



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PISA
Scuola di Specializzazione in Reumatologia

Tesi di specializzazione

Anno accademico 2009/2010

**Sindrome di Churg-Strauss e sindrome
ipereosinofila: un punto di incontro tra reumatologi
ed ematologi**

Candidata

Dott.ssa Sara Grossi

Relatore

Chiar.mo Prof. S. Bombardieri

1. LA SINDROME DI CHURG STRAUSS E LE VASCULITI SISTEMICHE

1.1. DEFINIZIONE:

La sindrome di Churg-Strauss (CSS) è una forma rara di vasculite necrotizzante sistemica le cui manifestazioni clinico-sierologiche principali sono: asma, ipereosinofilia e presenza di granulomi eosinofili extravascolari (43,64).

Le vasculiti sono malattie eterogenee che comportano flogosi e necrosi delle pareti dei vasi sanguigni (54). Possono essere colpiti vasi di qualunque tipo e di qualsiasi calibro: arterie, arteriole, venule e capillari (56). Ne deriva che l'espressione clinica delle vasculiti è condizionata dalla sede, dal tipo e dal calibro dei vasi colpiti oltre che dalla gravità del processo flogistico associato (60,94). Nella CSS, in particolare, vengono coinvolti tipicamente i vasi di piccolo calibro sia venosi che arteriosi (67). Gli agenti etiologici in grado di scatenare tale processo vasculitico sono ancora in gran parte sconosciuti e pertanto la CSS appartiene alle vasculiti cosiddette primitive o idiopatiche(67,94).

Le vasculiti infatti, possono costituire delle affezioni primitive o secondarie (60). Nel primo caso l'interessamento vascolare è primitivo e prevalente e il quadro clinico è interamente imputabile al danno a carico dei vasi sanguigni e alle sue conseguenze; nel secondo caso, invece, il processo vasculitico rappresenta una manifestazione secondaria di altre malattie primitive (es.vasculiti associate a malattie infettive, a neoplasie, a reazioni di

ipersensibilità a farmaci e ad altre connettiviti come il lupus, l'artrite reumatoide, la crioglobulinemia etc.) (6).

1.2 CLASSIFICAZIONE DELLE VASCULITI.

La classificazione delle vasculiti è a tutt'oggi un problema aperto (53). La conoscenza ancora parziale dei meccanismi etiopatogenetici di queste affezioni, l'elevata eterogeneità e, allo stesso tempo, la notevole sovrapposizione nosografica che esse presentano contribuiscono a rendere difficile una loro completa sistematizzazione (67,46).

La Tabella 1 riassume i principali modelli classificativi proposti dal 1952 ad oggi.

1952	Zeek (104)
1964	Brown (9)
1976	Gilliam-Smiley (32)
1978	Fauci (29)
1983	McCluskey-Flenberg (75)
1986 e 1991	Lie (68)
1990	American College of Rheumatology (55,72)
1993	Chapel Hill Consensus Conference (69)

Tabella 1: principali modelli classificativi proposti

Zeek nel 1952, propose di prendere in considerazione il calibro dei vasi interessati dal processo flogistico oltre ai segni clinici ed

istologici. In particolare distinse cinque sottotipi di vasculiti necrotizzanti: angite da ipersensibilità, angite granulomatosa allergica, arterite reumatica, periarterite nodosa e arterite temporale (104).

Fauci ha distinto le vasculiti distrettuali da quelle sistemiche; queste ultime suddivise in tre ulteriori sottogruppi in base alla risposta al trattamento (29).

Nel 1990 l' "American College of Rheumatology" (ACR) ha proposto nuovi criteri per una classificazione anatomo-patologica e clinica delle forme di vasculite più comuni, derivandoli da studi di casistica di pazienti che avevano sviluppato un quadro clinico conclamato. In particolare sono stati proposti criteri classificativi per la poliarterite nodosa, la sindrome di Churg-Strauss (Tabella 4), la granulomatosi di Wegener, le vasculiti da ipersensibilità, la porpora di Henoch-Schonlein, l'arterite temporale e l'arterite di Takayasu (55,72). Tali criteri si sono dimostrati particolarmente utili come parametri di raffronto standard per studi epidemiologici, clinici e terapeutici; nonostante ciò non hanno risolto in modo definitivo il problema della classificazione delle vasculiti (59).

Nel 1991 Lie ha proposto un nuovo modello classificativo, ma l'inquadramento nosografico più completo si è avuto solo nel 1993 con la "Chapel Hill Consensus Conference on the Nomenclature of Systemic Vasculitis" (59,69).

Gli obiettivi della Conferenza erano di trovare unanime consenso sulla nomenclatura dei più comuni processi vasculitici e di stabilire delle definizioni di base per ciascuno di essi (Tabella 2) (59).

VASI MEDIO CALIBRO	
Poliarterite nodosa classica	Inflammazione necrotizzante (arterie di calibro intermedio non processi glomerulonefritici; non interessate le arteriole, capillari e venule)
Malattia di Kawasaki	Arterite dei vasi di grosso, medio e piccolo calibro associata a sindrome linfonododermica

Tabella 2: Criteri classificativi della CHCC (46,59)

Più recentemente (1998 Workshop ANCA) è stato proposto di affiancare al criterio basato sul calibro dei vasi colpiti la presenza degli ANCA (Figura 1) (1,88).

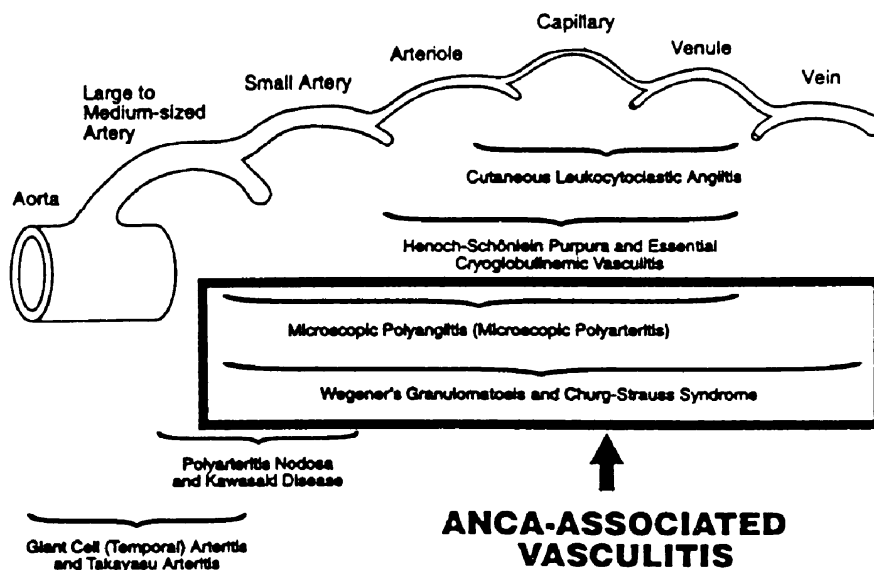


Figura 1: schema di classificazione delle vasculiti in base al calibro dei vasi interessati e alla presenza di ANCA.

1.3 CENNI STORICI

Storicamente la prima segnalazione anatomo-patologica di arterite è da attribuirsi a Kussmaul e Maier che nel 1866 descrissero reperti istologici riferibili a Poliarterite nodosa (PAN) (94). Nel 1951 Churg e Strauss descrissero un'entità nosologica a se stante, distinta dalla PAN, che da essi prese il nome: la sindrome di Churg–Strauss (13).

1.4 INQUADRAMENTO NOSOGRAFICO DELLA CSS.

La CSS appartiene alle vasculiti necrotizzanti dei piccoli vasi ANCA-associate (come la granulomatosi di Wegener (WG) e la micropoliarterite (MPA) ed è caratterizzata dalla presenza di granulomi extravascolari e ipereosinofilia (56). Dal punto di vista epidemiologico si tratta di una forma rara di malattia che si manifesta con uguale prevalenza sia nel sesso femminile che in quello maschile (range M/F= 0.9-3) (2,12,16,31,44,48,64). Il picco di massima incidenza della malattia si registra in età medio-adulta (38-48 anni) ma qualsiasi età può essere colpita (2,12,16,31,44,48,64). Le lesioni anatomo-patologiche caratteristiche della CSS sono la vasculite necrotizzante, i granulomi epitelioidi e gli infiltrati eosinofili (13,68). Tali elementi possono non coesistere né spazialmente né temporalmente tranne che in una minima percentuale di pazienti (68)

1.5 ETIOPATOGENESI.

La vasculite di CSS è una malattia rara, pertanto le conoscenze sull'etiopatogenesi sono molto scarse e frammentarie (94). Negli ultimi anni l'attenzione si è focalizzata sul ruolo etiopatogenetico degli anticorpi anticitoplasma dei neutrofili (ANCA) (83). Gli ANCA sono stati descritti per la prima volta nel 1982 da Davies in pazienti con glomerulonefrite segmentaria e vasculite (22). Due anni più tardi Hall confermò le osservazioni di Davies ritrovando tali anticorpi in quattro pazienti con vasculite a carico dei vasi di piccolo calibro (49). Nel 1985 Van der Woude e coll. riscontrarono la presenza degli ANCA nel siero di pazienti con granulomatosi di Wegener in fase attiva (102). In seguito fu osservato che tali anticorpi costituivano un marker sierologico della granulomatosi di Wegener e che all'immunofluorescenza indiretta producevano un caratteristico "pattern" granulare citoplasmatico, da cui è stata introdotta la definizione di cANCA (11,37,57). I cANCA in particolare, sono autoanticorpi rivolti verso la proteinasi-3 che è una proteasi di 29 Kd presente nei granuli azzurrofilari dei polimorfonucleati (PMN). (11,27,34,56,60,70,80)

Successivamente Falk e Jennette hanno esteso l'uso del termine ANCA ad altri anticorpi che determinano un "pattern" di immunofluorescenza perinucleare su preparazioni di neutrofili umani (27). In contrapposizione ai precedenti, questi autoanticorpi

sono stati definiti pANCA (11). Oggi, sono noti anche degli ANCA “atipici” (aANCA) che presentano un pattern all’immunofluorescenza che non è né citoplasmatico né perinucleare e che si ritrovano in numerose affezioni come le malattie infiammatorie croniche intestinali (IBD), la colangite sclerosante primitiva e l’artrite reumatoide (27).

I pANCA sono autoanticorpi rivolti contro la MPO e/o altri antigeni citoplasmatici dei polimorfonucleati (elastasi, lattoferrina, catepsina-G, proteina BPI, lisozima, □□enolasi) (27,96).

Essi sono stati riscontrati in condizioni patologiche estremamente eterogenee tra cui anche la CSS (15,17,31,47,67). Nella CSS, in particolare, è stata descritta la presenza sia dei cANCA che dei pANCA ma l’associazione CSS/pANCA si è dimostrata la più frequente (17,47).

Oltre che nella CSS i pANCA possono essere presenti in altre forme di vasculite come la micropoliarterite (MPO), la glomerulonefrite rapidamente progressiva ‘pauciimmune’ e la crioglobulinemia mista essenziale (10,37,85,92). I pANCA sono stati osservati inoltre in altre patologie autoimmuni come la miastenia gravis e la polimiosite/dermatomiosite (85).

L’evidenza sperimentale del potenziale ruolo etiopatogenetico degli ANCA nella vasculite di CSS così come nelle altre vasculiti ANCA–associate deriva sia da studi in vitro che da studi in vivo (23,60).

Gli studi in vitro hanno chiarito alcuni degli aspetti molecolari patogeneticamente rilevanti degli ANCA (Tabella 6 e Figura 3) e

hanno portato alla conclusione che gli ANCA sono capaci di aggravare un processo infiammatorio subclinico attivando attraverso diverse modalità neutrofili (PMN) e monociti e danneggiando le cellule endoteliali (7, 21,23,26,28,33,36,67,74,78,90,95,101).

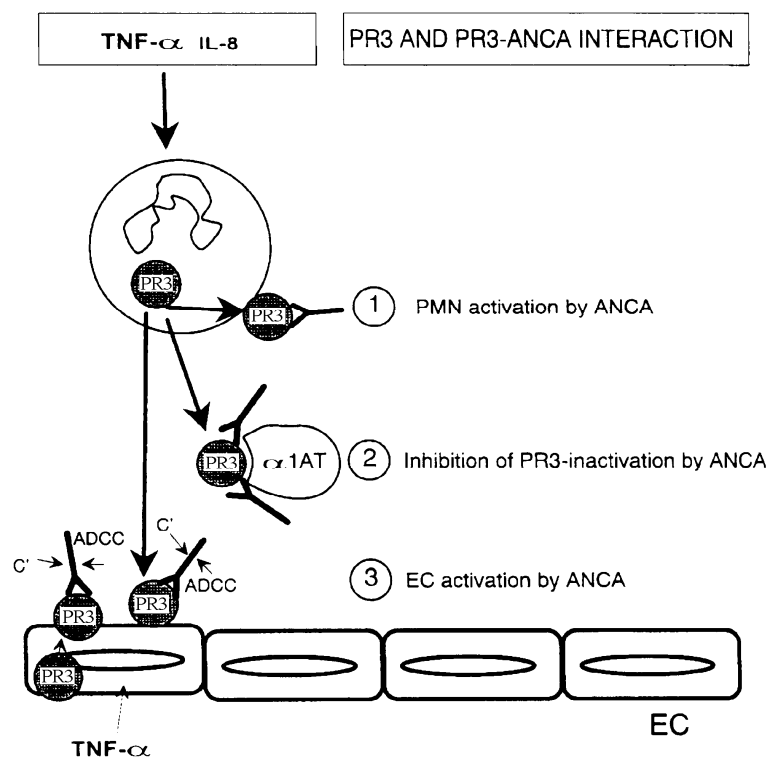


Figura 2 : rappresentazione schematica della patogenesi delle vasculiti ANCA associate.

