

Izabela Kupryś-Lipińska¹, Katarzyna Molińska², Piotr Kuna¹

¹Klinika Chorób Wewnętrznych, Astmy i Alergii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

²absolwentka wydziału farmacji Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Wpływ omalizumabu na zapalenie eozynofilowe dróg oddechowych u pacjentów chorych na astmę alergiczną

Praca nie była finansowana

Tłumaczenie, należy cytować wersję oryginalną: Kupryś-Lipińska I, Molińska K, Kuna P. The effect of omalizumab on eosinophilic inflammation of the respiratory tract in patients with allergic asthma. *Pneumonol Alergol Pol* 2016; 84: 232–243. doi: 10.5603/PiAP.2016.0029

Streszczenie

W astmie oskrzelowej obserwuje się zwykle wysokie stężenia immunoglobuliny E (IgE) oraz nadprodukcję prozapalnych cytokin, w tym interleukiny 4 (IL-4), IL-13 i IL-5 kluczowych między innymi dla produkcji IgE oraz różnicowania, dojrzewania, migracji i przeżycia eozynofili. Eozynofile są jednymi z najważniejszych komórek zapalenia alergicznego. Ich obecność w tkance wiąże się z utrzymywaniem nacieków zapalnych, uszkodzeniem tkanek i ich remodelingiem. Komórki te są bardzo wrażliwe na działanie kortykosteroidów, ale jest grupa chorych na astmę, którzy nie odpowiadają nawet na wysokie dawki tych leków, również podawanych systemowo. Biopsje przezoskrzelowe i płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe wykonywane u pacjentów z sterydooporną astmą wykazują zwiększoną liczbę eozynofili i cytokin typu Th2 (IL-4 oraz IL-5), w porównaniu z chorymi wrażliwymi na steroidy. Wyniki badań klinicznych pokazują, że skuteczną terapią jest u nich omalizumab — monoklonalne przeciwciało anti-IgE. Autorzy omawiają w artykule efektywność omalizumabu w zmniejszaniu eozynofilii we krwi obwodowej i w drogach oddechowych u chorych na astmę na podstawie badań podstawowych, klinicznych, obserwacyjnych i opisów przypadków, jak również znaczenie tego zjawiska w kontroli astmy oraz mechanizmy oddziaływania omalizumabu na eozynofile.

Słowa kluczowe: astma alergiczną, omalizumab, eozynofilowe zapalenie, eozynofile

Wstęp

Astma jest chorobą, którą cechuje nadreaktywność oskrzeli, przewlekłe zapalenie i zmiany strukturalne w drogach oddechowych. W jej patogenezie uczestniczą liczne komórki i mediatory zapalne. W astmie alergiczną obserwuje się zwykle wysokie stężenia immunoglobuliny E (IgE) oraz nadprodukcję prozapalnych cytokin, w tym interleukiny 4 (IL-4), IL-13 i IL-5 kluczowych między innymi dla produkcji IgE oraz różnicowania, dojrzewania, migracji i przeżycia eozynofili. W rozwoju zapalenia alergicznego istotną funkcję pełnią komórki tuczne, bazoofile, eozynofile i limfocyty, a w jego przewlekłej fazie

poza komórkami nacieków zapalnych znacząca rolę odgrywają również komórki strukturalne (m.in. komórki nabłonkowe, mioocyty, fibroblasty). Wśród wielu mediatorów reakcji alergiczną częściej przypisuje się kluczową rolę w tym procesie. Jest ona krytycznym elementem wczesnej fazy reakcji alergiczną, ponieważ inicjuje degranulację komórek tucznych. Uczestniczy również w późnej fazie reakcji alergiczną jako immunoregulator oraz pośredniczy w rozwoju zapalenia eozynofilowego. Przypuszcza się również, że IgE ma znaczenie w remodelingu zachodzącym w drogach oddechowych [1]. Burrow i wsp. [2] wykazali, że wysokie stężenia IgE w surowicy stanowią czynnik ryzyka rozwoju astmy oskrze-

Adres do korespondencji: Izabela Kupryś-Lipińska, Klinika Chorób Wewnętrznych, Astmy i Alergii UM w Łodzi, e-mail: ikuprys@wp.pl

Wpłynęło do Redakcji: 27.05.2016 r.

Copyright © 2016 PTChP

lowej, a Kovac [3] i Carroll [4] dodatkowo, że stężenie IgE koreluje ze stopniem jej ciężkości. W związku z powyższym immunoglobulina E stała się istotnym punktem uchwytu dla leków stosowanych w terapii astmy.

Właściwości farmakodynamiczne omalizumabu

Jedynym obecnie stosowanym lekiem biologicznym w astmie oskrzelowej o aktywności anti-IgE jest omalizumab — humanizowane przeciwciało monoklonalne uzyskiwane metodą rekombinacji DNA z komórek jajnika chomika chińskiego, przy czym 95% sekwencji omalizumabu jest zgodna z ludzką immunoglobuliną klasy G1. Działanie leku opiera się na jego selektywnym łączeniu z wolnymi cząsteczkami IgE w miejscu domeny Cε3. Utworzony kompleks IgE–lek uniemożliwia połączenie immunoglobuliny E z receptorami o wysokim powinowactwie do IgE (FcεRI) na komórkach tucznych i bazofilach, przez co blokuje degranulację tych komórek zależną od krzyżowego wiązania swoistego alergenów przez IgE związane z FcεRI licznymi prezentowanymi na powierzchni tych komórek. Omalizumab nie wiąże cząsteczek IgE, które znajdują się już w kompleksach z receptorem, ani nie wiąże się bezpośrednio z receptorami dla IgE, co pozwala uniknąć niepożądanego aktywacji komórek tucznych i bazofilów [5].

Neutralizacja wolnych IgE skutkuje zablokowaniem kaskady reakcji alergicznych, na poziomie aktywacji komórek tucznych i bazofilów przez swoiste alergeny i w konsekwencji zablokowaniem rozwoju lub zmniejszeniem nasilenia zapalenia alergicznego w drogach oddechowych. Ponadto omalizumab blokuje wiązanie IgE przez FcεRI zlokalizowane na innych komórkach, między innymi na komórkach dendrytycznych, modulując prezentację alergenów limfocytom Th2 oraz na eozynofilach, monocytach i komórkach nabłonka dróg oddechowych, gdzie prawdopodobnie receptory te pełnią funkcję regulacyjną. Dodatkowo omalizumab blokuje przyłączanie IgE do swoistych dla niej receptorów o niskim powinowactwie (FcεRII) znajdujących się na limfocytach B i T, eozynofilach, makrofagach, komórkach dendrytycznych i innych komórkach uczestniczących w rozwoju przewlekłego zapalenia, które w ten sposób wyłapują alergen i mogą go prezentować limfocytom T [6].

Prócz neutralizacji wolnych IgE długotrwała terapia omalizumabem prowadzi do zmniejszenia produkcji IgE przez limfocyty B. W teoretycznym modelu opartym na estymacji wyników z badania INNOVATE obliczono, że pięcioletnia

terapia omalizumabem prowadzi do normalizacji produkcji całkowitego IgE [7]. Istotną rolę w tym zjawisku odgrywają limfocyty Th2 i produkowane przez nie IL-4 i IL-13 [6]. Jak wykazano, omalizumab zmniejsza liczbę komórek IL-4 [8] i IL-13 [9] pozytywnych oraz limfocytów B w tkance oskrzeli [8].

Poza bezpośrednim działaniem omalizumabu na IgE i regulacją jej produkcji istotnym elementem efektywności farmakologicznej tego leku są pośrednie mechanizmy modulujące przebieg zapalenia alergicznego. Jednym z nich jest hamowanie ekspresji receptorów FcεRI na komórkach tucznych i bazofilach oraz na komórkach dendrytycznych. W biopsjach oskrzeli pobranych od chorych na astmę niezależnie od statusu atopii oraz od osób z atopowej grupy kontrolnej stwierdza się zwiększoną liczbę komórek prezentujących na swojej powierzchni FcεRI (głównie komórek tucznych i makrofagów) w porównaniu z osobami zdrowymi bez cech atopii [10]. Szczególnie wysoką ekspresję tego receptora w tkankach oskrzeli wykazano u chorych, którzy zmarli w przebiegu ciężkiego zaostrzenia astmy [11]. Wiadomo, że ekspresja FcεRI na komórkach efektorowych koreluje ze stężeniem IgE w surowicy i zależy od stymulacji tych receptorów przez przyłączone do nich cząsteczki IgE. Przyłączenie IgE do receptora stabilizuje ponadto zarówno IgE jak i sam receptor [1, 6, 12]. Terapia omalizumabem szybko, bo o 96% w ciągu 3 dni [13], zmniejsza dostępność wolnych IgE do łączenia w kompleksy z receptorami, przez co hamuje wewnątrzkomórkowe przekazywanie sygnału z tych receptorów aktywujący syntezę i ekspresję tych receptorów na powierzchni komórek.

