Downloaded from UvA-DARE, the institutional repository of the University of Amsterdam (UvA)
http://dare.uva.nl/document/59064

File ID	59064
Filename	Hoofdstuk 12 Discussie en Samenvatting

SOURCE (OR PART OF THE FOLLOWING SOURCE):

Type	Dissertation
Title	Eosinophil decranulation as an allergy activation marker
Author	C.J. Admiraal
Faculty	Faculty of Medicine
Year	2001
Pages	208
ISBN	909014997X

FULL BIBLIOGRAPHIC DETAILS:
http://dare.uva.nl/record/91491

Copyright

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other then for strictly personal, individual use.

UvA-DARE is a service provided by the library of the University of Amsterdam (http://dare.uva.nl)

Hoofdstuk 12

Discussie en Samenvatting

Inleiding

De eosinofiele granulocyt (kortweg eosinofiel) is één van de witte-bloedcelsoorten die evenals andere bloedcellen ontstaat in beenmerg uit een voorlopercel. De cellen rijpen in ongeveer 10 dagen. Vervolgens circuleren ze 13 tot 18 uur in bloed, om daarna in weefsels of doelorganen te infiltreren, waar ze na een verblijf van circa 6 dagen te gronde gaan. Bij gezonde personen is de concentratie aan eosinofiele granulocyten in het bloed minder dan 0,5 x 10^9/l. Eosinofilocytopenie (tekort aan circulerende eosinofielen) is als zodanig niet gedefinieerd, omdat er ook bij gezonde mensen weinig circulerende eosinofiele granulocyten voorkomen. Een verhoogde concentratie eosinofielen wordt o.a. gevonden bij allergische aandoeningen en bij infecties met parasieten.

Pas in de laatste jaren is er meer inzicht ontstaan in de functies van de eosinofiele granulocyt. De eosinofiele granulocyt is betrokken bij verschillende processen; als 'effector' cel bij de afweer tegen parasitaire larven en als 'ontstekings' cel bij allergische reacties in o.a. huid, long, neus en darm. De cel speelt daarom niet alleen een positieve (beschermende) rol in het menselijk lichaam, maar kan ook een negatieve (aanvallende) rol spelen door beschadiging van eigen weefsel.

Wanneer de eosinofiele granulocyt in contact komt met initiërende factoren, wordt de cel geactiveerd. De activatie leidt onder andere tot een bepaalde mate van degranulatie. Bij degranulatie komen diverse eiwitten vrij. Bij onderzoek van de samenstelling van de inhoud van eosinofiele granula werden vier groepen sterk positief geladen eiwitten aangetoond: major basic protein (MBP), eosinofiel peroxidase (EPO), eosinofiel proteïne X (EPX) en eosinofiel kationisch proteïne (ECP).
Het vrijkomen van de eiwitten wordt gepotentieerd door contact van de eosinofiele granulocyten met bepaalde ontstekingsmediatoren die vaak lokaal in het aangedane weefsel worden geproduceerd. Dit proces wordt pre-activatie of priming genoemd. Platelet-Activating Factor (PAF) is een bekende pre-activator van de eosinofiele

granulocyt. Eerdere studies laten in ieder geval zien dat eosinofiele granulocyten van allergisch-astmatische patiënten gepreactiveerd zijn voor chemotaxie en zuurstofradicaalvorming. Het is niet duidelijk of de eosinofiele granulocyten bij patiënten met ziektebeelden waarbij de eosinofiele granulocyt waarschijnlijk een rol speelt, al op deze wijze gepreactiveerd zijn tot degranulatie terwijl de cellen zich nog in bloed bevinden.

Doel van het onderzoek

Studies waarin de mate van priming van eosinofielen met betrekking tot hun degranulatie is geëvalueerd zijn niet toereikend geweest omdat deze cellen slechts een klein deel van hun totale hoeveelheid granula-eiwitten vrijmaken tijdens *in vitro* activatie. Er is echter beschreven dat vrijgifte van deze eiwitten tijdens *in vitro* bloedstolling gebruikt kan worden als een test om de mate van priming van de aanwezige eosinofielen te kunnen vaststellen (Venge, 1993).
De bepaling van de concentraties van degranulatieproducten afkomstig van eosinofielen, zoals de granula-eiwitten ECP en EPX, in een zieke en gezonde populatie kan informatie verschaffen over de activatiegraad van de cellen. Het doel van mijn studie is de bruikbaarheid en de eventuele meerwaarde van deze degranulatietest voor diagnostische en therapeutische toepassingen te bepalen in vergelijking met het aantal eosinofiele granulocyten in bloed. De vraag is of de concentratie van degranulatie eiwitten in het serum een betere parameter is voor differentiatie tussen zieke en gezonde personen of dat deze parameter eerder een effect van therapie aantoont dan het aantal eosinofielen in het bloed.
Aan de hand van enkele klinische studies is de toepasbaarheid van de genoemde parameter geëvalueerd voor het diagnostiseren of voor het vervolgen van het effect van therapie in enkele groepen patiënten met ziekten waarbij de eosinofiele granulocyt een duidelijke rol speelt.

