

Ewa CZARNOBILSKA
Piotr OLEJARZ
Krystyna OBTUŁOWICZ

Rola eozynofila w chorobach alergicznych i niealergicznych

Zakład Alergologii Klinicznej
i Środowiskowej CMUJ,
Kierownik:
Prof. dr hab. med.
Krystyna Obtulowicz

Słowa kluczowe:

- eozynofil
- zapalenie
- cząstki adhezyjne
- apoptoza
- cytokiny

Key words:

- eosinophil
- inflammation
- adhesive molecules
- apoptosis
- cytokines

Eozynofil jest komórką, która pełni kluczową rolę w różnych procesach patologicznych i fizjologicznych. Najbardziej typowymi schorzeniami, w jakich bierze udział są choroby atopowe, pasożytnicze, oraz zespoły hypereozynofilowe (HES). Eozynofilia, czyli podwyższenie liczby eozynofiliów we krwi obwodowej powyżej 500 w 1/μl, lub powyżej 5% w rozmazie leukocytów występuje zarówno w chorobach alergicznych jak i infekcyjnych, nowotworowych, autoimmunologicznych, odczynach polekowych i innych. Wyróżnia się dwa główne mechanizmy prowadzące do eozynofilii: pierwszy-mediowany cytokinami wzrost różnicowania i przeżywalności eozynofiliów (extrinsic eosinophilic disorders) w tym szlak Th2 związany z cytokinami IL-5, IL-4 i IL-13, szlak Th1 związany z cytokinami IFN-γ, IL-12, GM-CSF, szlak wewnętrzny związany z cytokinami IL-1, TNF, GM-CSF i drugi, to mediowana mutacją ekspansja klonalna eozynofiliów (intrinsic eosinophilic disorders). Poznanie odmiennych patomechanizmów aktywacji eozynofiliów może być pomocne w terapii i diagnostyce różnicowej chorób z eozynofilią. Nowe kierunki badań wskazują, że zastosowanie przeciwciał monoklonalnych (mepolizumab, omalizumab) oraz inhibitora kinazy tyrozynowej (imatinib), może mieć duże znaczenie w leczeniu eozynofilii i eozynofilowego zapalenia.

The role of eosinophils in allergic and non-allergic inflammation

Eosinophil is the cell which plays a crucial role in different pathological and physiological events. The atopic and parasitic disorders, as well as hypereosinophilic syndrome (HES) are the most typical processes in which they take part. Eosinophilia, that is the rise of number of eosinophiles in peripheral blood above 500 in 1 μl, or above 5% in smear of leucocytes can exist both in allergic and infectious diseases. It can exist as well as in neoplastic and autoimmunological disorders, and in reactions to drugs. There are two major pathways that mediate eosinophilia: 1-cytokine-mediated increased differentiation and survival of eosinophils (extrinsic eosinophilic disorders) including Th2 route connected with cytokines IL-5, IL-4 and IL-13, Th1 route connected with cytokines IFN-γ, IL-12, GM-CSF, internal route connected with cytokines IL-1, TNF, GM-CSF. 2-mutation-mediated clonal expansion of eosinophil (intrinsic eosinophilic disorders). The experience of different pathways that mediate eosinophilia may be helpful in the treatment and differential diagnosis. According to new research, monoclonal antibody therapy (mepolizumab, omalizumab) and tyrosine kinase inhibitor therapy (imatinib) can play an important role in treatment of eosinophilia and eosinophilic disorders.

Wstęp

Eozynofile, czyli granulocyty kwasochłonne występują u człowieka zarówno we krwi obwodowej, jak i w tkankach. Liczba eozynofiliów krążących we krwi jest kilkanaście razy niższa od liczby eozynofiliów tkankowych [1,2]. Poziom eozynofilii u człowieka zmienia się z wiekiem, porą dnia oraz zależy od czynników środowiska zewnętrznego, zwłaszcza ekspozycji na alergeny. Dobowe wahania poziomu eozynofilii (niższy rano, wyższy wieczorem) mają związek z dobowym wahaniami poziomu kortyzolu (wyższy rano) [3].

Na powierzchni eozynofiliów wykryto ekspresję wielu cząstek. Zalicza się do nich receptory dla cytokin (IL-3R, IL-5R, GM-CSFR), receptory dla chemokin (CCR1, CCR3), receptory dla składowych dopełniacza (C3aR, C5aR, CD35-ligand dla składowych C3b i C4b), dla IgE (FcεRI receptor wysokim powinowactwie, FcεRII receptor o niskim powinowactwie), dla prostaglandyny PGD2 (DP, CRTH2) i wiele innych [4,7]. PGD2, która jest głównym produktem mastocytów, działając poprzez te receptory zwiększa uwalnianie eozynofiliów ze szpiku oraz pobudza chemotaksję. Wykorzystanie antagonistów receptorów DP i CRTH2 może być pomocne w leczeniu schorzeń przebiegających z eozynofilią [5].

Wyróżnia się dwa stany aktywacji eozynofiliów: aktywowane EG1 tj., EG2-pozytywne (lekkie, hipodensyjne) oraz spoczynkowe EG1-pozytywne (typowe, normodensyjne). Pobudzone granulocyty kwasochłonne mają mniejszą gęstość, mniej ziaren w cytoplazmie oraz wyższą aktywność receptorów takich jak: CR1,

Adres do korespondencji:

Dr n. med. Ewa Czarnobilska

Zakład Alergologii Klinicznej i Środowiskowej CMUJ

31-531 Kraków, ul. Śniadeckich 10

Tel. (12) 424 88 90

e-mail: mfczarno@cyf-kr.edu.pl

CR3 (receptory dla składowych dopełniacza), FcεRII (receptor o niskim powinowactwie dla IgE). Eozynofile lekkie przeważają u pacjentów z chorobami alergicznymi [4,6]. Istotnym markerem aktywności granulocytów kwasochłonnych jest również CD69, którego ekspresja wzrasta na eozynofilach uczestniczących w procesach alergicznych.