Prove più dirette del ruolo etiopatogenetico degli ANCA nella genesi delle vasculiti derivano da studi in vivo su modelli animali. In alcuni modelli la vasculite o la glomerulonefrite a semilune si

sviluppano spontaneamente in concomitanza con la comparsa degli ANCA anti MPO (61,73).E' importante sottolineare però come la semplice presenza degli ANCA non sia sufficiente a far insorgere processi di tipo vasculitico ma come, affinché si possano sviluppare tali affezioni, sia necessaria la contemporanea presenza in circolo dei prodotti di attivazione neutrofila (8,51).

Per quanto concerne l'attivazione dei neutrofili, fattori esogeni non ancor ben definiti, presumibilmente di natura microbica, aventi la funzione di primer, sarebbero in grado di indurre il rilascio da parte dei neutrofili stessi di radicali dell'ossigeno e di altri mediatori di flogosi (60).

La risposta anticorpale agli MPO infine, è parte di una più ampia risposta policlonale che non permette di definire con precisione il contributo degli ANCA anti-MPO alla genesi delle vasculiti (60).

Tutti i dati suddetti, ricavati sia da studi in vitro che in vivo, permettono di concludere che gli ANCA, in combinazione con fattori esogeni capaci di attivare i PMN, rivestono un ruolo importante nella patogenesi delle vasculiti e delle glomerulonefriti (60). In conclusione, l'ipotesi etiopatogenetica più verosimile è che il processo vasculitico derivi dall'interazione di tre elementi: PMN, cellule endoteliali e ANCA (1). I neutrofili rappresenterebbero le principali cellule effettrici del processo flogistico. Essi una volta attivati, infatti, sarebbero in grado di rilasciare enzimi litici e radicali dell'ossigeno che rappresentano i mediatori ultimi del

danno tissutale.

Secondo questa ipotesi il ruolo degli ANCA sarebbe essenzialmente quello di contribuire, in sinergia con fattori esogeni non meglio precisati, all'attivazione dei PMN. I fattori esogeni indurrebbero la preattivazione dei PMN e l'espressione sulla superficie degli stessi di una proteina citoplasmatica: la proteinasi 3 che costituisce il target principale degli ANCA(1,23). Gli ANCA, legandosi ad essa, attiverrebbero i PMN e li indurrebbero a rilasciare enzimi litici e radicali dell'ossigeno i quali, a loro volta, eserciterebbero la propria azione lesiva sulle cellule endoteliali (23). In questo modo, almeno indirettamente gli ANCA prenderebbero parte al danno endoteliale(23). Ancora poco conosciuto è invece, se e come questi autoanticorpi esercitino una azione lesiva diretta sulle cellule endoteliali. Nel 1993, in seguito ad alcuni studi in vitro, è stato ipotizzato che le cellule endoteliali possano esprimere in superficie una proteinasi 3 endogena e che pertanto l'interazione tra cellule endoteliali e gli ANCA possa avvenire attraverso uno specifico meccanismo antigenico (74).

Attualmente, però studi molecolari condotti su diversi tipi cellulari (cellule endoteliali dell'arteria e della vena ombelicale, cellule endoteliali del microcircolo polmonare etc.) non hanno potuto confermare che la Pr-3 sia espressa dalle cellule endoteliali (1). Da tutto questo appare chiaramente come siano necessari

ulteriori studi per definire il ruolo etiopatogenetico specifico degli ANCA sebbene sia ormai appurato che essi rivestono un ruolo etiopatogenetico rilevante nella genesi delle vasculiti e che la loro presenza nel siero dei pazienti non può essere considerata solo un epifenomeno(1,60,23,74).

1.6 LA STORIA NATURALE DELLA MALATTIA

La storia naturale della malattia è stata suddivisa in tre fasi da Lanham et al.(64):

-Il *periodo prodromico* che perdura per anni (anche più di 30) ed è caratterizzato da manifestazioni di rinite allergica, poliposi nasale e asma.(Il tempo medio di latenza osservato tra la comparsa dell'asma e la vasculite sistemica è di 8.86 +/- 10.8 anni) (15,67,88).

-La *seconda fase* di malattia caratterizzata dalla comparsa nel sangue periferico e nei tessuti dei pazienti di eosinofilia. Possono manifestarsi in questa fase una cardiomiopatia restrittiva analoga a quella di Loeffler, caratterizzata da miocardite acuta eosinofila con evoluzione fibrotica, e quadri analoghi alla polmonite cronica eosinofila o alla gastroenterite eosinofila.

-La *terza fase* di malattia caratterizzata dalla vasculite sistemica, che in genere si manifesta dopo un intervallo minimo di circa 3 anni dalla comparsa dell'asma (56).

Un intervallo di tempo minore rispetto ai tre anni ha un significato prognostico sfavorevole (12).

Alcuni autori hanno avanzato l'ipotesi che la comparsa della

vasculite sia da mettere in relazione a una stimolazione antigenica (vaccinazioni, ad es.o inalazione di Ag) ma non c'è ancora alcuna evidenza sperimentale a favore di questa ipotesi (16,42,87).

L'**asma** è il sintomo patognomonico della CSS (2,12,16,31,44,48,64). Rispetto alle forme comuni di asma allergico, l'esordio della sintomatologia asmatica è relativamente più tardivo e si colloca in media attorno ai 35 anni (15,64). Il broncospasmo di norma è modesto (12). In taluni casi è stato possibile osservare una esacerbazione del quadro clinico nel periodo immediatamente precedente alla comparsa delle manifestazioni sistemiche di malattia (18,62,67). In altri invece si è osservata una remissione della sintomatologia respiratoria concomitante alla comparsa della vasculite (14,18,64).

Oltre all'asma, nel periodo iniziale della CSS, è molto frequente l'impegno delle **prime vie aeree** (2,12,16,31,44,48,64). Il quadro più comunemente osservato (range 47-83%) è quello della rinite allergica che può manifestarsi con ostruzione nasale, difficoltà respiratoria e poliposi (spesso trattata chirurgicamente) associate a flogosi dei seni paranasali e a congiuntivite. Il coinvolgimento delle vie aeree superiori è comune anche in altre forme di vasculite sistemica come la granulomatosi di Wegener, ma l'assenza di lesioni necrotizzanti e la rara emissione di secrezioni ematiche o purulente costituiscono elementi distintivi della CSS (82). L'impegno delle basse vie respiratorie con la comparsa di dispnea ingravescente, tosse secca e scarso escreato è altrettanto tipico quanto quello delle vie aeree superiori, ma si

manifesta di solito più tardivamente, in concomitanza con la presenza di ipereosinofilia nel sangue periferico (10,64,67).

Infiltrati polmonari possono evidenziarsi radiologicamente nel 26.6-77% dei pazienti e soprattutto se fugaci sono considerati una manifestazione patognomonica della malattia (2,12,16,31,44,48,64). L'aspetto radiologico degli infiltrati è estremamente eterogeneo.

Il reperto più comune è quello degli infiltrati alveolari a distribuzione irregolare; sono stati descritti, però, anche quadri di infiltrazione interstiziale diffusa e nodulare massiva che presentano una scarsa tendenza alla cavitazione, in contrapposizione agli analoghi reperti della granulomatosi di Wegener (24,64,67). Il versamento pleurico è considerato una manifestazione relativamente rara di malattia (range 2-29%) (65). La fase vasculitica della malattia è caratterizzata da uno spettro di manifestazioni cliniche extrapolmonari pluriviscerali, la cui prevalenza cambia notevolmente a seconda degli studi (2,12,16,31,44,48,64).

Sintomi costituzionali come febbre > 38.5°C, sudorazione notturna, astenia, anoressia e perdita di peso precedono l'esordio della vasculite in una percentuale di casi che varia dal 70-100% (2,12,16,31,44,48,64).

La compromissione del **sistema nervoso periferico** è una delle manifestazioni più comuni di malattia, presente in media nel 70% dei casi (range 42-92%) (2,31,64,67). Il quadro più tipico è quello della multineurite sensitivo-motoria mono o bilaterale (raramente

può essere osservata una mononeuropatia) (64,67). La neurite colpisce soprattutto gli arti inferiori ma possono essere interessati anche gli arti superiori (43) . Ipoestesia e parestesie (frequentemente a “calza” e a “guanto”) possono persistere anche in fase post vasculitica (43,64).

La paralisi dei nervi cranici è infrequente e il reperto più comunemente osservato è la neurite ischemica del nervo ottico (3,4,18,20,30,97). Anche il coinvolgimento del sistema nervoso centrale è considerato una rara (<5%) manifestazione di malattia (43). Tuttavia l'ictus, emorragico o ischemico, sembra essere una delle principali cause di morte(43,64).

Lesioni cutanee sono presenti in media nel 60% dei casi (range 49-78%) (2,12,16,31,44,48,64).

Esse possono avere un aspetto estremamente eterogeneo e rispecchiano l'impegno vasculitico dei vasi del derma. La porpora palpabile è la lesione descritta con maggiore frequenza specialmente a carico degli arti inferiori, ma è un reperto piuttosto aspecifico(43,67). Più significativi anche se non patognomonicamente della CSS sono i noduli sottocutanei che compaiono tipicamente a livello del cuoio capelluto e degli arti (100). Talvolta sono stati descritti rash eritematosi maculari o papulari e lesioni orticarioidi. In taluni casi, infine, sono stati osservati anche infarti cutanei, ulcere e livido reticularis (67).

La presenza di **mialgie diffuse** (tipico il dolore crampiforme ai polpacci) è descritta comunemente nella fase vasculitica della CSS e si verifica in media nel 52% dei pazienti (range 33-68%)

(2,12,16,31,44,48,64). Meno frequentemente i pazienti sviluppano un quadro di miosite (67). **Poliartralgie** migratorie a carico di tutte le articolazioni sono descritte in media nel 40% dei pazienti (range 20-53%): anch'esse compaiono di solito in fase vasculitica di malattia (2,12,16,31,44,48,64).

La compromissione dell' **apparato gastroenterico** si manifesta tipicamente con dolore addominale, diarrea e sanguinamento intestinale (12,39,64,98). Tali manifestazioni cliniche possono essere spiegate, fondamentalmente, attraverso due meccanismi etiopatogenetici: l'infiltrazione eosinofila della parete intestinale e/o la vasculite mesenterica (43,64,67).

L'infiltrazione eosinofila della parete intestinale riproduce, sia istologicamente che clinicamente, il quadro della gastroenterite eosinofila e solitamente precede la vasculite mesenterica, mentre quest'ultima è in larga parte sovrapponibile alla mesenterite che si verifica in corso di PAN (39,41,100). Nel primo caso la presenza di noduli eosinofili nella sottomucosa e l'infiltrazione della tonaca muscolare, possono dare luogo all'insorgenza di un quadro di occlusione intestinale, con diarrea e sanguinamento per l'involutione secondaria della mucosa (64). Se si verifica un danno della sierosa peritoneale, inoltre, può manifestarsi una peritonite acuta con ascite e presenza di eosinofili nel liquido ascitico (64). La vasculite mesenterica determina ischemia intestinale cronica (specialmente a carico del piccolo intestino) e può comportare un rischio significativo di perforazioni del tratto digestivo(39,64). Qualche volta la prima manifestazione di

vasculite intestinale è rappresentata da episodi di colecistite alitiasica (64).

L'**impegno cardiaco** si manifesta in media nel 40% dei pazienti (range 15-90%) (2,12,13,16,31,44,48,64).

Esso può manifestarsi con quadri di diversa gravità. Estremamente comuni sono le anomalie ECG del ritmo, della conduzione e della ripolarizzazione cardiaca (67). L'aspetto più comune e più temibile è però rappresentato dalla compromissione della funzione ventricolare sx (documentata dai quadri ecocardiografici di ipocinesia del setto interventricolare ad es.) o addirittura dallo scompenso cardiaco congestizio che sembrano avere una scarsa risposta alla comune terapia sintomatica (76,43). La pericardite e il versamento pericardico possono essere presenti e risultano frequentemente associati all'insufficienza miocardica (67). Istologicamente le lesioni più comunemente descritte sono l'infiltrazione granulomatosa del miocardio e la vasculite delle coronarie che può dar luogo anche a quadri di infarto (12).

L'**impegno renale** nella CSS è una delle manifestazioni cliniche meno caratteristiche, essendo presente in media nel 25% dei pazienti (2,12,16,44,48,64).

Esso si manifesta tipicamente con un danno glomerulare, mentre il quadro dell' insufficienza renale è meno comune (43,67). La lesione glomerulare caratteristica nella CSS è la glomerulonefrite focale segmentaria, con necrosi focale e semilune spesso associata a pANCA (12,31,43,64,67). Altre lesioni documentabili

sono una nefrite interstiziale focale o diffusa e reperti di vasculite necrotizzante con noduli granulomatosi (64). Clinicamente i reperti più caratteristici sono le alterazioni del sedimento urinario, ematuria (>10 rbc/ml) e proteinuria (>1g/24 h) (67). L'insufficienza renale di solito è di grado moderato e nella maggior parte dei casi non è necessario ricorrere alla dialisi (12,43).

I parametri di laboratorio significativi nella CSS sono relativamente aspecifici (67).

Nella fase acuta della malattia sono presenti aumento della VES e modesta anemia (2,12,43,64,67). La leucocitosi neutrofila appare come il parametro emato-chimico più costante ed è spesso superiore a 10.000/mm³. (picco medio = 12.900/mm³) (2,12,43,64,67). L'assenza di eosinofilia può essere spiegata solo con un precedente trattamento corticosteroidico intrapreso per la cura dell'asma (67). Le IgE sieriche possono risultare elevate (12,64,67). La CSS è strettamente associata agli ANCA-MPO anche se non è ancora stato precisato quale valore abbia la loro determinazione per monitorare l'attività della malattia (2,12,31,43,64,67).

