

**POLIANGEITIS AMB
GRANULOMATOSIS EOSINOFÍLICA
I ASMA AL·LÈRGICA**

Dues monedes amb una mateixa cara?

Departament de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

Autor: Marc Ramentol i Sintas

Directors: Josep Àngel Bosch Gil, Roser Solans Laqué

Treball de recerca, convocatòria Juny 2013

CERTIFICAT DELS DIRECTORS DEL TREBALL DE RECERCA

El Dr. Josep Àngel Bosch Gil, professor del Departament de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona, i la Dra. Roser Solans Laqué, professora associada del Departament de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona,

FAN CONSTAR,

que el treball titulat *“Poliangeitis amb Granulomatosis Eosinofílica i Asma al·lèrgica; dues monedes amb una mateixa cara?”* ha estat realitzat sota la nostra direcció pel llicenciat Marc Ramentol Sintas, trobant-se en condicions de poder ser presentat com a treball d’investigació de 12 crèdits, dins el programa de doctorat en Medicina Interna/Diagnòstic per la Imatge (curs 2012-2013), a la convocatòria de juny

Barcelona, 21 de Maig de dos mil tretze

Josep Àngel Bosch Gil

Roser Solans Laqué

ÍNDEX

1. Resum del treball.....	4
2. Introducció.....	5
2.1 Definició.....	5
2.2 Resum de la patogènia de la Poliangeitis amb Granulomatosis eosinofílica (EGPA).....	7
2.3 Relació al·lèrgia-EGPA.....	12
3. Objectius.....	16
4. Metodologia.....	17
4.1 Grup de pacients amb EGPA.....	17
4.2 Grup de pacients amb asma al·lèrgica.....	18
4.3 Anàlisi estadística.....	20
5. Resultats.....	21
5.1. Perfil clínic.....	21
5.2 Perfil serològic.....	23
5.3 Perfil al·lèrgic.....	25
6. Discussió.....	27
7. Conclusions.....	31
8. Bibliografia.....	32

1. RESUM DEL TREBALL

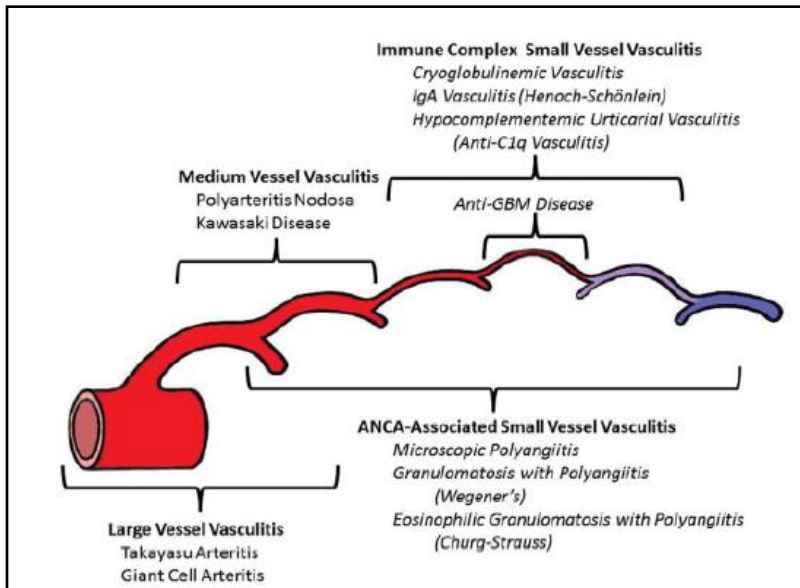
La síndrome de Churg-Strauss, coneguda també com Poliangeitis amb Granulomatosis eosinofílica (EGPA) segons l'últim consens internacional en nomenclatura del 2012, clàssicament s'ha vinculat a un substrat asmàtic d'origen al·lèrgic. En efecte, són molts els trets clínics i immunològics comuns, com són la participació de la resposta limfocitària efectora de perfil Th2 o el rol prominent de la immunoglobulina E (IgE). No obstant, l'evidència d'un substrat al·lèrgic en els pacients afectes d'EGPA és equívoca. **Objectius:** identificar diferències clíniques i serològiques entre pacients amb EGPA i pacients asmàtics al·lèrgics; determinar el perfil al·lèrgic d'un grup de pacients diagnosticats d'EGPA. **Mètodes:** estudi comparatiu retrospectiu entre un grup de pacients diagnosticats d'EGPA i un grup de pacients asmàtics al·lèrgics, confirmat per test cutani positiu i/o detecció d'IgE específica. **Resultats:** els dos grups presentaven prevalències molt elevades de simptomatologia persistent (82,4% i 82,6%, respectivament), però el grup d'EGPA destacava per un curs perenne d'aquesta. Contràriament, els nivells d'IgE van ser significativament superiors en el grup de pacients al·lèrgics, mentre que el recompte d'eosinòfils no va mostrar diferències. Finalment, només en el 23,5% (IC 95%: 9,6%-47,3%) del grup de pacients amb EGPA es va objectivar, directa o indirectament, la presència d'IgE específica front al·lèrgens. **Conclusió:** les reaccions immunoal·lèrgiques, almenys contra els al·lèrgens més habituals, no semblen intervenir en la fisiopatologia de la majoria dels casos d'EGPA. El paper de la IgE probablement tingui trets diferencials entre la EGPA i l'asma al·lèrgica.

2. INTRODUCCIÓ

2.1 Definició

La síndrome de Churg-Strauss o Poliangeitis amb Granulomatosis eosinofílica (EGPA, en les seves sigles en anglès), tal i com ha quedat establerta la denominació en la trobada de la *Chapel Hill Consensus Conference* de 2012, va ser descrita per primera vegada l'any 1951 per J. Churg i L. Strauss. Aquests autors la van definir com una vasculitis necrotitzant sistèmica amb presència de granulomes extravasculars que afecta exclusivament a pacients amb asma sever i eosinofília perifèrica¹. La EGPA és una malaltia molt rara amb una prevalença estimada entorn de les 2,4 persones per milió d'habitants. Es tracta generalment de pacients que es troben en llur quarta o cinquena dècada de la vida, sense que existeixi una clara preponderància de gènere. Clínicament, es caracteritza per l'afectació pulmonar i de l'esfera otorrinolaringològica: normalment en forma d'asma, generalment persistent moderat-greu, acompanyat de manifestacions de tipus "al·lèrgic" (poliposis, rinoconjuntivitis, sinusitis...). Aproximadament la meitat dels casos de EGPA es manifesten amb afectació sistèmica d'òrgans nobles (cor, aparell gastrointestinal, ronyó o sistema nerviós), però amb severitat variable^{2,3}.

Des de la descripció dels anticossos anti-citoplasma dels neutròfils (ANCA) el 1991⁴ i la seva constatació en algunes formes de EGPA, aquesta entitat va quedar englobada en el conjunt conegut com Vasculitis Associades a ANCA. Tot i que són cada vegada més les veus dins del camp de la investigació que posen en entredit la idoneïtat i consistència d'aquesta agrupació⁵, avui en dia, tan a efectes de tractament com amb finalitats de recerca, es continua considerant aquesta entitat, integrada per la EGPA, la Granulomatosis amb Poliangeitis (GPA) o Granulomatosis de Wegener i la Poliangeitis Microscòpica. Des de la *Chapel Hill Consensus Conference* sobre nomenclatura de les vasculitis sistèmiques, celebrada en primera instància el 1994 i més recentment el 2012, aquest grup ha quedat integrat en les vasculitis de petit i mitjà vas:



Extret de Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, et al. 2012 revised international Chapel Hill consensus conference nomenclature of vasculitides. *Arthritis Rheum* 2013; 65: 1-11

Les inevitables similituds clíniques entre la EGPA i les asmes amb un substrat al·lèrgic, van fer que ben aviat se li assignés una segona denominació: la Granulomatosis al·lèrgica extrínseca amb angeitis. Com veurem al llarg d'aquest treball, aquesta concepció de vincle entre al·lèrgia i síndrome de Churg-Strauss, tan arrelada en l'imaginari de la comunitat científica, cada vegada és més equívoca si tenim en compte l'evidència més recent. Molts han estat, i són, els esforços per determinar la via fisiopatològica que s'estén entre aquestes dues malalties i discernir els desencadenants que explicarien el desenvolupament del quadre d'EGPA. En aquest treball, ens centrarem en determinar les similituds i les diferències a nivell clínic i serològic entre aquestes dues entitats, a fi de contrastar la plausibilitat d'un possible *continuum* entre asma al·lèrgica i EGPA.

