

## **ATIVIDADE DOS EOSINÓFILOS**

*Henver Antônio Martins Quirino*

Artigo de conclusão de curso de pós-graduação em Hematologia Laboratorial (Junho de 2006 a Julho de 2007).Endereço para correspondência AC&T. Rua Bonfá Natale. 1850. CEP 15020-130. São José do Rio Preto. SP.

e-mail: [act@terra.com.br](mailto:act@terra.com.br)

## INTRODUÇÃO

Os eosinófilos se originam na medula óssea e possuem a característica peculiar de apresentar no citoplasma grânulos com alta afinidade pela eosina, um corante ácido utilizado nas colorações de Romanovsky. Estão presentes predominantemente no sangue periférico e têm função importante na mediação de processos inflamatórios associados à alergia, à defesa contra parasitas metazoários helmínticos, em certos distúrbios cutâneos alérgicos e neoplásicos. Na medula óssea, seus precursores também passam por estágios de maturação semelhantes aos dos neutrófilos e os promielócitos e metamielócitos eosinófilos são facilmente distinguíveis no esfregaço de medula óssea.

Morfológicamente apresentam diâmetro de 12 a 17  $\mu\text{m}$ , citoplasma abundante, rico em grânulos eosinofílicos (em torno de 20 por célula) e núcleo de cromatina densa bilobulado.

Além dos grânulos eosinofílicos que são ligados à membrana e ricos em proteínas catiônicas, também possuem dois outros tipos granulares: os grânulos primários e grânulos pequenos. (Zago et al, 2001, p. 12).

O objetivo deste artigo é demonstrar que as alterações quantitativas dos eosinófilos são situações relacionadas a importantes eventos fisiopatológicos de estímulos especialmente na vigência de algumas doenças bem documentadas.

### **Os Eosinófilos**

Os eosinófilos são formados na medula óssea, sendo a célula precursora a mesma dos basófilos e no início de seu desenvolvimento também expressam o antígeno CD34+. Estas células CD34+ (células progenitoras pluripotentes) inicialmente sob ação da IL-3, IL-5 e GM-CSF vão se diferenciando. A IL-5 é importante na estimulação da eosinofiloese; regula a expressão isoforma transmembrana de seu próprio receptor; promove a diferenciação final dos precursores mielóides em eosinófilos e a sua maturação que dura aproximadamente cinco dias. (Kroegel et al, 1994).

Após deixar a medula óssea, os eosinófilos circulam brevemente (meia-vida de 3 a 8 horas) na corrente sangüínea e então migram para vários tecidos, onde após vários dias são destruídos pelos macrófagos.

O eosinófilo humano típico apresenta de 12 a 17  $\mu\text{m}$  de diâmetro, com um núcleo bilobado, sem nucléolo, ocupado parcialmente por cromatina, mitocôndrias, microtubos, corpúsculos lipídicos (principal depósito de ácido araquidônico), retículo endoplasmático, aparelho de Golgi e grânulos citoplasmáticos intactos. (Fukuda et al, 1985). Estes grânulos, três ou quatro tipos, são identificados por microscopia eletrônica:

a) grandes, densos, esféricos, também chamados de “específicos” ou “secundários”, possuem à microscopia eletrônica um núcleo central cristalino-denso, circundado por substância menos densa. O núcleo cristalino é constituído pela proteína básica maior (MBP), enquanto que a matriz é constituída pela proteína catiônica eosinofílica (ECP), peroxidase eosinofílica avida por corantes ácidos como a eosina, advindo daí o nome eosinófilo.

b) grandes e médios no tamanho, densos, esféricos, sem núcleo cristalino denso, também chamados de grânulos “primários” os quais contêm outra proteína chamada lisofosfolipase que forma os chamados cristais bipiramidais hexagonais de Charcot-Leyden encontrados no escarro de asmáticos;

c) grânulos pequenos e densos “pequenos grânulos”; e proteína eosinofílica (EPO), proteína X eosinofílica (EPX) e neurotoxina derivada do eosinófilo (EDN).