Bij aanvang van de studie bleek reeds dat niet alleen de ECP en EPX metingen zelf, maar meer nog de pre-analytische fase van belang is voor het nauwkeurig kunnen diagnostiseren en vervolgen van patiënten. Een aantal facetten die belangrijk zijn voor een betrouwbare analyse methode in serum werden geëvalueerd, zoals de invloed van stoltemperatuur en stoltijd.

Pre-analytische factoren en methodologische aspecten

ECP en EPX zijn slechts in zeer lage concentraties aanwezig in plasma. De concentraties in serum zijn hoger. ECP en EPX in serum zijn afkomstig van zowel *in vivo* als *in vitro* degranulatie van eosinofielen, waarbij de *in vitro* bijdrage de dominante factor is. Voor een juiste interpretatie van serumconcentraties van eiwitten afkomstig uit eosinofiele granula is het noodzakelijk om de bloedafnameprocedure en de pre-analytische verwerking van de monsters te standaardiseren. De invloed van stoltemperatuur en stoltijd, de afhankelijkheid van het aantal eosinofielen in het bloed, de verschillen en overeenkomsten tussen de twee te meten degranulatie-eiwitten (ECP en EPX) en de verschillen tussen twee meetmethoden zijn beschreven in de hoofdstukken 2, 3, 4 en 5. Omdat ECP en EPX in dezelfde granula aanwezig zijn was de verwachting dat bij degranulatie geen verschil in de toename van ECP of EPX valt te detecteren. Er bleek in de experimenten inderdaad geen essentieel verschil te bestaan tussen de resultaten van de EPX of ECP metingen (hoofdstuk 2 en 3). Daarom is bij de uitvoering van de overige experimenten gekozen voor beperking tot één eiwit, het ECP.
De bepaling van de ECP concentratie in serum is een indirecte maatstaf voor de mate van degranulatie van de eosinofiele granulocyt *in vivo*. Voor een juiste interpretatie is het noodzakelijk dat de omstandigheden tijdens het stolproces in de afnamebuis gestandaardiseerd zijn. De invloed van de omgevingstemperatuur is essentieel; stolling bij 37°C leidt tot een 5 - 10 maal hogere ECP serumconcentratie in vergelijking met 4°C. De stoltijd behoort ook gestandaardiseerd te worden. Na 2 uur bij 37°C wordt er

voor het vrijkomen van ECP en EPX een plateaufase bereikt. Standaardisatie in tijd en temperatuur tijdens stollen leidt tot minder spreiding in resultaten en zodoende tot een meer eenduidige interpretatie. De spreiding in serum ECP concentraties omvat voor normale personen (ogenschijnlijk gezonde donoren) een groot gebied (12 tot 99 μg ECP/l) (hoofdstuk 4). De variatie zal nog hoger worden indien er verschillende meetmethoden worden gebruikt bij de bepaling van de serum ECP concentratie. Voor het bepalen van referentiewaarden is het belangrijk vast te stellen of verschillende meetmethoden vergelijkbare analyseresultaten geven (hoofdstuk 5). Vergelijking van de resultaten van serum contrôlemonsters laat in geval van normale concentraties een goede correlatie zien tussen twee commercieel verkrijgbare bepalingsmethoden (DPC en Kabi Pharmacia). Bij een verhoogde concentratie van ECP wordt relatief minder ECP gedetecteerd met de methode van DPC dan met die van Kabi Pharmacia. Contrôlemonsters die ECP of een klein herkenbaar gedeelte (epitoop) ervan bevatten in een waterige oplossing vertonen eveneens verschillen tussen beide methoden.
Er is door ons een sterke correlatie gevonden tussen de serum ECP resultaten en het aantal eosinofielen in bloed. Daarom hebben we ook de serum ECP per eosinofiel ratio berekend, om daarmee de variatie, bewerkstelligd door het aantal eosinofielen, uit te sluiten. Op deze manier is voor de serum ECP per eosinofiel ratio is bij gezonde donoren een range vastgesteld van 61 tot 367 μg ECP per 10^9 eosinofiele granulocyten. De omvang van de spreiding is iets kleiner dan de spreiding van het serum ECP.

