

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA -
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

DISSERTAÇÃO

AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE CÉLULAS CD123+ EM
LINFONODOS DE ESPÉCIES ANIMAIS

Karla Geovanna Pereira Nascimento

2026



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA -
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS**

**AValiação Imuno-Histoquímica de Células CD123+ em
Linfonodos de Espécies Animais**

KARLA GEOVANNA PEREIRA NASCIMENTO

Sob a Orientação da Professora
Ticiano do Nascimento França

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas, área de concentração em Patologia Animal.

Seropédica, RJ
Janeiro de 2026

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N244a Nascimento, Karla Geovanna Pereira, 1995-
Avaliação imuno-histoquímica de células CD123+ em
linfonodos de espécies animais / Karla Geovanna
Pereira Nascimento. - Seropédica, 2024.
57 f.: il.

Orientadora: Ticiania do Nascimento França.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária, 2024.

1. Patologia animal. 2. Células dendríticas
plasmocitoides. 3. Cadeia alfa do receptor de
interleucina 3 (IL-3) . 4. Imunohistoquímica. I.
França, Ticiania do Nascimento, 1974-, orient. II
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária III.
Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

KARLA GEOVANNA PEREIRA NASCIMENTO

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Área de Concentração em Patologia Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 08/03/2024

Ticiania do Nascimento França. Dra. UFRRJ
(orientadora)

Aparecida Alves do Nascimento. Dra. UFRRJ

Valéria Cerqueira Duarte. Dra. UFPA



TERMO Nº 8/2026 - PPGMV (12.28.01.00.00.00.51)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 07/01/2026 14:03)

APARECIDA ALVES DO NASCIMENTO

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DeptBA (12.28.01.00.00.00.45)

Matrícula: ###776#7

(Assinado digitalmente em 07/01/2026 21:58)

TICIANA DO NASCIMENTO FRANCA

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DESP (12.28.01.00.00.00.52)

Matrícula: ###476#8

(Assinado digitalmente em 07/01/2026 14:48)

VALIRIA CERQUEIRA DUARTE

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.707-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: 8, ano: 2026, tipo: **TERMO**, data de emissão: 07/01/2026 e o código de verificação: **f751c66be5**

DEDICATÓRIA

À Mel (*in memoriam*), minha companheira de vida por 20 anos e por toda a eternidade. Tudo para você e por você.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, aos orixás e aos meus guias pelas infinitas bênçãos em meu caminho. Tenho a certeza de que não ando só.

Aos meus pais, Francisco e Célia, por serem minha base e a motivação para todas as minhas conquistas. Minha perseverança vem de vocês e é para lhes dar orgulho. Obrigada por tudo que fizeram por mim até hoje.

À minha família, que acompanha meus passos e minha evolução, que torce pelo meu sucesso e apoia minhas conquistas.

A Miguel Hernandez (*in memorian*), vulgo Miguelito ou Don Miguel, integrante insubstituível da família SAP. Obrigada por todas as risadas – que não foram poucas –, pelos conselhos, conversas e auxílio profissional e pessoal durante todos esses anos de convivência e amizade. Você faz muita falta, mais do que poderia imaginar, e sempre será uma das pessoas mais especiais da minha vida.

Aos meus amigos mais próximos, Arianne Alves, Karoliny Carvalho, Juliana Fouraux, Veronica Limoeiro, Laryssa Chagas, Leonel Neto, Sayonara Christina, a família que escolhi, por toda a paciência, apoio, auxílio e presença constante. A todos os amigos que fiz no caminho profissional na UFF, CJV e também na Rural, obrigada por tornarem tudo mais leve.

A Reinaldo Cardoso, por ser meu porto seguro, fonte de paz, tranquilidade e amor. Obrigada por todo o carinho, compreensão, companheirismo, cuidado, admiração e incentivo, e por acreditar tanto em meu potencial. Não há ninguém como você.

À família SAP: Nathalia Carvalho, Asheley Henrique, Paula Retamero, Fernanda Rocha, Isabel Argueta, Marina Cunha, Bartolomeu Neves e tantos outros, por toda a ajuda, companhia, risadas, ensinamentos essenciais para crescimento não só profissional, mas também pessoal, durante toda essa trajetória na pós-graduação.

Um agradecimento especial a outros membros da família SAP: à técnica Marina Cunha,

pelo auxílio nos cortes das várias lâminas do projeto, e também para Bartolomeu Neves, pela ajuda nas tantas imuno-histoquímicas realizadas. Vocês foram essenciais para a realização deste trabalho.

À Gabrielle Pereira, ao Daniel Costa, ao Gabriel Santos e à Thais Araújo, companhias durante 7 meses no Labsvet. Essa experiência, que só nós sabemos como foi difícil, não seria a mesma sem a nossa união e companheirismo. Levarei a amizade de vocês para a vida.

À minha orientadora, Ticiania França, por toda paciência, ensinamentos e auxílio durante todos esses anos de SAP, desde a graduação até a pós-graduação.

A todos os professores do SAP e da Medicina Veterinária UFRRJ, por ajudarem a formar a profissional que sou hoje e por serem exemplo da profissional que ainda aspiro me tornar.

À Sophia, à Naya e à Toluidina, por me mostrarem o que é o amor incondicional de um animal e por me ajudarem nos momentos mais difíceis com sua companhia. À Mel (*in memoriam*), por ser o motivo pelo qual escolhi a Medicina Veterinária como caminho profissional. Sempre será tudo por você, até o fim.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

RESUMO

NASCIMENTO, Karla Geovanna Pereira. **Avaliação imuno-histoquímica de células CD123+ em linfonodos de espécies animais.** 2026. 57p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Instituto de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

As células dendríticas plasmocitoides (pDCs) constituem um subgrupo de células dendríticas precursoras presentes no sangue periférico e em órgãos linfoides. Essas células são identificadas pela alta expressão do receptor da cadeia α da Interleucina 3 (IL-3R α) e produzem grandes quantidades de Interferon tipo I (IFN-I), mediando a resposta imune. Na imuno-histoquímica, o marcador utilizado para a detecção desse tipo celular é o anticorpo anti-CD123. As pDCs tornaram-se alvo de estudos na medicina humana para o diagnóstico e o desenvolvimento de terapias antitumorais de neoplasias de origem hematológica, processos inflamatórios e doenças autoimunes; pouco se sabe na medicina veterinária sobre a existência das células dendríticas plasmocitoides e sua distribuição em tecido linfóide normal. Em cães, há apenas um trabalho que empregou o anticorpo anti-CD123 para imunomarcagem de pDCs em tumores mamários de cadelas, associando a sua presença com um pior prognóstico tumoral para essa espécie. Dessa forma, o estudo teve como objetivo verificar a eficiência do marcador para a detecção de células CD123+ em linfonodos de cães, gatos, bovinos e equinos e se, nessas espécies, a distribuição é similar à observada em humanos. Realizou-se exame imuno-histoquímico com anticorpo anti-CD123 monoclonal e policlonal em 10 amostras de linfonodos das espécies bovina, felina e canina, e em 5 amostras da espécie equina. Os resultados obtidos com o anticorpo monoclonal não foram satisfatórios. Já com o anticorpo policlonal, células CD123+ foram evidenciadas agrupadas ou individualizadas de forma predominante no paracórtex de todas as amostras de caninos (10/10) e em aproximadamente todos os linfonodos de bovinos (8/10). Na espécie felina os resultados foram negativos em todas as amostras, e em equinos os resultados foram desconsiderados pela presença acentuada de hemossiderina. Concluiu-se que o CD123 é um marcador válido para uso em caninos e bovinos e que estas células, assim como em humanos, distribuem-se mais frequentemente na região paracortical do linfonodo.

Palavras-chave: CD123, células dendríticas plasmocitoides, imunopatologia.

ABSTRACT

NASCIMENTO, Karla Geovanna Pereira. **Immunohistochemical evaluation of CD123+ cells in lymph nodes of animal species.** 2026. 57p. Dissertation (Master's Degree in Veterinary Medicine). Veterinary Institute, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

Plasmacytoid dendritic cells (pDCs) constitute a subgroup of precursor dendritic cells found in peripheral blood and lymphoid organs. These cells are characterized by the high expression of the Interleukin-3 α -chain receptor (IL-3R α) and their capacity to produce large amounts of type-I Interferon (IFN-I), thereby orchestrating the immune response. The anti-CD123 antibody is the standard marker used for pDC detection in immunohistochemistry. While pDCs are a major focus in human medicine for the diagnosis and development of antitumor therapies against hematological malignancies, inflammatory processes, and autoimmune diseases, their existence and distribution in normal lymphoid tissue remain poorly understood in veterinary medicine. In dogs, only one study has utilized anti-CD123 antibodies for the immunolabeling of pDCs in mammary tumors, linking their presence to a worse prognosis. This study aimed to evaluate the efficiency of the anti-CD123 marker for detecting CD123+ cells in the lymph nodes of dogs, cats, cattle, and horses, and to determine if their distribution in these species is comparable to that observed in humans. Immunohistochemical analysis was performed using monoclonal and polyclonal anti-CD123 antibodies on 10 lymph node samples from bovine, feline, and canine species, and 5 samples from the equine species. The results obtained with the monoclonal antibodies were unsatisfactory. However, using polyclonal antibodies, CD123+ cells were predominantly observed, either grouped or individually, in the paracortex of all canine samples (10/10) and in most bovine lymph nodes (8/10). Results were negative in all cat samples. Equine samples were excluded from the final evaluation due to the marked presence of hemosiderin. In conclusion, CD123 is a valid immunohistochemical marker for pDCs in canines and bovines. Furthermore, these cells are most frequently distributed in the lymph node paracortical region, a pattern consistent with findings in humans.

Key-words: CD123, plasmacytoid dendritic cells, immunopathology.

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1: Imunomarcção de células CD123+ nos linfonodos de caninos.	35
Tabela 2: Imunomarcção de células CD123+ nos linfonodos de bovinos.	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema demonstrando a formação de células dendríticas a partir das células tronco hematopoiéticas pluripotentes CD34+ (HSC), que dão origem a células precursoras da linhagem convencional ou mieloide e também da linhagem linfoide. A partir das células progenitoras mieloides, após estímulo inflamatório para maturação e ativação, são formadas células de Langerhans (LCs), células dendríticas intersticiais (IDCs) e células dendríticas derivadas de monócitos (moDCs). Já após ativação das células progenitoras linfoides, são geradas as células dendríticas plasmocitoides (pDCs). Durante o período de ‘steady state’, a população residente de DCs imaturas são encontradas em tecidos como epitélio e mucosa (precursor de LCs), derme e interstício (precursor de IDCs), e também no sangue periférico (precursor de moDCs e pDCs) (YOUNG; MERAD, HART, 2007).	17
Figura 2. Padrão de imunomarcção interfolicular em tonsila humana com anticorpo anti-CD123. IHQ, obj. 20. (IONPATH, 2023).	21
Figura 3. Ilustração com esquema da circulação no linfonodo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).	29
Figura 4. Fotomicrografia de linfonodo. Região cortical (C), paracortical (P) e medular (M), além da cápsula de tecido conjuntivo denso não modelado (CT) revestindo órgão e formando trabéculas (T) projetadas no córtex entre os folículos linfoides (LN), e medular contendo os seios (MS) e cordões medulares (MC). HE, obj. 10. (MESCHER, 2018).	30
Figura 5. Tonsila humana. Controle positivo para IHQ com anticorpo anti-CD123. A e B) Imunomarcção moderada de ‘clusters’ de células CD123+ na região interfolicular. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 20. B) Imunomarcção moderada de ‘clusters’ de células CD123+ na região interfolicular. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 40. C e D) Células CD123+ (imunomarcção moderada) nas regiões interfoliculares e em endotélio (imunomarcção leve). DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 40. E e F) ‘Clusters’ de células CD123+ com imunomarcção moderada a acentuada nas regiões interfoliculares de tonsila. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 100.	34
Figura 6. Linfonodos de cães, IHQ com anticorpo anti-CD123. A) Imunomarcção acentuada de células CD123+ na região paracortical. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 20. B) Raras células CD123+ na região perifolicular com imunomarcção intensa a moderada. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 40. C) Paracórtex com imunomarcção moderada de células CD123+ individualizadas. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 40. D) ‘Clusters’ de células CD123+ com imunomarcção acentuada no paracórtex. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 40. E e F) Células CD123+, isoladas ou em ‘clusters’ com imunomarcção moderada a acentuada no paracórtex. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 100.	36
Figura 7. Linfonodos de bovinos, IHQ com anticorpo anti-CD123. A) Imunomarcção moderada de raras células CD123+ na região intrafolicular (setas). DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj.10. B e C) Região medular com imunomarcção acentuada de células CD123+ individualizadas. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj.40. D) Imunomarcção acentuada de grupos células CD123+ no seio medular (seta). DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj.40.	38
Figura 8. Linfonodos de cães. A e C) Região paracortical de linfonodo canino contendo linfócitos, plasmócitos, células endoteliais e raros macrófagos. HE, obj. 40. B e D) Imunomarcção moderada a acentuada de células CD123+ individualizadas no mesmo campo da região paracortical dos linfonodos A e C. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 40.	39

LISTAS DE ABREVIações

μl	microlitros
APCs	células apresentadoras de antígeno
CCR	receptor de quimiocina CC
cDCs	células dendríticas convencionais
CDPs	progenitores comuns de células dendríticas
CLPs	células progenitoras linfoides
CMFs	progenitores mieloides comuns
CpG	citossina fosfato guanina não-metilada
CPLC	célula progenitora linfóide comum
CPMC	célula progenitora mielóide comum
DAB	3,3'-diaminobenzidina
DCs	células dendríticas
FDCs	células dendríticas foliculares
FRCs	células fibroblásticas foliculares
Ftl3L	fator estimulador de colônia de macrófagos- <i>like tyrosine kinase</i>
GM-CSF	fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos
GMDPs	progenitores de monócitos, granulócitos e células dendríticas
GMP	progenitor de granulócitos e monócitos
HE	hematoxilina e eosina
HEVs	vênulas de endotélio alto
HSC	células tronco hematopoiéticas da medula óssea
IDCs	células dendríticas intersticiais
IFN	Interferon
IHQ	imuno-histoquímica
IL	Interleucina
ILC	célula linfóide inata
ILT	células de transcrição imunoglobulina- <i>like</i>
IPCs	células produtoras de Interferon
LCs	células dendríticas de Langerhans
LED	lúpus eritematoso discoide
LES	lúpus eritematoso sistêmico

LMPPs	progenitores com comprometimento linfomieloide
MDPs	progenitores de macrófagos e células dendríticas
MHC-II	moléculas do complexo principal de histocompatibilidade classe II
MLPs	progenitores linfoides multipotentes
moDCs	células dendríticas derivadas de monócitos
MPPs	progenitores multipotentes
multi-CSF	fator estimulador de múltiplas colônias
MxA	proteína de resistência ao mixovírus
PBS	solução salina tamponada com fosfato
pDCs	células dendríticas plasmocitoides
PIF	peritonite infecciosa felina
TCR	componente receptor de células T
TLR	<i>toll-like receptors</i>
TNF- α	fator de necrose tumoral-alfa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 Células dendríticas	16
2.2 Células dendríticas plasmocitoides	19
2.2.1 Células dendríticas em animais.....	22
2.2.2 Células dendríticas em humanos	24
2.2.3 Expressão de IL-3 (CD123)	24
2.2.4 Papéis das pDCs em infecções.....	25
2.2.5 Papel das pDCs em doenças alérgicas.....	26
2.2.6 Papel das pDCs em neoplasias.....	27
2.3 Morfologia e histologia dos linfonodos.....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5 CONCLUSÃO.....	42
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXOS	53

1 INTRODUÇÃO

Na medicina veterinária, os estudos relacionados à imunopatologia têm avançado nos últimos anos, sobretudo devido à importância dessa resposta no entendimento do desenvolvimento, controle e tratamento de doenças autoimunes e neoplasias. Pouco se sabe sobre a existência das células dendríticas plasmocitoides (pDCs) e sua distribuição nos tecidos linfoides dos animais, com a literatura contendo apenas um trabalho que utilizou o anticorpo anti-CD123 com imunomarcagem de pDCs em tumores mamários de cadelas (ROSOLEM, 2013). O CD123 – ou cadeia alfa (α) do receptor da Interleucina 3 (IL-3), é um marcador altamente sensível utilizado na identificação das pDCs, porém pouco específico por se associar a outras células do sistema imunológico e a células endoteliais. Notadamente, as pDCs têm sido alvo de pesquisas na medicina humana devido ao seu papel em doenças autoimunes, infecções virais e condições inflamatórias, e para o diagnóstico e o desenvolvimento de terapias antitumorais de neoplasias de origem hematológica, como a neoplasia de células dendríticas blásticas plasmocitoides, leucemia mieloide aguda, as leucemias linfoblásticas de células B e leucemia de células pilosas.

Dessa forma, o objetivo deste estudo consiste em comprovar se esse marcador é eficiente para imunomarcagem de células CD123+ em linfonodos de cães, gatos, bovinos e equinos e, se nessas espécies, as distribuições das células imunomarcadas são similares às observadas em humanos. Acredita-se que esses resultados possam embasar estudos futuros acerca da presença e atuação dessas células em doenças autoimunes, infecções virais e neoplasias, assim como ocorre em humanos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Células Dendríticas

As células dendríticas (DCs) representam uma população celular heterogênea originadas de células-tronco hematopoiéticas pluripotentes produzidas na medula óssea e com ampla distribuição em órgãos linfoides e não linfoides. Foram observadas e identificadas pela primeira vez em 1973 por Steinman e Cohn em órgãos linfoides periféricos de camundongos, e nomeadas a partir da palavra ‘*déndron*’ (árvore em grego), devido às suas ramificações citoplasmáticas semelhantes a galhos (STEINMAN, COHN, 1974). São renovadas constantemente devido ao curto tempo de sobrevivência a partir de sua chegada aos tecidos linfoides para interação com as células T (STEINMAN, 1991; SHORTMAN; NAIK, 2007). Alguns experimentos revelaram que as DCs também são geradas a partir de precursores de células T imaturas do timo ou de progenitores linfoides da medula óssea – que são capazes de se diferenciarem em células T, B e NK – que sugere uma via linfóide envolvida na produção deste tipo celular (SAUNDERS *et al.*, 1996).