La diagnosi di CSS viene posta sulla base di dati clinici e anatomo-patologici (66). In Tabella 3 e 4 sono riportati rispettivamente i criteri ACR e la diagnosi differenziale con la granulomatosi di Wegener (WG) e la micropoliarterite (MPOL) (23, 29, 37,56, 57, 60, 66, 67, 79, 86, 93)

Criteri	Diagnosi:
Asma	-4 su 6 criteri -Sensibilità: 85% -Specificità: 99.7%
Eosinofilia > 10 %	
Mono / polineuropatia	
Infiltrati polmonari fugaci	
Patologia dei seni paranasali	
Eosinofilia extravascolare	

Tabella 3: criteri ACR per la diagnosi di CSS.

	CSS	WG	MPOL
Asma	+	-	-
Infiltrati polmonari	fugaci	fissi	emorragici
Rinite/ sinusite	+	necrotizzante	-
GMRP	+/-	+	+
Granulomi	eosinofili	a cellule giganti	-
Necrosi	fibrinoide	liquefattiva- colliquativa	-
Eosinofilia	+	+/-	-
ANCA	MPO	Pr-3	MPO/Pr-3

Tabella 4: diagnosi differenziale della CSS.

1.7 FFS e BVAS: INDICI DI PROGNOSE E DI ATTIVITA' DELLA CSS

Guillemin (43), valutando il grado di impegno viscerale in una casistica di 96 pazienti, ha elaborato il "Five Factors Score"

ovvero un indice prognostico, basato sulla presenza nel quadro clinico dei pazienti in esame dei seguenti cinque fattori:

- Insufficienza renale (creatininemia > 1.5)
- proteinuria delle 24 h >1g
- Impegno dell'apparato gastroenterico
- Impegno del SNC
- Cardiomiopatia

Correlando il FFS con il tasso di mortalità della medesima casistica ha osservato che i pazienti con prognosi più infausta sono stati quelli che hanno presentato uno score più alto. Dei cinque FFS, in particolare, l'impegno cardiaco e quello gastrointestinale sono quelli che sembrano rispecchiare in modo più attendibile la prognosi dei pazienti. Dallo studio di Guillevin, infine, non è emersa alcuna correlazione tra prognosi dei pazienti e grado di attività della malattia stimato attraverso il BVAS (Birmingham Vasculitis Activity index). Il BVAS è un indice di valutazione dell'attività per le vasculiti sistemiche basato su dati clinici (71).

In relazione al grado di impegno dei seguenti organi e apparati: cute, mucose, addome, rene, apparato locomotore, respiratorio, cardiovascolare e sistema nervoso; si possono ricavare quattro possibili valori del BVAS:

- BVAS = 0: vasculite inattiva; paziente in apparente buona salute.
- BVAS = 7.5: vasculite attiva e non trattata.
- BVAS =10 vasculite attiva nonostante il trattamento
- BVAS = 20.5 vasculite fulminante.

Nello studio di Guillevin non è emersa nessuna differenza in termini di sopravvivenza per pazienti che hanno presentato BVAS > 0 a 23 (43).

1.8 CENNI DI TERAPIA.

La CSS è una vasculite sistemica grave la cui prognosi è stata modificata dall'introduzione in terapia dell'associazione di corticosteroidi ad alte dosi e ciclofosfamide, che hanno consentito di ottenere una notevole riduzione del tasso di mortalità in fase acuta di malattia (67).

Il trattamento farmacologico attuale della CSS e delle altre vasculiti ANCA associate rappresenta il risultato di numerosi "trials" condotti a livello internazionale (89).

Il più significativo, in tal senso, è stato l' "ECSYSVASTRIAL", del gruppo di studio della Comunità Europea, il cui obiettivo principale è stato quello di elaborare dei protocolli terapeutici efficaci, che sono stati accettati da tutti i centri europei (89). Nell'ambito dell' "ECSYSVASTRIAL", lo studio specifico per il trattamento terapeutico della CSS è stato lo studio CHUSPAN, coordinato da Guillevin, che ha portato alle seguenti conclusioni (45):

- i corticosteroidi rappresentano i farmaci di prima scelta per i pazienti che non presentano un grave impegno d'organo.

Essi, in particolare, sono efficaci nel controllo dei sintomi cosiddetti costituzionali e nel controllo dell'asma e dell'ipereosinofilia (43).

- l'aggiunta dei farmaci immunosoppressivi e soprattutto della ciclofosfamide, che si è dimostrato quello più efficace, deve essere presa in considerazione se il quadro clinico è particolarmente severo, quando cioè, vi sia un interessamento degli organi maggiori es. rene, sistema nervoso, polmone.
- l'impiego della ciclofosfamide per boli e.v. è da preferirsi nei casi di media gravità all'uso quotidiano della ciclofosfamide per os, in quanto comporta minori effetti collaterali (54,63).
- nei casi più gravi la ciclofosfamide per os si è dimostrata più efficace (54).
- nei casi di gravità estrema può essere associata alla ciclofosfamide la plasmaferesi (64).

Tali protocolli di induzione si sono dimostrati efficaci e hanno permesso di ottenere un aumento significativo della sopravvivenza(43). Gli schemi terapeutici proposti per la terapia di mantenimento non si sono dimostrati altrettanto validi, per la frequente comparsa di recidive di malattia o di effetti collaterali a lungo termine(102). In letteratura sono disponibili pochi dati circa l'incidenza, la patogenesi, le manifestazioni cliniche e gli esiti delle recidive(2,12,43,64,67).Nello studio di Guillevin-Cohen (43) la frequenza di recidiva è di circa il 25% con un intervallo medio tra la remissione e la recidiva di 69.3 mesi.

In questi casi si osserva talora, un decorso più aggressivo della malattia e un incremento del tasso di mortalità (anche se di solito gli episodi di recidiva sono episodi minori di malattia)(43). In alcuni

casi è stato ipotizzato che fattori scatenanti come la recente somministrazione di un vaccino o la desensibilizzazione verso allergeni polimicrobici possano essere responsabili della riacutizzazione della malattia(43). Nella maggior parte dei casi però, gli episodi di recidiva sembrano essere tanto più frequenti quanto più breve è stata la durata della terapia di mantenimento(102). La difficoltà principale è che se un trattamento terapeutico troppo breve è accompagnato da un più alto tasso di recidive, l' "overtreatment" all'opposto può facilitare l'insorgenza di effetti collaterali talora mortali (immunodepressione e infezioni opportunistiche, neoplasie secondarie etc) (102)

In conclusione ad oggi rimangono aperti alcuni interrogativi che riguardano principalmente il tipo di farmaco da utilizzare nella terapia di mantenimento e la durata della sua somministrazione, i dosaggi ottimali per ottenere una remissione stabile e allo stesso tempo limitare gli effetti collaterali a lungo termine.

2. IPEREOSINOFILIA

2.1. INTRODUZIONE

Gli eosinofili derivano dalle cellule staminali ematopoietiche. L'eosinofilo maturo si presenta con un nucleo bilobato con un abbondante citoplasma ripieno di granuli rosso-arancioni. Il materiale in questi granuli è rappresentato dalle proteine cationiche (proteina basica maggio, proteina cationica degli eosinofili, neurotossina eosinofilo-derivata, perossidasi eosinofila), citochine (interleuchine, TNF) e mediatori lipidici (leucotrieni C4).

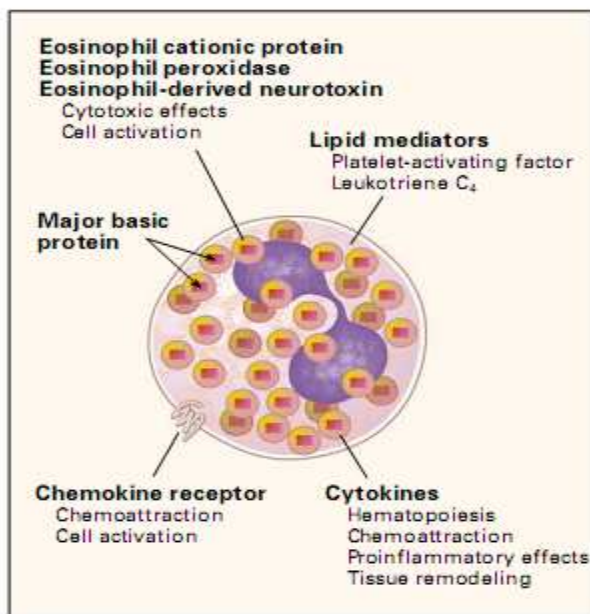


Figura 3: costituenti dei granuli eosinofili

L'interleuchina 5 viene considerata il fattore più importante nella crescita e sopravvivenza degli eosinofili mentre chemochine (vd eotassina, fattori attivanti le piastrine, RANTES) e molecole di

adesione endoteliale(integrine, molecole di adesione vascolare) contribuiscono alla mobilitazione degli eosinofili.

La proteina basica maggiore insieme alla proteina cationica degli eosinofili e alla neurotossina sono le principali responsabili della tossicità eosinofilo-mediata sia verso gli agenti esterni che verso i tessuti e organi umani. Il polmone e il sistema gastroenterico, escluso l'esofago, rappresentano le maggiori sedi degli eosinofili.

Un' elevazione dei valori degli eosinofili tra 600-1500 cellule/microlitro viene considerata una eosinofilia lieve, tra 1500-5000 cellule/microlitro moderata, al di sopra di 5000 cellule/microlitro è una forma severa.

Solitamente il danno d'organo non si instaura con valori di ipereosinofilia lieve. (114)

2.2 CLASSIFICAZIONE

L'ipereosinofilia può essere classificata in familiare o acquisita.

La forma acquisita viene a sua volta distinta in una forma primitiva o secondaria. Cause possibili di una forma secondaria sono rappresentate dalle parassitosi, da patologie allergiche e infiammatorie oppure da forme maligne dove gli eosinofili non sono considerati parte del processo neoplastico.

L'ipereosinofilia primitiva può essere distinta in due forme: clonale o idiopatica. La forma clonale necessita della presenza di evidenze, citogenetiche o istologiche midollari, di una patologia ematologica maligna come la leucemia acuta o un disordine midollare cronico. (113-122)

La diagnosi di ipereosinofilia idiopatica è una diagnosi di esclusione. La sindrome ipereosinofila è una sottocategoria di ipereosinofilia idiopatica e necessita di alcuni criteri diagnostici: documentazione di una persistente quota elevata di eosinofili periferici, > 1500 cellule/microlitro, per un periodo di circa 6 mesi, associata al riscontro di danno/disfunzione d'organo. (105-106-107)

2.2.1 EOSINOFILIA FAMILIARE

L'eosinofilia familiare è un raro difetto genico che può, per certi versi, essere simile alla forma clonale.

La zona cromosomica definita "calda" è a livello del 5 cromosoma, braccio q, regione 31-33. Tuttavia spesso non sono presenti mutazioni a carico dei geni responsabili della sintesi dei vari fattori di crescita degli eosinofili comprese le interleuchine.

Generalmente la forma familiare di ipereosinofilia è estremamente rara, si caratterizza per essere un disordine autosomico dominante. Solitamente si caratterizza per una quota stabile di eosinofili con un andamento clinico migliore.

2.2.2 EOSINOFILIA ACQUISITA

La forma acquisita può essere distinta in una forma secondaria o primitiva.

La **FORMA SECONDARIA** può essere può avere una causa infettiva o non infettiva.

La forma infettiva ha come causa più frequente le parassitosi incluse la schistosomiasi, la toxocariasi viscerale, la strongiloidiasi, la filaria, la trichinellosi e altre. In genere i parassiti vengono isolati nel lume intestinale o in cisti isolate. Solitamente non inducono eosinofilia finché non si arriva alla invasione tissutale o alla rottura delle cisti. Oltre agli elminti anche alcune infezioni protozoarie possono portare a ipereosinofilia (es. *Toxoplasma gondii*). Sono state segnalate reports di ipereosinofilia associata a infezioni batteriche (*Borrellia*) o virali (HIV).

Le forme non infettive vedono implicati una serie numerosa di possibili agenti tra cui i farmaci, tossine, disordini allergici, condizioni infiammatorie/autoimmuni, neoplasie dove l'eosinofilo non sono considerati cloni neoplastici, patologie endocrinologiche. Nelle forme neoplastiche ed infiammatorie l'ipereosinofilia è mediata da citochine derivanti dai tessuti e dalla neoplasia.

Familial
Acquired
Secondary
Infectious causes
Tissue-invasive parasitosis (most common)
Bacterial or viral infections (rare)
Noninfectious causes
Drugs (sulfa, carbamazepine, etc)
Toxins (associated with eosinophilia-myalgia syndrome, toxic oil syndrome, etc)
Allergy (asthma, atopic dermatitis, etc)
Idiopathic/autoimmune inflammatory conditions
Vasculitis (Churg-Strauss, Wegener)
Kimura disease
Eosinophilic fasciitis
Systemic sclerosis or scleroderma
Polyarteritis and other CTDs
Sarcoidosis
Inflammatory bowel disease
Malignancy (metastatic cancer, Hodgkin lymphoma)
Endocrinopathies (Addison disease, etc)
Primary
Clonal
Acute leukemia
Acute myeloid leukemia
Acute lymphocytic leukemia
Chronic myeloid disorder
Molecularly defined chronic myeloid disorder
<i>Bcr/Abl</i> ⁺ chronic myeloid leukemia
<i>PDGFRA</i> -rearranged eosinophilic disorder
<i>PDGFRB</i> -rearranged eosinophilic disorder
<i>Kit</i> -mutated systemic mastocytosis
<i>Sp11</i> Syndrome
Clinicopathologically defined chronic myeloid disorder
Myelodysplastic syndrome
Myeloproliferative disorder
Classic myeloproliferative disorder (polycythemia vera, etc)
Atypical myeloproliferative disorder
Chronic eosinophilic leukemia
Systemic mastocytosis
Chronic myelomonocytic leukemia
Unclassified myeloproliferative disorder
Idiopathic
HES
Pre-HES

Tabella 5: cause di eosinofilia periferica

La **FORMA PRIMARIA** di ipereosinofilia viene a sua volta distinta in una variante clonale e nella vera e propria forma idiopatica.