Om de totale hoeveelheid ECP per eosinofiel vast te stellen zijn eosinofielen gelyseerd met behulp van Cetyl-trimethyl-ammonium-bromide (CTAB). De totale hoeveelheid bedraagt 0,8 tot 6 pg ECP/eosinofiele granulocyt (hoofdstuk 6). Er is meer ECP aanwezig in eosinofielen afkomstig van individuen met een lage concentratie eosinofielen in bloed. In andere studies wordt de totale hoeveelheid niet uitgedrukt in relatie tot het aantal eosinofielen in bloed. De variatie in de opgegeven hoeveelheden in de literatuur is groot: van 4,0 tot 13,5 pg ECP/eosinofiele granulocyt. Deze spreiding

kan voor een deel verklaard worden door het feit dat de totale hoeveelheid ECP bepaald is na lysis van de cellen in verschillende media.

Karakteristieken van de eosinofielpopulatie met betrekking tot degranulatie

Bepaalde studies veronderstellen dat circulerende eosinofiele granulocyten van allergische patiënten gepre-activeerd zijn en om deze reden een verhoogde excretie van ECP vertonen tijdens stolling *in vitro* ten opzichte van de eosinofielen afkomstig van een gezonde populatie. Het is echter de vraag of degranulatie van de eosinofiele granulocyt tijdens stolling *in vitro* volgens hetzelfde mechanisme verloopt als de degranulatie in het aangedane weefsel. Daarnaast stelden wij vast dat zowel in de gezonde populatie als in de patiëntengroepen een sterke relatie bestaat tussen de concentraties eosinofielen in bloed en de serum ECP concentraties. In het algemeen geldt: hoe hoger het aantal eosinofielen in bloed des te hoger is de serum ECP concentratie. Het is voor de interpretatie van de uitkomsten daarom van belang om de ECP serumconcentratie te beoordelen in relatie tot de concentratie eosinofielen in het bloed.
Er is een afgeleide parameter gedefinieerd voor het kwantificeren van de mate van eosinofiel activatie: de serum ECP per eosinofiel ratio (hoofdstuk 6). Deze ratio geeft een indruk omtrent de *in vitro* tijdens stolling vrijgekomen hoeveelheid ECP per eosinofiele granulocyt. Deze serum ECP per eosinofiel ratio laat een inverse trend zien in relatie tot het aantal eosinofiele granulocyten. Bij een lage concentratie eosinofielen in bloed is de ECP per eosinofiel ratio hoog. Indien patiënten met een allergische aanleg werden vergeleken met ogenschijnlijk gezonde personen (hoofdstuk 4) werd geen verschil in de serum ECP/eosinofiel ratio tussen de twee groepen waargenomen. In de groepen van respectievelijk astma-, colitis ulcerosa- en hooikoortspatiënten laat de serum ECP per eosinofiel ratio evenmin een duidelijk verschil zien in vergelijking met

een gezonde populatie. Tijdens therapie vindt er een daling van het aantal eosinofielen plaats en tegelijkertijd een stijging van de ECP afgifte per eosinofiel. Het is moeilijk om de meerwaarde van de serum ECP concentratie in vergelijking met de eosinofiel concentratie aan te geven. ECP reflecteert in feite slechts de hoeveelheid eosinofielen in bloed.

Om te kunnen verklaren waarom eosinofielen die in bloed aanwezig zijn in een lage concentratie, meer ECP per eosinofiele granulocyt vrijmaken tijdens *in vitro* stolling, is de totale hoeveelheid ECP aanwezig in een eosinofiele granulocyt bepaald.
In deze experimenten werden eosinofielen gelyseerd met behulp van Cetyl-trimethyl-ammonium-bromide (CTAB) (hoofdstuk 6). Er werd hierbij een analoge inverse trend voor de totale hoeveelheid ECP per eosinofiele granulocyt waargenomen als functie van de concentratie eosinofiele granulocyten. Wanneer het aantal eosinofielen in bloed hoog is, is de hoeveelheid ECP per eosinofiel laag. Uit de experimenten blijkt dat de hoeveelheid vrijgekomen ECP tijdens *in vitro* stolling bij 37°C ongeveer 3% van de totale hoeveelheid aanwezige ECP omvat, ongeacht de eosinofielconcentratie in het bloed. Onze studies geven dan ook geen aanwijzingen voor de hypothese dat door pre-activatie van circulerende eosinofielen *in vivo* er meer ECP vrijkomt tijdens het stolproces *in vitro*.