Em humanos, as DCs são geradas a partir de células tronco hematopoiéticas pluripotentes CD34+ (HSC) (ROSOLEM *et al.*, 2015) que, por sua vez, diferenciam-se em célula progenitora linfóide comum (CPLC) e em célula progenitora mieloide comum (CPMC). A CPLC origina as DCs da linhagem linfóide ou plasmocitoide (pDCs), e as CPMCs produzem as células dendríticas da linhagem mieloide ou convencional (cDCs), que compreendem as células de Langerhans, células dendríticas intersticiais e células dendríticas derivadas de monócitos (Figura 1) (ROSSI; YOUNG, 2005). As linhagens celulares podem ser subdivididas a partir de seus marcadores de superfície – com ambas as linhagens expressando altos níveis de

CD11c, Moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade Classe II (MHC-II) e CD86 e CD40 –, padrões de migração, produção de citocinas, localização, função imunológica e a formação a partir de estímulo infeccioso ou inflamatório (STEINMAN, 1991; SHORTMAN; NAIK, 2007; WU; LIU, 2007).

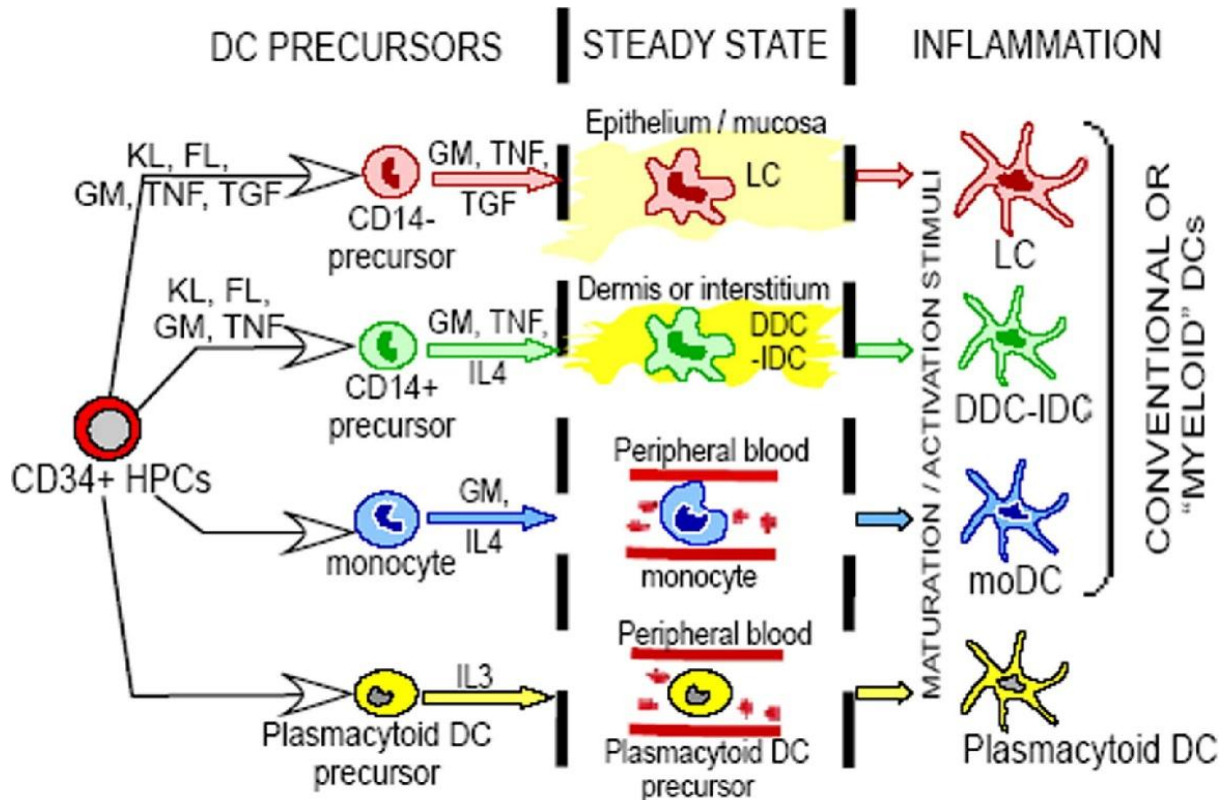


Figura 1. Esquema demonstrando a formação de células dendríticas a partir das células tronco hematopoiéticas pluripotentes CD34+ (HSC), que dão origem a células precursoras da linhagem convencional ou mieloide e também da linhagem linfoide. A partir das células progenitoras mieloides, após estímulo inflamatório para maturação e ativação, são formadas células de Langerhans (LCs), células dendríticas intersticiais (IDCs) e células dendríticas derivadas de monócitos (moDCs). Já após ativação das células progenitoras linfoides, são geradas as células dendríticas plasmocitoides (pDCs). Durante o período de ‘steady state’, a população residente de DCs imaturas são encontradas em tecidos como epitélio e mucosa (precursor de LCs), derme e interstício (precursor de IDCs), e também no sangue periférico (precursor de moDCs e pDCs) (YOUNG; MERAD, HART, 2007).

As DCs são denominadas células apresentadoras de antígeno (APCs) a partir da sua principal função, além desempenharem um papel na ativação de linfócitos T *naïve* após a estímulo por microrganismos e migração para áreas dependentes de células T em órgãos linfoides, onde se ligam a células T antígeno-específicas, tornando-as cruciais para a resposta imune inata e adaptativa e manutenção da autotolerância. Estão presentes na sua forma imatura em diversos órgãos e tecidos onde realizam a captura e processamento de antígenos, e expressam altos níveis de receptores para quimiocinas como CCR1, CCR5 e CCR6, e baixos níveis de CCR7 e MHC-II. O processo de maturação das DCs constitui na ativação de fatores de transcrição, expressão de marcadores de superfície como MHC-II e secreção de moléculas estimulatórias como CD40, CD80, CD86 e CCR7. Os subtipos de DCs (células dendríticas plasmocitoides, células de Langerhans e células dendríticas derivadas de monócitos) atuam

pontualmente como APCs durante processos inflamatórios após estímulos por citocinas específicas (SALLUSTO; LANZAVECCHIA, 1994; BANCHEREAU; STEINMAN, 1998; CELLA *et al.*, 1999; KAH-WAI *et al.* 2006; CONTI, *et al.*, 2014; MURPHY *et al.*, 2014).

De forma geral, as DCs atuam como sentinelas nos tecidos periféricos, onde alertam o sistema imunológico sobre patógenos circulantes para, posteriormente, incitar respostas imunes em órgãos linfoides secundários, e ainda desempenham um papel adjuvante na indução de crescimento e função efetora das células (STEINMAN, 1991; BANCHEREAU; STEINMAN, 1998; BANCHEREAU *et al.*, 2000; COLONNA *et al.*, 2004). Murphy *et al.* (2014) cita que, assim como os neutrófilos e macrófagos, as DCs também fagocitam e degradam patógenos, eliminando-os do organismo.

No grupo das células dendríticas da linhagem convencional estão as células dendríticas de Langerhans (LCs) ou epidermais, células dendríticas intersticiais (IDCs) e as células dendríticas derivadas de monócitos (moDCs) ou inflamatórias. As células de Langerhans foram observadas pela primeira vez na camada supra basal do epitélio escamoso por Langerhans (1868), e atualmente são descritas presentes em locais com interface para o meio externo, como a camada espinhosa da epiderme e mucosas, onde ocorre o primeiro contato de antígenos com células responsáveis pela resposta imunológica e início de sua atuação como sentinela do sistema imune, identificando e fagocitando microrganismos invasores. Após o contato com antígenos, migram através do sistema linfático para os linfonodos regionais onde completam seu processo de maturação, quando perdem suas organelas citoplasmáticas denominadas de grânulos de *Birbeck*, adquirem morfologia dendrítica característica e, por fim, tornam-se capazes de instruir os linfócitos T *naïve* (SANTOS *et al.*, 2010; ZANNA *et al.*, 2021). O padrão de migração exibido por esse tipo celular é distinto do descrito nas células dendríticas, que se deslocam de tecidos periféricos para tecidos linfoides secundários através dos vasos linfáticos aferentes (CELLA *et al.*, 1999).

Por sua vez, as células dendríticas intersticiais (IDCs) residem nos tecidos subepiteliais da derme e interstício de órgãos sólidos, expressam pequena quantidade de MHC-II e são capazes de capturar e apresentar antígenos, porém, não interagem diretamente com células T (SHORTMAN; LIU, 2002; ROSSI; YOUNG, 2005; CONTI *et al.*, 2014). Já as células dendríticas derivadas de monócitos (moDCs) ou inflamatórias, foram descritas pela primeira vez em um experimento que descreveu uma linhagem de DCs derivadas de monócitos sanguíneos através do uso de Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos (GM-CSF) e Interleucina 4 (IL-4). São derivadas de um progenitor mieloide, e são importantes na resposta imune por ofertarem uma ampla gama de APCs, que podem efetivamente iniciar uma resposta imune adaptativa (ZANNA *et al.*, 2021). Observou-se que as moDCs preservam a capacidade de capturar e processar antígenos, assim como as células dendríticas imaturas *in vivo*, e se encontram no tecido epitelial em sua forma imatura e migram através da linfa aferente mediante a estímulos para as áreas ricas em células T nos linfonodos, onde se tornam maduras e secretam Fator de Necrose Tumoral-alfa (TNF- α) em resposta a patógenos e outros agentes inflamatórios (SALLUSTO; LANZAVECCHIA, 1994; LEE, 2005; ROSSI; YOUNG, 2005; CONTI *et al.*, 2014).

As células dendríticas linfoides, também denominadas plasmocitoides (pDCs) em razão de sua morfologia semelhante aos plasmócitos, são ontogeneticamente diferentes das cDCs, residem no sangue e em órgãos linfoides periféricos como timo, medula óssea, baço e linfonodos, estão presentes em menor quantidade no organismo em comparação com as DCs de origem mieloide e são menos eficientes na apresentação antigênica a linfócitos T quando comparadas com outros tipos de DCs (CONTI *et al.*, 2014; MURPHY *et al.*, 2014; CABEZA-CABRERIZO *et al.*, 2021). As pDCs são capazes de se aperfeiçoarem na modulação da força, duração e qualidade das respostas das células NK, T e B, liberando citocinas e quimiocinas apropriadas, bem como na apresentação de antígenos por meio da expressão de MHC-II e

moléculas coestimulatórias (COLONNA *et al.*, 2004; SWIECKI, COLONNA, 2015). Após o reconhecimento de patógenos, as pDCs produzem Interferon tipo-I (IFN-I) como células efectoras do sistema imune inato, e imediatamente se diferenciam em DCs para acionar respostas imunes adaptativas, tornando-se imunoestimulantes ou tolerogênicas de acordo com o estímulo. A produção de IFN-I pelas pDCs auxilia na proteção de células T, especialmente CD8+, contra morte celular induzida por antígeno, garantindo a eficiência da resposta celular. Portanto, as pDCs exercem um papel vital durante a inflamação em comparação com as cDCs, que estão mais envolvidas na manutenção da resposta imunológica (ABB J., ABB H., DEINHARDT, 1983; GROURARD *et al.*, 1997; CELLA *et al.*, 1999; COLONNA *et al.*, 2004; ZANNA *et al.*, 2021).

Atualmente, ainda se discute amplamente os aspectos funcionais desta linhagem celular, com Ziegler-Heitbrock *et al.* (2023) sugerindo a reclassificação das pDCs como linfócitos inatos diante da descoberta de uma provável origem linfóide de desenvolvimento em conjunto com as células B, além de poucas propriedades funcionais compartilhadas entre as cDCs, como a baixa capacidade de apresentação de antígenos, expressão de CD123 e a produção de IFN em altos níveis, e também pela diferença de sua migração, que ocorre pela via linfática. Em resposta a este trabalho, Reizis *et al.* (2023) confirma a provável origem linfóide das pDCs e corrobora a necessidade de novos estudos na tentativa de elucidar a identidade das pDCs, reforçando que este tipo celular, amplamente estudado nas últimas décadas, continua sendo alvo constante de debate em relação à sua origem e funcionalidades.

2.2 Células dendríticas plasmocitoides

Desde a sua descoberta, as células dendríticas plasmocitoides (pDCs) receberam diversas nomenclaturas baseadas na sua plasticidade morfológica, fenotípica e funcional (ALCULUMBRE *et al.*, 2019). Foram descritas pela primeira vez em 1958 pelos patologistas Lennert e Remmele como células plasmocitoides com características morfológicas e citológicas similares aos plasmócitos, localizadas nas áreas ricas em células T de tecidos linfóides secundários, recebendo então a alcunha de plasmócitos associados a células T. Na ocasião desta primeira descrição das pDCs, considerou-se que sua morfologia plasmocitoide indicava síntese e secreção proteica, o que depois provou ser a produção de IFN-I ao invés de imunoglobulinas (GROURARD *et al.*, 1997; CELLA *et al.*, 1999; SIEGAL *et al.*, 1999; SOUMELIS; LIU, 2006). Foi observado por Feller *et al.* (1983) que os plasmócitos associados a células T secretavam linfocinas e apresentavam o marcador para células T *helper* CD4, entretanto, não expressavam antígenos de células B ou imunoglobulinas, sendo renomeadas para células T plasmocitoides e descritas como contraparte de plasmócitos do sistema de células B, que secretam linfocinas ao invés de imunoglobulinas. Posteriormente, Facchetti (1988) revelou que células T plasmocitoides não expressam o componente de receptores de células T (TCR) denominado CD3, e sim MHC-II e raros antígenos mielóides, e com isso, foi sugerida a classificação para monócitos plasmocitoides. Apesar de todas as células nucleadas apresentarem aptidão para produção de IFN-I após infecções virais, o mesmo autor descreveu que as denominadas células produtoras de Interferon (IPCs) exibiam maior capacidade de produção de IFN-I em comparação com outras células, e que apesar de constituírem cerca de 0,2 a 0,8% das células sanguíneas, sua produção de IFN representa cerca de 95% dentre as células mononucleares do sangue periférico (LANDE; GILLIET, 2010). Diversos estudos foram realizados para caracterizar as denominadas IPCs, utilizando anticorpos monoclonais específicos para células NK, células B, células T, monócitos e macrófagos, contudo, sem sucesso (LIU, 2005).

Em relação aos IFNs, as mesmas foram descobertas por Isaacs & Lindenmann (1957) e descritas como proteínas com atividade antiviral secretadas frente a estímulos. São classificadas como IFNs tipo I e II e citocinas IFN-*like*. As IFNs do tipo I compreendem sete classes, incluindo as IFN- α e IFN- β , principalmente, enquanto as IFN do tipo II consistem no IFN- γ

(PESTKA *et al.*, 2004).

A partir do experimento realizado Grouard *et al.* (1997) com técnicas de cultura e citometria de fluxo, estas células foram denominadas pela primeira vez como células dendríticas plasmocitoides, pela revelação de fatores funcionais e morfológicos importantes para a sua caracterização, como: morfologia plasmocitóide, presença de retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi bem desenvolvidos nas pDCs de humanos, e menos desenvolvido nas células de roedores (BJÖRCK, 2001; PASCALE *et al.*, 2008). Na coloração de Giemsa, as pDCs humanas (CD4⁺ e CD11c⁻) exibem morfologia semelhante aos plasmócitos, com formato arredondado, cerca de 8-10 µm de diâmetro com núcleo excêntrico reniforme, citoplasma basofílico e periférico e zona de Golgi pálida (LIU, 2005). Shodell & Siegal (2002) citam a morfologia típica das pDCs com tamanho intermediário entre um linfócito pequeno e um monócito, com núcleo oval a redondo levemente edentado e excêntrico, cromatina finamente dispersa ou reticular, nucléolo inconspícuo e citoplasma moderado. As mudanças morfológicas ocorrem de acordo com a aquisição de funções especializadas, com as células nos estágios iniciais e não diferenciadas apresentando formato arredondado e núcleo grande, cromatina ativa, alta relação núcleo:citoplasma e capacidade proliferativa, entretanto, sem funções efetoras. À medida que se diferenciam, as células passam a exibir formato dendrítico, com capacidade de interagir de forma eficiente com diversas células T (BANCHEREAU; STEINMAN, 1998; HUGUES *et al.*, 2004; SOUMELIS; LIU, 2006). Dentre outras características importantes das pDCs estão a já citada produção de elevadas quantidades de IFN-I e a expressão de marcadores como o MHC-II após a ativação, assim como todas as APCs (GROUARD *et al.*, 1997; LIU, 2005; ALCULUMBRE *et al.*, 2019).

Foi demonstrado pela primeira vez por Cella *et al.* (1999) a sua localização adjacente ou no lúmen das vênulas de endotélio alto (HEVs), que consistem em pequenas veias revestidas por endotélio cuboidal alto no lugar do endotélio escamoso usual, que unem capilares a veias maiores. Além disso, as pDCs são capazes de promoverem a proliferação e manutenção da sobrevivência celular pela ação da citocina IL-3 e na diferenciação das células plasmocitoides em células dendríticas maduras por meio de CD40L, capazes de estimular células T. Ainda segundo a autora, dois subtipos celulares de precursores de células dendríticas exibiram morfologias diferentes em meios de cultura. Na presença do GM-CSF e IL-4, as células de Transcrição Imunoglobulina-like (ILT)3⁺ e ILT1⁺ apresentaram morfologia dendrítica clássica, com dendritos longos abundantes, em contraste com as células ILT3⁺ e ILT1⁻ cultivadas apenas com IL-3 ou associadas a GM-CSF e IL-4, que se organizaram em *clusters* ou individualizadas, exibiam formato plasmocitóide e dendritos discretos. As células ILT3⁺ e ILT1⁺ expressam os marcadores mieloides CD11c, CD13 e CD33, enquanto as células ILT3⁺ e ILT1⁻ são positivas para os marcadores CD36, CD45RA e CD123, e ambos os subtipos celulares expressam CD4, CD40, CD80 e CD86 (CELLA *et al.*, 1999; GIRARD; MOUSSION; FÖRSTER, 2012).

Ainda em relação à morfologia e à diferenciação, foram propostas nomenclaturas baseadas em aspectos morfológicos e funcionais distintos: células plasmocitoides pré-dendríticas ou células profissionais produtoras de IFN-I, para as células com morfologia plasmocitóide produtoras de IFN-I sem a habilidade de processar e apresentar antígenos; e células dendríticas plasmocitoides-derivadas, para as células que adquirem morfologia dendrítica e a habilidade de apresentação de antígeno, porém sem morfologia plasmocitóide e capacidade de sintetizar IFN-I. Os mecanismos de reorganização intracelular e molecular dos compartimentos para a transformação morfológica ainda não foram estabelecidos (SOUMELIS; LIU, 2006).

A via de desenvolvimento das pDCs e sua respectiva regulação molecular não são totalmente conhecidas. Presume-se que as pDCs sejam sintetizadas de forma contínua na medula óssea, migrando para o baço pela corrente sanguínea após estímulo por mediadores inflamatórios, atravessando a zona marginal do órgão e permanecendo nas zonas de células T,

ou ainda migrando por meio das HEVs até as regiões ricas em células T de linfonodos ou da tonsila (Figura 2). Ao infiltrar esses órgãos, as células iniciam processo de apoptose na ausência de interação com sinalizadores de células T (ILT3+ e CD40L), sintetizados por respostas imunes mediadas e dependentes de células T (GROUARD *et al.* 1997; CELLA *et al.*, 1999; PENNA *et al.*, 2002; YONEYAMA *et al.*, 2004; LIU, 2005).

