

Níveis séricos da proteína catiônica do eosinófilo na asma brônquica infantil

Serum eosinophil cationic protein in childhood bronchial asthma

Hélio M. L. Simão¹, Manuel M. Esteban²

1 – Doutor em Medicina pela Universidade Autônoma de Madrid, Preceptor da residência médica do Centro de Saúde e Escola Murialdo em Porto Alegre, RS; 2 - Doutor em Imunologia pela Universidade Autônoma de Madrid, Diretor do Laboratório de Imunologia do Hospital La Paz de Madrid. Universidade Autônoma de Madrid, Hospital Infantil La Paz de Madrid, España.

Resumo

Objetivos: Estudar os valores séricos da ECP (proteína catiônica do eosinófilo) em pacientes com asma e controles saudáveis do ponto de vista respiratório e alergológico e verificar a presença de correlação entre os valores de ECP sérica e os sintomas de asma, bem como entre ECP e atopia.

Métodos: Estudo prospectivo de casos e controles, onde foram incluídos 33 pacientes e 33 controles, com idades entre seis e 14 anos. Foram aplicados critérios de seleção de pacientes, protocolo inicial e de revisão, avaliação clínica, laboratório *in vivo* e *in vitro* para investigação alergológica, função pulmonar e exames complementares. Foi utilizado o teste *t-student* para calcular a diferença entre as médias.

Resultados: O valor médio da ECP sérica nos controles foi de 7,66 mg/dL (desvio padrão (DP) 3,87). A média da ECP nos asmáticos foi de 18,27 mg/dL (DP 16,3). Havia diferenças significativas entre os dois grupos ($p=0,001$, IC 95% 4,77 a 16,44). Os pacientes com asma sintomática atual apresentaram níveis significativamente mais altos de ECP sérica em relação aos asmáticos assintomáticos. ($p<0,05$, IC95% 1,00 a 3,76). Não foi encontrada diferença estatística nos valores de ECP entre o grupo de asma atópica e não atópica.

Conclusão: A ECP sérica estava elevada nos pacientes asmáticos em comparação com os controles saudáveis. A ECP também estava relacionada com a clínica de asma. Os valores de ECP sérica são úteis como marcador inflamatório eosinofílico na asma infantil.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2002; 25(3):93-98 asma, atopia, inflamação, proteína catiônica do eosinófilo.

Abstract

Objectives: To study the serum values of ECP (eosinophil cationic protein) in patients with asthma and healthy controls, and also to verify the presence of a correlation between the values of serum ECP and asthma symptoms as well as the one between ECP and atopic cases.

Methods: A prospective study with cases (33) and controls (33), ages varying between six and 14 years. Criteria of selecting cases were applied together with standard revision protocols, a clinical evaluation, laboratory tests *in vivo* and *in vitro* for the allergological investigation, pulmonary function.

Results: The mean-value of ECP in controls was 7.66 mg/dL (SD 3.87). The corresponding results of ECP in asthmatic was 18.27 mg/dL (SD 16.32). There was a significant difference between two groups ($p=0.001$, CI 4.77 to 16.44). The patients with an acute asthma showed higher significant values of ECP in relation to the asymptomatic cases ($p<0.005$, IC 95% CI 1.00 to 3.76). There were not found any statically differences between the values in the group of symptomatic and asymptomatic respectively.

Conclusion: As the serum ECP in asthmatic patients was raised with regard to health controls and the serum ECP was also

correlated with asthma, symp-toms we conclude the serum ECP values are useful as a inflammatory and eosinophilic marker in children.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2002; 25(3):93-98 as-thma, atopic, inflammation, eosinophil cationic pro-teín.

Introdução

A proteína catiônica do eosinófilo (ECP) foi purificada por Olsson e Venge¹ em 1974. A ECP é uma glicoproteína de cadeia única com peso molecular entre 18-21 Kd e constitui a maior par-te das proteínas do eosinófilo, cerca de 30% da proteína granular². Apresenta funções citotóxicas e não citotóxicas, como induzir a liberação de his-tamina dos mastócitos e basófilos e facilitar a fi-brose através da síntese de proteoglicanos³.