Per essere formulata diagnosi di **forma clonale** è necessario l'evidenza citogenetica o midollare di una leucemia acuta o di un disturbo mieloide cronico.

I disordini ematologici che possono accompagnare un eosinofilia clonale sono rappresentati da: leucemia mieloide acuta, leucemia linfocitica acuta, leucemia mieloide cronica, sindrome mielodisplastica e disordini mieloproliferativi cronici atipici. Quest'ultima categoria comprende la leucemia eosinofila cronica, la mastocitosi sistemica e la leucemia mielo-monocitica cronica. Le recenti scoperte nella patogenesi molecolare hanno evidenziato in un subset di pazienti con eosinofilia clonale, la presenza di alcune mutazioni attivanti 3 recettori tirosinkinasi: PDGFRA, PDGFRB e il recettore per il fattore di crescita dei fibroblasti (FGFR1)

La mutazione del PDGFRA è causata da una delezione interstiziale coinvolgente il cromosoma 4q12 con risultato la giustapposizione dei geni del PDGFRA stesso con il gene FIL1P1. La fusione di questi due geni porta alla attivazione costituzionale della PDGFRA tirosinkinasi nelle cellule ematopoietiche.

Il gene per il PDGFRB è localizzato sul cromosoma 5q33 e la sua attivazione avviene attraverso la traslocazione con diversi cromosomi inclusi t(5;12)(q33;p13), t(5;10)(q33;q21), t(5;7)(q33;q11.2), t(5;14)(q33;q13), t(5;17)(q33;p11) e t(1;5)(q23;q33) con conseguenza un disordine mieloproliferativo che si caratterizza solitamente, oltre all'ipereosinofilia, per la presenza di monocitosi.

Il gene del FGFR1 è localizzato sul cromosoma 8p11 e la traslocazione con diversi cromosomi tra cui t(8;13)(p11;q12), t(8;9)(p11;q33), t(6;8)(q27;p11) e t(8;22)(p11;q22), porta a una

sindrome mieloproliferativa caratterizzata da eosinofilia, linfadenopatia e un'aumentata incidenza di linfomi a cellule t non Hodgkin con la possibile progressione verso una leucemia mieloide acuta.

La diagnosi di eosinofilia idiopatica può essere formulata quando non vengono individuate cause secondarie o clonali di ipereosinofilia. La sindrome ipereosinofila rappresenta una sottoclasse di eosinofilia idiopatica e necessita, per una corretta diagnosi, del riscontro di un'elevazione della quota assoluta degli eosinofili al di sopra dei 1500 cellule/microlitro per un periodo di sei mesi associata al riscontro di danno d'organo dovuto all'infiltrazione degli eosinofili stessi. In molte review sono state descritte le manifestazioni cliniche e l'evoluzione della sindrome ipereosinofila. Da queste si è potuto osservare che in alcuni casi si osserva un'evoluzione verso forme di leucemia acuta o di mieloproliferazione. Queste informazioni potrebbero indicare che in realtà la sindrome ipereosinofila rappresenti una variante di forma ematologica clonale. Dall'altro lato il riscontro di linfociti T helper 2 clonali in alcuni pazienti con sindrome ipereosinofila farebbe pensare a una patogenesi diversa con un coinvolgimento delle interleuchine e nello specifico IL5. In uno studio su 60 pazienti il 27% presentava un immunofenotipo aberrante e, nella metà dei casi era possibile riscontrare una clonalità della cellula T.

2.3 CLINICA

Come nella forma clonale il 90% dei pazienti sono maschi. Il motivo di questa prevalenza maschile è sconosciuto.

Le manifestazioni cliniche possono essere sia aspecifiche (tosse, sudorazione notturna, astenia, disappetenza, perdita di peso, sintomi gastrointestinali aspecifici) che direttamente correlate all'organo colpito. A livello cutaneo si possono avere prurito, papule eritematose, moduli, orticaria, angioedema, ulcere a livello delle mucose, cellulite eosinofila. A livello cardiaco si possono presentare trombi murali, fibrosi endocardica,cardiomiopatia, elevati livelli di troponina. Il sistema nervoso può essere colpito sia perifericamente con una neuropatia sensitivo motoria o una mononeurite multipla, che a livello centrale con la possibilità di eventi quali una vasculite isolata, una meningite eosinofila o una mielite trasversa. Il polmone può essere interessato con la presenza di infiltrati, noduli o evenienze più gravi quali una ARDS. Il sistema gastrointestinale può essere interessato da una gastroenterite, da patologia infiammatoria dell'intestino da una colangite sclerosante. (109-113)

2.4 DIAGNOSI

Una attenta storia in un paziente con persistente eosinofilia è fondamentale anche per indirizzare le possibili indagini diagnostiche. Risulta pertanto fondamentale porre attenzione su recenti viaggi e sulla storia farmacologica.

In assenza di possibili farmaci imputabili l'attenzione deve essere focalizzata sull'analisi delle feci al fine di individuare uova o larve di vermi intestinali. Successivamente, in base alla storia di viaggi, i seguenti test sono necessari: analisi delle urine (schistosoma), sierologi (strongiloides, filaria, trichinosi, schistosomiasi), test dello sputo (larve migrate dal tratto GI), radiografia del torace (acariasi), TC (echinococco, cisticercosi), biopsia del piccolo intestino (strongiloidosi). Naturalmente una buona storia anamnestica permette di indirizzare in maniera appropriata le indagini limitando analisi più invasive a limitato casi.

Nel sospetto di una forma primaria di ipereosinofilia la biopsia del midollo osseo sarebbe necessaria

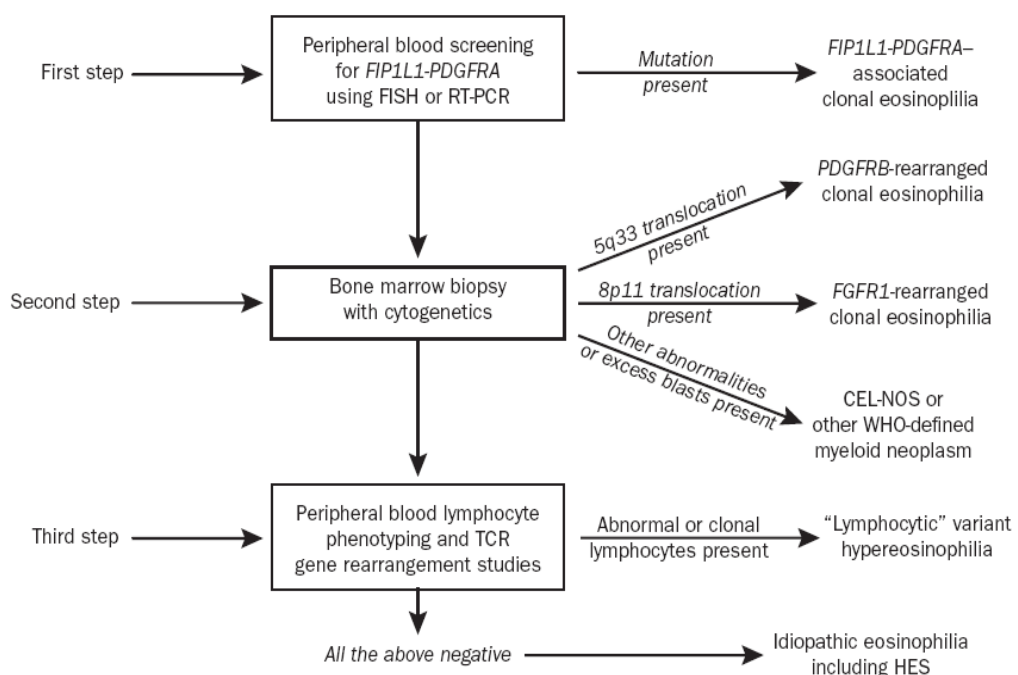


Figura 4: algoritmo diagnostico delle forme di eosinofilia clonale e idiopatica

I riarrangiamenti del PDGFRB sono generalmente individuabili con le analisi di citogenetica. Quest'ultime non risultano invece in grado di individuare il riarrangiamento del PDGFRA che ha per risultato la delezione 4q12. Questa può essere vista con la FISH (fluorescence in situ hybridization) basata su una reverse transcriptasi polymerase chain reaction.

Solitamente è indicato eseguire la biopsia midollare, la citogenetica sul midollo e infine la FISH su sangue periferico.

Risulta necessario valutare, anche tramite semplici esami di laboratorio, i possibili danni d'organo da infiltrazione eosinofila, in aggiunta a una ecocardiogramma, una radiografia del torace, prove di funzionalità respiratoria

2.5 TERAPIA

In genere nelle forme clonali la patologia maligna sottostante guida il trattamento. Così nella leucemia acute, per esempio viene utilizzata una chemioterapia di induzione standard. Nella leucemia mieloide cronica l'imatinib è il farmaco di scelta. Il meccanismo di azione dell'imatinib nella leucemia mieloide cronica è rappresentato dall'inibizione del prodotto del gene *bcr-abl* ovvero la Abl - tirosin kinasi costitutivamente attivata. In realtà l'imatinib ha la capacità di inibire anche altre tirosinkinasi inclusa la PGFR. Il meccanismo di azione è tramite la competizione per il sito adenosina-triptofano legante a livello del dominio catalitico della kinasi

La dimostrazione che in vitro l'imatinib inibisce la PDGF ne ha permesso l'utilizzo nelle forme clonali di eosinofilia.

L'imatinib porta a una completa remissione clinica e molecolare. Nella forma idiopatica la maggior parte dei pazienti risponde al prednisone da solo o in combinazione con l'idrossiurea. I pazienti che sono risultati resistenti ai corticosteroidi hanno poi risposto ad altri farmaci quali la ciclosporina, la vincristina, l'interferon alfa. Nei pazienti che falliscono la terapia con idrossiurea e interferon alfa la scelta di una seconda linea è totalmente arbitraria. Visto la risposta alla terapia con imatinib nel 50% dei pazienti con una vera sindrome ipereosinofila idiopatica è ragionevole tentare anche questa terapia in seconda linea. I pazienti con HES rispondono però a dosaggio più alti rispetto ai pazienti con la forma clonale. Infatti rispetto ai 100 mg/die necessitano di 400 mg/die.

In ultima analisi va considerato il trapianto allogenico del midollo osseo

Nella figura successiva viene proposto un **ALGORITMO DIAGNOSTICO**. Prima di iniziare una terapia in un paziente con ipereosinofilia va comunque sempre esclusa una possibile causa secondaria una volta escluso questo è necessaria una valutazione generale ematica e una valutazione del midollo. Gli esami ematochimici dovrebbero comprendere il dosaggio della triptasi, l'analisi dei riarrangiamenti dei geni per il TCR, i valori di IL5. Le analisi midollari dovrebbero comprendere la ricerca del

FIP1L1 PDGFRa tramite FISH o PCR (quest'ultima analisi può essere eseguita anche a livello ematico periferico).

Se dalle indagini eseguite emerge la presenza di target molecolari sensibili all'imatinib (mutazioni PDGFRa e PDGFRB) il trattamento con imatinib è indicato (100 mg/die) ed è auspicabile una remissione completa e duratura.

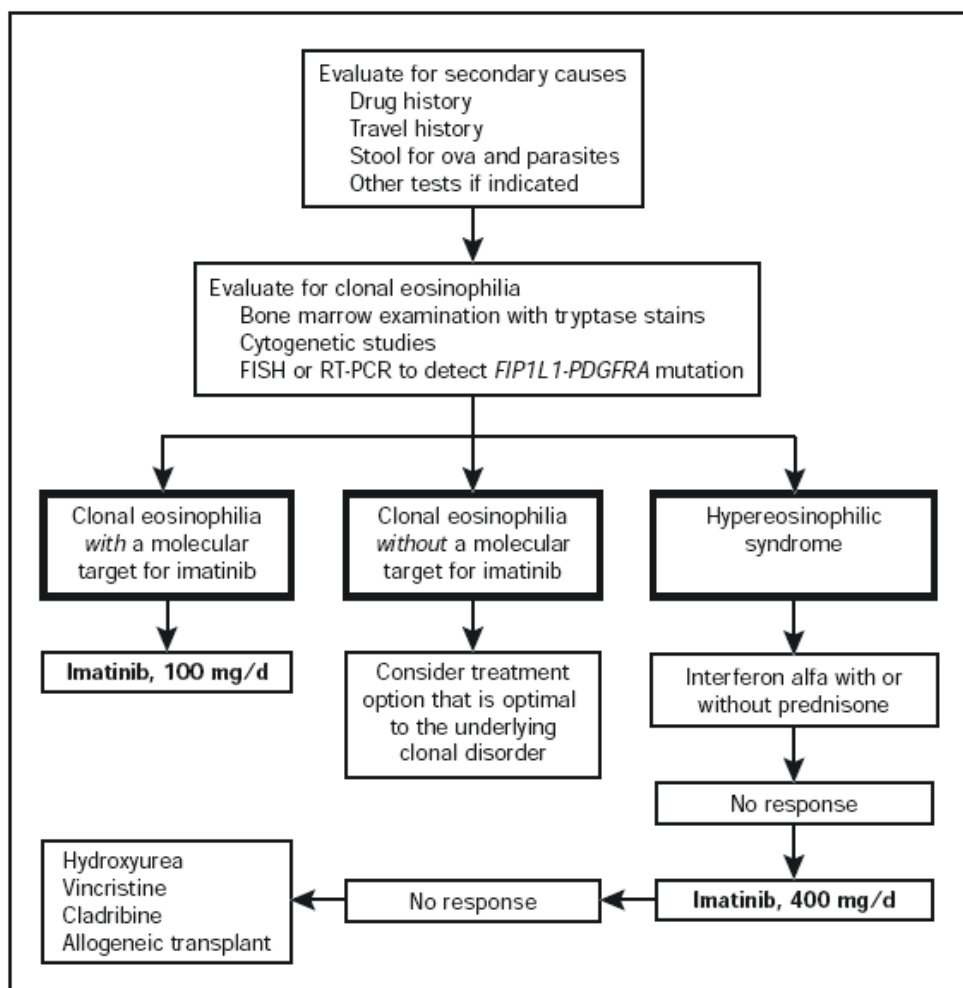


Figura 5: proposta algoritmo terapeutico nelle eosinofilie clonali e idiopatiche

In assenza di questi target molecolari il medico può scegliere, nel caso di altra forma di eosinofilia clonale, le altre terapie indicate come prima linea, nel caso di una HES le indicazioni vedono al primo posto il prednisone e/o l'interferone alfa. Il beneficio nei pazienti con HES della terapia con imatinib si ha solitamente con dosaggi di 400 mg/die (160-162)

Un effetto associato e descritto in terapia con imatinib è rappresentato da uno shock cardiogeno. Come screening è utile eseguire, prima dell'inizio del trattamento, il dosaggio della troponina (126-127-128). Nei pazienti che risultano avere valori di troponina elevati è necessario eseguire Ecocardiogramma e associare alla terapia l'infusione concomitante di prednisone (1mg/kg) durante la prima settimana di trattamento. (179-182)

3.1 SCOPO DELLA TESI

La presenza di un' elevazione, al di sopra di 1500 cellule/microlitro, dei valori degli eosinofili a livello periferico, associato a infiltrazione e conseguente danno/disfunzione d'organo, è una caratteristica che accomuna la sindrome di Churg Strauss e la sindrome ipereosinofila idiopatica. Le due patologie condividono diverse caratteristiche cliniche e, nelle fasi iniziali di malattia, può risultare difficile una diagnosi differenziale soprattutto in assenza degli ANCA o del riscontro istologico di vasculite necrotizzante. Le nuove strategie diagnostiche insieme alle nuove possibilità terapeutiche rendono necessaria una corretta e precoce diagnosi differenziale.