Recentemente foi demonstrada a participação dos eosinófilos na remoção dos produtos de degradação da fibrina (PDF) na fase final do processo de hemostasia-coagulação-fibrinólise. Essa atividade também pode estar relacionada à eosinofilia das parasitoses intestinais em que ocorrem lesões da mucosa, com focos de sangramento que desencadeiam o processo da coagulação e da fibrinólise. (Naoum & Naoum, 2006)

### **Síndrome Hipereosinofílica**

A Síndrome de hipereosinofílica representa uma situação de causa desconhecida, caracterizada pela produção excessiva de eosinófilos, associada à lesão de órgãos-alvos, envolvendo primariamente o coração, (levando à endocardiofibrose) e associada a manifestações tromboembólicas. Os critérios diagnósticos incluem: a) a contagens de eosinófilos no sangue acima de  $1.500/\text{mm}^3$ , persistente por mais de seis meses; b) exclusão de outras causas de eosinofilia (asma, rinite, parasitose e neoplasias); c) sinais de lesão de órgãos provocados pela infiltração eosinofílica, infiltração pulmonar, fibrose endomiocárdica, neuropatias e vasculites. Trata-se pois de diagnóstico de exclusão. (Pierre Filho, 1997).

Para (Naoum & Naoum, 2006), define-se a Síndrome hipereosinofílica quando o valor absoluto de eosinófilos situa-se acima de  $1.500/\text{mm}^3$ . Geralmente há vacúolos citoplasmáticos nos eosinófilos. Por confundir as vezes com situações de parasitoses, o diagnóstico clínico é por exclusão.

Na Síndrome Hipereosinofílica Persistente há invasão dos eosinófilos nos tecidos, lesando-os e causando disfunções, especialmente no coração e sistema nervoso. (Naoum & Naoum, 2006).

### **Os Eosinófilos e as Manifestações Alérgicas: A Asma**

Na atualidade os eosinófilos são considerados células pró-inflamatórias que medeiam as manifestações das doenças alérgicas, incluindo-se a asma.

Estas células, que modulam as respostas inflamatórias alérgicas, são capazes de sintetizar mais de 28 substâncias, cujos mRNAs e proteínas, já foram totalmente identificados.

Dentre estas, incluem-se as interleucinas, as quimiocinas e os fatores de crescimento, que modulam a resposta imune. Os eosinófilos são células capazes de estocar a maioria destas substâncias em seus grânulos cristalóides e em pequenas vesículas secretórias, liberando-as rapidamente no meio circundante após serem recrutados e estimulados. (Fukuda et al, 1985).

Pacientes com doenças que cursam com eosinofilia, como a asma, possuem duas populações de eosinófilos no sangue periférico que podem ser distinguidas de acordo com a sua densidade em “normodensos” e “hipodensos”. Em indivíduos normais 90% dos eosinófilos são do tipo normodenso. Na asma o percentual médio de eosinófilos hipodensos varia entre 35 e 65%, enquanto que em outras síndromes hipereosinofílicas este valor pode ser superior a 80% (Kroegel et al, 1994). No sangue de pacientes com asma, os eosinófilos hipodensos secretam maior quantidade de LTC<sub>4</sub> do que os normodensos (Fukuda et al, 1985). O teste de provocação brônquica com antígenos aumenta o percentual de eosinófilos hipodensos no sangue periférico de pacientes com asma, tanto na resposta imediata como na tardia (Frick et al, 1989).

Os mecanismos de síntese e diferenciação quanto à densidade dos eosinófilos ainda não são conhecidos. Várias hipóteses para explicar a significação do eosinófilo hipodenso foram propostas: 1) células mais maduras e metabolicamente mais ativas que os normodensos, com consumo aumentado de oxigênio e capacidade aumentada de gerar

ânion superóxido; 2) uma célula imatura; 3) uma linhagem distinta de eosinófilos; 4) uma combinação das três possibilidades prévias.

Os dados disponíveis até o momento favorecem a primeira hipótese.

Para cada eosinófilo na circulação existem de 100 a 300 eosinófilos nos tecidos. São distribuídos em vários órgãos, pele, glândulas mamárias, útero, vagina e preferencialmente em tecidos com interface aérea, como tubo gastrintestinal e trato respiratório. A IL-5 aumenta a permanência dos eosinófilos no sangue periférico, a sua adesão às células endoteliais vasculares, promove a migração dos eosinófilos do sangue para os tecidos, aumenta a sobrevivência (longevidade) nos tecidos e sua atividade citotóxica.

Os eosinófilos também possuem receptores FcεRI, porém nestas células são de localização inteiramente intracelular. Ainda não foi esclarecido se estes receptores apresentam alguma função na mediação da degranulação nas doenças alérgicas. (Kroegel et al, 1994).

A fisiopatologia dos eosinófilos na inflamação das vias aéreas depende de interações específicas celulares com o estímulo, citocinas e agentes exógenos. O rápido avanço nos conhecimentos da estrutura celular e da biologia molecular do eosinófilo começa a elucidar as várias vias da sinalização transmembrana que transmitem informações de fora para o interior da célula através da interação agonista-receptor. Acredita-se que a participação do eosinófilo na inflamação seja regulada por múltiplos mediadores no próprio local da reação inflamatória. A participação funcional dos eosinófilos pode ser iniciada por interações entre a superfície celular com ligantes particulados e solúveis.

