

Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni



Autoreferát disertační práce
MUDr. Petr Vaník

Plicní a TBC oddělení Nemocnice České Budjovice, a.s.

Studijní program: Vnitřní nemoci

Fenotypicky řízená léčba pacientů
S těžkým astma bronchiale v ČR

Fenotype – based treatment of severe asthma bronchiale in the Czech Republic

Disertační práce

Plzeň 2022

Disertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného postgraduálního doktorandského studia na Plicním a TBC oddělení Nemocnice České Budějovice, a.s.

Uchazeč: MUDr. Petr Vaník
Plicní a TBC oddělení Nemocnice České Budějovice, a.s.
B. Němcové 54, 37001 České Budějovice

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Martin Matějovič, Ph.D.
1. Interní klinika
LF UK a FN v Plzni
alej Svobody 80, 323 00 Plzeň

Školitel: doc. MUDr. Milan Teřl, Ph.D.
Klinika pneumologie a ftizeologie,
LF UK a FN v Plzni
Dr. E. Beneše 13, 305 99 Plzeň

Konzultant: MUDr. Jakub Novosad, Ph.D.
Ústav Klinické imunologie a alergologie
LF UK a FN v Hradci Králové

Oponenti: prof. MUDr. Eva Rozborilová, DrSc.
Klinika pneumologie a ftizeologie, Jesseniova lékařská fakulta v Martine,
Univerzita Komenského v Bratislave

doc. MUDr. Norbert Pauk, Ph.D.
Klinika pneumologie a hrudní chirurgie,
LF UK a FN Bulovka

Autoreferát odevzdán dne 13.4. 2022.

Obhajoba disertační práce před komisí pro obhajobu disertačních prací v oboru vnitřní nemoci na LF UK v Plzni.
se koná dne: v: hod.

Místo obhajoby: FN Plzeň.

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátu Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, Husova 3, Plzeň.

1. Úvod

Stejně jako v jiných oborech medicíny, dochází i v pneumologii v posledních letech k prudkému rozvoji poznatků o jednotlivých nemocech, zejména na molekulárně-buněčné úrovni. Jsou hledány a nalézány nové účinné léky, vyráběné biotechnologickými postupy, zejména pro těžké formy jednotlivých onemocnění. Nejvíce těchto tak zvaných biologických léků se v pneumologii uplatňuje v léčbě bronchogenního karcinomu a u těžkých forem astmatu. Biologické léky cílí na jednotlivé dílčí terče patogenetických mechanismů a díky tomu bývají účinné jen u části pacientů se stejnou základní diagnózou. Imunitně-zánětlivé etiopatogenetické mechanismy (nověji zvané endotypy) bývají v rámci jedné diagnózy odlišné. V praxi se proto snažíme jednak stanovit správně zastřešující základní diagnózu a poté co nejpřesněji i jednotlivé fenotypy pomocí biomarkerů. Tyto fenotypy, pokud odrážejí konkrétní endotypy, pak umožňují racionálně indikovat cílenou biologickou léčbu. Biomarkerů existuje celá řada, v klinické praxi však bývá jejich využitelnost limitovaná. Proto jsme se v naší práci zaměřili na biomarkery dobře využitelné v klinické praxi. V případech těžkého astmatu jsme se konkrétně zaměřili na alergologický profil, který byl dosud překvapivě zcela opomíjený. Jako druhý biomarker jsme zvolili periostin, protože to je relativně dobře měřitelný laboratorní parametr. Nutným předpokladem naší práce pak byla existence sítě center pro léčbu těžkého astmatu v ČR, tzv. Národní centrum pro léčbu těžkého astmatu (NCTA). Díky dobré spolupráci s kolegy z těchto center bylo možné získat podrobná data a následně provést jejich analýzu a korelaci výsledků léčby pacientů s těžkým alergickým astmatem vzhledem k alergologickému profilu jednotlivých pacientů.

2. Popis problematiky

U astmatu vedou rozličné etiopatogenetické nebo imunopatologické mechanismy k rozvoji zánětu, při kterém dochází k destrukci a remodelaci stěny průdušek. Tyto změny vedou k bronchiální obstrukci spojené s bronchiální hyperreaktivitou. Bronchiální obstrukce má složku zánětlivou, remodelační a konstriční. Zánětlivá složka reaguje na protizánětlivou léčbu, remodelační složka nelze dostupnou medikací zásadně ovlivnit, kdežto konstriční složka reaguje dobře na bronchodilatační terapii. U těžkých forem astmatu převažuje remodelační a zánětlivá složka, což se odráží v symptomech a také léčbě onemocnění [1]. Existuje mnoho důkazů, že astma bronchiale je značně heterogenní onemocnění [2].

V klinické praxi astma dělíme jednak podle tíže a úrovně jeho kontroly, společně se snahou o postižení základních fenotypů. Dle úrovně kontroly se dělí astma na nemoc pod plnou kontrolou, pod částečnou kontrolou a pod nedostatečnou kontrolou. Lékař by se měl zaměřit nejen na kontrolu aktuálních symptomů nemoci, ale i důsledné ovlivnění reziduálního zánětu a tím i remodelace stěny průdušek, spojené s rozvojem ireverzibilní obstrukce. Tíži onemocnění lze posoudit dle intenzity léčby, kterou potřebujeme k dosažení a udržení plné kontroly [1].

FENOTYPY ASTMATU

Fenotyp je soubor všech pozorovatelných vlastností a znaků živého organismu. Jak už bylo zmíněno dříve, astma je etiopatogeneticky výrazně heterogenní nemocí, neboť pacienti mohou mít různé patofyziologické mechanismy, klinické symptomy, a také různé morfoloické nálezy dýchacích cest a tím i různou odpověď na léčbu. Fenotypizace a endotypizace astmatu je proto důležitou součástí diagnostiky, která napomáhá v optimalizaci léčby a dosáhne se tak často lepší léčebné odpovědi [3]. Česká republika se stala první zemí, kde vzniklo v roce 2015 národní doporučení fenotypizující astma na základě bližších

charakteristik zánětu – konkrétně přítomnosti eozinofilie a alergie, vyústující ve tři základní fenotypy (schéma č. 1) [1,4].

Mezi základní fenotypy tedy patří astma alergické etiologie, kde dominuje přítomnost klinicky významné alergie, dále eozinofilní nealergické astma, kde je přítomna výrazná eozinofilie a neeozinofilní astma, kde chybí jak eozinofilie, tak klinicky významná alergie [5].

Čas ukázal, že uvedený fenotypický koncept je nejen pragmatický, ale zároveň koresponduje s novým imunologickým pohledem na detailní buněčněmolekulární úrovni [6]. Z tohoto pohledu je astma nově dělené na tzv. type 2low (noneozinofilní) a type 2high (eozinofilní) fenotypy, přičemž druhý se dále větví na alergický a nealergický. V populaci těžkých astmatiků má pravděpodobně více než 80% eozinofilní astma, a více než polovina z nich pak eozinofilní alergické astma bronchiale [4].

Eozinofilní alergické astma

Z klinického hlediska se jedná o nejčastější a zároveň většinou nejlépe léčitelný fenotyp astmatu. Z hlediska patogeneze jde o fenotyp na podkladě získané, specifické imunity cestou alergické senzibilizace (zánět Th2-high u alergického astmatu), hlavní roli z hlediska možností cílené biologické léčby zde hrají interleukin (IL) 4 a imunoglobulin E (IgE), dále IL-5 a IL-13. Každé alergické astma je současně eozinofilní a v některých případech je eozinofilie výrazná. Senzibilizace na plísně bývá spojována s nejtěžšími formami, eozinofilie je zde významná v periferní krvi i průduškách a současně zde bývají i vysoké hodnoty celkového i specifických IgE. Nicméně i tato astmata, kde je výrazná eozinofilie, pokud jsou z hlediska hladiny celkového IgE léčitelná anti-IgE léčbou, měla by tato zřejmě mít přednost - v daných případech je to totiž kauzálnější léčba než léčba zaměřená na IL-4 a IL-13. K dispozici jsou jen omezená data o zastoupení jednotlivých fenotypů astmatu v populaci - situaci v ČR zmapovala nedávno provedená epidemiologická studie FOSCA (Four seasons of Czech asthma study) [7]. Jednotlivé fenotypy se u jednoho nemocného můžou vzájemně do určité míry překrývat respektive do sebe navzájem vlivem nejrůznějších okolností přecházet. S narůstající tíží onemocnění se snižuje zastoupení pacientů s eozinofilním alergickým astmatem a zvětšuje se počet pacientů s nealergickým astmatem [6].

Eozinofilní nealergické astma

Nealergický eozinofilní fenotyp je výsledkem vrozené nespecifické imunity a je imunologicky označován jako typ 2 přirozené lymfoidní buňky (ILC) zprostředkovaná nemoc. Většinou se tento fenotyp manifestuje až ve středním věku, patří sem i astmatici s tzv. Samterovou trias, kdy je současně přítomna nosní polypóza a také intolerance nesteroidních antirevmatik. Z pohledu možností biologické léčby zde hrají hlavní roli IL5 a IL-13.

Non-eozinofilní astma

V relativně nedávné minulosti (2005) byl objeven jeden z řady dalších Th lymfocytů - Th17 [8], jehož aktivita je v současné době spojována mj. i s noneozinofilním („Th2-low“) zánětlivým fenotypem astmatu [9]. Není zde přítomná systémová ani průdušková eozinofilie. Tento fenotyp má nejméně známou etiopatogenezi, někteří experti mají za to, že jde o původně eozinofilní typ, který pod vlivem některých okolností (např. vlivem komorbidit) se v čase změnil. Do této skupiny patří starší ženy, obézní nemocní, pacienti s chronickou infekcí průdušek [10], pacienti s překryvem CHOPN/astma [4], dále také pacienti s četnějšími komorbiditami. Terčem biologické léčby by mohly být cytokiny regulující makrofágy či neutrofilii: IL-23, tumor nekrotizující faktor (TNF), aj. [11].

BIOLOGICKÁ LÉČBA ASTMATU

Tato léčba se týká pacientů s těžkým refrakterním astmatem. Společné pro moderní biologickou léčbu je její zaměření na imunitně-zánětlivé patogenetické mechanismy, které jsou podkladem vzniku a rozvoje řady chronických, často orgánově odlišných nemocí. Biologická léčba tedy není zaměřena na jednu konkrétní nemoc, ale na konkrétní imunitně-patogenetické mechanismy, které mohou být odlišné i v rámci jedné nemoci. Takže v praxi může být jeden biologický lék účinný pouze u části nemocných v rámci jedné diagnózy, ale současně může být účinný u některých jiných pacientů, kteří mají nemoci s postižením jiných orgánů, ale se stejnou patogenetickou podstatou. Od přelomu tisíciletí byly k léčbě astmatu vyvinuty nové biologické léky, které zasahují přímo do patogeneze nemoci na molekulárně-buněčné úrovni a tato léčba tak přináší zásadní obrat v terapii těžkého astmatu.

Od roku 2015 je pak tento postup zakotven v mezinárodních doporučeních, kde je jednoznačně preferováno zavedení biologické léčby pacientů s těžkým refrakterním astmatem ještě před nasazením steroidů systémově [12]. Z klinické praxe víme, že kortikosteroidy působí téměř u všech nemocných, ale současně mají řadu závažných nežádoucích systémových účinků a přitom nedokážou dostatečně zabránit progresivní ztrátě plicních funkcí u refrakterního astmatu.

Biologickou terapii těžkého astmatu můžeme podle zaměření rozdělit do 4 podskupin: (volně podle [13])

Cílená na:

1. IgE mediovanou alergii
2. cytokiny mediovanou eozinofilii
3. alergii i eozinofilii
4. neeosinofilní typ astmatu

V současné době již je k dispozici celá řada nových molekul, nejvíce zkušeností je s anti IgE protilátkou (omalizumab), a dále s protilátkami proti interleukinu 5 (mepolizumab, reslizumab), látkou blokující receptor pro interleukin 5 (benralizumab) [14]. Méně zkušeností je s dalšími novými léky, mezi které patří protilátky proti interleukinu 4 a 13 (dupilumab a pitrakinra), a také protilátka proti interleukinu 13 (lebrikizumab a tralokinumab) [14].

Dle dosavadních výsledků lze vyvodit, že monoklonální protilátky proti imunoglobulinu E budou účinné zejména u alergických forem astmatu, existují ale i výjimky [15], zatímco monoklonální protilátky proti IL5 budou účinné u obou eozinofilních typů – alergického i nealergického.

V naší práci jsme se zaměřili mimo jiné na analýzu výsledků léčby anti IgE protilátkou omalizumabem, se kterou je celosvětově nejvíce zkušeností. Tento lék byl registrován v USA již v roce 2003, v ČR pak v roce 2006, kdy byla zahájena léčba prvních pacientů u nás. Je určen pro skupinu pacientů s těžkým refrakterním eosinofilním IgE fenotypem astmatu, u nichž celoroční alergie hraje významnou roli.

BIOMARKERY U ASTMATU

Biologické léky jsou určeny pro pacienty s těžkým refrakterním astmatem.

Dosud se neví, jak dlouho by měly být podávány, spekuluje se ohledně možných nežádoucích

účinků v budoucnu vzhledem k tomu, že zasahují cíleně do dílčích imunitních pochodů, ze stejného důvodu patrně nejsou účinné u všech pacientů, u kterých byla tato léčba zahájena. Proto jsou předmětem zkoumání různé biomarkery, které by mohly pomoci predikovat úspěšnost léčby u jednotlivých pacientů [16]. Jedná se o znaky, které se dají snadno změřit a interpretovat, a dá se podle nich určit přítomnost onemocnění nebo i monitorovat průběh léčby či predikovat její úspěšnost. Optimální biomarker by měl být dostatečně senzitivní a specifický, snadno zjistitelný, spolehlivý, praktický, dobře reprodukovatelný, levný a rychle dostupný [17].

Biomarkery sloužící k průkazu eozinofilie

Zjištění a průkaz eozinofilního zánětu dýchacích cest je důležité nejen při stanovení diagnózy astmatu, ale také při určování vlastního fenotypu. Znamky projevu zánětu lze stanovit ze vzorků z různých lokalizací. Je třeba poznamenat, že v praxi jsou všechny ostatní metody kromě vyšetření eozinofilů v séru a FeNO (koncentrace oxidu dusnatého ve vydechaném vzduchu) využívané velmi zřídka. Vyšetření periferní eozinofilie by mělo být provedeno vždy v rámci úvodní diagnózy a dále při exacerbacích nemoci, stejně jako alergologické vyšetření [1].