Aktywne eozynofile ulegają degranulacji. Z przeprowadzonych badań doświadczalnych wynika, że degranulacja eozynofilów zachodzi trzema drogami. Pierwszy mechanizm, to uwalnianie nekrotyczne, czyli uwalnianie całej zawartości ziaren przez uszkodzoną błonę komórkową. Drugi sposób to częściowa degranulacja, której towarzyszy niewielkiego stopnia uszkodzenie komórki. Trzecia droga, to złożona egzocytoza, podczas której ziarnistości zlewają się ze sobą, a następnie zostają uwolnione do środowiska poprzez wiele małych otworów w błonie komórkowej. Z badań *Erjefält* i wsp. wynika, że częściowa degranulacja jest podstawowym sposobem uwalniania zawartości ziaren eozynofilów u osób z chorobami alergicznymi [8].

W procesach alergicznych eozynofil pełni funkcję nie tylko komórki efektorowej, ale także regulatorowej [9].

W warunkach fizjologicznych eozynofil jest komórką obronną organizmu. Aktywowany eozynofil uwalnia między innymi: główne białko zasadowe (MBP – *Major Basic Protein*), eozynofilowe białko kationowe (ECP – *Eosinophil Cationic Protein*), neurotoksynę eozynofilową (EDN/EPX – *Eosinophil Derived Neurotoxin*), peroksydazę eozynofilową (EPO – *Eosinophil Peroxidase*). Te białka biorą udział w niszczeniu pasożytów, bakterii, wirusów, komórek nowotworowych. Będąc bogatym źródłem czynników pobudzających fibrogenezę, szczególnie TGF, bierze udział w procesach naprawczych, jak gojenie ran. Eozynofil ma właściwości immunomodulujące. Wynikają one z produkcji cytokin o profilu Th1 (IL-12, INF-gamma), Th2 (IL-4, IL-5, IL-13), a także limfocytów T-regulatorowych (IL-10, TGF-beta), przez co utrzymuje równowagę pomiędzy aktywnością poszczególnych subpopulacji limfocytów. Ponadto bierze udział w inaktywacji mediatorów mastocyta, a poprzez PGE2, hamuje degranulację tej komórki.

W warunkach ptologicznych nadmiernie zaktywowany eozynofil niszczy komórki organizmu oraz powoduje włóknienie i przebudowę substancji międzykomórkowej. Procesy te prowadzą do nieodwracalnego uszkodzenia struktury i funkcji narządów, np. zjawiska remodelingu zachodzącego w obrębie oskrzeli u chorych na astmę oskrzelową [10]. Poprzez zaburzenia funkcji immunomodulacyjnych może przyczyniać się do powstawania chorób z autoagresji.

Budowa eozynofila

Eozynofil ma dwupłatowe jądro oraz 100-200 ziarnistości w cytoplazmie:

- 1) ziarnistości duże, specyficzne (wtórne) – w ich rdzeniu znajduje się MBP, w macierzy: ECP, EDN, EPO;
- 2) ziarnistości małe – zawierają kwasną fosfatę, arylosulfatę oraz enzymy – prekursorzy syntezy mediatorów;
- 3) specyficzne mikroziarnistości (pierwotne) – zawierają lizofosfolipazę – główny składnik kryształów *Charcot-Leydena* [11].

Białka swoiste dla eozynofilów wykorzystuje się jako markery ich aktywności. Dotyczy to zwłaszcza poziomu ECP w surowicy, a obliczenie wskaźnika ECP/Eo (Eo – poziom eozynofilii w surowicy) jest wykładnikiem aktywności pojedynczego eozynofila [12].

Cykl życiowy eozynofila i jego mechanizmy aktywacji

Eozynofile różnicują się z hematopoetycznej komórki pnia w szpiku kostnym głównie pod wpływem GM-CSF, IL-3 i IL-5 i tu pozostają 4-5 dni. Po wydostaniu się ze szpiku kostnego spędzają we krwi obwodowej dość krótki czas, albowiem ich okres półtrwania (T1/2) wynosi jedną dobę. Po upływie tego czasu eozynofile mogą zostać aktywowane i przejść do tkanek, aby pełnić swoją immunologiczną funkcję. Z krwi wychwytywane są dzięki ekspresji cząstki adhezyjnej na komórkach naczyń krwionośnych VCAM-1, która łączy się z cząstką adhezyjną obecną m.in. na eozynofilach VLA-4, co warunkuje wybiórczy napływ głównie eozynofilów do narządu objętego procesem chorobowym (tabela II) [13,14]. Ekspresja cząstek adhezyjnych jest regulowana przez wiele czynników. Badania *Wong* i wsp. wykazały, że leptyna zwiększa ekspresję cząstek ICAM-1 i CD18, kluczowych dla transmisji eozynofilów do miejsc, w których toczą się procesy zapal-

Tabela I
Schorzenia z eozynofilią.
Disorders with eosinophilia.