2.2 Resum patogènia de la Poliangeitis amb Granulomatosis eosinofílica (EGPA)

El paper dels eosinòfils

Els eosinòfils són el tipus cel·lular principal involucrat en la patogènia de la EGPA. En efecte, en situacions d'activitat clínica de la malaltia, la hipereosinofília (>1.500 eosinòfils/mm³ o >10% del total del recompte leucocitari) i nivells elevats de immunoglobulina E (IgE) són troballes pràcticament constants en la sang perifèrica dels pacients afectats³. És per això que la infiltració tissular per eosinòfils activats, junt amb troballes de vasculitis necrotitzant amb granulomes rics en eosinòfils, tenen caràcter definitori de malaltia i constitueixen el patró or del diagnòstic histològic des del consens internacional de Chapel-Hill del 1994⁶. Els eosinòfils són en gran part responsables del dany tissular observat en la malaltia, a través de l'alliberació de la proteïna bàsica major (MBP, en les seves sigles en anglès), la proteïna catiònica dels eosinòfils (ECP) i la neurotoxina derivada dels eosinòfils. En efecte, durant la fase activa de la malaltia, s'han documentat concentracions elevades d'aquests tres productes d'activació eosinofílica tant en sang perifèrica com a nivell del rentat broncoalveolar^{7,8}. No obstant, tot i l'evident paper dels eosinòfils en la fisiopatologia de la malaltia, avui en dia no coneixem encara el procés o processos que desemboquen en l'activació d'aquest tipus cel·lular.

Resposta Th2

Igual que en altres malalties mediatitzades per eosinòfils, en la EGPA s'ha demostrat un paper preponderant de la resposta efectora de perfil Th2 dels limfòcits T CD4⁺^{9,10}. Els seus marcadors immunològics són, entre d'altres, la secreció d'interleucines (IL) 5, IL-4 i IL-13, totes elles implicades en els mecanismes que promouen l'eosinofília perifèrica i la infiltració tissular per part d'eosinòfils activats^{9,11}. No obstant, recentment ha quedat ben demostrada la interrelació entre l'activació eosinofílica i la polarització de la resposta limfocitària T col·laboradora cap al perfil Th2: els primers, un cop activats, produïrien elevades quantitats d'IL-25, la qual interacciona amb el seu receptor localitzat en els limfòcits T CD4⁺ de memòria induint la seva activació cap a perfil Th2¹². Per altra banda, la IL-5 és un dels inductors més

potents de la mobilització d'eosinòfils a sang perifèrica des de la medul·la òssia, així com de la proliferació i de la diferenciació de llurs precursors hematopoietics^{13,14}.

En les malalties d'estirp eosinofílica, existeix un creixent interès en el bloqueig farmacològic d'aquesta interleucina: el mepolizumab (anticòs monoclonal humanitzat anti-IL-5) ha demostrat reiteradament la seva eficàcia en el control clínic de malalties com l'esofagitis eosinofílica o l'asma al·lèrgica^{15,16}. En la EGPA, ja existeixen algunes comunicacions de resultats molt satisfactoris en el maneig d'afectacions refractàries al tractament habitual¹⁷. No obstant, existeix encara certa controvèrsia sobre el paper fonamental de la IL-5 en la EGPA: tot i que hi ha estudis que proven la seva presència a sang perifèrica dels pacients en fase activa de la malaltia¹¹, altres autors no han pogut demostrar un augment de la capacitat de síntesis *in vitro* d'IL-5 per part dels limfòcits procedents de pacients amb EGPA¹⁰. De fet, segons aquests mateixos autors, només el 30% dels pacients amb EGPA en fase activa tindrien nivells elevats d'IL-5¹⁸. Més enllà d'aquest darrer aspecte, tenint en compte resultats de treballs en pacients asmàtics en tractament amb mepolizumab, la depleció d'eosinòfils que invariablement s'observa en aquests pacients no s'acompanya d'una disminució dels productes d'activació eosinofílica a nivell tissular¹⁹. En aquest sentit, la IL-4 i la IL-13, ambdues productes de l'activació limfocitària Th2, juguen un paper essencial en la supervivència dels eosinòfils a nivell tissular i llur concentració es troba significativament augmentada en pacients amb EGPA en fase activa en comparació a pacients afectes de GPA i a controls sans¹⁰.

Eotaxines

La infiltració tissular per part d'eosinòfils activats constitueix el resultat d'un procés que guia l'eosinòfil des del torrent sanguini fins al focus de la inflamació. Aquest trànsit està guiat per una família de quimiocines amb acció específica per a eosinòfils, anomenades "eotaxines", de les quals es coneixen tres variants moleculars: l'eotaxina-1 (CCL-11), l'eotaxina-2 (CCL-24) i l'eotaxina-3 (CCL-26)¹³. L'ur receptor cel·lular, el CCR-3, es troba altament expressat en la membrana cel·lular dels eosinòfils, i en menor mesura també es troba en les membranes dels mastòcits i dels limfòcits T CD4+ i T efectors amb perfil Th2²⁰. La presència d'aquest receptor sobre aquest darrer tipus

cel·lular té un interès especial, perquè ha demostrat un important paper quimiotàctic sobre els limfòcits Th2 durant les fases inicials de la resposta immunoal·lèrgica. La interacció de les eotaxines amb el CCR3, provoca una cascada de reaccions que comporten finalment el canvi de morfologia i l'expressió de molècules d'adhesió a nivell de la membrana, canvis necessaris pel procés de migració transendotelial.

Tot i que existeix una producció basal d'eotaxina a nivell de les mucoses exposades al medi extern (respiratòria i digestiva) de cara a mantenir-hi una població estable d'eosinòfils, també s'ha demostrat un augment de producció d'eotaxina a nivell tissular com a resposta a determinats estímuls proinflamatoris¹³. Aquesta producció, sobretot d'eotaxina-3 i en menor mesura d'eotaxina-2, és a càrrec fonamentalment de les cèl·lules endotelials i epitelials dels teixits afectes i és altament dependent de la resposta limfocitària T efectora de perfil Th2^{21,22}. En efecte, tant la IL-13 com la IL-4 (però no la IL-5), són agonistes potents per a la síntesis de tots els tipus d'eotaxina. Una evidència més, doncs, del paper rellevant de la resposta Th2 en les malalties mediatitzades per eosinòfils: no ja només com a promotora de l'activació eosinofílica, sinó també com amplificadora i perpetuadora de la mateixa. Al mateix temps, es produeix un mecanisme de retroalimentació que, a través del receptor CCR-3 localitzat als limfòcits T CD4+ *naïf*, afavoreix llur diferenciació al perfil efector Th2 i la posterior migració al teixit inflammat¹³.

Durant la fase activa de la EGPA és possible demostrar l'increment en la síntesis d'eotaxina, particularment d'eotaxina-3. Polzer *et al*, utilitzant tècniques d'immunohistoquímica, van observar reactivitat en mostres tissulars provinents de l'aparell respiratori i del sistema nerviós de pacients en fase activa de EGPA⁹. Aquesta reactivitat, tal i com s'havia descrit amb anterioritat, es produïa sobretot a nivell de les cèl·lules endotelials, epitelis i cèl·lules musculars llises. En aquest mateix treball es descrivia una correlació positiva significativa entre els nivells d'eotaxina-3 a sang perifèrica i els nivells d'eosinòfils i d'IgE; de manera inversa, la resposta clínica al tractament immunosupressor s'acompanyava d'un marcat descens de la concentració sèrica d'eotaxina-3.

El paper emergent dels limfòcits T efectors Th17

Des que fos identificat com un perfil efector diferent dels perfils clàssics dels limfòcits T CD4+ (coneguts com Th1 i Th2)²³, aquests limfòcits han estat implicats en la patogènia de moltes malalties considerades de causa autoimmunitària. Els limfòcits Th17 es caracteritzen per sintetitzar grans quantitats d'IL-17 (en diferents isoformes), IL-21 i IL-22; d'aquestes, la IL-17 té una gran capacitat per promoure la síntesis de citocines i quimiocines proinflamatòries (com la IL-6, la IL-1 o el TNF α). Per això, el principal paper dels limfòcits Th17 rau en la defensa front la infecció per gèrmens extracel·lulars (entre ells el *Citrobacter* sp, la *Klebsiella* sp i fongs com *Candida* sp)²⁴. Recentment, alguns treballs han publicat l'existència d'un marcat augment de producció d'IL-17 durant la fase activa de la EGPA, promogut per un augment de la població de limfòcits Th17 a sang perifèrica, en comparació a situacions de remissió clínica i, de manera molt interessant, també en comparació a un grup de pacients asmàtics²⁵.

El balanç entre les poblacions de limfòcits Th17 i limfòcits T reguladors (Treg) també s'ha demostrat crític per definir l'estat d'activitat clínica de la EGPA. En efecte, bé podria ser, com descriurem amb més detall posteriorment, que el desenvolupament complet de l'espectre propi de la EGPA passés per una depleció perifèrica de la capacitat reguladora dels limfòcits Treg. De fet, durant la fase activa de la EGPA, s'ha pogut demostrar una disminució d'una població limfocitària T amb capacitat reguladora induïda (coneguda com Tr1), amb elevada capacitat de síntesi de IL-10 i TGF- β , ambdues amb funció intrínsecament immunosupressora²⁶, que acompanya l'augment de la presència de cèl·lules Th17²⁷.