Wykazano, że 16-tygodniowa terapia omalizumabem istotnie zmniejsza liczbę IgE-pozytywnych i FcεRI-pozytywnych komórek w warstwie podśluzówkowej oskrzeli [8]. Efekt hamowania ekspresji FcεRI na bazofilach, jak wykazały wyniki badań Lin i wsp., jest widoczny już po 7 dniach od podania omalizumabu [13], a po 3 miesiącach od zastosowania leczenia, jak pokazał w swych badaniach zespół MacGlashan, efekt hamowania utrzymuje się na poziomie 96% [14]. Również w badaniu Chanez i wsp. obserwowano podobny, bo o 83% spadek ekspresji FcεRI na bazofilach po 16 tygodniach leczenia omalizumabem [15]. W badaniu Saini i wsp. zaprzestanie terapii omalizumabem prowadziło do stopniowego, równoległego do stężenia wolnych IgE w surowicy, wzrostu gęstości FcεRI na bazofilach, co potwierdza aktywną rolę omalizumabu w hamowaniu ekspresji tego receptora na bazofilach [16].

Zmniejszenie ekspresji FcεRI na powierzchni bazofilów ma swoje funkcjonalne znaczenie. Wiąże się ono między innymi z mniejszym uwalnianiem histaminy w wyniku swoistej stymulacji alergenem bazofilów, ale i w wyniku lizy komórki [17–19].

Ponadto u chorych leczonych omalizumabem obserwowano zmniejszenie liczby bazofilów we krwi obwodowej [20]. Sugeruje się, że IgE reguluje również homeostazę ludzkich bazofilów.

Podobny efekt omalizumab wywiera na komórki tuczne, choć zjawisko to zachodzi wolniej niż w przypadku bazofilów i wiąże się ze zmniejszeniem odczynu skórnoalergicznego na alergen w testach naskórkowych [21]. Nie obserwowano natomiast zmniejszenia liczby komórek tryptazododatnich w skórze w wyniku leczenia omalizumabem.

Również ekspresja FcεRI na powierzchni komórek dendrytycznych zależy od obecności IgE w mikrośrodkowisku. Prussin i wsp. wykazali, że terapia omalizumabem już po 7 dniach od jej zastosowania zmniejsza ekspresję FcεRI na prekursorach komórek dendrytycznych zarówno pochodzenia mieloidalnego jak i limfoidalnego [22]. Spadek ekspresji FcεRI na komórkach dendrytycznych korelował ze spadkiem jego ekspresji na bazofilach. Podobne obserwacje przeprowadził zespół Chaneza, który prowadził badania na prekursorach komórek dendrytycznych linii limfoidalnej, z tym że nie znalazł korelacji między spadkiem ekspresji FcεRI, a parametrami klinicznymi [15]. Natomiast Feuchtinger i wsp. [23] obserwowali normalizację liczby komórek dendrytycznych w okresie sezonu pylenia traw u chorych z pyłkowicą uczulonych na trawy poddanych immunoterapii swoistej, którzy dodatkowo otrzymywali omalizumab. Zmniejszenie liczby komórek dendrytycznych oraz ekspresji FcεRI na ich powierzchni potencjalnie ogranicza możliwość prezentacji alergenów swoistym limfocytom, a przez to zmniejsza ich klonalną aktywację. Może to prowadzić do zmniejszenia polaryzacji natywnych Th do Th2 oraz zmniejszenia produkcji cytokin typu Th2 biorących udział w rozwoju zapalenia alergicznego.

W badaniach Eggel i wsp. [24] odkryto, że omalizumab poza neutralizacją wolnych IgE i zmniejszaniem ekspresji FcεRI może również przyspieszać dysocjację IgE z FcεRI na bazofilach. Obserwacje te potwierdzili Serrano-Candelas i wsp. [25], którzy te same zjawisko obserwowali również na komórkach tucznych. Udowodnili oni ponadto, że wiąże się ono z IgE-zależnym zmniejszeniem przekazywania sygnału z FcεRI związanego z hamowaniem proksymalnej fosfo-

rylacji w osi Syk-LAT-PLCγ oraz z zahamowaniem degranulacji i syntezy leukotrienów.

Neutralizacja wolnych IgE przez omalizumab i wpływ jego na ekspresję i funkcję FcεRI ma swoje odzwierciedlenie w zjawiskach klinicznych jak zahamowanie wczesnej [26, 27] i związanej z nią późnej fazy reakcji alergicznego [28, 29] oraz zmniejszenie nasilenia przewlekłego zapalenia alergicznego.

W badaniu Boulet i wsp. [26] terapia omalizumabem prowadzona u chorych na astmę alergiczną w 27. dniu od jej rozpoczęcia prowadziła do konieczności ponad dwukrotnego zwiększenia stężenia alergenu użytego w prowokacji wziewnej w celu wywołania 15-procentowego spadku FEV₁ (*forced expiratory volume in one second*) — PC15 dla alergenu, w okresie wczesnej reakcji astmatycznej na alergen.

W badaniu Zielen i wsp. [27] terapia omalizumabem w 8. i 16. tygodniu istotnie hamowała poalergenowy skurcz oskrzeli w ciągu 30 minut od ekspozycji oraz prowadziła do redukcji stężenia FeNO (*fractional nitric oxide*) mierzonego 24 godziny po prowokacji oskrzelowej alergenem, co przemawia za hamowaniem napływu eozynofili do miejsca reakcji alergicznego w okresie późnej fazy.

Dowodem na to jest badanie van Rensena i wsp. [29], którzy wykazali, że 12-tygodniowa terapia omalizumabem hamuje wczesną i późną fazę reakcji astmatycznej po prowokacji alergenem czemu towarzyszyło zmniejszenie nacieku eozynofili w bioptatach oskrzeli pobranych 24 godzin po wykonaniu prowokacji.

W wyniku ciągłej lub częstej ekspozycji na dany alergen faza późna może przejść w przewlekłe zapalenie (z procesami wytwórczymi) prowadzące do przewlekłej dysfunkcji narządu lub układu, w przypadku oskrzeli do rozwoju przewlekłej astmy oskrzelowej.

Przechodzenie późnej fazy reakcji alergicznego w przewlekły proces zapalny nie zostało dobrze poznane, ale wydaje się, że kluczową rolę w tym procesie odgrywają mastocyty i eozynofile. Obie populacje pełnią funkcję komórek efektorowych. Komórki te współwystępują w tkankach w fazie późnej reakcji alergicznego oraz w fazie rozwoju przewlekłego zapalenia i prawdopodobnie podtrzymują reakcję zapalną. Udowodniono, że obie populacje komórek mogą wzajemnie wpływać na swoją aktywność biologiczną za pośrednictwem wydzielanych cytokin i przez bezpośredni kontakt ligand-receptor. Interakcja ta jest silna i chroni eozynofile przed apoptozą wywoływaną deksametazonem [30]. Wpływ na liczebność w na-

cieku zapalnym i funkcje obu populacji komórkowych oraz na ich wzajemne interakcje wydaje się zatem kluczowy w opanowywaniu przewlekłego zapalenia leżącego u podłoża astmy, tym bardziej że chorzy na astmę w porównaniu ze zdrowymi mają zwiększoną liczbę eozynofiliów w bioptatach oskrzeli niezależnie od statusu atopii [31]. Liczba komórek tucznych w badaniu Macfarlane i wsp. nie różniła się istotnie między chorymi na astmę i osobami zdrowymi, natomiast liczba bazofilów była istotnie podwyższona w grupie chorych na astmę atopową, ale nie różniła się istotnie od stwierdzonej w nacieku zapalnym u osób z astmą nieatopową [31].

Udowodniono, że omalizumab zmniejsza nasilenie przewlekłego zapalenia w oskrzelach u chorych na astmę prawdopodobnie przez wpływ na eozynofile. Djukanovic i wsp. wykazali, że 16-tygodniowa terapia omalizumabem powodowała zmniejszenie odsetka eozynofiliów w indukowanej płwocinie i bioptatach tkankowych, oraz zmniejszenie liczby limfocytów T CD3+, CD4+ i CD8+ oraz limfocytów B, a także komórek IL-4-dodatnich [8]. Również van Rensen i wsp. [29] wykazali istotny wpływ omalizumabu na eozynofilię tkankową. W badaniu tym 12-tygodniowa terapia omalizumabem prowadziła do zmniejszenia liczby eozynofiliów w płwocinie indukowanej i zmniejszenia nacieku eozynofilowego po prowokacji alergenem w bioptatach pobranych z oskrzeli. Ponadto badacze obserwowali zmniejszenie liczby komórek prezentujących FcεRI i limfocytów CD4+.

Stosowanie omalizumabu wpływa nie tylko na liczbę, ale i na funkcję eozynofiliów i limfocytów. W badaniu Noga i wsp. [9] 12-tygodniowa terapia tym lekiem nasilała apoptozę eozynofiliów i zmniejszała liczbę limfocytów T produkujących GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*), IL-2 i IL-13 we krwi obwodowej. Nie wykazano natomiast różnicy w liczbie limfocytów produkujących IL-5 (*interleukine 5*), IFN-γ (*interferon gamma*) i TNF-α (*tumor necrosis factor alfa*).

