

VERA BEATRIZ GUIRLAND VIEIRA

**O exame citológico diferencial
neutrófilos/eosinófilos
no escarro**

Porto Alegre
1977

VERA BEATRIZ GUIRLAND VIEIRA

O EXAME CITOLÓGICO DIFERENCIAL
NEUTRÓFILOS/EOSINÓFILOS NO ESCARRO

Tese de Mestrado
Apresentada no Curso de Pós-Graduação
em Pneumologia na
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
orientada pelo Professor João Carlos Prolla

Orientação Estatística:
Prof. Sídia M. C. Jacques

Revisão de linguagem e
padronização técnica de texto
Prof. Maria do Horto Motta

Porto Alegre
1977

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS	III
LISTA DE TABELAS	IV
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - MATERIAL E MÉTODOS	3
3 - RESULTADOS	7
4 - DISCUSSÃO	6
5 - CONCLUSÕES	50
6 - RESUMO	1
7 - BIBLIOGRAFIA CONSULTADA	3

LISTA DE QUADROS

- 1 - Distribuição dos Pacientes com Asma Brônquica, conforme a Faixa Etária 18
- 2 - Distribuição dos Pacientes com Asma Brônquica, conforme o Sexo 18
- 3 - Distribuição dos Pacientes com Asma Brônquica, conforme Presença de Eosinófilos no Escarro 19
- 4 - Distribuição dos Pacientes do Grupo II, conforme a Faixa Etária 22
- 5 - Distribuição dos Pacientes do Grupo II, conforme o Sexo 22
- 6 - Distribuição dos Pacientes do Grupo II, conforme Presença de Eosinófilos no Escarro 23
- 7 - Distribuição dos Pacientes do Grupo III, conforme a Faixa Etária 24
- 8 - Distribuição dos Pacientes do Grupo III, conforme o Sexo 25
- 9 - Distribuição dos Pacientes do Grupo III, conforme Presença de Eosinófilos no Escarro 25
- 10- Distribuição dos Pacientes do Grupo IV, conforme a Faixa Etária 27
- 11- Distribuição dos Pacientes do Grupo IV, conforme o Sexo 27
- 12- Distribuição dos Pacientes do Grupo IV, conforme Presença de Eosinófilos no Escarro 28

LISTA DE TABELAS

- I - Distribuição dos Pacientes com Asma Brônquica, conforme Percentual de Eosinófilos no Escarro 19
- II - Comparação entre o Comportamento de Asmáticos quanto à Faixa Etária e à Presença de Eosinófilos no Escarro. 20
- III - Comparação entre o Comportamento de Asmáticos quanto à Faixa Etária e Distribuição Percentual de Eosinófilos no Escarro 21
- IV - Distribuição dos Pacientes do Grupo II, conforme Percentual de Eosinófilos no Escarro 23
- V - Distribuição dos Pacientes do Grupo III, conforme Percentual de Eosinófilos no Escarro 26
- VI - Distribuição dos Pacientes do Grupo IV, conforme Percentual de Eosinófilos no Escarro 28
- VII - Distribuição dos Pacientes, conforme Presença de Eosinófilos no Escarro, nos Quatro Grupos 30
- VIII - Distribuição dos Quatro Grupos, conforme o Percentual de Eosinófilos no Escarro 31
- IX - Distribuição dos Quatro Grupos, exclusive os Pacientes com Menos de 20 Anos, conforme Presença de Eosinófilos no Escarro 32
- X - Distribuição dos Pacientes, conforme Percentual de Eosinófilos no Escarro 33
- XI - Distribuição dos Pacientes, conforme Percentual de Eosinófilos no Escarro com Aglutinação das Faixas Intermediárias 34
- XII - Comparação entre os Quatro Grupos, conforme Percentual

de Eosinófilos no Escarro, por Meio de Unidades Relativas	35
XIII - Distribuição dos Pacientes, conforme Percentual de Eosinófilos no Escarro	37

1 - INTRODUÇÃO

A produção de secreção brônquica, em quantidade suficiente para ser expectorada e examinada, significa, geralmente, uma patologia de pulmão ou vias aéreas. Os componentes celulares e não celulares do escarro refletem o processo patológico que estimulou sua produção. Portanto, um estudo criterioso desses elementos poderá trazer importantes informações diagnósticas. Maior ênfase tem sido dada à citologia esfoliativa no diagnóstico das neoplasias, fundamentalmente a partir dos trabalhos de Papanicolaou. Mas uma maior atenção aos achados citológicos do escarro de portadores de doenças pulmonares não malignas poderá trazer uma nova dimensão ao exame dessa secreção (9) (26).

No século passado e início deste, autores europeus publicaram alguns trabalhos sobre características celulares e não celulares do escarro, nas doenças não malignas. Uma revisão dessa bibliografia parece ter sido feita por Von Hessling, pela sua freqüente citação por outros autores (10) (52). Após muitos anos de quase total silêncio sobre o assunto, houve, a partir da década de 50, um ressurgimento de interesse, com publicações de alguns trabalhos sobre a citologia diferencial desta secreção.

Elmes, Knox e Fletcher, em 1953, (24) usaram o exame citológico do escarro como um dos parâmetros para

avaliação do resultado de antibioticoterapia em 13 bronquítis crônicas. Esses autores verificaram que o aspecto macroscópico de purulência correspondia à abundância de polimorfonucleares ao exame microscópico e estava significativamente associado à presença de H. influenzae. Quando o tratamento antibiótico era efetivo, o escarro passava a ter aspecto mucóide, e os polimorfonucleares tornavam-se escassos ao exame microscópico.

No ano seguinte, May (48) e Helm, May e Livingstone (31), procurando critérios que pudessem orientar a indicação do uso de antibióticos em bronquíticos e asmáticos infectados, enfatizam a necessidade de distinguir o escarro purulento neutrofílico, indicativo de infecção, do pus eosinofílico encontrado em alguns desses pacientes. Não houve resposta terapêutica nos pacientes em que o aspecto purulento do escarro correspondia à predominância ou exclusividade de eosinófilos no exame microscópico.

Os trabalhos desses autores não só reforçavam a relação clássica de neutrófilos com infecção e os eosinófilos com alergia, como também estabeleciam o conceito do pus eosinofílico, invalidando o aspecto macroscópico de purulência do escarro, como um critério diagnóstico de infecção respiratória no asmático. Outros aspectos, além da relação neutrófilos/eosinófilos passam a ser valorizados, e Farber (26) em 1957, descreve agrupamentos celulares encontrados no escarro de pacientes asmáticos, morfológicamente semelhantes às células do adenocarcinoma.

Carabelli (7) procurou determinar padrões citológicos diagnósticos, estudando o aspirado brônquico de

1.000 pacientes com doença broncopulmonar não maligna. A conclusão foi o agrupamento das doenças em três grandes grupos, com um padrão citológico característico:

a) doenças broncopulmonares supurativas agudas e crônicas, em que o neutrófilo é a célula predominante;

b) doenças broncopulmonares alérgicas agudas e crônicas em que o eosinófilo é a célula proeminente ou preponderante;

c) as neoplasias em que a célula maligna é característica.

O padrão supurativo pode se superajuntar aos outros grupos. O autor ainda descreve grupos celulares encontrados nas doenças supurativas e alérgicas de fácil confusão com células malignas, a que denominou grupos pseudomalignos.

Brown (6), em 1958, ressalta o valor da presença de eosinófilos no escarro como um dos critérios para a indicação do uso de corticoesteróides em asmáticos crônicos. O autor comenta ainda as dificuldades de diagnóstico diferencial entre asma contínua e bronquite crônica com broncoespasmo. Considera a eosinofilia do escarro um dos critérios de distinção.

Poucos anos depois, Williams (70) considerou a eosinofilia do escarro como um dos critérios para diferenciar asma, de um lado, de bronquite crônica e enfisema, de outro. O emprego de corticoesteróides no grupo de bronquíticos

só foi exitoso nos pacientes que apresentavam eosinófilos no escarro.

Chodosh e colaboradores (10), em 1962, fazem uma análise do citograma do escarro de pacientes com patologias broncopulmonares várias. Os autores concluíram que uma informação citológica de utilidade só era fornecida quando células específicas podiam ser encontradas, como nas neoplasias, ou quando a resposta celular era nitidamente de um único tipo de célula, como na asma. Em trabalho posterior, Chodosh, (9) pela análise morfológica dessas células, preconiza padrões de diagnóstico diferencial entre asma, bronquite crônica e um terceiro grupo que denominou bronquite asmática .

Sanerkin (63), em 1965, procura definir aspectos patognomônicos de asma no exame de escarro. O autor considerou como "sinal maior" de asma abundância de eosinófilos , agrupamentos celulares ("Creola bodies") e espirais de Curschmann, quando o escarro era eliminado pouco tempo depois de secretado. Agregados de elementos celulares degenerados, assumindo um padrão laminar, foram também considerados "sinal maior " quando houvesse retenção de secreção intraluminal.

A maioria dos trabalhos tende, portanto , a valorizar a presença ou predominância dos eosinófilos sobre os neutrófilos, como um critério diagnóstico de asma, de distinção entre bronquite e asma e também como um elemento importante na seleção dos pacientes a serem tratados com corticosteróides. Vejamos alguns aspectos desta célula.

1.1 - O Eosinófilo

A monografia de Archer (1) sobre o eosinófilo oferece uma visão do histórico e da origem desta célula.

Em 1846, Wharton-Jones (apud Archer) descreveu uma célula do sangue com granulações grosseiras, que acredita-se corresponder ao eosinófilo, mas só em 1879 recebeu tal denominação por Ehrlich (apud Archer). Os grânulos citoplasmáticos desses leucócitos apresentaram uma intensa afinidade com a eosina, e essa propriedade tem sido usada, até o momento, para identificação e contagem dessas células.

