

## REVISION DE TEMAS

# Los cristales de Charcot-Leyden

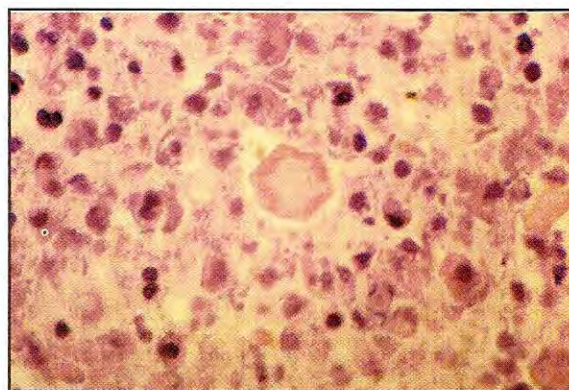
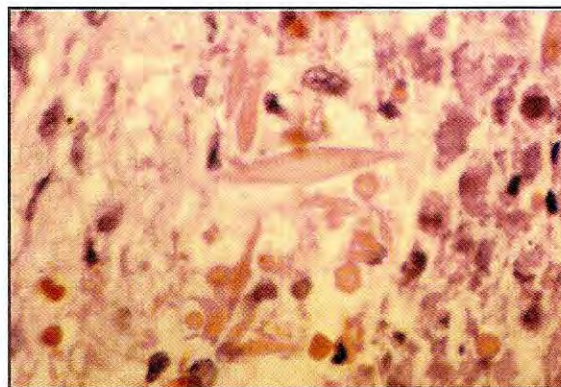
René A. Rodríguez<sup>1</sup>, Ladys Sarmiento<sup>2</sup>, Gerzaín Rodríguez<sup>3</sup>

Los cristales de Charcot-Leyden son estructuras derivadas de los eosinófilos y de los basófilos, de morfología característica: en los frotos o en los cortes histológicos aparecen como cristales hexagonales, bipiramidales, de diversos tamaños, intensamente eosinófilos con la coloración de hematoxilina-eosina, fácilmente identificables con el objetivo 10X (figuras 1 y 2). Son ácido-alcohol resistentes (figura 3), observación que no hemos visto registrada antes. Se encuentran libres en los tejidos, en las heces, en el esputo o en secreciones nasales. Se originan en los gránulos de los eosinófilos y de los basófilos, formándose ocasionalmente en su citoplasma (1). Es posible verlos también dentro de los macrófagos, que no los forman sino que los fagocitan (2).

Fueron descritos por J.M. Charcot y C. Robin en 1853, en París, en el bazo y la sangre de un paciente muerto con leucemia crónica (3). Es probable que este J.M. Charcot sea el famoso patólogo y neurólogo francés, creador de tantos conocimientos neurológicos aún vigentes, quien se graduaba ya de médico en 1853. E. Leyden en Alemania los visualizó en el esputo de un paciente con asma (4), en 1872. A comienzos del siglo XIX se empiezan a denominar como cristales de Charcot-Leyden, desapareciendo injustamente el nombre de Robin.

Su presencia indica un proceso inflamatorio, usualmente alérgico, de hipersensibilidad, en el cual está ocurriendo degranulación de los eosinófilos, de los basófilos o de ambos, con liberación de muchos componentes de estas células, capaces de originar daño tisular.

Conducen a buscar enfermedades que cursen con eosinofilia, como el asma, los pólipos nasales, el parasitismo con presencia de larvas tisulares e intestinales, algunas enfermedades sistémicas del tejido conjuntivo, reacciones a drogas,



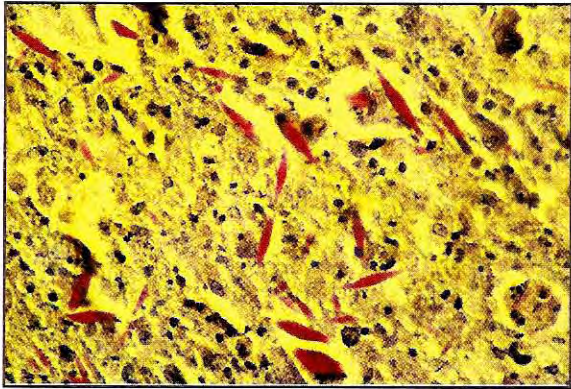
**Figuras 1 y 2.** Cristales de Charcot-Leyden en corte longitudinal y transversal.