- choroby alergiczne
- zakażenia pasożytnicze (schistosomatoza, węgoreczka, toksokaroza, trychinoza, filarioza, bąblowica, wagrzyca, inf. tęgoryjcem dwunastnicy)
- polekowa (jodki, aspiryna, sulfonamidy, nitrofurantoina, ampiciliny, cefalosporyny)
- niedobory immunologiczne (zespół Joba, przewlekła choroba ziarniniakowa)
- kolagenozy (RZS, guzkowe zapalenie naczyń, eozynofilowe zapalenie powięzi)
- nowotwory złośliwe (choroba Hodgkiniana, przewlekła białaczka szpikowa, rak płuc, żołądka, trzustki, jajników i macicy)
- zespoły hipereozynofilowe (z. Loefflera, zapalenie wsierdzia Loefflera, białaczka eozynofilowa, z. idiopatycznej eozynofilii – 50000-100000/ μl)

Tabela II
Wpływ cytokin na ekspresję cząstek adhezyjnych śródbłonka naczyń.
Influence of cytokines on expression of endothelium adhesive molecules

Cząstki adhezyjne śródbłonka naczyń	Czynniki aktywujące	Komórki ulegające adhezji
Selektyna P	histamina, trombina	neutrofile, eozynofile
Selektyna E	IL-1, TNF	leukocyty
ICAM-1	IL-1, TNF, IFN-γ	leukocyty (LFA-1,2)
VCAM-1	IL-4,5,13, IL-1, TNF, IFN-γ	limfocyty, eozynofile mastocyty (VLA-4)

Tabela III
Substancje wytwarzane przez eozynofile.
Substances produced by eosinophiles.

Białka zasadowe	ECP, MBP, EDN/EPX, EPO
Enzymy	lizofosfolipaza, fosfolipaza D, arylsulfataza, histaminaza, katalaza, niespecyficzna esteraza, kwasna fosfataza, heksozaminidaza, elastaza, kolagenaza IV i inne
Cytokiny	typu Th2: IL-4, IL-5, IL-6, IL-13; typu Th1: IL-12, IFN-gamma; immunoregulacyjne: IL-10, TGF-β, IL-18; chemokiny: IL-8, RANTES, eotaxin, MIP-1alfa; inne: IL-1a, IL-2, IL-3, IL-16, GM-CSF, TGF-alfa, TNF-α
Związane z błonami komórkowymi:	LTC4, LTB4, PAF, 15-HETE, PGE1, PGE2, TXB2
Reaktywne produkty oksydacji tlenowej:	nadtlenek wodoru, anion nadtlenku, rodniki hydroksylowe

Tabela IV
Funkcje obronne i immunomodulujące eozynofila.
Defensive and immunomodulatory functions of eosinophil.

- **Niszczenie pasożytów** – w czasie bezpośredniego kontaktu eozynofila z pasożytem następuje degranulacja eozynofila i uwolnienie białek polikationowych, które dezintegrują błonę pasożyta powodując jego zniszczenie.
- **Niszczenie bakterii, wirusów, komórek nowotworowych** – EPO, wolne rodniki tlenowe, IFN-gamma
- **Gojenie się ran** – proliferacja fibroblastów, wzrost syntezy i zahamowanie degradacji kolagenu.
- **Immunomodulacja** – wpływ na limfocyty, dezaktywacja mediatorów:
histaminaza – dezaktywuje histaminę,
EPO – leukotrieny,
fosfolipaza D – PAF,
MBP i **ECP** dezaktywują heparynę,
PGE2 – hamuje degranulację mastocyta.

Tabela V
Rola eozynofilów w uszkodzeniu tkanek.
Role of eosinophiles in tissue damage.

<ul style="list-style-type: none"> • Włóknienie – proliferacja fibroblastów pod wpływem TGF-alfa, stymulacja kolagenu przez ECP • Zakrzepy naczyniowe – wzrost aktywności czynnika XII, wzrost aktywności płytek – MBP, EPO • Uszkodzenie tkanek: <ul style="list-style-type: none"> MBP – (Major Basic Protein) – uszkodzenie nabłonka oskrzelowego: osłabienie, bądź ustanie ruchu rzęsek, złuszczenie komórek i zniszczenie aparatu rzęskowego aż do całkowitej destrukcji warstwy nabłonka i odsłonięcia błony podstawnej ECP – (Eosinofil Cationic Protein) – uszkodzenie nabłonka oskrzelowego, działa prokoagulacyjnie, hamuje proliferację limfocyta T, indukuje uwalnianie histaminy z bazoofilów EPO – (Eosinophil Peroxidase) – powstający pod jej wpływem anion kwasu podchlornego uszkadza błonę komórkową mastocytów i uwalnia ich mediatory EDN/EPX – (Eosinophil-Derived Neurotoksin/ Eosinophil Protein X) – działa toksycznie na tkankę nerwową, ponadto hamuje proliferację limfocytów T
--

Tabela VI
Bardziej lub mniej prawdopodobne przyczyny eozynofilii.
Likely and less likely causes of eosinophilia on the basis of absolute eosinophil count.