A origem e desenvolvimento das células sanguíneas na medula óssea foi descrita por Sabin e colaboradores, em 1925 (apud Archer).

Eosinopoiese, no indivíduo adulto normal, parece ocorrer exclusivamente na medula óssea (33). Na medula óssea, a célula mais primitiva identificada como precursora do eosinófilo é o mieloblasto ("late mieloblast") ou o promielócito jovem ("early-pro-mielocyte"). Nessa fase do desenvolvimento, a diferenciação para o eosinófilo já é definida, pois a reversão para outros tipos de células não foi identificada. Próximo de se transformar em pró-mielócito, o mieloblasto apresenta granulações eosinófilas no citoplasma. O número dessas granulações e o tamanho da célula aumentam no promielócito, atingindo o máximo no mielócito. O metamielócito é uma célula menor, com o citoplasma comprimido por granulações eosinofílicas e com o núcleo denteado. O eosinófilo maduro apresenta um núcleo geralmente bilobado e um citoplasma cheio de granulações

eosinofílicas (1).

O processo de maturação, a partir das células precursoras, dura de 3 a 4 dias, após o que os eosinófilos são liberados, com ordem prioritária para os mais maduros. Calcula-se que para cada eosinófilo circulante haja uma reserva de 300 eosinófilos jovens na medula.

No sangue periférico eles permanecem apenas por poucas horas. Do sangue periférico, passam aos tecidos, onde completam seu ciclo vital de 8 a 12 dias. O número de células no sangue periférico pode não expressar a intensidade da infiltração tecidual. Uma marcada disparidade pode ocorrer entre a reserva de células na medula, o suprimento para o sangue e a demanda tecidual. Essa disparidade resulta, às vezes, em períodos de eosinopenia sangüínea paradoxal. A eliminação dessas células ocorre através das secreções. Antes de serem eliminadas, elas se depositam no tecido conjuntivo frouxo da lâmina própria e da submucosa, especialmente no trato digestivo e respiratório (12) (33).

O número de eosinófilos na parede do intestino dos mamíferos é variável, sendo maior no cólon. Pequenas quantidades são vistas na parede do intestino delgado e estômago. Praticamente todos os eosinófilos do tubo digestivo são encontrados na lâmina própria e na submucosa. No tecido pulmonar normal, os eosinófilos estão quase sempre presentes, mas em pequena quantidade (1). O simples achado de pequena quantidade de células nessas camadas de revestimento não pode ser interpretado como sinal diagnóstico de alergia.

Nos indivíduos alérgicos, são encontrados

eosinófilos em todas as secreções do corpo, como, entre outras, a dos olhos, nariz, trato respiratório inferior e secreção prostática (33).

1.2 - A Contagem do Eosinófilo

O método de contagem dos eosinófilos no sangue periférico, tido como mais adequado, é o da diluição e contagem na câmara de Fuchs-Rosenthal. Esse método é preferível ao cálculo percentual dos eosinófilos em relação aos demais leucócitos, que é considerado menos apurado e fidedigno, principalmente quando o número de eosinófilos é pequeno (33).

O número de eosinófilos por ml de sangue periférico, considerado normal, varia muito, na dependência dos diferentes autores. Winthrope (72) estabelece um elastério de 0 a 700. Entretanto, naqueles estudos em que a amostra de população avaliada excluía indivíduos com história clínica de atopia e/ou com testes cutâneos positivos, a contagem foi inferior a 200 células por ml, com uma média de 100 (27) e 122 células/ml (35).

Oscilações na taxa de eosinófilos ocorrem durante as 24 horas do dia e são atribuídas ao ciclo de produção do cortisol. O número de células cai a partir das 8 horas até o meio dia, começando então uma elevação que atinge o máximo entre meia noite e 4 h. (33).

1.3 - Função do Eosinófilo

Apesar de mais de 100 anos de investigação, o papel primordial do eosinófilo ainda é desconhecido. Atraído ao local de inflamação por fatores eosinotáticos como o "Eosinophil Leucocyte Chemotatic of Anaphilaxis" (ECF-A), ele é capaz de fagocitar seletivamente complexos antígeno-anticorpos, sem, entretanto, fagocitar o antígeno ou o anticorpo isoladamente.

O eosinófilo pode ainda modificar a reação de hipersensibilidade do tipo I, (Classificação de Gell e Coombs) pela inativação da substância reatora lenta de anafilaxia (SRS-A). A enzima Arilsulfatase, identificada no eosinófilo humano, apresenta a capacidade de inativar essa substância produzida em tecido pulmonar conseqüente a uma reação alérgica do tipo I (54).

O eosinófilo é capaz também de fagocitar bactérias. Michemberg (49) demonstrou ser a ingestão de microorganismos, bem como a de grânulos de poliestireno pelo eosinófilo quantitativamente inferior à realizada pelo neutrófilo. Igualmente ficou demonstrado que a atividade bactericida, para o S.Aureus, S.Albus e E. Coli é inferior à do neutrófilo, provavelmente devido à sua diminuída capacidade fagocítica.

Cohen e colaboradores (13), examinando esarro e secreção nasal de 100 pacientes com doença alérgica ou infecciosa, identificaram cocos gram positivos nos vacúolos ci

toplásmicos de eosinófilos em 11 pacientes. Todos eles eram portadores de asma intrínseca, com infecção crônica e apresentavam escarro com abundância de eosinófilos. Além da demonstração da fagocitose "in vivo", os autores expressaram sua impressão de que o escarro eosinofílico não exclue infecção.

1.4 - A Eosinofilotaxia

A eosinofilotaxia é a atração de eosinófilos a um lugar específico. Os recentes progressos em bioquímica e imunologia permitiram a identificação de vários estímulos provocadores desse fenômeno, responsável pela deposição dos eosinófilos nos diversos tecidos do organismo.

Como os neutrófilos, os eosinófilos também são atraídos por um fator gerado no soro fresco, pela adição de complexos imunes. Complexos trimoleculares ativados, constituindo as frações C_5 , C_6 , C_7 do complemento, são responsáveis pela formação desse fator denominado "Eosinophil Leukocyte Chemotactic Factor of Complement" (ECF-C) (42) (66).

O ECF-C é, provavelmente, responsável pela eosinofilia local que ocorre na reação de Arthus (33).

Trabalhando com cobaias, Kay e colaboradores (39) demonstraram que pulmões sensibilizados ativa ou passivamente eram capazes de produzir uma substância eosinofilotática, quando expostos ao antígeno específico. O anticorpo que mediava a liberação dessa substância foi demonstrado, por estudos de fracionamento, ser IgG_1 . IgG_2 ou IgE não apresentaram essa propriedade. Essa substância, denominada pelos autores de

"Eosinophil Leucocyte Chemotatic Factor of Anaphilaxis" (ECF-A) não depende do sistema complemento para sua formação. Ela difere do ECF-C bioquimicamente, apresentando um peso molecular aproximado de 500 a 1000, e o ECF-C um peso molecular de aproximadamente 15000. A liberação do ECF-A se faz ao mesmo tempo em que o da histamina e o da substância reatora lenta (SRS-A). Entretanto, essas substâncias não apresentam propriedades eosinotáticas per se.

No mesmo ano, Kay e Austin (40) puderam demonstrar o ECF-A em pulmões humanos. Pulmões obtidos de pneumonectomias foram passivamente sensibilizados com o soro de um doador alérgico a pólen de gramínea e depois expostos ao antígeno. No líquido de difusão, obtido após a reação anafilática, foi identificado o fator eosinotático, além da histamina e SRS-A. O aquecimento ou tratamento do soro, com anticorpo específico IgE, retirava do mesmo a capacidade de sensibilizar. Essas e outras reações permitiram identificar a IgE como a responsável pela reação determinante da liberação do ECF-A. Esse fator foi considerado como um mediador da reação anafilática no tecido pulmonar do homem.

O grupo de Austen (38) identificou também o ECF-A em pólipos nasais. Pólipos, extraídos cirurgicamente de pacientes com rinite alérgica e sensíveis a pólen de gramínea, liberaram histamina, SRS-A e ECF-A, quando expostos ao antígeno específico.

Como a histamina e a SRS-A, o ECF-A é liberado pelo mastócito, a partir de grânulos pré-formados. A interação antígeno-anticorpos IgE, na superfície do mastócito, re

sulta na ruptura da célula e liberação do ECF-A, responsável pela atração dos eosinófilos aos locais de reação alérgica do tipo I (67) (68).

Em estudos realizados pelo mesmo grupo (69) um polipeptídeo eosinofilotáctico indistinguível do ECF-A foi isolado do tecido tumoral de um indivíduo com carcinoma brônquico, de tipo histológico indiferenciado de grandes células, e com eosinofilia periférica e tumoral importante. Como não fossem encontrados mastócitos ou substâncias constituintes desta célula, os autores consideraram provável fosse o fator eosinofilotáctico produzido pelo próprio tumor, de uma maneira análoga à produção ectópica de certos hormônios, e o denominaram ECF-Ca.

Linfócitos do tipo T também produzem uma substância capaz de atrair eosinófilos. Procedimentos capazes de induzir uma depleção ou inativação dos linfócitos, em ratos, como a timectomia neonatal, administração de soro antilinfocítico e a drenagem prolongada do ducto torácico, isolados ou associados, levam a uma resposta eosinofílica reduzida, quando os animais são infestados por *Trichinella*.

Animais irradiados só desenvolvem eosinofilia após reconstituição com células linfocíticas e medulares. Ratos receptores desenvolveram eosinofilia quando receberam linfócitos T íntegros de animal doador infestado. O isolamento dos linfócitos em câmara de difusão, na cavidade peritoneal, não prejudicava a indução da eosinofilia, indicando a presença de um fator difusível como o responsável pela estimulação da medula. (3).