No processo inflamatório da asma atuam dife-rentes células. Os eosinófilos participam de modo relevante na fase tardia desta resposta. A prova de broncoprovocação com alérgeno induz inflama-ção e exacerbação da asma, ativando eosinófilos que posteriormente liberam seus mediadores, en-tre os quais se encontra a ECP⁴. Em estudos his-tológicos encontra-se acentuada inflamação eosi-nofílica nos brônquios de pacientes com asma alérgica⁵.

Atualmente há grande interesse dos investiga-dores em buscar um marcador inflamatório para a asma, que auxilie na prática clínica, informando o perfil inflamatório do paciente e que permita con-trole mais preciso do tratamento instituído.

Vários estudos, avaliando o papel da ECP co-mo parâmetro inflamatório na asma, têm sido pu-blicados com conclusões controversas, provavel-mente pelas diferentes características das popula-ções avaliadas e métodos empregados⁶⁻¹⁴.

A medição da função pulmonar através de espi-rometria ou fluxo expiratório máximo, são méto-dos que avaliam indiretamente o componente in-flamatório da asma, apresentando também a limi-tação da idade do paciente. Alguns autores não relacionam parâmetros espirométricos⁷ ou fluxo expiratório máximo¹⁵ com o grau de inflamação eosinofílica.

A monitorização da inflamação na asma é de importância relevante para manter o paciente con-trolado clinicamente e definir a dose adequada do medicamento, minimizando efeitos adversos dose dependentes.

Este estudo avalia a ECP sérica como marcador inflamatório eosinofílico na asma infantil atópica e não atópica, como também verifica a presença de correlação entre sintomas de asma e a ECP sé-rica.

Casuística e métodos

Foi realizado um estudo de casos e controles em crianças asmáticas acompanhadas nos servi-ços de Alergia e Pneumologia Pediátrica do Hos-pital Infantil La Paz de Madrid, incluindo 33 pa-cientes asmáticos com idade entre seis e 13 anos e controles com idades entre seis e 14 anos. Foram considerados casos os pacientes asmáticos que apresentavam sintomas episódicos de obstrução do fluxo aéreo e reversibilidade deste broncoes-pasmo, quando descartados outros diagnósticos diferenciais de asma¹⁶. Os pacientes controles fo-ram selecionados na unidade de anestesiologia pediátrica e não apresentavam manifestações alér-gicas e/ou respiratórias.

Os critérios de seleção dos casos consistiam em idade superior a seis anos, ausência de imunotera-pia específica ou tratamento com corticosteróides orais, cromonas, anti-histamínicos e antileucotrie-nos no mês anterior ao início do estudo. Também foram excluídos pacientes com dermatite atópica, rinoconjuntivite alérgica, enfermidades respirató-rias, parasitárias ou infecciosas. Com a finalidade de descartar as doenças referidas, foi realizado em todos os pacientes: hemograma, velocidade de hemossedimentação, provas de função hepática (transaminases e bilirrubinas) e renal (uréia e cre-atinina), urina I, dosagem sérica de imunoglobuli-nas e de alfa-1 anti-tripsina, reação de Mantoux (PPD 2U), dosagem de sódio e cloro no suor, es-pirometria, radiografia de tórax e de seios da face.

Considerando estes critérios e com a autoriza-ção pós-informada dos pais, realizava-se a aplica-ção do protocolo para obtenção de diversos dados clínicos e laboratoriais. O protocolo consistiu em dados de identificação, avaliação clínica, trata-mento utilizado, laboratório *in vivo* e *in vitro*, função pulmonar e exames complementares. O diagnóstico de asma com evidência de atopia foi determinado por história clínica e laboratório *in vivo* (teste cutâneo de leitura imediata por puntu-ra) e *in vitro* (IgE específica sérica). Foi conside-rado história de asma alérgica quando constatou-se relação entre a exposição ao alérgeno e a pre-sença de sintomas. Além da história clínica posi-tiva, para o diagnóstico de asma com evidência de alergia era necessário que a determinação sérica de imunoglobulina E (IgE) específica e/ou testes cutâneos fossem positivos.