Zapalnemu uszkodzeniu tkanek oskrzeli w astmie od początku towarzyszą procesy naprawcze, które prowadzą do przebudowy dróg oddechowych. Roth i wsp. [32] wykazali, że IgE nasila remodeling dróg oddechowych w astmie poprzez pobudzenie proliferacji komórek mięśni gładkich, jak również zwiększenie zewnątrzkomórkowego odkładania się kolagenu o właściwościach prozapalnych (typ I, III, VII) oraz fibronektyny. Wyniki te wskazują na potencjalną rolę omalizumabu w modulowaniu remodelingu dróg oddechowych. Zietkowski i wsp. [33]

wykazali, że terapia omalizumabem w 16. i 52. tygodniu od rozpoczęcia leczenia istotnie redukuje stężenie endoteliny-1 (ET-1) w kondensacie powietrza wydechowego, która koreluje ze spadkiem poziomu FeNO, liczby eozynofiliów we krwi obwodowej i stężeniem eozynofilowego białka kationowego (ECP, *eosinophil cationic protein*) w surowicy. Endotelina-1 pełni istotną rolę w zapaleniu dróg oddechowych u chorych na astmę, w szczególności w rozwoju ciężkiej nadreaktywności oskrzeli i ich remodelingu, nasilając proliferację komórek mięśni gładkich i stymulując włóknienie podnabłonkowe. W badaniach Roth i wsp. [34] zastosowanie omalizumabu hamowało proliferację komórek mięśni gładkich stymulowanych w warunkach *in vitro* surowicą chorych na astmę alergiczną, jak również zmniejszało depozycję kolagenu typu I i fibronektyny. Ponadto omalizumab wpływał na funkcje miocytów przez hamowanie IgE-zależnej syntezy i sekrecji prozapalnych cytokin (IL-4, IL-6, IL-8 i TNF-α) [35]. Huang i wsp. [36] obserwowali zahamowanie produkcji TGF-β (*transforming growth factor beta*) i prozapalnych cytokin (IL-4, IL-13 i TNF-α) przez komórki nabłonka dróg oddechowych stymulowane IL-1β i alergenem. Hoshino i wsp. [37] badali efekt kliniczny omalizumabu w kontekście procesu remodelingu, wykorzystując wysoko rozdzielczą tomografię klatki piersiowej. Wynik badania kontrolnego po 16 tygodniach wykazał zmniejszenie grubości ściany oskrzeli u chorych na ciężką astmę leczonych omalizumabem, które korelowało z poprawą wartości spirometrycznych (FEV₁) oraz zmniejszeniem eozynofiliów w płwocinie indukowanej.

Kliniczna skuteczność omalizumabu w kontroli przewlekłej astmy oskrzelowej została potwierdzona wynikami wielu badań klinicznych i metaanaliz [5]. W 2002 roku lek ten został zarejestrowany do leczenia niekontrolowanej umiarkowanej i ciężkiej astmy w Australii, w 2003 roku w Stanach Zjednoczonych i w 2005 roku w Unii Europejskiej jako terapia dodana do leczenia wysokimi dawkami wziewnych glikokortykosteroidów (GKS) w skojarzeniu z długo działającymi β₂-agonistami (LABA, *long-acting beta-agonists*) u chorych z częstymi zaostrzeniami, a w 2014 roku również w przewlekłej pokrzywce spontanicznej.

W 28-tygodniowym randomizowanym, przeprowadzonym metodą podwójnie ślepej próby, kontrolowanym placebo badaniu INNOVATE [38] oceniano skuteczność omalizumabu w grupie chorych na astmę ciężką, u których nie udało się uzyskać kontroli choroby na terapii wysokimi dawkami wziewnych GKS w skojarzeniu z LABA.

Trzeci lek kontrolujący astmę stosowało dodatkowo 60% badanych, w tym 22% chorych doustnie GKS. Dodanie omalizumabu do zoptymalizowanej terapii zmniejszyło częstość istotnych klinicznie zaostrzeń o 26%, o 50% występowanie ciężkich zaostrzeń i o 44% konieczność doraźnej pomocy medycznej. Ponadto omalizumab poprawiał jakość życia, wartość porannego PEF (*peak expiratory flow*) i zmniejszał nasilenie objawów astmy. Na podstawie wyników badania INNOVATE wyliczono, że aby zapobiec wystąpieniu jednego klinicznie istotnego zaostrzenia należy terapię omalizumabem prowadzić u 2,7 pacjentów (NNT, *number needed to treat*), by zapobiec jednemu ciężkiemu zaostrzeniu u 2,0 pacjentów, a aby uniknąć konieczności jednorazowej interwencji medycznej u 2,8 pacjentów [39].

Metaanaliza 25 badań klinicznych [40], w których stosowano omalizumab u chorych na umiarkowaną i ciężką astmę oskrzelową przeprowadzona w 2014 przez ekspertów Cochrane potwierdza skuteczność leku w redukcji zaostrzeń i hospitalizacji z powodu zaostrzeń. Pokazuje również, że chorzy stosujący omalizumab częściej mogą zredukować, a nawet zaprzestać stosowania wziewnych GKS w porównaniu z grupą otrzymującą placebo, natomiast chorzy ustawieni na przewlekłym leczeniu doustnymi GKS uzyskują lepszą kontrolę astmy, choć efekt oszczędzający steroidy wymaga dalszych prospektywnych badań.

Analiza zbiorcza 6 badań oceniających wpływ terapii omalizumabem na jakość życia u chorych na ciężką niekontrolowaną astmę przeprowadzona przez Chipps i wsp. [41] wykazała istotną poprawę tego parametru w grupie pacjentów leczonych omalizumabem w porównaniu z otrzymującymi zoptymalizowane leczenie farmakologiczne we wszystkich sferach życia: ograniczenie aktywności z powodu choroby, emocji, objawów i ekspozycji na czynniki środowiskowe.

Doświadczenia własne autorów potwierdzają znaczące korzyści ze stosowania omalizumabu u chorych na ciężką astmę alergiczną, w tym lepszą kontrolę astmy i jakości życia, zmniejszenie częstości i ciężkości zaostrzeń oraz zmniejszenie zapotrzebowania na doustne GKS [42].

Obecnie omalizumab jest zalecany przez ekspertów GINA u chorych na umiarkowaną i ciężką astmę oskrzelową w 5. stopniu terapii, jeszcze zanim zostaną włączone na stałe doustne GKS [43].

Rola eozynofili w astmie oskrzelowej

Eozynofile są jednymi z najważniejszych komórek nacieku zapalnego fazy późnej reakcji

alergicznego i przewlekłego procesu zapalnego w astmie oskrzelowej. Ich obecność w tkance wiąże się z utrzymywaniem się nacieku zapalnego, uszkodzeniem tkanek i ich remodelingiem [1].

Eozynofile powstają w szpiku z komórek progenitorowych wspólnych dla eozynofili i bazofili Eo/B-CFU (*eosinophil/basophil colony forming unit*). Istotną rolę w różnicowaniu, dojrzewaniu i mobilizacji eozynofili ze szpiku do krążenia odgrywają IL-3, IL-5 i GM-CSF, z których najważniejsza i najbardziej swoista dla eozynofili na tym etapie ich rozwoju jest IL-5. Te hemopoetyczne cytokiny są wytwarzane w miejscu reakcji alergicznego i oddziałują na szpik endokrynie. Wykazano jednak, że pobudzone limfocyty T mogą też migrować do szpiku i tam miejscowo wydzielać między innymi IL-5. Eozynofile z krwią migrują do miejsc toczącego się procesu zapalnego przyciągane przez czynniki chemotaktyczne: eotaksyny, 5 białko chemotaktyczne dla monocytów (MCP-5, *monocyte chemotactic protein 5*), białko zapalne makrofagów 1 α (MIP-1 α , *macrophage inflammatory protein-1 α*) oraz RANTES (*regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*). Przechodzenie eozynofili z krwi do tkanek objętych procesem zapalnym ułatwiają IL-4 i IL-13 oraz IL-1 i TNF, które zwiększają ekspresję cząsteczek adhezyjnych na komórkach śródbłonna. W miejscu toczącego się procesu zapalnego eozynofile aktywowane są przez cytokiny, leukotrieny i składowe dopełniacza i same uwalniają prozapalne mediatory odpowiedzialne za napływ i aktywację innych komórek nacieku zapalnego oraz procesy uszkodzenia i regeneracji tkanek. Wśród nich są enzymy (elastaza, kolagenaza), białka kationowe (główne białko zasadowe [MBP, *major basic protein*]), peroksydaza eozynofilowa (EPO, *eosinophil peroxidase*), ECP; wolne rodniki i reaktywne formy tlenu, czynnik aktywujący płytki (PAF, *platelet-activating factor*), leukotrieny i liczne cytokiny (m.in. IL-3 i IL-5, GM-CSF, SCF, IL-4 i IL-13, IFN- γ , eotaksyna, RANTES i TGF- β) [1].