Paper dels Anticossos contra el citoplasma dels neutròfils (ANCA)

Tot i certa variabilitat entre les diferents sèries clíniques, es considera que la prevalença d'ANCA en la sang dels pacients afectes d'EGPA es situa en torn el 40% (37,6%-47%)^{28,29}. En la majoria dels casos de positivitat en la EGPA, els ANCA adopten un patró perinuclear (pANCA) en les tècniques d'immunofluorescència indirecta (IFI) amb especificitat demostrable per la Mieloperoxidasa neutrofílica (MPO) fins al 75% dels casos. En la resta de casos, poden adoptar els altres dos patrons descrits en la IFI (

citoplasmàtic –cANCA- o atípic –xANCA-), amb especificitat per a la Proteinasa-3 (PR3)²⁸. Tant la MPO com la PR3 són enzims constitutivament localitzats en els grànuls azuròfils del citoplasma dels neutròfils i monòcits, i participen en els processos de digestió dels productes de fagocitosi³⁰. La translocació d'aquestes molècules a la membrana cel·lular, convertint-les en dianes per ANCA circulants, es produeix sota determinats estímuls d'origen inflamatori o infeccions, essent els més reconeguts la molècula de lipopolisacàrid bacterià (LPS) i el factor de necrosi tumoral α (TNF α)^{31,32}.

Avui en dia, tenim evidència suficient per provar la capacitat que tenen, tant els MPO-ANCA com els PR3-ANCA, per induir l'activació dels neutròfils. Probablement, aquesta sigui a través d'una interacció creuada entre la porció variable F(ab')₂ de l'anticòs i l'epítot corresponent del PR3 o del MPO, i la porció constant (Fc) de l'anticòs i el seu receptor (Fc γ RIIIa i Fc γ RIIb) que es troba constitutivament expressat en la membrana dels neutròfils³³. La unió dels ANCA als neutròfils comporta l'inici dels processos d'activació neutrofilica que inclouen, entre d'altres, l'augment de la síntesi d'IL-8 (una interleucina amb acció quimiotàctica específica per a polimorfonuclears i inductora de la fusió de les vacuoles lisosomals amb les vacuoles de fagocitosi) i l'augment de la captació de glucosa per part de les cèl·lules activades³².

La presència d'ANCA a sang perifèrica, sembla distingir dos subtipus clínics de la EGPA. En efecte, la coexistència d'ANCA es correlaciona en sèries històriques amb una major incidència d'afectació renal (en forma de glomerulonefritis ràpidament progressiva), d'afectació del sistema nerviós (einentment en forma de neuropatia perifèrica), d'afectació pulmonar en forma d'hemorràgia alveolar i d'aparició de púrpura. Per altra banda, les formes de EGPA que no presenten positivitat per a ANCA tenen major incidència d'afectació cardíaca i pulmonar (excepte d'hemorràgia alveolar)^{28,29,34}. De fet, aquesta distinció aparent clínicament d'acord amb la presència d'ANCA tradueix un patró diferencial d'afectació histològica: troballes de vasculitis/capilaritis de petits vasos són més freqüents en biòpsies procedents de pacients amb expressió perifèrica d'ANCA, mentre la infiltració tissular perivascular per part d'eosinòfils activats i l'aparició de granulomes rics en eosinòfils són més freqüents en biòpsies de pacients amb negativitat per als ANCA³⁵. Així doncs, avui en dia es considera que la presència d'ANCA en la EGPA constitueix un marcador d'una afectació

de perfil predominantment vasculític i menys derivat de la infiltració d'eosinòfils a nivell dels teixits afectes. Recentment, alguns autors han apuntat la possibilitat d'una base genètica diferent entre les formes d'EGPA amb positivitat per als ANCA i aquelles que no presenten aquest marcador immunològic. En concret, aquesta diferència seria a nivell de l'expressió del gen que codifica la IL-10, una citocina implicada, entre d'altres aspectes, en la diferenciació dels limfòcits T CD4+ *naïf* a un fenotip efector tipus Th2, i que es trobaria sobreexpressat en les formes ANCA-negatives³⁶. Tot i aquesta aparent diferenciació clínica entre subtipus serològics i el possible factor genètic associat, avui en dia no s'ha pogut demostrar diferències a nivell de supervivència o de la resposta a tractament.

La Granulomatosis eosinofílica amb poliangèitis: un paradigma canviant

Tenint en compte les troballes recents i el major grau de coneixement adquirit en relació a l'origen de la malaltia, tot sembla indicar que en la EGPA coexisteixen diversos mecanismes fisiopatològics que depenen de la naturalesa dels factors precipitants, del context immunològic i de la base genètica. Finalment, el dany orgànic clínicament aparent seria la resultant de les sinèrgies entre aquests diferents mecanismes fisiopatològics, ja sigui actuant conjuntament en un mateix moment o de manera diferida en el temps³⁷.

2.3 Relació al·lèrgia-EGPA

Tenint en compte les diferents sèries clíniques publicades de pacients afectes de EGPA, virtualment tots els pacients tenen una història prèvia d'anys d'evolució d'asma d'instauració, generalment, durant l'edat adulta. Sol tractar-se d'un asma amb certa resistència als tractaments de primera línia, amb cursos persistents, més que clarament estacionaris, i que solen acompanyar-se d'una constel·lació de símptomes reconeguts dins de l'esfera al·lèrgica (rinitis, rinoconjuntivitis, poliposis nasal, tamponament nasal...). Per aquest motiu, seguint un criteri fonamentalment empíric com veurem a continuació, s'ha adoptat clàssicament la idea d'un *continuum* fisiopatològic que uniria l'asma al·lèrgica i la EGPA³⁸. Amb aquesta lògica, dins el que es

concep com l'evolució natural de la malaltia, alguns pacients amb asma al·lèrgica, sota diferents estímuls (ambiental, infeccions, toxicològic) i amb una base genètica determinada, desenvoluparien finalment el quadre complet atribuït a la EGPA.

No obstant, aquesta és una concepció més fonamentada en l'observació clínica i l'empirisme que en una anàlisi detallada del substrat fisiopatològic que subjau en les dues entitats clíniques. En efecte, existeix poca evidència sobre el paper de l'al·lèrgia en la EGPA, entenent al·lèrgia com la demostració d'immunoglobulines (Ig) E específiques en front determinats al·lèrgens, i amb una història clínica congruent amb aquesta troballa. Les primeres investigacions daten del 1984, quan Lanham i altres autors van demostrar la positivitat del *prick-test* cutani en 8 pacients d'una sèrie de 10³⁹. No obstant, en aquest treball, no s'especificava quins van ser els al·lèrgens testats. Per altra banda, poc temps després, Hayakawa *et al*, en buscar de manera sistemàtica la presència de IgE específiques en una cohort de pacients amb EGPA, van detectar la seva presència només en la meitat d'ells⁴⁰. Més recentment, s'ha publicat un estudi retrospectiu que analitza amb més detall el *status* al·lèrgic d'un grup de 51 pacients amb EGPA, comparant-lo amb dos grups de pacients asmàtics (encara que sense especificar si es tracta d'asmes al·lèrgics o no al·lèrgics). En efecte, Bottero *et al* demostren que el 27% dels pacients amb EGPA presenten positivitat al *prick-test* cutani, mentre que les cohorts de pacients asmàtics presenten prevalences de positivitat de 53,8% i 54,35% ($p=0,031$ i $p=0,0122$ per a les diferències respecte el grup amb EGPA, respectivament)⁴¹. Per altra banda, la demostració de la presència en sang perifèrica d'IgE específica va ser possible en 27% dels pacients amb EGPA, mentre que en el grup de pacients asmàtics augmentava fins el 65,9% i 65,7% ($p=0,0004$ i $p=0,0008$ per a les diferències respecte el grup amb EGPA, respectivament). Combinant ambdós tests, els autors conclouen que, en el grup de pacients amb EGPA, només el 31,4% dels pacients presenten indicis de sensibilització al·lèrgica contra els antígens testats, mentre que en el grup de pacients asmàtics, els pacients al·lèrgics constitueixen el 67,4% i el 57%, respectivament ($p=0,0004$ i $p=0,007$ en comparació amb EGPA, i $p=0,3424$ comparant els dos grups de pacients asmàtics). Pel que fa a la caracterització de l'al·lèrgen, l'estudi de Bottero *et al* posa de manifest una major prevalença de sensibilització front a l'àcar *Dermatophagoides sp* en el grup de pacients amb EGPA:

68,7% dels pacients amb EGPA i al·lèrgia demostrada, contra 35,5% i 41,4% en els grups asmàtics, amb $p=0,045$ i $p=0,0787$ no significativa. Aquesta troballa contrasta amb una menor prevalença de sensibilització a diferents tipus de pol·len en el grup de EGPA (només un 37,7% enfront 77,4% i 89,6% en els pacients asmàtics, $p<0,01$ en els dos casos), la qual cosa estaria d'acord amb el curs més perenne de la simptomatologia d'estirp al·lèrgica en aquesta malaltia.