A atração de eosinófilos pode também ser exercida por outros estímulos. Alguns antígenos possuem, aparentemente, as propriedades físico-químicas necessárias para a eosinofilotaxia, sem formar complexos com os anticorpos específicos. Esse fenômeno pode ser observado com partículas de látex, antígeno de gramíneas e *Ascaris* (33).

1.5 - Objetivos do Trabalho

São objetivos desta investigação a procura de uma resposta às seguintes indagações:

A presença de eosinófilos no escarro é um sinal diagnóstico de alguma doença pulmonar específica?

Existe algum nível percentual de eosinófilos no escarro, a partir do qual o exame citológico diferencial possa permitir um diagnóstico de certeza para asma brônquica ou outras pneumopatias?

Qual o comportamento da bronquite crônica com broncoespasmo em relação à asma e às demais doenças obstrutivas, quanto à contagem diferencial neutrófilos/eosinófilos?

2 - MATERIAL E MÉTODOS

Um estudo do exame citológico diferencial do escarro foi realizado em 384 pacientes, no Pavilhão Pereira Filho, da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (PPFQ) e no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). A investigação se estendeu de janeiro de 1972 a dezembro de 1973 no PPFQ e no HCPA, e de janeiro a dezembro de 1976 no HCPA. Não houve alteração na equipe de trabalho clínico-citologista, o que permitiu a uniformidade da pesquisa.

Na primeira etapa da pesquisa (janeiro 1972 a dezembro 1973), foram examinados escarros de 197 asmáticos, e os resultados comparados com os de um grupo controle, constituído por 76 pacientes com pneumopatias diversas. Esse grupo controle foi, posteriormente, abandonado por não ter sido incluído no protocolo desses pacientes uma investigação clínico-imunológica idêntica àquela procedida nos pacientes asmáticos. Alguns aspectos dos resultados obtidos nesse grupo serão discutidos na seção 3 deste trabalho.

Na segunda etapa (janeiro a dezembro de 1976), a investigação foi estendida a 187 pacientes com outras pneumopatias que não asma brônquica. Além da anamnese pertinente a cada caso, foi procedido um interrogatório dirigido, visando a identificar manifestações clínicas de broncoespasmo e de atopia.

Foram excluídos, nessa segunda etapa, os pacientes que apresentassem qualquer manifestação inequívoca de atopia.

Os 384 pacientes foram agrupados conforme as características próprias de sua doença, aqueles com doença obstrutiva crônica foram distribuídos em dois grupos: com e sem manifestações clínicas de broncoespasmo. Ficamos, portanto com quatro grupos de pacientes:

GRUPO I - Asma brônquica:	197 pacientes
GRUPO II - Bronquite crônica com broncoespasmo:	45 pacientes
GRUPO III - Bronquite crônica e/ou enfisema, sem broncoespasmo:	73 pacientes
GRUPO IV - Outras pneumopatias:	69 pacientes

Os critérios diagnósticos empregados para asma brônquica e bronquite crônica foram os estabelecidos pelo "Medical Resarch Concil", da Inglaterra (49). Broncoespasmo foi diagnosticado quando havia informação clínica de dispnéia e/ou achado clínico de sibilância. O diagnóstico de enfisema foi estabelecido pelo estudo radiológico dos pulmões. No grupo IV foram agrupadas todas as demais pneumopatias encontradas, como pneumonia, tuberculose, carcinoma, fibroses pulmonares e alguns casos em que a presença de sintomas respiratórios levou à investigação, não tendo sido encontrada doença pulmonar. Os diagnósticos foram firmados pela conjunção do exame clínico, radiológico, citopatológico ou bacteriológico do escarro e, em alguns casos, histopatológico de pulmão.

2.1 - Colheita do Escarro

O material foi obtido por colheita espontâ

nea, pela manhã, estando o paciente em jejum. Os pacientes foram instruídos a escarrar, após tosse provocada por inspiração profunda, diretamente em um frasco de boca larga. Em alguns pacientes foi procedida a colheita orientada por fisioterapia.

2.2 - Preparo do Esfregaço

No laboratório, o material recebeu o tratamento de rotina empregado no exame citológico. O material é transferido para uma placa de Petri e colocado sobre um fundo preto, o que permite melhor identificação de zonas mais densas e esbranquiçadas, que representam muco com grande número de células. Identifica-se, também, imediatamente, a natureza salivosa (aspecto aquoso) ou purulenta do material. O material essencialmente salivoso é considerado insatisfatório. Em caso de dúvida, o técnico prepara as lâminas e deixa a decisão para o citologista. Do material purulento, fazem-se sistematicamente lâminas.

As zonas selecionadas são recolhidas com espátulas metálicas e distendidas de maneira uniforme e muito fina em duas lâminas de microscopia. Depois da fixação por secagem ao ar, as lâminas estão prontas para a coloração, que é feita pela técnica de Leishman.

As lâminas são dispostas horizontalmente sobre duas barras de vidro, colocadas em cuba apropriada. A coloração é procedida conforme as etapas abaixo esquematizadas:

- 1) Corante de Leishman 5 minutos (em quantidade apenas suficiente para cobrir toda a área do esfregaço)
- 2) Água destilada 15 minutos (em volume aproximadamente igual ao corante que fica, pois, diluído pela água)
- 3) Deixa-se escorrer a mistura corante-água destilada
- 4) Láva-se a lâmina em água corrente
- 5) Seca-se a lâmina ao ar

3 - RESULTADOS

3.1 - GRUPO I: ASMA BRÔNQUICA

Número: foram analisados escarros de 197 pacientes.

Idade : A idade variou de 1 a 81 anos, sendo a média 31 anos.

O período etário de maior prevalência foi dos 10 aos 29 anos.

Sexo : Houve predominância do sexo feminino, com 68% do total.

Eosinófilos no escarro: Dos 197 pacientes, em 142 foram encontrados eosinófilos no escarro (72%).

Quadro 1
Distribuição dos Pacientes com Asma Brônquica,
conforme Faixa Etária

Faixa Etária	Nº de Pacientes
1 - 09	21
10 - 19	40
20 - 29	46
30 - 39	25
40 - 49	26
50 - 59	24
60 - 69	12
70 - 79	2
80 - 89	1

Quadro 2
Distribuição dos Pacientes com Asma Brônquica,
conforme o Sexo

Sexo	Nº de Pacientes
M	80
F	117
TOTAL	197

Quadro 3

Distribuição dos Pacientes com Asma Brônquica,
conforme Presença de Eosinófilos
no Escarro

Eosinófilos no Escarro	Nº de Pacientes
Presença	142 (72%)
Ausência	55 (28%)
TOTAL	197 (100%)

Os 142 pacientes com eosinófilos no escarro foram distribuídos em faixas de percentual como vem expresso no exame.

TABELA I

Distribuição dos Pacientes com Asma Brônquica,
conforme Percentual de Eosinófilos
no Escarro

% Eosinófilos no Escarro	Nº de Pacientes
1 - 19	13 (9%)
20 - 39	21 (15%)
40 - 59	13 (9%)
60 - 79	14 (10%)
80 - 100	81 (57%)
TOTAL.....	142 (100%)

Ao comparar-se o grupo asma brônquica com os demais, verificamos que ele abrange pacientes mais jovens. A fim de manter a uniformidade da pesquisa, foi feita a comparação entre o comportamento do grupo de indivíduos com menos de 20 anos e aquele formado por indivíduos de mais idade. Não houve diferença significativa entre os mesmos, levando-se em conta os dois parâmetros: presença de eosinófilos no escarro ($\chi^2 = 0,134$; $P < 0,001$) e distribuição dos pacientes, conforme o percentual de eosinófilos no escarro ($\chi^2 = 7,03$; $P < 0,001$).

TABELA II

Comparação entre o Comportamento de Asmáticos,
quanto à Faixa Etária e a
Presença de Eosinófilos no Escarro

Eosinófilos no Escarro	FAIXA ETÁRIA		Total de Pacientes
	< 20 anos	> 20 anos	
Presença ...	42 (69%)	100 (74%)	142
Ausência ...	19 (31%)	36 (26%)	55
TOTAL	61 (100%)	136 (100%)	197

TABELA III
 Comparação entre o Comportamento de Asmáticos,
 quanto à Faixa Etária e Distribuição
 Percentual de Eosinófilos no
 Escarro

Eosinófilos no Escarro (%)	FAIXA ETÁRIA	
	< 20 anos	≥ 20 anos
1 - 19.....	7 (17%)	6 (6%)
20 - 39.....	7 (17%)	14 (14%)
40 - 59.....	4 (10%)	9 (9%)
60 - 79.....	5 (12%)	9 (9%)
80 - 100.....	19 (44%)	62 (62%)
TOTAL.....	42 (100%)	100 (100%)

3.2 - GRUPO II: BRONQUITE CRÔNICA COM BRONCOESPASMO

Número: Foram analisados escarros de 45 pacientes

Idade : A idade variou de 34 a 83 anos, sendo a média 58 anos. A faixa etária predominante foi dos 50 aos 59 anos.

Sexo : A predominância foi do sexo masculino, com 34 homens para 11 mulheres, o que representa 75% do total.

Eosinófilos no escarro: 26 indivíduos apresentaram eosinófilos no escarro (58%).