Obecność eozynofili w nacieku komórkowym w oskrzelach jest charakterystyczną cechą zapalenia u chorych na astmę. Dowodem na aktywną rolę eozynofili w rozwoju późnej fazy reakcji astmatycznej są wyniki badań pokazujące korelację między stężeniem ECP a intensywnością późnej fazy reakcji astmatycznej [44].

Ponadto wykazano, że liczba eozynofili w płwocinie (odzwierciedlająca nasilenie stanu zapalnego w tkankach oskrzeli) ściśle koreluje ze stopniem nasilenia astmy, jak również z ryzykiem wystąpienia i nasileniem zaostrzeń [45].

U pacjentów z nawracającymi zaostrzeniami astmy leczenie przeciwzapalne oparte na wyniku cytologicznym indukowanej płwociny z oceną obecności eozynofiliów okazało się skuteczniejsze niż prowadzone na podstawie objawów i czynności płuc [46]. Eozynofilowemu zapaleniu dróg oddechowych w astmie zwykle towarzyszy łagodna eozynofilia we krwi obwodowej, chociaż eozynofilia w tkankach, w wydzielinie z nosa, w płwocinie i w płukaniu oskrzelowo-pęcherzykowym (BAL, *bronchoalveolar lavage*) jest zazwyczaj istotnie wyższa [47].

Eozynofile są bardzo wrażliwe na działanie kortykosteroidów uważanych za najsilniejsze leki o działaniu przeciwzapalnym w astmie, które w postaci wziewnej są rekomendowane we wszystkich postaciach przewlekłej astmy [44]. Ale jest grupa chorych na astmę, którzy nie odpowiadają nawet na wysokie dawki tych leków, również podawane systemowo. Biopsje przezoskrzelowe i BAL u pacjentów ze steroidooporną astmą wykazują większą liczbę eozynofiliów i cytokin typu Th2 (IL-4 oraz IL-5), w porównaniu z chorymi wrażliwymi na steroidy [48, 49]. Postulowane są różne mechanizmy tego zjawiska [50, 51], między innymi zmniejszenie powinowactwa receptorów glikokortykosteroidowych do GKS w wyniku zwiększonej ekspresji receptora typu β u chorych ze steroidoopornością, zmniejszenie wiązania receptorów GKS do wrażliwych w jądrze elementów lub brak hamowania c-Jun N-końcowej fosforylacji, czy uwarunkowania genetyczne jak polimorfizm genu kodującego receptor glikokortykosteroidowy h-GCR/NR3C1. Chorzy ci mimo stosowania GKS prezentują miejscową i systemową eozynofilię. Dalsze zwiększanie u nich dawki GKS może nie przynieść wymiernego efektu klinicznego, natomiast wiąże się z ryzykiem poważnych objawów niepożądanych. Część zjawisk prowadzących do rozwoju steroidooporności wydaje się mieć odwracalny charakter i stanowi potencjalny cel interwencji farmakologicznej.

Wpływ omalizumabu na eozynofilię u chorych na astmę w badaniach klinicznych, obserwacyjnych i opisach przypadków

W badaniu Noga i wsp. [18] terapia omalizumabem istotnie redukowała odsetek eozynofiliów we krwi obwodowej w 16. i 52. tygodniu od jej rozpoczęcia. Takaku i wsp. [52] natomiast obserwowali istotną redukcję liczby eozynofiliów w płwocinie indukowanej oraz stężenia FeNO po 16 tygodniach terapii omalizumabem u chorych na ciężką niekontrolowaną astmę oskrzelową.

W zbiorczej analizie Massanari [53] pięciu badań klinicznych oceniających skuteczność omalizumabu u pacjentów z przewlekłą umiarkowaną/ciężką astmą alergiczną, liczba eozynofiliów we krwi obwodowej na koniec badania, w porównaniu z wartościami wyjściowymi, była zmniejszona jedynie w grupie chorych otrzymujących omalizumab, z większym spadkiem obserwowanym u pacjentów, u których stężenie wolnych IgE w surowicy po leczeniu było niższe niż 50 ng/ml. Badacze ci znaleźli również korelację pomiędzy zależnym od działania omalizumabu spadkiem eozynofiliów we krwi obwodowej i różnymi parametrami klinicznymi, między innymi występowaniem ciężkich zaostrzeń, wartością FEV₁, odpowiedzią na leczenie omalizumabem ocenianą przez lekarzy w skali *Global Evaluation of Treatment Effectiveness* (GETE) (poprawa kliniczna/zmniejszenie liczby eozynofiliów oraz brak poprawy/zwiększenie liczby eozynofiliów).

W badaniu o akronimie EXTRA przeprowadzonym przez Hanania i wsp. [54] istotną klinicznie redukcję częstości ciężkich zaostrzeń astmy (o 56%) w wyniku terapii omalizumabem w porównaniu z grupą otrzymującą placebo, osiągnięto tylko w grupie z wysoką eozynofilią we krwi obwodowej (≥ 260 EO/ μ l). Podobny efekt obserwowano dla FeNO i stężenia periostyny w surowicy, które są uważane za biomarkery eozynofilowego zapalenia dróg oddechowych. Zietkowski i wsp. [55] również wykazali istotne zmniejszenie liczby eozynofiliów i ECP we krwi obwodowej, stężenia FeNO, które to korelowały ze spadkiem poziomu eotaksyny w kondensacie powietrza wydechowego u chorych na astmę leczonych omalizumabem. Natomiast Skiepmo i wsp. [56] zaobserwowali, że spadek liczby eozynofiliów we krwi obwodowej o 50% w stosunku do wartości wyjściowej pod wpływem terapii omalizumabem wiąże się z niższą częstością ciężkich zaostrzeń w porównaniu z grupą z mniejszym obniżeniem liczby eozynofiliów. Autorzy tej pracy sugerują, że monitorowanie eozynofilii we krwi obwodowej w trakcie terapii omalizumabem może być użytecznym wskaźnikiem odpowiedzi na omalizumab i predyktorem przyszłych zaostrzeń.

Doświadczenia własne pokazują, że omalizumab jest wysoce efektywny u chorych na astmę alergiczną z hypereozynofilią we krwi obwodowej i w tkankach. Autorzy opisali przypadek chorego na niekontrolowaną ciężką astmę alergiczną uczulonego na roztocze kurzu domowego i *Alteranaria* z hypereozynofilią obwodową (1700 Eo/ μ l) i tkankową (w BAL Eo 56%), u którego leczenie wysokimi dawkami wziewnych i systemowych GKS nie

przynosiło normalizacji liczby eozynofiliów [57]. Włączenie do terapii omalizumabu przyniosło nie tylko istotną poprawę kontroli choroby przy 4-krotnej redukcji zapotrzebowania na systemowe GKS, ale również normalizację liczby eozynofiliów we krwi obwodowej. U innej pacjentki chorującej na ciężką niekontrolowaną astmę alergiczną ze współtowarzyszącą przewlekłą pokrzywką i z zagrażającym życiu obrzękiem naczynioruchowym oraz z nadwrażliwością na niesteroidowe leki przeciwzapalne i z hipereozynofilią we krwi obwodowej autorzy niniejszej pracy obserwowali normalizację liczby eozynofiliów w trakcie leczenia omalizumabem mimo redukcji dobowej dawki systemowych GKS [58].

Podobne doświadczenia mieli Pelaia i wsp. [59]. Leczyli oni omalizumabem 5 pacjentów chorych na astmę z utrzymującą się eozynofilią we krwi obwodowej (średni % Eo do całkowitej liczby leukocytów \pm SD: $15,9 \pm 8,0\%$; Eo w liczbach bezwzględnych $1588,0 \pm 956,9$ komórek/ μ l) mimo długotrwałego leczenia kortykosteroidami wziewnymi i systemowymi. Po 16 tygodniach leczenia omalizumabem liczba eozynofiliów we krwi obwodowej niemal znormalizowała się (średni % Eo do całkowitej liczby leukocytów \pm SD: $6,3 \pm 2,3\%$; liczby bezwzględne: $462,0 \pm 262,3$ μ l) przy jednoczesnym obniżeniu dobowej dawki doustnych GKS, zmniejszyła się też liczba zaostrzeń.

Powyższe badania i obserwacje pokazują, że eozynofilia we krwi obwodowej, w płwocinie, w BAL i w bioptatach oskrzeli może być istotnym markerem klinicznej odpowiedzi na omalizumab. W monitorowaniu leczenia omalizumabem przydatne wydaje się badanie morfologii krwi obwodowej z różnicowaniem granulocytów.

Efektywność omalizumabu w zespołach eozynofilowych

Potwierdzenie skuteczności omalizumabu w zapaleniu eozynofilowym przynoszą opisy przypadków jego efektywności w zespołach przebiegających z eozynofilią, gdzie aktywacja na drodze IgE-zależnej nie jest kluczowym patomechanizmem choroby, lub gdzie IgE w ogóle nie ma udziału w patomechanizmie. I tak korzystny efekt działania omalizumabu obserwowano w: aspergillozie oskrzelowo-płucnej [60, 61], zespole Churga-Strauss [62, 63], eozynofilowym zapaleniu płuc [64], chorobie Kimury [65], eozynofilowym zapaleniu ucha środkowego [66] oraz eozynofilowych zespołach gastroenterologicznych [67].