D'acord amb la concepció d'una eventual fase prodròmica de naturalesa al·lèrgica, prèvia al desenvolupament complert del quadre compatible amb la EGPA, molts han estat els esforços encaminats a esclarir quins són els mecanismes que determinen l'evolució de la malaltia. En la cohort francesa de pacients amb EGPA, es recull la sospita d'un agent desencadenant de la malaltia en 25 dels 112 pacients inclosos (23%)^{29, 2}, destacant antígens inhalats en 18 pacients (16%), desensibilització al·lèrgica en 5 (5%) i vacunacions en 3 d'ells (3%). Paral·lelament, altres autors han apuntat un possible paper de productes que actuarien com superantígens (SAg), desencadenant la cascada fisiopatològica pròpia de la EGPA⁴². Aquests SAg activarien una determinada població de limfòcits T, portadors d'una cadena V β específica en el seu receptor TCR, la qual cosa provocaria l'expansió oligoclonal d'aquesta població. En efecte, aquesta expansió de poblacions cel·lulars T (sobretot CD8+ i CD4+-Th1), amb clonalitat per una mateixa cadena V β , ha estat ben demostrada tan en sang perifèrica com en mostres tissulars de pacients amb EGPA⁴³. Es considera que aquesta via seria la principal en aquells casos de EGPA que s'han relacionat amb l'administració de vacunes, sobretot enfront el virus de l'Heptatitis B, o amb el tractament de desensibilització al·lèrgica^{44,45,46}.

Si existeix alguns agents causants/d desencadenants que històricament s'ha relacionat amb la EGPA, han estat els antagonistes del receptor dels leukotriens (LTRA, en les seves sigles en anglès), eminentment el zafirlukast i el montelukast^{47,48}. No obstant, després de l'allau de publicacions informant de casos de EGPA de nova aparició després de la introducció de LTRA, es va sospitar que aquest fos en el fons un factor de confusió, ja que tot sovint la introducció del nou fàrmac s'acompanyava d'una reducció de la dosi de corticoides (ja fossin inhalats o via oral) dels pacients asmàtics. Recentment, un estudi realitzat sobre el registre de reaccions adverses a

medicaments de la *Food and Drug Administration* (FDA) americana (*US FDA Adverse Event Reporting System database*) ha aportat una mica més de llum en aquest aspecte⁴⁹. En el període de temps comprès entre 1996 i 2003, es van identificar 181 casos de nou diagnòstic de EGPA amb sospita de causa farmacològica, i, entre ells, en 163 (90%) es recollia la sospita d'almenys un LTRA com a possible desencadenant. Després d'estratificar els casos descrits en diferents grups d'acord amb la possibilitat real d'una causa farmacològica, els autors conclouien que en els dos terços de casos en què es sospitava l'aparició de la malaltia com a secundària a la introducció d'un LTRA, això no es podia atribuir a la reducció de la dosis de corticoides o a l'existència prèvia d'una EGPA en fase incipient. Aquestes troballes, que apuntaven a un paper inequívoc dels LTRA en l'etiologia d'alguns casos de EGPA, contrasten amb els resultats obtinguts per Hauser *et al* en un estudi de casos i controls amb 78 pacients diagnosticats de la malaltia⁵⁰. En aquest treball, els autors informen d'una *Odds Ratio* (OR) per l'aparició de EGPA de 4,5 (IC 95% per OR: 1,5 – 13,9) en els següents 3 mesos després de la introducció del tractament amb LTRA. Però també detectaven OR en rang de risc per la introducció de tractament amb β 2-agonistes de llarga durada (OR=3; IC 95%: 0,8 – 10,5 no significatiu) i amb corticoides sistèmics (OR=4; IC 95%: 1,3 – 12,5, significatiu).

Una eventual relació fisiopatològica entre asma (al·lèrgica o no al·lèrgica) i la EGPA hauria de correspondre's amb la possibilitat de demostrar unes vies immunològiques comunes o evolutives entre les dues entitats nosològiques. En aquest sentit, realment s'ha observat un descens en la síntesi d'IL-2 per part de limfòcits T CD4+CD25- (no reguladors) en els pacients amb EGPA i activitat clínica, quan es compara a pacients amb asma clínicament actiu⁵¹. La importància d'aquesta troballa rau en que la IL-2 es considera un producte essencial per a la inducció perifèrica de limfòcits T amb activitat reguladora (iTreg)⁵². Aquesta troballa reforça el fet que, durant la fase activa de la EGPA, es produeix un descens de la síntesi d'IL-10 i de TGF- β per part de la població de limfòcits T CD4+CD25+ (Treg), la qual cosa no s'observa durant la fase activa de l'asma. Així doncs, es podria plantejar la hipòtesi que el descens de la capacitat de síntesi de IL-2 per part dels limfòcits T no reguladors i, per tant, de la inducció perifèrica de limfòcits Treg, seria un pas crucial en l'evolució cap al desenvolupament complet de la EGPA⁵¹.

3. OBJECTIUS

El treball que aquí presentem, constitueix la primera part d'un estudi més ampli destinat a abordar, des de diferents punts de vista, l'eventual relació entre l'asma de causa al·lèrgica i la Poliangeitis amb Granulomatosis Eosinofílica (EGPA). En aquest primer treball ens centrarem en els aspectes clínics i de laboratori, de cara a intentar establir patrons diferencials entre els pacients amb EGPA i els pacients amb asma de demostrada causa al·lèrgica. Es tracta, finalment, d'aportar l'experiència, fonamentada en la cohort de pacients diagnosticats i seguits en el nostre centre, d'aquest aspecte tan controvertit de la fisiopatologia de la EGPA: l'eventual existència d'un *continuum* fisiopatològic entre l'asma al·lèrgica (també referida com extrínseca) i la EGPA.

Per aquesta finalitat, ens centrarem en aspectes fonamentals de l'anamnesis clínica, conjuntament amb proves serològiques d'obtenció rutinària en un laboratori hospitalari. Es tracta, doncs, d'esbossar les similituds i les diferències entre les dues entitats des d'un punt de vista eminentment clínic. Per a la segona part de l'estudi quedarà l'abordatge de tipus immunològic, centrat en perfils de resposta limfocitària i en el context immunològic.

Així doncs, de manera sintètica, els objectius del present treball són:

- 1) Determinar possibles diferències de tipus clínic entre els grups de pacients amb EGPA i amb asma al·lèrgica.
- 2) Determinar possibles diferències entre els dos grups de pacients en el perfil al·lèrgic, mediat per respostes d'hipersensibilitat tipus I i per la presència d'immunoglobulina E (IgE) específica.
- 3) Determinar, finalment, la plausibilitat d'una possible relació nosològica entre ambdues entitats (EGPA i asma) tenint en compte les troballes anteriors.

4. METODOLOGIA

Es tracta d'un estudi retrospectiu de tipus casos i controls que busca quantificar la prevalença de determinats trets de característiques clíniques i serològiques en dos grups de pacients i, posteriorment, valorar l'existència de diferències estadísticament significatives entre ells. Els dos grups són: a) Un grup de pacients afectes de EGPA; b) Un grup de pacients afectes d'asma al·lèrgica.

4.1 Grup de pacients amb Poliangeitis amb Granulomatosis eosinofílica (EGPA)

Aquest grup prové de la cohort de pacients diagnosticats de EGPA en l'Hospital de la Vall d'Hebron des del 1990 fins el 2012, i seguits en la Unitat de Malalties Sistèmiques Autoimmunitàries del Servei de Medicina Interna. Tots els pacients que formen part d'aquesta cohort compleixen els criteris de classificació establerts per l'*American College of Rheumatology* (ACR)⁵³ i/o els criteris revisats establerts en la definició provinent de la *Chapel Hill Consensus Conference*⁵⁴ de 2012. A continuació es sintetitzen els principals criteris classificatoris d'aquesta entitat:

Criteris classificatoris de l'ACR per a la síndrome de Churg-Strauss (granulomatosis al·lèrgica i angeítis) (1990). Almenys 4 criteris dels següents:

1. Asma: història de dificultat respiratòria o sibil·làncies difuses
2. Eosinofília: >10% en el recompte total de leucòcits
3. Mono o polineuropatia: desenvolupament de mononeuritis, polineuropatia atribuïble a vasculitis sistèmica
4. Infiltrats pulmonars migratoris atribuïbles a vasculitis
5. Anormalitats en sinus paranasals, ja sigui clínica (tamponament, dolor) o radiològica
6. Eosinofília extravasculària a la biòpsia (incloent artèries, arterioles, vènules o presència d'agregats eosinofílics en àrees extravasculàries)

Definició de la Poliangeitis amb Granulomatosis eosinofílica (síndrome de Churg-Strauss) segons els criteris revisats de la *Chapel Hill consensus conference* (2012):

Inflamació granulomatosa necrotitzant rica en eosinòfils que afecta més freqüentment el tracte respiratori, junt amb vasculitis necrotitzant predominantment afectant a mitjà i petit vas, associat a asma i eosinofília perifèrica. Els ANCA són més freqüents en cas de glomerulonefritis.