Eozinofilie v periferní krvi

Zdaleka nejvíce rozšířen v klinické praxi je vyšetření eozinofilů v diferenciálním rozpočtu krevního obrazu (pozitivní hodnota je $\geq 4\%$ (400 bb./mm³), pozitivní hodnoty mohou být ale způsobeny také atopickým ekzémem nebo parazitární infekcí [18].

Je třeba vzít v úvahu některé limitace při interpretaci jejich hodnot. Eozinofilie nemusí být přítomná u lehčích forem onemocnění, dále eozinofily periferní krve vykazují poměrně významnou variabilitu, a to jak v souvislosti s fyziologickými procesy (jako je např. hladina kortisolu nebo cirkadiální variabilita) [19], tak i s aktivitou onemocnění [20] či s léčbou (jak systémovou, tak i inhalační) [21,22]. Navzdory řadě opodstatněných pochybností se však i nadále předpokládá, že vyšetření absolutního počtu eozinofilů v periferní krvi má své významné klinické i terapeutické opodstatnění, což potvrdila i prospektivní observační studie (UK cohort), která prokázala, že pacienti s astmatem, kteří mají v periferní krvi ≥ 400 eosinofilů/ μ l jsou ve větším riziku těžkých exacerbací [23].

FeNO

Stanovení FENO je relativně jednoduché vyšetření, kdy výsledek je okamžitě k dispozici. Jeho hodnota je výrazně ovlivněná u kuřáků (výrazné snížení), současně však může být pozitivní i u eozinofilní bronchitidy a alergické rýmy bez astmatu.

FENO má zejména negativní prediktivní hodnotu a dobře predikuje odpověď na léčbu steroidy [24]. Diagnózu astmatu můžeme prakticky vyloučit pokud je normální hodnota FeNO a současně máme negativní výsledek bronchokonstrikčního testu.

U dospělých lidí jsou fyziologické hodnoty FENO 5-25 ppb, 25-50 ppb je tzv. šedá zóna, výsledek nad 50 ppb ukazuje na eozinofilní zánět bronchů. Výsledek FENO koreluje s eosinofilní aktivací, vliv zde mají IL-4 a IL-13. Epiteliální nitric oxid syntetázy (eNOS) je indukován IL-13, a tím je zvýšeně produkován NO [17].

Meta-analýza 26 studií s 4518 pacienty ukázala, že měření FENO je užitečným parametrem pro stanovení diagnózy astmatu, nicméně jeho specifická převyšuje senzitivitu a je tudíž vhodný spíše ke confirmaci diagnózy, současně je ale také vhodným nástrojem pro monitoraci efektu léčby, neboť jeho případný pokles koreluje se snížením eozinofilie sputa [25].

Dále je možno vyšetřit tzv. eozinofilní kationický protein (ECP). Tato bílkovina je také markerem eozinofilního zánětu [1].

Mezi málo používané metody určení buněčného typu zánětu průdušek patří i vyšetření indukovaného sputa, které je náročné co do proveditelnosti i časově. Bronchoskopické vyšetření může napomoci k určení eozinofilie při bronchoalveolární laváži (BAL) nebo při klíčkové biopsii ze stěn průdušek.

Periostin

Periostin je protein produkovaný epiteliálními buňkami dýchacích cest, ale také fibroblasty, hladkými svalovými buňkami i osteoklasty při kostní patologii, v bronchiálních epiteliích je regulovaný částečně IL-13 a IL-4, TGF β (transformující růstový faktor beta) [26].

Účastní se v patogenezi alergického zánětu včetně astmatu, v patogenezi tkáňové remodelace [27] a hlenové produkce, zejména v plicích [28].

Jeho výskyt je typicky spojen se zánětlivými procesy u eosinofilního endotypu astmatu („type-2 high“) [29]. Jeho přítomnost byla potvrzena jak v zesílené subepiteliální vrstvě sliznice dýchacích cest [30] tak v séru pacientů s eosinofilním astmatem, a při tom nehrálo roli, zda jde o alergický typ onemocnění [31].

Sérová hladina periostinu se dnes měří pouze v rámci výzkumných aktivit a je indikována ke zkoumání úlohy některých cytokinů (IL-13), k posuzování remodelačních a fibrotizačních procesů (krom astmatu např. i u idiopatické plicní fibrózy nebo malignit) [32]. Bohužel však zřejmě bude mít nižší výpovědní hodnotu v diagnostice „type-2 astmatu“ ve srovnání s hodnotou FENO a počty eozinofilů v periferní krvi či indukovaném sputu [33].

Biomarkery k průkazu alergie:

Jde o senzibilizaci na možné inhalační aeroalergeny (kožní testace, event. vyšetření specifických IgE protilátek, nově pak i možnosti molekulární/ komponentové diagnostiky).

Alergologické vyšetření je doporučováno provést vždy při prvním stanovení diagnózy astmatu a také v případě ztráty kontroly nad onemocněním.

V našem národním doporučení diagnostiky a léčby bronchiálního astmatu je kladem důraz i na zhodnocení klinické významnosti alergie [1]. Klinicky významná alergie může být přítomna i když je hladina celkového IgE nízká (norma do 100 IU/l) (např. nedostatečná senzitivita testů atp.) a naopak alergie vůbec nemusí být přítomna, ačkoli hodnoty celkového IgE jsou výrazně zvýšené.

Prokázaná alergie na celoroční alergeny je spojena s výraznou bronchiální hyperreaktivitou a má vliv na tíži astmatu [34]. Více než 80% dětských astmatiků je alergických alespoň na jeden celoroční alergen [35] a senzibilizace na roztoče, plísně a srst psů a/nebo koček má silnou souvislost se vznikem astmatu [36]. Průkaz alergie na plísně, především rodu *Alternaria* a *Aspergillus*, znamená riziko rozvoje těžké formy nemoci (SAFS nebo ABPA - alergická bronchopulmonální aspergilóza) [1,4,37].

Celkové IgE: Jak již bylo zmíněno dříve, informační hodnota hladiny celkového IgE je omezena. Kortikosteroidy indukují IgE syntézu, ale také snižují hladinu sérového IgE. V případě léčby omalizumabem dochází k zvýšení celkového IgE, ale je snížena hladina volného (free- IgE), nelze jej tedy využít k monitoraci této léčby [10].

Specifické IgE: V rámci posuzování specifických IgE protilátek mají největší praktický dopad protilátky na nejčastější celoroční alergeny, tj. roztoče, plísně a psy nebo kočky.

3. Cíl práce:

A)Práce podává přehled diagnostiky a léčby astmatu ve světě a v České Republice se zvláštním zaměřením na sledování efektu cílené terapie vybrané na podkladě fenotypizace pomocí imunologických biomarkerů.

B)Vlastní práce je pak zaměřena na podrobnou analýzu výsledků léčby anti IgE v České Republice, dále zkoumání přínosu dalších možných biomarkerů u těžkého astmatu, jednak analýzu možného vztahu konkrétního alergologického profilu u jednotlivých pacientů k výsledkům léčby omalizumabem a také zhodnocení klinicky významných parametrů ovlivňujících hladiny periostinu u pacientů s astmatem.

3.A. Shrnutí přínosu české astmatologie k pokrokům v diagnostice a léčbě astmatu

Oproti ostatním zemím je v České Republice zažitou a velmi přínosnou praxí, že o astmatiky pečují převážně respirační specialisté (alergologové či pneumologové) a kromě jistě většího procentuálního zastoupení správných diagnóz se můžeme chlubit i jednou z nejnižších úmrtností na astma v Evropě.

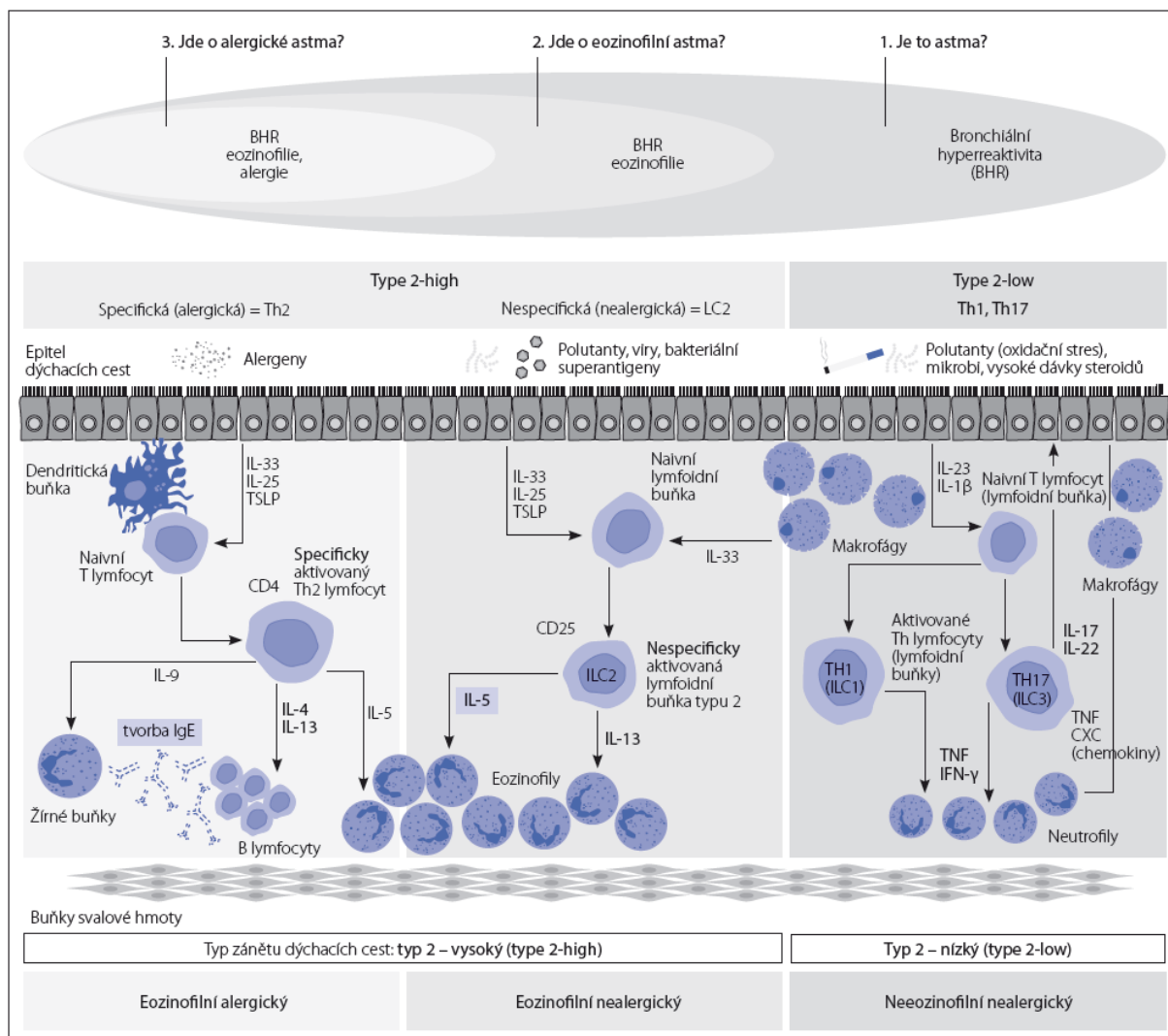
Biologická léčba astmatu v ČR je spojena s činností pracovišť Národního centra pro těžké astma tzv. NCTA. Jde o volné sdružení předních odborníků z oboru pneumologie i alergologie, zabývajících se touto tematikou, především v rámci plicních klinik fakultních nemocnic a některých krajských pracovišť. Doba vzniku tohoto sdružení se shoduje s dobou registrace prvního biologického léku na těžké astma v ČR omalizumabu, t.j. rok 2006. Tato centra nejen indikují v ČR biologickou léčbu, ale odborníci postupně společně vypracovali dokument s názvem “Doporučený postup diagnostiky a léčby obtížně léčitelného bronchiálního astmatu“, který je závazným dokumentem odborných společností pneumologie i alergologie [3]. Vzhledem k tomu, že výběr pacientů pro biologickou léčbu probíhá výlučně v těchto centrech, je tím zaručena její řádná indikace na základě podrobného vyšetřování. Tento proces obvykle zabírá několik týdnů až měsíců.

I díky existenci center pro diagnostiku a léčbu těžkého astmatu máme v ČR zdokumentovanou vysokou úspěšnost biologické léčby, konkrétně u pacientů léčených omalizumabem je to 82,8% responderů.

Česká republika se stala prvou zemí, kde vzniklo v r. 2015 národní doporučení, fenotypizující astma na základě spojitosti klinických projevů s bližšími charakteristikami zánětu, konkrétně přítomnosti eozinofilie a alergie, vyúsťující ve tři základní fenotypy: 1. eozinofilní alergické, 2. eozinofilní nealergické a 3. non-eozinofilní, nealergické astma.

Čas ukázal, že uvedený fenotypický koncept je nejen pragmatický, ale zároveň koresponduje s novým imunologickým pohledem na detailní buněčně-molekulární úrovni [6] (schéma č. 1)

Schéma č. 1 Soulad patogeneze a národní fenotypizace (převzato z [35], volně podle [6])



3.B. Vlastní práce:

1. V první části práce jde o hodnocení efektu léčby omalizumabem v ČR od roku 2007 do roku 2018.
2. V druhé části je podrobně zkoumán možný vztah konkrétního alergologického profilu jednotlivých pacientů k výsledkům léčby omalizumabem v celé ČR. Provedli jsme podrobnou post hoc analýzu dat pacientů s těžkým alergickým astmatem z národního registru anti-IgE léčby omalizumabem mezi lety 2007 až 2018, kde byly k dispozici současně data o konkrétním alergologickém profilu jednotlivých pacientů.
3. Třetí část se zabývá přínosem vyšetřování periostinu při výběru cílené terapie.

3.B.1 Zhodnocení efektu léčby omalizumabem v ČR od roku 2007 do r. 2018.