Prawdopodobne przyczyny	Mniej prawdopodobne przyczyny
Łagodna eozynofilia (0,7-1,5x 1 ⁹ /L)	
Choroby atopowe Astma atopowa Reakcja na leki Choroby pasożytnicze Zawodowe choroby płuc	Nowotwory niehematologiczne Choroby żołądkowo-jelitowe Choroby skóry Choroby infekcyjne Przewlekle dializoterapia Radioterapia Niedobory odporności
Umiarkowana eozynofilia (1,5-5 x 1 ⁹ /L)	
Choroby pasożytnicze Astma nieatopowa Reakcja na leki Płuczny zespół eozynofilowy	Polyarteritis nodos Inne kolagenoz Nowotwory niehematologiczne Zespół hipereozynofilowy
Ciężka eozynofilia (>5 x 1 ⁹ /L)	
Choroby pasożytnicze Zespół hipereozynofilowy	Hematologiczne choroby nowotworowe Nowotwory niehematologiczne

ne. Hamuje natomiast ekspresję ICAM-3, która występuje zwłaszcza na powierzchni eozynofilów spoczynkowych. Ta obserwacja jest pomocna w zrozumieniu patomechanizmu chorób alergicznych u pacjentów z otyłością [15].

Według *Alam* i wsp. aktywacja eozynofila zachodzi na trzech drogach. Najbardziej znaną jest droga z udziałem limfocytów Th2 i jest związana z wydzielaniem przez nie w głównej mierze IL-5. Jest to droga charakterystyczna dla schorzeń atopowych. Nad istnieniem innych dróg aktywacji zaczęto się zastanawiać, kiedy odkryto, że przeciwciała anti-IL-5 /mepolizumab/ działają na eozynofile tylko w niektórych schorzeniach i/lub tylko w niektórych fazach tych schorzeń i/lub tylko w niektórych narządach [16,17]. Drugą, już mniej częstą drogą aktywacji jest droga z udziałem limfocytów Th1 i wydzielaniem przez nie INF-gamma oraz IL-12, GM-CSF. Jest to droga specyficzna dla infekcji wirusowych, reakcji alergicznych typu wyprysku kontaktowego, chorób autoimmunizacyjnych i innych schorzeń rozwijających się z udziałem tych cytokin. Ostatnią poznana drogą aktywacji eozynofila jest droga z udziałem IL-1 i TNF. Cytokiny te są uwalniane z fagocytów głównie w infekcjach pasożytniczych, bakteryjnych, a także pod wpływem działania toksyn, czy też ciała obcego. Wspomniane cytokiny zwiększają ekspresję VCAM-1 na komórkach śródbłonna, co warunkuje wychwyt eozynofilów z krwi obwodowej, ale nie są je-

dynymi substancjami będącymi aktywatorami tych komórek we wspomnianych szlakach aktywacyjnych (rycina 1) [17]. *Simon* i wsp. proponują nową klasyfikację schorzeń przebiegających z eozynofilią. Wyróżniają eozynofilię mediowaną przez cytokiny oraz mediowaną przez mutację multi- lub pluri-potencjalnej hematopoetycznej komórki macierzystej pnia (rycina 1) [18].

Za chemotaksję eozynofilów odpowiedzialne są też czynniki wzrostu komórek pnia (GM-CSF), czynniki powodujące różnicowanie komórek prekursorowych, czynniki zwiększające przeżywalność komórek oraz cytokiny zwiększające ekspresję różnych typów receptorów komórkowych i cząsteczek adhezyjnych [14]. Dotyczy to również wspomnianej już leptyny, cytokiny produkowanej przez adipocyty [15].

W tkankach eozynofile przeżywają zwykle 2-5 dni. W warunkach fizjologicznych najwięcej tych komórek obecnych jest w jelitach, w drogach oddechowych mało, a w skórze nie ma ich wcale u osób zdrowych. Jednak czas przeżycia eozynofilów może się wydłużyć do kilku tygodni, jeżeli dojdzie do ich aktywacji w obrębie narządu objętego procesem zapalnym [1]. Wraz z dojrzewaniem eozynofila zmienia się ekspresja cząstek powierzchniowych, w tym także receptorów dla PGD2 (DP oraz CRTH2). Eozynofile wyizolowane z krwi obwodowej posiadają mniejszą ilość receptorów DP niż CRTH2. Poziom ekspresji tych receptorów na powierzchni puli szpikowej eozynofilów jest natomiast prawie jednako- [19].

Apoptoza eozynofila

Sposobem fizjologicznym pozbywania się eozynofilów przez ustrój jest ich apoptoza, czyli naturalna, „cicha” (bez aktywacji odczynu zapalnego) śmierć komórki. Proces ten odbywa się tzw. drogami „aktywnymi” i „pasywnymi”. Poznane są dwie drogi „aktywne”, z których jedna polega na aktywowaniu uniwersalnego dla populacji leukocytów receptora Fas, a druga na aktywowaniu receptora CD69. Drogi „pasywne” apoptozy, są związane głównie z obniżeniem poziomu IL-3, IL-5 i GM-CSF, czyli głównych czynników wzrostu dla eozynofila [14].

W warunkach patologicznych (np. astma oskrzelowa) i w pewnych stanach „fizjologicznych” może nastąpić wydłużenie życia eozynofila poprzez zahamowanie naturalnego procesu apoptozy. W hamowaniu biorą udział przede wszystkim już wspomniane czynniki wzrostu (IL-3, 5 i GM-CSF), które m.in. zwiększają ekspresję genów hamujących apoptozę bcl-2 i bcl-xL [20]. Czynniki te mogą być wydzielane przez limfocyty Th2 jak i przez same eozynofile. Autokrynnne wydzielanie własnych czynników wzrostowych (IL-3 i GM-CSF) tłumaczy się łączeniem receptora VLA-4 na eozynofilach z fibronektyną macierzy zewnątrzkomórkowej [14]. Oprócz tych mechanizmów naturalną reakcją apoptotyczną eozynofila można przerwać przez podwyższenie stężenia tlenu azotu (NO), do czego dochodzi w przebiegu astmy oskrzelowej. NO przerywa sygnalizację mediowaną poprzez receptor Fas [21].