QUADRO 4

Distribuição dos Pacientes do Grupo II, conforme Faixa Etária

Faixa Etária	Nº de Pacientes
30	0
30 - 39	4
40 - 49	7
50 - 59	17
60 - 69	8
70 - 79	7
80 - 89	2

QUADRO 5

Distribuição dos Pacientes do Grupo II, conforme Sexo

Sexo	Nº de Pacientes
M	34
F	11
TOTAL	45

Quadro 6
Distribuição dos Pacientes do Grupo II, con-
forme Presença de Eosinófilos
no Escarro

Eosinófilos no Escarro	Nº de Pacientes
Presença	26 (58%)
Ausência	19 (42%)
TOTAL	45 (100%)

TABELA IV
Distribuição dos Pacientes do Grupo II, con-
forme Percentual de Eosinófilos
no Escarro

Eosinófilos no Escarro (%)	Nº de Pacientes
1 - 19.....	5 (18%)
20 - 39.....	3 (12%)
40 - 59.....	0 (%)
60 - 79.....	3 (12%)
80 -100.....	15 (58%)
TOTAL.....	26 (100%)

3.3 - GRUPO III: BRONQUITE CRÔNICA E/OU ENFISEMA SEM BRONCO-
ESPASMO CLINICAMENTE PERCEPTÍVEL

Número : Foram examinados escarros de 73 pacientes.

Idade : A idade variou de 20 a 85 anos, sendo a média 59 anos. A faixa etária na qual houve predominância de pacientes foi a de 50-59 anos.

Sexo : Houve predominância do sexo masculino, com 55 homens para 18 mulheres (75% do total).

Eosinófilos no escarro: Foram encontrados eosinófilos no escarro de 32 pacientes (44%).

Quadro 7

Distribuição dos Pacientes do Grupo III, conforme a Faixa Etária

Idade	Nº de Pacientes
20 - 29.....	1
30 - 39.....	3
40 - 49.....	11
50 - 59.....	24
60 - 69.....	21
70 - 79.....	9
80 - 89.....	4

Quadro 8
Distribuição dos Pacientes do Grupo III con-
forme o Sexo

SEXO	Pacientes
M	55
F	18
TOTAL	73

Quadro 9
Distribuição dos Pacientes do Grupo III, con-
forme Eosinófilos no Escarro

EOSINÓFILOS no Escarro	Nº de Pacientes
Presença	32 (44%)
Ausência	41 (56%)
TOTAL	73 (100%)

TABELA V
Distribuição dos Pacientes do Grupo III con-
forme Percentual de Eosinófilos
no Escarro

Eosinófilos no Escarro (%)	Nº de Pacientes
1 - 19.....	19 (60%)
20 - 39.....	3 (9%)
40 - 59.....	3 (9%)
60 - 79.....	4 (13%)
80 - 100.....	3 (9%)
TOTAL.....	32 (100%)

3.4 - GRUPO IV: OUTRAS PNEUMOPATIAS

Número : Foram examinados escarros de 69 pacientes com outras pneumopatias que não asma, bronquite crônica ou enfisema, e sem atopia.

Idade : A idade variou de 15 a 87 anos, sendo a média 50 anos. A faixa etária em que houve predominância dos pacientes foi dos 50- 59 anos.

Sexo : Houve predominância do sexo feminino, com 43 mulheres para 26 homens (62%).

Eosinófilos no escarro: 28 (41%) pacientes apresentaram eosinófilos no escarro (41%).

Quadro 10
 Distribuição dos Pacientes do Grupo IV;con-
 forme Faixa Etária

Faixa Etária	Nº de Pacientes
10 - 19	3
20 - 29	8
30 - 39	9
40 - 49	13
50 - 59	16
60 - 69	11
70 - 79	4
80 - 89	5

Quadro 11
 Distribuição dos Pacientes do Grupo IV,con-
 forme o Sexo

Sexo	Nº de Pacientes
M	26
F	43
TOTAL	69

Quadro 12
Distribuição dos Pacientes do Grupo IV, con-
forme Eosinófilos no Escarro

Eosinófilos no Escarro	Nº de Pacientes
Presença	28 (41%)
Ausência	41 (59%)
TOTAL	69 (100%)

TABELA VI
Distribuição dos Pacientes do Grupo IV, con-
forme Percentual de Eosinófilos
no Escarro

Eosinófilos no Escarro (%)	Nº de Pacientes
1 - 19.....	14 (50%)
20 - 39.....	6 (21%)
40 - 59.....	4 (14%)
60 - 79.....	1 (4%)
80 - 100.....	3 (11%)
TOTAL.....	28 (100%)

3.5 - Comparação entre os Resultados Obtidos nos Quatro Grupos

Considerando a presença nos Grupos I e IV de pacientes com idade inferior a 20 anos, a comparação estatística foi procedida, incluindo, primeiramente, todos os pacientes e, numa segunda etapa, excluindo os com menos de 20 anos. A comparação foi feita levando em conta a presença e o percentual de eosinófilos no escarro.

3.5.1 - Comparação entre os Quatro Grupos, quanto à Presença de Eosinófilos no Escarro -

A comparação entre os quatro grupos mostrou haver uma diferença significativa entre eles ($\chi^2=30,62; P < 0,001$). Essa diferença é fundamentalmente proporcionada pelo grupo I que difere significativamente dos grupos III ($\chi^2=17,32; P < 0,001$) e IV ($\chi^2=37,23; P < 0,001$).

O grupo II apresenta um comportamento semelhante ao da asma ($\chi^2=2,88; P < 0,001$), com predominância dos casos com eosinófilos no escarro. Mas este padrão de comportamento não foi significativamente diferente do apresentado pelos grupos III e IV ($\chi^2=3,45; P < 0,001$).

TABELA VII

Distribuição dos Pacientes, conforme Presença de Eosinófilos no Escarro, nos 4 Grupos

Eosinófilos no Escarro	Grupos			
	I	II	III	IV
Presença.....	142 (72%)	26 (58%)	32 (44%)	28 (41%)
Ausência.....	55 (28%)	19 (42%)	41 (56%)	41 (59%)
TOTAL.....	197 (100%)	45 (100%)	73 (100%)	69 (100%)

3.5.2 - Comparação entre os Quatro Grupos quanto à Distribuição dos Pacientes nas Diversas Faixas de Percentual de Eosinófilos no Escarro.

O teste de Student mostrou haver diferença significativa entre os 4 grupos ($x^2=63,42; P < 0,001$). A comparação dos grupos 2 a 2 foi realizada mediante a aglutinação das faixas intermediárias de 20 a 79%, dado o pequeno número de casos nessas caselas, o que tornou inexecuível o teste de Student. Os resultados obtidos foram os que se seguem:

a) Os Grupos I e II não apresentam diferença de comportamento ($x^2=2,87; P < 0,001$);

b) Os Grupos III e IV também não diferem entre si ($x^2=2,32; P < 0,001$);

c) O comportamento do Grupo I difere significativamente do dos Grupos III e IV ($x^2=60,98; P < 0,001$);

d) O comportamento do Grupo II difere significativamente do dos Grupos III e IV ($x^2=22,97; P < 0,001$).

TABELA VIII
Distribuição dos Quatro Grupos, conforme o
Percentual de Eosinófilos no Escarro

Eosinófilos no Escarro (%)	Grupos			
	I	II	III	IV
1 - 19.....	13 (9%)	5 (18%)	19 (60%)	24 (50%)
20 - 39.....	21 (15%)	3 (12%)	3 (9%)	6 (21%)
40 - 59.....	13 (9%)	Ø	3 (9%)	4 (14%)
60 - 79.....	14 (10%)	3 (12%)	4 (13%)	1 (4%)
80 - 100.....	81 (57%)	15 (58%)	3 (9%)	3 (11%)
TOTAL.....	142 (100%)	26 (100%)	32 (100%)	28 (100%)

3.5.3 - Comparação entre os Resultados dos Quatro Grupos, Excluídos os Pacientes com Menos de 20 Anos dos Grupos I e IV.

A comparação foi procedida levando-se em conta os dois critérios: presença de eosinófilos no escarro e distribuição dos pacientes, conforme percentual de células encontrado.

3.5.3.1 - Comparação dos 4 grupos quanto à presença de eosinófilos no escaro.

A comparação dos quatro grupos mostrou haver diferença significativa entre os mesmos ($x^2=28,71; P < 0,001$).

O grupo I difere significativamente do III

($x^2=16,75; P < 0,001$) e do IV($x^2=19,59; P < 0,001$).

O grupo II apresenta comportamento semelhante ao do I ($x^2=3,26; P < 0,001$).

Os grupos II, III e IV não apresentaram diferença de comportamento estatisticamente significativa ($x^2=2,46; P < 0,001$).

TABELA IX

Distribuição dos Quatro Grupos, exclusive os Pacientes com Menos de 20 Anos, conforme Presença de Eosinófilos no Escarro

Eosinófilos no Escarro	Grupos			
	I	II	III	IV
Presença.....	100 (74%)	26 (58%)	32 (44%)	26 (39%)
Ausência.....	36 (26%)	19 (42%)	41 (56%)	40 (61%)
TOTAL.....	136 (100%)	45 (100%)	73 (100%)	66 (100%)

3.5.3.2 - Comparação dos Quatro Grupos quanto à Distribuição dos Pacientes, conforme Percentual de Eosinófilos no Escarro. -

Devido ao pequeno número de casos em algumas das faixas percentuais procedeu-se, em cada grupo, à aglutinação das faixas intermediárias de 20 a 79%. A correlação, pelo teste de Student, evidenciou os seguintes resultados:

- a) os quatro grupos diferem entre si
($x^2=64,88; P < 0,001$);
- b) não existe diferença entre o comportamento dos Grupos I e II ($x^2=4,77; P < 0,001$);
- c) não existe diferença entre o comportamento dos Grupos III e IV ($x^2=1,64; P < 0,001$);
- d) o comportamento do grupo I é diferente do dos Grupos III e IV ($x^2=62; P < 0,001$);
- e) o comportamento do Grupo II difere do dos Grupos III ($x^2=16,72; P < 0,001$) e IV ($x^2=15,55; P < 0,001$).