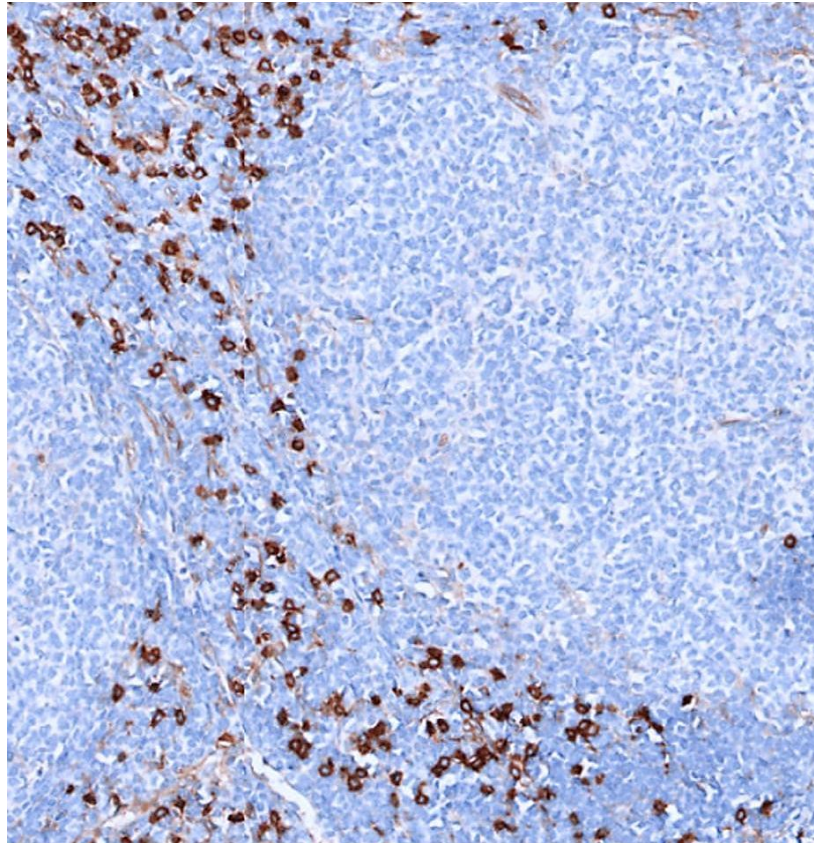


Figura 2. Padrão de imunomarcção interfolicular em tonsila humana com anticorpo anti-CD123. IHQ, obj. 20. (IONPATH, 2023).

Após o reconhecimento do material genético de patógenos por meio dos receptores *Toll-like* (TLR) intracelulares TLR7 (detecção de RNA viral) e TLR9 (detecção de DNA viral), as pDCs produzem citocinas antivirais como IFN-I, que intervêm de forma direta na replicação viral ao induzir a produção de proteínas antivirais (PETSKA *et al.*, 2004; RÖNNBLÖM *et al.*, 2009; ALCULUMBRE *et al.*, 2019). A síntese de IFN-I pelas pDCs auxilia na apresentação cruzada de antígenos e proteção de células T, especialmente CD8+ contra morte celular induzida por antígeno, garantindo a eficiência da resposta celular (ABB J., ABB H., DEINHARDT, 1983; GROUARD *et al.*, 1997; CELLA *et al.*, 2000; LE BON *et al.*, 2003; ROSSI; YOUNG, 2005; FERRAZ *et al.*, 2011).

Além do seu papel frente à replicação viral, o IFN-I derivado das pDCs modula as respostas imunes inata e adaptativa, induzindo a ativação e maturação de várias populações de células imunes como a maturação de cDCs e a diferenciação de mDCs, promovendo um tipo de resposta imune Th1 (SANTINI *et al.*, 2000; ALCULUMBRE *et al.*, 2019). O IFN também estimula a maturação das células NK e atividade citolítica, e, junto com a IL-6 secretada por pDCs, promove a diferenciação de células B em plasmócitos e a polarização de células T CD4+ em células Th1 (CELLA *et al.*, 2000; JEGO *et al.*, 2003).

Logo após a ativação de células plasmocitoides são geradas células dendríticas com pouca capacidade endocítica e fagocítica – mesmo após cultivo com GM-CSF –, contudo, com grande potencial para estímulo alergênico CD4⁺ e CD45RA⁺ em células T *naïve* (ALCULUMBRE *et al.*, 2019). Além da baixa habilidade fagocítica em todos os estágios de maturação, a macropinocitose também é prejudicada nas pDCs, e as DCs derivadas de pDCs induzidas por Citosina fosfato guanina não-metilada (CpG) são capazes de iniciarem respostas de células T CD8⁺ a antígenos ou peptídeos endógenos, mas não aquelas a antígenos exógenos. Estes achados, em conjunto com a expressão seletiva de TLR7 e TLR9 intracelular, sugerem que as pDCs e as DCs derivadas exibem maior especialização em apresentação de antígeno viral e autoantígenos endógenos (GROUARD *et al.*, 1997; ROTHENFUSSER *et al.*, 2002; SALIO *et al.*, 2004).

Ademais, as pDCs e suas DCs correspondentes exibem características de linhagem linfóides, com a expressão de poucos antígenos mielóides como CD11b, CD11c, CD13 e CD33 (GROUARD *et al.*, 1997; RISSOAN *et al.*, 1999), maturação e dependência de IL-3 para sua sobrevivência em virtude da alta expressão do receptor para esta IL, e por fim, expressão de níveis elevados da cadeia α do receptor de células pré-T (RISSOAN *et al.*, 1999).

Visto que os IFNs são citocinas pleiotrópicas com potencial de induzir inflamação exacerbada, a sua produção deve ser rigorosamente regulada. Este tipo celular expressa vários receptores de superfície inibitórios que regulam a produção de IFN-I, interferindo na sinalização TLR7 e 9. Embora a ativação das pDCs em resposta a patógenos dependa principalmente da detecção intracelular, sua função pode ser regulada por numerosos receptores de superfície que detectam sinais próprios e não derivados. Isto permite controlar as respostas das pDCs por fatores secretados derivados do hospedeiro, a fim de apoiar uma resposta imune orquestrada e regulada (ALCULUMBRE *et al.*, 2019).

2.2.1 Células dendríticas em animais

Na medicina veterinária, existem poucos relatos de experimentos com DCs, e além da carência de informações em relação ao fenótipo e morfologia *in vivo* das pDCs, não há descrição de um marcador de superfície celular que seja expresso apenas por esta linhagem celular. De acordo com um estudo realizado por Gutzwiller *et al.* (2010) onde foi conduzida uma análise comparativa entre monócitos caninos e DCs derivadas da medula óssea, as DCs caninas produzidas *in vitro* foram classificadas como CD1c⁺, CD11c⁺, MHC II⁺, CD80⁺, CD86⁺ e CD40⁺. Em outro estudo realizado para detecção de DCs nos tumores de mama em cadelas por meio da técnica de imuno-histoquímica (IHQ), foram determinados os marcadores: CD11c para as cDCs imaturas, CD83 para as cDCs maduras e CD123 para as pDCs. Neste mesmo estudo a descrição das células CD123⁺ foram baseadas apenas na análise quantitativa e no seu imunofenótipo, não descartando a possibilidade de sobrecontagem de células CD123⁺ por reação cruzada com plasmócitos e seus precursores (ROSOLEM, 2013; ROSOLEM *et al.*, 2015).

A maioria dos estudos que permitiram a descoberta das propriedades das DCs foram desenvolvidos em camundongos, em que se definiu a sua origem a partir de células tronco hematopoiéticas (HSCs) que inicialmente geram progenitores multipotentes (MPPs) e progenitores com comprometimento linfomieloide (LMPPs). Este último pode originar os progenitores comuns de células dendríticas (CDPs) que por sua vez produzem um Pre-CDc que dá origem às cDCs, acompanhada pela regulação positiva de CD11c. Os LMPPs também originam os progenitores linfóides (CLPs) e células B, T e NK além de também se distinguirem em progenitores mielóides comuns (CMPs) que dão origem aos progenitores de granulócitos e monócitos (GMPs) que se diferenciam em monócitos, basófilos, eosinófilos, neutrófilos e também cDCs (CABEZA-CABRERIZO *et al.*, 2021).

As DCs de camundongos são heterogêneas assim como em humanos, e são subdivididas

em duas categorias de cDCs: as cDC1s e cDC2s, podendo residir nos linfonodos ou migrarem pelo sistema linfático transitando entre os tecidos linfoides. As cDCs residentes apresentam marcadores diferentes das migratórias, expressando menos MHC-II e maior quantidade de CD11c quando comparados às cDCs migratórias, além de exibirem aspecto morfológico imaturo. As cDCs em camundongos podem ser identificadas pela expressão de CD45, CD135, CD11c e MHC-II além da ausência de marcadores característicos das pDCs, células T, células NK, células B e eritrócitos (WILSON *et al.*, 2003; CABEZA-CABRERIZO *et al.*, 2021).

Dentre as células dendríticas plasmocitoides de humanos e ratos existem diferenças entre diversos fatores fenotípicos e funcionais, entre eles a expressão dos marcadores B220 (células B) e CD11c (DCs), CD123 – após serem tratadas com Ftl3L (Fator estimulador de colônia de macrófagos-like tyrosine kinase), produção de IFN- α e IL-12 em resposta a estímulo microbiano, e expressão de TLRs, não observados em humanos. O CD11c é utilizado como um marcador negativo para as pDCs de camundongos, pois são exibidos de forma discreta nesta espécie e de forma mais abundante em DCs humanas, e ainda em monócitos e macrófagos (ASSELIN-PATUREL *et al.*, 2001; BJÖRCK, 2001; SHORTMAN; LIU, 2002; ROSSI; YOUNG, 2005; ITO *et al.*, 2006; MERAD *et al.*, 2013; VILLANI *et al.*, 2017).

Outras espécies com pDCs identificadas tanto na corrente sanguínea quanto em tecidos linfoides incluem os macacos rhesus – que também apresentam produção de IFN-I frente a estímulos virais *in vivo* –, suínos, ratos e camundongos. Nos camundongos e nos ovinos, o retículo endoplasmático rugoso das pDCs é menos proeminente em comparação às células humanas, além das cDCs murinas não exibirem morfologia secretória, mas possuem capacidade de produzir níveis de IFN comparáveis aos das pDCs após estímulo por sensores de RNA citoplasmático (BJÖRCK, 2001; COATES *et al.*, 2003; DOMEIKA *et al.*, 2004; HUBERT *et al.*, 2004; PASCALE *et al.*, 2008; REIZIS *et al.*, 2011). Assim, a morfologia secretora pode ser uma adaptação útil, mas não a razão da capacidade de secreção de IFN em altos níveis (DIEBOLD *et al.*, 2003; REIZIS *et al.*, 2011).

Já em relação a detecção e caracterização morfológica das DCs em espécies animais, Zanna *et al.* (2021) revisa descrições destas células em aves, caninos, felinos bovinos, equinos, murinos e primatas não humanos. As aves apresentam DCs em praticamente todos os tecidos, especialmente na bursa de Fabricius, baço e placas de Peyer (YASMIN *et al.*, 2015; ZANNA *et al.*, 2021). As DCs caninas exibem formato de ‘célula velada’ em forma de balão com tamanho e formato variáveis, com projeções citoplasmáticas e grandes núcleos lobulados. Já em felinos, as DCs não foram extensivamente estudadas, com relatos de pesquisas realizadas com células originadas da medula óssea utilizando GM-CSF canino e IL-4 humano, que revelaram uma população de tamanho uniforme de células não aderentes com longos processos citoplasmáticos e núcleo excêntrico, que expressam as seguintes moléculas de superfície: CD1a, CD1b, CD1c, CD11c e CD14, CD18 e MHC Classe I e II (SUGIURA *et al.*, 2010; ZANNA *et al.*, 2021). As DCs maduras de felinos apresentam menor capacidade de apresentação de antígeno, e em contrapartida expressam elevadas quantidades de MHC e outras moléculas coestimulatórias de superfície, além de exibirem morfologia irregular com processo celular filiforme contendo dendritos (BIENZLE *et al.*, 2003; NAIR *et al.*, 2003; ZANNA *et al.*, 2021). Na espécie equina, as DCs foram caracterizadas fenotipicamente pela alta expressão de moléculas de superfície como MHC Classe I e II, CD86, CD11a, CD14, CD18, CD206 e baixa expressão de CD4, e morfológicamente se apresentam como células estreladas com dendritos longos e grânulos de Birbeck (KULAKOVA *et al.*, 2010; ZANNA *et al.*, 2021). Por fim, na espécie bovina, há a descrição do isolamento e caracterização de DCs nas vias linfáticas aferentes, que apresentam morfologia irregular, fenótipo heterogêneo e diferenças morfológicas variáveis de acordo com o estágio de maturação (STEPHENS *et al.*, 2003; ZANNA *et al.*, 2021).

2.2.2 Células dendríticas em humanos

Assim como nos camundongos, as DCs humanas derivam igualmente de HSCs produtoras de MPPs, que por sua vez dão origem aos progenitores linfoides multipotentes (MLPs) e progenitores mieloides comuns (CMPs). As duas linhagens são diferenciadas pelo marcador mielóide CD11c, sendo as progenitoras linfoides com marcação CD11c- e CD123+ e as mieloides CD11c+ e CD123- (ROSOLEM, 2013). Os MLPs se diferenciam em progenitores linfoides comuns e em progenitores de células dendríticas convencionais. Já os CMPs se diferenciam em progenitores de monócitos, granulócitos e células dendríticas (GMDPs) e progenitores de macrófagos e células dendríticas (MDPs). Este último se diferencia em CDPs, que dão origem às Pre-cDCs que posteriormente se tornam cDCs, que por sua vez se subdividem em cDC1s e cDC2s e são encontradas no sangue, tecidos linfoides e não linfoides (MERAD *et al.*, 2013; CABEZA-CABRERIZO *et al.*, 2021). Do mesmo modo, as cDCs humanas expressam o receptor CD123 para IL-3, mas em menores níveis que as pDCs, também expressam CD1a e todas possuem MHC-II, CD80, CD83, CD86, CD14- e CD11c, e as DCs imaturas expressam MHC-II, CD80 e CD86 (ROSSI; YOUNG, 2005).

Inicialmente foram identificados dois subtipos de células CD4+ e CD3- em tonsilas humanas: células dendríticas CD4+ CD3- e CD11c+ localizadas nos centros germinativos e com capacidade de ativar e co-ativar células T *naïve* e células B dos centros germinativos, e células CD4+ CD3- e CD11c detectadas nas áreas ricas em células T ao redor das HEVs, com morfologia plasmocitoide e capacidade de diferenciação em células dendríticas maduras, descritas e finalmente definidas como células dendríticas plasmocitoides (GROUARD *et al.*, 1996; DUBOIS *et al.*, 1999).

Foi revelado por Grouard *et al.* (1997) o fenótipo das pDCs presentes na tonsila palatina de humanos como CD4+ e CD11c-. As mesmas expressam o marcador de origem hematopoética CD45RA, porém não expressam marcadores para as células B (CD19 e CD21), células T (CD2, CD3, CD8 e TCR), células NK (CD56 e CD57), células mieloides (CD13 e CD33), monócitos (CD14), células dendríticas mieloides (CD11c), gliforina A entre outros. No entanto, estudos posteriores demonstraram que também há expressão de antígenos para MHC-II e algumas moléculas de adesão como CD11a, CD44 e CD54, e também expressão em baixos níveis de CD40 e CD38 (BANCHEREAU *et al.*, 2000; LIU, 2005).

As pDCs humanas também são caracterizadas como Lin-, MHC-II+, CD303 (BDCA2)+, CD304 (BDCA4)+ e a subunidade α do receptor de IL-3, e não expressam a linhagem associada aos marcadores CD3, CD14, CD16, CD19, além de CD4, CD68, ILT3 (VERMI *et al.*, 2003; ROSSI; YOUNG, 2005; CABEZA-CABRERIZO *et al.*, 2021). Também possuem como característica a expressão de TLR7 e 9 em altos níveis, um fator importante para a diferenciação em outros subtipos de DCs (JARROSAY *et al.*, 2001; KADOWAKI *et al.*, 2001). Em relação ao envolvimento das pDCs em doenças, nos humanos seu papel é bem estabelecido, porém, o entendimento detalhado de sua contribuição para a patogênese e a fisiopatologia da doença é pouco conhecido na maioria dos casos. Esta complexidade se origina da capacidade adaptativa variável deste tipo celular nos mais diversos microambientes e dinâmicas do processo inflamatório, além dos fatores genéticos individuais adicionais (ALCULUMBRE *et al.*, 2019).

2.2.3 Expressão de IL-3 (CD123)

O CD123, mais especificamente a cadeia α do receptor IL-3R, é um marcador utilizado de forma constante para identificação das pDCs por ser altamente sensível, porém pouco específico por associar-se a outras células do sistema imunológico, incluindo outros subtipos de DCs (LIU, 2005; ALCÁNTARA-HERNANDEZ *et al.*, 2017; SEE *et al.*, 2017; VILLANI *et al.*, 2017). Os receptores IL-3, IL-5 e o GM-CSF formam uma subfamília de receptores de membrana conhecida como família beta comum (βc) de citocinas que compartilham a mesma

subunidade de sinalização βc . São receptores heterodímeros, compostos por uma subunidade α específica para citocinas e uma subunidade βc comum, permitindo ligação de alta afinidade e sinalização celular. Estas três citocinas desempenham múltiplas funções biológicas, com envolvimento no controle da hematopoiese normal e maligna, na imunidade inata e adaptativa e na resposta inflamatória (TESTA *et al.*, 2014; EL ACHI *et al.*, 2020).

Especificamente, o IL-3 é uma citocina solúvel e pleiotrópica, produzida sobretudo por linfócitos T ativados, regulando a função e produção de células hematopoiéticas e imunológicas. A IL-3 se liga à subunidade α ligante-específica, resultando em heterodimerização com a subunidade βc de transdução de sinal (EL ACHI *et al.*, 2020). Originalmente, a IL-3 foi denominada como Fator Estimulador de Múltiplas Colônias (multi-CSF) por estimular a produção de uma ampla gama de células hematopoiéticas da medula óssea, incluindo basófilos, neutrófilos, eosinófilos, macrófagos, células eritroides, megacariócitos e células dendríticas. Sua atividade biológica estende-se também à linhagem endotelial, onde a IL-3 atua como estimulador da proliferação de células endoteliais (BRIZZI *et al.*, 1993; LANTZ *et al.*, 1998; TESTA *et al.*, 2014).