Znaczenie eozynofilów w fizjologii i patologii człowieka

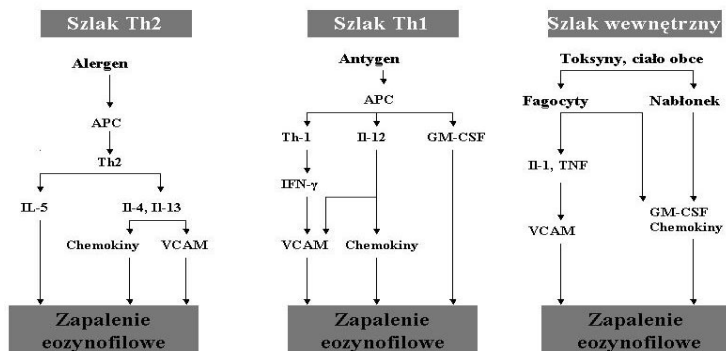
Aktywowany eozynofil uwalnia m.in.: ECP, EDN, EPO i MBP. Te białka mają charakter destrukcyjny i w zapaleniu alergicznym biorą udział w niszczeniu tkanek (np. uszkadzają nabłonek oskrzeli w przebiegu astmy oskrzelowej). Działanie patologiczne eozynofila sprowadza się przede wszystkim do wytwarzania tych substancji powodujących np. w astmie oskrzelowej uszkodzenie dróg oddechowych w procesie remodellingu [22-25]. Badania chorych z zespołem hipereozynofilowym (poziom eozynofilii powyżej 1500/μl, utrzymujący się przez sześć kolejnych miesięcy, z uszkodzeniem narządów wewnętrznych zależnym od eozynofilii oraz przy wykluczeniu innych przyczyn) wykazały, że najczęściej uszkażanymi narządami są odpowiednio:

- 1) skóra – zmiany o charakterze wysypki, obrzęku naczynioruchowego,
- 2) serce – zmiany o typie *endocarditis* z przyściennymi zakrzepami oraz obwodowymi zatorami pochodzenia sercowego, kardiomiopatia restrykcyjna spowodowana włóknieniem endocardium,
- 3) płuca – przewlekły kaszel, nadreaktywność oskrzeli, choroby restrykcyjne z naciekami tkanki płucnej,
- 4) system nerwowy – zaburzenia poznawcze, obwodowe zaburzenia czucia, deficyty ruchowe [26].

Substancje uwalniane przez eozynofile biorą również udział

MECHANIZMY PROWADZĄCE DO EOZYNOFILII

1. MEDIOWANY CYTOKINAMI WZROST RÓŻNICOWANIA I PRZEŻYCIA EOZYNOFIŁA



Mechanizm eozynofilowego zapalenia (wg R. Alam, J. Allergy Clin. Immunol. 2004, 113, 1)
 Mechanisms of eosinophilic inflammation (R. Alam, J. Allergy Clin. Immunol. 2004, 113, 1)

2. MUTACJA MULTI- LUB PLURI-POTENCJALNEJ HEMATOPOETYCZNEJ KOMÓRKI MACIERZYSTEJ SZPIKU (18)

Rycina 1
Główne mechanizmy prowadzące do eozynofilii.
Major pathways that mediate eosinophilia.

w szeroko pojętej immunoregulacji. Są to: TGF-alfa i beta, *heparin-binding EGF*, PDGF-beta, naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu, cytokiny typowe dla limfocytów Th1 i Th2 i wiele innych (tabela III). Ponadto eozynofile wpływają na aktywność limfocytów, a także są zaangażowane w procesy prezentacji antygenów [27-29].

Należy podkreślić, że aktywowany eozynofil jest komórką obronną organizmu i bierze udział w niszczeniu pasożytów, bakterii, wirusów, komórek nowotworowych, a także w procesach naprawczych jak gojenie się ran [30-32]. Jego właściwości immunomodulujące wynikają z inaktywacji mediatorów mastocyta, a poprzez PGE2, hamowania degranulacji tej komórki, a także wpływu na aktywność limfocytów (tabela IV). W warunkach fizjologicznych po spełnieniu swojej funkcji obronnej, eozynofil ulega „cichej śmierci” czyli apoptozie. Ciałka apoptotyczne, tj. otoczone błoną komórkową organella apoptotycznego eozynofila są fagocytowane przez makrofagi, które w tym procesie nie wydzielają cytokin prozapalnych. Tym sposobem, przy nie zaburzonej homeostazie ustrojowej, dochodzi do samoistnego wygaśnięcia odczynu zapalnego, a eozynofil po spełnieniu swojej funkcji obronnej, nie uszkadza tkanek narządów objętych procesem chorobowym [9].

Destrukcyjny efekt substancji uwalnianych przez eozynofila ujawnia się wtedy, gdy komórka ta jest przewlekłe aktywowana przez cytokiny proeozynofilowe i czas jej przeżycia w tkankach wydłuża się do kilku tygodni. W tym okresie eozynofil produkuje białka zasadowe, a następnie ulega martwicy. Z rozpadającego martwiczego eozynofila do tkanek przedostają się substancje związane z ziarnistościami, a także wolne rodniki tlenowe. Ponadto lokalne makrofagi aktywnie fagocytują martwicze części komórki wydzielając cytokiny prozapalne (IL-1, TNF i inne) i tym sposobem nasilają odczyn zapalny. W następstwie tego procesu dochodzi do uszkodzenia tkanek, włóknienia, remodelingu oraz zakrzepów naczyniowych (tabela V) [11, 14].