De la totalitat de la cohort de pacients amb EGPA, aquells que es trobaven en seguiment actiu durant els anys 2011-2013 a la Unitat de Malalties Sistèmiques Autoimmunitàries del Servei de Medicina Interna van ser derivats a la Unitat d'Al·lergologia de l'Hospital de la Vall d'Hebron per completar un estudi al·lèrgic.

En el moment de realitzar-se aquest estudi, es van recollir una sèrie de variables clíniques (temps d'evolució de la malaltia, estat d'activitat de la malaltia, presència i curs de símptomes de tipus al·lèrgic i el tractament vigent, entre d'altres), i es va procedir a un estudi analític bàsic, incloent la determinació d'ANCA. Per a la definició de remissió clínica, es va considerar el criteri marcat per la *European League Against Rheumatism* (EULAR) que s'estableix en l'absència d'activitat de la malaltia, atribuïble a afectació vasculítica secundària a la EGPA, durant almenys 3 mesos, sense que sigui necessari trobar-se sense tractament corticoide⁵⁵. Remarcar en aquest sentit que la clínica bronquial aïllada (sense afectació del parènquima pulmonar) o la patologia rinonconjuntival persistent no es consideren pròpiament activitat de la malaltia.

Finalment, les dades van ser introduïdes a una base de dades construïda a tal efecte amb el suport del gestor de base de dades de *Microsoft Office* (*Access* versió 2007).

4.2 Grup de pacients amb asma al·lèrgica

El grup de pacients afectats d'asma al·lèrgica està integrat per pacients provinents de les consultes de la Unitat d'Al·lergologia de l'Hospital de la Vall d'Hebron. La selecció es va realitzar de manera aleatòria des del dia 3 d'abril del 2013

fins al 30 d'abril del mateix any. Es van excloure els pacients menors de 18 anys i aquells que no presentessin criteris definitoris d'asma d'origen al·lèrgic.

Es va considerar la definició d'asma que contempla una malaltia inflamatòria crònica de la via aèria que cursa amb hiperreactivitat bronquial, provocant un major o menor grau d'obstrucció bronquial al flux aeri i que reverteix ja sigui de manera espontània o gràcies al tractament⁵⁶. Per tant, tots els pacients inclosos en aquest grup, els quals presentaven clínica compatible amb asma, complien almenys un dels criteris espiromètrics essencials en el diagnòstic de l'asma: a) l'increment del Volum Espiratori Forçat en el primer segon (FEV1) de més del 20%, i en tot cas sempre superior a 200mL, després de l'administració de tractament broncodilatador; b) augment de l'obstrucció al flux aeri després de la prova de provocació amb metacolina.

Per establir el *status* d'al·lèrgic, tant del grup de pacients asmàtics com dels pacients amb EGPA, es consideraven dos requisits majors. Per una banda, una història clínica congruent que ha de contemplar l'aparició de la clínica compatible amb al·lèrgia davant l'exposició a l'al·lèrgen. I, per altra banda, cal demostrar la sensibilització en front a algun dels al·lèrgens testats en el nostre medi, d'acord amb l'epidemiologia pròpia de l'espectre al·lèrgic a Catalunya/Barcelona. Aquesta sensibilització es pot posar de manifest mitjançant dues tècniques que no eren excloents en la seva realització:

- 1) Test cutani de provocació amb al·lèrgens (aeroal·lèrgens o al·lèrgens alimentaris, en funció de la història clínica del pacient). Aquest test posa de manifest clínicament l'existència d'una resposta immunològica mediatitzada per IgE i el posterior alliberament de productes de degranulació mastocitària (reacció d'hipersensibilitat tipus I). La bateria estàndard d'aeroal·lèrgens incloïa àcars (*D. pteronyssinus*, *D. farinae*), espores de fongs (*Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, *Cladosporium sp*, *Alternaria sp*), epitelis de gat i gos, i pol·lens varis (xipré, olivera, *platanus*, gramínia, artemisa, *mercurialis* i *parietaria judaica*).
- 2) Demostració en sang perifèrica de l'existència d'IgE específica enfront a un o varis al·lèrgens (aeroal·lèrgens o al·lèrgens alimentaris, sempre en funció de la història clínica del pacient). Aquesta determinació, junt amb la mesura de la

quantitat d'IgE, es realitzava mitjançant la tècnica RAST (*radio-allergo-sorbent test*) duta a terme en el Servei d'Immunologia de l'Hospital de la Vall d'Hebron. Es considerava positiva la presència d'IgE específica a partir de títols de radiació superiors a 0,35 KU/L (unitats de RAST). Els al·lèrgens testats incloïen: 2 àcars de la pols (*Dermatophagoides pteronyssinus* i *Dermatophagoides farinae*), 2 epitelis d'animals (caspa de gat i caspa de gos), 5 pol·lens (herba timotea, gramínies, olivera, *platanus acerifolia* i *parietaria judaica*) i 4 fongs (*Alternaria tenuis*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium notatum* i *Candida albicans*).

En el moment de realitzar-se la inclusió dels pacients amb asma al·lèrgica en aquest estudi es van recollir una sèrie de variables clíniques (temps d'evolució de la malaltia, estat d'activitat de la malaltia, presència i curs de símptomes, entre d'altres), i es va procedir, sempre que va ser possible, a un estudi analític bàsic. Les dades van ser introduïdes a una base de dades construïda a tal efecte amb el suport del gestor de base de dades de *Microsoft Office (Access versió 2007)*.

4.3 Anàlisi estadística

Per a la realització de l'estudi estadístic, es va utilitzar el paquet estadístic STATA® (Texas, versió 12.1). Per a la comparació de proporcions es va utilitzar la prova de la Chi-quadrat de Pearson i per a l'estimació d'interval de confiança la prova exacte de Wilson. Per a la comparació de variables quantitatives es va utilitzar l'anàlisi de la variància o la T de Student, sempre que es complissin els supòsits de normalitat i d'homogeneïtat de variàncies, i, en cas contrari, la prova no paramètrica W de Wilcoxon. Per determinar la normalitat de la distribució de les variables, es va utilitzar el test de Shapiro-Wilk; el test de Levene va ser l'emprat per estimar l'homogeneïtat de variàncies. Per a l'estimació d'interval de confiança de variables quantitatives es va utilitzar l'aproximació normal amb la T de Student. En cada anàlisi estadístic, quedaven exclosos del càlcul els valors absents de la variable. Es van considerar diferències estadísticament significatives a partir de valors $p < 0,05$.

5. RESULTATS

Del total de 37 d'integrants que té la cohort de pacients diagnosticats de EGPA pel Servei de Medicina Interna de l'Hospital de la Vall d'Hebron, 17 van poder ser derivats per a estudi a la Unitat d'Al·lèrgologia. Pel que fa al grup de pacients asmàtics, aquest va estar compost per 23 pacients provinents de les consultes d'Al·lèrgologia i escollits de manera aleatòria. De la majoria de pacients, es va poder obtenir una mostra de sang per a la realització d'una anàlisi convencional i determinació d'IgE total i específica.

5.1 Perfil clínic (taula 1)

Pel que fa a la distribució de gènere d'ambdós grups, destacava una lleu predominança de dones, sense que hi haguessin diferències significatives entre ells (grup EGPA 65%, grup a AA 69,6%, $p=0,481$). On sí que s'observava una diferència significativa fou en l'edat estimada del debut de la malaltia (grup EGPA $55,9\pm 10,1$ anys, grup AA $25,9\pm 9,6$, $p= 0,0011$). Com era d'esperar, el diagnòstic d'EGPA sol produir-se entre la quarta i cinquena dècades de la vida, mentre que la clínica de causa al·lèrgica sol debutar en fases molt més inicials, inclús durant l'edat pediàtrica.