<sup>1</sup> Facultad de Medicina, Universidad de Sao Paulo, Sao Paulo, Brasil.

<sup>2</sup> Laboratorio de Microscopía Electrónica, Instituto Nacional de Salud, Santa Fe de Bogotá, Colombia.

<sup>3</sup> Laboratorio de Patología, INS, y Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional, Santa Fe de Bogotá.

Recibido para su publicación: enero 10 de 1998



**Figura 3.** Los cristales de Charcot-Leyden son ácido-alcohol resistentes. Coloración de Ziehl-Neelsen.

diversas enfermedades cutáneas alérgicas o por complejos inmunes y algunos tumores, principalmente linfomas.

No conocemos los factores tisulares locales que favorecen la formación de estos cristales *in vivo*. Es posible ver grandes cantidades de eosinófilos y su degranulación en los tejidos, sin que aparezcan los cristales, por ejemplo, en algunas picaduras de insectos o en la foliculitis pustulosa eosinofílica. Se ha sugerido que la necrosis tisular favorecería su formación (5). *In vitro*, se sabe que el suspender los eosinófilos en solución salina hipotónica (3) o el congelarlos lentamente (6), propician la formación de los cristales.

Los eosinófilos poseen tres tipos de gránulos citoplasmáticos, en los cuales almacenan sus potentes mediadores (6-7) (figura 4):

1. Gránulos primarios, redondos, densos, uniformes, de 0,5 micras de diámetro, llamados así porque aparecen en los promielocitos



**Figura 4.** Eosinófilo con su núcleo bilobulado (N) que da la apariencia de binucleación y con diferentes poblaciones de granulos.

eosinófilos y sólo algunos quedan en la célula diferenciada. De ellos, con mayor probabilidad, se derivan los cristales de Charcot-Leyden, cuya composición química es lisofosfolipasa llamada también fosfolipasa B (8).

2. Gránulos secundarios o específicos, grandes, de 1-2 micras de diámetro, responsables de la eosinofilia, en cuyo centro es bien aparente un cristal denso, formado por la proteína básica mayor, de potente actividad antiparasitaria. En el resto del gránulo se hallan otras proteínas catiónicas como la neurotoxina (EDN), la proteína catiónica (EPC) y la peroxidasa (EPO), todas capaces de generar daño tisular, una vez liberadas. Además de actuar contra las larvas de helmintos, también tienen actividad lítica sobre algunas bacterias, hongos, protozoarios y virus (6-7).

3. Gránulos pequeños, densos, homogéneos, que contienen arilsulfatasa y fosfatasa ácida.

La composición única de los cristales es lisofosfolipasa (8). Esta enzima, purificada por electroforesis a partir de eosinófilos sanguíneos, origina típicos cristales de Charcot-Leyden (8, 9). Los cristales de Charcot-Leyden obtenidos de las heces reaccionan positivamente con un anticuerpo producido contra lisofosfolipasa (8, 9). Un anticuerpo antilisosfolipasa marcado con oro coloidal se une a los cristales de Charcot-Leyden y a los gránulos primarios de los eosinófilos (10). Por inmunomicroscopía electrónica, la lisofosfolipasa se localizó en la eucromatina nuclear y en gránulos que también tenían actividad de peroxidasa, lo cual la integraría también con los gránulos específicos (11).

La lisofosfolipasa consta de unos 142 aminoácidos y tiene un PM de 17 KDa; representa el 10% de las proteínas totales de los eosinófilos humanos (6, 10, 12). Se ha aislado y secuenciado un ADN complementario que tiene 598 pares de bases las cuales codifican una proteína con 30% de homología con lectinas de tipo S humanas y de animales, que ligan algunos carbohidratos y sobre todo la IgE (13).

Se puede especular que la lisofosfolipasa, al ligar la IgE, contribuye a disminuir la degranulación

de los mastocitos y disminuye o modula aún más la respuesta de hipersensibilidad inmediata y las reacciones alérgicas.

Con métodos de alta resolución, como la cristalografía de rayos X, se demostró que la proteína de los cristales tiene una estructura similar a aquella de las galectinas, familia de proteínas que liga carbohidratos y que tienen funciones en la comunicación intercelular, en la unión célula- matriz conjuntiva y en la modulación de la respuesta inmune (14, 15).

