

byly rovněž pozorovány v tekutině z bronchoalveolární laváže (BALF) po expozici antigenu (32).

Později Abdala-Valenciová a spol. analyzovali plasticitu fenotypu myších eozinofilů v natrávené plicní tkáni a BALF pomocí průtokové cytometrie 6 hodin po stimulaci ovalbuminem. Postupný průnik eozinofilů z plicního intersticia do dýchacích cest byl spojen s transformací fenotypu Siglec-F<sup>med</sup>CD11c na fenotyp Siglec-F<sup>high</sup>CD11c<sup>low</sup>. Navíc s konkrétními imunofenotypy souvisely i specifické morfologické rozdíly (Siglec-F<sup>med</sup>CD11c- eozinofily měly jádro prstencového tvaru, a představovaly možný analog k normodenzním eozinofilům, zatímco Siglec-F<sup>high</sup>CD11c<sup>low</sup> buňky měly jádra segmentovaná, známky vyšší vakuolizace a nižší denzitu). Autoři pozorovali, že vznik fenotypu Siglec-F<sup>high</sup>CD11c<sup>low</sup> (hypodenzní eozinofily) je spojen s migrací do slizničního kompartmentu (35). Jiní popsali podobné subpopulace eozinofilů i v myších plicích stimulovaných alergenem. Tento koncept byl následně rozšířen na tkáňovou klasifikaci myších eozinofilů rozlišující mezi:

1. progenitory eozinofilů (nezralé eozinofily rekrutované jako prekurzory nebo procházející hematopoézou in situ),
2. eozinofily v ustáleném stavu (klidové eozinofily),
3. eozinofily typu 1 (obsahující kruhové jádro, mající normální denzitu a fenotyp Siglec-F<sup>med</sup>CD11c) a,
4. eozinofily typu 2 (nesoucí imunofenotyp Siglec-F<sup>high</sup>CD11c<sup>low</sup> se segmentovaným jádrem, vakuolizací a nízkou denzitou).

Eozinofily typu 1 jsou intersticiální / stromální eozinofily sehrávající pravděpodobně důležitou úlohu v průběhu imunitní aktivace typu 1 (T2- low) na rozdíl od eozinofilů typu 2 asociovaných dominantně s epitelem a imunitní reaktivitou typu 2 (8).

V souladu s dichotomickým modelem eozinofilů typu 1 a 2 Mesnilová a kol. v roce 2016 objevili fenotypově odlišné podtypy eozinofilů v myších plicích jak v klidovém stavu, tak po iniciaci alergického zánětu roztočí domácího prachu. Tyto buňky byly následně označeny jako rezidentní eozinofily – rEos (Siglec-F<sup>med</sup>CD62L<sup>+</sup>CD101<sup>low</sup>, na IL-5 nezávislé parenchymální buňky s kruhovitým jádrem) a zánětlivé eozinofily – iEos (Siglec-F<sup>high</sup>CD62L<sup>+</sup>CD101<sup>high</sup>, peribronchiální buňky závislé na IL-5 se segmentovaným jádrem). Studie dále prokázala, že rEos aktivují geny zapojené v negativní regulaci imunitní odpovědi a potlačují zánět typu 2. Autoři navíc popsali dvě analogické fenotypově odlišné skupiny eozinofilů i v lidských plicích zdravých dárců – CD62L<sup>+</sup>IL-3R<sup>low</sup> a ve sputu pacientů s astmatem CD62L<sup>low</sup>IL-3R<sup>high</sup> (5). Replikace protokolu imunofenotypizace odhalila přítomnost těchto buněk i v nosních polypech pacientů trpících CRSwNP (36). Publikované nálezy tedy naznačují, že jsou klasifikace založené na morfologických změnách, denzitě nebo imunofenotypu téměř identické a extrapolovatelné z myších modelů i na lidské jedince (37).

Z předchozích nálezů dále vyplývá, že jak již samotný přestup eozinofilů z krevního řečiště do tkání, tak následná interakce s buňkami intersticia jsou neodmyslitelně spojeny s jejich významnou morfologickou a funkční transformací, která je příkladem intratkáňové buněčné diferenciaci a mobility. Tyto imunofenotypové změny navíc korelují se závažností onemocnění (37) a odrážejí aktivaci tkáňových eozinofilů. Pro tento účel můžeme analyzovat i mnoho dalších povrchových mar-

kerů, s pozitivní (např. CD11b, CD11c, CD13, CD18, CD25, CD69, CD123 (IL-3Ra), HLA-DR nebo TSLPR) nebo negativní (např. CR3, IL-5Ra, a CD62L (L-selektin)) korelací se stavem aktivace (36, 37).