Proliferatie en uitrijping van eosinofiele granulocyten vindt plaats in het beenmerg. Na het myelocytaire stadium worden de cellen toegevoegd aan de voorraad in het beenmerg. Na een aantal dagen worden de cellen afgegeven aan het bloed. Indien er eosinofielen nodig zijn, bijvoorbeeld bij allergische ziekten of voor afweermechanismen, migreren eosinofielen in versterkte mate vanuit het bloed naar de betreffende weefsels. Bij hogere concentraties aan eosinofielen in het bloed komen er meer eosinofielen, wellicht jongere cellen, uit het beenmerg naar het bloed (Smith en Goetzl 1980). Waarschijnlijk kan de verhoogde hoeveelheid vrijgekomen ECP per eosinofiele granulocyt bij een lage concentratie eosinofielen worden verklaard uit het

feit dat deze eosinofielen meer ECP per cel bevatten. Dit gegeven heeft wellicht te maken met de langere rijpingsperiode van eosinofielen in het beenmerg van personen met weinig eosinofielen in de circulatie.

Klinische studies

Om de klinische bruikbaarheid van de serum ECP concentratie en de serum ECP per eosinofiel ratio als activatiemarkers van de eosinofiele granulocyt in vergelijking met het aantal eosinofielen in bloed te bestuderen zijn enkele patiëntengroepen onderzocht. De patiëntengroepen betroffen astmapatiënten (hoofdstuk 7), personen met Colitis Ulcerosa (hoofdstuk 8) en kinderen met hooikoorts (hoofdstuk 9). De astmapatiënten, die aanvankelijk geen corticosteroïden gebruikten maar later startten met inhalatiesteroïden, zijn gedurende een periode van 1 jaar bestudeerd. Patiënten met Colitis Ulcerosa zijn voor en direct na start van de suppletie met orale corticosteroïden gedurende 12 weken bestudeerd. Bij hooikoortspatiënten is het effect van immunotherapie bestudeerd in vergelijking met een contrôlegroep van patiënten die uitsluitend met corticosteroïden werden behandeld. Bij immunotherapie worden patiënten ingespoten met geringe hoeveelheden van het allergeen waar men allergisch voor is. Door een herhaling van de blootstelling maakt het lichaam stoffen aan die de bestaande reactiviteit bij blootstelling aan allergenen doet afnemen.
Er is onderscheid tussen groepen zieke en gezonde volwassenen mogelijk op grond van de resultaten van de serum ECP meting. Dit geldt in de meeste gevallen echter ook voor het aantal eosinofielen in bloed. Een meerwaarde van de serum ECP concentratie als activatiemarker van eosinofielen voor het beoordelen van de ernst van de ziekte is in deze gevallen dus niet aan te geven. Daarbij valt op dat er bij het onderscheid tussen een zieke en gezonde populatie en bij exacerbatie respectievelijk remissie een grote overlap bestaat tussen de groepen. De individueel voorspellende waarde voor de aanwezigheid van een ziekte op grond van de genoemde parameters is daarom gering.