Na medicina humana, o CD123 é explorado no diagnóstico de neoplasias de origem hematológica, como a neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (anteriormente denominada como linfoma de célula NK blástica), leucemia mieloide aguda e leucemia linfoblástica de células B, leucemia de células pilosas, e também doenças autoimunes como lúpus eritematoso discoide (LED) e ainda mastocitose sistêmica. Outras patologias que também são caracterizadas pela forte expressão do receptor incluem o sarcoma histiocítico e ainda a histiocitose de células de Langerhans. O CD123 também é utilizado como alvo terapêutico, visto a sua especificidade e sensibilidade para determinados grupos celulares (MUÑOZ *et al.*, 2001; CAMPO *et al.*, 2008; JEGALIAN; FACCHETTI; JAFFE, 2009; TESTA *et al.*, 2014; ANGELOVA *et al.*, 2019; EL ACHI *et al.*, 2020; RAKHSHAN *et al.*, 2020).

O anticorpo anti-CD123, utilizado para marcação de pDCs em tecidos, também realiza reação cruzada com outros tipos celulares como células endoteliais, macrófagos ativados (por exemplo, macrófagos epitelioides em granulomas) e células de *Haller* ou células etmoidais extramurais (revestimento sinusal), e fisiologicamente, os mieloblastos e monócitos expressam níveis baixos de CD123, enquanto as pDCs e basófilos, em comparação, apresentam níveis mais elevados desta molécula (SOZZANI *et al.*, 2010; ALDOSS *et al.*, 2020).

2.2.4 Papéis das pDCs em infecções

As pDCs estão envolvidas de forma ativa nas infecções bacterianas, fúngicas e virais, com sua resposta intimamente ligada aos mecanismos fundamentais de detecção e ao posterior impacto funcional (ALCULUMBRE *et al.*, 2019).

A função das pDCs frente a agentes virais tem grande importância durante a fase aguda da infecção, ao inibirem a replicação viral e prevenirem a disseminação do vírus, estimularem o recrutamento de células T por meio das DCs, a produção de anticorpos pelas células B e sinalização de outras células do sistema imune inato para atuação no local de infecção. Outros tipos celulares, como as DCs, os monócitos e os macrófagos, participam do processo de produção de IFN, além da posterior diferenciação das pDCs em DCs, mediadas por IFN- α e TNF- α autócrinos com o decorrer da infecção viral, que estimulam as células T CD4+ *naïve* a produzir IFN- γ e IL-10. Como as pDCs representam o principal produtor de IFN-I durante a infecção viral, presume-se a sua capacidade de estimular as mDCs a iniciarem respostas de células T CD8+ a antígenos exógenos. Ademais, o IFN-I durante a infecção viral também ativa intensamente monócitos e mDCs infectados por vírus para apresentar antígenos virais às células T, que acabam por induzir fortes respostas antivirais mediadas por células T (LEE, 2005; WANG *et al.*, 2011; SWIECKI *et al.*, 2013; ZANNA *et al.*, 2021).

Em relação às infecções bacterianas, as pDCs são capazes de detectar e responder a

bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, com regulação positiva de moléculas coestimulatórias e produção de IFN-I, além de atuar de forma direta nas células B para indução de produção de IL-10 em resposta a agentes como o *Staphylococcus aureus*. Portanto, as pDCs influenciam tanto a resposta imune inata quanto a adaptativa frente às infecções bacterianas, porém seu impacto no desfecho da infecção permanece obscuro. Nas linfadenites secundárias à infecção por *Mycobacterium tuberculosis*, as pDCs são recrutadas para as zonas ricas em células T e ainda formam agregados ao redor das HEVs e no lúmen (onde as células produzem granzima B) (MICHEA *et al.*, 2013; PARCINA *et al.*, 2013; LOZZA *et al.*, 2014; ALCULUMBRE *et al.*, 2019).

Nas infecções fúngicas, especificamente por *Aspergillus fumigatus hyphae*, as pDCs desempenham um papel protetivo indireto com a produção de IFN-I e TNF- α , e de forma direta ao secretarem a calprotectina e lactoferrina, causando morte fúngica e com ação quelante divalente em cátions essenciais para o crescimento fúngico (RAMIREZ-ORTIZ *et al.*, 2008 e 2011).

A função desempenhada pelas pDCs em infecções parasitárias é bem compreendida na malária, na qual as células não são ativadas no estágio sanguíneo do *Plasmodium falciparum*, porém, a indução de IFN e TLR7 dependente mostrou um papel protetor nas fases iniciais de infecção em experimentos realizados em ratos. Após a infecção pelo parasita, as pDCs se diferenciam em DCs mediadas por IL-3 parácrina liberada por mastócitos, eosinófilos e basófilos, que estimulam células T CD4+ *naïve* para produzir citocinas Th2 IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 (LEE, 2005; YU *et al.*, 2016; LOUGHLAND *et al.*, 2017).

Em conclusão, a complexidade das funções das pDCs na imunidade inata e adaptativa reflete nos seus papéis benéficos ou prejudiciais na infecção. Fatores como estado de ativação das pDCs, contexto microbiano e tecidual e cronologia (fases precoce/aguda *versus* fase tardia/crônica) influenciam o impacto final na resolução da infecção (ALCULUMBRE *et al.*, 2019).

2.2.5 Papel das pDCs em doenças alérgicas

Em virtude de sua habilidade de secreção de IFN-I em altos níveis, as pDCs foram identificadas inicialmente como células potencialmente capazes de atuar em doenças autoimunes, como no lúpus eritematoso (todas as formas) e outras doenças autoimunes e inflamatórias (psoríase, síndrome de Sjögren, esclerose sistêmica, dermatomiosite e alopecia areata). Além de seu papel em doenças autoimunes, foi demonstrado o acúmulo das pDCs na mucosa nasal durante a rinite alérgica induzida de forma experimental, o que sugere o envolvimento destas células em reações inflamatórias induzidas por Th2 (BENGTSSON *et al.*, 2000; FARKAS *et al.*, 2001; RÖNNBLÖM; ALM, 2001; BÅVE *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2019).

Nestle *et al.* (2005) observaram grandes quantidades de pDCs no infiltrado de linfócitos T das placas psoriásicas, correlacionadas com diminuição de células circulantes no sangue pela redistribuição das células nos tecidos lesionados. Zanna *et al.* (2021) menciona a presença de agregados de células NK, células linfoides inatas tipo 3 (ILC-3), células TH17 e células T α , que desencadeiam a produção de citocinas como IL-17 e IL-22.

De forma semelhante, os pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) exibem redução das pDCs circulantes causada por sua migração e infiltração para tecidos-alvo como a pele, e aumento das pDCs produtoras de IFN-I nos tecidos afetados (junção dermoepidérmica, perifolicular e perivascular, e raras células distribuídas na derme), com sua densidade relacionada a altos níveis de proteína de resistência ao mixovírus (MxA), incitada pela presença IFN α e β e correlacionada com o acúmulo de pDCs (FARKAS *et al.*, 2001; TOMASINI *et al.*, 2010; KO *et al.*, 2011; DIAS DE OLIVEIRA *et al.*, 2021).

O principal elemento na patogênese do lúpus consiste na resposta autoimune

desencadeada pela produção de anticorpos antinucleares e imunocomplexos com ácidos nucleicos, com capacidade de ativar pDCs produtoras de IFN-I através da ligação a TLR7 e 9, e que também são alvo da resposta de células B e T autoreativas (BARRAT *et al.*, 2005; ZANNA *et al.*, 2021). Os imunocomplexos podem ser liberados no compartimento endossomal das pDCs através de receptores intracelulares, e os complexos resultantes induzem a secreção de IFN pelo TLR9 (BÅVE *et al.*, 2003; REIZIS *et al.*, 2011). Entretanto, as pDCs ativadas via TLR se tornam resistentes a glicocorticoides, o que pode ser uma causa subjacente relacionada à eficácia limitada destes medicamentos no lúpus (GUIDUCCI *et al.*, 2010; LEPELLETIER *et al.*, 2010). A conexão entre a formação de imunocomplexos compostos por ácidos nucleicos, a ativação das pDCs e secreção de IFN – elevada nas doenças autoimunes e que afeta células do sistema imune, tecidos normais e a tolerância periférica – reforça a importância das pDCs na patogênese da doença. Porém, são necessários estudos em modelos animais para elucidação da relação entre o IFN produzido pelas pDCs na progressão e gravidade do lúpus (RÖNNBLÖM *et al.*, 2009; REIZIS *et al.*, 2011).

No geral, a conversão anormal de ácidos nucleicos próprios em ligantes para TLR7 e 9 em pDCs por meio da formação de complexos imunes, ligação de peptídeos antimicrobianos e outros mecanismos, pode representar uma etapa comum da patogênese na psoríase, lúpus e possivelmente outras doenças autoimunes (BÅVE *et al.*, 2003; REIZIS *et al.*, 2011).

2.2.6 Papel das pDCs em neoplasias

Além de sua importância no desenvolvimento de respostas imunes contra patógenos, as pDCs também são essenciais para o equilíbrio entre a tolerância e imunidade. Sua disfunção contribui para diversas patologias, incluindo os tumores, nos quais sua desregulação é demonstrada pela redução na produção de IFN- α e maior supressão da imunidade antitumoral (MITCHEL; CHINTALA; DEY, 2018). As DCs no geral desempenham um papel importante no controle neoplásico por meio da imunidade adaptativa, com a atuação de células T CD8+ citotóxicas e células T *helper* CD4+ (ZANNA *et al.*, 2021).

O impacto potencial das pDCs na imunidade tumoral é baseado em estudos de pDCs circulantes *in vitro*, enquanto as células detectadas no tumor (ou pDCs associadas ao tumor) são pouco caracterizadas (SOZZANI *et al.*, 2010). Em relação à localização das pDCs nos tumores, sua presença foi evidenciada através de estudos desenvolvidos em tumores cutâneos como o queratoacantoma, carcinoma espinocelular, melanoma e neoplasias de origem hematopoiética (ABBAS *et al.*, 2014; DIAS DE OLIVEIRA *et al.*, 2021). É descrito ainda o acúmulo de pDCs CD4+ e CD11c- em linfonodos drenantes de pacientes humanos com câncer, o que sugere a importância imunológica funcional dessas células nessas condições patológicas (ALCULUMBRE *et al.*, 2019). Apesar da sua capacidade de processar e apresentar antígenos após ativação regular, quando expostas ao microambiente tumoral, as DCs podem exibir falha funcional desencadeada pela influência direta do tumor, sendo creditada como uma das principais causas que culminam no escape tumoral (KAH-WAI *et al.*, 2006; SOZZANI *et al.*, 2010). Com esta falha, as DCs apresentam menor capacidade de estimular os linfócitos T por diminuição na expressão de moléculas coestimulatórias, ocasionando o aumento de DCs imaturas no microambiente tumoral e, por consequência, tolerância dos linfócitos T e escape tumoral da vigilância das DCs (BELL *et al.*, 1999; SOZZANI *et al.*, 2010). Tanto as moDCs quanto as pDCs imaturas possuem habilidade infiltrativa, com as moDCs apresentando atividade refratária ao estímulo por lipopolissacarídeos ou CD40L e sem capacidade de ativação de células T (BELL *et al.*, 1999; VERMI *et al.*, 2003). Estes achados indicam que as moDCs e as pDCs imaturas presentes em tumores sólidos são incapazes de induzir respostas imunes antitumorais, e ao invés disso, induzem células T reguladoras que inibem a imunidade antitumoral (GABRILOVICH, 2004; LIU, 2005; KAH-WAI *et al.*, 2006).

Em tumores mamários, altos níveis de infiltrado contendo pDCs são indicativos de

maior risco de disseminação tumoral e recidivas (LIU, 2005). A primeira descrição na medicina veterinária relacionando as pDCs CD123+ à tumores mamários foi feita por ROSOLEM *et al.* (2015), onde foi relatada a marcação citoplasmática das pDCs presentes na região intratumoral e em menor proporção no infiltrado inflamatório mononuclear nos tumores mamários de cadelas. Isto sugere que pDCs CD123+ podem contribuir para maior agressividade nestes tumores, resultando em morte associada à progressão tumoral.

A respeito de respostas antitumorais, estudos recentes com a administração de IFN- α em neoplasias hematológicas demonstraram bons resultados, assim como na quimioterapia, radioterapia, imunoterapia e em agentes antitumorais específicos (ZITVOGEL *et al.*, 2015; MITHCEL; CHINTALA; DEY, 2018). Logo, o principal desafio está em eliminar a supressão da imunidade induzida pelas pDCs e promover respostas antitumorais através de IFN- α sem desencadear um estado antitumoral, visto a sua função na eliminação tumoral endógena e exógena (MITCHEL; CHINTALA; DEY, 2018).

2.3 Morfologia e histologia dos linfonodos

Os linfonodos são caracterizados como órgãos linfoides secundários e apresentam-se encapsulados, com formato ovoide, superfície convexa extensa e área côncava menor (hilo), e são amplamente distribuídos pelo organismo associados a vasos linfáticos com valvas. Atuam como mecanismo de defesa ao realizarem a filtração da linfa e fagocitose de anticorpos, microrganismos e substâncias estranhas circulantes na linfa, impedindo a chegada a corrente sanguínea. Também são responsáveis pela armazenamento, recirculação e ativação de células B e T, ativação de células B em plasmócitos e células B de memória e ainda participação de forma ativa na produção de anticorpos (EROSCHENKO, 2013; KÖNIG; FRIES; PAULSEN; LIEBICH, 2016).

A circulação sanguínea no linfonodo se dá por meio de uma artéria principal que adentra o órgão através do hilo, que posteriormente se ramifica em arteríolas na medula e em capilares no paracórtex. Em seguida, o sangue flui dos leitos capilares para as HEVs pós capilares, localizadas na zona rica em células T do linfonodo. Finalmente, o sangue flui pelas veias medulares e deixa o linfonodo através de uma veia coletora. As células que compõem o sistema imune adentram o órgão através das HEVs (DCs precursoras) ou pelos vasos linfáticos aferentes (DCs migratórias) e saem pelo vaso linfático eferente na medula através do hilo, área côncava por onde passam estruturas responsáveis pelo fornecimento e drenagem do linfonodo, como vasos sanguíneos e linfáticos, veias e nervos (Figura 3). Após cruzarem os HEVs, as células T migram para zona rica em células T no paracórtex, enquanto as células B adentram os folículos linfoides. A migração intranodal e o posicionamento das células B e T são regulados pelas quimiocinas ligantes CCL19, CCL21 e CXCL13 que são produzidos, nas áreas de células T, por células fibroblásticas reticulares (FRCs), e nos folículos por células dendríticas foliculares (FDCs). Com isso, as HEVs desempenham um papel importante na chegada de cerca de 90% dos linfócitos nos linfonodos (GIRARD; MOUSSION; FÖRSTER, 2012; EROSKCHENKO, 2013; MESCHER, 2018; BLANCHARD; GIRARD, 2021).

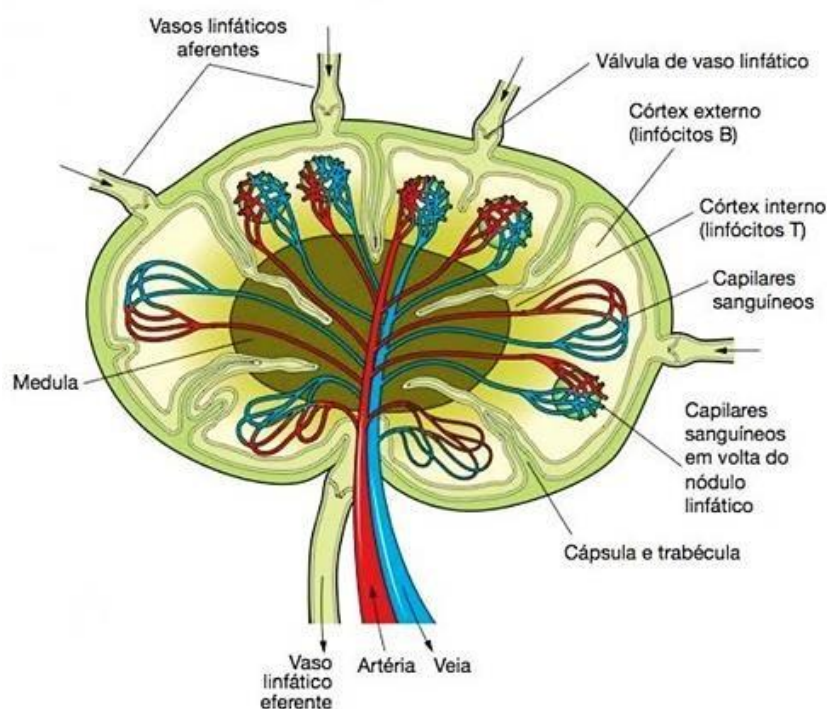


Figura 3. Ilustração com esquema da circulação no linfonodo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Dentre as células encontradas nos linfonodos estão os linfócitos, plasmócitos, células dendríticas, macrófagos e outras APCs, todas estas arranjadas em um estroma composto por fibras e células reticulares que organizam o linfonodo em três regiões principais: córtex, área mais externa e com agregados de células formando folículos linfoides; paracórtex, uma extensão mais profunda do córtex sem os folículos; e a medula composta por sinusóides drenantes proeminentes adjacentes ao hilo, de onde emergem os vasos linfáticos eferentes. São delimitados por uma cápsula de tecido conjuntivo denso não modelado que se estende internamente formando trabéculas, por onde os vasos sanguíneos se ramificam e dão origem a numerosos vasos sanguíneos trabeculares (Figura 4) (KÖNIG; FRIES; PAULSEN; LIEBICH, 2016; MESCHER, 2018).

Na região cortical e imediatamente abaixo da cápsula está o seio subcapsular, por onde circula a linfa que chega através dos vasos linfáticos aferentes que desembocam e penetram a cápsula de tecido conjuntivo denso não modelado que reveste o órgão. Deste espaço, os seios trabeculares (ou corticais) ramificam-se internamente entre os folículos linfoides ao longo das trabéculas de tecido conjuntivo denso não modelado. Estes seios trabeculares são revestidos por um endotélio fino e descontínuo penetrado por fibras reticulares e processos de células dendríticas, endotélio no qual a linfa atravessa para infiltrar o tecido linfático (EROSCHENKO, 2013; ASHTON-KEY *et al.*, 2016; MESCHER, 2018).