Značné úsilí bylo věnováno odhalení hlavních rolí různých eozinofilních subpopulací (zejména rEos a iEos) ve zdraví i nemoci (9). Za fyziologických okolností rEos pravděpodobně významně přispívají k regeneraci tkání (38) a mají potenciál inhibovat zánět typu 2 v plicích (5). Naopak iEos buňky vládou potenciálně významně destruktivní silou iniciující možnou tkáňovou patologii (1, 7, 9). Navíc v souladu s tkáňovou kinetikou naivních a aktivovaných eozinofilů jsou rEos lokalizovány hlavně v plicním parenchymu, na rozdíl od iEos, které sídlí primárně ve sliznici dýchacích cest a unikají do sputa (2, 5). Rozsáhlá analýza eozinofilů v dýchacích cestách tento názor podpořila a zároveň prokázala, že intraepiteliální eozinofily jsou spojeny s endogenní hyperreaktivitou dýchacích cest (AHR) a zánětem typu 2 a mohou interagovat s intraepiteliálními mastocyty prostřednictvím cysteinylových leukotrienů (CysLT) k regulaci zánětu dýchacích cest (39). Funkční subtypy eozinofilů jsou schematicky znázorněny na obr. 2.

Je stále předmětem diskuze, zda je tato fundamentální funkční diferenciaci eozinofilů iniciována již v kostní dřeni, v periferní krvi, nebo až po vstupu do tkání. Jinými slovy, zda jsou tyto procesy odrazem „endotypizace“ eozinofilů již během jejich vývoje v kostní dřeni, nebo následkem tkáňově indukované „plasticity“, čili lokální transformace eozinofilů prostřednictvím interakce s tkáňovým mikroprostředím (2). První studie z 80. let minulého století prokázaly přítomnost hypodenzních eozinofilů u astmatických pacientů v oběhu (40), a tyto buňky byly od počátku interpretovány jako aktivované eozinofily. Vykazují zvýšené přežívání, adhezi, metabolismus kyslíku, produkci superoxidu a cytotoxicitu závislou na protilátkách ve srovnání s eozinofily normodenzními (41). Pozdější imunofenotypizační studie potvrdily přítomnost různých podskupin eozinofilů (rEos a iEos) v periferní krvi i tkáních (5, 42). Stále však není jasné, zda hlavní zdroj signálů ovlivňujících funkční transformaci pochází dominantně z kostní dřene nebo z periferních tkání, či zda je pod vlivem léčby (2). Van Hulst a kol. porovnávali profily genové exprese eozinofilů v krevním oběhu u zdravých kontrol a pacientů s alergickým nebo těžkým eozinofilním astmatem (T2-high zánětlivý endotyp) léčených buď mepolizumabem (anti-IL-5), nebo omalizumabem (anti-IgE). Zjistili, že prakticky žádný rozdíl v programu genové aktivity rezidentních eozinofilů u pacientů léčených mepolizumabem ve srovnání s eozinofily zdravých kontrol a pacientů léčených omalizumabem není patrný. Tyto výsledky podporují myšlenku, že biologika namířená proti IL-5 do tohoto procesu pravděpodobně významněji nezasahují (43). Nadcházející studie by proto měly porovnat heterogenitu krevních (a dřeňových) eozinofilů pacientů s astmatem (nebo jinými eozinofilními poruchami) s různými zánětlivými fenotypy (2) a dále, zda identifikace jejich fenotypu dokáže přispět ke zpřesnění indikace cílené biologické léčby namířené buď proti cirkulujícímu IL-5 (mepolizumab, reslizumab), nebo proti receptoru (IL-5Ra – benralizumab) (44–46). Konečně, vzájemný vztah mezi zrajícími tkáňovými eozinofily a specifickým tkáňovým mikroprostředím může být bilaterální. Nejen eozinofily, ale i plně diferencované epiteliální buňky mohou podléhat určité reverzibilní fenotypové transformaci za