Os testes cutâneos por puntura foram realizados com extratos padronizados (ALK-Abelló, S.A, Madrid). Utilizou-se os inalantes mais habituais deste ambiente: *Dermatophagoides pteronyssinus*¹⁷, cão¹⁷ (*Canis familiares*), gato¹⁷ (*Felis domesticus*), *Alternaria tenuis*^{18,19}, *Lolium perenne* e *Olea europaea*²⁰. Foi utilizado para controle positivo histamina (1 mg/ml) e como controle negativo soro fisiológico. Considerou-se positivo o teste cuja média da soma dos diâmetros (máximo e mínimo) da pápula era superior a 3 mm, com leitura do teste após 15 minutos. A imunoglobulina E (IgE) sérica total foi determinada por ensaio imunoenzimático (Ensayo Imx IgE total, Abbott, EE.UU.), seguindo as instruções do fabricante. A determinação da imunoglobulina E (IgE) específica para os aeroalérgenos (*D. pteronyssinus*, cão, gato, *Alternaria*, *lolium* e *Oliveira*) foi realizada pelo método Pharmacia CAP System RAST FEIA, considerado positivo RAST classe igual ou superior a dois²¹.

A definição de asma sintomática exigia a presença de sibilâncias ou dispnéia no momento da consulta. Os pacientes que estavam utilizando corticosteróides inalatórios foram submetidos a um período de retirada do medicamento, estabelecido entre sete e dez dias, anteriormente à determinação de ECP sérica.

A coleta de sangue para determinação de ECP sérica foi realizada no período da manhã (entre 9h e 10h 30min) e pela mesma pessoa, utilizando técnicas de assepsia universais e material descartável. A amostra de sangue era colocada em tubo seco, sem anticoagulantes e com gel separador (Vacutainer SST, Becton Dickinson, EE.UU. Durante 90 minutos a amostra permanecia em temperatura ambiente de 22°C, e após era centrifugada a 2500 giros por minuto, durante dez minutos. O sobrenadante obtido (soro) era distribuído em frações de 200 mL e congeladas a 20°C, até a realização da determinação da ECP. Foi utilizado a técnica de fluoroimun análise por sistema automatizado UniCAP (Pharmacia & Upjohn, Suécia).

Para a análise dos dados foi utilizado o programa estatístico BMDP, Statistical Software versão 7.0. Os valores de ECP sérica foram transformados logaritmicamente. Para calcular as diferenças entre as médias de ECP de casos e controles, entre asmáticos sintomáticos e assintomáticos e entre asmáticos com e sem evidência de atopia, foi aplicado o teste t de student.

O projeto deste estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital Infantil La Paz.

Resultados

O grupo de crianças avaliadas totalizou 66, sendo 33 asmáticos e 33 controles. Em relação ao perfil dos pacientes asmáticos, apresentaram asma sintomática no momento da consulta nove pacientes e asma assintomática 24. Em relação à atopia 24 pacientes apresentaram evidência clínica atópica e nove eram não atópicos. A distribuição das sensibilizações aos alérgenos inaláveis podem ser observadas na tabela 1. Neste estudo, 78,8% dos pacientes apresentaram asma leve e 21,2% asma moderada. Somente 33% dos pacientes apresentaram um ou mais parâmetros espirométricos alterados, os demais tinham função pulmonar dentro dos padrões considerados normais.

Tabela 1 – Distribuição das sensibilizações alérgicas (prick test positivo e RAST classe = 2).

Alérgeno	Nº de casos %
Ácaro (<i>D. pteronyssinus</i>)	6 (18,18)
Pêlo de cão	7 (21,21)
Pêlo de gato	6 (18,18)
Fungo (<i>alternaria</i>)	4 (12,12)
Pólen (<i>lolium perenne</i>)	14 (42,42)
Pólen (oliveira)	13 (39,39)

A média dos valores de ECP sérica nos controles saudáveis foi de 7,66 ± 3,87 mg/l, enquanto nos pacientes asmáticos a média foi de 18,27 ± 16,32 mg/l. As diferenças entre as médias de cada grupo são significativamente diferentes (p=0,001) (tabela 2).

No grupo de asmáticos, os pacientes com sintomas atuais de broncoespasmo apresentaram níveis significativamente mais altos de ECP sérica em relação aos asmáticos assintomáticos (p<0,05) (tabela 3).