TABELA X
Distribuição dos Pacientes conforme Percentual
de Eosinófilos no Escarro *

Eosinófilos no Escarro (%)	Grupos			
	I	II	III	IV
1 - 19.....	6 (6%)	5 (18%)	19 (60%)	13 (50%)
20 - 39.....	14 (14%)	3 (12%)	3 (9%)	6 (23%)
40 - 59.....	9 (9%)	Ø	3 (9%)	4 (15%)
60 - 79.....	9 (9%)	3 (12%)	4 (13%)	1 (4%)
80 - 100.....	62 (62%)	15 (58%)	3 (9%)	2 (8%)
TOTAL.....	100 (100%)	26 (100%)	32 (100%)	26 (100%)

* Excluídos os pacientes com menos de 20 anos.

TABELA XI
Distribuição dos Pacientes, conforme Percentual
de Eosinófilos no Escarro, com Aglutinação
das Faixas Intermediárias *

Eosinófilos no Escarro (%)	Grupos			
	I	II	III	IV
1 - 19.....	6	5	19	13
20 - 79.....	32	6	10	11
80 -100.....	62	15	3	2
TOTAL.....	100	26	32	26

* Excluídos os pacientes com menos de 20 anos

3.5.4 - Comparação dos Quatro Grupos por Unidades Relativas

Os quatro grupos foram comparados, conforme o percentual de eosinófilos no escarro, por meio de unidades relativas. A cada faixa percentual foi atribuída, arbitrariamente, um determinado número de pontos que multiplica o número de pacientes correspondente. À faixa de 1 a 19% de eosinófilos foi atribuído o fator de multiplicação 20; à faixa de 20 a 39%, o fator 40; à faixa de 40 a 59%, o fator 60; à faixa de 60 a 79% o fator 80 e, finalmente, à faixa de 80 a 100%, o fator 100. A média foi obtida pela divisão do total de pontos pelo total de pacientes. As médias alcançadas foram muito próximas entre os Grupos I e II e entre os Grupos III e IV (Tabela XI).

TABELA XII
 Comparação entre os Quatro Grupos, conforme
 Percentual de Eosinófilos no Escarro
 por Meio de Unidades Relativas

Eosinófilos no Escarro (%)	Grupos			
	I	II	III	IV
1 - 19.....	13 x 20 [*]	5 x 20	19 x 20	14 x 20
20 - 39.....	21 x 40 [*]	3 x 40	3 x 40	6 x 40
40 - 59.....	13 x 60 [*]	∅ x 60	3 x 60	4 x 60
60 - 79.....	14 x 80 [*]	3 x 80	4 x 80	1 x 80
80 - 100.....	81 x 100 [*]	15 x 100	3 x 100	3 x 100
MÉDIAS.....	76,76	76,94	40,63	40,71

* Fator de multiplicação

4 - DISCUSSÃO

A proposição inicial deste trabalho foi um estudo do exame citológico diferencial do escarro na asma brônquica. Foram examinados escarros de 150 asmáticos. Os resultados obtidos foram comparados com os de um grupo controle de 76 pacientes com outras pneumopatias, visto no mesmo período de tempo e no mesmo laboratório. A decisão de tomar como controle outros pacientes e não indivíduos sadios prendeu-se, de um lado, ao fato de tais indivíduos não expectorarem e, por outro, ao de o padrão de normalidade para um determinado exame de laboratório não ser, provavelmente, a média apresentada por indivíduos adultos normais, mas sim um elástico de valores, deduzidos dos resultados da população de doentes que se submeteram àquele tipo de exame, num determinado período de tempo, naquele laboratório (32). Na avaliação dos resultados, verificamos que, no grupo de asmáticos, 102 pacientes (68%) apresentaram eosinófilos no escarro, enquanto, no grupo controle, em apenas 21 pacientes (37%) essas células foram encontradas. Na distribuição dos casos, conforme percentual de eosinófilos no escarro (Tabela XIII), verificamos que os asmáticos apresentavam uma distribuição monótona nas quatro faixas de 1 a 79% e, a partir daí, um pico importante, com 56% dos casos na faixa 80-100% de eosinófilos. No grupo controle, os casos se distribuíam predominantemente na primeira e na última faixa.

TABELA XIII

Distribuição dos Pacientes, conforme Percentual
de Eosinófilos no Escarro
(1a. Etapa da Pesquisa)

Eosinófilos no Escarro (%)	Asmáticos	Controle
1 - 19.....	10 (10%)	7 (32%)
20 - 39.....	18 (17%)	2 (10%)
40 - 59.....	9 (9%)	1 (5%)
60 - 79.....	9 (9%)	1 (5%)
80 - 100.....	56 (55%)	10 (48%)
TOTAL.....	102 (100%)	21 (100%)

Dos dez pacientes do grupo controle com mais de 80% de eosinófilos no escarro, a metade apresentava doença obstrutiva crônica e, em três desses, havia registro clínico de sibilância. Os outros casos constituíam-se de pacientes com tosse, sem diagnóstico, apesar de investigados (2), com tuberculose (1), com tromboembolismo (1) e com neoplasia (1). Com base na história, já colhida, não podíamos afastar, com segurança, atopia nesses indivíduos. Como já referimos anteriormente, pacientes atópicos podem eliminar eosinófilos em todas as secreções do organismo (34).

Decidimos então constituir um outro grupo controle do qual procuramos excluir todos os indivíduos com manifestações clínicas de atopia, mediante a aplicação de um

interrogatório idêntico ao usado nos pacientes asmáticos. Decidimos ainda separar os pacientes com doença obstrutiva crônica das demais pneumopatias e, dentre esses, os que apresentassem broncoespasmo, pois eles constituíam a metade dos casos com abundância de eosinófilos no escarro, do grupo controle anterior. Com isso ficamos com quatro grupos de pacientes.

Comparando os quatro grupos, quanto à idade, verificamos que os asmáticos, como era esperável, constituíam o grupo mais jovem. A amostra estudada, entretanto, não é perfeitamente representativa da população asmática, pois a pesquisa não foi estendida a um serviço de pediatria, o que teria baixado ainda mais a média de idade.

Os Grupos II e III apresentaram médias muito próximas, 58 e 59 anos respectivamente, concordantes com a média de idade de outras amostras de pacientes com doença obstrutiva referidas na literatura (18). No Grupo IV, que abrange todas as outras pneumopatias, a média foi um pouco mais baixa do que a dos Grupos II e III, mas a década predominante foi a dos 50 anos nos três Grupos.

Quanto ao sexo, nos Grupos I e IV houve predomínio das mulheres, enquanto os homens constituíram a maioria dos pacientes com DPOC (Grupos II e III).

A técnica citológica empregada foi a contagem diferencial neutrófilos/eosinófilos, a partir de um esfregaço fino corado pela técnica de Leishman. O escarro foi levado ao laboratório no máximo até 4 horas após a colheita. Julgamos desnecessário e até prejudicial para o bom preparo da lâmina, colheita em igual volume de álcool. Como as proteínas e o

muco coagulam, fica difícil fazer um esfregaço fino.

A opção da coloração por essa técnica foi decorrência de algumas vantagens que ela oferece sobre as demais. O exame e frasco com coloração vital é a técnica de mais simples execução, porém implica a necessidade do exame imediato, e o material não pode ser arquivado. A inclusão do escarro em parafina e coloração pela hematoxilina eosina permite, como a técnica de Leishman, o exame posterior e o arquivamento do material, porém é uma técnica de execução muito mais complexa.

4.1 - Presença de Eosinófilos no Escarro

Verificamos, como se esperava, que dentre os asmáticos se encontra o maior percentual de pacientes com eosinófilos no escarro. Como nem sempre o escarro foi colhido durante a crise asmática, talvez o número de indivíduos com ausência dessas células na expectoração pudesse ser reduzido, se várias colheitas fossem feitas em momentos diferentes de sua evolução clínica. A presença de eosinófilos nas secreções está condicionada a fatores eosinotáticos (40) (66) (67). Pressupõe-se que a maior concentração de eosinófilos na secreção brônquica dos asmáticos ocorra nos períodos de maior agressão imunológica, ou seja, durante as crises, quando a ruptura dos mastócitos proporciona concentrações mais elevadas do ECF-A.

Em situação análoga, a introdução de pólen de gramínea nas fossas nasais de portadores de Febre do Feno provoca o aparecimento de eosinófilos, na secreção nasal, em noventa minutos. As células atingem um número máximo em cerca

de 2 horas e desaparecem gradualmente (14).

A bronquite crônica com broncoespasmo ocupa uma posição intermediária, entre a asma, de um lado, e os demais casos de DPOC e outras pneumopatias de outro. Apesar de neste grupo a incidência de casos com eosinófilos no escarro ser nitidamente mais alta do que nos Grupos III e IV, não chega a atingir aquela encontrada nos asmáticos. Sob o ponto de vista estatístico, a diferença encontrada não distingue esse grupo nem do da asma, nem dos Grupos III e IV. Como veremos adiante, as taxas percentuais de eosinófilos (por exemplo: 1 - 19% versus 80-100%) revelaram-se mais discriminativas nesta diferenciação.

Os pacientes com bronquite crônica, enfise^{ma} e outras pneumopatias apresentaram um considerável número de casos com eosinófilos no escarro, o que foi, de certo modo, surpreendente.

A presença de eosinófilos no escarro tem sido classicamente ligada à alergia. Essas células não foram encontradas no lavado brônquico de indivíduos normais (59). Algumas considerações podem ser elaboradas, numa tentativa de entendimento dos nossos achados.

- Alguns indivíduos apresentam manifestações mais ostensivas de atopia na infância. Na idade adulta, essas manifestações tornam-se muito atenuadas e clinicamente imperceptíveis, mas reveláveis por um teste como a pesquisa de eosinófilos nas secreções.