CÍL PRÁCE:

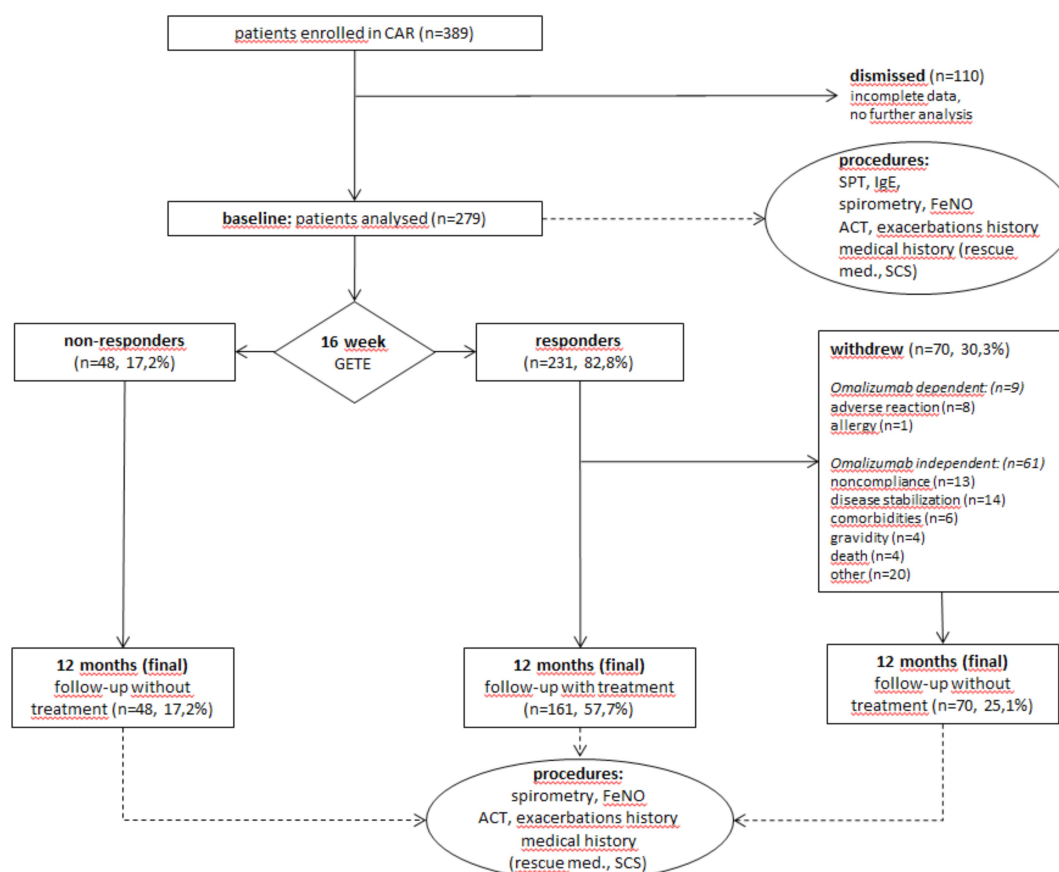
Analyzovali jsme primární výsledky léčby [celkového vyhodnocení účinnosti léčby po 16 týdnech léčby dle kritérií GETE (responderi, non-responderi, vyřazení z léčby), redukce

těžkých exacerbací (ER) a zlepšení kontroly astmatu test (ACT) během 12 měsíců léčby] a sekundární výsledky (snížení dávek systémových kortikosteroidů, funkce plic a frakce vydechovaného oxidu dusnatého) u pacientů léčených omalizumabem po dobu 12 měsíců.

DESIGN STUDIE (SCHÉMA Č.2):

Multicentrická, neintervenční, post-hoc analýza dat pacientů s těžkým refrakterním astmatem pod nedostatečnou kontrolou, léčených adekvátními dávkami inhalačních steroidů a β_2 mimetik (IKS+LABA) a dalších kontrolujících léků dle mezinárodních doporučení z registru CAR (Czech anti IgE registry) z 10 center v ČR z období 2007 až 2018 léčených omalizumabem, u kterých bylo dostatek dat týkajících se výsledků léčby, ale i o konkrétním alergologickém profilu. Sběr dat měl smíšený design (průřezový a longitudinální). Pacienti byli hodnoceni před zahájením léčby, v 16. týdnu a po roce léčby omalizumabem. Vzhledem k tomu, že šlo o retrospektivní analýzu anonymizovaných dat pacientů, nebyl nutný informovaný souhlas pacientů, požádali jsme nicméně o souhlas kolegy ze všech center ČR s dodáním jejich dat. Studie byla schválena lokální etickou komisí Nemocnice České Budějovice, a.s. v r. 2018

SCHÉMA Č. 2 – DESIGN STUDIE



SOUBOR PACIENTŮ:

Z 389 pacientů evidovaných v letech 2007 až 2018 v CAR, bylo analyzováno 279 jednotlivců z 10 center, (110 pacientů nebylo do analýzy zařazeno pro nekompletní data). Všichni pacienti měli těžké alergické astma s prokázanou alergií na alespoň jeden (nebo více) celoročních alergenů. Měli současně ≥ 2 těžké exacerbace astmatu v roce před zahájením léčby omalizumabem [38]. Léčba byla podávána u 161 pacientů po dobu 12 měsíců.

U 118 pacientů byla léčba přerušena v období mezi 16. týdnem a jedním rokem léčby (u 48 pacientů pro nedostatek účinnosti a u 70 pacientů z jiných důvodů).

METODY:

Pacienti byli vyšetřeni v jednotlivých centrech lékaři před zahájením léčby, v 16. týdnu a ve 12 měsících od začátku léčby. Vyšetření obsahovalo vždy základní klinické vyšetření, podrobnou anamnézu – data o průměrné dávce systémových kortikosteroidů za poslední 4 měsíce před léčbou (hodnoceno a vyjádřeno jako ekvivalent prednisolonu), užívání úlevové medikace a počet těžkých exacerbací astmatu za poslední rok před léčbou, pacienti byli požádáni o vyplnění dotazníku ACT (astma control test) [39]. Další vyšetření zahrnovala spirometrii [40] a analýzu FENO [41].

Efekt terapie byl hodnocen dle GETE (physician's global evaluation of treatment effectiveness). Dotazník hodnotí pacienty na škále 1-5 (1 - výborný, kompletní kontrola, 2 - dobrý, viditelné zlepšení, 3 - střední, viditelné, ale limitované zlepšení kontroly, 4 - špatné, žádná viditelná změna, 5 - zhoršení). Pacienti v kategorii 1-2 byli hodnoceni jako responderi (231 pacientů), pacienti v kategoriích 3-5 jako non-responderi (48 pacientů) [42]. U non-responderů byla léčba ukončena v 16. týdnu léčby. Dále byla léčba ukončena z nejrůznějších důvodů u 70 pacientů mezi 16. týdnem a 1 rokem léčby (8 pro nežádoucí vedlejší účinky, 1 pacient s alergií na omalizumab, 13 pacientů pro špatnou compliance, 48 pacientů z jiných příčin nesouvisejících s omalizumabem). Všichni pacienti s ukončenou léčbou byli zhodnoceni v roce od zahájení léčby stejně jako léčeni pacienti.

STATISTICKÉ ANALÝZY

Všechny proměnné veličiny byly analyzovány z populace pacientů zařazených v registru. Deskriptivní statistiky byly vyjádřeny jako střední odchylka (SD), nebo jako medián s interkvartilním rozsahem (IQR) v případech normální distribuce dat nebo frekvence. Pro srovnání dvou nezávislých vzorků, jsme použili T-test nebo Mann-Whitney test v případech kde nebyl splněn předpoklad normality. Rozdíly spojitých parametrů mezi zkoumanými skupinami byly hodnoceny neparametrickou metodou ANOVA, především Kruskal-Wallisovým testem. Opakovaná měření byla zhodnocena za použití obecného lineárního modelu pro opakovaná měření (GLM-RM) nebo pomocí Wilcoxon Signed-rank testu v případech porušení předpokladu normality. Frekvence byla analyzována pomocí testu X^2 (Chí kvadrát). Binominální závislé proměnné byly zpracovány pomocí logistické regrese. Výsledky s hodnotou $p < 0,05$ byly považovány za statisticky významné. Data byla analyzována pomocí IBM SPSS pro Windows, verze 22.0 (Armonk, NY: IBM Corp).

VÝSLEDKY ÚČINNOSTI LÉČBY OMALIZUMABEM

Tři sta osmdesát devět pacientů s těžkým alergickým astmatem léčených omalizumabem bylo zapsáno do registru CAR z 10 specializovaných center v ČR v letech 2007 až 2018. Sto deset pacientů (28,3% ze všech zapsaných pacientů registru) bylo vyloučeno z hodnocení z důvodu neúplných dat v registru. Data byla tudíž podrobně analyzována u 279 pacientů (71,7% ze všech pacientů v registru), u kterých byla dokončena studie, z toho 231 pacientů (82,8%) bylo hodnoceno jako responderi podle výsledků analýzy GETE v 16. týdnu po zahájení léčby omalizumabem. V léčbě bylo nadále pokračováno pouze u responderů, obě skupiny (responderi i non-responderi) byli vyšetřeni 12 měsíců po zahájení léčby. U sedmdesáti (30,3%) responderů byla předčasně ukončena léčba z jiných důvodů, včetně důvodů spjatých s podáváním omalizumabu [vedlejší nežádoucí reakce (AES; $n = 8$), známky alergie na omalizumab ($n = 1$)] a ostatních důvodů [$n = 61$; špatná compliance ($n = 13$),

stabilizace onemocnění (n = 14), zhoršení komorbidit (n = 6), gravidita (n = 4), smrt (n = 4), administrativní a osobní důvody (n = 20)]. Žádná z nežádoucích reakcí nebyla posouzena jako těžká. Ve 12. měsíci po zahájení léčby byly porovnány výsledky u všech skupin pacientů, tj. responderů, non - responderů i u pacientů s ukončenou léčbou z jiného důvodu (obr. 1).

Základní charakteristiky pacientů ve třech skupinách se významně nelišily z hlediska pohlaví (p = 0,488), věku (p = 0,274), hmotnosti (p = 0,452), celkového IgE (p = 0,186) nebo dávky omalizumabu (p = 0,772). Kromě toho nebyly zjištěné ani významné rozdíly v hodnotě FENO (p = 0,877) a FEV1 (% NH, p = 0,660). Nicméně, non-responderi měli výrazně nižší ACT skóre (medián 10 bodů) než responderi a pacienti s ukončenou léčbou (medián 12 bodů, pro obě skupiny p = 0,005). Existovaly významné rozdíly v počtu těžkých exacerbací v průběhu roku před zahájením léčby. Responderi i non – responderi měli medián dvou exacerbací, naproti tomu pacienti s ukončenou léčbou měli medián jedné exacerbace (p = 0,007).

Podíl pacientů užívajících systémové steroidy v době zahájení léčby se také významně lišil (p = 0,015) v jednotlivých skupinách: non – responderi 83,3%; responderi 73,9%; a s ukončenou léčbou 60%. Nicméně dávky steroidů (vyjádřeny v mg prednisolonu) užívané ve všech třech skupinách byly podobné (p = 0,387) (tab. č. 1).

Tab č. 1 Jednotlivé charakteristiky pacientů před zahájením a v roce hodnocení studie

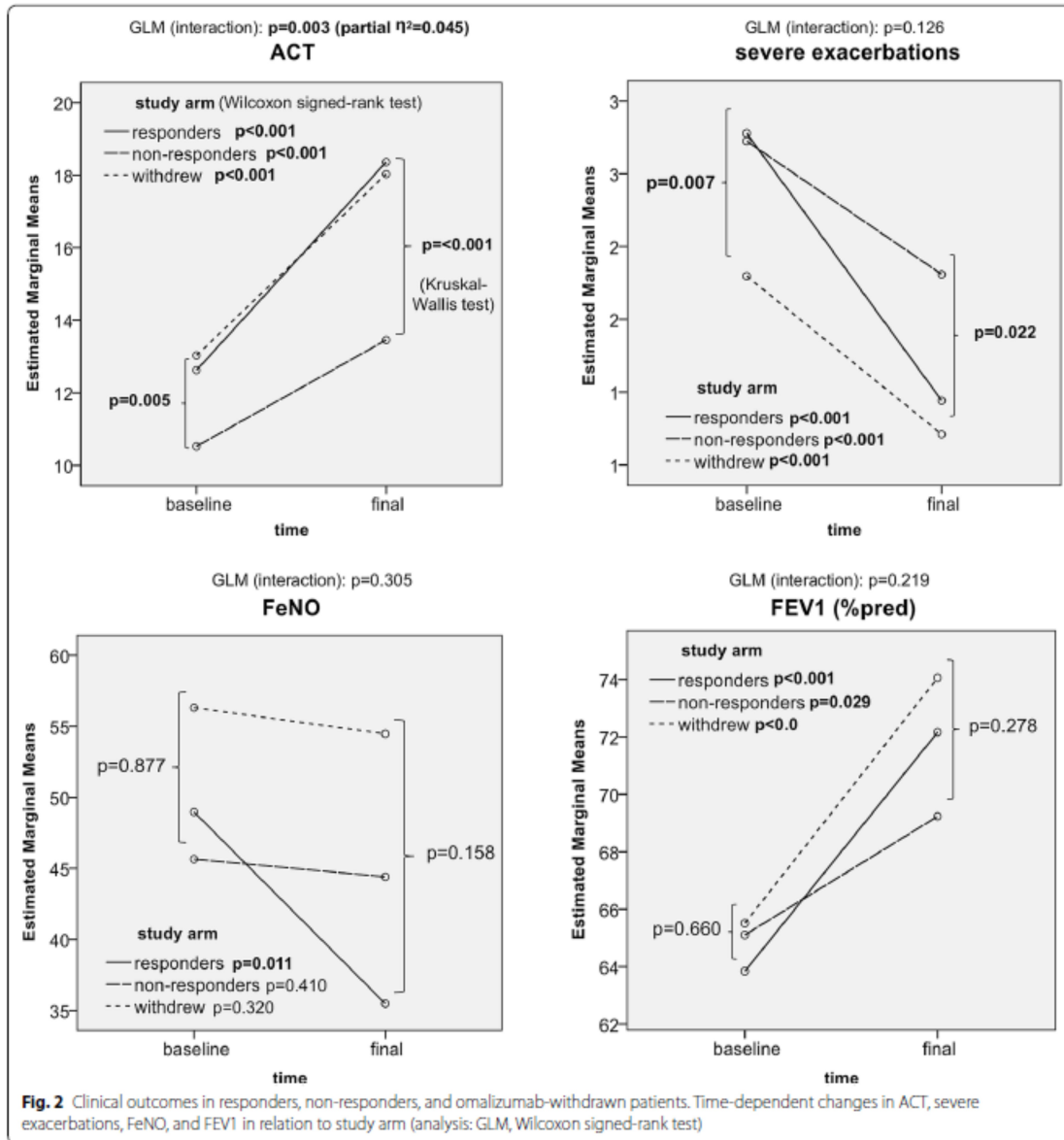
Characteristics	Whole sample				Responders				Non-responders				Withdrawn			
	Mean/n/%	SD	Median	IQR	Mean/n/%	SD	Median	IQR	Mean/n/%	SD	Median	IQR	Mean/n/%	SD	Median	IQR
Gender (male/female)	279 (118/161)				161 (65/96)				48 (24/24)				70 (29/41)			
Age (year)	53.79 21147	12.48 393826	53	20	52.9627 3292	11.09156	52	17	54.0625 8371122	12.18371122	53.5	18.5	55.514 28571	14.95572486	55	24
Weight (kg)	78.42	17.40	78.00	25.00	78.24 362595	17.362595	75.00	25.00	81.52 9	18.189	80.00	21.00	76.69 1	16.950	78.50	25
Total IgE (IU/ml)	355.4 659498	325.8 766672	24.4	36.6	349.515 52821847	311.5521847	22.5	38.6	399.437 56863773	317.6863773	31.9.5	35.2	339 7778825	363.7778825	20.7.5	36.1
Omalizumab dose (mg/month)	472.0 4	250.3 6	45.0	30.0	469.10 .94	246.94	30.0	30.0	509.38 58	299.58	45.0	37.0	453.21 59	220.59	30.0	30.0
Baseline	51.38 095238	46.30 735284	38	52	51.0078 125	48.51633317	38	51	46.8 2505648	33.52505648	38	50	55.808 51064	48.7561064	44	56
ACT (points)	12.34	4.10	12.00	6.00	12.55 6	3.86	12.00	6.00	10.64 4.04	4.04	10.00	5.00	13.03 4.42	4.42	12.00	7.00
FEV1 (%pred)	64.45 16129	18.16 739676	66	24	63.5838 5093	18.40618	65	24	65.8125 16.80255331	16.80255331	66.5	22.5	65.514 28571	19.11349994	67.5	19
Severe exacerbations (n/year)	2.55	3.80	2.00	2.00	2.78	4.55	2.00	2.00	2.88	2.51	2.00	2.00	1.80	2.20	1.00	2.00
Systemic corticosteroids (n/%)	201/7 2.0%				119/73.9 %				40/83.3 %				42/60.0 %			
Prednisone (mg/day)	13.84	14.19	10.00	15.00	13.76 03	16.803	8.00	15.00	15.38 14.17	14.17	10.00	15.00	12.62 6.99	6.99	10.00	11.00
Final	40.81 951225	46.97 080455	26	29	35.1885 2459	36.615792	24	27	43.6060 6061	40.7031474	34	31	52.72 5618	67.55618674	32	38