Lo scopo della presente tesi è stato quello di analizzare una serie di pazienti, afferiti alla nostra U.O. di Reumatologia e alla U.O. di Ematologia, per una moderata/severa elevazione dei valori sierici degli eosinofili associata ad un interessamento d'organo, con l'obiettivo di analizzare le caratteristiche cliniche e sierologiche distintive. Inoltre è stato valutato il riarrangiamento genico delle catene beta e delta del T-Cell Receptor (TCR) linfocitario per ricercare un possibile ruolo della clonalità della cellula T nella sindrome di Churg Strauss e nelle sindrome ipereosinofila idiopatica.

3.2 MATERIALI E METODI

Sono stati analizzati 43 pazienti totali, 24 affetti da sindrome di Churg Strauss (CSS) e 19 pazienti affetti da Sindrome Ipereosinofila idiopatica (HES) afferiti alla nostra UO di Reumatologia e alla UO di Ematologia di Pisa dal Gennaio 2010 all'Aprile 2011.

La diagnosi nei pazienti affetti da CSS è stata formulata in accordo con i criteri ACR mentre per la HES secondo i criteri di Chusid.

Variabili di interesse raccolte e analizzate nello studio:

a) caratteristiche demografiche dei pazienti inclusi

- Sesso
- Età
- durata di malattia

b) manifestazioni cliniche e sierologiche cumulative

- presenza di asma
- latenza tra l'asma e l'esordio della vasculite
- valori degli eosinofili all'esordio
- sintomi costituzionali
- interessamento prime vie respiratorie
- interessamento renale
- interessamento cardiaco
- interessamento cutaneo
- storia di infiltrati polmonari
- interessamento del SNP
- interessamento gastroenterico

- presenza splenomegalia
- diagnosi istologica di vasculite
- positività ANCA
- valori IL2, IL4, IL5, PCE
- valutazione riarrangiamento gene TCR

La ricerca degli anticorpi anticitoplasma dei neutrofili (ANCA) é stata condotta in tutti i pazienti utilizzando la tecnica ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) secondo le direttive dell' "European Standardization Workshop"(103).

Sono state ricercate le due principali specificità antigeniche derivate da neutrofili umani, utili per la diagnosi di vasculite: la Mieloperossidasi (MPO) e la Proteinasi-3 (Pr-3).

La determinazione della clonalità per riarrangiamento del gene delle catene beta e delta del TCR è stata condotta mediante polimerase chain reaction.

Per l'analisi statistica sono stati utilizzati il χ test, ANOVA e il T-test

3.3 RISULTATI

Sono stati arruolati nello studio 24 pazienti affetti da CSS (13M/11F; età media 58 anni; durata di malattia media 6.7 ± 5.3 anni) e 19 pazienti affetti da HES (13M/6F; età media di 57 aa; durata media di malattia 4.2 ± 4.2 anni)

Nove pazienti con diagnosi di CSS e nessun paziente HES presentavano una sierologia positiva per ANCA MPO ($p=0.01$).

Tale dato (37,5%) corrisponde a quanto indicato in letteratura (35-40%)

Non è risultata significativa differenza nei valori di eosinofilia all'esordio nei due gruppi ($p=0.83$)

I ***sintomi costituzionali*** (febbre, artralgie, mialgie) sono stati riscontrati in 17 pazienti CSS verso 2 pazienti HES.

Per quanto riguarda ***l'apparato respiratorio*** abbiamo osservato come l'asma rappresenti una delle caratteristiche peculiari della CSS. Infatti 24 pazienti con CSS, contro 5 pazienti con HES, presentavano storia di asma ($p= <0,0001$). Pur mantenendo le caratteristiche di asma ad esordio tardivo non abbiamo evidenziato una sostanziale differenza nell'età d'esordio tra la CSS e la HES. Non sono state inoltre riscontrate differenze nella latenza di tempo che intercorre tra l'esordio dell'asma e l'inizio della patologia. L'asma nei pazienti affetti da CSS è solitamente refrattario, ha una eziologia allergica in meno di 1/3 dei casi con un decorso relativamente indipendente.

In un nostro recente studio osservazionale sono stati valutati, dal Reumatologo e dallo Pneumologo, 20 pazienti affetti da CSS. Dall'analisi statistica è emerso come, nonostante un buon controllo dell'eosinofilia e delle manifestazioni sistemiche, le strategie terapeutiche in atto non consentano di ottenere un controllo adeguato dell'asma nel 75-80% dei pazienti.

L'impegno delle prime vie aeree rappresenta una caratteristica peculiare dei pazienti affetti da CSS. Infatti 18 CSS contro 6 HES hanno presentato tale interessamento ($p=0.005$). In tabella vengono illustrate le principali manifestazioni cliniche interessanti le prime vie respiratorie

INTERESSAMENTO PRIME VIE RESPIRATORIE	CSS (18/24)	HES (6/19)
Poliposi nasale	13	4
Sinusite	3	2
Rinite	5	4

L'impegno delle vie respiratorie più basse, con storia di infiltrati polmonari, specialmente se a distribuzione irregolare e fugaci, risulta essere patognomonico della sindrome di Churg Strauss. Nella nostra casistica 13 pazienti CSS contro 2 pazienti HES ne hanno fatto esperienza ($p=0.004$)

L'**interessamento renale** non è risultato nella nostra casistica molto frequente. Infatti si è presentato in un solo paziente affetto da Churg Strauss (sottoposto a Biopsia renale compatibile con vasculite) e in un solo paziente affetto da HES. Il parametro fondamentale che si è utilizzato per valutare il grado di insufficienza renale è stato la creatininemia.

L'**interessamento cardiaco** è stato evidenziato in 7 pazienti affetti da CSS e in 2 pazienti affetti da HES. Nei pazienti con CSS è stata dimostrata una extrasistolia importante con riscontro RM di

fibrosi endomiocardica in 1 paziente. Tre pazienti hanno presentato una miocardite, in 2 di questi la diagnosi è stata confermata con la biopsia miocardica del ventricolo dx che ha evidenziato la presenza di infiltrati eosinofili e linfociti nell'interstizio, associati a miolisi di alcune fibrocellule e a modesta fibrosi. Nei restanti 3 pazienti è stato riscontrato versamento pericardico.

Nei pazienti affetti da HES l'impegno cardiaco si è manifestato solamente in 3 pazienti con diagnosi di versamento pericardico.

L'interessamento cutaneo è risultato in 13 pazienti affetti da CSS contro i 3 pazienti affetti da HES. La manifestazione più comune nei pazienti CSS è risultata la porpora palpabile con interessamento prevalente dei segmenti distali degli arti sia superiori che inferiori. Le altre manifestazioni cutanee descritte, comprendono: lesioni orticarioidi, livaeo reticularis, lesioni necrotiche, vescicolari e sieropapule.

La presenza di porpora palpabile è risultato essere una caratteristica a favore della diagnosi di CSS ($p= 0.03$)

L'impegno del sistema nervoso periferico è risultato in 13 pazienti CSS e in 2 pazienti HES ($p= 0,004$). Nei pazienti affetti da CSS il 46,1 % (6/13) ha presentato una multinevrite sensitivo motoria, il 30 % (4/13) una mononeuropatia. Nel 23 % (3/13) si è evidenziato un quadro di danno neurogeno. L'elettroencefalografia ha dimostrato a carico degli arti inferiori, l'interessamento

prevalente dei nervi tibiale anteriore e surale; a carico dell'arto superiore invece, i nervi più frequentemente colpiti sono stati l'ulnare e l'estensore delle dita. In nessuno dei pazienti sono stati riscontrati segni di compromissione a carico del SNC o dei nervi cranici.

L'interessamento gastroenterico si è presentato in 8 pazienti affetti da CSS e in 6 pazienti affetti da HES. Nel primo gruppo 5/24 pazienti hanno presentato un impegno gastrico senza riscontro istologico di gastrite eosinofila, 1/24 paziente ha presentato una vasculite del tratto gastrico, mentre i restanti 2 pazienti hanno manifestato dolore addominale responsivo alla terapia steroidea. Nel gruppo HES 2 pazienti hanno avuto un impegno gastrico, in uno solo di questi con riscontro di infiltrato eosinofilo. Un paziente ha presentato versamento ascitico con riscontro radiologico di ansa del tenue ispessita. In 3 pazienti hanno presentato dolore addominale all'esordio della malattia.

La **splenomegalia** (valori ecografici riscontrati al di sopra della norma, donna 12 cm, uomo 13 cm) è risultata assente nei pazienti affetti da CSS mentre è stata riscontrata in 2 pazienti affetti da HES.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad analisi di biologia molecolare con riscontro di un **riarrangiamento del TCR** positivo in 20 pazienti totali, 9 (37,5%) con diagnosi di CSS e 11 (57,8%)

con diagnosi di HES ($p=0.48$). Dei 9 pazienti con diagnosi di CSS 2 presentavano positività per gli ANCA mentre in 3 presentavano un riscontro istologico di vasculite necrotizzante. Tutti i pazienti presentavano positività per storia di asma e rispondevano ai criteri classificativi per CSS. In 7 presentavano un interessamento delle prime vie respiratorie, in 4 un impegno polmonare caratteristico, in 5 un coinvolgimento del sistema nervoso periferico.

Non è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa nella prevalenza del riarrangiamento a carico delle catene gamma e delta del gene del TCR tra i due gruppi di pazienti (37.5% CSS vs 57.8% HES, $p=0.22$). Nei pazienti con moderata-severa eosinofilia la presenza del riarrangiamento del TCR correla solamente con i sintomi costituzionali. Non è stata riscontrata nessuna correlazione tra il riarrangiamento del TCR e la conta degli eosinofili, i valori di IL2, IL4, e IL5.

Clinical manifestations	<u>CSS (24)</u>	<u>HES (19)</u>	<u>p-value</u>
Male/ Female	13/24	13/19	0.37
Age (mean ± SD)	58 ± 14	57 ± 16	0.64
Disease duration (mean ± SD)	6.7 ± 5.3	4.2 ± 4.2	0.09
Asthma	24	5	<0.0001
Age asthma at onset (mean ± SD)	41 ± 15	31 ± 20	0.32
Latency between asthma (mean ± SD)	9.7 ± 13	9.8 ± 9.7	0.99
Eosinophilia at onset (mean ± SD)	6060 ± 5110	6494 ± 7191	0.83
Constitutional symptoms	17/24	2/19	0.99
ENT involvement	18/24	6/24	0.005
Kidney involvement	1/24	1/19	0.99
Heart involvement	7/24	3/19	0.47
Purpura	11/24	0/9	0.03
Lung transient infiltrates	13/24	2/19	0.004
Peripheral nervous system	13/24	2/19	0.004
Abdominal pain	8/24	6/19	0.99
Splenomegaly	0/24	2/19	0.18
ANCA-MPO	9/24	0/19	0.01
Vasculitis	16/24	0/19	<0.0001
TCR clonality	9/24	11/19	0.22

3.4 DISCUSSIONE

Le similitudini cliniche tra CSS e HES impongono un iter diagnostico attento nei pazienti con ipereosinofilia persistente di grado moderato-severo per indirizzare ciascun paziente verso il trattamento più mirato

In assenza di vasculite necrotizzante e/o di positività degli ANCA, la diagnosi differenziale tra CSS e HES può risultare estremamente controversa

Le due patologie presentano patogenesi diversa. La CSS si caratterizza per una eosinofilia policlonale derivante dalla ridotta apoptosi degli eosinofili per alterazione della via del ligando Fas-Fas. La sindrome ipereosinofila può presentare due meccanismi patogenetici che sottintendono due forme diverse. La forma mieloide vede la presenza di eosinofilia clonale per mutazione della cellula staminale con espansione clonale primitiva in senso mieloide a potenziale differenziativo prevalentemente eosinofilo. Nella variante linfoide abbiamo una eosinofilia policlonale da aumentata produzione di IL 5 da parte di una popolazione clonale di linfociti T

Esistono però delle zone grigie nel panorama delle HES e del CSS ovvero esistono forme di HES senza nessuna alterazione dimostrabile così come sono presenti CSS con popolazioni clonali.