- Testes alérgicos cutâneos não foram utilizados como critério adicional para exclusão de atopia.

- Eosinofilia tem sido descrita em patologias não relacionadas à reação alérgica do tipo I (classificação de Gell-Coombs). No carcinoma brônquico, por exemplo, a eosinofilia está provavelmente ligada à produção de um fator eosinofilotático, pelo tumor.

Em pacientes com fibrose pulmonar difusa idiopática, foi demonstrada a presença invariável de eosinófilos no lavado brônquico. Esses pacientes não apresentavam eosinofilia sangüínea nem elevação de IgE no sangue ou na secreção brônquica (17).

- Outros fatores eosinofilotáticos, como o ECF-C e o linfocítico dependente poderão ser responsáveis por eosinofilia na secreção brônquica.

Consideramos, pois, razoável supor que nesses nossos pacientes, fatores como os acima mencionados possam ter sido responsáveis pelo achado freqüente de eosinófilos no escarro.

4.2 - Percentual de Eosinófilos no Escarro

Os pacientes com asma e os com bronquite crônica com broncoespasmo manifestaram um comportamento semelhante quanto ao percentual de eosinófilos no escarro. Houve uma distribuição monótona dos casos nas quatro faixas correspondentes de 1 a 79% de eosinófilos para então apresentarem um pico na faixa de 80 a 100%. Os Grupos III e IV revelaram um comportamento semelhante entre si e oposto ao dos Grupos I e II; a maioria dos casos ficou aglutinada na faixa de 1 a 19% de eosinófilos, sendo monótona a distribuição nas demais.

Na tabela de valores relativos (Tabela nº XII), em que se atribui maior valor aos casos incidentes nas faixas percentuais mais elevadas, podem-se observar melhor as semelhanças e dessemelhanças de comportamentos.

Os pacientes com asma e os com bronquite crônica com broncoespasmo apresentaram um desvio para a direita (faixa de valor percentual mais alto). A média de valores relativos foi praticamente igual nesses dois grupos, talvez ressaltando idêntico mecanismo em jogo (eosinofilotaxia acentuada).

Nos Grupos III e IV, de pacientes com bronquite, enfisema e outras pneumopatias, o desvio dos casos foi para a esquerda. Também nesses dois grupos a média dos valores relativos foi, praticamente, a mesma, novamente apontando a semelhança dos mecanismos em jogo (eosinofilotaxia pequena).

Nossos resultados concordam com os obtidos por Williams (71), único trabalho encontrado, com o qual pudemos comparar a distribuição dos casos conforme o percentual eosinófilos/neutrófilos. Num grupo de 58 asmáticos, estudados por ele, 87% apresentaram mais de 10% de eosinófilos no escarro, enquanto em outro de 56 pacientes com bronquite crônica ou enfisema, 84% apresentaram menos de 10% de eosinófilos. Foi feita uma terapêutica de prova com corticoesteróide nesses 56 pacientes, obtendo-se sucesso somente em seis. É importante assinalar que esses seis pacientes eram todos do grupo com mais de 10% de eosinófilos no escarro. O autor considera que esses 6 pacientes apresentavam também asma. Com essa posição, Williams enfatiza, talvez exageradamente, o percentual elevado de

eosinófilos no escarro e a resposta aos corticoesteróides como elementos diagnósticos de asma brônquica. Crofton (15) (16) adota posição bastante semelhante.

A posição tomada por Williams ratifica a de outros investigadores ingleses. Na década de 50, eles chamaram a atenção para o exame citológico diferencial neutrófilos/eosinófilos como elemento de diagnóstico diferencial entre alergia e infecção.

Elmes, Knox e Fletcher (24) estabeleceram uma correlação entre o aspecto purulento do escarro com a abundância de polimorfonucleares no exame microscópico e o crescimento de H Influenzae no exame cultural, em bronquíticos crônicos.

May (48), em 1954, descreve o "pus eosinófilo", em que o aspecto de purulência não é devido à abundância de polimorfonucleares, mas à de eosinófilos. O autor descreve o escarro eosinofilítico como sendo raramente muito purulento ao exame macroscópico. Mais frequentemente se apresenta mucóide, com grânulos de pus eosinofilítico, que conferem o aspecto de mucopurulência.

Helm, May e Livingtone (31), avaliando a utilidade do uso prolongado de tetraciclina em infecções respiratórias crônicas, descrevem os resultados obtidos em um grupo de 13 pacientes com "Asma Infecciosa". Esse tipo de diagnóstico foi feito tendo como base o aspecto purulento do escarro. Em 11 pacientes não houve resposta terapêutica. O exame citológico da expectoração mostrou que a mesma era constituída quase exclusivamente por eosinófilos.

A abundância de eosinófilos no escarro passou a ser considerada, pelos ingleses, como um estigma próprio da asma.

Brown (6) chama a atenção para as dificuldades de diagnóstico diferencial entre bronquite crônica com broncoespasmo e asma. Segundo esse autor, o escarro eosinofílico pode permitir a identificação dos verdadeiros asmáticos. Ele não define, entretanto, o que é o escarro eosinofílico em termos de percentual de células, valorizando apenas o achado de grupos de eosinófilos como indicativos de eosinofilia no escarro. Com base nesse trabalho, somente nos casos com escarro eosinofílico é lícito esperar resposta terapêutica aos corticosteróides. Em um total de 90 casos, 63 com escarro eosinofílico apresentaram alívio completo ou parcial do broncoespasmo, enquanto dos 27 com pouco ou nenhum eosinófilo, apenas 4 tiveram esse tipo de resposta. Interessante a observação do autor de que os corticosteróides não provocam a redução do número de eosinófilos no escarro, como fazem no sangue.

Entretanto, quase simultaneamente com o trabalho de Brown, foi publicada, no "American Review of Respiratory Diseases", uma interpretação diferente para a presença de eosinófilos no escarro. Examinando periodicamente o escarro de 30 pacientes com "enfisema obstrutivo", Cole e colaboradores (14) verificaram que 15 deles apresentavam episódios de eosinofilia no escarro, com uma contagem diferencial de células de até 100%. Esses períodos de eosinofilia no escarro, que apareciam com intervalos de dias ou semanas, não estavam relacionados com piora clínica. Os autores interpretaram esse achado

como fazendo parte do quadro de "enfisema obstrutivo crônico " e não como expressão de alergia. Entretanto, torna-se necessário transcrever as características clínicas dos pacientes estudados: "All began with exertional dyspnea around the fortieth year without nocturnal dyspnea and with gradual progression of the loss of respiratory reserve. In the more advanced stages , attacks of nocturnal dyspnea occurred which were relieved by coughing up plugs of mucus within a period of five to fifteen minutes". Ainda na caracterização da dispneia apresentada por esses pacientes os autores comentam: "the asthmatic attack due to emphysema is of short duration and is relieved promptly by coughing up plugs of mucus. In a typical case cough and expectoration occur when the patient retires for the night". Quer nos parecer que se trata apenas de confusão de terminologia , freqüente no período em que o trabalho foi escrito. Os pacientes classificados como enfisematosos apresentavam, realmente , manifestações definidas de bronquite crônica com episódios de dispnéia. Cabe a interrogação se não se enquadrariam no nosso grupo de pacientes com bronquite crônica com broncoespasmo.

Outros trabalhos de autores americanos procuraram mais recentemente estabelecer critérios diferenciais adicionais entre asma e bronquite. Sanerkin (63) pretendeu identificar características citológicas patognomônicas no escarro do asmático que poderiam permitir a identificação de pacientes com asma dentro de um grupo de bronquíticos crônicos. Abundância de eosinófilos juntamente com espirais de Curschmann ou "Creola bodies" foram considerados achados típicos para o escarro eliminado pouco depois de sua formação; quando o escarro

ficasse retido na árvore respiratória, foram tidos com típicos os aglomerados de restos celulares em arranjo laminar. O autor não define exatamente o que considera abundância de eosinófilos. Por outro lado, as espirais de Curschmann são um achado comum no escarro de fumantes (57), e os agrupamentos celulares denominados por Naylor (51) de "Creole bodies" têm sido descritos em doenças supurativas e são considerados por Prolla (58) como evidência de hiperplasia basal do epitélio respiratório ou hiperplasia do epitélio alveolar, achados comuns em um grande número de patologias.

Mais recentemente, Chodosh (9) descreve as células usualmente encontradas no escarro e, pelas características e predominância relativa das mesmas, faz a distinção diagnóstica entre bronquite crônica, asma e bronquite asmática. O autor, entretanto, não conceitua essa entidade tão discutida que é a bronquite asmática. As diferenças citológicas descritas entre a asma e bronquite foram basicamente estas:

a) na bronquite crônica: células descamadas do epitélio brônquico apresentam-se isoladas, com citoplasma escasso, núcleo picnótico e cílios raramente presentes. Predomínio dos neutrófilos sobre os eosinófilos (75 a 95% em relação a todas as demais células). Pobreza de eosinófilos (menos de 2%).

b) na asma: as células descamadas do epitélio brônquico freqüentemente apresentam-se em aglomerados, com citoplasma edemaciado e com cílios presentes. Predomínio dos eosinófilos sobre as demais células (20 a 90%). Pobreza de neutrófilos (2-30%).

Os achados celulares na "bronquite asmática" são superponíveis aos da bronquite crônica exceto por algumas células com citoplasma edemaciado.

Os nossos resultados concordam com os da literatura, no que diz respeito ao predomínio de casos com eosinófilos no escarro, no grupo de asmáticos, e à aglutinação desses pacientes nas faixas percentuais mais altas da relação neutrófilos/eosinófilos (80-100%). Também o Grupo III, constituído por bronquíticos e enfisematosos, está de acordo com o encontrado por Williams (71): a maioria dos casos que apresentaram eosinófilos no escarro se concentram nas faixas percentuais mais baixas (1-20%), sendo encontrado apenas 3 casos entre 80 a 100%.