	1				5											
ACT (points)	17.45	5.14	18.00	8.00	18.36	4.74	19.00	7.00	13.45	5.22	12.50	9.00	18.03	4.78	18.00	8.00
FEV1 (%pred)	72.14	21.89	73	29	72.1633	22.9869	71	29	69.2340	17.9639	66	24	74.057	23.80712	76.5	31
Severe exacerbations (n/year)	1.03	2.64	0.0	1.0	0.94	2.59	0.0	1.0	1.81	3.88	1.0	2.0	.70	1.37	0.0	1.0
Systemic corticosteroids (n/%)	121/4				68/42.2				27/56.3				26/37.1			
Prednisone (mg/day)	10.40	12.63	5.0	6.0	9.07	11.41	5.0	18.00	16.78	18.06	10.00	15.00	7.23	4.19	8.5	5.0

Analysis: Kruskal-Wallis test, Chi-square test.

Všechny měřené parametry [skóre ACT, počet závažných exacerbací za rok, FENO, FEV1 (%NH) a dávka SCS] se zlepšily do konce 1. roku léčby u responderů, ale také u non – responderů i u pacientů s ukončenou léčbou (kromě FeNO). Analýza vzájemné interakce měřených parametrů (ACT, FeNO, FEV 1 a redukce SCS) v čase mezi jednotlivými skupinami ukázala významnější rozdíly jen u skóre ACT a u redukce SCS (tab. č. 1 a obr. č. 1). Byl zaznamenán také významný pokles počtu pacientů užívajících systémové steroidy ve všech skupinách. Nejvýznamnější pokles byl pozorován ve skupině responderů (od 73,9% do 42,2%); 42,3% pacientů užívajících trvale systémové steroidy před zahájením léčby je mohlo zcela vysadit a pouze u pěti pacientů musela být zahájena léba SCS během léčby omalizumabem de novo ($p < 0,001$) (Obr. č. 2 a 3; tab.č.1).

Obr. č. 1 Výsledky léčby u responderů, non – responderů a pacientů s předčasně ukončenou léčbou



Obr. č. 2 Snížení dávek systémových steroidů u responderů, non-responderů a pacientů s ukončenou léčbou

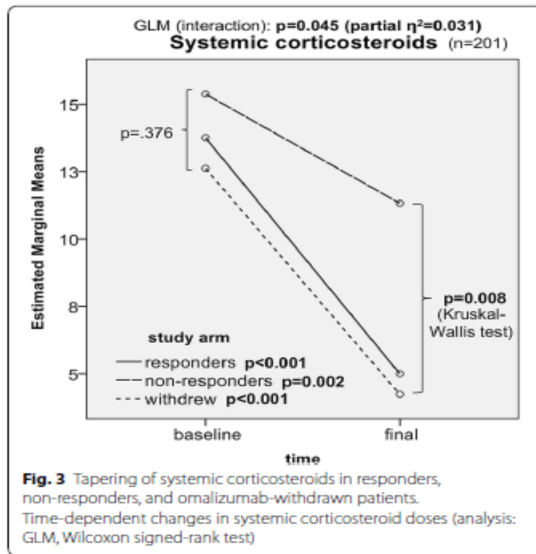


Fig. 3 Tapering of systemic corticosteroids in responders, non-responders, and omalizumab-withdrawn patients. Time-dependent changes in systemic corticosteroid doses (analysis: GLM, Wilcoxon signed-rank test)

Obr. č. 3 Dávky systémových steroidů před léčbou a v roce léčby u responderů, non-responderů a pacientů s předčasně ukončenou léčbou.

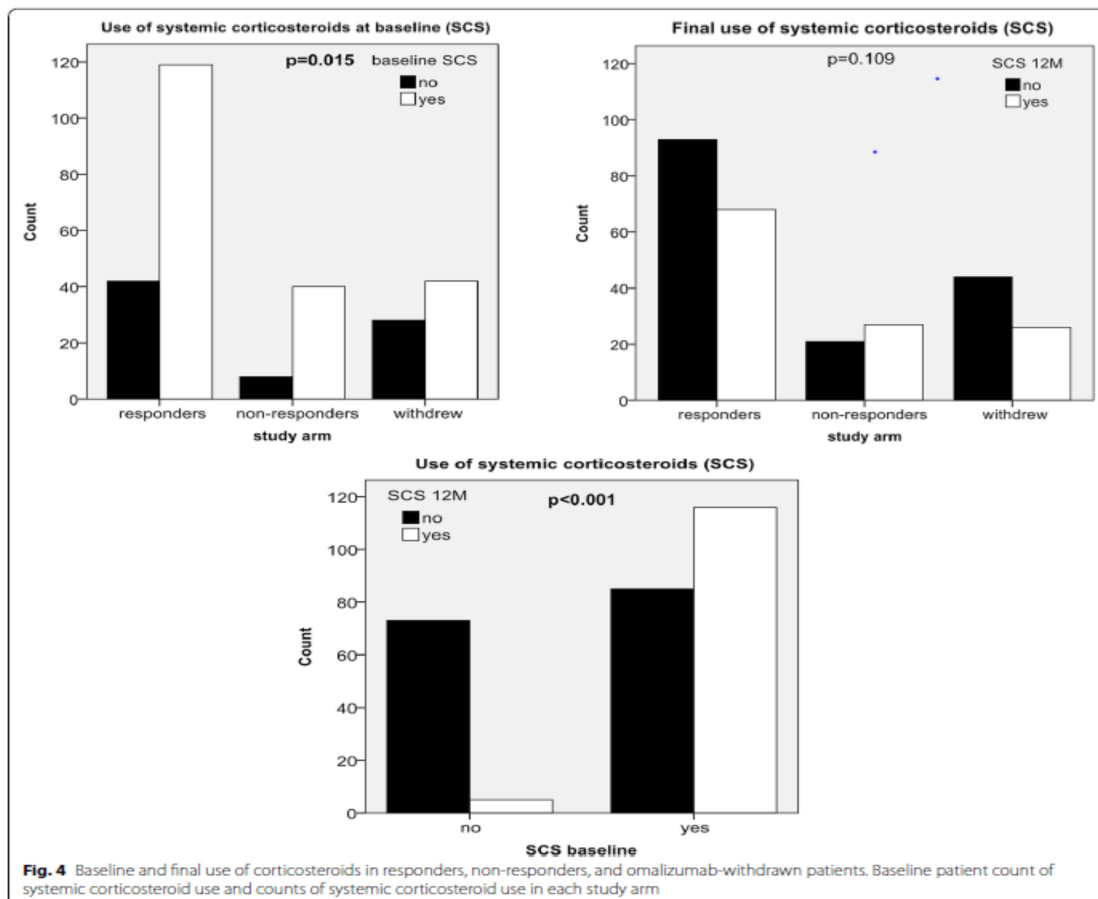


Fig. 4 Baseline and final use of corticosteroids in responders, non-responders, and omalizumab-withdrawn patients. Baseline patient count of systemic corticosteroid use and counts of systemic corticosteroid use in each study arm

3.B.2 Analýza závislosti výsledků léčby omalizumabem na konkrétním alergologickém profilu jednotlivých pacientů.

CÍL PRÁCE

Analyzovali jsme závislost výsledků léčby omalizumabem na senzibilizaci na různé celoroční aeroalergeny nebo jejich kombinace. Hlavním cílem studie bylo otestovat hypotézu, zda mohou jednotlivé konkrétní alergologické profily vést při stejné léčbě k různým léčebným výsledkům.

SOUBOR PACIENTŮ A DESIGN STUDIE

Analyzovali jsme stejný soubor 279 pacientů jako v první části, kde bylo k dispozici dostatek dat o sensibilizaci a výsledcích léčby. Design studie byl shodný jako v první části - multicentrická, neintervenční, post-hoc analýza dat pacientů s těžkým refrakterním astmatem.

METODY U všech pacientů zařazených ve studii bylo provedeno alergologické vyšetření buď ve formě kožních testů nebo/a vyšetření specifických IgE protilátek (semikvantitativní hodnocení) na celoroční i sezónní alergeny, u všech pacientů v souboru byla vyšetřena senzibilizace na roztoče, plísňe a zvířata (pes, kočka). Srovnávali jsme polysenzibilizované pacienty s monosenzibilizovanými na jednotlivé alergeny nebo částečně polysenzibilizované pacienty (kombinace jednotlivých alergenů, ale maximálně 2 celoročních). Skupina polysenzibilizovaných pacientů představovala pacienty současně senzibilizované nejméně na 3 celoroční alergeny, tj. na roztoče, plísňe a psy nebo kočky. (tab. č. 2)

Výsledky u kožních testů byly hodnoceny jako pozitivní, pokud byl průměr kožního zduření ≥ 3 mm [43], u specifických IgE byla jako pozitivní brána hodnota $\geq 0,35$ IU/ml. V práci nebyla rozlišována síla positivity, z důvodu nedostatečného počtu pacientů v jednotlivých skupinách s prokázanou stejnou alergií.

Tab.č. 2 – počty pacientů senzibilizovaných konkrétním alergenem či jejich kombinace

Table 1 Sensitization characteristics (per-protocol analysis)

Sensitization	Whole sample		Responders		Non-responders		Withdrew		p
	n	%	n	%	N	%	n	%	
n	279	100.0	161	57.7	48	17.2	70	25.1	
Monosensitization <i>Alternaria</i>	3	1.1	2	1.2	1	2.1	0	0.0	0.249
Monosensitization <i>Aspergillus</i>	12	4.3	6	3.7	1	2.1	5	7.1	
Cats and dogs	22	7.9	14	8.	4	8.3	4	5.7	
Molds, cats, and dogs	14	5.0	8	5.0	3	6.3	3	4.3	
Molds	24	8.6	12	7.5	4	8.3	8	11.4	
Mites, cats, and dogs	51	18.3	31	19.3	11	22.9	9	12.9	
Mites and molds	32	11.5	14	8.7	4	8.3	14	20.0	
Mites	70	25.1	37	23.0	16	33.3	17	24.3	
Mites, molds, cats, and dogs	51	18.3	37	23.0	4	8.3	10	14.3	
Polysensitization	51	18.3	37	23.0	4	8.3	10	14.3	0.043
Non-polysensitization	228	81.7	124	77.0	44	91.7	60	85.7	

Analysis: Chi squared test

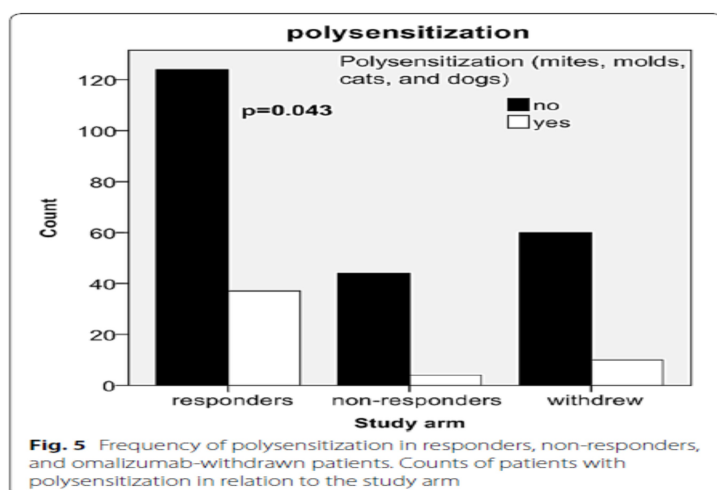
STATISTICKÉ ANALÝZY

Byly použity stejné statistické metody jako v první části práce.

VÝSLEDKY SENZIBILIZACE

Nenašli jsme žádné významné rozdíly v počtu senzibilizovaných na konkrétní celoroční alergeny nebo jejich kombinace mezi všemi studijními skupinami (hodnoceno buď semikvantitativně nebo dichotomně, $p = 0,249$), s výjimkou skupiny polysenzibilizovaných - současně senzibilizovaných k nejméně 3 testovaným celoročním alergenům, tj. roztoče (*Dermatofagoides pteronyssinus* a/nebo *D. Farinae*), jednotlivé plísně *Aspergillus* spp., *Alternaria* spp. nebo jejich kombinace a kočky nebo psi. Tato skupina byla označena jako polysenzibilizovaní. Nejvyšší podíl (72,5%) všech polysenzibilizovaných byl ze skupiny responderů (23% responderů, $p = 0,043$) (obr. č. 4 a tabulka č. 2).

Obř. č. 4 Počty polysenzibilizovaných u responderů, non-responderů a pacientů s předčasně ukončenou léčbou



Žádný významný rozdíl nebyl pozorován ve věku, hmotnosti, hodnotě celkového IgE nebo v dávce omalizumabu mezi polysenzibilizovanými a nepolysenzibilizovanými respondery (tabulka č. 3).