De hypothese is onderzocht of ECP serumconcentraties als activatiemarker een voorspellende waarde hebben voor het verloop van de activiteit van de ziekte tijdens therapie. Zowel serum ECP concentraties als het aantal eosinofielen in bloed geven na de start van medicatie het effect weer van de behandeling. De ECP serumconcentratie in verhouding tot het aantal eosinofielen, uitgedrukt als serum ECP per eosinofiel ratio, blijft vrijwel constant maar vertoont een abrupte verhoging wanneer het aantal eosinofielen onder 0,05 x 10^9/l daalt.
Therapie met corticosteroïden leidt tot een opmerkelijke daling in het aantal eosinofiele granulocyten in bloed. Het aantal eosinofiele granulocyten in bloed en de concentratie in serum van het degranulatieproduct ECP zijn laboratoriumparameters die onmiddellijk na de start van corticosteroïd-therapie een effect laten zien. Na drie maanden corticosteroidtherapie door middel van inhalatie is een verlaging in de parameters waar te nemen (hoofdstuk 7). Het aantal eosinofielen daalt drastisch tot ongeveer de helft van de aanvankelijke waarde, terwijl de serum ECP concentratie slechts met 35% afneemt. Orale corticosteroïd therapie bij colitis patiënten (hoofdstuk 9), laat na twee weken voor beide parameters een daling tot 35% van de beginwaarden zien. Het verschil zou verklaard kunnen worden door een verschillende gevoeligheid voor corticosteroïden in de verschillende patiëntengroepen. ECP vrijgifte per eosinofiel laat geen verschil zien voor en na therapie. Om deze reden levert de ECP concentratie in serum geen meerwaarde ten opzichte van het aantal circulerende eosinofielen in bloed als een parameter voor het vaststellen van de klinische situatie van een patiënt.
Opmerkelijk is dat de *neutrofiele* granulocyten steeds een éénmalige kortdurende verhoging laten zien na start van de corticosteroïdtherapie. Eén van de verklaringen voor de tegengestelde effecten van therapie bij eosinofiele en neutrofiele granulocyten zou kunnen zijn het versnellen of het vertragen van geprogrammeerde celdood (apoptose). *In vitro* studies hebben namelijk laten zien dat apoptose in eosinofielen verhoogd en in neutrofielen juist verlaagd wordt in aanwezigheid van corticosteroïden (Matsukura *et al.* 1996, Meagher *et al.* 1996, Nittoh *et al.* 1998).

Bruikbaarheid van gesignaleerde verschillen in morfologische kenmerken

Omdat in de literatuur beschreven is dat medische behandeling niet alleen invloed heeft op het aantal eosinofiele granulocyten in het bloed maar ook op de uitrijping en het afsterven van de cellen, werden met behulp van een lichtmicroscoop de morfologische variaties in eosinofiele granulocyten onderzocht. Een eosinofiele granulocyt wordt gekenmerkt door relatief grote, ronde korrels. De eosinofiele korrels verschijnen in het promyelocytaire stadium van de cellen in het beenmerg. De kern van een eosinofiele granulocyt bestaat meestal uit twee lobben. In hoofdstuk 10 is beschreven welke morfologische verschillen bij mensen met veel, respectievelijk weinig, circulerende eosinofielen in bloed waargenomen worden. Het aantal vacuolen, het granulatiepercentage, de diameter van de cel, de kern/cel oppervlakte verhouding en het aantal lobben in de kern werden als activatie- en rijpingskenmerken gebruikt. Eosinofielen van patiënten met een hoge eosinofielconcentratie in bloed bleken groter te zijn dan eosinofielen die aanwezig zijn in een lage concentratie in bloed. De overige morfologische kenmerken van deze twee celpopulaties waren gelijk. In het algemeen hebben onrijpe granulocyten een grotere diameter dan rijpe granulocyten (Baggiolini 1980).

Corticosteroïdtherapie leidt bij de meeste patiënten tot een lagere eosinofielconcentratie in het bloed. De eosinofiele granulocyten in bloed bevatten dan minder lobben per kern dan eosinofielen die aanwezig waren voor de start van de therapie. Bovenstaande eigen waarnemingen hebben tot de conclusie geleid dat bij een hogere eosinofielconcentratie in het bloed er meer onrijpe eosinofielen aanwezig zijn. Corticosteroïdtherapie laat geen verschil in de morfologische activatiekenmerken zien, maar het aantal lobben per kern als marker voor rijping neemt in geringe mate af tijdens therapie. Waarschijnlijk worden tijdens corticosteroïdtherapie de oudere cellen sneller naar de weefsels gevoerd voor een

versnelde apoptose of de aanmaak van de eosinofielen wordt onderdrukt, waardoor de cellen langere tijd in het beenmerg blijven en er daardoor meer rijping van de cellen plaatsvindt in het beenmerg.