Para o Grupo IV não encontramos paralelismo de comparação na literatura.

No Grupo II concentram-se as maiores possibilidades de discussão.

Os bronquíticos crônicos com manifestações clínicas de obstrução das vias aéreas se situam em uma zona intermediária ou de superposição entre a asma e a bronquite.

Obstrução generalizada das vias aéreas faz parte da conceituação de bronquite crônica obstrutiva. Entretanto, o "Medical Research Council" (19), da Inglaterra, que estabeleceu esse conceito não definiu claramente os critérios para o diagnóstico de obstrução. Os testes mais freqüentemente utilizados como a medida do fluxo expiratório forçado no 1º segundo (FV_1) e da relação VF_1/CVF (capacidade vital forçada), estão hoje superados, em acuidade, por métodos mais sofisticada-

dos de medida da resistência das vias aéreas, cujos procedimentos diagnósticos poderão, eventualmente, determinar um aumento no número de pacientes deste grupo (66).

Crofton (15) descreve a sibilância como um sinal clínico freqüente em pacientes com bronquite crônica e dispnéia. Ele acredita que corticoesteróide deva ser tentado nos pacientes com sibilância importante e/ou com eosinófilos no escarro. A posição assumida por esse autor é semelhante à de outros pesquisadores ingleses no sentido de que, se houver resposta aos corticoesteróides, esses pacientes deverão ser rotulados de asmáticos (71).

Bates (4), em seu livro, faz o seguinte comentário: "It has been recognized for several years that some patients with chronic bronchitis may suffer from such a severe degree of bronchospasm, particularly during exacerbations of infection, that they appear clinically similar to those with spasmodic or extrinsic asthma". A esse grupo, que achou importante distinguir da população geral dos bronquíticos, Bates denominou de "Asma Infecciosa Crônica".

Thurlbeck (65) prefere chamar de "Bronquite Crônica com Asma" esse grupo de pacientes com bronquite crônica que apresentam um componente reversível da obstrução das vias aéreas, mas nos quais asma não pode ser clinicamente diagnosticada. Esse grupo representa para o autor uma faixa de superposição entre asma e bronquite, mas ele não considera "bronquite crônica com asma" e "asma intrínseca" como sinônimos.

Os pacientes incluídos no Grupo II, de nosso trabalho, representam, exatamente, essa zona de superposi -

ção entre asma e bronquite. São bronquíticos crônicos com um grau variável de dispnéia e sibilância. Clinicamente eles não preenchem os critérios diagnósticos de asma. Nenhum apresenta crises de broncoespasmo típicas da asma, tampouco é o broncoespasmo o aspecto predominante do quadro.

A citologia diferencial do escarro foi coerente com a situação clínica, assumindo também um comportamento intermediário. Os pacientes que apresentam eosinófilos no escarro aparecem em número maior do que nos outros grupos, exceto na asma. Mas, na análise estatística, a diferença não é significativa nem com asma nem com os outros. Entretanto, a maneira como esses casos se distribuem quanto ao percentual de eosinófilos no escarro é superponível aos asmáticos, aglutinando-se a maioria na faixa de 80-100%. Consideramos este achado muito importante.

Outros métodos diagnósticos, como talvez dosagem de IgE no sangue e secreção brônquica, e/ou histologia da biópsia brônquica serão provavelmente necessários para um diagnóstico mais preciso nesses pacientes.

5 - CONCLUSÕES

A presença de eosinófilos no escarro ocorre com mais freqüência na asma do que em bronquite crônica com broncoespasmo, em doença obstrutiva crônica sem broncoespasmo e em outras pneumopatias. A presença de eosinófilos no escarro não é, portanto, específica de asma brônquica ou de qualquer outra pneumopatia. Ela não serviu de sinal distintivo para os grupos estudados.

Na asma brônquica e na bronquite crônica com broncoespasmo, os eosinófilos ocorrem em percentual mais elevado do que na doença obstrutiva crônica sem broncoespasmo e em outras pneumopatias. Não ficou estabelecido um nível percentual capaz de constituir um critério diagnóstico de certeza. Entretanto, níveis acima de 80% de eosinófilos são fortemente sugestivos de asma brônquica ou outra forma de doença obstrutiva com broncoespasmo.

6 - RESUMO

A predominância de polimorfonucleares neutrófilos no escarro tem sido classicamente relacionada com infecção, assim como a de eosinófilos está ligada à alergia. Abundância de eosinófilos no escarro tem sido adotada como um critério de diagnóstico diferencial entre asma e bronquite crônica, principalmente pelos autores ingleses.

Os progressos obtidos mais recentemente na área da imunologia têm permitido a identificação dos fatores responsáveis pela atração dos eosinófilos aos tecidos e secreções. O ECF-A, liberado pelo mastócito, é atualmente considerado um dos mediadores químicos da anafilaxia. Outros fatores, porém, têm sido identificados como responsáveis pela atração de eosinófilos em situações imunológicas que não as da alergia tipo 1, (da classificação de Gell e Coombs).

No presente trabalho, procedeu-se à contagem diferencial neutrófilos/eosinófilos no escarro de 384 pacientes. O escarro foi colhido espontaneamente e examinado em esfregaço fino, corado pela técnica de Leishman. A vantagem oferecida por este tipo de procedimento sobre os demais é a conjunção de facilidade de execução com possibilidade de arquivamento do material.

De acordo com a patologia apresentada, os pacientes foram distribuídos em quatro grupos: asma brônquica (197 pacientes); bronquite crônica com broncoespasmo (45 pacientes); bronquite crônica e/ou enfisema sem broncoespasmo clinicamente perceptível (73 pacientes); outras pneumopatias (69 pacientes).

Em todos os grupos foram identificados pacientes com eosinófilos na expectoração. A predominância dos casos ocorreu, como se esperava, no grupo de asmáticos ($P < 0,001$). A posição da bronquite crônica com broncoespasmo foi intermediária, assemelhando-se à asma, mas sem apresentar diferença significativa com os demais grupos ($P < 0,001$).

Os quatro grupos foram comparados quanto à distribuição dos casos conforme o percentual de eosinófilos no escarro apresentado. A asma brônquica e a bronquite crônica com broncoespasmo apresentaram um padrão de comportamento semelhante, com aglutinação maior dos casos nas faixas percentuais mais altas (de 80-100%) ($P < 0,001$). Nos Grupos III e IV, os casos se aglutinaram em torno das faixas percentuais mais baixas (de 1-19%), não havendo diferença entre o comportamento destes dois grupos ($P < 0,001$).

7 - BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- 1 - ARCHER, R.K. The Eosinophil leucocytes Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1963.
- 2 - BACHMANN, A.E & MORENO, G.R. Cytologie du Crachat chez les asthmatiques avec infection bronchique. Acta Allergol., 6 :188-96, 1953.
- 3 - BASTEN, A. & BEESON, P.B. Mechanism of eosinophilia. J.Exp. Med., 131:1288-305, 1970.
- 4 - BATES, D.V.; MACKLEM, P.T.; CHRISTIE, R.V. Chronic bronchitis and chronic infective asthma. In: ——. Respiratory function in disease; an introduction to the integrated study of the lung. 2. ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 1971. cap.6, p.133-55.
- 5 - BEST, W.R.; KARK, R.M.; MUCHRCKE, R.C.; SAMTER, M. Clinical value of eosinophil counts and eosinophil response test. JAMA, 151: 702-6, 1953.
- 6 - BROWN, M. Treatment of chronic asthma with prednisolona (significance of eosinophils in the sputum). Lancet, 2 : 1245- 7, 1958.
- 7 - CARABELLI, A.A. Cytologic patterns in bronchopulmonary disease. Am.Rev.Tuberc., 77:22-31, 1958.
- 8 - CARRINGTON, C.B.; ADDINGTON, W.W.; GOFF, A.M.; MADOFF, I.M; MARKS, A.; SCHWABER, J.R.; GAENSLER, E.A. Chronic eosinophilic pneumonia. N.Engl.J.Med., 280:787-98, 1969.
- 9 - CHODOSH, S. Examination of sputum cells. N.Engl.J.Med., 282 :854-7, 1970.

- 10 - CHODOSH, S.; ZACCHEO, C.W.; SEGAL, M.S. The Cytology and histochemistry of sputum cells. Am.Rev.Respir.Dis., 85: 635-48, 1962.
- 11 - CHRONIC obstructive lung disease; A statement of the Committee on Therapy - American Thoracic Society. Am.Rev. Respir.Dis., 92:nº3, sept., 1965.
- 12 - COHEN, S.G. The Eosinophil and eosinophilia. N.Engl.J.Med. 290:457-9, 1974.
- 13 - COHEN, S.G.; SAPP, T.M.; BARRE,W. Phagocytosis of bacteria by eosinophils in infectious related asthma. J.Allergy, 44:113-7, 1969.
- 14 - COLE, M.B.; HAMMEL, J.V.; LAWTON, A.H.; MEINDERSMA, M.S. ; MACINTIRE, S. Longitudinal studies in emphysema; III sputum eosinophilia. Am.Rev.Respir.Dis., 80:915-8, 1959.
- 15 - CROFTON, J. Bronchial asthma. Aula ministrada para o Curso de Mestrado em Pneumologia, UFRGS. Março 1977.
- 16 - CROFTON, J. Comunicação Pessoal, 1977.
- 17 - CRYSTAL, R.G.; FULMER, J.D.; ROBERTS, W.C.; LINE, B.R.; REYNOLDS, H.J. Idiopathic pulmonary fibrosis. Ann. Intern. Med., 85:769-88, 1976.
- 18 - DAVIS, A.L. & McCLEMENT, J.H. Chronic obstructive pulmonary disease: a prospective 15-17 year study. In:JOHNSTON, R.F., ed. Pulmonary care. New York, GRUNE & STRATTON, 1973, cap.20, p.267-82.
- 19 - DEFINITION and classification of chronic bronchitis for clinical and epidemiological purposes. A report to the Medical Research Council by their committee on the aetio-