A união destes agonistas com os receptores específicos de superfície dos eosinófilos inicia uma cascata de sinais transmembrana que resultam na ativação do eosinófilo, incluindo a exocitose dos grânulos e geração de metabólitos do oxigênio. Como os neutrófilos, os eosinófilos apresentam múltiplas vias de sinalização para sua ativação funcional. Interações ligante-receptor podem ativar as proteínas G, a adenilciclase, o metabolismo fosfolipídico, a fosforilação protéica (serina/treonina ou tirosina), os fluxos  $[Ca^{2+}]_i$ , os fatores de transcrição nuclear e as mudanças de pH nos eosinófilos. Múltiplas vias são freqüentemente ativadas por uma única interação receptor-ligante. (Kroegel et al, 1994).

Os grânulos específicos secundários quando ativados liberam proteínas que são citotóxicas e importantes no mecanismo do dano tecidual. Análises por microscopia eletrônica, evidenciam ruptura da membrana plasmática com extravasamento do conteúdo

citoplasmático. A proteína básica maior (MBP) responde por 50% das proteínas dos grânulos secundários. Em baixas doses a proteína básica maior (MBP) causa esfoliação de células epiteliais e distúrbios na função ciliar por perda da ATPase axonemal e mudanças na secreção de água e cloretos (Kroegel et al, 1994). Em altas concentrações, tem alta capacidade destrutiva do epitélio expondo a camada basal. Através da técnica de imunofluorescência constata-se a deposição de MBP nos locais de dano epitelial (Gleich, 1986.). A MBP causa contração da musculatura lisa peribrônquica, aumenta a hiper-responsividade brônquica e reduz a atividade e freqüência dos batimentos ciliares. Existem evidências de que seletivamente bloqueie os receptores colinérgicos subtipo M2 nas terminações nervosas das vias aéreas, diminuindo a liberação de acetilcolina. A MBP através deste bloqueio, pode aumentar a broncoconstrição mediada pelo vago, contribuindo para aumentar ainda a sensibilidade colinérgica na asma.

De acordo com (Nakamura et al, 1999), a MBP pode também induzir mastócitos e basófilos a liberarem histamina. A Proteína Catiônica Eosinofílica (ECP) tem ação semelhante à MBP, enquanto que a proteína eosinofílica (EPO), em baixas concentrações, causa cilioestase e esfoliação epitelial.

Os cristais de Charcot-Leyden (CCL) produzidos nos grânulos primários são cristais hexagonais bipiramidais que possuem atividade lisofosfolipase, sendo encontrados em associação com eosinofilia de fluidos orgânicos ou tecidos. O papel da lisofosfolipase ainda não foi esclarecido, porém parece proteger as células dos efeitos líticos dos lisofosfolipídios gerados no sítio da inflamação. Podem também destruir o surfactante e alterar as propriedades de tensão de superfície, favorecendo atelectasias.

Os eosinófilos podem ampliar a cascata inflamatória produzindo agentes quimiotáxicos, como RANTES, eotaxinas, (Kroegel et al, 1994), MCP-4 e PAF, que aceleram a mobilização de novos eosinófilos e seus precursores para a circulação. Os níveis de RANTES, um produto das células T ativadas, encontram-se elevados nas vias aéreas de asmáticos atópicos e não atópicos, promovendo a infiltração de eosinófilos e células T. A expressão da RANTES tem sido localizada, no músculo liso brônquico, nos eosinófilos e células T da submucosa.

A eotaxina, uma quimiocina da família CC, é descrita como um agente quimiotáxico específico para eosinófilos. Após provocação alérgica, a expressão da eotaxina correlaciona-se com o número total de eosinófilos e de eosinófilos ativados, bem como com o nível de obstrução das vias aéreas de pacientes com asma. A MCP-4 é outra quimiocina que tem sido identificada nas vias aéreas, atuando em paralelo com a eotaxina

em termos de recrutamento de eosinófilos. Os eosinófilos mantêm altos níveis de éter fosfolipídico (a forma estocada precursora do PAF) e produzem o PAF através da acetilação utilizando a enzima 1-alcalil-liso-sn-glicerol-3 fosfocolina: acetil-CoA acetil transferase. O PAF é um dos mais potentes agentes seletivos de quimiotaxia para os eosinófilos, sendo mais potente que a histamina e o LTB<sub>4</sub>.

