

měření provádí jen výjimečně. V současné době proto za tímto účelem používáme trojici validovaných a standardizovaných biomarkerů – absolutní počet eozinofilů v periferní krvi (AEC), frakci oxidu dusnatého ve vydechaném dechu (FeNO) a produkci imunoglobulin E (IgE) spolu s alergologickým vyšetřením (21, 22). Vzájemný vztah mezi uvedenými biomarkery je však stále předmětem diskuzí, nicméně jistě není lineární, a to ani mezi krevními a tkáňovými eozinofily.

Patrně největší množství informací a dat o vyšetření krevních a tkáňových eozinofilů bylo získáno díky biomarkerovým studiím a studiím účinnosti biologické terapie zaměřené proti IL-5. První randomizovaná kontrolovaná studie (fáze IIa) hodnotila účinek monoklonální protilátky anti-IL-5 (SB-240563) na stav dýchacích cest po expozici inhalačním alergenem u neselektovaných pacientů s mírným astmatem v roce 2000. Výsledkem sice bylo významné snížení eozinofilů v periferní krvi po dobu 16 týdnů a v indukovaném sputu čtyři týdny po infuzi, nicméně bez vlivu na klinické výsledky – pozdní alergickou reakci nebo hyperreaktivitu vyvolanou histaminem (23). Zklamání z neúspěchu antieozinofilní terapie u astmatu vedlo dokonce k pochybnostem o kauzalitě vztahu mezi eozinofily a bronchiálním astmatem. Jak se však později ukázalo, zásadním důvodem selhání byla velká biologická variabilita onemocnění, která snížila statistickou sílu pro průkaz klinického efektu léčby. Bylo proto do budoucna nutné lépe specifikovat cílovou skupinu astmatiků, kteří by mohli mít z terapie prospěch. V té době (v roce 2008) přišel Haldar se svou první shlukovou analýzou, která do jisté míry prokázala možnou nezávislost klinických projevů na intenzitě zánětu, a tím i existenci diskordantních forem onemocnění (symptomy bez zánětu nebo naopak zánět bez příznaků) (24). Pokud studijní skupiny aplikovaly léčbu nově pouze u astmatiků s převažujícím eozinofilním zánětem definovaným eozinofilii sputa navzdory systémové léčbě kortikosteroidy, bylo dosaženo statisticky, ale zejména i klinicky významného účinku (25–27). Zpočátku byli tito pacienti charakterizováni zvýšenými eozinofily v indukovaném sputu ($\geq 3\%$). Později (pro umožnění rutinního hodnocení) byly definovány zvýšením počtu eozinofilů v periferní krvi (≥ 150 buněk/ μl v době screeningu nebo $\geq 300/\mu\text{l}$ alespoň jednou za poslední rok) (28). Hlavním přínosem uvedených studií byl tedy jednak definitivní důkaz účinnosti antieozinofilní anti-IL-5 léčby, ale stejně tak i logické zařazení identifikace imunologického fenotypu astmatu do rutinních diagnosticko-terapeutických algoritmů.

V dalších fázích klinického testování léčby zaměřené proti IL-5 byly prahové hodnoty absolutního počtu periferních eozinofilů identifikující vhodné nemocné nejčastěji stanoveny v rozmezí 150–400 buněk/ μl . Obecně se však ukázalo, že čím vyšší je počet eozinofilů v periferní krvi, tím větší je pravděpodobnost jejich přítomnosti ve tkáních, včetně indukovaného sputa (pravděpodobně existuje určitá „spouštěcí hladina“ eozinofilů v periferní krvi, která umožní jejich vstup do tkání), a tím větší je i předpokládaný efekt antieozinofilní léčby (29).

Diskuze o vztahu vyšetření periferních eozinofilů k eozinofilii v dýchacích cestách a jeho přínosu k identifikaci zánětlivého endotypu, rizika zhoršení nebo exacerbace astmatu a hodnocení jeho odezvy na terapii (biologickou nebo konvenční protizánětlivou) nadále přetrvává. Manali Mukherjee a Parameswaran Nair zdůraznili mnoho problémů:

1. eozinofily v indukovaném sputu mohou předpovídat ztrátu kontroly astmatu s vyšší citlivostí ve srovnání s jejich počtem v periferní krvi,
2. korelace mezi eozinofily v periferní krvi a indukovaným sputem se s rostoucí tíží astmatu snižuje,
3. eozinofily v periferní krvi nemusí nutně odrážet fenomén lokální eozinofiloózy v periferní tkáni,
4. zvýšení počtu eozinofilů v periferní krvi bylo prokázáno např. v souvislosti s terapií lebrikizumabem (anti-IL-13) nebo dupilumabem (anti-IL-4R α) bez vazby na ztrátu kontroly astmatu,
5. spíše než samotný jejich počet je třeba brát v úvahu funkční stav, aktivaci a degranulaci (30).

Pochybnosti ohledně spolehlivé implementace vyšetření eozinofilie periferní krve do běžné klinické praxe přizívají i další důležité otázky. Mezi ně patří mimo jiné:

6. nejistota týkající se asociace klinických výsledků léčby s hodnotami periferní eozinofilie,
7. jaká (pokud existuje) je skutečně spolehlivá prahová hodnota eozinofilie periferní krve pro predikci klinického průběhu onemocnění a jeho odpovědi na cílenou terapii zaměřenou proti IL-5(R),
8. kolikrát by vzhledem k jeho variabilitě měla být eozinofilie prokázána a nakonec,
9. lze sledováním počtu eozinofilů v periferní krvi sledovat účinnost léčby, zejména u pacientů s těžkou formou onemocnění, u kterých je nízký stupeň korelace s eozinofily v indukovaném sputu nejvíce patrný (29)?

Shrňme, že vyšetření eozinofilů v periferní krvi je nezbytné (i když v některých ohledech stále diskutabilní a problematické) vyšetření při kontrolách pacientů s bronchiálním astmatem. Nepochybně poskytuje informace o zánětlivém endotypu nemoci, přispívá k lepšímu odhadu prognózy a pravděpodobnosti efektu protizánětlivé léčby (steroidy nebo biologiky především zaměřenými proti eozinofilům), nicméně musí být vždy interpretována opatrně a v širokém klinickém kontextu choroby a již probíhající terapie (31).

Tkáňové eozinofily a nové pohledy na jejich plasticitu a funkci

Eozinofily jsou mimořádně dynamickou a nehomogenní buněčnou populací, a to jak na úrovni progenitorů (především v kostní dřeni, ale i v periferních tkáních, včetně plic v průběhu tzv. eozinofiloózy *in situ*), tak ve stadiu plně vyzrálých a imunokompetentních buněk. Historicky byly popisovány dva typy eozinofilů s odlišnou specifickou hmotností: jednak eozinofily s normální hustotou (normodenzní, specifická hmotnost $\geq 1,085$ g/l), a ty s nižší hustotou (hypodenzní, specifická hmotnost $< 1,085$ g/l), přičemž hypodenzní představují aktivovaný fenotyp (32). Autoři Prin a kol. byli první, kteří zaznamenali, že vyšší cytotoxické schopnosti eozinofilů byly pozorovány u hypodenzních eozinofilů a byly spojeny s vyšší úrovní vakuolizace (33). Další výzkum odhalil, že zvýšený počet hypodenzních eozinofilů v periferní krvi souvisí např. i s klinickou závažností astmatu a hyperreaktivitou dýchacích cest (34). Tyto buňky