Tab.č. 3 Klinické charakteristiky sensibilizovaných pacientů

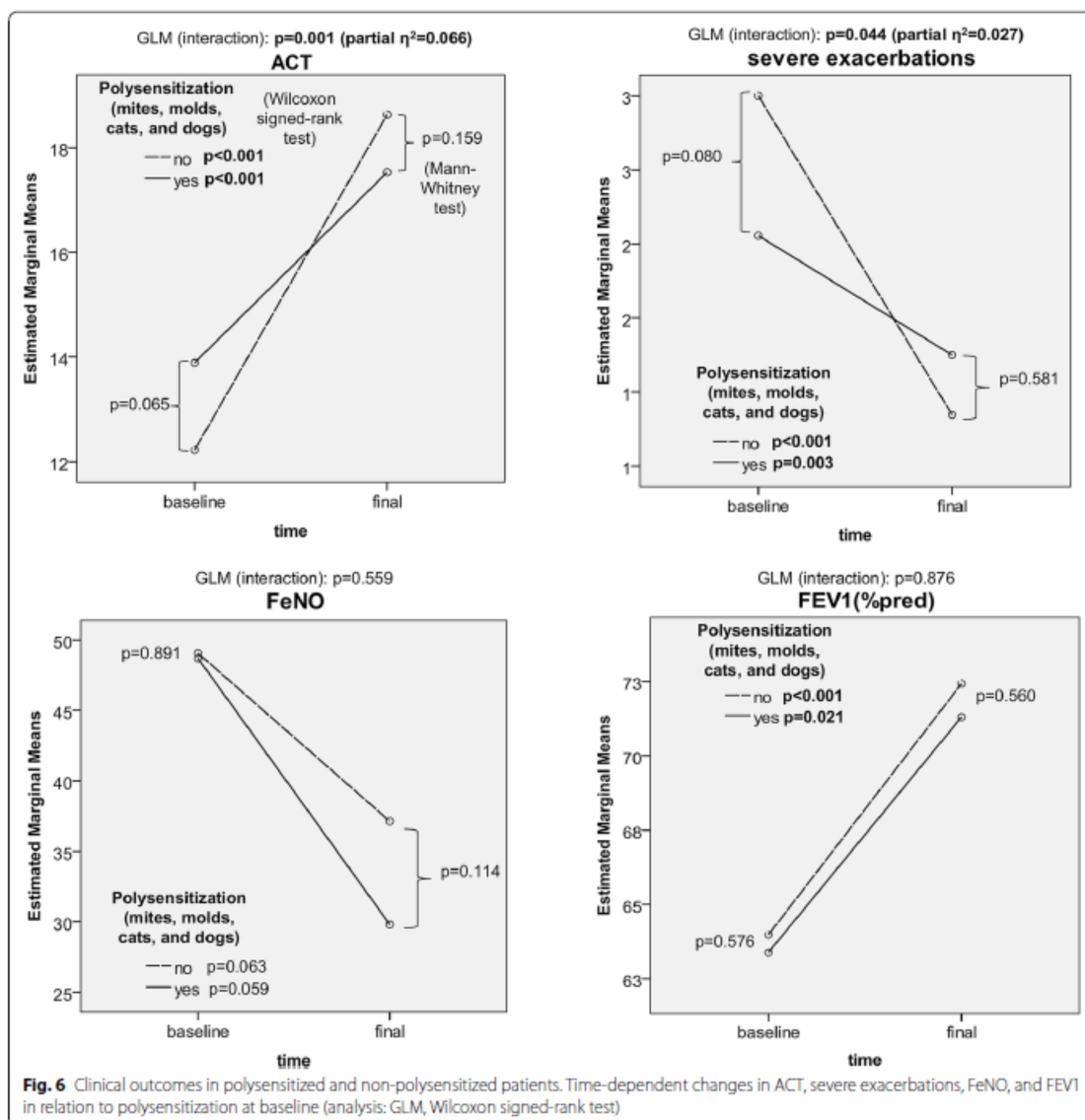
Table 3 Polysensitization

Characteristic	No polysensitization				Polysensitization				p
	Mean/n/%	SD	Median	IQR	Mean/n/%	SD	Median	IQR	
General									
n (male/female)	124 (50/74)				37 (15/22)				0.981
Age (years)	53.36	10.94	52.00	17.00	51.62	12.68	52.00	18.00	0.546
Weight (kg)	77.64	17.23	75.00	24.50	80.27	17.88	80.00	27.00	0.385
Total IgE (IU/ml)	328.83	294.71	204.50	377.00	418.84	358.10	304.00	444.00	0.178
Omalizumab dose (mg/month)	483.87	247.80	450.00	300.00	419.59	240.74	300.00	300.00	0.109
Baseline									
FeNO (ppb)	51.26	50.23	38.00	48.00	50.14	42.93	38.00	59.00	0.891
ACT (points)	12.19	3.68	12.00	5.50	13.73	4.23	14.00	7.00	0.065
FEV1 (%pred)	63.61	18.65	66.50	24.00	63.49	16.83	61.00	15.00	0.576
Severe exacerbations (n/year)	2.98	4.89	2.00	3.00	2.08	3.14	1.00	1.00	0.080
Systemic corticosteroids (n/%)	97 (78.2%)				22 (59.5%)				0.023
Prednisone (mg/day)	13.29	14.86	7.00	15.00	15.82	20.71	10.00	15.00	0.239
Final									
FeNO (ppb)	37.01	37.66	24.00	26.00	28.78	32.50	20.00	32.00	0.114
ACT (points)	18.63	4.81	20.00	7.00	17.53	4.48	17.00	7.50	0.159
FEV1 (%pred)	72.43	23.14	76.00	30.00	71.31	18.71	68.50	22.50	0.560
Severe exacerbations (n/year)	0.85	2.46	0.00	1.00	1.25	3.01	0.00	1.00	0.581
Systemic corticosteroids (n/%)	54 (43.5%)				14 (20.6%)				0.537
Prednisone (mg/day)	7.94	8.95	5.00	8.00	13.43	17.87	5.00	5.00	0.308

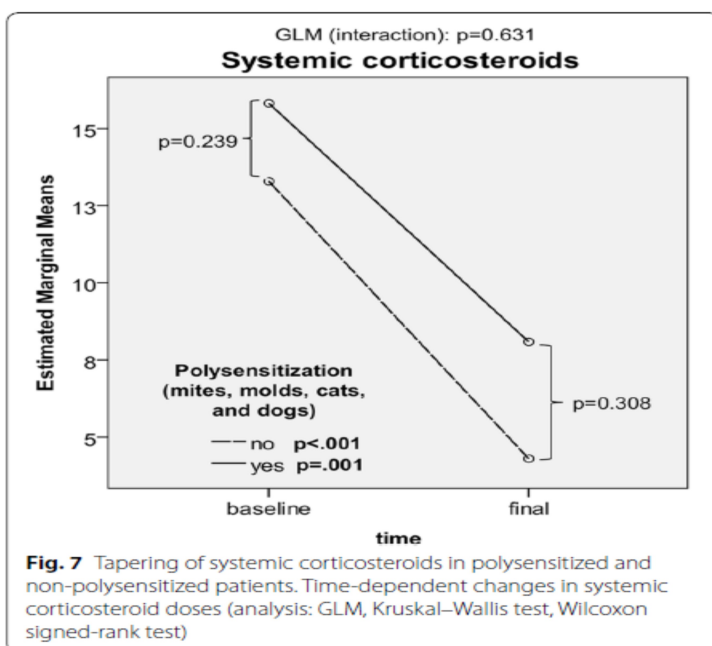
Baseline and final characteristics of responders with regards to polysensitization (per protocol analysis, Wilcoxon signed-rank test, and Chi squared test)

Klinické charakteristiky polysenzibilizovaných pacientů byly nezávislé na intenzitě alergické reakce vyjádřené velikostí kožního zduření nebo hladiny specifických IgE protilátek na konkrétní alergeny. Nicméně zaznamenali jsme některé klinicky významné rozdíly. Polysenzibilizovaní pacienti ze skupiny responderů vykazovali nižší tendenci zlepšit skóre ACT (střední zlepšení o 6,41 bodů u nepolysenzibilizovaných vs. 3,64 bodů u polysenzibilizovaných, $p = 0,002$) a také nižší tendence ke snížení počtu exacerbací za rok (průměrné snížení o 2,15 exacerbací u nepolysenzibilizovaných vs. 0,81 exacerbací u polysenzibilizovaných, $p = 0,018$) ve srovnání s nepolysenzibilizovanými pacienty (obr. č. 7). Tyto rozdíly byly potvrzeny opakovaným měřením za použití obecného lineárního modelu pro opakovaná měření (GLM-RM) ($p = 0,001$, $\eta^2 = 0,066$ pro zlepšeniskóre ACT a $p = 0,044$, $\eta^2 = 0,027$ pro redukci exacerbací) navzdory celkově minimálnímu rozdílu v hodnotách mezi těmito dvěma populacemi (obr. č. 5 a 6).

Obr.č. 5 Výsledky vybraných parametrů u polysenzibilizovaných a ostatních pacientů



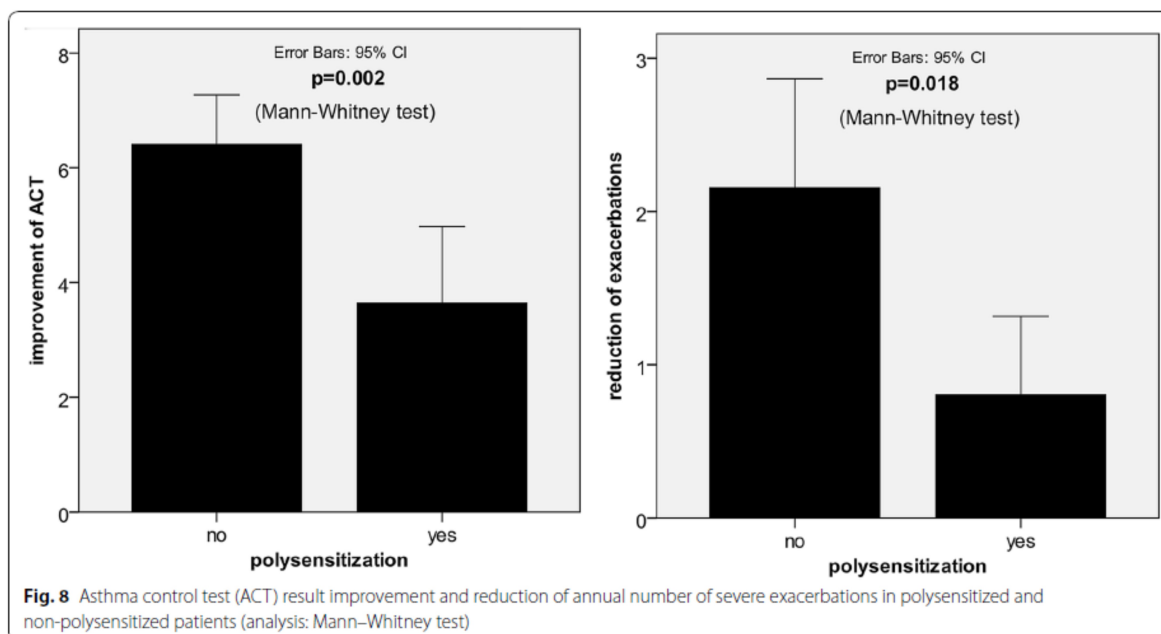
Obr. č. 6 Snížení dávky systémových steroidů v průběhu léčby u polysenzibilizovaných a ostatních pacientů.



Logistická regrese

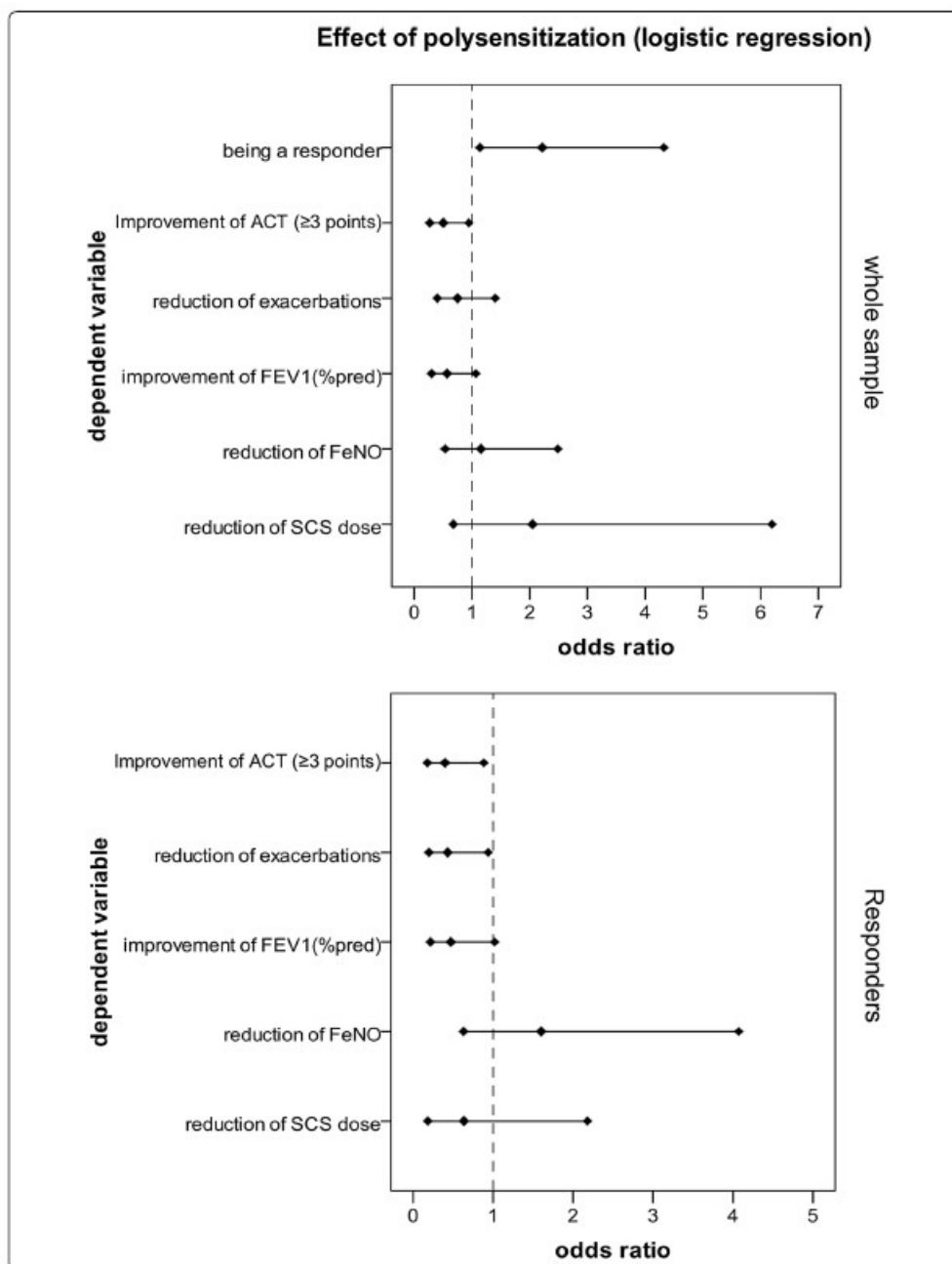
Provedli jsme pečlivou logistickou regresní analýzu vlivu polysenzibilizace na šanci reagovat jako responder, co se týče klinicky významného zlepšení skóre ACT (tj. ≥ 3 body), snížení počtu exacerbací (obr. č. 7), zlepšení hodnoty FEV1 (%NH), snížení FENO a snížení dávky systémových steroidů.