La presente tesi ha lo scopo di analizzare le principali manifestazioni clinico- sierologiche di una casistica di pazienti con moderata-severa eosinofilia afferiti alle UO di Reumatologia ed Ematologia tra il Gennaio 2010 e l'Aprile 2011.

Scopo del nostro studio è stato inoltre valutare la prevalenza del riarrangiamento del gene per il TCR in pazienti con diagnosi di HES e CSS con l'obiettivo di esplorare le possibili correlazioni cliniche e di laboratorio.

Il confronto tra i dati raccolti e quelli presenti in letteratura ha permesso di evidenziare alcuni aspetti peculiari della CSS che possono rappresentare un punto di riflessione. Per quanto riguarda la nostra casistica, nei pazienti CSS, sono presenti delle manifestazioni cliniche che risultano essere patognomoniche. In primis l'asma che risulta presente nella totalità dei pazienti CSS e rappresenta la prima manifestazione prima dell'esordio della vasculite. Oltre all'asma altre manifestazioni hanno mostrato una prevalenza analoga a quella descritta in letteratura. E' possibile dire che oltre all'asma le manifestazioni cliniche più caratteristiche della CSS sono rappresentate dagli infiltrati polmonari, dall'impegno delle prime vie respiratorie, e dall'interessamento del sistema nervoso periferico.

Gli infiltrati polmonari, specialmente se irregolari e fugaci sono patognomoniche. Il sistema nervoso periferico risulta molto più frequentemente interessato rispetto al SNC. Il quadro più tipico risultato quello di una multinevrite sensitivo-motoria. Così

l'impegno delle prime vie aeree ha mostrato una netta prevalenza della poliposi nasale.

In accordo con i dati della letteratura l'eosinofilia si è dimostrata il parametro più costantemente alterato in caso di malattia anche se non sono risultate sostanziali differenze tra la HES e CSS.

Il riscontro di una inaspettata positività per il riarrangiamento del gene per il TCR in pazienti affetti da CSS con nessuna differenza, come prevalenza, significativa rispetto ai pazienti affetti da HES ha permesso di prendere in considerazione l'ipotesi che alla base della malattia autoimmune ci possa essere un meccanismo patogenetico che vede la collaborazione degli eosinofili con un clone T.

Le necessità di una diagnosi differenziale tra la sindrome di Churg Strauss e la sindrome ipereosinofila idiopatica risiede nell'importanza di una diagnosi precoce. Riuscire ad individuare le forme di HES con caratteristiche mieloproliferative permette di poter iniziare precocemente il trattamento specifico (come ad esempio con imatinib). L'individuazione delle forme di CSS particolarmente gravi (tramite la valutazione dei Five Factors) ha lo scopo di riuscire ad indirizzare in maniera adeguata i pazienti verso il trattamento più appropriato. L'interesse verso le forme di ipereosinofilia risulta inoltre giustificata dalla possibilità futura e presente di sfruttare le nuove conoscenze patogenetiche dal punto di vista terapeutico. Già sono presenti diverse scelte terapeutiche. L'utilizzo del rituximab ha fornito risultati contrastanti insieme alla riserva per la possibile recrudescenza della patologia

asmatica. Il mepolizumab, agente anti IL5, viene utilizzato come steroideo- risparmiatore. La terapia con omalizumab, agente anti IgE, risulterebbe infatti in grado di ridurre gli eosinofili circolanti e tissutali garantendo la prevenzione del remodelling delle vie aeree con notevole risparmio nella terapia steroidea.

La sostanziale sovrapposizione nella frequenza della positività del riarrangiamento del TCR tra i pazienti affetti da sindrome di Churg Strauss e i pazienti affetti da sindrome ipereosinofila sottintende una interazione tra gli eosinofili e le cellule T.

3.5 CONCLUSIONI

Dalla presente tesi è emerso come, di fronte ad un paziente con una eosinofilia moderata severa, escluse altre cause secondarie, la diagnosi differenziale tra CSS e HES possa essere estremamente difficile.

I criteri classificativi esistenti per la CSS e per la HES possono portare a sovrapposizione classificative.

Nella nostra popolazione la presenza dell'asma associata all'interessamento polmonare con infiltrati fugaci, l'impegno del sistema nervoso periferico, la poliposi nasale, insieme al riscontro di vasculite e/o alla presenza di ANCA, depongono verso la diagnosi di Sindrome di Churg- Strauss.

Non è risultata differenza tra le due sindromi nella prevalenza del riarrangiamento del TCR. Questo a dimostrazione di un ruolo importante di cellule T clonali nella patogenesi di entrambe le sindromi.

Nuovi studi, con popolazioni, a numerosità maggiore, sono necessari per confermare le nostre ipotesi.

BIBLIOGRAFIA

1. 8th International ANCA Workshop. Birmingham, United Kingdom, 2-5 April 1998. Abstracts. *Clin Exp Immunol* 1998 April; 112 (S) 1: 1-59
2. Abu-Shakra M et al.: Outcome of polyarteritis nodosa and Churg- Strauss syndrome. An analysis of twenty-five patients. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 1798-1803.
3. Baehr G: Clinical pathological conferences. *J Mount Sinai Hosp* 1937; 4: 151.
4. Baker LA: Periarthritis nodosa with report of two cases. *Ann Int Med* 1942; 17: 223.
5. Blank M, et al. Immunization with anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA), induces the production of mouse ANCA and perivascular lymphocyte infiltration . *Clin Exp Immunol*. 1995; 102: 120-130.
6. Bonomini et al. *Nefrologia Clinica*. Società editrice Esculapio 1990; 138.
7. Brooks CJ et al. IL-1 β production by human polymorphonuclear leukocytes stimulated by anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies: relevance to systemic vasculitis. *Clin Exp Immunol* 1996; 106: 273-279.
8. Brower E, et al. Antimieloperoxidase associated proliferative glomerulonephritis; an animal model. *J EXP MED* 1993; 17: 905-914
9. Brown
10. Burns A. Pulmonary vasculitis. *Thorax* 1998; 53:220-227
11. Charles LA, Falk RJ, Jennette JC. Reactivity of antineutrophil cytoplasmic antibodies with HL-60 cells. *Clin Immunol Immunopathol* 1989; 53: 243-253.
12. Chumbley LC, Harrison EG, DeRemee RA. Allergic granulomatosis and angiitis (Churg Strauss syndrome). Report and analysis of 30 cases. *Mayo Clin Proc*. 1977; 52: 477-484.
13. Churg J , Strauss L. Allergic granulomatosis, allergic angiitis and polyarteritis nodosa. *Am J. Pathol*. 1951; 27: 277-301.
14. Clausen KP, Bronstein H. Granulomatous pulmonary arteritis. *Am J Clin Pathol* 1974; 62: 82
15. Cohen P et al. Clinical aspects and long survival of 85 patients with Churg- Strauss syndrome. *Arthritis Rheum*. 1995; 38 (S 9) abstract 1438
16. Cohen P, Gayraud M, Lhote F, Jarrousse B, Guillevin. Possible triggering factors for Churg- Strauss syndrome: a retrospective analysis of 97 patients. *Arthritis Rheum* 1997;40 (S 116) abstract 812.
17. Cohen-Tervaert JW, Elema JD, Kallenberg CGM. Clinical histopathological association of 29 kD-ANCA and MPO-ANCA. *APMIS* 1990; 98 (S 19): 35.
18. Cooper BJ, Bacal E, Patterson R. Allergic angiitis and granulomatosis . *Arch Int Med* 1978; 138: 367.
19. Crofton JW, Livingstone JL, Oswald NC, Roberts ATM. Pulmonary eosinophilia. *Thorax* 1952; 7:&
20. Crotty CP, DeRemee RA, Winkelmann RK. Cutaneous clinicopathologic correlation of allergic granulomatosis. *J Am Acad. Dermatol* 1981; 5:571.
21. Csernok et al . Activated neutrophils express proteinase 3 on their plasma membrane in vitro and in vivo. *Clin Exp Immunol* 1994; 95: 244-250.
22. Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB. Segmental necrotising glomerulonephritis: a subgroup with an antineutrophil cytoplasmic antibody: possible arbovirus aetiology? *BMJ* 1982; 252: 606
23. De Groot K, Gross WL. Wegener's granulomatosis: disease course, assessment of activity and extent and treatment. *Lupus* 1998; 7: 285-291.
24. Degesys GE, Mintzer RA, Vria RF. Allergic granulomatosis: Churg-Strauss syndrome. *Am J Radiol* 1980; 135: 1281.
25. Erlich JC, Romanoff A. Allergic granuloma of the lung. *Arch Intern Med* 1951; 87: 259.
26. Ewert BH, Jennette JC, Falk RJ. The pathogenic role of anti-neutrophil

- cytoplasmic autoantibodies. *Am J Kidney Dis* 1991; 18: 188-195.
27. Falk RJ, Jennette JC. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N. Engl J Med* 1988; 318: 1615-1617
 28. Falk RJ, Terrel RS, Charles LA, Jennette JC. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies induce neutrophils to degranulate and produce oxygen radicals in vitro. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87: 4115-4119.
 29. Fauci AS, Haynes BF, Katz P. The spectrum of vasculitis: clinical, pathologic, immunologic and therapeutic considerations. *Ann Intern Med* 1978; 89: 660-676.
 30. Felsen J. The sigmoidoscopic diagnosis of periarteritis nodosa. *Ann Intern Med* 1941; 15: 251
 31. Gaskin G, Clutterbuck EJ, Pusey CD. Renal disease in the Churg-Strauss Syndrome. Diagnosis, management and outcome. *Contrib Nephrol.* 1991; 94: 58-65
 32. Gilliam JN, Smiley JD. Cutaneous necrotizing vasculitis and related disorders. *Ann Allergy* 1976; 37:328.
 33. Gilligan HM et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies interact with primary granule constituents on the surface of apoptotic neutrophils in the absence of neutrophil priming. *J Exp Med* 1996; 184:2231-2241
 34. Goldschmeding R, Van der Schoot CE, Ten Bokkel Huinink D, et al. Wegener's granulomatosis autoantibodies identify a novel diisopropylfluorophosphate-binding protein in the lysosomes of normal human neutrophils. *J Clin Invest* 1989; 84:1577-1587.
 35. Gordon M, Luqmani RA, Adu D, Greaves I, Richards N et al. Relapses in patients with a systemic vasculitis. *QJM* 1993; 86: 779-789.
 36. Grimminger F et al. Neutrophil activation by anti-proteinase 3 antibodies in Wegener's granulomatosis: role of exogenous arachidonic acid and leukotriene B4 generation. *J Exp Med* 1996; 184: 1567-1572
 37. Gross WL, Schmitt WH, Csernok E. ANCA and associated diseases: immunodiagnostic and pathogenetic aspects. *Clinical Exp. Immunol* 1993; 91: 1-12
 38. Guillevin L et al. Lack of superiority of steroids in the treatment of polyarteritis nodosa and Churg-Strauss angiitis. A prospective randomized trial in 78 patients. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 208-215.
 39. Guillevin L et al. Gastro-intestinal tract involvement in polyarteritis nodosa and Churg-Strauss syndrome. *Ann Méd Interne* 1995; 146:260-267
 40. Guillevin L et al. Long-term follow-up after treatment of periarteritis nodosa and Churg-Strauss angiitis with comparison of steroids, plasma exchanges. A prospective randomized trial of 71 patients. *J Rheumatol* 1991; 18: 567-574.
 41. Guillevin L et al. Prognostic factors in polyarteritis nodosa and Churg-Strauss syndrome. A prospective study in 342 patients. *Medicine* 1996; 76: 17-28
 42. Guillevin L, Amouroux J, Arbeille B, Boura R. Churg-Strauss angiitis. Arguments favoring the responsibility of inhaled agents. *Chest* 1991; 100: 1472-1473
 43. Guillevin L, Cohen P, Gayraud M et al. Churg-Strauss syndrome: clinical study and long term follow-up of 96 patients. *Medicine* 1999; 78: 26-37.
 44. Guillevin L, Guittard T, Blètry O, et al. Systemic necrotizing angiitis with asthma: causes and precipitating factors in 43 cases. *Lung* 1987; 165: 165-72.
 45. Guillevin L, Lhote F, Jarrousse B, et al. Treatment of polyarteritis nodosa and Churg-Strauss syndrome. A meta-analysis of 3 prospective controlled trials including 182 patients over 12 years. *Ann Med Interne* 1992; 143: 405-416
 46. Guillevin L, Lhote F. Classification and management of necrotizing vasculitides. *Drugs* 1997; 53:805-816
 47. Guillevin L, Lhote F. Distinguishing polyarteritis nodosa from microscopic polyangiitis. *Curr Opin Rheumatol* 1995; 7: 20-24.
 48. Haas C., Geneau C, Odinot JM et al. Angéite allergique et granulomateuse de