A região cortical também é composta por agregados de linfócitos chamados de folículos linfoides, subdivididos em folículos primários e secundários de acordo com seu estado de ativação estimulada por antígenos. Os folículos primários – ou não ativados – contém linfócitos B imaturos e células dendríticas foliculares, enquanto os folículos secundários – já ativados – possuem um centro claro nomeado centro germinativo, formado por centrócitos que formam a zona clara do centro germinativo (voltada para a cápsula do linfonodo) e por centroblastos que compõem a zona escura (voltada para a região paracortical). Por sua vez, os centros germinativos são circundados por linfócitos B pequenos que compõem a zona do manto, e ainda algumas células B com citoplasma claro podem ser vistas ao redor da zona do manto,

denominada de zona marginal (EROSCHENKO, 2013; ASHTON-KEY *et al.*, 2016; MESCHER, 2018). Há ainda a associação de macrófagos ao redor dos nódulos linfóides para a remoção de células B defeituosas recém produzidas e apoptóticas. De modo geral, as estruturas foliculares são compostas por linfócitos B imaturos e ocupam grande parte do córtex não preenchida por linfócitos T *helper* (MESCHER, 2018).

A região localizada entre o córtex e a medula é denominada paracórtex, determinada pela ausência de folículos linfóides e com limites pouco definidos, contendo tecido linfóide rico em células T e eventuais células B esparsas, além das HEVs. Na região paracortical também é descrita a presença das pDCs, que, assim como as células B e T, migram através das HEVs após estímulo por quimiocinas. A literatura descreve a presença das pDCs na região rica em células T (paracórtex), adjacentes e também no lúmen das HEVs, tanto nos linfonodos humanos, quanto em ratos. As células se dispõem de forma individualizada ou formando *clusters* que podem até mimetizar centros foliculares, por vezes, com células apoptóticas associadas a esses agrupamentos celulares. No caso das pDCs, o receptor de quimiocinas CCR7 é fortemente expresso por estas células após ativação por meio de TLRs, estimulando a migração das pDCs através de seus ligantes CCL19 e CCL21 (CELLA *et al.*, 1999; SOZZANI *et al.*, 2010; SETH *et al.*, 2011; ASHTON-KEY *et al.* 2016).

Já a região medular é subdividida em cordões medulares, que são ramificações formadas pela anastomose de cordões de tecido linfóide, que se estendem do paracórtex e são compostos por macrófagos, células T, B e plasmócitos; e em seios medulares, dilatações delimitadas por endotélio contínuo que separa os cordões medulares. Estes seios, além de conterem eventuais células mononucleares, são contínuos com os seios trabeculares, por onde drenam a linfa e convergem como vasos linfáticos eferentes no hilo (EROSCHENKO, 2013; MESCHER, 2018).

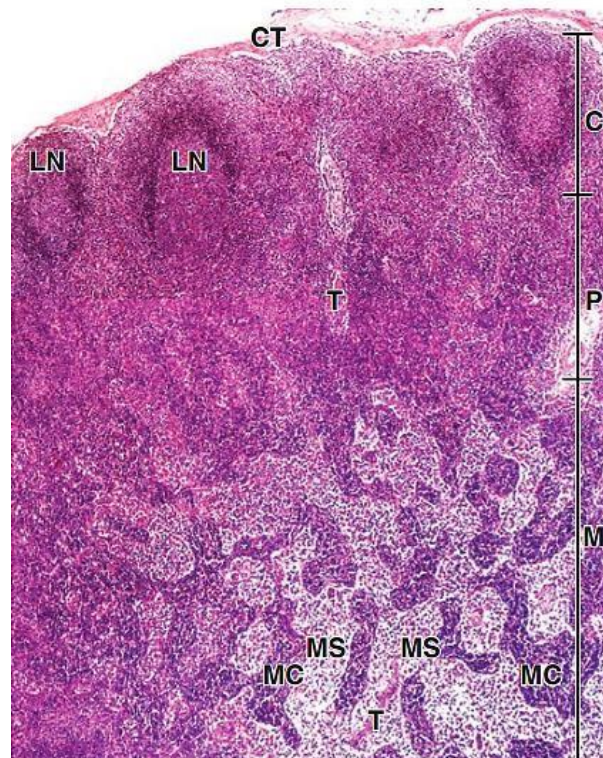


Figura 4. Fotomicrografia de linfonodo. Região cortical (C), paracortical (P) e medular (M), além da cápsula de tecido conjuntivo denso não modelado (CT) revestindo órgão e formando trabéculas (T) projetadas no córtex entre os folículos linfóides (LN), e medular contendo os seios (MS) e cordões medulares (MC). HE, obj. 10. (MESCHER, 2018).

As diferenças anatômicas dos linfonodos entre as espécies animais iniciam-se pela classificação de grupos de linfonodos vizinhos responsáveis pela drenagem de uma determinada região do corpo, denominados linfocentros. Nos carnívoros e ruminantes, há menor quantidade de linfocentros, porém com linfonodos individualmente maiores, enquanto nos equinos e suínos, os linfonodos são relativamente pequenos e estão presentes em maior quantidade (KÖNIG; FRIES; PAULSEN; LIEBICH, 2016). Em relação à morfologia, a única diferença descrita na literatura cita que os linfonodos de suínos possuem uma estrutura específica, denominada invertida, que consiste em um tecido que não possui uma área medular maior e é composto por áreas corticais e paracorticais, com os vasos linfáticos aferentes adentrando o órgão na altura do hilo e os vasos linfáticos eferentes deixando o linfonodo pelo seio subcapsular (ROTHKÖTTER, 2009; RECH *et al.*, 2013; KÖNIG; FRIES; PAULSEN; LIEBICH, 2016).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo imuno-histoquímico foi realizado no Setor de Anatomia Patológica (SAP) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), a partir dos arquivos de blocos de parafina e lâminas histológicas de necropsias de cadáveres com bom estado de conservação e de amostras de biópsia excisional com coleta de linfonodos regionais, abrangendo os casos das espécies canina, felina, bovina e equina, com entrada no setor entre os anos de 2020 a 2023. As lâminas de hematoxilina e eosina (H.E.) foram separadas e analisadas em microscópio óptico, e nos casos em que os fragmentos estavam descoloridos, foram realizados novos cortes com posterior coloração. Os linfonodos foram separados de acordo com as alterações histológicas observadas, sendo descartados os casos que continham alterações que poderiam dificultar a análise IHQ: hemossiderose, antracose, congestão, hemorragia e infiltrado inflamatório com intensidade classificada acima de 'leve', sendo selecionados apenas os casos que não apresentaram alterações ou com intensidade discreta. Por fim, foram selecionados 10 linfonodos de caninos, 10 de felinos, 10 de bovinos e 5 de equinos, e os controles positivos utilizados foram obtidos de amostras de tonsila humana. Dos casos pré-selecionados, foram confeccionadas em lâminas previamente silanizadas os cortes dos linfonodos que seguiram nas etapas de IHQ. Foram utilizados os anticorpos anti-CD123 eBioscience™ monoclonal de camundongo (clone CH6) e anticorpo anti-CD123 policlonal de coelho Invitrogen Thermo Fisher Scientific© como anticorpos primários.

Para a padronização do protocolo, foram separadas lâminas de tonsila palatina humana para serem submetidas as etapas comuns de IHQ. De forma geral, as etapas do protocolo consistiram nas seguintes etapas: recuperação antigênica com tampão Tris-EDTA pH 9 (Dako® EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution High pH) em banho-maria a 96°C, bloqueio da peroxidase (concentração 3 ou 5% de peróxido de hidrogênio em água destilada ou em metanol), bloqueio das reações inespecíficas com Protein Block Novocastra Leica® ou com leite desnatado a 5% (Molico®), sistema de anticorpo secundário Novolink™ Polymer Detection System (*Post Primary* e *Polymer*) e Dako® EnVision™ + Dual Link System HRP, e somente para o anticorpo monoclonal foi adicionada a etapa de Dako® EnVision™ Flex + Mouse (*Linker*) após o anticorpo secundário. Dentre estas etapas, houve diversas tentativas de padronização do protocolo com mudança na duração das reações e da concentração dos reagentes.

Já em relação aos anticorpos primários, as concentrações variaram de acordo com o tipo de anticorpo e com o método de incubação utilizado. Para o anticorpo monoclonal foram

testadas as diluições de 1:25, 1:50, 1:100, 1:150, 1:200 e 1:300 µl, e para o anticorpo policlonal as diluições submetidas aos testes de padronização foram 1:500, 1:1000, 1:2000, 1:4000, 1:6000 µl. O método de incubação do anticorpo primário variou entre estufa a 38 °C durante 2 horas, ou *overnight* em refrigeração a 4 °C com duração variando entre 12 a 16 horas. Por fim, os melhores resultados em relação aos anticorpos primários foram obtidos com a diluição de 1:500 µl para anticorpo policlonal, e para o anticorpo monoclonal a diluição de 1:100 µl apresentou melhores resultados, porém, os mesmos não se mostraram constantes com a repetição do protocolo padronizado, com imunomarcção variável – em relação à quantidade e a intensidade de células imunomarcadas – observadas no controle positivo da tonsila humana. Abaixo descreve-se a metodologia das demais etapas de IHQ após padronização do protocolo.

As etapas descritas a seguir foram semelhantes para os dois anticorpos até a etapa da incubação do anticorpo primário, iniciando com a desparafinização das lâminas com dois banhos de xilol durante 15 minutos cada, desidratação dos cortes em álcool absoluto em três banhos de 5 minutos, e reidratação em água destilada por 5 minutos. Para recuperação antigênica, utilizou-se o tampão Tris-EDTA pH 9 (Dako® EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution High pH), com as lâminas sendo submersas na solução preparada com o tampão a 2% em água destilada em banho maria a 96 °C durante 20 minutos, seguido de descanso à temperatura ambiente por mais 15 minutos. A lavagem dos cortes foi feita no primeiro momento somente com água destilada, sendo seguida por delimitação dos cortes com caneta hidrofóbica PAP Pen Dako® e posterior lavagem dupla com solução Dako® EnVision™ Flex Wash Buffer a 5% (Tween) e solução PBS (Salina Tamponada com Fosfato). O bloqueio da peroxidase foi realizado com peróxido de hidrogênio a 3% em água destilada, com as lâminas submersas na solução por 10 minutos em temperatura ambiente, permanecendo mais 10 minutos após o preparo de nova solução com as mesmas proporções, seguido de lavagem dupla com Tween e PBS. O bloqueio de reações inespecíficas foi realizado com Molico® durante 30 minutos em temperatura ambiente.

A partir da etapa de incubação do anticorpo primário, para o protocolo do anticorpo policlonal, a diluição realizada foi de 1:500 µl, com o método *overnight*, durante 12 horas em refrigeração a 4 °C. Após receberem o anticorpo primário e antes de serem colocadas em refrigeração, as lâminas permaneceram em descanso durante 2 horas em temperatura ambiente. Após lavagem dupla com Tween e PBS, as lâminas receberam o sistema de anticorpo secundário Dako® EnVision™+ Dual Link System HRP, durante 1 hora em temperatura ambiente. O protocolo seguiu com a lavagem dupla e posterior revelação dos cortes, feita com cromógeno Dako® EnVision™ Flex DAB+ Chromogen (3,3'-diaminobenzidina) com diluição 1:20 µl em Substrate Buffer Dako®, durante 5 minutos, seguida de lavagem dupla e contracoloração com Hematoxilina de Harris durante 1 minuto. Por fim, os cortes passaram por 3 banhos de álcool de 10 segundos cada, dois banhos de xilol durante 15 segundos e montagem das lâminas.

Para o anticorpo monoclonal, a diluição realizada foi de 1:100 µl, também com incubação *overnight* durante 16 horas em refrigeração. Após lavagem dupla, os fragmentos receberam a primeira etapa do sistema Dako® EnVision™ Flex + Mouse (*Linker*) para amplificação do sinal do anticorpo, durante 20 minutos em temperatura ambiente, com posterior lavagem dupla e aplicação da segunda etapa com polímero Dako® EnVision™ + Dual Link System HRP, em temperatura ambiente por 30 minutos. As etapas de revelação, contracoloração e montagem das lâminas seguiram de forma similar ao descrito no protocolo do anticorpo policlonal.

A observação da imunomarcção das células CD123+ nos linfonodos foi feita com o uso de microscópio de luz binocular Olympus® BX51 com equipamento para micrografia digital Olympus® UC30 e classificada de acordo com a distribuição das células imunomarcadas e a intensidade da marcação, classificada em leve, moderada e intensa.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram subdivididos de acordo com a espécie animal, regiões do linfonodo contendo células CD123+, individualizadas ou em '*clusters*' (agrupadas) e a intensidade da imunomarcacão (leve, moderada ou acentuada), com posterior comparacão dos resultados obtidos com o controle positivo da amostra de tonsila humana. Em alguns linfonodos, embora as células fossem escassas, as mesmas eram fortemente imunomarcadas.

Com o anticorpo policlonal, na tonsila humana, houve imunomarcacão citoplasmática de células CD123+, com intensidade moderada a intensa, individualizadas e/ou *clusters* (agrupadas) nas regiões interfoliculares (Figura 5), além de endotélio vascular com imunomarcacão leve.

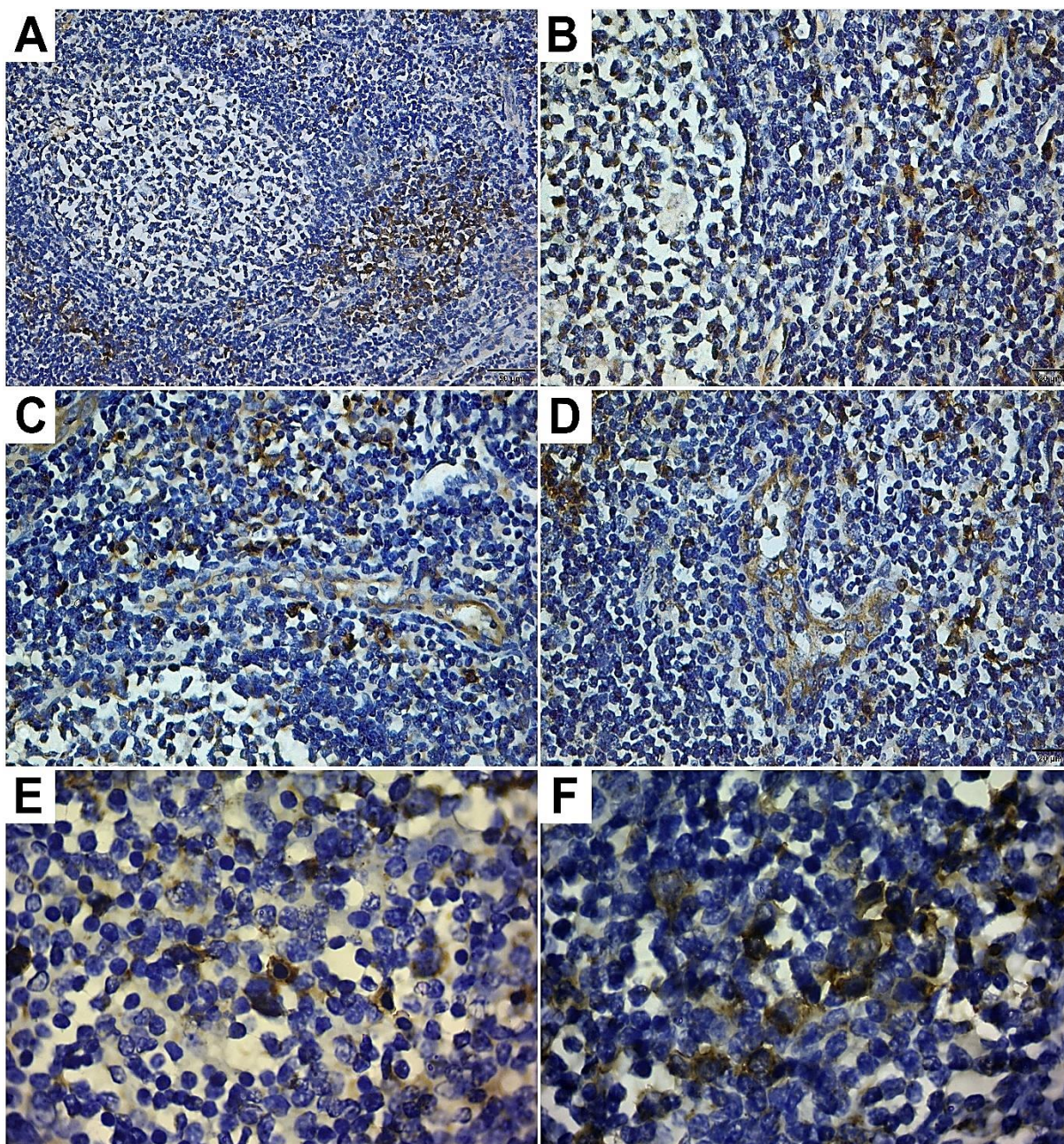


Figura 5. Tonsila humana. Controle positivo para IHQ com anticorpo anti-CD123. **A e B)** Imunomarcção moderada de ‘clusters’ de células CD123+ na região interfollicular. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 20. **B)** Imunomarcção moderada de ‘clusters’ de células CD123+ na região interfollicular. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 40. **C e D)** Células CD123+ (imunomarcção moderada) nas regiões interfolliculares e em endotélio (imunomarcção leve). DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 40. **E e F)** ‘Clusters’ de células CD123+ com imunomarcção moderada a acentuada nas regiões interfolliculares de tonsila. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 100.

O anticorpo monoclonal exibiu um padrão de marcação atípico na espécie canina, com imunomarcção de distribuição difusa, inespecífica e de intensidade acentuada nas estruturas dos linfonodos. Após a aplicação de diferentes protocolos de imuno-histoquímica, com diversas mudanças em relação aos reagentes e a duração de sua aplicação, que incluíram mudanças na concentração do anticorpo primário (1:25, 1:50, 1:100, 1:200 µl), duração da recuperação

antigênica (15, 20 e 30 minutos), duração e concentração do bloqueio das peroxidases (10, 15 e 20 minutos, 3 ou 5%), método de incubação do anticorpo primário monoclonal (estufa a 38°C durante 2 horas ou *overnight* em refrigeração com duração variando entre 12 a 16 horas), duração na incubação nas etapas de anticorpo secundário (15, 20 e 30 minutos com *Linker*, e 30 e 40 minutos com sistema Dako® EnVision™ + Dual Link System HRP), e por fim na concentração e reagentes DAB utilizados (1:20 e 1:40 µl no cromógeno Dako®, 1:50 e 1:100 µl no cromógeno ScyTek®) que resultou no descarte no uso do anticorpo primário associado ao *Linker* nos linfonodos caninos, devido aos constantes resultados atípicos e inespecíficos. Nas outras espécies os resultados variaram de acordo com as tentativas de padronização realizadas nos controles de tonsila humana, porém, com constantes resultados insatisfatórios. Por fim, não foram observadas marcações em células dendríticas plasmocitoides nos linfonodos nas espécies felina, equina e bovina com anticorpo monoclonal, e, portanto, o anticorpo anti-CD123 Clone CH6 foi descartado do estudo.