Tabela 2 – Valores de ECP sérica em casos e controles.

Grupos	Nº de crianças	Média	Desvio padrão
Casos	33	18,27	16,32
Controles	33	7,66	3,87

* t de student p=0,001 † IC 95% 4,77;16,44

* t de student p=0,001 (utilizando os valores de ECP sérica transformados logaritmicamente)

† IC = intervalo de segurança

Tabela 3 – Valores de ECP sérica em relação à presença ou não de sintomas de asma.

Grupos	Nº de casos	Média	*Desvio Padrão
Sintomático	9	22,81	8,40
Assintomático	24	16,60	18,30

t de student p>0,05

Analisando o grupo de pacientes atópicos e não atópicos, as diferenças entre os valores médios de ECP sérica não foram estatisticamente significativas. A atopia não determinou valores mais elevados de ECP sérica.

Discussão

A inflamação eosinofílica tem um papel relevante na fisiopatologia da asma. A ECP sérica, importante mediador do eosinófilo, tem demonstrado uma boa correlação com níveis de ECP no líquido do lavado broncoalveolar de asmáticos²², inclusive leves²³. Os valores de ECP sérica representam o grau de inflamação eosinofílica e estão mais elevados quando os eosinófilos encontram-se ativadas, havendo correlação com sintomas de broncoespasmo.

Neste estudo observamos um aumento dos níveis de ECP sérica nos pacientes asmáticos quando comparado com os controles, esta observação clínica foi constatada em outras investigações com grupo controle^{24,25}, o mesmo foi documentado em estudos *in vitro*, em que os eosinófilos de pacientes com asma liberaram significativamente mais ECP, comparados com os controles²⁶.

No grupo de pacientes asmáticos deste estudo, aqueles que apresentaram sintomas atuais, tiveram níveis de ECP sérica mais elevados que os asmáticos assintomáticos. Este resultado sugere que quando há asma sintomática com inflamação eosinofílica, os níveis de ECP sérica representam a ativação destas células e sua implicação no processo da asma. Estudo com pacientes asmáticos sintomáticos, demonstrou correlação entre os níveis séricos de ECP em que lavado broncoalveolar²⁷. Outras investigações também colaboram para afirmar a relevância da ECP sérica como marcador inflamatório na asma brônquica infantil sintomática^{10-13,28,29}.

Em relação aos níveis de ECP sérica dos pacientes asmáticos com e sem evidência de atopia, não encontramos diferenças entre os dois grupos. Está descrito que a exposição a um alérgeno, ao qual o paciente está sensibilizado clinicamente, pode provocar inflamação asmática eosinofílica^{30,31}. Decorrente deste processo alérgico inicia a estimulação para a liberação de citocinas (IL-4, IL-5) que promovem a ativação e quimiotaxia de eosinófilos. Observamos que neste estudo os pacientes com asma não atópica também apresentaram valores de ECP sérica elevados em comparação com os controles saudáveis. Em concordância com estes resultados, estudo demonstra que os linfócitos Th2 seriam os responsáveis pelo início e pela manutenção da inflamação crônica alérgica e não alérgica, e que através de seus mediadores têm a capacidade de recrutar e ativar eosinófilos³². Rao *et al*³³, demonstraram correlação entre ECP e hiperreatividade brônquica, achado este que explica o aumento da ECP sérica em pacientes com asma não alérgica, conforme os resultados de nossa investigação.

A proteína catiônica do eosinófilo está aumentada na população de crianças asmáticas atópicas e não atópicas. Os valores séricos deste marcador inflamatório tendem a elevar-se mais em relação a seus valores basais com a presença de sintomas atuais de asma. A ECP pode ser útil para avaliar o perfil inflamatório eosinofílico do paciente asmático pediátrico. Este fato indica que a ECP poderá auxiliar no acompanhamento do processo inflamatório eosinofílico de um subgrupo de asmáticos atópicos e não atópicos, no qual o eosinófilo desempenha um papel importante ou predominante. Futuros estudos poderão comprovar se a terapia específica para controle da inflamação eosinofílica beneficia significativamente este subgrupo de

pacientes asmáticos atópicos e não atópicos, que apresentam elevação dos níveis séricos de ECP.