Pobudzenie apoptozy eozynofila w leczeniu eozynofilowego zapalenia

Skuteczność terapii zależy od rozpoznania jednostki chorobowej, której towarzyszy eozynofilia oraz zastosowania najwłaściwszego dla niej schematu leczenia

Klasyfikacja eozynofilii: łagodna, umiarkowana, ciężka jest pomocna przy ustalaniu prawdopodobnej przyczyny schorzenia (tabela VI) [3].

Obecnie istnieją różne metody leczenia chorób przebiegających z eozynofilią.

Badania przeprowadzone u chorych na EE (*Eosinophilic Eso-*

phagitis) wskazują dużą rolę terapii przy pomocy przeciwciał anti-IL-5 (mepolizumab). Prowadzi ona do obniżenia poziomu eozynofilii oraz redukuje liczbę eozynofiliów tkankowych u pacjentów z eozynofilowym zapaleniem narządów [33]. Przeciwciała anti-IgE (omalizumab) są skuteczne w leczeniu EGIDs (*Eosinophilic Gastrointestinal Disorders*). Subiektywne objawy zmniejszają się, a liczba eozynofiliów, komórek FcεR1(+) oraz poziom IgE ulega obniżeniu [34]. Badania Tang i wsp. wykazały zmniejszenie nacieku zapalnego, nadreaktywności dróg oddechowych oraz przesunięcie profilu cytokin z Th2 do Th1 dzięki aktywnej immunizacji przy użyciu ksenogenicznej szczepionki IL-5 [35].

W wariacie mieloidalnym zespołu hipereozynofilowego (fuzja genów FIP1L1 oraz PDGFRA na ramieniu długim chromosomu czwartego, prowadząca do nadmiernej aktywności kinazy tyrozynowej) zastosowano skuteczne leczenie inhibitorem kinazy tyrozynowej – imatinib [26]. Jest ono również pomocne w terapii wariantu limfoidalnego, leczonego głównie steroidoterapią.

Standardową terapią astmy jest stosowanie glikokortykosteroidów, które zmniejszają autokrynną produkcję GM-CSF i przez to zwiększają odsetek eozynofiliów pełniących samobójstwo na drodze apoptozy [20, 21]. Glikokortykosteroidy zwiększają ekspresję genów proapoptotycznych: *bax*, *bcl-xs*. Anerson i wsp. wykazali, że deksametazon po połączeniu ze swoim receptorem przyspiesza procesy apoptozy w eozynofiliach. Badacze ci stwierdzili dodatkowo, że ten sam lek jest równocześnie silnym inhibitorem apoptozy neutrofilów [20]. Walsh i wsp. zaobserwowali, iż przeżywalność eozynofiliów hodowanych na fibronektynie była obniżona, przy fizjologicznym stężeniu deksametazonu, jako wynik zahamowania autokrynną produkcję GM-CSF przez te komórki. Ostatnie prace przyniosły bardzo przekonujące dowody, że apoptoza jest ważnym mechanizmem klirensu eozynofiliów w astmie [36]. Wooley i wsp. badali morfologię eozynofiliów w próbkach płwociny pobranych od pacjentów podczas zaostrzenia astmy i ponownie po dwóch tygodniach leczenia glikokortykosteroidami. Leczenie powodowało poprawę czynności dróg oddechowych i zmniejszenie eozynofilowego zapalenia, a proporcja apoptotycznych eozynofiliów była znamienne zwiększona po leczeniu [37].

Długość życia eozynofila jest również skracana przy pomocy teofiliny i makrolidów. Teofilina nie ma jednak wpływu na receptory Fas, tylko na zmniejszenie ekspresji białka Bcl-2 [38]. Adachi T. i wsp. hodowali eozynofile świnki morskiej w obecności lub bez IL-5 i oceniali zdolność glikokortykosteroidów, teofiliny i makrolidów do indukowania ich apoptozy. Oznaczano procent żywych komórek po trzech dniach hodowli. Wyniki ich badań wskazują, iż leki te wyzwalają apoptozę eozynofiliów, a ich wpływ na przeżycie tych komórek był znamienne większy przy mniejszych stężeniach

IL-5 [38]. Kozo *Yasui* i wsp. próbowali określić mechanizm w jakim teofilina skraca przeżycie granulocytów (neutrofile, eozynofile) stymulowanych GM-CSF i IL-5. Udowodnili, że nie miała ona wpływu na ekspresję receptora Fas na eozynofiliach, natomiast powodowała spadek ekspresji białka Bcl-2 [49]. Nedokromil sodu pochodne sulfonilomocznika, przeciwciała anti-Fas i mepolizumab (przeciwciała anti-IL-5) również skracały przeżywalność eozynofiliów [40]. Absorpcja IL-5 z krążenia powinna zapobiegać produkcji szpikowej, przedłużeniu życia i aktywacji eozynofiliów. W badaniach klinicznych z zastosowaniem mepolizumabu u pacjentów z astmą oskrzelową uzyskano obniżenie liczby eozynofiliów w szpiku kostnym i w wycinkach z oskrzeli [41-43].