Já em relação ao anticorpo policlonal, após a padronização do protocolo com imunomarcção de células no controle positivo de tonsila humana (Figura 5), os resultados obtidos nos linfonodos de cães e bovinos foram considerados satisfatórios, sendo subdivididos a partir da espécie e a distribuição das células CD123+ nos linfonodos: **Córtex:** seios subcapsulares e peritrabeculares, intrafolicular, perifolicular; **Paracórtex;** **Medula:** cordões e seios medulares.

A espécie canina expressou imunomarcção com intensidade moderada a intensa, com predominância de células CD123+ no paracórtex próximas as HEVs, distribuição variável nas regiões perifoliculares (6/10) e nos seios peritrabeculares (4/10) e seios subcapsulares (4/10), e ainda imunomarcção do endotélio vascular (Tabela 1), (Figura 6).

Tabela 1: Imunomarcção de células CD123+ nos linfonodos de caninos.

Casos	Perifolicular	Intrafolicular	Seio subcapsular	Seio peritrabecular	Paracórtex	Seios medulares	Cordões medulares
Canino 27	+	+	-	-	+	+	+
Canino 28	-	-	-	-	+	-	-
Canino 29	+	+	+	-	++	-	-
Canino 30	-	-	-	-	+	-	-
Canino 31	+	-	+	-	+	+	-
Canino 32	-	-	-	-	+	-	+
Canino 33	+	-	+	+	++	-	+
Canino 34	++	+	-	+	+++	-	-
Canino 35	++	+	+	+	+++	-	-
Canino 36	-	-	-	+	+	-	-

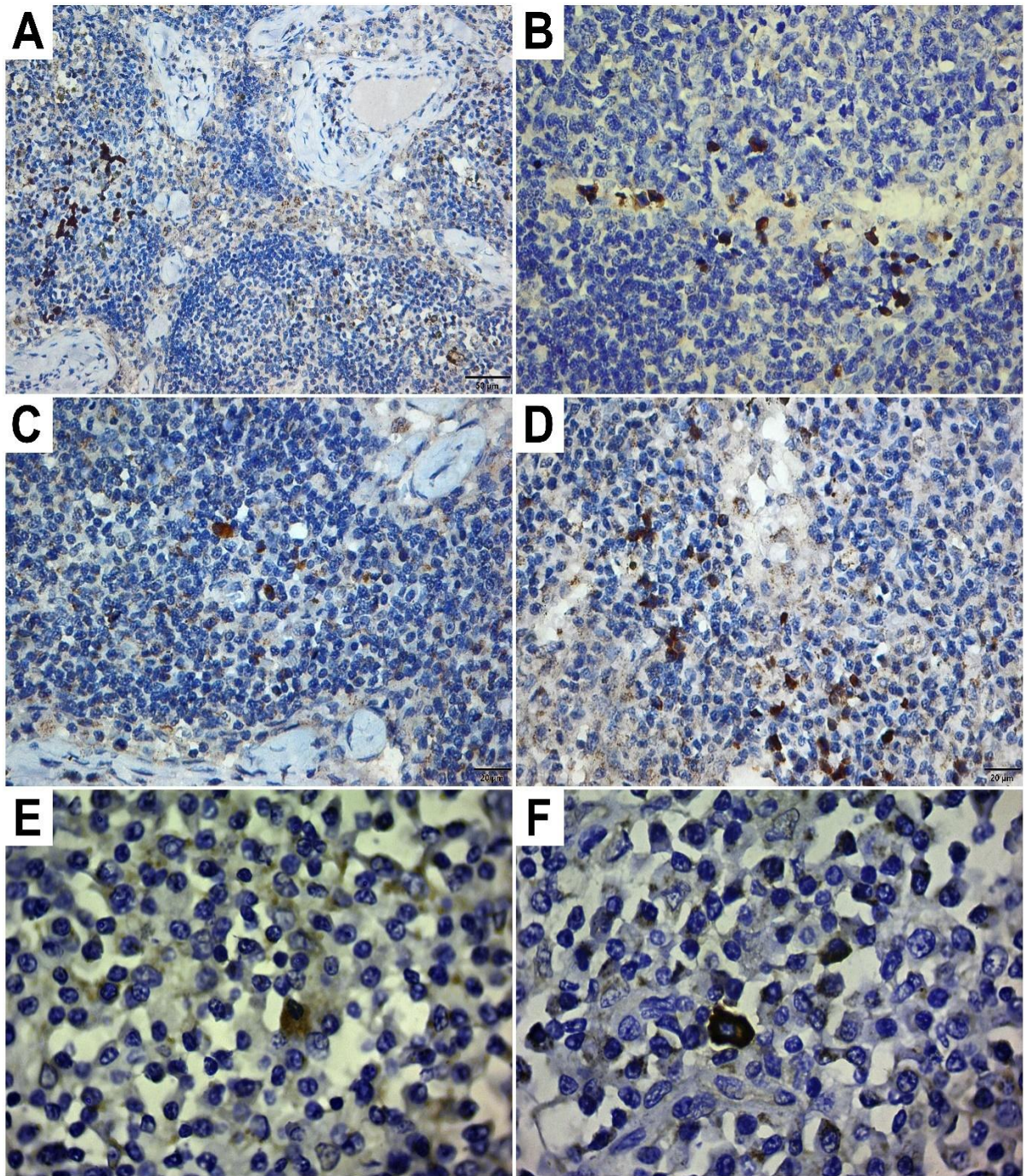


Figura 6. Linfonodos de cães, IHQ com anticorpo anti-CD123. A) Imunomarcção acentuada de células CD123+ na região paracortical. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 20. B) Raras células CD123+ na região perifolicular com imunomarcção intensa a moderada. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 40. C) Paracórtex com imunomarcção moderada de células CD123+ individualizadas. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 40. D) ‘Clusters’ de células CD123+ com imunomarcção acentuada no paracórtex. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 40. E e F) Células CD123+, isoladas ou em ‘clusters’ com imunomarcção moderada a acentuada no paracórtex. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 100.

Nas análises imuno-histoquímicas com os diversos protocolos para o anticorpo policlonal aplicados nos linfonodos de felinos, os resultados obtidos foram negativos tanto para a imunomarcagem de células CD123+, quanto para as células endoteliais.

Na espécie bovina, as células CD123+ exibiram imunomarcagem de intensidade moderada, predominantemente nas regiões do paracórtex (8/10), seios medulares (7/10) e cordões medulares (7/10) e ocasionalmente na região intrafolicular (Tabela 2), (Figura 8).

Tabela 2. Imunomarcagem de células CD123+ nos linfonodos de bovinos.

Casos	Perifolicular	Intrafolicular	Seio subcapsular	Seio peritrabecular	Paracórtex	Seios medulares	Cordões medulares
Bovino 7	+	-	-	+	+	+	+
Bovino 8	+	-	+	+	+	++	+
Bovino 9	+	-	-	+	++	-	-
Bovino 10	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 11	+	+	+	++	++	++	++
Bovino 12	-	-	-	-	+	++	++
Bovino 13	-	-	-	+	+	+	+
Bovino 14	-	-	-	+	+	+	+
Bovino 15	+	-	-	+	++	+	+
Bovino 16	-	-	-	-	-	-	-

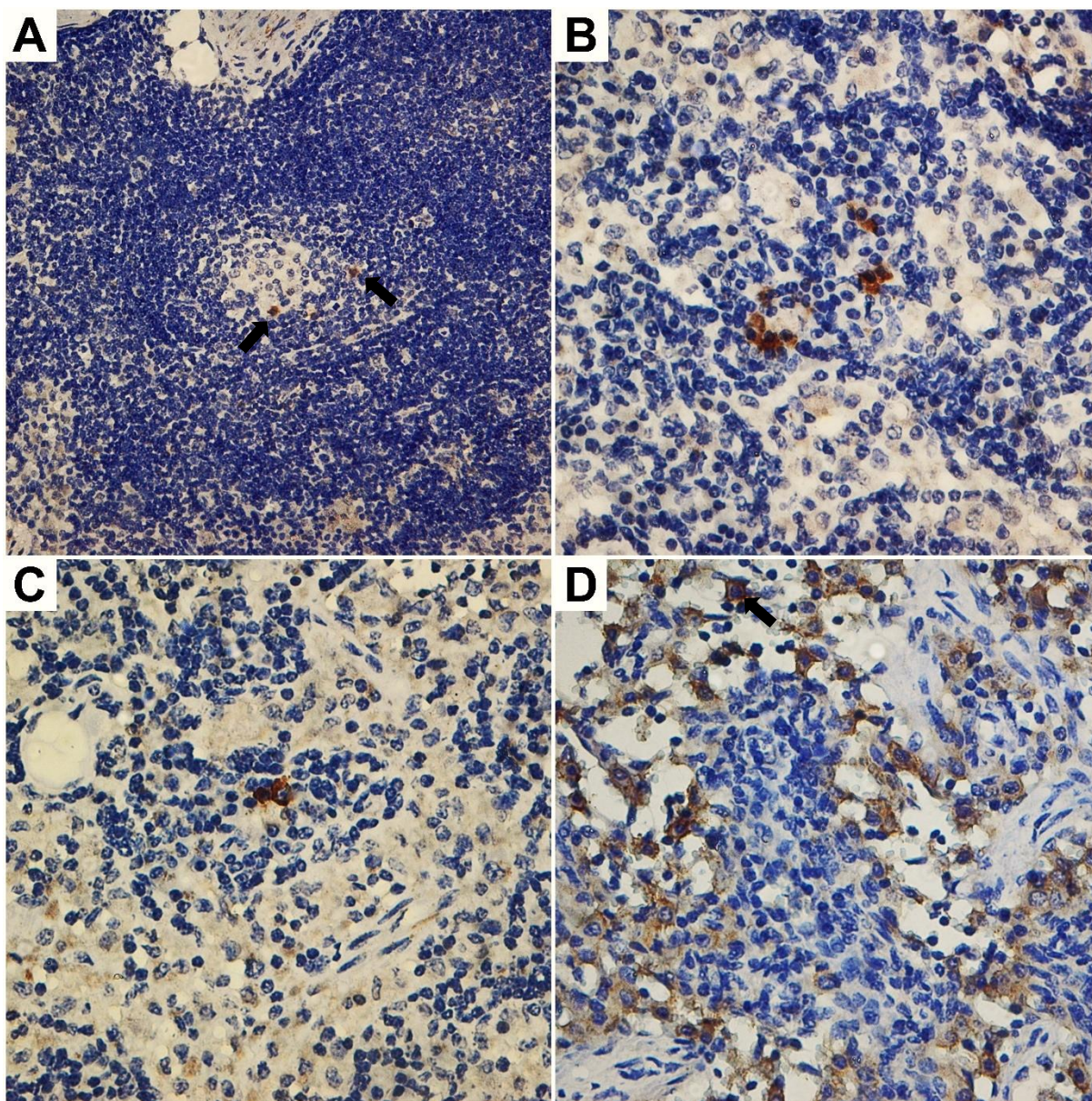


Figura 7. Linfonodos de bovinos, IHQ com anticorpo anti-CD123. **A)** Imunomarcção moderada de raras células CD123+ na região intrafolicular (setas). DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj.10. **B e C)** Região medular com imunomarcção acentuada de células CD123+ individualizadas. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj.40. **D)** Imunomarcção acentuada de grupos células CD123+ no seio medular (seta). DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj.40.

Nos linfonodos dos equinos, observaram-se algumas células menores com imunomarcção citoplasmática, entretanto, devido à hemossiderose verificada nos linfonodos desta espécie, decidiu-se por desconsiderar este resultado.

Após o exame imuno-histoquímico da espécie canina, foi realizada a caracterização das células imunomarcadas nos linfonodos desta espécie. Observou-se que as células imunomarcadas exibiam tamanho em média cerca de 1.5 vezes maiores que uma hemácia (com tamanho que varia entre 6 a 7 μ m), formato ovoide a arredondado, núcleo arredondado e excêntrico com nucléolo pouco evidente. Foram evidenciadas ainda células morfologicamente distintas das células denominadas plasmocitoides, cerca de 2 vezes maiores que hemácias, com

citoplasma amplo, núcleo arredondado a ovoide com cromatina pontilhada e nucléolo pouco evidente (Figura 8).

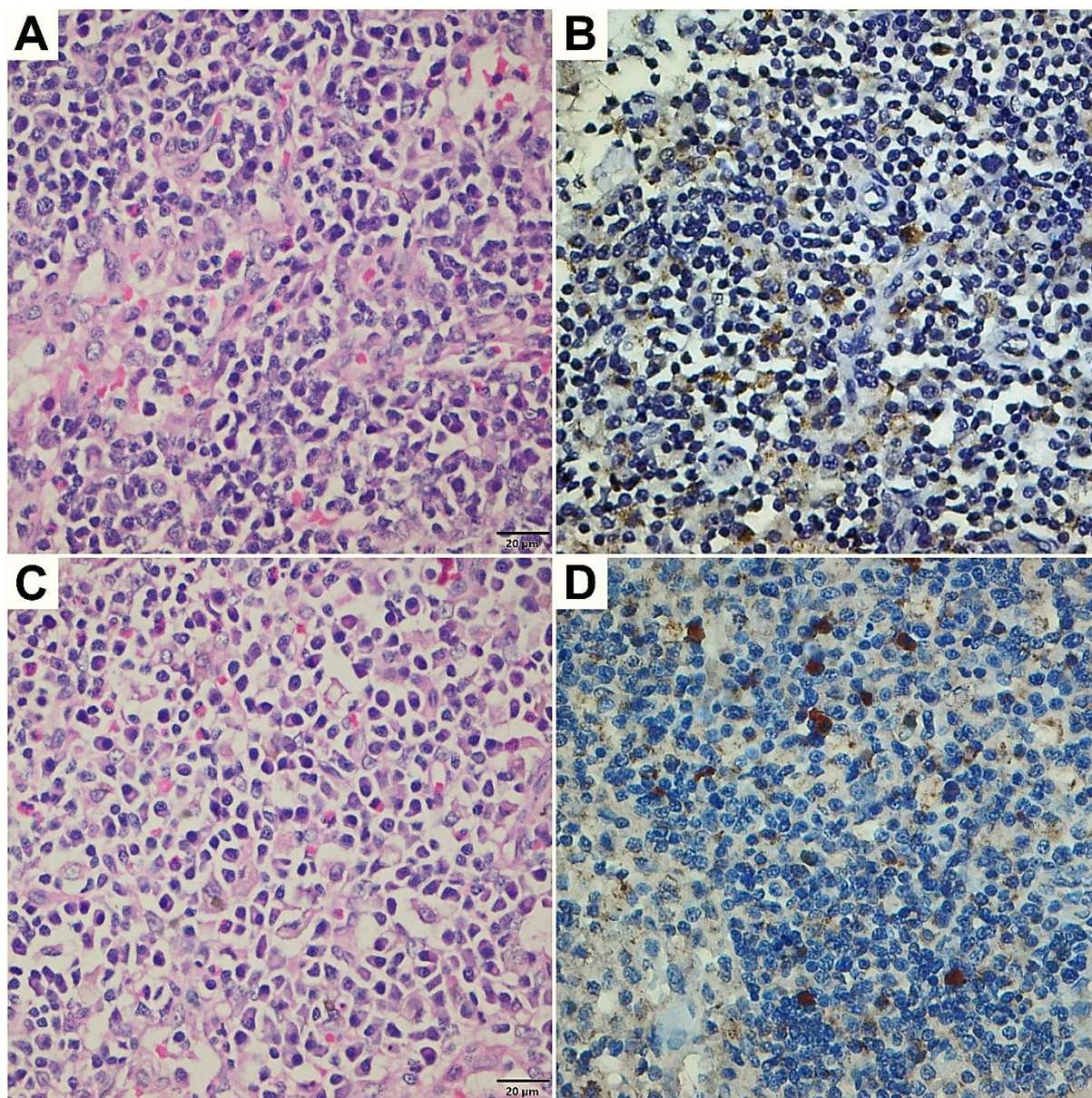


Figura 8. Linfonodos de cães. A e C) Região paracortical de linfonodo canino contendo linfócitos, plasmócitos, células endoteliais e raros macrófagos. HE, obj. 40. B e D) Imunomarcacão moderada a acentuada de células CD123+ individualizadas no mesmo campo da região paracortical dos linfonodos A e C. DAB e contracoloração com Hematoxilina de Harris, obj. 40.

Os resultados obtidos com a aplicação do anticorpo policlonal foram satisfatórios, com imunomarcacão predominante de células CD123+ na região paracortical de caninos (10/10) e bovinos (8/10). A presença das células CD123+ nas zonas ricas em células T são similares aos observados nos estudos mais recentes acerca deste tema, que menciona a associação dessas células nesta região com a sua migração do sangue para o linfonodo através das HEVs por meio de ligantes específicos como CCL19, CCL21 e CXCL13 no receptor de quimiocinas CCR7 (FACCHETTI *et al.*, 1988; GROUARD *et al.*, 1996; CELLA *et al.*, 1999; DUBOIS *et al.*, 1999;

PENNA *et al.*, 2002; YONEYAMA *et al.*, 2004; SETH *et al.*, 2011; ROLLINS-RAVAL *et al.*, 2013; BLANCHARD; GIRARD, 2021).

Em dois cães, a quantidade e distribuição das células CD123+ foram similares às verificadas na tonsila humana. Uma variável que pode afetar a quantidade de pDCs presentes no linfonodo é citada por Facchetti *et al.* (2003) e Rollins-Raval *et al.* (2013), que mencionam o aumento na quantidade de pDCs em associação com a reatividade do linfonodo a patógenos, com menor quantidade de células presentes nos casos de infecções virais, e maior número observado em patologias inflamatórias, não sendo um achado patognomônico para nenhuma desordem em particular.

Neste experimento, os casos de caninos com maior quantitativo de células CD123+ apresentavam diagnóstico de infecções variáveis de acordo com o tecido de origem, como o Canino 29 com histórico de endocardite valvar, Canino 33 com dermatite e furunculose, Canino 34 com paniculite piogranulomatosa e Canino 35 com diagnóstico de mastite linfohistiocítica (Anexo A, 'a'). O mesmo não foi verificado nos bovinos com patologias específicas (Anexo A, 'c'). Não houve associação com o aumento ou redução do número de células CD123+ com o diagnóstico de neoplasias em cães.

A idade do animal é mencionada como um fator relacionado ao declínio funcional e quantitativo das pDCs e consequentemente da produção de IFN-I (SHODELL; SIEGAL, 2002), que segundo Jing *et al.* (2009) são menos frequentes em idades mais avançadas. O mesmo pode ser observado neste experimento nos bovinos, em que as células CD123+ encontravam-se presentes em maior quantidade em animais jovens, como o Bovino 9 (5 anos de idade), Bovino 11 (3 meses de idade), Bovino 12 (5 anos), Bovino 13 (7 meses) e Bovino 15 (9 meses) que exibiram maior quantidade de células CD123+ em comparação com os outros bovinos. A mesma correlação não pôde ser comprovada na espécie canina, na qual a maior expressão de células CD123+ foi verificada em animais de meia-idade a idosos (entre 8 a 13 anos).