Obr. č. 7 Redukce počtu exacerbací a zlepšení skóre ACT u polysenzibilizovaných a ostatních pacientů.



V celé zkoumané populaci astmatiků byl zaznamenán významný pozitivní účinek polysenzibilizace na šanci reagovat jako responder (OR = 2,217, p = 0,02) a negativní vliv na možnost zlepšení skóre ACT (OR = 0,503, p = 0,032). Jinými slovy, polysenzibilizovaní pacienti vykazovali vyšší tendenci být responderem, ale nižší tendenci ke zlepšení skóre ACT ≥ 3 body než nepolysenzibilizovaní pacienti (obr. č. 8, tabulka č. 4).

Obr.č. 8 Porovnání výsledků léčby mezi respondery a kompletním souborem u polysenzibilizovaných pacientů



Podobné výsledky jsme získali v sub-analýze responderů. Polysenzibilizovaní respondeři vykazovali nižší tendenci ke zlepšení skóre ACT (OR = 0,398, p = 0,023) a redukcí exacerbací (OR = 0,431, p = 0,034) než nepolysenzibilizovaní pacienti.

Tab.č. 4 Výsledky léčby ve vybraných skupinách u polysenzibilizovaných pacientů**Table 4** Binary logistics regression (effect of polysensitization)

Sample	n	Dependent variable	OR	95% CI for OR		p
				Lower	Upper	
Whole sample	279	Being a responder	2.217	1.137	4.323	0.02
Whole sample	279	Improvement in ACT (≥ 3 points)	0.503	0.268	0.944	0.032
		Reduction in exacerbations	0.749	0.4	1.401	0.365
		Improvement in FEV1(%pred)	0.567	0.301	1.066	0.078
		Reduction in FeNO	1.155	0.536	2.486	0.713
All patients receiving SCS	201	Reduction in SCS dose	2.048	0.677	6.196	0.205
Responders	161	Improvement in ACT (≥ 3 points)	0.398	0.179	0.883	0.023
		Reduction of exacerbations	0.431	0.198	0.938	0.034
		Improvement in FEV1(%pred)	0.471	0.217	1.019	0.056
		Reduction in FeNO	1.601	0.63	4.072	0.323
All responders receiving SCS	119	Reduction in SCS dose	0.635	0.184	2.179	0.474

Forest plot and OR with regards to poly sensitization

3.B.3. Přínos vyšetřování periostinu při výběru cílené terapie u pacientů s těžkým refrakterním astmatem

Toto téma je zpracováno v práci: Sérove hladiny periostinu u astmatických pacientů ve vztahu k terapii omalizumabem a přítomnosti chronické rhinosinuitidy s nosními polypy.

Na této práci jsme se podíleli jako spoluautoři, hlavním autorem je MUDr. Jakub Novosad, Ph.D. z FN Hradec Králové, práce byla publikována v r. 2020 (Novosad J, Krcmova I, Bartos V, Drahosova M, Vanik P, Ruzickova O, Terl M, Krejsek J. Effect of omalizumab therapy and chronic rhinosinuitis presence on serum periostin levels in asthma patients, a pilot study. [44].

Sérový periostin je jedním z biomarkerů type- 2 high zánětlivé cesty bronchiálního astmatu (viz předchozí kapitoly). Víme, že hladina periostinu je ovlivněna léčbou systémovými (SKS) a/nebo inhalačními kortikosteroidy (IKS), kdy dochází k jejímu snížení, nemáme však téměř žádné povědomí o změnách hladin sérového periostinu, např. v reakci na léčbu omalizumabem nebo ev. v přítomnosti chronické rhinosinuitidy s nosními polypy (CRSwNP).

CÍL PRÁCE:

Zhodnocení klinicky významných parametrů ovlivňujících hladiny periostinu u pacientů s astmatem.

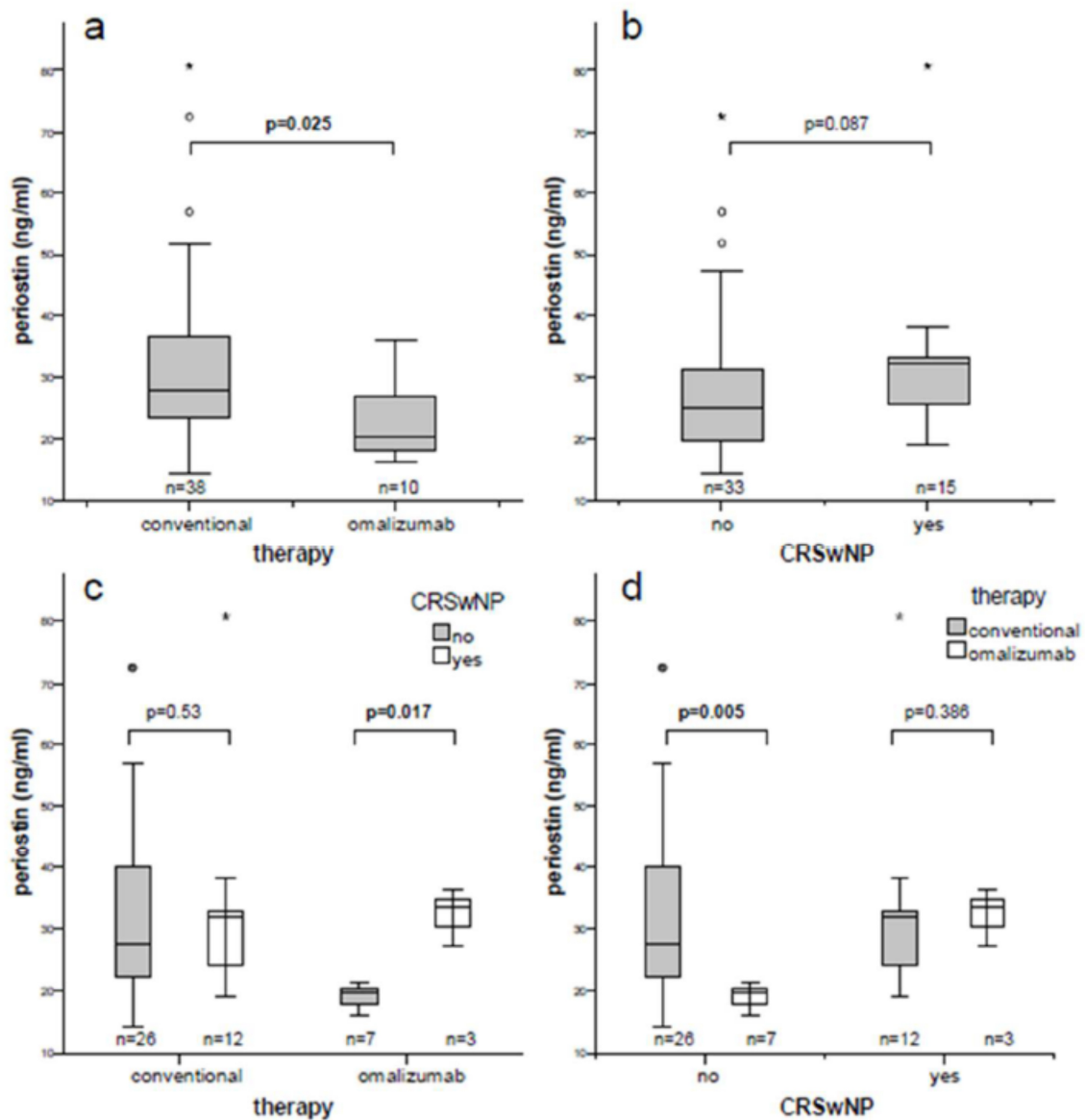
METODY STANOVENÍ

Pilotní, průřezová observační studie k posouzení hladin periostinu v séru u 48 pacientů s astmatem (38 léčených obvyklou terapií zahrnující ICS a 10 léčených ICS a omalizumabem jako aditivní terapie) s přihlédnutím k otstaním parametrům astmatu - komorbiditám a jiným biomarkerům Th2 high fenotypu astmatu [celkový počet IgE, FeNO, absolutní a relativní počet eozinofilů]. Ke stanovení hladiny sérového periostinu byla užitá metoda ELISA. Ve skupině pacientů léčených omalizumabem jsme analyzovali jen počáteční hladinu celkových IgE, důvodem byl známý fakt, že omalizumab vytváří malé, biologicky neaktivní komplexy s molekulami IgE[45].

VÝSLEDKY:

Hladiny periostinu v séru byly všeobecně nižší u pacientů léčených omalizumabem ve srovnání s konvenčně léčenými pacienty ($p = 0,025$) (obr. č. 9 a), nebyl však zaznamenán žádný celkový rozdíl v úrovních periostinu mezi pacienty s nebo bez přítomnosti chronické rhinosinuitidy s nosními polypy (CRSwNP) ($p = 0,087$) (obr. č. 9 b). Potvrdili jsme významné snížení hladin periostinu u pacientů bez přítomnosti CRSwNP pouze v podskupině léčených omalizumabem ($p = 0,017$) na rozdíl od pacientů léčených běžnou terapií ($p = 0,530$) (obr. č. 9 c) Naopak, nižší hladiny sérového periostinu u pacientů léčených omalizumabem byly patrné pouze tehdy, pokud CRSwNP nebyl přítomen ($p = 0,005$), na rozdíl od pacientů s přítomností CRSwNP ($p = 0,386$) (obr. č. 9 d).

Obr. č. 9 Změny v produkci sérového periostinu v závislosti na terapii a přítomnosti chronické rhinosinuitidy s nosními polypy



4. Diskuze

DISKUZE K PRVNÍ ČÁSTI

Jak již bylo zmíněno dříve, v ČR máme síť center pro diagnostiku a léčbu těžkého astmatu (tzv. NCTA) [3], jen v těchto centrech smí být indikována biologická léčba včetně podávání omalizumabu [1]. Tento velmi pečlivý přístup k léčbě jistě přispívá k vysokému počtu responderů (dle GETE) v naší části registru eXpeRience (88,9%) [46] oproti datům v podobných registrech v jiných zemích (69,9%) [47], současně tato skutečnost mohla ovlivnit i výsledky v naší studii.

V práci kolegů z plicní kliniky ve FN Plzeň, na které jsme spolupracovali sdílením dat od našich pacientů, byla analyzována podskupina pacientů z České republiky s těžkým alergickým astmatem léčených omalizumabem zadaných v registru eXpeRience [46]. Registr eXpeRience byl sestaven tak, aby shromáždil data o reálné celosvětové efektivitě a bezpečnosti omalizumabu u pacientů s těžkým perzistujícím špatně kontrolovaným alergickým astmatem. Výsledky tohoto mezinárodního registru poskytují údaje o demografii pacientů, základních charakteristikách, účinnosti léčby a bezpečnosti po 24 měsících léčby omalizumabem [47,48].

Výchozí demografické a klinické charakteristiky subpopulace České republiky byly srovnatelné s celkovou populací pacientů registru eXpeRience. Počet responderů v ČR (dle GETE) je vysoký (88,9%). Výsledky práce podporují dosavadní nálezy, že aditivní terapie omalizumabem zlepšuje plicní funkce, kontrolu astmatu, snižuje užívání SKS a počet těžkých exacerbací, dále snižuje využití zdravotní péče a počet zameškaných pracovních dnů u pacientů s těžkým alergickým astmatem pod nedostatečnou kontrolou [48]. Hodnocení GETE je pak účinným nástrojem hodnocení dlouhodobé odpovědi na léčbu omalizumabem v České republice. Uvedená zjištění jsou významná i pro průkaz pozitivního vlivu omalizumabu na přímé a nepřímé náklady na zdravotní péči a na snížení sociálněekonomického zatížení péče o nekontrolované alergické astma v České republice. [46].

V analýze pacientů z registru CAR jsme zaznamenali podobný výsledek v počtu responderů (dle GETE) v 16. týdnu po zahájení léčby (82,8%). Nicméně léčebné výsledky byly velmi dobré ve všech skupinách pacientů (i u non - responderů a pacientů s předčasně ukončenou léčbou). Základní charakteristiky pacientů ve třech skupinách (responderi, non - responderi a pacienti s předčasně ukončenou léčbou) se významně nelišily z hlediska pohlaví, věku, hmotnosti i celkového IgE nebo dávky omalizumabu. Všechny měřené parametry [skóre ACT, počet závažných exacerbací za rok, FENO, FEV1 (%NH) a dávka SCS] se zlepšily do konce 1. roku léčby u responderů, ale také u non – responderů i u pacientů s ukončenou léčbou (kromě FENO). Byl zaznamenán také významný pokles počtu pacientů užívajících systémové steroidy ve všech skupinách. (obr. č.2 a č.3, tab.č.1).

Na těchto velmi dobrých výsledcích se jistě podílí práce a péče odborníků v jednotlivých pracovištích NCTA, dále by výsledky mohly být ovlivněny tím, že všechny skupiny pacientů byly léčeny omalizumabem nejméně 16. týdnů (neresponderi), 12. měsíců (responderi) nebo určitou dobu mezi 16. týdnem a jedním rokem (pacienti s předčasně ukočenou léčbou). Výsledky mohou být ale ovlivněny i nestejným počtem pacientů v jednotlivých skupinách. K určitému zkrácení výsledků mohlo dále dojít u responderů a pacientů s předčasně ukončenou léčbou, protože tyto pacienti jsou vlastně podskupinou responderů, navíc u 14 z nich (20%) byla léčba ukončena pro stabilizaci a zlepšení celkového stavu. Další důvody předčasného ukončení byly rozličné, ale žádný z nich nebyl horšení stavu onemocnění.