Taula 1

Variable	Total sèrie (n=40)	EGPA (n=17)	Asma al·lèrgic (AA) (n=23)	Valor p
Sexe (num de dones (%))	26 (65)	10 (58,8)	16 (69,6)	0,481*
Edat al diagnòstic (anys)	48,4	55,9±10,1	25,9±9,6	0,0011 ⁺
Història d'asma (%)	100	100	100	
Absència de remissió en el moment d'inclusió (EGPA) (num de pacients (%))	2 (11,1)	2 (12,5)	0	
Clínica bronquial o rinoconjuntival persistent (num de pacients (%))	33 (82,5)	14 (82,4)	19 (82,6)	0,677*
Estacionalitat (% respecte a anterior)	39,4	14,3	57,9	<0,001 *
Tractament amb corticoides (num de pacients (%))	12 (35,3)	11 (68,8)	1 (5,6)	<0,001 *
Tractament immunosupressor	9 (22,5)	7 (41,2)	2 (8,7)	0,015 *

*Obtingut mitjançant el test de la χ^2 de Pearson

+Obtingut mitjançant prova de W de Wilcoxon per a variables no paramètriques

Tot i que només 2 pacients afectes d'EGPA no complien els criteris de remissió clínica de la malaltia, tan aquest grup de pacients com el grup de pacients asmàtics al·lèrgics presentaven prevalences elevades i similars de simptomatologia bronquial o rinoconjuntival persistent malgrat el tractament: grup EGPA 87,5% (IC 95%: 59% - 93,8%), grup AA 82,6% (IC 95%: 62,9% - 93%), $p=0,677$. No obstant, sí que destacava un curs d'aquesta simptomatologia marcadament més perenne en el grup de pacients amb EGPA, mentre que seguia un comportament clarament estacional en més de la meitat de pacients amb AA: 14,3% (IC95%: 4% - 31,5%) de pacients amb clínica persistent tenien un curs estacional en el grup d'EGPA, 58,9% (IC 95%: 36,3% - 76,9%) en el grup AA ($p=0,001$). Aquesta troballa es correspon en gran mesura a l'estacionalitat de la clínica al·lèrgica secundària a al·lèrgens (fonamentalment aeroal·lèrgens) d'aparició estacional. També expressa, en certa manera, que la persistència de la simptomatologia bronquial o rinoconjuntival és deguda, almenys en part, a mecanismes diferenciats entre els dos grups de pacients. El tipus de

simptomatologia referida pels pacients també presentava sensibles diferències entre els dos grups. Dels pacients amb EGPA, 5 (35,7%, IC 95%: 16,3% - 61,2%) presentaven clínica asmàtica persistent, mentre que en el grup amb AA ho referien 9 pacients (47,4%, IC 95%: 27,3% - 68,3%) ($p=0,503$). Dels pacients amb EGPA, 6 (42,9%, IC 95%: 21,4% - 67,4%) referien rinoconjuntivitis, mentre que en el grup amb AA ho patien 14 pacients (73,7%, IC 95%: 51,2% - 88,2%) ($p=0,0738$). Finalment, fins a 6 pacients (42,9%, IC 95%: 21,4% - 67,4%) en el grup d'EGPA referien simptomatologia derivada de la presència de pòlips nasals, mentre que en el grup d'AA ho referien només 2 pacients (10,5%, IC 95%: 2,9% - 31,4%) ($p=0,0319$). Pel que fa al tractament vigent en el moment d'inclusió en l'estudi, existia, com era d'esperar, una major proporció de pacients en el grup d'EGPA que es trobaven amb tractament amb glucocorticoides (dosis mitja de Prednisona diària 12,2mg/dia) i/o que rebien un agent immunosupressor (en el grup d'EGPA: 4 pacients amb Azatrioprina, 2 pacients amb micofenolat i 1 pacient amb Omalizumab –anti-IgE-; en el grup AA: 2 pacients amb Omalizumab). Cal destacar que, tot i que el 70,6% dels pacients amb EGPA estaven rebent tractament específic per a la malaltia per via sistèmica, el 87,5% continuava referint simptomatologia bronquial o rinoconjuntival.

5.2 Perfil serològic (taula 2)

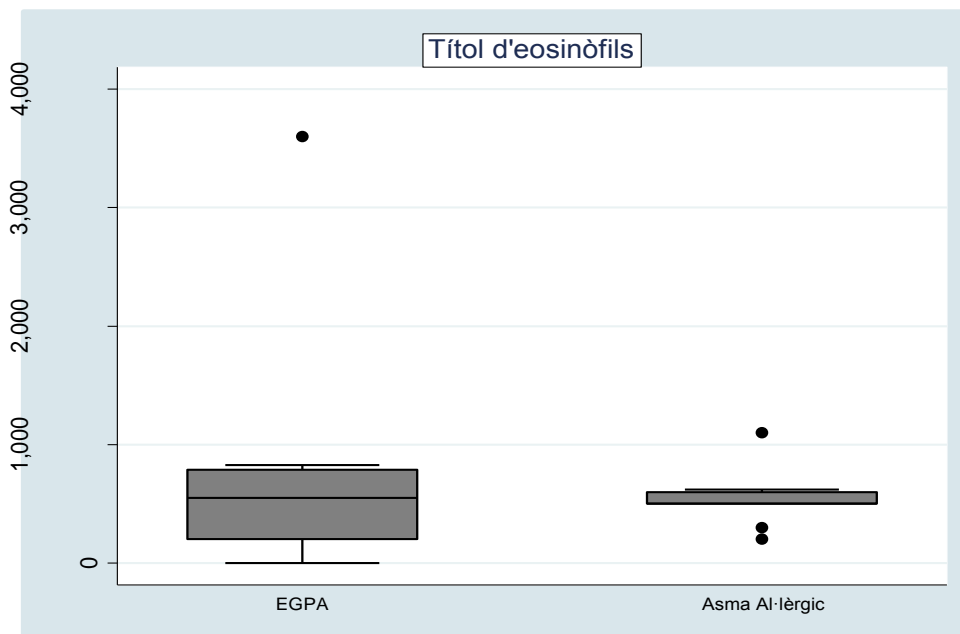
Taula 2

Variable	Total sèrie (n=40)	EGPA (n=17) (mitja±SD)	Asma al·lèrgic (n=23) (mitja±SD)	Valor p
Hemoglobina (g/dL)	13,8±1,1	13,9±1	13,7±1,3	0,6503 ⁺
Leucòcits totals (cell/mm ³)	7.418±2.228,1	7.739,4±2.597,1	5.035,7±1.293,3	0,4964 ⁺
Neutròfils (cell/mm ³)	4.556,4±2.532,1	5.035,7±2.966,7	3.717,5±1.275,8	0,5388 ⁺
Limfòcits (cell/mm ³)	1.597,8±756,9	1.549,7±664	1.688±949,6	0,6746 ⁺
Eosinòfils (cell/mm ³)	617±680,5	662,7±837,4	535,8±250,8	0,9773 ⁺
VSG (mm/h)	14,4±8,3	15±8,1	3±1	0,1520 ⁺
PCR (mg/dL)	0,96±2,14	1,03±2,22	0,08±0,06	0,2844 ⁺
ANCA (%)	28,6*	28,6*	-	-
IgE (U/mL)	260,1±351,8	110,2±98,1	460±463	0,004⁺

*Obtingut només en el grup de pacients amb EGPA

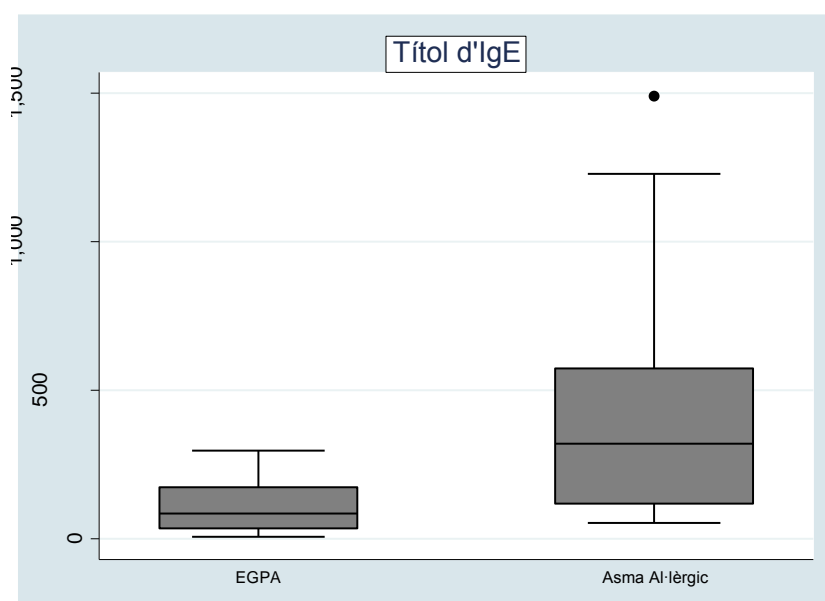
+Obtingut mitjançant prova no paramètrica de W de Wilcoxon per vulneració del principi de homocèstitat

Des d'un punt de vista analític, els dos grups de pacients presentaven resultats similars en les principals poblacions cel·lulars, així com pel que fa als "reactants de fase aguda". Centrant-nos en els eosinòfils, un dels principals efectors cel·lulars com ja ha quedat descrit, ambdues poblacions de pacients presentaven valors baixos de mitja, tot i que amb una important variabilitat (veure gràfic adjunt). Aquesta asimetria en la distribució dels eosinòfils, tant en un grup de pacients com en un altre, pot ser el reflex de la volatilitat i labilitat d'aquesta població cel·lular, ja sigui en resposta a estímuls externs com al tractament farmacològic (eminentment el tractament amb corticoides).