Conclusie

In situaties waarbij de eosinofiele granulocyt een rol speelt zijn de eosinofiele granulocyten in verhoogde hoeveelheden aanwezig in bloed. Het is niet mogelijk gebleken om aan de hand van de concentratieveranderingen van degranulatie-eiwitten in serum aan te tonen dat de cellen in dergelijke omstandigheden gemakkelijker *in vitro* degranuleren. Een verhoogde mate van vrijkomen van de hoeveelheid ECP per eosinofiele granulocyt is niet waargenomen. Een gestandaardiseerde pre-analytische fase laat voor de ECP concentraties in serum en het aantal eosinofielen in het bloed een duidelijk verband zien, zowel voor als na start van therapie. De meerwaarde van de serum ECP concentratie ten opzichte van de eosinofielconcentratie in het bloed werd in deze studie niet bevestigd. Een nieuwe parameter, de serum ECP per eosinofiel ratio, laat nauwelijks variatie zien bij verschillende groepen patiënten en tijdens het vervolgen van de ziekte-activiteit bij diverse patiënten. De elders in de literatuur beschreven hypothese dat eosinofielen van diverse soorten allergische patiënten ten gevolge van de gepreactiveerde status tijdens *in vitro* stolling meer ECP vrijmaken wordt door mijn studie niet onderbouwd.
De morfologische kenmerken manifesteren een gering verschil in eosinofiele granulocyten bij hoge respectievelijk lage concentraties in bloed. Het verschil wijst overigens veeleer op een verschil in uitrijping dan op een wezenlijk verschillende activatiegraad van de eosinofielen. Evenals het aantal eosinofielen in bloed en de serum ECP concentratie laten ook de morfologische kenmerken een duidelijke overlap zien tussen de eosinofielen van zieke en gezonde personen, zodat de individueel voorspellende waarde gering is.

Het blijkt niet mogelijk om naast de hoeveelheid eosinofielen in bloed (*kwantiteit*) met behulp van gemakkelijk toegankelijke diagnostische bepalingen ook de pre-activatiegraad (*kwaliteit*) van de populatie eosinofiele granulocyten aan te tonen.

Suggesties voor vervolgonderzoek

Om het proces van degranulatie en de bruikbaarheid van ECP bepalingen beter te begrijpen is het zinvol te onderzoeken welke factor er bij bloedstolling vrijkomt die resulteert in eosinofieldegranulatie.
Omdat meting van ECP in serum beschouwd wordt als een indirecte maat voor eosinofielactivatie, is het aan te bevelen eosinofiele degranulatiemarkers te meten in lichaamsvloeistoffen waarin geen sprake is van activatie zoals bij *in vitro* bloedstolling. Het betreft analyse in vloeistoffen die aanwezig zijn rondom het aangedane weefsel, zoals broncho-alveolaire lavage vloeistof, sputum of faeces. Hierbij treden echter problemen op bij het verkrijgen van monsters: representeert de kleine hoeveelheid monster wel de toestand in het gehele weefsel, en in welk oplosmiddel wordt het materiaal gesuspendeerd? Een andere optie is om de bruikbaarheid van ECP of EPX in urinemonsters te onderzoeken. Bepaling in urine is echter evenals bepaling in bloed slechts een indirecte maatstaf voor degranulatie in het aangedane weefsel; het is niet duidelijk of de gemeten ECP het vrijgekomen eiwit is uit de aangedane weefsels of dat het ECP betreft dat vrijgekomen is uit de eosinofielen in de nieren.
Een meer directe benadering zou zijn bepaling van de hoeveelheid degranulatie-eiwitten in een stukje ontstoken weefsel (biopt). Maar de bepaling in een weefselbiopt valt niet onder de categorie gemakkelijk toegankelijke laboratoriumtechnieken voor diagnose en vervolg van ziektebeelden.

Referenties

Baggiolini M. The neutrophil. In: The Cell Biology of Inflammation. 1980. Ed. Weissmann G, Amsterdam: 163-87.

Matsukura M, Yamada H, Yudate T, Tezuka T, Chihara J, Corticosteroid-induced apoptosis of eosinophils in atopic dermatitis patients. J Clin Lab Immunol 1996; 48: 109-22.

Meagher LC, Cousin JM, Seckl JR, Haslett C. Opposing effects of glucocorticoids on the rate of apoptosis in neutrophilic and eosinophilic granulocytes. J Immunol 1996; 156: 4422-8.

Nittoh T, Fujimori H, Ishihara K, Ohuchi K. Effects of glucocorticoids on apoptosis of infiltrated eosinophils and neutrophils in rats. Eur J Pharmacol 1998; 354: 73-81.

Smith JA and Goetzl EJ. Celular properties of eosinophils: regulatory, protective and potentially pathogenic roles in inflammatory states. In: The Cell Biology of Inflammation. 1980. Ed. Weissmann G, Amsterdam: 189-216.

Venge P. Eosinophil and neutrophil granulocytes. Allergy 1993; 48: 39-47.