Ačkoli Namazy ve svých studiích [49,50] prokázal, že užívání omalizumabu v těhotenství je bezpečné, přesto bylo ve všech centrech preferováno léčbu v těhotenství po předchozí vzájemné dohodě s pacientkami ukončit. Výsledky nebyly ovlivněny faktem, že neresponderi měli původně poněkud těžší onemocnění (tab. č. 1).

DISKUZE K DRUHÉ ČÁSTI

V této části práce jsme hodnotili četnost senzibilizace k jednotlivým alergenům nebo jejich kombinacím a závislost výsledků anti-IgE léčby na konkrétním alergologickém profilu jednotlivých pacientů. Polysenzibilizovaní pacienti vykazovali vyšší tendenci být responderem než nepolysenzibilizovaní pacienti a současně nižší tendenci ke zlepšení skóre příznaků ACT a snížení počtu exacerbací.

Důkazy týkající se vlivu senzibilizačního profilu na výsledcích léčby omalizumabem jsou vzácné. V současné době je všeobecně akceptováno, že četnost senzibilizace na konkrétní alergen v populaci závisí na klimatu nebo vlivu životního prostředí; různé biologické charakteristiky kauzálního alergenu mohou určit různé klinické rysy výsledné alergie [51]. Existuje však jen několik studií, které upozorňují, že klinické charakteristiky pacientů

s astmatem mohou souviset s alergologickým profilem. Dřívější studie v Čínské populaci ukázala, že senzibilizace k domácímu prachu byla spojena se zvýšenou tíží astmatu [52]. Naproti tomu další studie ve Španělsku ukázala, že senzibilizace na různé alergeny nebyla spojena s významnými rozdíly v tíži a kontrole astmatu. Nicméně, diagnostika a terapeutické přístupy se mírně liší podle individuální konkrétní senzibilizace [53]. Navíc v těchto pracech nebyla žádná zmínka o léčbě anti-IgE. V jedné ze studií [51] bylo prokázáno, že některé alergeny (zejména plísňe, srst psů a koček, šváby a pyly Ambrozie) byly spojovány s těžším průběhem astmatu. Nám je dobře známé spojení těžkých forem astmatu se senzibilizací na plísňe [54]. Pro účinnou komplexní léčbu pacientů s astmatem, včetně specifické alergenové imunoterapie [55], je velmi důležitá identifikace kauzálních alergenů, nicméně důležitost vlivu eliminace alergenů na průběh astmatu je stále předmětem zkoumání [56].

V naší práci jsme zkoumali mimo jiné senzibilizaci na roztoče, ne šváby, protože jejich zastoupení v senzibilizaci v ČR je minimální oproti jiným zemím (např. v USA).

Nezaznamenali jsme v podskupině monosenzibilizovaných nebo polysenzibilizovaných pacientů žádný významný rozdíl v léčebných výsledcích, pokud jde o počet responderů (tabulka č. 3) ani žádný rozdíl v tíži astmatu. Nicméně, polysenzibilizovaní pacienti (jak již zmíněno dříve) měli vyšší pravděpodobnost ($OR = 2,217$, $p = 0,02$) reagovat jako responder než všechny ostatní podskupiny nepolysenzibilizovaných pacientů.

Naproti tomu měli nižší tendenci ke zvýšení skóre ACT ($OR = 0,503$, $p = 0,032$) oproti všem ostatním podskupinám ($OR = 0,398$, $p = 0,023$ v podskupině responderů) a ke snížení počtu exacerbací ($OR = 0,431$, $p = 0,034$ v podskupině responderů) ve srovnání s pacienty bez polysenzibilizace.

Vysvětlením by mohla být tendence (i když nevýznamná) primárně vyššího skóre ACT a nižšího počtu závažných exacerbací u polysenzibilizovaných pacientů než u ostatních pacientů. Kromě toho mají tito pacienti také lepší klinický stav při zahájení léčby než nepolysenzibilizovaní pacienti (obr. č. 7). Na základě těchto výsledků se domníváme, že tito polysenzibilizovaní pacienti s astmatem mohou představovat jinou podskupinu alergických onemocnění, která může sdílet některé rysy s konceptem "Th2-Ultrahigh" navržené Petersem [57]. Nemáme však dostatek dat pro potvrzení této hypotézy.

Existují zřejmé limitace naší práce. Za prvé je to malý počet pacientů s konkrétním alergickým profilem u některých alergenů, čímž dochází ke ztrátě statistické významnosti.

Bohužel velký počet pacientů z počátečního poolu ($n = 389$) musel být vyloučen z hodnocení ($n = 110$, 28,3% všech zapsaných pacientů v registru) z důvodu neúplných dat v registru. Za druhé, část informací byla ztracena díky semikvantitativnímu hodnocení jednotlivých úrovní intenzity senzibilizace. Za třetí, nemohli jsme posuzovat rozdíly ve výsledcích léčby mezi pacienty citlivými na trvalé nebo sezónní alergen (včetně plevelů), protože prakticky všichni pacienti byli současně alergičtí na nejméně jeden (ale většinou více) sezónní alergen a přinejmenším jeden (nebo více) trvalý alergen, což bylo nezbytným předpokladem pro zahájení léčby podle SPC pro omalizumab. Za čtvrté, existují některé protichůdné výsledky týkající se skóre ACT a počtu exacerbací před zahájením léčby u responderů; což mohlo být způsobeno pouze chybou při sběru dat. Nicméně, kvůli průzkumnému charakteru studie věříme, že je důležité zmínit všechna relevantní data ke zvýraznění potenciálních proměnných veličin pro budoucí konfirmační studie. V současné době nejsme schopni navrhnout jednoduché a jasné doporučení jak přistupovat k jednotlivým pacientům s konkrétním alergologickým profilem léčených omalizumabem. Raději jsme se zaměřili na hledání potenciálních proměnných a parametrů, které by mohly být v budoucnu použity jako možné biomarkery pro odhad vývoje onemocnění a také možných výsledků léčby. Konečně kvůli observační povaze studie, jsme nemohli použít randomizaci a kontrolní placebo skupinu.

DISKUZE K TŘETÍ ČÁSTI

První zmínka o periostinu pochází z r. 1993 [58], následně byl posáno jeho působení jednak při vývoji subepiteliální fibrózy [26] a také souvislost s Th2 typem zánětu u astmatu [27]. Více se začal měřit v širší praxi v r. 2011 [59], v této práci byly hodnoceny výsledky léby astmatu lebrizumabem, bylo zjištěno, že vysoká hladina periostinu je dobrý prediktivní marker efektu léčby lebrizumabem Bohužel však měření periostinu u pacientů s astmatem postrádá standardizaci a výsledky z různých studií nejsou snadno porovnatelné a nelze je jednoduše generalizovat [60]. Produkce periostinu může pravděpodobně obsahovat informace ohledně ohledně remodelace průdušek a fibrózy plic [61], remodelace může zřejmě napomáhat mimo jiné k fixované obstrukci dýchacích cest. [62,63].

Je známo, hladina periostinu může být ovlivněna přítomností komorbidit nebo druhem léčby astmatu, např. na buněčné úrovni je jeho produkce ovlivněna kortikosteroidy [64].

V naší práci nás zajímalo, jak může ovlivnit hladinu periostinu druh léčby (konvenční nebo biologická), dále komorbidity a také jejich vzájemná interakce.

V jedné z prací bylo zjištěno, že korelace periostinu s jinými biomarkery type-2 high zánětu v séru je slabá [65]. My jsme zjistili jen izolovanou pozitivní korelaci mezi periostinem a celkovými hladinami IgE u pacientů léčených konvenčně a pak již jen mezi periostinem a absolutním počtem (nebo v %) eozinofilů ve skupině pacientů bez přítomnosti nosní polypózy. Ve shodě se závěry jedné z prací jsme zjistili významně snížené hladiny periostinu u pacientů léčených omalizumabem na rozdíl od těch léčených konvenčně [66], nicméně u jiných klinických charakteristik (např. komorbidit), jsme žádný významný rozdíl mezi těmito skupinami pacientů nezaznamenali, proto se domníváme, že omalizumab by mohl reálně snižovat produkci periostinu v plicní tkáni. Periostin takto povrzuje svoji odlišnou výpovědní hodnotu, protože se jako jediný biomarker typu 2 odlišoval mezi těmito dvěma skupinami pacientů.

V rámci posuzování interakce mezi způsobem léčby a přítomností či nepřítomností chronické rhinosinusitidy s nosními polypy (CRSwNP) jsme zjistili, že při přítomnosti CRSwNP se hladina periostinu při léčbě omalizumabem nesnižuje, na rozdíl od pacientů bez přítomnosti CRSwNP, což odpovídá jedné ze studií [67] (viz obr. č. 9).

Domníváme se, že alergičtí pacienti s CRSwNP by mohli představovat patogeneticky mírně odlišnou formu nemoci (ILC2-high zánětlivý fenotyp navzdory alergické anamnéze). Periostin zde zřejmě není produkován mechanismy typickými pro běžnou atopickou cestu, ale jinou cestou (například za pomoci IL-5). V této skupině pacientů léčba omalizumabem zřejmě příliš nezabírá, nicméně její určitý benefit byl prokázán i u těchto pacientů [68]. V naší studii jsme zjistili, že právě periostin má potenciál odhalit tuto konkrétní subpopulaci pacientů s těžkým astmatem. Limitací naší studie je jednak její průřezový design, ale hlavně malý počet vyšetřovaných pacientů, takže statistická síla výsledků je příliš nízká. Na druhou stranu však tato skutečnost může odhalit pouze klinicky významné výsledky.

5. Závěry:

V této práci jsme shrnuli přínos české astmatologie k pokrokům v diagnostice a léčbě astmatu za poslední roky se zvláštním zaměřením ke sledování efektu cílené terapie vybrané na podkladě fenotypizace pomocí imunologických biomarkerů.

Oproti ostatním zemím pečují o astmatiky v České Republice převážně respirační specialisté (pneumologové či alergologové), o těžké astmatiky pak výhradně tito specialisté, a kromě jistě většího procentuálního zastoupení správných diagnóz se můžeme chlubit i jednou z nejnižších úmrtností na astma v Evropě.

Česká republika se stala první zemí na světě, kde vzniklo v r. 2015 národní doporučení, fenotypizující astma na základě spojitosti klinických projevů s bližšími charakteristikami zánětu, konkrétně přítomnosti eozinofilie a alergie, vyúsťující ve tři základní fenotypy:

1. eozinofilní alergické, 2. eozinofilní nealergické a 3. non-eozinofilní, nealergické astma.

V ČR existuje síť center pro diagnostiku a léčbu těžkého astmatu (NCTA), umožňující sběr dat a hodnocení efektivity biologické léčby. V naší práci dokumentujeme vysokou úspěšnost biologické léčby, konkrétně u pacientů léčených omalizumabem je to 82,8% responderů. což je výrazně vyšší účinnost než u ostatních srovnatelných zemí.

Analýzou dat z registru CAR jsme dále potvrdili dosavadní nálezy a výsledky četných studií, že aditivní terapie omalizumabem je vysoce efektivní nástroj k léčbě pacientů s těžkým astmatem alergické etiologie. Léčba zlepšuje plicní funkce, kontrolu astmatu, redukuje množství úlevové medikace, dochází ke snížení dávek až vysazení systémové kortikoterapie, redukcí počtu těžkých exacerbací po 1 roce užívání bez ohledu na to, kdy v průběhu roku pacienti ukončili léčbu.

Základními biomarkery s největším praktickým využitím při biologické léčbě těžkého astmatu nadále zůstávají celkové a specifické IgE a eozinofilie v periferní krvi.

Dle našeho povědomí, je naše studie první na světě, která poskytuje údaje o vlivu senzibilizace konkrétními alergeny nebo jejich kombinací na výsledky léčby těžkého alergického astmatu u pacientů léčených omalizumabem. Naše závěry sice neprokázaly rozdíly v četnosti zastoupení jednotlivých alergenů mezi respondery či non- respondery, nicméně mono- nebo oligosenzibilizovaní pacienti mají menší pravděpodobnost účinné léčby než polysenzibilizovaní pacienti, kteří mohou představovat odlišnou podskupinu alergických onemocnění. K potvrzení této hypotézy budou zapotřebí další data z prospektivních studií.

Sérový periostin se jeví být pomocným biomarkerem T2-high fenotypové cesty astmatu a chronické rhinosinuitidy s nosními polypy

V naší práci jsme prokázali, že omalizumab snižuje hladinu periostinu, ale při přítomnosti chronické rhinosinuitidy s nosními polypy (CRSwNP) se hladina periostinu při léčbě omalizumabem nesnižuje. Přestože interpretace výsledků je limitovaná vzhledem k malému množství vyšetřovaných pacientů, naše výsledky podporují názor, že alergičtí pacienti s CRSwNP mohou představovat patogeneticky odlišnou formu nemoci.

6. Přehled prací autora k tématu dizertace

IMPAKTOVANÉ

Petr Vaník, Jakub Novosad, Olga Kirchnerová, Irena Krčmová, Milan Teřl and Czech Anti-IgE Registry collaborators. Effect of individual allergen sensitization on omalizumab treatment outcomes in patients with severe allergic asthma determined using data from the Czech anti-IgE registry. *Allergy Asthma Clin Immunol* (2020) 16:81
<https://doi.org/10.1186/s13223-020-00479-1>

Novosad J, Kremova I, Bartos V, Drahosova M, Vanik, P, Ruzickova O, Terl M, Krejsek J, Serum periostin levels in asthma patients in relation to omalizumab therapy and presence of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Postepy Dermatologii i Alergologii*, 2020, 37(2)

RECENZOVANÉ

HLAVNÍ AUTOR

Vaník P. Astmatický pacient: Spolupráce s alergologem z hlediska pneumologa. *Alergie* 2016;4: 233-237

Vaník P. Efekt komplexní léčby u pacienta s těžkým kortikodependentním astma bronchiale. *Kazuistiky v alergologii, pneumologii a ORL*, 13, 3: x–x, 2017.

Vanik P. Biologická léčbě těžkého alergického astma bronchiale. *Farmakoter Revue* 2019;4(6):1–4.

SPOLUAUTOR

Milan Teřl, Olga Růžičková-Kirchnerová, Petr Vaník, Tatiana Ferková, Marie Nováková, Kamil Kleňha. Těžké astma s mykotickou senzibilizací a systémová enzymoterapie, *Kazuistiky v alergologii, pneumologii a ORL*. 2018, roč. 15, č. 1, s. 15-20. ISSN: 1802-0518.

POSTERY

Ruzickova-Kirchnerova O, Molackova P, Terl M, Vanik P, Panzner P. 10 Year evaluation of patients with severe uncontrolled allergic asthma treated with Omalizumab. *Clin. Probl.*, vol. 52, European Respiratory Society; 2018, p. PA658. doi:10.1183/13993003.congress-2018.PA658.