- Churg et Strauss: une étude rétrospective de 16 cas. *Ann Med Interne (Paris)* 1991; 142: 335-342
49. Hall JB , Wadham BM, Wood CJ, Asthon V, Adam WR. Vasculitis and glomerulonephritis: a subgroup with an antineutrophil cytoplasmic antibody. *Aust NZJ Med* 1984; 14: 277-278
 50. Harper JM, Lockwood CM, Cooke A. Antineutrophil cytoplasm antibody in MRL-lpr / lpr mice. *Clin Exp Immunol* 1993; 93 (S 1):22
 51. Heeringa P et al . Systemic injection of products of activated neutrophils and H2O2 in mieloperoxidase-immunized rats leads to necrotizing vasculitis in the lungs and gut. *Am J Path* 1997; 151: 131-139
 52. Hewicker M, Trautwein G. Sequential study of vasculitis in MRL mice. *Lab Anim* 1987; 21:335-341.
 53. Hoffman G.S. Classification of the systemic vasculitides: Antineutrophil cytoplasmic antibodies, consensus and controversy. *Clinical and Experimental Rheumatology* 1998; 16:111-115
 54. Hunder G. Vasculitis: Diagnosis and Therapy. *American Journal of Medicine* 1996; 100: (S) 37-45
 55. Hunder HH, Arend WP., Bloch DA, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of vasculitis: introduction. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 1065-67
 56. Jenette JC, Falk RJ: Medical Progress: Small-vessel vasculitis. *The New England Journal of Medicine* 1997; 337: 1512-1523
 57. Jennette JC, Falk RJ. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies: discovery, specificity,disease associations and pathogenic potential. *Adv. Pathol Lab Med* 1995; 8: 363-378
 58. Jennette JC, Hoidal JR, Falk RJ. Specificity of antineutrophil cytoplasmic antibodies for proteinase 3. *Blood* 1990; 75:2263-2264.
 59. Jennette JC., Falk RJ., Andrassy K., et al. Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum.*1994; 37: 187-92
 60. Kallemborg CGM, Heeringa P. Pathogenesis of vasculitis. *Lupus* 1998; 7: 280-284
 61. Kinjoh K, Kyogoku M, Good Ra. Genetic selection for crescent formation yields mouse strain with rapidly progressive glomerulonephritis and small vessel vasculitis. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 9U: 3413-3417
 62. Kinsella DL, Simpson HN. Löffler's pneumonia terminating in fatal periarteritis nodosa. *JAMA* 1967; 202: 101.
 63. Langford CA, Klippel JH, Balow JE et al. Use of cytotoxic agents and cyclosporine in the treatment of autoimmune disease: part 2: Inflammatory Bowel disease, systemic vasculitis, and therapeutic toxicity. *Annals of Internal Medicine* 1998; 129: 49-58.
 64. Lanham JG, Keith BE, Charles DP et al. Systemic Vasculitis with asthma and eosinophilia: a clinical approach to the Churg-Strauss syndrome *Medicine* 1984; 63: 65-81
 65. Lhote F et al. Les manifestations pleurales au cours de la pèriarterite nodeuse, de la maladie de wegener et du lupus mateux systémique. *Ann. Med Interne* 1992; 143: 228-232.
 66. Lhote F, Guillevin L. Polyarteritis nodosa, microscopic polyangiitis and Churg-Strauss syndrome. *Clinical aspects and treatment . Rheum. Dis. Clin. North. Am* 1995; 21: 911-947
 67. Lhote F., Cohen P, Guillevin L. Polyarteritis nodosa, microscopic polyangiitis and Churg-Strauss syndrome *Lupus* 1998; 7: 238-258
 68. Lie JT. Hystopathologic specificity of systemic vasculitis. *Rheum. Dis. Clin. North. Am.* 1995; 21: 883-910
 69. Lie JT. Nomenclature and classification of vasculitis: plus ça change, plus c'est

- la même chose. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 187-92
70. Ludemann J, Utecht B, Gross WL. Antineutrophilcytoplasm antibodies in Wegener's granulomatosis recognize an elastinolytic enzyme *J Exp. Med* 1990; 171: 357-362
 71. Luqmani RA, Bacon PA, Moots RJ, Jansen BA, Pall A et al. Birmingham vasculitis activity score (BVAS) in systemic necrotizing vasculitis. *QJM* 1994; 87: 671-678
 72. Masi AT, Hunder GG, Lie JT, et al. The American College of Rheumatology criteria for the classification of CSS (allergic granulomatosis and angiitis). *Arthritis Rheum* 1990; 33: 1094-2000
 73. Mathieson PW, Thiru S, Oliveira DBG. Mercuric chloride-treated Brown-Norway rats develop widespread tissue injury including necrotizing vasculitis. *Lab invest* 1992; 67: 121-129.
 74. Mayet WJ, Schwarting A, Meyer Zum Buschenfelde KH. Cytotoxic effects of antibodies to proteinase 3 (c-ANCA) on human endothelial cells. *Clin Exp Immunol* 1994; 97:458-465.
 75. Mc Cluskey-Flenberg
 76. Morgan JM, Raposo L, Gibson DG. Cardiac involvement in Churg-Strauss syndrome shown by ecocardiography. *Br Heart J* 1989; 62: 462-466. Renaldini E, Spandrio S, Cerudelli A, Cardiac involvement in Churg-Strauss Syndrome. A follow-up of three cases. *Eur Heart J* 1993; 14:1712-1716.
 77. Moyer Cf, Strandberg DJ, Reinish CL. Systemic mononuclear cell vasculitis in MRL / Mp-lpr / lpr mice; a histological and immunocytochemical analysis . *AM J Pathol* 1987 127: 229-242
 78. Mulder AHL et al. Activation of granulocytes by antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA); a Fc γ R II-dependent process. *Clin Exp Immunol* 1994; 78: 270-278
 79. Niles JL, Bottinger EP, Saurina GR, et al. The syndrome of lung hemorrhage and nephritis is usually ANCA-associated condition. *arch Intern Med* 1996; 156: 440-445.
 80. Niles JL, Mc Cluskey RT, Ahmad MF, Arnaout MA. Wegener's granulomatosis autoantigen is a novel neutrophil serine proteinase. *Blood* 1989; 74: 1888-1893.
 81. Nowack R., Flores-Suarez KF. Van der woude FJ. New developments in pathogenesis of vasculitis *Curr Opin Rheumatol.* 1998; 10:3-11.
 82. Olsen KD, Neel HB, DeRemee RA, Weiland LH. Nasal manifestations of allergic granulomatosis and angiitis. (Churg-Strauss Syndrome). *Otolaryngol. Head Neck Surg* 1980; 88: 85
 83. Pall AA, Savage COS. Mechanism of endothelial cell injury in vasculitis. *Springer Semin Immunopath* 1994; 16: 23-37.
 84. Pendergraft WF et al. Myeloperoxidase and proteinase 3 are not expressed by endothelial cells. *Clinical and Experimental Immunology* 1998; 112:19 (abstract 13)
 85. Peter HM, Metzger D, Rump A et al. ANCA in diseases other than systemic vasculitis. *Clinic Exp Immunol* 1993; 12-14.
 86. Petterson EE, Sundelin B, Heigl Z. Incidence and outcome of pauci-immune necrotizing and crescentic glomerulonephritis in adults. *Clin Nephrol.* 1995; 43:141-149.
 87. Pnanuphak P, Koheler PF. Onset of polyarteritis during allergic hyposensitization treatment. *Am J Medicine* 1980; 68: 479-485
 88. Proceedings of the 6th International ANCA Workshop. Paris, France, 28 June- 1 July 1995. *Clin Exp Immunol* 1995 Jul; 101 (S) 1: 1-78
 89. Rasmussen N, Jayne DR, Abramowitz D, et al. European therapeutic trials in ANCA-associated systemic vasculitis: disease scoring, consensus regimens and proposed clinical trials. *Clin Exp Immunol.* 1995; 101 (S1): 29-34
 90. Reumax D, Vossebeld PJM, Roos D, Verhoven AJ. Effects of tumor necrosis

- factor-induced integrin activation on Fc γ receptor II-mediated signal transduction: relevance for activation of neutrophils by antiproteinase 3 or antimyeloperoxidase antibodies. *Blood* 1995; 86: 3189-3195.
91. Rose GA. The natural history of polyarteritis. *Brit Med J* 1957; 1148
 92. Sabbatini A, Dolcher MP, Marchini B, Chimenti D, Moscato S, Pratesi F, Bombardieri S, Migliorini P. Alpha-enolase is a renal-specific antigen associated with kidney involvement in mixed cryoglobulinemia. *Clin Exp Rheumatol* 199; 15 (6): 655-658
 93. Savage COS, Winearls CG, Evans DJ, Rees AJ, Lockwood CM. Microscopic polyarteritis: presentation, pathology and prognosis. *QJM* 1985; 220: 467-483
 94. Savage COS., Harper L, Adu D. Primary systemic vasculitis. *Lancet* 1997; 349: 553-558
 95. Savage COS., Pottinger BE, Gaskin G, Puskey CD, Pearson JD. Autoantibodies developing to myeloperoxidase and proteinase 3 in systemic vasculitis stimulate neutrophil cytotoxicity towards cultured endothelial cells. *Am J Pathol* 1992; 41:375-383.
 96. Schultz DR, Tozman EC. Antineutrophil cytoplasmic antibodies : major autoantigens, pathophysiology and disease associations. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 1995; 25 (3) :143-159
 97. Sehgal M, Swanson J, DeRemee RA, Colby TV. Neurologic manifestations of Churg-Strauss syndrome *MayoClin Proc* 1995; 70: 337-341.
 98. Sharma MC, Safaya R, Sidhu BS. Perforation of small intestine caused by Churg-Strauss syndrome. *J Clin Gastroenterol* 1996; 23: 232-235.
 99. Spottiswood-Taylor S, Farley DL. Periarteritis nodosa. A case report with necropsy. *Bull Ayer Clin Lab Penn Hosp* 1934; 3:15
 100. Suen KC, Burton JD. The spectrum of eosinophilic infiltration of the gastrointestinal tract and its relationship to other disorders of angitis and granulomatosis. *Hum pathol* 1979; 10:31.
 101. Van der Wiel BA, et al. Interference of Wegener's granulomatosis autoantibodies with neutrophil proteinase 3 activity. *Clin Exp Immunol.* 1992; 90: 409-414
 102. Van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S et al. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1985; 1:425-429
 103. Wilk A. Delineation of standard procedure for indirect immunofluorescence detection of ANCA. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1989; (S 97): 12-13
 104. Zeek PM. Periarteritis nodosa: a critical review. *Am. J. Clin. Pathol.* 1952; 22:777-790
 105. Ayalew Tefferi et al. Hypereosinophilic syndrome and clonal eosinophilia: point of care diagnostic algorithm and treatment update. *Mayo Clin Proc.* February 2010; 85(2): 158-164
 106. Tefferi A, Patnaik MM, Pardanani A. Eosinophilia: secondary, clonal and idiopathic. *Br J Haematol.* 2006;133(5):468-492.
 107. Meltzer E, Percik R, Shatzkes J, Sidi Y, Schwartz E. Eosinophilia among returning travelers: a practical approach. *Am J Trop Med Hyg.* 2008;78(5):702-709.
 108. Ganeva M, Gancheva T, Lazarova R, et al. Carbamazepine-induced drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS) syndrome: report of four cases and brief review. *Int J Dermatol.* 2008;47(8):853-860.
 109. Campos LE, Pereira LF. Pulmonary eosinophilia. *J Bras Pneumol.* 2009;35(6):561-573.
 110. Méndez-Sánchez N, Chávez-Tapia NC, Vazquez-Elizondo G, Uribe M. Eosinophilic gastroenteritis: a review. *Dig Dis Sci.* 2007 Nov;52(11):2904-2911. Epub 2007 Apr 11.
 111. Swoger JM, Weiler CR, Arora AS. Eosinophilic esophagitis: is it all allergies? *Mayo Clin Proc.* 2007;82(12):1541-1549.

112. .Seybolt LM, Christiansen D, Barnett ED. Diagnostic evaluation of newly arrived asymptomatic refugees with eosinophilia. *Clin Infect Dis*. 2006;42(3):363-367. Epub 2005 Dec 28.
113. .Lassmann B, Tsigrelis C, Virk A. 33-year-old woman with marked eosinophilia. *Mayo Clin Proc*. 2007;82(1):103-106.
114. Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia*. 2008;22(1):14-22. Epub 2007 Sep 20.
115. .Chang HW, Leong KH, Koh DR, Lee SH. Clonality of isolated eosinophils in the hypereosinophilic syndrome. *Blood*. 1999;93:1651-1657.
116. .Malcovati L, La Starza R, Merante S, Pietra D, Mecucci C, Cazzola M. Hypereosinophilic syndrome and cyclic oscillations in blood cell counts: a clonal disorder of hematopoiesis originating in a pluripotent stem cell. *Haematologica*. 2004;89(4):497-499.
117. Brown NJ, Stein RS. Idiopathic hypereosinophilic syndrome progressing to acute myelomonocytic leukemia with chloromas. *South Med J*. 1989;82(10):1303-1305.
118. .Owen J, Scott JG. Transition of the hypereosinophilic syndrome to myelomonocytic leukemia. *Can Med Assoc J*. 1979;121(11):1489-1491.
119. Yoo TJ, Orman SV, Patil SR, et al. Evolution to eosinophilic leukemia with a t(5:11) translocation in a patient with idiopathic hypereosinophilic syndrome. *Cancer Genet Cytogenet*. 1984;11(4):389-394.
120. .Needleman SW, Mane SM, Gutheil JC, Kapil V, Heyman MR, Testa JR. Hypereosinophilic syndrome with evolution to myeloproliferative disorder: temporal relationship to loss of Y chromosome and c-N-ras activation. *Hematol Pathol*. 1990;4(3):149-155.
121. .Cools J, DeAngelo DJ, Gotlib J, et al. A tyrosine kinase created by fusion of the PDGFRA and FIP1L1 genes as a therapeutic target of imatinib in idiopathic hypereosinophilic syndrome. *N Engl J Med*. 2003;348(13):1201-1214.
122. .Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the WHO classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009 Jul 30;114(5):937-951. Epub 2009 Apr 8.
123. .Pardanani A, Akin C, Valent P. Pathogenesis, clinical features, and treatment advances in mastocytosis. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2006;19(3):595-615.
124. .Bain BJ. Relationship between idiopathic hypereosinophilic syndrome, eosinophilic leukemia, and systemic mastocytosis. *Am J Hematol*. 2004;77(1):82-85.
125. .Gleich GJ, Leiferman KM. The hypereosinophilic syndromes: current concepts and treatments. *Br J Haematol*. 2009;145(3):271-285.
126. .Sato Y, Taniguchi R, Yamada T, et al. Measurement of serum concentrations of cardiac troponin T in patients with hypereosinophilic syndrome: a sensitive non-invasive marker of cardiac disorder [letter]. *Intern Med*. 2000;39(4):350.
127. .Pitini V, Arrigo C, Azzarello D, et al. Serum concentration of cardiac Troponin T in patients with hypereosinophilic syndrome treated with imatinib is predictive of adverse outcomes [letter]. *Blood*. 2003;102(9):3456-3457.
128. .Ommen SR, Seward JB, Tajik AJ. Clinical and echocardiographic features of hypereosinophilic syndromes. *Am J Cardiol*. 2000;86(1):110-113.
129. .Klion AD, Robyn J, Akin C, et al. Molecular remission and reversal of myelofibrosis in response to imatinib mesylate treatment in patients with the myeloproliferative variant of hypereosinophilic syndrome. *Blood*. 2004 Jan 15;103(2):473-478. Epub 2003 Sep 22.
130. .Koury MJ, Newman JH, Murray JJ. Reversal of hypereosinophilic syndrome and lymphomatoid papulosis with mepolizumab and imatinib [letter]. *Am J Med*. 2003;115(7):587-589.