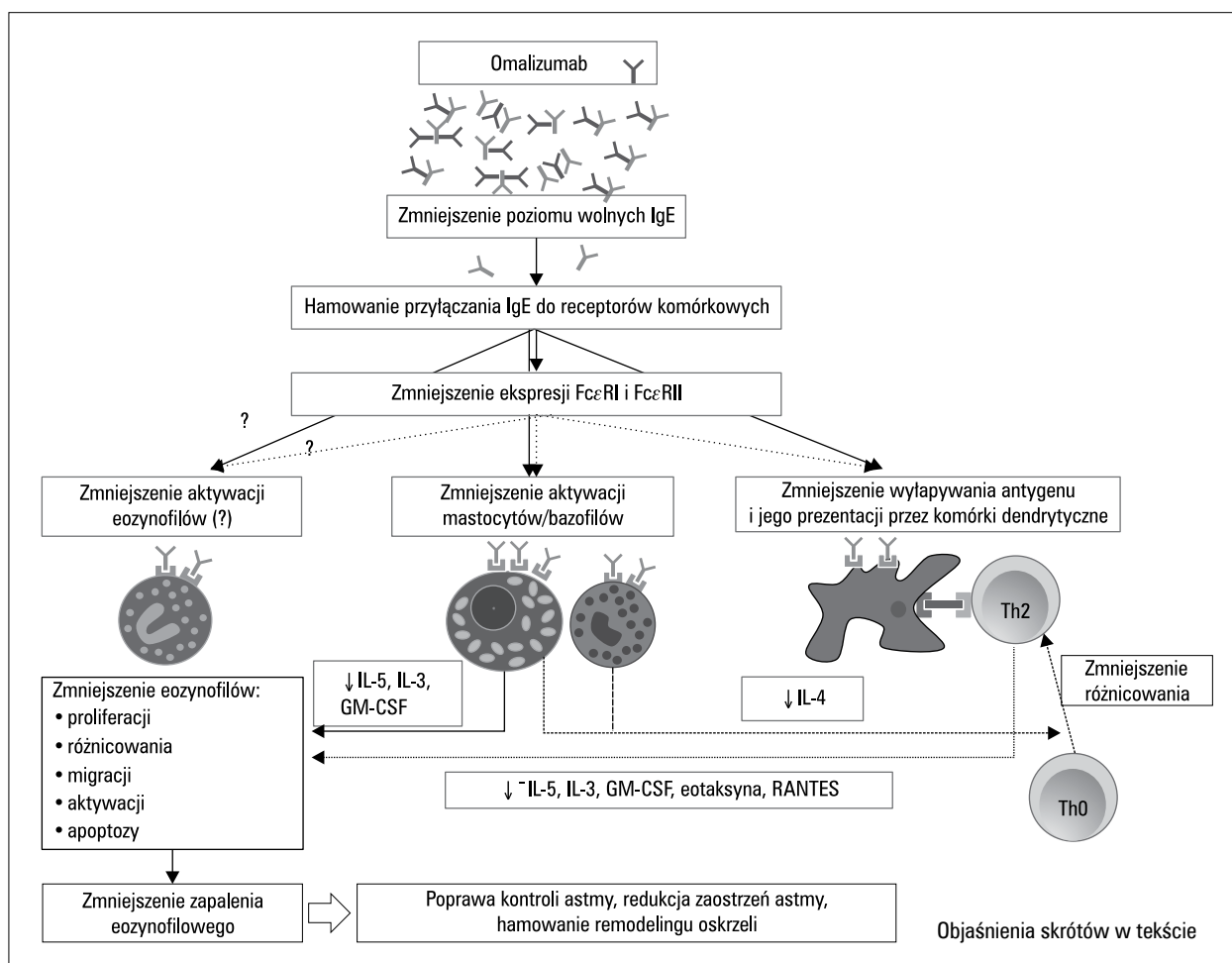
Doświadczenia własne autorów pokazują, że omalizumab jest efektywny w astmie z nadwrażliwością na niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) przebiegającej zwykle z wysoką eozynofilią obwodową i tkankową [68]. Astma u tych chorych często przebiega ciężko, nawet jeśli unikają narażenia na NLPZ. Wiadomo, że mechanizm nadwrażliwości na NLPZ jest IgE-niezależny i wiąże się z hamowaniem aktywności cyklooksygenazy-1 i nadprodukcją leukotrienów. Niewątpliwie w rozwoju nadwrażliwości i w obrazie klinicznym istotną rolę pełnią eozynofile, które są bogatym źródłem leukotrienów cysteinylowych [69]. Potwierdzeniem skuteczności omalizumabu w astmie aspirynowej są opisy przypadków chorych, u których po leczeniu omalizumabem uzyskano tolerancję na wyższe dawki NLPZ [70–73].

Mechanizmy oddziaływania omalizumabu na eozynofile

Antyeozynofilowe działanie omalizumabu przejawia się zmniejszeniem liczby tych komórek we krwi obwodowej oraz w tkankach objętych zapaleniem eozynofilowym, jak również wpływem omalizumabu na przeżywalność i funkcje eozynofili. Badania nad mechanizmem tego działania ograniczają się obecnie do przypadków chorób alergicznych.

Wiadomo, że omalizumab nie działa bezpośrednio na eozynofile, moduluje natomiast środowisko, w którym komórki te różnicują się, migrują, ulegają aktywacji i podlegają apoptozie (ryc. 1).

Na powierzchni eozynofiliów znajdują się receptory dla IgE o wysokim i niskim powinowactwie, potencjalnie redukcja wolnych IgE mogłaby mieć więc znaczenie dla funkcjonowania i przeżywalności eozynofiliów we krwi i w tkankach. Wyniki badań immunohistochemicznych i immunocytochemicznych prowadzonych u pacjentów z chorobami alergicznymi wykazały, że miejscowa prowokacja alergenem indukuje ekspresję Fc ϵ RI na eozynofiliach naciekających drogi oddechowe [74] i skórę [75, 76]. Ponadto obecność Fc ϵ RI potwierdzono również na eozynofiliach krwi obwodowej u chorych z różnymi postaciami chorób alergicznych [77]. W przeciwieństwie do przedstawionych badań Seminario i wsp. [78] nie byli w stanie wykryć Fc ϵ RI na powierzchni eozynofiliów, podczas gdy obserwowali duże ilości Fc ϵ RI α wewnątrzkomórkowo i wykazali uwalnianie go do medium w postaci rozpuszczalnego receptora. Kita i wsp. [79] potwierdzili natomiast niską powierzchniową ekspresję Fc ϵ RI na eozynofiliach super czułą metodą biotylną –



Rycina 1. Mechanizmy działania omalizumabu na zapalenie eozynofilowe dróg oddechowych

streptawidyna. W świetle tych wyników wydaje się, że synteza tego białka receptorowego i potem jego ekspresja na powierzchni eozynofilów jest regulowana przez różne mechanizmy, stąd różnice pomiędzy wynikami badań immunohistochemicznych oceniających obecność białka bez względu na lokalizację komórkową a oceną ekspresji tego receptora na powierzchni eozynofilów techniką biotyna-streptawidyna. Osobnym problemem jest funkcjonalne znaczenie ekspresji FcεRI na eozynofilach. W chorobach pasożytniczych aktywacja FcεRI prowadzi do degranulacji eozynofilów i pośredniczy w odpowiedzi cytotoksycznej mediowanej przez eozynofile [80]. Rola FcεRI na eozynofilach w chorobach alergicznych jest nie do końca jasna.

Tomassini i wsp. [81] przeprowadzili eksperyment, w którym eozynofile izolowane od alergików stymulowali alergenami i przeciwciałami anti-IgE, anti-IgA i anti-IgG. Stymulacja swoistymi alergenami, na które byli uczuleni chorzy i przeciwciałami anti-IgE powodowała uwalnianie z eozynofilów EPO, ale nie ECP, stymulacja

anti-IgG aktywowała eozynofile do uwalniania ECP, ale nie EPO, natomiast stymulacja anti-IgA uwalniała z eozynofilów zarówno ECP, jak i EPO. Autorzy doszli do wniosku, że eozynofile selektywnie uwalniają mediatory w wyniku stymulacji błonowych receptorów dla immunoglobulin w zależności od ich typu. Kayaba i wsp. [82] wykazali, że aktywacja eozynofilów na drodze IgE-zależnej prowadzi do wydzielania przez nie IL-10, co może wskazywać na ich immunoregulacyjną rolę w zapaleniu. Natomiast Kita i wsp. [79] nie obserwowali żadnego istotnego efektu biologicznego (degranulacji, produkcji rodników tlenowych czy uwalniania leukotrienu C4) po stymulacji FcεRI na eozynofilach.