Wykazano, że eozynofilowe zapalenie w drogach oddechowych może być całkowicie zahamowane na okres 24 godzin przez podawanie przeciwciał anti-Fas i wyzwalanie Fas-mediowanej apoptozy w komórkach zapalnych. Stwierdzono równocześnie, iż Fas-zależna apoptoza nie była hamowana przez wysokie stężenia IL-3, IL-5 i GM-CSF [20].

Beta-2 agonści znoszą działanie przyspieszające apoptozę glukokortykosteroidów. *Nielson* i wsp. badali wpływ β_2 agonistów na wydzielanie anionów nadtlenkowych przez eozynofile. Po długotrwałej ekspozycji eozynofiliów na izoproprenol i salmeterol wykazali wzrost wydzielania anionów nadtlenkowych przez te komórki, w przeciwnieństwie do krótkotrwałej ekspozycja β_2 agonistów, która zmniejszała produkcję anionów nadtlenkowych [44].

Leki pobudzające apoptozę eozynofila pozwalają na spełnienie przez tą komórkę funkcji obronnej, po której ulega ona naturalnej cichej śmierci, przez co nie dochodzi do eozynofilowego uszkodzenia tkanek objętych procesem chorobowym.

Wnioski

1. Wyróżnia się dwa główne mechanizmy eozynofilii: mediowana mutacją ekspansja klonalna, mediowany cytokinami wzrost różnicowania i przeżywalności eozynofila.
2. Eozynofilowe zapalenie jest indukowane przez alergen, antygeny, toksyny, ciało obce.
3. Przy prawidłowej apoptozie eozynofili w reakcjach alergicznych, infekcyjnych i toksycznych spełnia funkcje obronne organizmu.
4. Zaburzenie apoptozy eozynofila jest przyczyną przewlekłego eozynofilowego zapalenia i prowadzi do uszkodzenia tkanek.
5. Zastosowanie przeciwciał monoklinalnych (mepolizumab, omalizumab), oraz inhibitora kinazy tyrozynowej (imatinib) może mieć duże znaczenie w leczeniu eozynofilii i eozynofilowego zapalenia.

Piśmiennictwo

1. Gleich GJ. Mechanisms of eosinophil-associated inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 651-663.
2. Collins PD, Marleau S, Griffiths-Johnson DA. Cooperation between IL-5 and the chemokine eotaxin to induce eosinophil accumulation in vivo. *J Exp Med* 1995; 182: 1169-1174.
3. Malkolm L, Brigden MD. You can investigate the most likely causes right in your office. A practical workup for eosinophilia. *Postgraduate Medicine* 1999; 105, 3.
4. Bochner BS. Systemic activation of basophils and eosinophils: markers and consequences. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106; (5 Suppl): 292-302.
5. Schratl P, Royer JF, Kostenis E, Ulven T, Sturm EM, Waldhoer M, Hoefler G, Schuligoi R, Lippe IT, Peskar BA, Heinemann A. The role of the prostaglandin D2 receptor, DP, in eosinophil trafficking. *J Immunol* 2007; 179: 4792-9.
6. Fan GK, Wang H, Takenaka H. Eosinophil infiltration and activation in nasal polyposis. *Acta Otolaryngol* 2007; 127: 521-6.
7. Seminario MC, Saini SS, Mac Glashan DW Jr. Intracellular expression and release of Fc γ RI? by human eosinophils.
8. Erjafalt JS, Greiff L, Andersson M. Allergen-induced eosinophil cytotoxicity is a primary mechanism for granule protein release in human upper airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 304-312.
9. Wardlaw AJ, Moqbel R, Kay AB. Eosinophils: biology and role in disease. *Adv Immunol* 1995; 60: 151-266.
10. Garcia G. Allergy-related hypereosinophilia. *Presse Med*. 2006; 35: 135-43.
11. Erjafalt JS, Greiff L, Andersson M, Adelroth E, Jeffery PK, Persson CG. Degranulation patterns of eosinophil granulocytes as determinants of eosinophil driven disease. *Thorax* 2001; 56: 341-344.
12. Czarnobilska E, Obtulowicz K, Dyga W, Gołuch A, Zwiewka M. Eozynofilia, ECP, wskaźnik ECP/Eo w chorobach alergicznych i niealergicznych. *Przegl Lek* 2005; 62; 765-768.
13. Adamko D, Lacy P, Moqbel R. Eosinophil function in allergic inflammation: from