131. .Ascione L, De Michele M, Accadia M, Spadaro P, Rumolo S, Tuccillo B. Reversal of cardiac abnormalities in a young man with idiopathic hypereosinophilic syndrome using a tyrosine kinase inhibitor. *Eur J Echocardiogr.* 2004;5(5):386-390.
132. .Pardanani A, Brockman SR, Paternoster SF, et al. FIP1L1-PDGFR α fusion: prevalence and clinicopathologic correlates in 89 consecutive patients with moderate to severe eosinophilia. *Blood.* 2004 Nov 15;104(10):3038-3045. Epub 2004 Jul 29.
133. .Greipp PT, Dewald GW, Tefferi A. Prevalence, breakpoint distribution, and clinical correlates of t(5;12). *Cancer Genet Cytogenet.* 2004;153(2):170-172.
134. .Curtis CE, Grand FH, Musto P, et al. Two novel imatinib-responsive PDGFR α fusion genes in chronic eosinophilic leukaemia. *Br J Haematol.* 2007;138(1):77-81.
135. Vandenberghe P, Wlodarska I, Michaux L, et al. Clinical and molecular features of FIP1L1-PDFGRA (+) chronic eosinophilic leukemias. *Leukemia.* 2004;18(4):734-742.
136. .Fink SR, Belongie KJ, Paternoster SF, et al. Validation of a new three-color fluorescence in situ hybridization (FISH) method to detect CHIC2 deletion, FIP1L1/PDGFR α fusion and PDGFR α translocations. *Leuk Res.* 2009 Jun;33(6):843-846. Epub 2008 Dec 31.
137. .Pardanani A, Tefferi A. Imatinib targets other than bcr/abl and their clinical relevance in myeloid disorders. *Blood.* 2004 Oct 1;104(7):1931-1939. Epub 2004 May 27.
138. .Helbig G, Moskwa A, Swiderska A, et al. Weekly imatinib dosage for chronic eosinophilic leukaemia expressing FIP1L1-PDGFR α fusion transcript: extended follow-up. *Br J Haematol.* 2009 Apr;145(1):132-134. Epub 2008 Dec 20.
139. .Metzgeroth G, Walz C, Erben P, et al. Safety and efficacy of imatinib in chronic eosinophilic leukaemia and hypereosinophilic syndrome: a phase-II study. *Br J Haematol.* 2008 Dec;143(5):707-715. Epub 2008 Oct 17.
140. .Baccarani M, Cilloni D, Rondoni M, et al. The efficacy of imatinib mesylate in patients with FIP1L1-PDGFR α -positive hypereosinophilic syndrome: results of a multicenter prospective study. *Haematologica.* 2007 Sep;92(9):1173-1179. Epub 2007 Aug 1.
141. .Jovanovic JV, Score J, Waghorn K, et al. Low-dose imatinib mesylate leads to rapid induction of major molecular responses and achievement of complete molecular remission in FIP1L1-PDGFR α -positive chronic eosinophilic leukemia. *Blood.* 2007 Jun 1;109(11):4635-4640. Epub 2007 Feb 13.
142. Klion AD, Robyn J, Maric I, et al. Relapse following discontinuation of imatinib mesylate therapy for FIP1L1/PDGFR α -positive chronic eosinophilic leukemia: implications for optimal dosing. *Blood.* 2007 Nov 15;110(10):3552-3556. Epub 2007 Aug 20.
143. .Lierman E, Michaux L, Beullens E, et al. FIP1L1-PDGFR α D842V, a novel panresistant mutant, emerging after treatment of FIP1L1-PDGFR α T674I eosinophilic leukemia with single agent sorafenib. *Leukemia.* 2009 May;23(5):845-851. Epub 2009 Feb 12.
144. .Schöffski P, Ganser A, Pascheberg U, Büsche G, Gaede B, Hertenstein B. Complete haematological and cytogenetic response to interferon alpha-2a of a myeloproliferative disorder with eosinophilia associated with a unique t(4;7) aberration. *Ann Hematol.* 2000;79(2):95-98.
145. .David M, Cross NC, Burgstaller S, et al. Durable responses to imatinib in patients with PDGFRB fusion gene-positive and BCR-ABL-negative chronic myeloproliferative disorders. *Blood.* 2007 Jan 1;109(1):61-64. Epub 2006 Sep 7.
146. .Apperley JF, Gardembas M, Melo JV, et al. Response to imatinib mesylate in patients with chronic myeloproliferative diseases with rearrangements of the

- platelet-derived growth factor receptor beta. *N Engl J Med.* 2002 Aug 15;347(7):481-487.
147. .Tefferi A. Molecular drug targets in myeloproliferative neoplasms: mutant ABL1, JAK2, MPL, KIT, PDGFRA, PDGFRB and FGFR1. *J Cell Mol Med.* 2009 Feb 13;13(2):215-237. Epub 2008 Oct 23.
 148. .Cross NC, Reiter A. Fibroblast growth factor receptor and platelet-derived growth factor receptor abnormalities in eosinophilic myeloproliferative disorders. *Acta Haematol.* 2008;119(4):199-206. Epub 2008 Jun 20.
 149. .Luciano L, Catalano L, Sarrantonio C, Guerriero A, Califano C, Rotoli B. α IFN-induced hematologic and cytogenetic remission in chronic eosinophilic leukemia with t(1;5). *Haematologica.* 1999;84(7):651-653.
 150. .Malbrain MLNG, Van den Bergh H, Zachée P. Further evidence for the clonal nature of the idiopathic hypereosinophilic syndrome: complete haematological and cytogenetic remission induced by interferon-alpha in a case with a unique chromosomal abnormality. *Br J Haematol.* 1996;92(1):176-183.
 151. .Yamada O, Kitahara K, Imamura K, Ozasa H, Okada M, Mizoguchi H. Clinical and cytogenetic remission induced by interferon- α in a patient with chronic eosinophilic leukemia associated with a unique t(3;9;5) translocation. *Am J Hematol.* 1998;58(2):137-141.
 152. .Macdonald D, Reiter A, Cross NC. The 8p11 myeloproliferative syndrome: a distinct clinical entity caused by constitutive activation of FGFR1. *Acta Haematol.* 2002;107(2):101-107.
 153. .Pardanani A, Reeder T, Porrata LF, et al. Imatinib therapy for hypereosinophilic syndrome and other eosinophilic disorders. *Blood.* 2003 May 1;101(9):3391-3397. Epub 2002 Dec 27.
 154. Seshadri T, Seymour JF, McArthur GA. Oligospermia in a patient receiving imatinib therapy for the hypereosinophilic syndrome [letter]. *N Engl J Med.* 2004;351(20):2134-2135.
 155. .Pye SM, Cortes J, Ault P, et al. The effects of imatinib on pregnancy outcome. *Blood.* 2008 Jun 15;111(12):5505-5508. Epub 2008 Mar 5.
 156. .Prin L, Lefebvre P, Gruart V, et al. Heterogeneity of human eosinophil glucocorticoid receptor expression in hypereosinophilic patients: absence of detectable receptor correlates with resistance to corticotherapy. *Clin Exp Immunol.* 1989;78(3):383-389.
 157. .Butterfield JH. Interferon treatment for hypereosinophilic syndromes and systemic mastocytosis. *Acta Haematol.* 2005;114(1):26-40.
 158. .Yamaguchi Y, Hayashi Y, Sugama Y, et al. Highly purified murine interleukin 5 (IL-5) stimulates eosinophil function and prolongs in vitro survival: IL-5 as an eosinophil chemotactic factor. *J Exp Med.* 1988;167(5):1737-1742.
 159. .Elsner J, Höchstetter R, Spiekermann K, Kapp A. Surface and mRNA expression of the CD52 antigen by human eosinophils but not by neutrophils. *Blood.* 1996;88(12):4684-4693.
 160. .Jain N, Cortes J, Quintás-Cardama A, et al. Imatinib has limited therapeutic activity for hypereosinophilic syndrome patients with unknown or negative PDGFR α mutation status. *Leuk Res.* 2009 Jun;33(6):837-839. Epub 2008 Nov 14.
 161. .Wolf D, Gastl G, Rumpold H. Complete remission of an idiopathic hypereosinophilic syndrome while using imatinib [in German]. *Dtsch Med Wochenschr.* 2004;129(40):2104-2106.
 162. .Butterfield JH. Success of short-term, higher-dose imatinib mesylate to induce clinical response in FIP1L1-PDGFR α -negative hypereosinophilic syndrome. *Leuk Res.* 2009 Aug;33(8):1127-1129. Epub 2009 Jan 13.
 163. .Rothenberg ME, Klion AD, Roufosse FE, et al. Treatment of patients with the hypereosinophilic syndrome with mepolizumab [published correction appears in

- N Engl J Med.* 2008;358(23):2530]. *N Engl J Med.* 2008 Mar 20;358(12):1215-1228.
164. .Mehr S, Rego S, Kakakios A, Kilham H, Kemp A. Treatment of a case of pediatric hypereosinophilic syndrome with anti-interleukin-5. *J Pediatr.* 2009;155(2):289-291.
 165. .Verstovsek S, Tefferi A, Kantarjian H, et al. Alemtuzumab therapy for hypereosinophilic syndrome and chronic eosinophilic leukemia. *Clin Cancer Res.* 2009;15(1):368-373.
 166. .Pitini V, Teti D, Arrigo C, Righi M. Alemtuzumab therapy for refractory idiopathic hypereosinophilic syndrome with abnormal T cells: a case report. *Br J Haematol.* 2004;127(5):477.
 167. .O'Brien S, Ravandi F, Riehl T, et al. Valganciclovir prevents cytomegalovirus reactivation in patients receiving alemtuzumab-based therapy. *Blood.* 2008 Feb 15;111(4):1816-1819. Epub 2007 Nov 26.
 168. .Hwang YY, Cheung WW, Leung AY, Tse E, Au WY, Kwong YL. Valganciclovir thrice weekly for prophylaxis against cytomegalovirus reactivation during alemtuzumab therapy [letter]. *Leukemia.* 2009 Apr;23(4):800-801. Epub 2008 Oct 9.
 169. Halaburda K, Prejzner W, Szatkowski D, Limon J, Hellmann A. Allogeneic bone marrow transplantation for hypereosinophilic syndrome: long-term follow-up with eradication of FIP1L1-PDGFR fusion transcript [letter]. *Bone Marrow Transplant.* 2006 Aug;38(4):319-320. Epub 2006 Jul 3.
 170. .Ueno NT, Anagnostopoulos A, Rondón G, et al. Successful non-myeloablative allogeneic transplantation for treatment of idiopathic hypereosinophilic syndrome. *Br J Haematol.* 2002;119(1):131-134.
 171. .Juvonen E, Volin L, Koponen A, Ruutu T. Allogeneic blood stem cell transplantation following non-myeloablative conditioning for hypereosinophilic syndrome. *Bone Marrow Transplant.* 2002;29(5):457-458.
 172. .Tefferi A, Levine RL, Lim KH, et al. Frequent TET2 mutations in systemic mastocytosis: clinical, KITD816V and FIP1L1-PDGFR correlates. *Leukemia.* 2009 May;23(5):900-904. Epub 2009 Mar 5.
 173. .Tefferi A, Pardanani A, Lim KH, et al. TET2 mutations and their clinical correlates in polycythemia vera, essential thrombocythemia and myelofibrosis. *Leukemia.* 2009 May;23(5):905-911. Epub 2009 Mar 5.
 174. .Tefferi A, Lim KH, Abdel-Wahab O, et al. Detection of mutant TET2 in myeloid malignancies other than myeloproliferative neoplasms: CMML, MDS, MDS/MPN and AML [letter]. *Leukemia.* 2009;23(7):1343-1345. Epub 2009 Mar 19.
 175. .Delhommeau F, Dupont S, Della Valle V, et al. Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med.* 2009 May 28;360(22):2289-2301.
 176. James C, Ugo V, Le Couédic JP, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature.* 2005;434(7037):1144-1148.
 177. .Pikman Y, Lee BH, Mercher T, et al. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med.* 2006;3(7):e270.
 178. .Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood.* 2006 Nov 15;108(10):3472-3476. Epub 2006 Jul 25.
 179. .Gotlib J, Cools J. Five years since the discovery of FIP1L1-PDGFR: what we have learned about the fusion and other molecularly defined eosinophilias. *Leukemia.* 2008 Nov;22(11):1999-2010. Epub 2008 Oct 9.
 180. .Cross NC, Reiter A. Tyrosine kinase fusion genes in chronic myeloproliferative diseases. *Leukemia.* 2002;16(7):1207-1212.
 181. Tefferi A, Pardanani A. Evaluation of "increased" hemoglobin in the JAK2 mutations era: a diagnostic algorithm based on genetic tests. *Mayo Clin Proc.* 2007;82(5):599-604.

182. Gotlib J, Berubé C, Growney JD, et al. Activity of the tyrosine kinase inhibitor PKC412 in a patient with mast cell leukemia with the D816V KIT mutation. *Blood*. 2005 Oct;106(8):2865-2870. Epub 2005 Jun 21.