Różnice w odpowiedzi bazofilów i eozynofilów na stymulację przez FcεRI mogą wynikać właśnie z powierzchniowej prezentacji tego receptora. Liczba receptorów o wysokim powinowactwie dla IgE na eozynofilach w porównaniu z bazofilami jest wielokrotnie niższa (stanowi ok. 0,5%), stąd ta droga regulacji, jeśli w ogóle ma jakieś znaczenie, to raczej drugorzędne.

Również badania dotyczące funkcji FcεRII na eozynofilach są niejednoznaczne. Capron i wsp. [83] zaobserwowali, że stosując przeciwciała anty-CD23 mAb IgE, można zahamować cytotoksyczności eozynofilów zależną od IgE. Lantero i wsp. [84] wykazali, że stymulacja eozynofilów od pacjentów atopowych i nieatopowych na drodze IgE-zależnej przez FcεRII prowadzi do funkcjonalnych zmian charakteryzujących się zwiększoną migracją eozynofilów związaną z nasiloną ekspresją LFA-1 i Mac-1, a Arock i wsp. [85], że aktywacja FcεRII powoduje uwalnianie przez eozynofile TNFα, przy czym istotny jest współudział IL-4 w tym zjawisku. Ekspresja tego receptora zależy od stymulacji IL-3 i GM-CSF [86].

Do tej pory nie badano wpływu omalizumabu na ekspresję i funkcje tych receptorów na eozynofilach, ich niska ekspresja i brak jednoznacznej zależności ekspresji od stężenia całkowitego IgE przemawia jednak za innym mechanizmem działania leku w zapaleniu eozynofilowym.

W chorobach alergicznych postuluje się trzy główne ścieżki aktywacji eozynofilów: ścieżkę Th2-zależną, Th1-zależną i związaną z mechanizmami odporności wrodzonej. W chorobach alergicznych najważniejsza jest droga Th2-zależna mediowana w głównej mierze przez IL-5 [87].

Hubner i wsp. [88] zaobserwowali, że w grupie z klinicznie istotną odpowiedzią na omalizumab zmiana poziomu IL-5 w surowicy w stosunku do wartości wyjściowej była większa, jak również wyjściowe poziomy IL-5 w surowicy były wyższe. Takaku i wsp. [52] wykazali, że 16-tygodniowa terapia omalizumabem zmniejsza produkcję IL-5 przez jednojądrowe komórki krwi obwodowej. Natomiast Noga i wsp. [9] nie udało się wykazać zmniejszenia liczby limfocytów produkujących IL-5 we krwi obwodowej, w wyniku terapii omalizumabem, choć Djukanovic i wsp. [8] wykazali, że 16-tygodniowa terapia omalizumabem powodowała zmniejszenie liczby CD3+, CD4+ i CD8+ limfocytów T w indukowanej płwocinie i biopłatach tkankowych. Być może miejscowe, w tkankach objętych procesem zapalnym, hamowanie produkcji IL-5 przez Th2 ma tu decydujące znaczenie. Poza limfocytami bogatym źródłem produkcji IL-5 są również same eozynofile oraz komórki tuczne i bazofile [89].

Wiadomo, że omalizumab nie tylko zmniejsza eozynofile we krwi obwodowej, ale i w tkankach. Za napływ eozynofilów do miejsca reakcji zapalnej odpowiadają czynniki chemotaktyczne. W badaniach Zietkowskiego i wsp. wykazano, że terapia omalizumabem zmniejsza stężenie eotaksyny [55] i RANTES [90] — silnych chemoatraktantów dla

eozynofilów, w powietrzu wydechowym u chorych na astmę alergiczną.

W przechodzeniu eozynofilów z naczyń do tkanek uczestniczą molekuly adhezyjne prezentowane na komórkach śródbłonna i eozynofilach, między innymi VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*) i VLA-4 (*very late antigen 4*). Ich ekspresję zwiększają IL-4 i IL-13 [91]. Wykazano, że omalizumab wpływa na produkcję tych cytokin [8, 9, 37], stąd potencjalnie może wpływać również na diapedezę eozynofilów.

Istotnym elementem utrzymywania się zapalenia eozynofilowego jest upośledzenie apoptozy eozynofilów w chorobach alergicznych. Znane są dwa mechanizmy aktywacji apoptozy w eozynofilach: aktywny i pasywny. Aktywny zależy od aktywacji uniwersalnego dla populacji leukocytów receptora Fas, lub jest związany z aktywacją receptora CD69. Pasywna droga wiąże się z obniżeniem w mikrośrodkowisku stężeń IL-3, IL-5 i GM-CSF, cytokin będących czynnikami wzrostu dla eozynofilów [92].

W badaniu Noga i wsp. [9] potwierdzono, że terapia omalizumabem indukuje w eozynofilach apoptozę, której markerem jest aneksyna V, nie obserwowano natomiast wzrostu poziomu 7-aminoaktynomycyny (markera nekrozy) oraz aktywacji CD69 i receptora Fas (CD95). Nasilenie apoptozy eozynofilów podczas leczenia omalizumabem należy zatem wiązać z pasywnym mechanizmem, który w głównej mierze zależy od obniżenia stężenia IL-5 [89], a być może również GM-CSF [9].

Oprócz wspomnianych mechanizmów na apoptozę wpływa obecność tlenku azotu (NO, *nitric oxide*) w miejscu zapalenia eozynofilowego. Hamuje on apoptozę zależną od aktywacji receptora Fas [93]. W astmie obserwuje się podwyższone stężenia NO, natomiast terapia omalizumabem istotnie obniża stężenia NO w powietrzu wydechowym [28, 34, 53, 55, 56], co prawdopodobnie ma znaczenie dla regresji zapalenia eozynofilowego dróg oddechowych.

Podsumowanie

Skuteczność kliniczna omalizumabu została potwierdzona w wielu badaniach klinicznych. Jego farmakologiczny mechanizm działania jest bardziej złożony, niż początkowo się wydawało. Poza hamowaniem wczesnej i późnej reakcji alergicznej związanej z aktywacją komórek tucznych i bazoofilów za pośrednictwem FcεRI wpływa również na przewlekłe zapalenie alergiczne głównie przez zmniejszanie nacieku eozynofilowego. Wpływ omalizumabu na eozynofile jest pośred-

ni poprzez hamowanie produkcji prozapalnych cytokin przez komórki tuczne, bazofile i limfocyty pomocnicze profilu Th2 i dotyczy różnych etapów rozwoju życia tych komórek od ich różnicowania się w szpiku, przez migrację do tkanek, aktywację i apoptozę. Jak wykazano, skuteczność kliniczna omalizumabu w astmie koreluje z poziomem eozynofilów we krwi obwodowej i oskrzelach oraz ich aktywnością, więc ten mechanizm działania wydaje się co najmniej równie istotny jak blokowanie ścieżki IgE-zależnej i może odpowiadać za skuteczność tego leku w astmie niealergiczej [94, 95]. Kliniczną efektywność antyeozynofilową omalizumabu potwierdzają opisy przypadków efektywności terapii tym lekiem w zespołach eozynofilowych niezwiązanych z zapaleniem alergicznym.

Konflikt interesów

I. Kupryś-Lipińska i P. Kuna otrzymywali honoraria za wykłady od firmy Novartis oraz prowadzili badania kliniczne sponsorowane przez Novartis, K. Molińska deklaruje brak konfliktu interesu.