Quando liberado por eosinófilos no sítio da inflamação o PAF pode co-estimular a quimiotaxia para eosinófilos. In vitro diversas substâncias têm sido capazes de prolongar a sobrevivência dos eosinófilos (antagonizam a apoptose) e estimular a degranulação, dentre elas a IL-3, IL-5, GM-CSF e complexos de imunoglobulinas. Recrutados na circulação, os eosinófilos maduros na presença de citocinas (IL-3, IL-5 e GM-CSF) mudam seu fenótipo para eosinófilos hipodensos, os quais apresentam maior tempo de sobrevivência no tecido brônquico, retardando a apoptose por 7 a 14 dias. (Kroegel et al, 1994).

### **Resposta Imunológica Mediada pelos Eosinófilos contra Parasitas**

Uma resposta mediada por célula contra parasitas como os helmintos (tenia, ancylostoma, ascaris...) é feita principalmente por eosinófilos. Os eosinófilos chegam ao local de ação dirigidos pelo ECF-A liberado pelos mastócitos ou basófilos ativados por vários mecanismos, sobretudo pela IgE. Os eosinófilos liberam a PBM (proteína básica maior) que intoxica os parasitas e causa a sua morte. Os antígenos liberados pelos parasitas também causam RIC específicos (mediado por linfócitos T) e RIH para produção de anticorpos principalmente IgE. (Pierre Filho, 1997).

Da mesma forma são produzidos IgG ou IgM contra os antígenos dos parasitas. Os mastócitos controlam a desgranulação dos eosinófilos, sendo a heparina o inibidor e o ECF- A o estimulador da desgranulação. Os macrófagos ativados secretam FNT-alfa (fator necrosante de tumor) que é uma citocina que aumenta a ativação dos próprios macrófagos e dos eosinófilos. (Pierre Filho, 1997).

## CONCLUSÃO

De acordo com (Zago et al, 2001), os eosinófilos têm uma atividade proinflamatória e citotóxica considerável participando da reação e patogênese de numerosas doenças alérgicas, parasitárias e neoplasmáticas.

A célula numericamente predominante na inflamação inicial e tardia da asma é o eosinófilo. A associação entre eosinófilo e doenças alérgicas já é conhecida a longa data, embora até 1980 acreditava-se que estas células tivessem ação antiinflamatória. Este falso conceito mudou após o reconhecimento da alta toxicidade das proteínas contidas nos grânulos dos eosinófilos, para os helmintos, células de mamíferos e para as células epiteliais do trato respiratório. (Pierre Filho, 1997)..

De acordo com (Naoum, 2006), a causa das eosinofilias pode ser hereditárias, reacional ou neoplásicas. Em geral, as eosinofilias são benignas e, nesses casos, a principal preocupação é diferenciar as eosinofilias hereditárias daquelas de causas reacionais.



## RESUMO

Os eosinófilos estão presentes predominantemente no sangue periférico e têm função importante na medição de processos inflamatórios associados à alergia, à defesa contra parasitas metazoários helmínticos, em certos distúrbios cutâneos alérgicos e neoplásicos.

Palavras-Chaves: 1) Eosinofilia; 2) Mediação de Processos Inflamatórios; e 3) Alergia e Parasitoses.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Frick WE, Sedgwick JB, Busse WW. The appearance of hypodense eosinophils in antigen-dependent latephase asthma. **Am Rev Respir Dis** 1989.

Fukuda T, Dunnette SL, Reed CE, et al. Increased numbers of hypodense eosinophils in the blood of patients with bronchial asthma. **Am Rev Respir Dis** 1985.

Gleich GJ. The role of the eosinophil. **Bull Eur Physiopathol Resp** 1986.

Kroegel C, Virchow JC, Luttmann W, Walker C, , Warner JA. Pulmonary immune cells in health and disease: the eosinophil leucocyte (part I). **Eur Respir J** 1994.

Nakamura Y, Ghaffar O, Olivenstein R et al. Gene expression of the GATA-3 transcription factor is increased in atopic asthma. **J Allergy Clin Immunol** 1999.

Naoum, Flávio Augusto e Naoum, Paulo César. **Hematologia Laboratorial**. São José do Rio Preto: Edição da Academia de Ciência e Tecnologia. 2006.

Pierre Filho, d'Almeida Telles. **Resposta Tardia da Asma**. São Paulo: Copyright . 1997.

Zago, Marco Antônio; Falção, Roberto P.; Pasquini, Ricardo. **Hematologia: Fundamentos e Prática**. São Paulo: Atheneu, 2001.