- logy of chronic bronchitis. Lancet, 1:775-9, 1965.
- 20 - DULFANO, M.J. & RODRIGUES - CORNEJO, A. Sputum in bronchial asthma. In:WEISS, E.B. & SEGAL, M.S., ed. Bronchial asthma; mechanisms and therapeutics. Boston, Little, Brown & Co., 1976, cap. 45, p.663-77.
- 21 - EASTON, J. Effect of cromolyn sodium (Dissodium) cromoglycate on the peripheral eosinophilia of asthmatic children. Ann. Allergy, 31:134-6, 1973.
- 22 - EL-HASHIMI, W. Charcot-Leyden Crystals. Am.J.Path., 65:311-24, 1971.
- 23 - ELMES, P.C.; DUTTON, A.A.C.; FLETCHER, C.M. Sputum examination and the investigation of "chronic bronchitis". Lancet, 1: 1241-4, 1959.
- 24 - ELMES, P.C.; KNOX, K.; FLETCHER, C.M. Sputum in chronic bronchitis, Lancet, 2:903-6, 1953.
- 25 - EPSTEIN, R. Constituents of sputum: a simple method Ann.Intern Med. 77:259-65, 1972.
- 26 - FARBER, S.M.; WOOD, D.A.; PHARR, S.L.; PIERSON, B. Significant cytologic findings in non-malignant pulmonary disease. Dis. Chest., 31:1-13, 1957.
- 27 - FELARCA, A.B. & LOWELL, F.C. The Total eosinophil count in a nonatopic population. J. Allergy 40:16-20, 1967.
- 28 - FLETCHER, C.M., ed. Cyba Guest Symposium Report: Terminology, definitions and classification of chronic pulmonary emphysema and related conditions. Thorax, 14:286-99, 1959.
- 29 - GOUGH, J: Chronic bronchitis and ocupation. Br.Med.J., 1:480 1966.

- 30 - HARDY, W.R.; ANDERSON, R.E. The Hypereosinophilic syndromes. Ann.Intern.Med., 68:1220-9, 1968.
- 31 - HELM, W.H.; MAY, J.R.; LIVINGSTON, J.L. Long term oxytetracycline (Terramycin) therapy in advanced chronic respiratory infections. Lancet, 2:630-3, 1954.
- 32 - HOFFMAN, R.G. Statistics in the practice of medicine. JAMA, 185:864, 1963.
- 33 - HONSINGER, R.W. The Eosinophil in allergy and asthma. In : WEISS, E.B. & SEGAL, M.S. Bronchial asthma: mechanisms and therapeutics. Boston, Little, Brown & Co., 1976. cap. 1976.cap.44, p.649-62.
- 34 - HONSINGER, R.W.; SILVERSTEIN, D.; ARSDEL, P.P.V. The Eosinophil and allergy: why? - J.Allergy Clin. Immunol., 49 : 142-55, 1972.
- 35 - HORN, B.; ROBIN, E.; THEODORE, J.; VAN KESSEL, A. Total eosinophil counts in the management of bronchial asthma N. Engl.J.Med., 292:1152-5, 1975.
- 36 - INGRAM, E. & WARTMAN, W. Chemotropism of human eosinophilic polymorphonuclear leukocytes. Arch.Pathol., 28:318-22, 1939.
- 37 - ISHIKAWA, T.; WICHER, K.; ARBESMAN, C.E. Eosinophilic leukocytes and antigen-antibody complexes. J.Allergy, 47:101, 1971.
- 38 - KALINER, M.; WASSERMAN, S.; AUSTEN, K.F. The Immunologic release of chemical mediators from human nasal polyps. N. Engl. J.Med., 289:277-81, 1973.
- 39 - MAY, A.B.; STECHSCHULTE, D.J.; AUSTEN, K.F. An Eosinophilocyte chemotactic factor of anaphylaxis. J.Exp.Med.,

- 133:602-19, 1971.
- 40 - KAY, A.B.; AUSTEN, K.F. The IgE; Mediated release of an eosinophil leukocyte chemotatic factor from human lung, J. Immunology, 107:899-902, 1971.
- 41 - KELÉNYI, G.; NEMETH, A.; ISTVAN, L.; MOHAY, A. Effect of corticosteroids on eosinophil leukocytes in hypereosinophilic syndromes. Acta Haematol. 49:235-41, 1973.
- 42 - LASTER, C.E.; GLEICH, G.J. Chemotaxis of eosinophils and neutrophils by aggregated immunoglobulins, J.Allergy Clin. Immunol., 48:297-304, 1971.
- 43 - LECKS, H.I.; KRAVIS, L.P. The Allergist and the eosinophil. Pediatr. Clin. North Am, 16:125-40, 1969.
- 44 - LIEBOW, A.L.; CARRINGTON, C.B. The Eosinophilic pneumonias. Medicine, 48:251-85, 1969.
- 45 - LITT, M. Studies in experimental eosinophilia. J.Allergy, 33: 532-43, 1962.
- 46 - LOWELL, F.C. The Total eosinophil count in obstructive pulmonary disease. N. Engl. J.Med., 292:1182-3, 1975.
- 47 - LOWELL, F.C. Clinical aspects of eosinophilia in atopic disease. JAMA:202:109-12, 1967.
- 48 - MAY, J.R. Pathogenic bacteria in chronic bronchitis. Lancet 2:839-42, 1954.
- 49 - MICKENBERG, D.; ROOT, R.K.; WOLF, S.M. Bacterial and metabolic properties of human eosinophils, Blood, 39:69-80, 1972.
- 50 - MURRAY, A.B. Nasal secretion eosinophilia in children with allergic rhinitis. Am Allergy, 28:142-8, 1970.

- 51 - NAYLOR, B. The Shedding of the mucosa of the bronchial tree in asthma. Thorax, 17:69-72, 1962.
- 52 - NAYLOR, B & RAILEY, C. A Pitfall in the cytodiagnosis of sputum of asthmatics. J.Clin.Path., 17:84-9, 1964.
- 53 - OHMAN, J.L.; LAWRENCE, M; LOWELL, F.C. Effect of propanol on the isoproterenol responses of cortisol, isoproterenol, and aminophylline. J.Allergy Clin. Immunol., 50:151-6, 1972.
- 54 - ORANGE, R.P.; MURPHY, R.C.; AUSTEN, K.F. Inactivation of slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) by arylsulfatases, J.Immunol., 113:316-21, 1974.
- 55 - ORR, T.S.C. Mast cell and allergic asthma. Brit.J.Dis.Chest, 67:87-106, 1973.
- 56 - PARISH, W.E. Investigations of eosinophilia. Br.J.Derm., 82:42-64, 1970.
- 57 - PROLLA, J.C. Comunicação Pessoal, 1976.
- 58 - RAWLINS, G.A. Cytological examination of sputum in relation to its macroscopic purulence. J.Clin. Pathol., 8:114-6, 1955.
- 59 - REYNOLDS, H. & NEWBALL, H. Analysis of proteins and respiratory cells obtained from human lungs by bronchial lavage, J.Lab.Clin.Med., 84:559-75, 1974.
- 60 - RIDDLE, J.M. & BARHART, M.I. The Eosinophil as a source for profibrinolysin in acute inflammation. Blood, 25:776-94, 1965.
- 61 - RUIZ MORENO, G.; BACHMANN, A; LUPO, M.R. Estudio de esputos de asmáticos alérgicos en estado de asma. Alergia, 3:70- 2, 1949.

- 62 - SALVATO, G. Some histological changes in chronic bronchitis and asthma. Thorax, 23:168-72, 1968.
- 63 - SANERKIN, N.G. & EVANS, D.M.D. The Sputum in bronchial asthma: pathognomonic patterns, J.Path.Bact., 89:535-41, 1965.
- 64 - SARACLI, T. & SCOTT, R. Comparative study of simultaneous blood and nasal secretion eosinophilia in children with allergic diseases. J.Asthma Res., 4:219-27, 1967.
- 65 - THURLBECK, W.M. Terminology, definitions, and classification. In:———. Chronic airflow obstruction in lung disease. Philadelphia, W.B. Saunders, 1976. cap.2, p.12-30.
- 66 - WARD, P.A. Chemotaxis of human eosinophils. Am.J.Pathol., 54:121-8, 1969.
- 67 - WASSERMAN, S.I.; GOETZL, E.J.; AUSTEN, F.K. Immunologic release of preformed eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis (ECF-A) from isolated mast cells. Fed.Proc., 32:819, 1973.
- 68 - WASSERMAN, S.I.; GOETZL, E.J.; AUSTEN, K.F. Inactivation of human SRS-A by intact human eosinophils and eosinophil arylsulfatase. J.Immunol., 114:645, 1975.
- 69 - WASSERMAN, S.I.; GOETZL, E.J.; ELLMAN, L.; AUSTEN, K.F. Tumor - Associated eosinophilotactic factor. N.Engl.J.Med., 290:420-4, 1974.
- 70 - WESSER, J.K. Beta adrenergic blockade and circulating eosinophils. Arch. Inter.Med., 121:255-8, 1968.
- 71 - WILLIAMS, D.A. Asthma and bronchitis with emphysema. Acta Allergol., 16:400-6, 1961.

72 - WINTHROBE, M.M.; LEE, G.R.; BOGGS, D.R.; BITHELL, T.C. ;
ATHENS, J.W.; SOERSTER, J. Clinical hematology. 7 ed.
Philadelphia, Lea & Febiger, 1975.