Referências bibliográficas

1. Olsson Y, Venge P. Cationic proteins of human granulocytes. II. Separation of the cationic proteins of the granules of leukemic myeloid cells. *Blood*. 1974;44:235-346.
2. Dahl R, Venge P, Olsson I. The content of eosinophil cationic protein in eosinophil leucocytes. *Allergy*. 1978;33:152-154.
3. Venge P, Hakansson L. Current understanding of the role of the eosinophil granulocyte in asthma. *Clin Exp Allergy*. 1991;21:31-37.
4. De Monchy JG, Kauffman HF, Venge P, Koeter GH, Jansen HM, Sluiter HJ, *et al*. Bronchoalveolar eosinophilia during allergen-induced late asthmatic reactions. *Am Rev Res Dis*. 1985;131: 373-376.
5. Sur S, Crotty TB, Kephart GM, Hyma BM, Colby TV, Reed CE, *et al*. Sudden-onset fatal asthma. A distinct entity with few eosinophils and relatively more neutrophils in the airway submucosa? *Am Rev Res Dis*. 1993;148:713-719.
6. Hedlin G, Ahlstedt S, Enander I, Venge P. Eosinophil cationic protein (ECP), eosinophil chemo-tactic activity (ECA), neutrophil chemotactic activity (NCA) and tryptase in serum before and during bronchial challenge in cat-allergic children with asthma. *Pediatr Allergy Immunol*. 1992; 3:144-149.
7. Ferguson AC, Vaughan R, Brown H, Curtis C. Evaluation of serum eosinophilic cationic protein as a marker of disease activity in chronic asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 1995;95:23-28.
8. Zimmerman B, Enander I, Zimmerman R, Ahlstedt S. Asthma in children less than 5 years of age: eosinophils and serum levels of the eosinophil proteins ECP and EPX in relation to atopy and symptoms. *Clin Exp Allergy*. 1994;24:149-155.
9. Niggemann B, Kleinau I, Schmitt M, Wahn U. Twenty-four-hour time course of eosinophil granule proteins ECP and EPX during bronchial allergy challenge in serum of asthmatic children. *Allergy*. 1994;49:74-80.
10. Carlsen KH, Halvorsen R, Pettersen M, Carlsen KC. Inflammation markers and symptom activity in children with bronchial asthma. Influence of atopy and dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol*. 1997;8:112-120.
11. Villa Asensi JR, García Hernández G, Cristiá MJB, Esteban SR, Ferrer MM, Nogales A. Proteína catiónica del eosinófilo en el asma infantil. Correlación con la clínica y función pulmonar. *An Esp Pediatr*. 1996;45:479-482.
12. Zimmerman B, Lanner A, Enander I, Zimmerman RS, Peterson CGB, Ahlstedt S. Total blood eosinophils, serum eosinophil cationic protein and eosinophil protein X in childhood asthma: relation to disease status and therapy. *Clin Exp Allergy*. 1993;23:564-570.
13. Fujisawa T, Terada A, Atsuta F, Iguchi K, Kamiya H, Sakurai M. Clinical utility of serum levels of eosinophil cationic protein (ECP) for monitoring and predicting clinical course in childhood asthma. *Clin Exp Allergy*. 1998;28:19-25.
14. Gomez Carrasco JA, Blanco Quirós A, Arranz Sanz E, Orriols JJT, Lopez Armentia SS, Alvarez Mon M. Proteína catiónica eosinofílica sérica em niños com inflamación alérgica y no alérgica. *Na Esp Pediatr*. 1996;44:245-249.
15. Vanto T, Koskinen P. Serum eosinophil cationic protein in the evaluation of asthma severity in children. *Allergy*. 1998;53:415-419.
16. National Asthma Education and Prevention. Expert panel report II: Guidelines for the diagnosis and management of asthma, National Health, Lung, and Blood Institute-National Institute of Health. NIH Publication n° 97-4051A. May 1997.
17. Mortínez Molero MI, Herrero López TT. Asma Extrínseco. En: Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica, ed. *Tratado de Alergología e Inmunología Clínica*, Tomo III. Madrid: Luzón, 5, 1986:219-243.
18. Duce F, Bello S, Vila M. Estudio de los hongos intra y extradomiciliarios en sujetos con hipersensibilidad inmediata en Zaragoza. *Allergol Immunopatol*. 1986;14:101.