- bone marrow to tissue response. *Curr Allergy Asthma Rep* 2004; 4: 149-158.
14. Czarnobilska E, Jakiela B. Zaburzenia apoptozy eozynofiliów w etiopatogenezie astmy oskrzelowej. *Acta Pneumologica et Allergologica Paediatrica* 1998; 2: 21-26.
 15. Wong CK, Cheung PF, Lam CW. Leptin-mediated cytokine release and migration of eosinophils: implications for immunopathophysiology of allergic inflammation. *Eur J Immunol*. 2007; 37: 2337-48.
 16. Kalogjera L, Vagic D, Baudoin T. Effect of endosinus treatment on cellular markers in mild and moderate asthmatics. *Acta Otolaryngol* 2003; 123: 310-3.
 17. Alam R, Busse WW. The eosinophil-quo vadis? *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 38-42.
 18. Simon D, Simon HU. Eosinophilic disorders. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 119: 1291-300; quiz 1301-2. Epub 2007 Apr 2. Erratum in: *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 120: 515.
 19. Schratl P, Royer JF, Kostenis E, Ulven T, Sturm EM, Waldhoer M, Hoefler G, Schuligoi R, Lippe IT, Peskar BA, Heinemann A. The role of the prostaglandin D2 receptor, DP, in eosinophil trafficking. *J Immunol*. 2007; 179: 4792-9.
 20. Anderson GP. Resolution of chronic inflammation by therapeutic induction of apoptosis. *TIPS* 1996; 17: 438-442.
 21. Tsuyuki S, Bertrand C, Erard F et al. Activation of the Fas receptor on lung eosinophils leads to apoptosis and the resolution of eosinophilic inflammation of the airways. *J Clin Invest* 2004; 96: 2924-2931.
 22. Fujitaka M et al. Significance of the eosinophil cationic protein/eosinophil count ratio in asthmatic patients: its relationship to disease severity. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2000; 86: 323-9.
 23. Maruccci F, Sensi LG, Migali E, Coniglio G. Eosinophil Cationic Protein and specific IgE in serum and nasal mucosa of patients with grass-pollen-allergic rhinitis and asthma. *Allergy* 2001; 56: 231-236.
 24. Jogi Y, Bjorgten B, Boman G, Janson C. Serum eosinophil cationic protein (ECP) in a population with low prevalence of atopy. *Respirat Med* 2002; 525-529.
 25. Kuwahara Y, Kondoh J, Tatora K, Czuma E, Nakajima T, Hashimoto M, Komach Y. Involvement of Urban living environment in atopy and enhanced eosinophil activity: potential risk factor of airway allergic symptoms. *Allergy* 2001; 56: 224-230.
 26. Roufosse FE, Goldman M, Cogan E. Hypereosinophilic syndromes. *Orphanet J Rare Dis* 2007; 2: 37.
 27. Leickly FE. Determination of serum eosinophil cationic protein, eosinophil count and total IgE in children with different severities of atopic diseases. *Pediatric Asthma Allergy Immunol* 2000; 14: 109-118.
 28. Weller PF. Human eosinophils. *J Allergy Clin Immunol*. 1997; 100: 283-7.
 29. MacKenzie JR, Mattes J, Dent LA, Foster PS. Eosinophils promote allergic disease of the lung by regulating CD4(+) Th2 lymphocyte function. *J Immunol* 2001; 167: 3146-55.
 30. Tischendorf FW, Brattig NW, Buttner DW, Pieper A, Lintzel M. Serum levels of eosinophil cationic protein, eosinophil-derived neurotoxin and myeloperoxidase in infections with filariae and schistosomes. *Acta Trop* 1996; 62: 171-82.
 31. Dominguez-Ortega J, Martinez-Alonso JC, Alonso-Llamazares A, Arguelles-Grande C, Chamorro M, Robledo T, Palacio R, Martinez-Cocera C. Measurement of serum levels of eosinophil cationic protein in the diagnosis of acute gastrointestinal anisakiasis. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9: 453-7.
 32. Dombrowicz D, Capron M. Eosinophils, allergy and parasites. *Curr Opin Immunol*. 2001; 13: 716-720.
 33. Stein ML, Collins MH, Villanueva JM, Kushner JP, Putnam PE, Buckmeier BK, Filipovich AH, Assa'ad AH, Rothenberg ME. Anti-IL-5 (mepolizumab) therapy for eosinophilic esophagitis. *Gastroenterology* 2007; 133: 358-60; discussion 360.
 34. Foroughi S, Foster B, Kim N, Bernardino LB, Scott LM, Hamilton RG, Metcalfe DD, Mannon PJ, Prussin C. Anti-IgE treatment of eosinophil-associated gastrointestinal disorders. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 120: 594-601.
 35. Tan GH, Wang CC, Huang FY, Wang H, Huang YH, Lin YY. Active immunotherapy of allergic asthma with a recombinant human interleukin-5 protein as vaccine in a murine model. *Chin Med J (Engl)*. 2007; 120: 1517-1522.
 36. Walsh GM. Mechanism of human eosinophil survival and apoptosis. *Clin Exp Allergy* 2003; 27: 482-487.
 37. Wolley KL, Gibson PG, Carty K et al. Eosinophil apoptosis and the resolution of airway inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 154: 237-243.
 38. Adachi T, Motojima S, Hirata A et al. Eosinophil apoptosis caused by theophylline, glucocorticoids and macrolides after stimulation with IL-5. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: 207-215.
 39. Yasui K, Hu B, Nakazawa T, Agematsu K, Komiyama A. Theophylline accelerates human granulocyte apoptosis not via phosphodiesterase inhibition. *J Clin Invest* 1997; 100: 1677-1684.
 40. Karras JG, McGraw K, McKay RA. Inhibition of antigen-induced eosinophilia and late phase airway hyperresponsiveness by an IL-5 antisense oligonucleotide in mouse model of asthma. *J Immunol* 2000; 164: 509-5415.
 41. Menzies-Gow A, Flood-Page P, Sehmi R. Anti-IL-5 (mepolizumab) therapy induces bone marrow eosinophils progenitors in the bronchial mucosa of atopic asthmatic. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 164: 5409-5415.
 42. Rogers DF, Giembycz MA. Asthma therapy for the 21st century. *TIPS* 1998; 19: 160-163.
 43. Jutel M, Patkowski J. Type 2 T-helper cells as a target for immunotherapy of allergic diseases. *Int Rev Allergol Clin Immunol* 2000; 3: 211-213.
 44. Nielson CP, Hadjokas NE. Beta-adrenoceptor agonists block corticosteroid inhibition in eosinophils. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 184-191.