La lisofosfolipasa es una enzima que remueve un ácido graso de los lisofosfolípidos (6, 10, 13). Estos, a su vez, son producidos a partir de fosfolípidos por acción de la fosfolipasa A2 y se considera que tiene acciones citotóxicas y citolíticas (10, 13) degranulando otras células como los mastocitos o alterando las membranas de varios tipos celulares. La lisofosfolipasa al bloquear estos lípidos, ejercería una acción moduladora de la inflamación alérgica aguda, una de las funciones clásicas atribuidas a los eosinófilos (6, 7, 9).

Se ha sugerido también que la lisofosfolipasa es capaz de degradar en el pulmón la lisofosfatidilcolina, uno de los lípidos componentes del surfactante pulmonar, con lo cual disminuye la tensión superficial alveolar e induciría atelectasia (6, 10).

En conclusión, los cristales de Charcot-Leyden representan acúmulos de lisofosfolipasa, una enzima de la familia de las galectinas, capaz de unirse a carbohidratos y a la IgE, de neutralizar lípidos tóxicos y de modular la respuesta inflamatoria alérgica aguda. La enzima también puede alterar el surfactante pulmonar lo cual conduce a atelectasia, situación posible en el asma bronquial. Los cristales se acumulan en los sitios de degranulación de eosinófilos y basófilos, que son las células que contienen la enzima, dentro de sus gránulos. Indican indirectamente la presencia de inflamación aguda alérgica, potencialmente nociva para los tejidos del huésped, pues la degranulación de los eosinófilos libera muchas enzimas, varias de ellas proteínas catiónicas, con capacidad de lesionar las propias células del huésped.

## Referencias

1. **Archer GT, Blackwood A.** Formation of Charcot-Leyden crystals in human eosinophils and basophils and study of the composition of isolated crystals. *J Exp Med* 1965;122:173-80.
2. **Carson HJ, Buschmann RJ, Weizz-Carrington P, Choi YS.** Identification of Charcot-Leyden crystals by electron microscopy. *J Ultrastruct Pathol* 1992;16(4):403-11.
3. **Charcot JM, Robin C.** Observations de leucocythemie. *CR Mem Soc Biol (Paris)* 1853;5: 44-50.
4. **Leyden E.** Zur Kenntnis des Bronchialasthma. *Arch Pathol Anat* 1872;54:324-52.
5. **Arora VK, Singh N, Bhatia A.** Charcot-Leyden crystals in fine needle aspiration cytology. *Acta Cytol* 1997;41:409-12.
6. **Gleich GJ, Adolphson CR, Leiferman KM.** The biology of the eosinophilic leucocyte. *Ann Rev Med* 1993;44:85-101.
7. **Weller PF.** Eosinophils: structure and functions. *Curr Op Inmmunol* 1994;6:85-90.
8. **Weller PF, Bach D, Austen KF.** Human eosinophil lysophospholipase: the sole protein component of Charcot-Leyden cystals. *J Immunol* 1982;128:1346.
9. **Gleich GJ, Loegering DA.** Immunobiology of eosinophils. *Ann Rev Immunol* 1984;2:429-59.
10. **Duorak A, Letorneau L, Lorgir GR, et al.** Ultraestructural localization of the Charcot-Leyden crystal protein (lysophospholipase) to a distinct crystalloid-free granule population in mature eosinophils. *Blood* 1988;72:150-8.
11. **Calafat J, Janssen H, Knol EF, et al.** Ultraestructural localization of Charcot-Leyden crystal protein in human eosinophils and basophils. *Eur J Haematol* 1997;58:56-66.
12. **Spry CF, Kay B, Gleich GJ.** Eosinophils 1992. *Immunol Today* 1992;13:384-7.
13. **Ackerman SJ, Corrette SE, Rosenberg HF, et al.** Molecular cloning and characterization of human eosinophil Charcot-Leyden crystal protein (lysophospholipase). Similarity to IgE binding proteins and the S-type animal lectin superfamily. *J Immunol* 1993;150:456-68.
14. **Dyer KD, Rosenberg HF.** Eosinophil Charcot-Leyden crystal protein binds to beta-galactoside sugars. *Life Sci* 1996;58:2073-82.
15. **Leonidas DD, Elbert BL, Zhou Z, et al.** Crystal structure of human Charcot-Leyden crystal protein, an eosinophil lysophospholipase, identifies it as a new member of the carbohydrate-binding family of galectins. *Structure* 1995;3:1379-93.