Si considerem xifres elevades d'eosinòfils a partir de 500 cel/mm³, en el grup de pacients amb EGPA ho presentarien el 50% (IC 95%: 24,7% - 75,3%), mentre que en el grup d'AA ho farien el 44,4% (IC 95%: 13,7% - 78,8%) ($p=0,790$). Pel que fa als valors d'IgE, destacava un major títol en els pacients amb asma al·lèrgica en comparació als pacients amb EGPA ($110\pm 98,1$ U/mL en els últims vs 460 ± 463 U/mL en pacients amb AA, $p=0,004$) (veure gràfic adjunt). Aquesta diferència, estadísticament significativa, tradueix el paper preponderat de la immunitat mediatitzada per IgE en la patologia al·lèrgica, al mateix temps que reflecteix un rol menys prominent en la EGPA, almenys durant la fase de remissió clínica, tot i la persistència de simptomatologia bronquial i rinoconjuntival. Considerant títols elevats d'IgE a partir de 140 U/mL, els presentaven el 31,3% (IC 95%: 14,2%-55,6%) dels pacients amb EGPA, mentre que fins al 66,7% (IC

95%: 39,1%-86,2%) dels pacients amb AA tenien títols elevats de IgE a sang perifèrica ($p=0,063$).



5.3 Perfil al·lèrgic (taula 3)

El test cutani per aeroal·lèrgens només va ser positiu en 3 dels pacients diagnosticats d'EGPA (17,7%, IC 95%: 6,2% - 41%), mentre que tots els pacients amb asma al·lèrgica presentaven almenys una reactivitat en el test cutani ($p<0,001$). Dels tres pacients amb EGPA que van mostrar reactivitat al test cutani, 2 ho van fer front a pol·lens i 1 front a fongs (*A. fumigatus* i *P. notatum*). Pel que fa al grup de pacients amb asma al·lèrgica, cap d'ells va presentar reactivitat per a fongs al *prick-test*. En relació a la detecció d'IgE específica en sèrum mitjançant RAST, els resultats van ser similars. Del grup de pacients amb EGPA 2 (11,8%, IC 95%: 3,3% - 34,3%) van obtenir títols significatius, en comparació a 13 pacients (56,5%, IC 95%: 36,8% - 74,4%) en el grup d'asmàtics al·lèrgics ($p=0,004$). En relació al substrat de la IgE específica, en els 2 casos de pacients amb EGPA estava dirigida front *Aspergillus*.

Finalment, si considerem al·lèrgia com la demostració directa o indirecta de la presència d'una IgE específica contra un al·lèrgen, amb clínica congruent, fins a 4 pacients (23,5%) amb EGPA presentaven positivitat al test cutani i/o a la detecció de IgE específica mitjançant RAST ($p<0,001$ en comparació a grup de pacients amb asma al·lèrgica). Dit d'una altra manera, només en el 23,5% (IC 95%: 9,6%-47,3%) dels

pacients amb EGPA es podia objectivar efectivament un substrat al·lèrgic contra els al·lèrgens testats, els quals són els propis de l'àmbit epidemiològic a què correspon la nostra zona geogràfica. Aquesta troballa, però, també sembla recolzar la possibilitat que, almenys en un subgrup de pacients amb EGPA, els mecanismes immuno-al·lèrgics podrien jugarien un paper rellevant.

Taula 3

Variable	Total sèrie (n=40)	EGPA (n=17)	Asma al·lèrgic (n=23)	Valor p
Test cutani positiu (num de pacients (%))	26 (65)	3 (17,6)	23 (100)	<0,001*
Presència d'IgE específica (num de pacients (%))	15 (37,5)	2 (11,8)	13 (56,5)	0,004*
Test cutani positiu o presència d'IgE específica (num de pacients (%))	27 (67,5)	4 (23,5)	23 (100)	<0,001*

*Obtingut mitjançant el test de la χ^2 de Pearson

6. DISCUSSIÓ

La denominació de “granulomatosis al·lèrgica amb angeïtis”, adoptada per l'*American College of Rheumatology* l'any 1990⁵³, instituïa formalment en l'imaginari de la comunitat mèdica i científica la necessària relació entre els processos al·lèrgics i la EGPA. Com hem vist anteriorment, en efecte, aquestes dues malalties comparteixen, no ja signes i símptomes clínics, si no també vies de resposta immunològica i cèl·lules efectores comunes. En aquest sentit, no obstant, mentre el mastòcit té un rol principal en la immunitat de tipus al·lèrgic, essent l'efector final de la resposta clínica observada (reaccions d'hipersensibilitat tipus I), el seu paper en la EGPA seria més aviat com iniciador i potenciador de la resposta eosinofílica. En efecte, en un treball recent amb ratolins⁵⁷, on s'emprava la reacció d'Arthus, en la seva variant cutània inversa passiva, infiltrant IgE anti-trinitrofenil a nivell intradèrmic, s'induïa a les 24h un fenomen de vasculitis ric amb eosinòfils. El pic d'eosinòfils, que es produïa a les 24h de la injecció, sempre es precedia d'un pic d'infiltració mastocitària després de 4-8h de l'administració de l'anticòs IgE. Tant interessant com aquestes troballes és el fet que la reacció eosinofílica no s'induïa, sí ho feia la mastocitària, quan l'anticòs injectat era de tipus IgG. Per tant, és inequívoc que la immunitat mediatitzada per IgE juga un paper fonamental tant en l'asma al·lèrgica com en la EGPA. Fonamental, sens dubte, però segurament no coincident. A grans trets, i tornant a l'estudi descrit anteriorment, el mecanisme pel qual la IgE induiria una vasculitis rica en eosinòfils en la EGPA seria a través d'una reacció d'hipersensibilitat tipus IV, mediatitzada per immunocomplexes, mentre que les reaccions de tipus al·lèrgic corresponen, en gran major part, a reaccions d'hipersensibilitat tipus I. En el primer dels casos, es tracta d'una reacció diferida i complexa amb participació i interrelació de diferents tipus cel·lulars i moleculars, mentre que la segona consisteix en la degranulació immediata dels mastòcits recoberts d' IgE.

A nivell clínic, també semblen existir importants diferències entre les poblacions d'ambdues malalties. Tal i com hem vist en aquest treball, els pacients amb EGPA es caracteritzen per una edat més tardana d'instauració de la simptomatologia i aquesta, quan es tracta sobretot de l'afectació bronquial o rinoconjuntival, sol ser de curs més perenne: 14,3% (IC95%: 4% - 31,5%) presenten curs estacional en el grup

amb EGPA, 57,9% ho fan en el grup amb asma al·lèrgica (IC 95%: 36,3%-76,9%). Però ambdós grups es caracteritzen per prevalences molt elevades de simptomatologia persistent tot i rebre el tractament ajustat a cada malaltia: 82,4% en els pacients amb EGPA (IC 95%: 59%-93,8%), 82,6% (IC 95%: 62,9%-93%) en els pacients amb asma al·lèrgica. En el cas de la EGPA, l'elevada prevalença d'afectació persistent es produeix tot i que el 68,8% dels pacients seguien corticoteràpia sistèmica a dosis mitges de 12,2mg/dia, un fet que recalca la complexitat de les interaccions immunològiques en la EGPA. Per la seva banda, la clínica al·lèrgica destaca per la bona resposta al tractament corticoide sistèmic, el qual, per aquest motiu, es reserva per afectacions de més severitat.