19. Nogales E, Domínguez E, Galán E, Ruiz E. Variación estacional del contenido de esporas en el aire de la ciudad de Córdoba. *Allergol Immunopatol.* 1986;14:115.
20. Subiza E. Alergia a pólenes. XIV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica. Libro de ponencias. Madrid: ENE ediciones. 1985:11-85.
21. Lawlor Jr GJ. Manual de Alergia e Inmunología: Diagnostico y Tratamiento, primeira edição. Capítulo 2 Hipersensibilidade Inmediata: Enfoque Diagnóstico. Barcelona: Salvat Editores, 1985.
22. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY. Assessment and clinical relevance of eosinophil inflammation in asthma. *N Engl J Med.* 1991;373:1033-1039.
23. Wardlaw AJ, Dunnette S, Gleich GJ, Collins JV, Kay AB. Eosinophils and mast cells in bronchoalveolar lavage in subjects with mild asthma: relation to bronchial hyperreactivity. *Am Rev Respir Dis.* 1988;137:62-69.
24. Koller DY, Herouy Y, Götz M, Hagel E, Urbanek R, Eichler I. Clinical value of monitoring eosinophil activity in asthma. *Arch Dis Child.* 1995;73: 413-417.
25. Björnsson E, Janson C, Enander I, Venge P, Bo-man G. Serum eosinophil cationic protein in relation to bronchial asthma in a young Swedish population. *Allergy.* 1994;49:730-736.
26. Carlson M, Hakansson L, Peterson C, Stalenheim G, Venge P. Secretion of granule proteins from eosinophils and neutrophils is increased in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 1991;87:27-33.
27. Ädelroth E, Rosenhall L, Johansson SA, Linden M, Venge P. Inflammatory cells and eosinophilic activity in asthmatics investigated by bronchoalveolar lavage: the effects of antiasthmatic treatment with budesonide or terbutaline. *Am Rev Respir Dis.* 1990;142:91-99.
28. Venge P, Dahl R, Freedens K. Eosinophil cationic proteins (ECP) and EPX in health and disease. In: Yoshida T, Torisu M, eds. *Immunobiology of the eosinophil.* New York: Elsevier. 1983;163-179.
29. Aoyagi M, Shimojo N, Sato Y, Watanabe H, Sekine K, Sannomiya Y, *et al.* Flow cytometric analysis for the activation peripheral immunoregulatory cells from patients with bronchial asthma. *Arerugi.* 1997;46: 1243-1250.
30. Carlson M, Hakansson L, Kampe M. Degranulation of eosinophils from pollen atopic patients with asthma is increased during the pollen season. *J Allergy Clin Immunol.* 1992;89:131-137.
31. Rak S, Löwhagen O, Venge P. The effect of immunotherapy on bronchial hyperresponsiveness and eosinophil cationic protein in pollen-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol.* 1988;82:470-480.
32. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY. Inflammatory processes in asthma. *Int Arch Allergy Immunol.* 1991;94:227-232.
33. Rao R, Frederick JM, Enander I, Gregson RK, Warner JA, Warner JO. Airway function correlates with circulating eosinophil, but not mast cell, markers of inflammation in childhood asthma. *Clin Exp Allergy.* 1996;26:789-793.

Fonte financiadora: Agencia Española de Cooperación Iberoamericana

Endereço para correspondência

Hélio Miguel Lopes Simão
Rua dos Andradas, 1781 cj. 902
90020-013 - Porto Alegre - RS
Tel.: 0XX-51-3228.9511
Fax.: 0XX-51-3227.4021
E-mail: heliomiguel@aol.com

[\[Home Page SBAI\]](#) [\[Índice Geral\]](#) [\[Índice do Fascículo\]](#)

A Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia é publicação oficial da Sociedade Brasileira de Alergia e Imunopatologia.
Copyright 2001- SBAI -Av. Prof. Ascendino Reis, 455 - São Paulo - SP - Brasil - CEP: 04027-000