Piśmiennictwo

- Kupryś-Lipińska I, Kuna P. Patofizjologia chorób alergicznych. In: Liebhart J (red.). Choroby alergiczne dorosłych, Medical Tribune 2016; 13–70.
- Burrows B, Martinez FD, Halonen M, Barbee R.A, Cline MG. Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens. *N Engl J Med* 1989; 320: 271–277.
- Kovac K, Dodig S, Tješić-Drinković D, Raos M. Correlation between asthma severity and serum IgE in asthmatic children sensitized to *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Arch Med Res* 2007; 38: 99–105.
- Carroll WD, Lenney W, Child F i wsp. Asthma severity and atopy: how clear is the relationship? *Arch Dis Child* 2006; 91: 405–409.
- Kuna P, Kupryś-Lipińska I. Omalizumabmonoklonalne przeciwciała anty IgE w leczeniu opornej na standardową terapię astmy. *Ordnator Leków* 2008; 8: 22–29.
- Kupryś I, Kuna P. Regulacja syntezy immunoglobuliny E. *Post Hig Med Dośw* 1997; 51: 651–682.
- Lowe P, Tannenbaum S, Gautier A, Massanari M, Panahloo Z. Omalizumab (Xolair) may normalize IgE production rate in patients with moderate-to-severe atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: S152.
- Djukanović R, Wilson SJ, Kraft M i wsp. Effects of treatment with anti-immunoglobulin E antibody omalizumab on airway inflammation in allergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 17: 583–93.
- Noga O, Hanf G, Brachmann I i wsp. Effect of omalizumab treatment on peripheral eosinophil and T-lymphocyte function in patients with allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 1493–1499.
- Humbert M, Grant JA, Taborda-Barata L i wsp. High-affinity IgE receptor (FcεRI)-bearing cells in bronchial biopsies from atopic and nonatopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 1931–1937.
- Fregonese L, Patel A, van Schadewijk A i wsp. Expression of the high-affinity IgE receptor (FcεRI) is increased in fatal asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169: A297.
- Hamelmann E. The rationale for treating allergic asthma with anti-IgE. *Eur Respir Rev* 2007; 16: 61–66.
- Lin H, Boesel KM, Griffith DT i wsp. Omalizumab rapidly decreases nasal allergic response and FcεRI on basophils. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 297–302.
- MacGlashan DW Jr, Bochner BS, Adelman DC i wsp. Down-regulation of FcεRI expression on human basophils during in vivo treatment of atopic patients with anti-IgE antibody. *J Immunol* 1997; 158: 1438–1445.
- Chaney P, Contin-Bordes C, Garcia G i wsp. Omalizumab-induced decrease of FcεRI expression in patients with severe allergic asthma. *Respir Med* 2010; 104: 1608–1617.
- Saini SS, MacGlashan DW Jr, Sterbinsky SA i wsp. Down-regulation of human basophil IgE and FC epsilon RI alpha surface densities and mediator release by anti-IgE-infusions is reversible in vitro and in vivo. *J Immunol* 1999; 162: 5624–5630.
- Noga O, Hanf G, Kunkel G. Immunological and clinical changes in allergic asthmatics following treatment with omalizumab. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 131: 46–52.
- Noga O, Hanf G, Kunkel G, Kleine-Tebbe J. Basophil Histamine Release Decreases during Omalizumab Therapy in Allergic Asthmatics. *Int Arch Allergy Immunol* 2007; 146: 66–70.
- Pereira Santos MC, Campos Melo A, Caetano A i wsp. Longitudinal study of the expression of FcεRI and IgE on basophils and dendritic cells in association with basophil function in two patients with severe allergic asthma treated with Omalizumab. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2015; 47: 38–40.
- Hill DA, Siracusa MC, Ruymann KR, Tait Wojno ED, Artis D, Spergel JM. Omalizumab therapy is associated with reduced circulating basophil populations in asthmatic children. *Allergy* 2014; 69: 674–677.
- Beck LA, Marcotte GV, MacGlashan D, Togias A, Saini S. Omalizumab-induced reductions in mast cell FcεRI expression and function. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 527–530.
- Prussin C, Griffith DT, Boesel KM, Lin H, Foster B, Casale TB. Omalizumab treatment downregulates dendritic cell FcεRI expression. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 1147–1154.
- Feuchtinger T, Bartz H, von Berg A i wsp. Treatment with omalizumab normalizes the number of myeloid dendritic cells during the grass pollen season. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 428–430.
- Eggel A, Baravalle G, Hobi G i wsp. Accelerated dissociation of IgE-FcεRI complexes by disruptive inhibitors actively desensitizes allergic effector cells. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 133: 1709–1719.
- Serrano-Candelas E, Martinez-Aranguren R, Valero A i wsp. Comparable actions of omalizumab on mast cells and basophils. *Clin Exp Allergy* 2016; 46: 92–102.
- Boulet LP, Chapman KR, Côté J i wsp. Inhibitory effects of an anti-IgE antibody E25 on allergen-induced early asthmatic response. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1835–1840.
- Zielen S, Lieb A, De La Motte S i wsp. Omalizumab protects against allergen-induced bronchoconstriction in allergic (immunoglobulin E-mediated) asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 2013; 160: 102–110.
- Fahy JV, Fleming HE, Wong HH i wsp. The effect of an anti-IgE monoclonal antibody on the early- and late-phase responses to allergen inhalation in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1828–1834.
- van Rensen EL, Evertse CE, van Schadewijk WA i wsp. Eosinophils in bronchial mucosa of asthmatics after allergen challenge: effect of anti-IgE treatment. *Allergy* 2009; 64: 72–80.
- Elishmereni M, Alenius HT, Bradding P i wsp. Physical interactions between mast cells and eosinophils: a novel mechanism enhancing eosinophil survival in vitro. *Allergy* 2011; 66: 376–385.
- Macfarlane AJ, Kon OM, Smith SJ i wsp. Basophils, eosinophils, and mast cells in atopic and nonatopic asthma and in late-phase allergic reactions in the lung and skin. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 99–107.
- Roth M, Zhong J, Zumkeller C, S'ng CT, Goulet S, Tamm M. The role of IgE-receptors in IgE-dependent airway smooth muscle cell remodeling. *PLoS One* 2013; 8: e56015. doi: 10.1371/journal.pone.0056015.
- Zietkowski Z, Skiepkó R, Tomasiak-Lozowska MM, Bodzenta-Lukaszyk A. Anti-IgE therapy with omalizumab decreases endothelin-1 in exhaled breath condensate of patients with severe persistent allergic asthma. *Respiration* 2010; 80: 534–542.
- Roth M, Zhao F, Zhong J, Lardinois D, Tamm M. Serum IgE induced airway smooth muscle cell remodeling is independent

