Cahill, R.N.P. eds. Essays on the anatomy and physiology of lymphoid tissues. Basel: S. Karger, 1980; 16: 187-202.
29. RUDZIK, O. e BIENENSTOCK, J.: Isolation and characteristics of gut mucosal lymphocytes. *Lab. Invest.* 1974; 30: 260-266.
30. TAGLIABUE, A., LUIMI, W., SOLDATESCHI, D. e BORASCHI, D.: Natural Killer activity of gut mucosal lymphoid cells in mice. *Eur. J. Immunol.* 1981; 11: 919-922.
31. VAN DER LOO, E. M. CNOSSEN, J. e MEIJER, C. J. L. M.: Morphological aspects of T cell subpopulations in human blood: characterization of the cerebriform mononuclear cells in healthy individuals. *Clin. exp. Immunol.* 1981; 43: 506-516.
32. KÖPKE, C. e EVERETT N. B.: Kinetics of intraepithelial lymphocytes in the small intestine of thymus-deprived mice and antigen-deprived mice. *Anat. Rec.* 1976; 185: 101-108.
33. FERGUSSON, A. e MURRAY, D.: Quantitation of intraepithelial lymphocytes in human jejunum. *Gut.* 1971; 12: 988-994.
34. GUY-GRAND, D. GRISCELLI, C e VASSALLI, P.: The gut-associated lymphoid system: nature and properties of the large dividing cells. *Eur. J. Immun.* 1974; 4: 435-443.
35. MEADER, R. D. e LANDERS, D. F.: Electron and light microscopic observations on relationships between lymphocytes and intestinal epithelium. *Am. J. Anat.* 1967; 121: 763-774.
36. BOCKMAN, D. E. e COOPER, M. D.: Pinocytosis by epithelium associated with lymphoid follicles in the bursa of Fabricius, appendix and Peyer's patches: an electronmicroscope study. *Am. J. Anat.* 1973; 136: 455-477.
37. CASTRO, G. A.: Immunological regulation of epithelial function. *Amer. J. Physiol.* 1982; 243: G 321-329.

Pedido de separatas: M. Nascimento Ferreira
 Dep. de Histologia e Embriologia
 Faculdade de Ciências Médicas
 Campo de Santana, 130
 1198 Lisboa. Portugal