7. Seznam literatury

1. Teřl M, Čáp P, Dvořáková R, Kašák V, et al. Doporučený postup diagnostiky a léčby bronchiálního astmatu. 1st ed. Geum 2015; s: 1-60. Společný doporučený postup ČPFS a ČSAKI, aktualizace 2016. Dostupné na: <http://www.pneumologie.cz/guidelines/>..
2. Wenzel SE, Schwartz LB, Langmack EL, Halliday JL, Trudeau JB, Gibbs RL. Evidence that severe asthma can be divided pathologically into two inflammatory subtypes with distinct physiologic and clinical characteristics. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1001–8. doi:10.1164/ajrcm.160.3.9812110.
3. Sedlák V, Chlumský J, Teřl M, et al. Doporučený postup diagnostiky a léčby obtížně léčitelného bronchiálního astmatu, 2011. Dostupné z: <http://www.pneumologie.cz/guidelines/>
4. Teřl M, Sedlák V, Čáp P, et al. Asthma management: A new phenotype-based approach using presence of eosinophilia and allergy. *Allergy* 2017;72:1279–1287.
5. Teřl M. Pohled na astma prizmatem eozinofilie a alergie. *Alergie* 11,4:247-255,2009.
6. Katal KR, Bensch GW, Busse WW. Changing paradigms in the treatment of severe asthma: the role of biologic therapies. 2017 American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017;5: S1–S14.
7. Teřl M, Pohunek P, Bystroň J et al. Four seasons of Czech asthma study: asthma characteristics and management reality in the Czech Republic, *Journal of Asthma*, DOI: 10.1080/02770903. 2019. 19082.
8. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM. Interleukin 17–producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat* 2005;6:1123–32. doi:10.1038/ni1254.
9. Cosmi L, Liotta F, Annunziato F. Th17 regulating lower airway disease. *Curr Opin Allergy Clin* 2016;16:1–6. doi:10.1097/ACI.0000000000000227
10. Medrek SK, Parulekar AD, Hanania NA. Predictive Biomarkers for Asthma Therapy. *Curr Allergy Asthma Rep* 2017. doi:10.1007/s11882-017-0739-5.
11. Barnes PJ. Targeting cytokines to treat asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nature Reviews Immunology* 2018;18:454–466.
12. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2015. Dostupné na: <http://www.ginaasthma.org>. [cit.2015]
13. Teřl M. Fenotypy astmatu, možnosti jejich léčby a biomarkery. *Farmakoter Revue* 2019; 4(2): 1-6
14. Novosad J, Krčmová I. Biologická léčba eozinofilních fenotypů těžkého bronchiálního astmatu. *Studia pneumologica et phthiseologica* 2018; (4): 122-133.
15. Kuhl K, Hanania NA. Targeting IgE in asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2012;18:1–5.
16. Caruso M, Morjaria J, Emma R, Amaradio MD, Polosa R. Biologic agents for severe asthma patients: clinical perspectives and implications. *Intern Emerg Med* 2018. doi:10.1007/s11739-017-1773-y.
17. Krčmová I, Novosad J, Sedlák V Biologická léčba u těžkého astmatu. *Postgraduální medicína* 2019; 21(4):354-364.
18. Little SA, Chalmers GW, Thomson NC, MacLeod KJ, McSharry C. Non-invasive markers of airway inflammation as predictors of oral steroid responsiveness in asthma. *Thorax* 2000;55:232–4. doi:10.1136/thorax.55.3.232.
19. Winkel P, Statland BE, Saunders AM, Osborn H, Kupperman H. Within-day physiologic variation of leukocyte types in healthy subjects as assayed by two automated leukocyte differential analyzers. *Am J Clin Pathol* 1981;75:693–700. doi:10.1093/ajcp/75.5.693.

20. Ulrik CS. Peripheral eosinophil counts as a marker of disease activity in intrinsic and Extrinsic asthma. *Clin Exp Allergy* 1995;25:820–7. doi:10.1111/j.1365-2222.1995.tb00024.x.
21. Wempe JB, Tammeling EP, Koëter GH, Håkansson L, Venge P, Postma DS. Blood eosinophil numbers and activity during 24 hours: Effects of treatment with budesonide and bambuterol. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:757–65. doi:10.1016/0091-6749(92)90099-N.
22. Evans PM, O'Connor BJ, Fuller RW, Barnes PJ, Fan Chung K. Effect of inhaled corticosteroids on peripheral blood eosinophil counts and density profiles in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1993;91:643–50. doi:10.1016/0091-6749(93)90270-P.
23. Price DB, Rigazio A, Campbell JD, Bleecker ER, Corrigan CJ, Thomas M. Blood eosinophil count and prospective annual asthma disease burden: A UK cohort study. *Lancet Respir Med* 2015;3:849–58. doi:10.1016/S2213-2600(15)00367-7.
24. Čáp P. Současný pohled na diagnostický význam vydechovaného oxidu dusnatého. *Acta Med* 2018;7:92.
25. Karrasch S, Linde K, Rücker G, Sommer H, Karsch-Völk M, Kleijnen J. Accuracy of FENO for diagnosing asthma: A systematic review. *Thorax* 2017;72:109–16. doi:10.1136/thoraxjnl-2016-208704.
26. Conway SJ, Izuhara K, Kudo Y, Litvin J, Markwald R, Ouyang G. The role of periostin in tissue remodeling across health and disease. *Cell Mol Life Sci* 2014;71:1279–88. doi:10.1007/s00018-013-1494-y.
27. Novosad J, Bartoš V, Drahošová M, Sedlák V, Krejsek J, Krčmová I. Periostin – nový slibný biologický znak bronchiálního astmatu a idiopatické plicní fibrózy Periostin-a novel promising biomarker of bronchial asthma and idiopathic pulmonary fibrosis. *Alergie* 2013;3:185–94.
28. Izuhara K, Ohta SS, Ono J. Using Periostin as a Biomarker in the Treatment of Asthma. *Allergy Asthma Immunol Res* 2016;8:491–8. doi:10.4168/aaair.2016.8.6.491.
29. Woodruff PG, Modrek B, Choy DF, Jia G, Abbas AR, Ellwanger A. T-helper type 2-driven inflammation defines major subphenotypes of asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;180:388–95.
30. Takayama G, Arima K, Kanaji T, Toda S, Tanaka H, Shoji S. Periostin: A novel component of subepithelial fibrosis of bronchial asthma downstream of IL-4 and IL-13 signals. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:98–104. doi:10.1016/j.jaci.2006.02.046.
31. Li W, Gao P, Zhi Y, Xu W, Wu Y, Yin J. Periostin: its role in asthma and its potential as a diagnostic or therapeutic target. *Respir Res* 2015;16:57. doi:10.1186/s12931-015-0218-2.
32. Sidhu SS, Yuan S, Innes AL, Kerr S, Woodruff PG, Hou L. Roles of epithelial cell-derived periostin in TGF- β activation, collagen production, and collagen gel elasticity in asthma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:14170–5. doi:10.1073/pnas.1009426107.
33. Pavlidis S, Takahashi K, Kwong FNK, Xie J, Hoda U, Sun K. “T2-high” in severe asthma related to blood eosinophil, exhaled nitric oxide and serum periostin. *Eur Respir J*
34. Perečinský S, Varga M, Petrovičová J, Ragač O, Perečinská K, Jančová A, et al.: Different clinical effect of several types of airborne allergens on the severity of bronchial hyperreactivity. *Wien Klin Wochenschr* 2017; 129: 674–679.
35. Sheehan WJ, Phipatanakul W: Indoor allergen exposure and asthma outcomes. *Curr Opin Pediatr* 2016; 28: 772- 777.
36. Sears MR, Greene JM, Willan AR, Wiecek EM, Taylor DR, Flannery EM: A longitudinal, population-based, cohort study of childhood asthma followed to adulthood. *N Engl J Med* 2003; 349: 1414–1422.

37. Panzner P, Špičák V, Seberová E, et al. ARIA – alergická rýma a její vztah k astmatu. *Alergie* 2012; 14(1): 47-50.
38. Reddel HK, Taylor DR, Bateman ED, Boulet LP, Boushey HA, Busse WW. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: asthma control and exacerbations—standardizing endpoints for clinical asthma trials and clinical practice. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;180:59–99.
39. Schatz M, Sorkness CA, Li JT, Marcus P, Murray JJ, Nathan RA. Asthma control test: reliability, validity, and responsiveness in patients not previously followed by asthma specialists. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117:549–56.
40. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J*. 2005;26:319–38.
41. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, Irvin CG, Leigh MW, Lundberg JO. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;184:602–15.
42. Lloyd A, Turk F, Leighton T, Canonica GW. Psychometric evaluation of global evaluation of treatment effectiveness: a tool to assess patients with moderate-to-severe allergic asthma. *J Med Econ*. 2007;10:285–96.
43. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2012;67:18–24.
44. Novosad J, Krčmová I, Bartoš V, Drahošová M, Vaník P, Růžičková-Kirchnerová O. Serum periostin levels in asthma patients in relation to omalizumab therapy and presence of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Postepy Dermatologii i Alergologii*, 2020, 37(2)
45. Peters MC, Ringel L, Dyjack N, Herrin R, Woodruff PG, Rios C. A transcriptomic method to determine airway immune dysfunction in T2-high and T2-low asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019;199:465–77.
46. Kirchnerová OR, Valena T, Novosad J, Teřl M. Real-world effectiveness and safety of omalizumab in patients with uncontrolled severe allergic asthma from the Czech Republic. *Adv Dermatol Allergol*. 2019;36:34–43.
47. Braunstahl GJ, Chen CW, Maykut R, Georgiou P, Peachey G, Bruce J. The eXpeRience registry: the “real-world” effectiveness of omalizumab in allergic asthma. *Respir Med*. 2013;107:1141–51.
48. Braunstahl G-J, Leo J, Thirlwell J, Peachey G, Maykut R. Uncontrolled persistent allergic asthma in practice: eXpeRience registry baseline characteristics. *Curr Med Res Opin* 2011;27:761–7. doi:10.1185/03007995.2011.557717.
49. Namazy J, Cabana MD, Scheuerle AE, Thorp JM, Chen H, Carrigan G. The Xolair Pregnancy Registry (EXPECT): the safety of omalizumab use during pregnancy. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135:407–12.
50. Namazy JA, Blais L, Andrews EB, Scheuerle AE, Cabana MD, Thorp JM. Pregnancy outcomes in the omalizumab pregnancy registry and a disease-matched comparator cohort. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;145:528–36.
51. Lombardi C, Savi E, Ridolo E, Passalacqua G, Canonica GW. Is allergic sensitization relevant in severe asthma? Which allergens may be culprit? *World Allergy Organ J*. 2017;10:2.

52. Li J, Huang Y, Lin X, Zhao D, Tan G, Wu J. Influence of degree of specific allergic sensitivity on severity of rhinitis and asthma in Chinese allergic patients. *Respir Res.* 2011;12:95.
53. Domínguez-Ortega J, Quirce S, Delgado J, Dávila I, Martí-Guadaño E, Valero A. Diagnostic and therapeutic approaches in respiratory allergy are different depending on the profile of aeroallergen sensitisation. *Allergol Immunopathol.* 2014;42:11–8.
54. Agarwal R. Severe asthma with fungal sensitization. *Curr Allergy Asthma Rep* 2011. doi:10.1007/s11882-011-0217-4.
55. Virchow JC, Backer V, Kuna P, Prieto L, Nolte H, Villesen HH. Efficacy of a house dust mite sublingual allergen immunotherapy tablet in adults with allergic asthma. *JAMA.* 2016;315:1715–25.
56. McIvor RA. Emerging therapeutic options for the treatment of patients with symptomatic asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2015;115(265–271):e5.
57. Peters MC, Ringel L, Dyjack N, Herrin R, Woodruff PG, Rios C. A transcriptomic method to determine airway immune dysfunction in T2-high and T2-low asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2019;199:465–77.
58. Takeshita S, Kikuno R, Tezuka K, Amann E. Osteoblast-specific factor 2: cloning of a putative bone adhesion protein with homology with the insect protein fasciclin I. *Biochem J* 1993. doi:10.1042/bj2940271.
59. Corren J, Lemanske RF, Hanania NA, Korenblat PE, Parsey M V., Arron JR. Lebrikizumab Treatment in Adults with Asthma. *N Engl J Med* 2011;365:1088–98. doi:10.1056/nejmoa1106469.
60. Arron JR, Izuhara K. Asthma biomarkers: What constitutes a “gold standard”? *Thorax* 2015. doi:10.1136/thoraxjnl-2014-206069.
61. Uchida M, Shiraishi H, Ohta S, Arima K, Taniguchi K, Suzuki S. Periostin, a matricellular protein, plays a role in the induction of chemokines in pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2012. doi:10.1165/rcmb.2011-0115OC.
62. Takahashi K, Meguro K, Kawashima H, Kashiwakuma D, Kagami S ichiro, Ohta S. Serum periostin levels serve as a biomarker for both eosinophilic airway inflammation and fixed airflow limitation in well-controlled asthmatics. *J Asthma* 2018. doi:10.1080/02770903.2018.1455855.
63. Kanemitsu Y, Matsumoto H, Izuhara K, Tohda Y, Kita H, Horiguchi T. Increased Periostin associates with greater airflow limitation in patients receiving inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132:305– 12. doi:10.1016/j.jaci.2013.04.050.
64. Shoda T, Futamura K, Kobayashi F, Saito H, Matsumoto K, Matsuda A. Cell type-dependent effects of corticosteroid on periostin production by primary human tissue cells. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol* 2013. doi:10.1111/all.12240.
65. Fingleton J, Braithwaite I, Travers J, Bowles D, Strik R, Siebers R. Serum periostin in obstructive airways Disease. *Eur Respir J* 2016. doi:10.1183/13993003.01384-2015.
66. Caminati M, Gatti D, Dama A, Lorenzetti L, Senna G. Serum periostin during Omalizumab therapy in asthma: a tool for patient selection and treatment evaluation. *Ann Allergy, Asthma Immunol* 2017;119:460–2. doi:10.1016/j.anai.2017.08.004.
67. Asano T, Kanemitsu Y, Takemura M, Yokota M, Fukumitsu K, Takeda N. Serum Periostin as a Biomarker for Comorbid Chronic Rhinosinusitis in Patients with Asthma. *Ann Am Thorac Soc* 2017;14:667–75. doi:10.1513/AnnalsATS.201609-720OC.
68. Gevaert P, Calus L, Van Zele T, et al. Omalizumab is effective in allergic and nonallergic patients with nasal polyps and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131(1): 110-6.e1.