- of allergens and is prevented by omalizumab. *PLoS One* 2015; 10: e0136549 doi: 10.1371/journal.pone.0136549.
35. Roth M, Tamm M. The effects of omalizumab on IgE-induced cytokine synthesis by asthmatic airway smooth muscle cells. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2010; 104: 152–160.
 36. Huang YC, Leyko B, Frieri M. Effects of omalizumab and budesonide on markers of inflammation in human bronchial epithelial cells. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 95: 443–451.
 37. Hoshino M, Ohtawa J. Effects of adding omalizumab, an anti-immunoglobulin E antibody, on airway wall thickening in asthma. *Respiration* 2012; 83: 520–528.
 38. Humbert M, Beasley R, Ayres J i wsp. Benefits of omalizumab as add-on therapy in patients with severe persistent asthma who are inadequately controlled despite best available therapy (GINA 2002 step 4 treatment): INNOVATE. *Allergy* 2005; 60: 309–316.
 39. Humbert M, Ayre G, Fox H, Blogg M. Number needed to treat to prevent one medically significant event per year with add-on omalizumab: INNOVATE. XXV EAACI Congress (Vienna, 10–14 June 2006) Abstract Book 2006; 41, 125.
 40. Normansell R, Walker S, Milan SJ, Walters EH, Nair P. Omalizumab for asthma in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; 1: CD003559 doi: 10.1002/14651858.CD003559.
 41. Chipps B, Buhl R, Beeh KM, Fox H, Thomas K, Reisner C. Improvement in quality of life with omalizumab in patients with severe allergic asthma. *Curr Med Res Opin* 2006; 22: 2201–2208.
 42. Kupryś-Lipińska I, Majak P, Molinska J, Kuna P. Effectiveness of the Polish program for the treatment of severe allergic asthma with omalizumab: a single-center experience. *BMC Pulm Med* 2016; 16: 61.
 43. Global Initiative for Asthma (GINA) 2015. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. <http://www.ginasthma.org>.
 44. Schmekel B, Venge P. Markers for eosinophils and T-lymphocytes as predictors of late asthmatic response. *Allergy* 1993; 48 (17 Suppl): 94–97.
 45. Louis R, Lau LC, Bron AO, Roldaan AC, Radermecker M, Djukanovic R. The relationship between airways inflammation and asthma severity. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 9–16.
 46. Green RH, Brightling CE, McKenna S i wsp. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 1715–1721.
 47. Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125 (2 Suppl 2): S73–80.
 48. Leung DYM, Martin RJ, Szeffler SJ i wsp. Dysregulation of interleukin 4, interleukin 5, and interferon gamma gene expression in steroid-resistant asthma. *J Exp Med* 1995; 181: 33–40.
 49. Sher E, Leung DYM, Surs W i wsp. Steroid-resistant asthma. Cellular mechanisms contributing to inadequate response to glucocorticoid therapy. *J Clin Invest* 1994; 93: 33–39.
 50. Panek M, Pietras T, Kupryś-Lipińska I, Górski P, Kuna P, Szemraj J. The analysis of the factors influencing the development of glucocorticoid resistance in the etiopathogenesis of severe bronchial asthma. *Postepy Biochem* 2010; 56: 373–382.
 51. Adcock IM, Lane SJ, Brown CR, Lee TH, Barnes PJ. Abnormal glucocorticoid receptor-activator protein 1 interaction in steroid-resistant asthma. *J Exp Med* 1995; 182: 1951–1958.
 52. Takaku Y, Soma T, Nishihara F i wsp. Omalizumab attenuates airway inflammation and interleukin-5 production by mononuclear cells in patients with severe allergic asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 2013; 161 (Suppl 2): 107–117.
 53. Massanari M, Holgate ST, Busse WW, Jimenez P, Kianifard F, Zeldin R. Effect of omalizumab on peripheral blood eosinophilia in allergic asthma. *Respir Med* 2010; 104: 188–196.
 54. Hanania NA, Wenzel S, Rosén K i wsp. Exploring the effects of omalizumab in allergic asthma: an analysis of biomarkers in the EXTRA study. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 187: 804–811.
 55. Zietkowski Z, Skiepkó R, Tomasiak-Lozowska MM, Bodzenta-Lukaszyk A. Airway inflammation and eotaxin in exhaled breath condensate of patients with severe persistent allergic asthma during omalizumab therapy. *Adv Med Sci* 2011; 56: 318–322.
 56. Skiepkó R, Zietkowski Z, Lukaszyk M i wsp. Changes in blood eosinophilia during omalizumab therapy as a predictor of asthma exacerbation. *Postepy Dermatol Alergol* 2014; 31: 305–309.
 57. Kupryś-Lipińska I, Kołacińska-Flont M, Marczak J, Górski P, Kurmanowska Z, Kuna P. Effectiveness of omalizumab in an asthmatic patient with severe airway and blood eosinophilia. *Postepy Dermatol Alergol* 2015; 32: 478–479.
 58. Kupryś-Lipińska I, Korczyńska P, Tworek D, Kuna P. Effectiveness of omalizumab in a patient with a life-threatening episode of bronchospasm and larynx angioedema after exposure to house dust. *Postepy Dermatol Alergol* 2014; 31: 39–44.
 59. Pelaia G, Gallelli L, Romeo P i wsp. Omalizumab decreases exacerbation frequency, oral intake of corticosteroids and peripheral blood eosinophils in atopic patients with uncontrolled asthma. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2011; 49: 713–721.
 60. van der Ent CK, Hoekstra H, Rijkers GT. Successful treatment of allergic bronchopulmonary aspergillosis with recombinant anti-IgE antibody. *Thorax* 2007; 62: 276–277.
 61. Collins J, Devos G, Hudes G, Rosenstreich D. Allergic bronchopulmonary aspergillosis treated successfully for one year with omalizumab. *J Asthma Allergy* 2012; 5: 65–70.
 62. Giavina-Bianchi P, Giavina-Bianchi M., Agondi R., Kalil J. Administration of anti-IgE to a Churg-Strauss syndrome patient. *Int Arch Allergy Immunol* 2007; 144: 155–158.
 63. Iglesias E, Camacho Lovillo M, Delgado Pecellín I i wsp. Successful management of Churg-Strauss syndrome using omalizumab as adjuvant immunomodulatory therapy: First documented pediatric case. *Pediatr Pulmonol* 2013; 49: E78–81. doi: 10.1002/ppul.22884.
 64. Kaya H, Gümüş S, Uçar E i wsp. Omalizumab as a steroid-sparing agent in chronic eosinophilic pneumonia. *Chest* 2012; 142: 513–516.
 65. Nonaka M, Sakitani E, Yoshihara T. Anti-IgE therapy to Kimura's disease: A pilot study. *Auris Nasus Larynx* 2014; 41: 384–388.
 66. Iino Y, Hara M, Hasegawa M i wsp. Clinical efficacy of anti-IgE therapy for eosinophilic otitis media. *Otol Neurotol* 2012; 33: 1218–1224.
 67. Foroughi S, Foster B, Kim N i wsp. Anti-IgE treatment of eosinophil-associated gastrointestinal disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 594–601.
 68. Kupryś-Lipińska I, Majak P, Molinska J, Jonakowski M, Kuna P. Comparison of omalizumab therapy effectiveness in patients with hypersensitivity non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) and patients who tolerate NSAID (non-NSAID) — Polish real life experience. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 137 (Suppl) AB 390.
 69. Laidlaw TM, Boyce JA. Aspirin-exacerbated respiratory disease — new prime suspects. *N Engl J Med* 2016; 374: 484–488.
 70. Guillén D, Bobolea I, Calderon O i wsp. Aspirin desensitization achieved after omalizumab treatment in a patient with aspirin-exacerbated urticaria and respiratory disease. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2015; 25: 133–135.
 71. Bergmann KC, Zuberbier T, Church MK. Omalizumab in the treatment of aspirin-exacerbated respiratory disease. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2015; 3: 459–460.
 72. Aksu K, Kurt E. Aspirin tolerance following omalizumab therapy in a patient with aspirin-exacerbated respiratory disease. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2013; 41: 208–210.
 73. Bobolea I, Barranco P, Fiandor A, Cabañas R, Quirce S. Omalizumab: a potential new therapeutic approach for aspirin-exacerbated respiratory disease. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2010; 20: 448–449.
 74. Rajakulasingham K, Till S, Ying S i wsp. Increased expression of high affinity IgE (FcεRI) receptor-α chain mRNA and protein-bearing eosinophils in human allergen-induced atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 233–240.
 75. Barata LT, Ying S, Grant JA i wsp. Allergen-induced recruitment of FcεRI1 eosinophils in human atopic skin. *Eur J Immunol* 1997; 27: 1236–1241.
 76. Ying S, Barata LT, Meng Q i wsp. High-affinity immunoglobulin E receptor (FcεRI)-bearing eosinophils, mast cells, macrophages and Langerhans' cells in allergen-induced late-phase cutaneous reactions in atopic subjects. *Immunology* 1998; 93: 281–288.
 77. Sihra BS, Kon OM, Grant JA, Kay AB. Expression of high affinity IgE receptors (FcεRI) on peripheral blood basophils, monocytes, and eosinophils in atopic and nonatopic subjects: relationship to total serum IgE concentrations. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 699–706.

78. Seminario MC, Saini SS, MacGlashan DW Jr, Bochner BR. Intracellular expression and release of FcεRIα by human eosinophils. *J Immunol* 1999; 162: 6893–6900.
79. Kita H, Kaneko M, Bartemes KR i wsp. Does IgE bind to and activate eosinophils from patients with allergy? *J Immunol* 1999; 162: 6901–6911.
80. Gounni AS1, Lamkhioued B, Ochiai K i wsp. High-affinity IgE receptor on eosinophils is involved in defence against parasites. *Nature* 1994; 367: 183–186.
81. Tomassini M, Tscopoulos A, Tai PC i wsp. Release of granule proteins by eosinophils from allergic and nonallergic patients with eosinophilia on immunoglobulin-dependent activation. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88: 365–375.
82. Kayaba H, Dombrowicz D, Woerly G, Papin JP, Loiseau S, Capron M. Human eosinophils and human high affinity IgE receptor transgenic mouse eosinophils express low levels of high affinity IgE receptor, but release IL-10 upon receptor activation. *J Immunol* 2001; 167: 995–1003.
83. Capron M, Truong MJ, Aldebert D i wsp. Heterogeneous expression of CD23 epitopes by eosinophils from patients. Relationships with IgE-mediated functions. *Eur J Immunol* 1991; 21: 2423–2429.
84. Lantero S, Alessandri G, Spallarossa D, Scarso L, Rossi GA. Stimulation of eosinophil IgE low-affinity receptor leads to increased adhesion molecule expression and cell migration. *Eur Respir J* 2000; 16: 940–946.
85. Arock M, Le Goff L, Bécherel PA, Dugas B, Debré P, Mossalayi MD. Involvement of Fc epsilon RII/CD23 and L-arginine dependent pathway in IgE-mediated activation of human eosinophils. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 203: 265–271.
86. Mawhorter SD, Stephany DA, Ottesen EA, Nutman TB. Identification of surface molecules associated with physiologic activation of eosinophils. Application of whole-blood flow cytometry to eosinophils. *J Immunol* 1996; 156: 4851–4858.
87. Alam R, Busse WW. The eosinophil — quo vadis? *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 38–42.
88. Hubner M, Korn S, Jung M, Haasler I, Taube Ch, Buhl Rb. Effects of omalizumab on markers of eosinophilic inflammation in patients with severe allergic asthma. *Eur Resp J* 2011; 38 (Suppl 55): 3352.
89. Varricchi G, Bagnasco D, Borriello F, Heffler E, Canonica GW. Interleukin-5 pathway inhibition in the treatment of eosinophilic respiratory disorders: evidence and unmet needs. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2016; 16: 186–200.
90. Zietkowski Z, Skiepkó R, Tomasiak-Lozowska MM, Lenczewska D, Bodzenta-Lukaszyk A. RANTES in exhaled breath condensate of patients with severe persistent allergic asthma during omalizumab therapy. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 154: 25–32.
91. Seminario MC, Bochner BS. Expression and function of beta 1 integrins on human eosinophils. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1997; 92 (Suppl 2): 157–164.
92. Czarnobilska E, Jakiela B. Zaburzenia apoptozy eozynofilów w etiopatogenezie astmy oskrzelowej. *Acta Pneumologica et Allergologica Pediatrica* 1998; 2: 21–26.
93. Hebestreit H, Dibbert B, Balatti I i wsp. Disruption of fas receptor signaling by nitric oxide in eosinophils. *J Exp Med* 1998; 187: 415–425.
94. Menzella F, Piro R, Facciolongo N, Castagnetti C, Simonazzi A, Zucchi L. Long-term benefits of omalizumab in a patient with severe non-allergic asthma. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2011; 7: 9.
95. Garcia G, Magnan A, Chiron R i wsp. A proof-of-concept, randomized, controlled trial of omalizumab in patients with severe, difficult-to-control, nonatopic asthma. *Chest* 2013; 144: 411–419.