Outro fator que pode influenciar a quantidade de pDCs nos linfonodos, porém de forma mais rara, é a reduzida expressão de marcador molecular, neste caso, o CCR7. Seth *et al.* (2011) citam que, em camundongos, a redução na expressão de CCR7, um importante efector na migração das pDCs através das HEVs, acarretou uma diminuição no aporte dessas células no órgão.

Além da distribuição predominante paracortical, em todos os casos, as células CD123+ estavam dispostas de forma individualizada ou agrupada, formando *clusters* com celularidade variável, assim como citam Sozzani *et al.* (2010) e Ashton-Key *et al.* (2016). O mesmo foi observado nos linfonodos de cães, e, em menor proporção, nos de bovinos. Isso pode confirmar a importância das HEVs nos animais como porta de entrada para os linfócitos nos órgãos linfoides secundários, sendo responsáveis por cerca de 90% deste influxo (MESCHER, 2018). Na espécie canina, observou-se um padrão de distribuição semelhante ao descrito na literatura humana, com células ocasionais presentes em outras regiões, como a perifolicular (6/10), os seios peritrabeculares (4/10) e os seios subcapsulares (4/10).

Em humanos, é relatada a importância da IL-3 na proliferação de células endoteliais, e os experimentos que utilizam o anticorpo anti-CD123 apresentam marcação endotelial evidente e frequente. Isso não foi observado na mesma frequência nos linfonodos animais deste estudo, que exibiram rara evidência de células endoteliais (BRIZZI *et al.*, 1993; EHNINGER *et al.*, 2014).

Ainda em relação a espécie canina, os resultados obtidos com o anticorpo monoclonal com o uso do método de anticorpo secundário em duas etapas (*Linker*), demonstraram a instabilidade deste método de detecção nesta espécie, visto que mesmo a sua aplicação sem o uso do anticorpo primário resultou na imunomarcagem celular inespecífica. Portanto, os resultados obtidos nos cães com o emprego do *Linker* devem ser desconsiderados, pela grande probabilidade de imunomarcagem de células e estruturas indesejadas, oposto ao relatado em

pesquisas prévias em que o presente estudo se baseou para a aplicação desta metodologia.

Outras regiões dos linfonodos em que foram observadas ocasionais células CD123+ incluíam os seios peritrabeculares (7/10), seios medulares (7/10) e cordões medulares (7/10) na espécie bovina. No que se refere aos seios trabeculares, os mesmos são formados a partir de projeções internas da cápsula externa do linfonodo e possuem vasos sanguíneos ramificados e vasos linfáticos eferentes, uma das vias de chegada das pDCs (KÖNIG; FRIES; PAULSEN; LIEBICH, 2016; MESCHER, 2018; BLANCHARD; GIRARD, 2021). Associando os componentes e a descrição da marcação nestas espécies, levanta-se a hipótese de uma maior participação dos vasos linfáticos eferentes na chegada de células CD123+ no linfonodo em comparação com as HEVs nos bovinos.

A marcação de células CD123+ nos seios e cordões medulares nos bovinos foi diferenciada da marcação de macrófagos ativados nos seios medulares — frequentemente presentes nesta espécie — levando em consideração somente as células com hiperexpressão, como descrito por Buelens *et al.* (2002). Esta diferenciação é essencial, visto que o experimento utilizou o anticorpo policlonal, que também pode apresentar imunomarcação discreta em outras células sensíveis para anti-CD123. Por sua vez, os seios medulares dos linfonodos são descritos como dilatações delimitadas por endotélio contínuo com os seios corticais e penetrado por fibras reticulares e processos de DCs, por onde ocorre drenagem da linfa e posterior convergência dos vasos linfáticos eferentes (EROSCHENKO, 2013; MESCHER, 2018). Supõe-se que, na espécie bovina, as células CD123+ possam apresentar um padrão de distribuição pelo linfonodo com maior envolvimento de estruturas medulares do que corticais. Raras células CD123+ foram observadas na região cortical, por vezes associadas aos folículos linfóides.

Na espécie felina, todos os casos apresentaram resultados negativos, assim como não foram evidenciadas marcações endoteliais nesta espécie. O menor número de casos selecionados para IHQ na espécie equina se deu pela presença constante de hemossiderina observada nas lâminas em H.E., em quantidades inadequadas para representar um resultado fidedigno por levar a dificuldade na interpretação dos resultados com o emprego do cromógeno DAB, que evidencia as células em tonalidade semelhante ao pigmento. Este mesmo empecilho resultou na desconsideração dos resultados obtidos nesta espécie com o cromógeno, visto a dificuldade na diferenciação de células imunomarcadas das células contendo pigmento de hemossiderina.

Assim como citado por Cella *et al.* (1999) e Soumelis & Liu (2006), as células CD123+ apresentaram duas morfologias, de acordo com os autores, devido ao estado de ativação. Pré-pDCs exibiriam formato plasmocitoide, enquanto as células pDCs ativas seriam maiores e mais distintas em relação à morfologia plasmocitoide. Tipos celulares similares aos dois tipos descritos pelos autores foram verificados neste experimento nas espécies canina e bovina.

Os resultados negativos exibidos nos linfonodos felinos ressaltam a necessidade de novos estudos com diferentes protocolos IHQs para confirmar a aplicação deste anticorpo nesta espécie. Os resultados na espécie canina mostraram maior semelhança aos observados na literatura humana, com células exibindo imunomarcação intensa e padrão morfológico plasmocitoide (pré-pDC) evidente em região paracortical, isoladas ou agrupadas.

Os resultados deste trabalho podem servir como base para estudos futuros com as pDCs nos animais, sobretudo em relação ao seu papel em doenças autoimunes, inflamatórias e neoplásicas.

5 CONCLUSÃO

Demonstrou-se pela primeira vez que o anticorpo anti-CD123 policlonal é válido para imunomarcção de células CD123+ com morfologia plasmocitoide em linfonodos de cães e bovinos. Nos linfonodos de cães, as células CD123+ com aspecto plasmocitoide se distribuíram de forma isolada ou em pequenos grupos, sobretudo na região paracortical e perifolicular, enquanto na espécie bovina as células CD123+ se apresentavam isoladas ou em pequenos grupos, principalmente nos seios e cordões medulares e no paracórtex. Não foram evidenciadas células CD123+ em nenhum dos linfonodos felinos com o anticorpo anti-CD123 policlonal. Os resultados obtidos na espécie equina foram desconsiderados devido à presença constante de hemossiderina nos animais avaliados. Não conseguimos marcação com o anticorpo anti-CD123 monoclonal clone CH6 nos caninos, felinos, bovinos e equinos.

Os resultados deste trabalho podem servir como base para estudos futuros com as pDCs nos animais, sobretudo sobre seu papel em doenças autoimunes, inflamatórias e neoplásicas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABB, J.; ABB, H.; DEINHARDT, F. Phenotype of human alpha-Interferon producing leucocytes identified by monoclonal antibodies. **Clinical and experimental immunology**, v. 52, n. 1, p. 179, 1983.
- ABBAS, O. *et al.* Plasmacytoid dendritic cell involvement in the host response against keratoacanthoma. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 70, n. 6, p. 1142-1145, 2014.
- ALCÁNTARA-HERNÁNDEZ, M. *et al.* High-dimensional phenotypic mapping of human dendritic cells reveals interindividual variation and tissue specialization. **Immunity**, v. 47, n. 6, p. 1037-1050. e6, 2017.
- ALCULUMBRE, S. *et al.* Plasmacytoid pre-dendritic cells (pDC): from molecular pathways to function and disease association. In: **Seminars in cell & developmental biology**. Academic Press, 2019. p. 24-35.
- ALDOSS, I. *et al.* Targeting the alpha subunit of IL-3 receptor (CD123) in patients with acute leukemia. **Human vaccines & immunotherapeutics**, v. 16, n. 10, p. 2341-2348, 2020.
- ANGELOVA, E. *et al.* CD123 expression patterns and selective targeting with a CD123-targeted antibody-drug conjugate (IMGN632) in acute lymphoblastic leukemia. **Haematologica**, v. 104, n. 4, p. 749, 2019.
- ASHTON-KEY, M. *et al.* Normal/reactive lymph nodes: Structure and cells. In: ASHTON-KEY, M. *et al.* **Diagnostic Lymph Node Pathology**. 3. ed. Boca Raton: Crc Press, 2016. Cap. 2. p. 13-14.
- ASSELIN-PATUREL, C. *et al.* Mouse type I IFN-producing cells are immature APCs with plasmacytoid morphology. **Nature immunology**, v. 2, n. 12, p. 1144-1150, 2001.
- BANCHEREAU, J.; STEINMAN, R. M. Dendritic cells and the control of immunity. **Nature**, v. 392, n. 6673, p. 245-252, 1998.
- BANCHEREAU, J. *et al.* Immunobiology of dendritic cells. **Annual review of immunology**, v. 18, n. 1, p. 767-811, 2000.
- BARRAT, F. J. *et al.* Nucleic acids of mammalian origin can act as endogenous ligands for Toll-like receptors and may promote systemic lupus erythematosus. **The Journal of experimental medicine**, v. 202, n. 8, p. 1131-1139, 2005.
- BÅVE, U. *et al.* FcγRIIa is expressed on natural IFN-α-producing cells (plasmacytoid dendritic cells) and is required for the IFN-α production induced by apoptotic cells combined with lupus IgG. **The Journal of Immunology**, v. 171, n. 6, p. 3296-3302, 2003.
- BÅVE, U. *et al.* Activation of the type I Interferon system in primary Sjögren's syndrome: a possible etiopathogenic mechanism. **Arthritis & Rheumatism**, v. 52, n. 4, p. 1185-1195, 2005.

BELL, D. *et al.* In breast carcinoma tissue, immature dendritic cells reside within the tumor, whereas mature dendritic cells are located in peritumoral areas. **The Journal of experimental medicine**, v. 190, n. 10, p. 1417-1426, 1999.

BENGTSSON, A. A. *et al.* Activation of type I Interferon system in systemic lupus erythematosus correlates with disease activity but not with antiretroviral antibodies. **Lupus**, v. 9, n. 9, p. 664-671, 2000.

BIENZLE, D. *et al.* Immunophenotype and functional properties of feline dendritic cells derived from blood and bone marrow. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 96, n. 1-2, p. 19-30, 2003.

BJÖRCK, P. Isolation and characterization of plasmacytoid dendritic cells from Flt3 ligand and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-treated mice. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 98, n. 13, p. 3520-3526, 2001.

BLANCHARD, L.; GIRARD, J. P. High endothelial venules (HEVs) in immunity, inflammation and cancer. **Angiogenesis**, v. 24, n. 4, p. 719-753, 2021.

BRIZZI, M. F. *et al.* Interleukin 3 stimulates proliferation and triggers endothelial- leukocyte adhesion molecule 1 gene activation of human endothelial cells. **The Journal of clinical investigation**, v. 91, n. 6, p. 2887-2892, 1993.

BUELENS, C. *et al.* Interleukin-3 and Interferon β cooperate to induce differentiation of monocytes into dendritic cells with potent helper T-cell stimulatory properties. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 99, n. 3, p. 993-998, 2002.

CABEZA-CABRERIZO, M. *et al.* Dendritic cells revisited. **Annual review of immunology**, v. 39, p. 131-166, 2021.

CAMPO, E. *et al.* **WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues**. Lyon, France: International agency for research on cancer, 2008.

CELLA, M. *et al.* Plasmacytoid monocytes migrate to inflamed lymph nodes and produce large amounts of type I Interferon. **Nature medicine**, v. 5, n. 8, p. 919-923, 1999.

CELLA, M. *et al.* Plasmacytoid dendritic cells activated by influenza virus and CD40L drive a potent TH1 polarization. **Nature immunology**, v. 1, n. 4, p. 305-310, 2000.

CHEN, S. *et al.* Utility of CD123 immunohistochemistry in differentiating lupus erythematosus from cutaneous Tcell lymphoma. **Histopathology**, n.74, v.6, p.908-916, 2019.

COATES, P. T. H. *et al.* Dendritic cell subsets in blood and lymphoid tissue of rhesus monkeys and their mobilization with Flt3 ligand. **Blood**, v. 102, n. 7, p. 2513-2521, 2003.

COLONNA, M.; TRINCHIERI, G.; LIU, Y.-J. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. **Nature immunology**, v. 5, n. 12, p. 1219-1226, 2004.

CONTI, B. J.; SANTIAGO, K. B.; SFORCIN, J. M. Células dendríticas: mini-revisão. **Biosaúde**, v. 16, n. 1, p. 28-33, 2014.

DIAS DE OLIVEIRA, N. F. *et al.* Células dendríticas plasmocitoides na dermatologia. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 96, n. 1, p. 76-81, 2021.

DIEBOLD, S. S. *et al.* Viral infection switches non-plasmacytoid dendritic cells into high Interferon producers. **Nature**, v. 424, n. 6946, p. 324-328, 2003.

DOMEIKA, K. *et al.* Characteristics of oligodeoxyribonucleotides that induce Interferon (IFN)- α in the pig and the phenotype of the IFN- α producing cells. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 101, n. 1-2, p. 87-102, 2004.

DUBOIS, B. *et al.* Toward a role of dendritic cells in the germinal center reaction: triggering of B cell proliferation and isotype switching. **The Journal of Immunology**, v. 162, n. 6, p. 3428-3436, 1999.

EHNINGER, A. *et al.* Distribution and levels of cell surface expression of CD33 and CD123 in acute myeloid leukemia. **Blood cancer journal**, v. 4, n. 6, p. e218-e218, 2014.

EL ACHI, H. *et al.* CD123 as a biomarker in hematolymphoid malignancies: principles of detection and targeted therapies. **Cancers**, v. 12, n. 11, p. 3087, 2020.

EROSCHENKO, V. P. Immune System. In: EROSCHENKO, V. P. **DiFiore's Atlas of Histology**: with functional correlations. 12. ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2013. Cap. 11. p. 242-249.

FACCHETTI, F. *et al.* Plasmacytoid T cells: A cell population normally present in the reactive lymph node: An immunohistochemical and electronmicroscopic study. **Human pathology**, v. 19, n. 9, p. 1085-1092, 1988.

FACCHETTI, F. *et al.* The plasmacytoid monocyte/Interferon producing cells. **Virchows Archiv**, v. 443, p. 703-717, 2003.

FARKAS, L. *et al.* Plasmacytoid dendritic cells (natural Interferon- α/β -producing cells) accumulate in cutaneous lupus erythematosus lesions. **The American journal of pathology**, v. 159, n. 1, p. 237-243, 2001.

FELLER, A. C. *et al.* Immunohistology and aetiology of histiocytic necrotizing lymphadenitis. Report of three instructive cases. **Histopathology**, v. 7, n. 6, p. 825-839, 1983.

FERRAZ, E. G. *et al.* Receptores Toll-Like: ativação e regulação da resposta imune. RGO. **Revista Gaúcha de Odontologia (Online)**, v. 59, n. 3, p. 483-490, 2011.

GABRILOVICH, D. Mechanisms and functional significance of tumour-induced dendritic-cell defects. **Nature Reviews Immunology**, v. 4, n. 12, p. 941-952, 2004.

GIRARD, J. P; MOUSSION, C.; FÖRSTER, R. HEVs, lymphatics and homeostatic immune cell trafficking in lymph nodes. **Nature Reviews Immunology**, v.12, n. 11, p. 762-773, 2012.

GROUARD, G. *et al.* Dendritic cells capable of stimulating T cells in germinal centres. **Nature**, v. 384, n. 6607, p. 364-367, 1996.

GROUARD, G. *et al.* The enigmatic plasmacytoid T cells develop into dendritic cells with interleukin (IL)-3 and CD40-ligand. **The Journal of experimental medicine**, v. 185, n. 6, p. 1101-1112, 1997.

GUIDUCCI, C. *et al.* TLR recognition of self nucleic acids hampers glucocorticoid activity in lupus. **Nature**, v. 465, n. 7300, p. 937-941, 2010.

GUTZWILLER, M. E. R. *et al.* Comparative analysis of canine monocyte-and bone-marrow-derived dendritic cells. **Veterinary research**, v. 41, n. 4, 2010.

HUBERT, F. X. *et al.* Rat plasmacytoid dendritic cells are an abundant subset of MHC class II+ CD4+ CD11b– OX62– and type I IFN-producing cells that exhibit selective expression of Toll-like receptors 7 and 9 and strong responsiveness to CpG. **The Journal of Immunology**, v. 172, n. 12, p. 7485-7494, 2004.

HUGUES, S. *et al.* Distinct T cell dynamics in lymph nodes during the induction of tolerance and immunity. **Nature immunology**, v. 5, n. 12, p. 1235-1242, 2004.

IONPATH. **CD123 Antibody [EPR23188-72] – 169Tm**. 2023. Disponível em: <https://www.ionpath.com/cd123-antibody-169tm/>. Acesso em: 10 fev. 2024.

ISAACS, A.; LINDENMANN, J. Virus interference. I. The Interferon. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B-Biological Sciences**, v. 147, n. 927, p. 258-267, 1957.

ITO, T. *et al.* Specialization, kinetics, and repertoire of type 1 Interferon responses by human plasmacytoid predendritic cells. **Blood**, v. 107, n. 6, p. 2423-2431, 2006.

JARROSSAY, D. *et al.* Specialization and complementarity in microbial molecule recognition by human myeloid and plasmacytoid dendritic cells. **European journal of immunology**, v. 31, n. 11, p. 3388-3393, 2001.

JEGALIAN, A. G.; FACCHETTI, F.; JAFFE, E. S. Plasmacytoid dendritic cells: physiologic roles and pathologic states. **Advances in anatomic pathology**, v. 16, n. 6, p. 392, 2009.

JEGO, G. *et al.* Plasmacytoid dendritic cells induce plasma cell differentiation through type I Interferon and interleukin 6. **Immunity**, v. 19, n. 2, p. 225-234, 2003.

JING, Y. *et al.* Aging is associated with a numerical and functional decline in plasmacytoid dendritic cells, whereas myeloid dendritic cells are relatively unaltered in human peripheral blood. **Human immunology**, v. 70, n. 10, p. 777-784, 2009.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Sistema Imunitário e Órgãos Linfáticos. In: JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica: texto & atlas**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. Cap. 14. p. 266.

KADOWAKI, N. *et al.* Subsets of human dendritic cell precursors express different toll-like receptors and respond to different microbial antigens. **The Journal of experimental medicine**, v. 194, n. 6, p. 863-870, 2001.

KAH-WAI, L. *et al.* R. Dendritic cells heterogeneity and its role in cancer immunity. **Journal**

of cancer research and therapeutics, v. 2, n. 2, p. 35-40, 2006.

KO, C.J. *et al.* Hypertrophic lupus erythematosus: the diagnostic utility of CD123 staining. **Journal of cutaneous pathology**, v. 38, n. 11, p. 889-892, 2011.

KÖNIG, H. E.; FRIES, R.; PAULSEN, P.; LIEBICH, H. G. Sistema Imune e Sistema Linfático. In: KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H.-G. **Anatomia dos Animais Domésticos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. Cap. 13. p. 482-490.

KULAKOVA, N. *et al.* Functional analysis of dendritic cell–T cell interaction in sarcoidosis. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 159, n. 1, p. 82-86, 2010.

LANDE, R.; GILLIET, M. Plasmacytoid dendritic cells: key players in the initiation and regulation of immune responses. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1183, n. 1, p. 89-103, 2010.

LANGERHANS, P. Über die Nerven der menschlichen Haut. **Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin**, v. 44, n. 2-3, p. 325-337, 1868.

LANTZ, C. S. *et al.* Role for interleukin-3 in mast-cell and basophil development and in immunity to parasites. **Nature**, v. 392, n. 6671, p. 90-93, 1998.

LE BON, A. *et al.* Cross-priming of CD8+ T cells stimulated by virus-induced type I Interferon. **Nature immunology**, v. 4, n. 10, p. 1009-1015, 2003.

LEPELLETIER, Y. *et al.* Toll-like receptor control of glucocorticoid-induced apoptosis in human plasmacytoid predendritic cells (pDCs). *Blood*, **The Journal of the American Society of Hematology**, v. 116, n. 18, p. 3389-3397, 2010.

LIU, Y.-J. IPC: professional type 1 Interferon-producing cells and plasmacytoid dendritic cell precursors. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 23, p. 275-306, 2005.

LOUGHLAND, J. R. *et al.* Plasmacytoid dendritic cells appear inactive during sub-microscopic *Plasmodium falciparum* blood-stage infection, yet retain their ability to respond to TLR stimulation. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 2596, 2017.

LOZZA, L. *et al.* Communication between human dendritic cell subsets in tuberculosis: requirements for naive CD4+ T cell stimulation. **Frontiers in immunology**, v. 5, p. 324, 2014.

MERAD, M. *et al.* The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the *steady state* and the inflamed setting. **Annual review of immunology**, v. 31, p. 563-604, 2013.

MESCHER, A. L. (ed.). The Immune System & Lymphoid Organs. In: MESCHER, A. L. (ed.). **Junqueira's Basic Histology: text and atlas**. 15. ed. Bloomington: McGraw- Hill Education, 2018. Cap. 14. p. 282-290.

MICHEA, P. *et al.* Epithelial control of the human pDC response to extracellular bacteria. **European Journal of Immunology**, v. 43, n. 5, p. 1264-1273, 2013.

MITCHELL, D.; CHINTALA, S.; DEY, M. Plasmacytoid dendritic cell in immunity and cancer. **Journal of neuroimmunology**, v. 322, p. 63-73, 2018.

MUÑOZ, L. *et al.* Interleukin-3 receptor alpha chain (CD123) is widely expressed in hematologic malignancies. **Haematologica**, v. 86, n. 12, p. 1261-1269, 2001.

MURPHY, K. **Imunobiologia de Janeway-8**. Artmed Editora, 2014.

NAIR, S. *et al.* Injection of immature dendritic cells into adjuvant-treated skin obviates the need for ex vivo maturation. **The Journal of Immunology**, v. 171, n. 11, p. 6275-6282, 2003.

NESTLE, F. O. *et al.* Plasmacytoid predendritic cells initiate psoriasis through Interferon- α production. **The Journal of experimental medicine**, v. 202, n. 1, p. 135-143, 2005.

PARCINA, M. *et al.* Pathogen-triggered activation of plasmacytoid dendritic cells induces IL-10-producing B cells in response to *Staphylococcus aureus*. **The Journal of Immunology**, v. 190, n. 4, p. 1591-1602, 2013.

PASCALE, F. *et al.* Plasmacytoid dendritic cells migrate in afferent skin lymph. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 9, p. 5963-5972, 2008.

PENNA, G. *et al.* Differential migration behavior and chemokine production by myeloid and plasmacytoid dendritic cells. **Human immunology**, v. 63, n. 12, p. 1164-1171, 2002.

PESTKA, S. *et al.* Interferons, Interferon-like cytokines, and their receptors. **Immunological reviews**, v. 202, n. 1, p. 8-32, 2004.

RAKHSHAN, A. *et al.* Diferentes padrões de distribuição das células dendríticas plasmocitoides no lúpus eritematoso discoide e no líquen plano pilar demonstrados pela imunomarcagem com CD123. **Anais Brasileiros de Dermatologia (Portuguese)**, v. 95, n. 3, p. 307-313, 2020.

RAMIREZ-ORTIZ, Z. G. *et al.* Toll-like receptor 9-dependent immune activation by unmethylated CpG motifs in *Aspergillus fumigatus* DNA. **Infection and immunity**, v. 76, n. 5, p. 2123-2129, 2008.

RAMIREZ-ORTIZ, Z. G. *et al.* A nonredundant role for plasmacytoid dendritic cells in host defense against the human fungal pathogen *Aspergillus fumigatus*. **Cell host & microbe**, v. 9, n. 5, p. 415-424, 2011.

RECH, R. R. *et al.* Nem tudo que parece ser, é lesão: aspectos anatômicos, não lesões, artefatos, lesões sem significado clínico e alterações post mortem encontrados na necropsia de suínos domésticos e selvagens (*Sus scrofa*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 1237- 1255, 2013.

REIZIS, B. *et al.* Plasmacytoid dendritic cells: recent progress and open questions. **Annual review of immunology**, v. 29, p. 163-183, 2011.

REIZIS, B. *et al.* Reclassification of plasmacytoid dendritic cells as innate lymphocytes is premature. **Nature Reviews Immunology**, v. 23, n. 5, p. 336-337, 2023.

RISSOAN, M. C. *et al.* Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation. **Science**, v. 283, n. 5405, p. 1183-1186, 1999.

ROLLINS-RAVAL, M. A. *et al.* The number and growth pattern of plasmacytoid dendritic cells vary in different types of reactive lymph nodes: an immunohistochemical study. **Human Pathology**, v. 44, n. 6, p. 1003-1010, 2013.

RÖNNBLÖM, L.; ALM, G. V. A pivotal role for the natural Interferon α -producing cells (plasmacytoid dendritic cells) in the pathogenesis of lupus. **The Journal of experimental medicine**, v. 194, n. 12, p. F59-F64, 2001.

RÖNNBLÖM, L. *et al.* Type I Interferon and lupus. **Current opinion in rheumatology**, v. 21, n. 5, p. 471-477, 2009.

ROSOLEM, M. C. RELAÇÃO ENTRE O INFILTRADO INFLAMATÓRIO E AS CÉLULAS DENDRÍTICAS NA RESPOSTA IMUNE AOS CARCINOMAS DO TIPO SIMPLES EM MAMA DE CADELAS. 2013. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2013.

ROSOLEM, M. C. *et al.* Immunodetection of myeloid and plasmacytoid dendritic cells in mammary carcinomas of female dogs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, p. 906-912, 2015.

ROSSI, M.; YOUNG, J. W. Human dendritic cells: potent antigen-presenting cells at the crossroads of innate and adaptive immunity. **The Journal of Immunology**, v. 175, n. 3, p. 1373-1381, 2005.

ROTHENFUSSER, S. *et al.* Plasmacytoid dendritic cells: the key to CpG. **Human immunology**, v. 63, n. 12, p. 1111-1119, 2002.

ROTHKÖTTER, H. J. Anatomical particularities of the porcine immune system—a physician's view. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 33, n. 3, p. 267-272, 2009.

SALIO, M. *et al.* CpG-matured murine plasmacytoid dendritic cells are capable of *in vivo* priming of functional CD8 T cell responses to endogenous but not exogenous antigens. **The Journal of experimental medicine**, v. 199, n. 4, p. 567-579, 2004.

SALLUSTO, F.; LANZAVECCHIA, A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor alpha. **The Journal of experimental medicine**, v. 179, n. 4, p. 1109-1118, 1994.

SANTINI, S. M. *et al.* Type I Interferon as a powerful adjuvant for monocyte-derived dendritic cell development and activity *in vitro* and in Hu-PBL-SCID mice. **The Journal of experimental medicine**, v. 191, n. 10, p. 1777-1788, 2000.

SANTOS, I. *et al.* Estudo quantitativo das células de Langerhans em carcinomas basocelulares com maior e menor potencial de agressividade local. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, p. 165-171, 2010.

SAUNDERS, D. *et al.* Dendritic cell development in culture from thymic precursor cells in the absence of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. **The Journal of experimental medicine**, v. 184, n. 6, p. 2185-2196, 1996.

SEE, P. *et al.* Mapping the human DC lineage through the integration of high-dimensional techniques. **Science**, v. 356, n. 6342, p. eaag3009, 2017.

SETH, S. *et al.* CCR7 essentially contributes to the homing of plasmacytoid dendritic cells to lymph nodes under steady-state as well as inflammatory conditions. **The Journal of Immunology**, v. 186, n. 6, p. 3364-3372, 2011.

SHODELL, M.; SIEGAL, F. P. Circulating, Interferon-producing plasmacytoid dendritic cells decline during human ageing. **Scandinavian journal of immunology**, v. 56, n. 5, p. 518-521, 2002.

SHORTMAN, K.; LIU, Y.-J. Mouse and human dendritic cell subtypes. **Nature Reviews Immunology**, v. 2, n. 3, p. 151-161, 2002.

SHORTMAN, K.; NAIK, S. H. Steady-state and inflammatory dendritic-cell development. **Nature Reviews Immunology**, v. 7, n. 1, p. 19-30, 2007.

SIEGAL, F. P. *et al.* The nature of the principal type 1 Interferon-producing cells in human blood. **Science**, v. 284, n. 5421, p. 1835-1837, 1999.

SOUMELIS, V.; LIU, Y.-J. From plasmacytoid to dendritic cell: morphological and functional switches during plasmacytoid pre-dendritic cell differentiation. **European journal of immunology**, v. 36, n. 9, p. 2286-2292, 2006.

SOZZANI, S. *et al.* Trafficking properties of plasmacytoid dendritic cells in health and disease. **Trends in immunology**, v. 31, n. 7, p. 270-277, 2010.

STEINMAN, R. M.; COHN, Z. A. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. **Journal of Experimental Medicine**, v. 139, n. 2, p. 380-397, 1974.

STEINMAN, R. M. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. **Annual review of immunology**, v. 9, n. 1, p. 271-296, 1991.

STEPHENS, S. A. *et al.* Differences in cytokine synthesis by the sub-populations of dendritic cells from afferent lymph. **Immunology**, v. 110, n. 1, p. 48-57, 2003.

SUGIURA, K. *et al.* Effect of IL-12 on canine dendritic cell maturation following differentiation induced by granulocyte-macrophage CSF and IL-4. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 137, n. 3-4, p. 322-326, 2010.

SWIECKI, M. *et al.* Plasmacytoid dendritic cells contribute to systemic but not local antiviral responses to HSV infections. **PLoS pathogens**, v. 9, n. 10, p. e1003728, 2013.

SWIECKI, M.; COLONNA, M. The multifaceted biology of plasmacytoid dendritic cells. **Nature Reviews Immunology**, v. 15, n. 8, p. 471-485, 2015.

TESTA, U. *et al.* CD 123 is a membrane biomarker and a therapeutic target in hematologic malignancies. **Biomarker research**, v. 2, n. 1, p. 1-11, 2014.

TOMASINI, D. *et al.* Plasmacytoid dendritic cells: an overview of their presence and distribution in different inflammatory skin diseases, with special emphasis on Jessner's lymphocytic infiltrate of the skin and cutaneous lupus erythematosus. **Journal of cutaneous pathology**, v. 37, n. 11, p. 1132-1139, 2010.

VERMI, W. *et al.* Recruitment of immature plasmacytoid dendritic cells (plasmacytoid monocytes) and myeloid dendritic cells in primary cutaneous melanomas. **The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland**, v. 200, n. 2, p. 255-268, 2003.

VILLANI, A. C. *et al.* Single-cell RNA-seq reveals new types of human blood dendritic cells, monocytes, and progenitors. **Science**, v. 356, n. 6335, p. eaah4573, 2017.

WANG, Y. *et al.* dsRNA sensors and plasmacytoid dendritic cells in host defense and autoimmunity. **Immunological reviews**, v. 243, n. 1, p. 74-90, 2011.

WENDELBOE, H. G.; LYKKE, A.; PACE, G. E. Troubleshooting. In: TAYLOR, C. R.; RUDBECK, L. (ed.). **Immunohistochemical staining methods**. 6. ed. Glostrup: Dako Denmark A/S, 2013. cap. 16, p. 180-197.

WILSON, N. S. *et al.* Most lymphoid organ dendritic cell types are phenotypically and functionally immature. **Blood**, v. 102, n. 6, p. 2187-2194, 2003.

WU, L.; LIU, Y-J. Development of dendritic-cell lineages. **Immunity**, v. 26, n. 6, p. 741-750, 2007.

YASMIN, A. R. *et al.* *In vitro* characterization of chicken bone marrow-derived dendritic cells following infection with very virulent infectious bursal disease virus. **Avian Pathology**, v. 44, n. 6, p. 452-462, 2015.

YONEYAMA, H. *et al.* Evidence for recruitment of plasmacytoid dendritic cell precursors to inflamed lymph nodes through high endothelial venules. **International immunology**, v. 16, n. 7, p. 915-928, 2004.

YOUNG, J. W.; MERAD, M.; HART, D. N. J. Dendritic cells in transplantation and immune-based therapies. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 13, p. 23-32, 2007.

YU, X. *et al.* Cross-regulation of two type I Interferon signaling pathways in plasmacytoid dendritic cells controls anti-malaria immunity and host mortality. **Immunity**, v. 45, n. 5, p. 1093-1107, 2016.

ZANNA, M. Y. *et al.* Review of dendritic cells, their role in clinical immunology, and distribution in various animal species. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 15, p. 8044, 2021.

ZIEGLER-HEITBROCK, L. *et al.* Reclassifying plasmacytoid dendritic cells as innate lymphocytes. **Nature Reviews Immunology**, v. 23, n. 1, p. 1-2, 2023.

ZITVOGEL, L. *et al.* Type I Interferons in anticancer immunity. **Nature Reviews Immunology**, v. 15, n. 7, p. 405-414, 2015.

ANEXOS

Anexo A. Tabelas (A a D) com dados dos animais utilizados no estudo por espécie.

ANEXO A

Dados dos casos utilizados por espécie.

A. Caninos

Número de registro	Identificação	Idade	Sexo	Diagnósticos	Origem do material
36509	Canino 27	14 anos	Fêmea	Adenocarcinoma tubular simples	Biópsia
36578	Canino 28	7 anos	Fêmea	Hiperplasia lobular	Biópsia
37357	Canino 29	8 anos	Macho	Linfoma epiteliotrópico e endocardite valvar	Necropsia
38736	Canino 30	10 anos	Fêmea	Cistoadenoma simples e adenoma tubular	Biópsia
38627	Canino 31	11 anos	Fêmea	Ectasia ductal mamária e adenoma complexo	Biópsia
39085	Canino 32	7 anos	Fêmea	Adenoma tubular, carcinoma em tumor misto e carcinoma complexo linfoplasmocítica	Biópsia
38494	Canino 33	8 anos	Fêmea	Dermatite, furunculose, lipoma e carcinoma sólido	Biópsia
39222	Canino 34	13 anos	Fêmea	Carcinoma tubular, paniculite piogranulomatosa e lipoma	Biópsia
38215	Canino 35	Não informado	Fêmea	Hiperplasia lobular, mastite linfohistiocítica e plasmocítica	Biópsia
39204	Canino 36	Não informado	Fêmea	Adenoma complexo e hiperplasia nodular	Biópsia

B. Felinos

Número de registro	Identificação	Idade	Sexo	Diagnósticos	Origem do material
36785	Felino 17	9 anos	Macho	Edema laríngeo e glomeruloesclerose	Necropsia
36681	Felino 18	6 anos	Macho	Pleuropneumonia granulomatosa, linfadenite	Necropsia
37323	Felino 19	8 anos	Macho	Peritonite Infecciosa Felina (PIF)	Necropsia
37239	Felino 20	1 ano	Fêmea	Linfoma mediastínico	Necropsia
37116	Felino 21	Não informado	Macho	Osteomielite bacteriana e edema pulmonar	Necropsia
37372	Felino 22	3 anos	Fêmea	Pleuropneumonia piogranulomatosa, hepatite periportal	Necropsia
38523	Felino 23	Não informado	Macho	Balanopostite bacteriana	Biópsia
37253	Felino 24	3 anos	Fêmea	Edema pulmonar, hemoperitônio agudo, hemorragia e necrose hepática e muscular	Necropsia
37375	Felino 25	2 anos	Macho	Linfoma	Necropsia
37314	Felino 26	4 anos	Fêmea	Linfoma, atelectasia e enfisema pulmonar	Necropsia

C. Bovinos

Número de registro	Identificação	Idade	Sexo	Diagnósticos	Origem do material
36564	Bovino 7	2 anos	Fêmea	Deficiência de cobre	Necropsia
36901	Bovino 8	22 anos	Fêmea	Mineralização metastática	Necropsia
37610	Bovino 9	5 anos	Fêmea	Inconclusivo	Necropsia
37614	Bovino 10	3 meses	Fêmea	Broncopneumonia secundária ao Vírus Sincicial Respiratório Bovino (BRSV)	Necropsia
37615	Bovino 11	3 meses	Macho	Inconclusivo	Necropsia
37733	Bovino 12	5 anos	Fêmea	Enterite, linfadenite e hepatite	Necropsia
39216	Bovino 13	7 meses	Macho	Intussuscepção e pielonefrite	Necropsia
40255	Bovino 14	9 anos	Fêmea	Inconclusivo	Necropsia
38905	Bovino 15	9 meses	Fêmea	Traumatismo	Necropsia
36514	Bovino 16	3 anos	Macho	Ruminite ulcerativa	Necropsia

D. Equinos

Número de registro	Identificação	Idade	Sexo	Diagnósticos	Origem do material
36734	Equino 2	25 anos	Fêmea	Melanoma melanótico metastático	Necropsia
37598	Equino 3	3 anos	Macho	Traumatismo	Necropsia
40256	Equino 4	Não informado	Não informado	Não informado	Necropsia
39789	Equino 5	3 meses	Fêmea	Microftalmia, broncopneumonia abscedativa, hepatite e tiflíte	Necropsia
37607	Equino 6	12 anos	Macho	Mielite, perineurite e miosite abscedativa	Necropsia