En relació a aspectes del tractament, i aprofundint encara més en el rol diferencial de la IgE en les dues malalties, cal fer esment al tractament amb omalizumab (anticòs monoclonal anti-IgE). En la nostra sèrie, una pacient amb EGPA estava rebent aquest tractament arran de simptomatologia asmàtica greu persistent a pesar de rebre diferents tractaments (aquesta és la principal indicació clínica en l'asma de tipus al·lèrgic). Tot i que la literatura mèdica recull resultats favorables de l'administració d'omalizumab en la EGPA^{58,59}, recentment han aparegut treballs que alerten sobre el desencadenament de formes greus de EGPA després de l'administració d'aquest fàrmac, tant en pacients amb diagnòstic previ, com en diagnòstics *de novo*^{60,61}. El paper controvertit, doncs, de la terapèutica anti-IgE posa de nou de manifest el paper diferencial de la immunitat per IgE en les dues malalties. La base racional de l'administració del tractament amb omalizumab és una marcada elevació de la IgE durant la fase activa d'ambdues malalties. En el nostre estudi, en el qual només 2 pacients amb EGPA presentaven signes d'absència de remissió de la malaltia, el 31,3% (IC 95%: 14,2%-55,6%) dels pacients continuava tenint títols elevats d'IgE (>140 u/mL), però en el grup d'asmàtics al·lèrgics, aquest fet s'observava en el 66,7% dels casos (IC 95%: 39,1%-86,2%) (p=0,063). No obstant, quan consideràvem els títols d'IgE mesurats per RAST, s'observava una diferència significativa de 349,9 U/mL (IC 95%: 106,3-593,4 U/mL) a favor dels pacients amb asma al·lèrgica (p=0,004).

Pel que fa al títol d'eosinòfils, es va observar una lleu tendència del EGPA a presentar títols més elevats, tot i que no fou estadísticament significativa: diferència

de 127 cell/mm³ (IC 95%: -469,8 - 723,6 cell/mm³). Un estudi anterior⁴¹ sí que observava diferències significatives entre un grup de pacients amb EGPA i un grup de pacients asmàtics (2440 cells/mm³ – IC 95%: 1462–8181- en EGPA, front 1048 cells/mm³ –IC 95%: 865–1402- en grup asmàtic, $p < 0,001$), però aquestes semblaven totalment atribuïbles a l'estat de l'activitat de la malaltia. En efecte, en el nostre grup de pacients amb EGPA, la majoria es trobaven en remissió clínica de la malaltia i en tractament amb corticoides, per tant era d'esperar la troballa de títols baixos d'eosinòfils a sang perifèrica. Tot així, el 50% dels pacients amb EGPA (IC 95%: 24,7% - 75,3%) presentaven títols elevats a sang perifèrica (>500 cell/mm³); mentre que en el grup de pacients amb AA ho presentava el 44,4% (IC 95%: 13,7% - 78,8%) (diferència no significativa).

Si considerem al·lèrgia com la reacció immunològica mediatitzada per IgE unida a mastòcits que produeix l'alliberació de llurs productes d'activació, cal demostrar l'existència d'una IgE específica contra un al·lèrgen. Aquesta demostració es pot fer de manera directa a través de la tècnica RAST o de manera indirecta mitjançant un test cutani (*prick-test*). Per tant, per establir el diagnòstic d'asma al·lèrgica, més enllà dels patrons espiromètrics, cal definir el patró de sensibilització. Igualment, si es considera que la EGPA ha de tenir un substrat al·lèrgic, s'ha de poder detectar l'existència de IgE específica, igual com l'alliberació de productes mastocitaris davant l'exposició a l'al·lèrgen. Dels 3 pacients amb EGPA que van testar positiu al test cutani, només en un d'ells es va poder establir una correspondència amb la detecció d'IgE específica (*Aspergillus*), mentre que un altre pacient va presentar positivitat per *Aspergillus fumigatus* al RAST, sense demostrar-se en el *prick-test* cutani. La participació de l'*Aspergillus sp* en la patogènia de la EGPA és un tema controvertit, ja que hi ha autors que apunten un possible paper de la colonització pulmonar per *Aspergillus sp* en els pacients asmàtics com a desencadentant de la síndrome completa corresponent a la EGPA. No obstant, a dia d'avui, no hi ha evidència convincent en aquest sentit.

El patró de sensibilització segons el test cutani també va mostrar diferències significatives entre els dos grups testats, i és que cap dels pacients en el grup d'asma al·lèrgica va presentar sensibilització front a fongs, mentre que un pacient dels 3 del grup amb EGPA sí ho va fer. Aquests resultats contrasten visiblement amb els

obtinguts per Bottero *et al*⁴¹, en què aquest grup obté una prevalença relativa d'IgE específica per *Dermatophagoides sp* del 68,7% entre els pacients amb EGPA sensibilitzats (11 pacients de 16), que resulta ser estadísticament significativa en comparació a un dels grups de pacients asmàtics (8 de 31, 35,5%, $p=0,0045$). En el nostre grup de pacients amb EGPA, no es va demostrar la presència d'IgE específica per *Dermatophagoides sp* en cap dels 17 pacients. Combinant els resultats provinents del test cutani i de la detecció d'IgE per RAST, en el 23,5% (IC 95%: 9,6%-47,3%) dels pacients diagnosticats d'EGPA es podia detectar una sensibilització mediatitzada per IgE i, per tant, podrien ser qualificats d'al·lèrgics. Aquests resultats són equiparables als de l'estudi de Bottero *et al*, on documenten un substrat al·lèrgic en el 31,4% dels pacients amb EGPA (IC 95%: 20,3% - 45%)⁴¹.

Les principals limitacions d'aquest estudi provenen, per una banda, de la raresa de la malaltia en qüestió. La taxa d'incidència tan baixa de la EGPA ens obligaria a treballar de manera multicèntrica per aconseguir aproximacions més justes. Per altra banda, es tracta d'un estudi retrospectiu, la qual cosa comporta certa prudència de cara a la validesa dels resultats. En el nostre cas, a més, el criteri clínic dels metges de referència en cada una de les patologies ha imperat en tot moment a l'hora de sol·licitar les diferents proves complementàries.

7. CONCLUSIONS

La Poliangeitis amb Granulomatosi eosinofílica (EGPA) i l'asma al·lèrgica, comparteixen similituds clíniques i serològiques. Ambdues es caracteritzen per clínica persistent en molts casos a pesar del tractament estàndard, fonamentalment com rinoconjuntivitis i clínica bronquial. Des d'un punt de vista serològic, durant les fases de remissió clínica, les poblacions cel·lulars no presenten diferències significatives, tot i que destaquen nivells més elevats d'IgE en l'asma al·lèrgica. No obstant, les reaccions immunoal·lèrgiques, el substrat immunològic de l'asma al·lèrgica, no semblen intervenir en la fisiopatologia de la majoria dels casos de EGPA, tot i que hi ha al voltant d'un 30% de pacients en què es pot demostrar una sensibilització de tipus al·lèrgic. El paper de la IgE en la EGPA, doncs, probablement tingui uns trets diferencials en relació a la patologia al·lèrgica o aquest sigui modulats per altres efectors o reguladors immunològics. Tant és així que inclús en el subgrup de pacients amb EGPA que presenten sensibilització al·lèrgica, aquesta podria no jugar un paper rellevant en la fisiopatologia de la malaltia. De fet, fins a dia d'avui, no s'ha plantejat l'existència de subgrups clínics en funció de la sensibilització a al·lèrgens, i és del tot desconegut si existeixen trets clínics o de pronòstic diferencials. Aprofundir en el coneixement de la fisiopatologia de la Poliangeitis amb Granulomatosis Eosinofílica implicarà, tard o d'hora, abordar tots aquests aspectes de manera crítica i rigorosa.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Churg J, Strauss L. Allergic granulomatosis, allergic angiitis and periarteritis nodosa. *Am J Pathol* 1951; 27:277-301.
2. Samson M, et al., Long-term outcomes of 118 patients with eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss syndrome) enrolled in two prospective trials, *Journal of Autoimmunity* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaut.2013.03.003>
3. Solans R, Bosch JA, Pérez-Bocanegra C, Selva A, Huguet P et al. Churg-Strauss syndrome: outcome and long-term follow-up of 32 patients. *Rheumatology* 2001; 40: 763-771
4. Tervaert JW, Limburg PC, Elema JD, Huitema MG, Horst G, The TH, et al. Detection of autoantibodies against myeloid lysosomal enzymes: a useful adjunct to classification of patients with biopsy-proven necrotizing arteritis. *Am J Med* 1991;91(1):59-66.
5. Millet A, Pederzoli-Ribeil M, Guillevin L, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitides: is it time to split up the group? *Ann Rheum Dis* Published Online First: 20 April 2013. doi:10.1136/annrheumdis-2013-203255
6. Jenette JC, Falk RJ, Adrassy K et al. Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 187-192
7. Hellmich B, Ehlers S, Csernok E, Gross WL. Update on the pathogenesis of Churg-Strauss syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21 (Suppl. 32): 69-77
8. Zwerina J, Axmann R, Jatzwauk M, Sahinbegovic E, Polzer K et Schett G. Pathogenesis of Churg-Strauss síndrome: recent insights. *Autoimmunity* 2009; 42(4): 376-379
9. Polzer K, Karonitsch T, Neumann T, Eger G, Haberler C, Soleiman A, et al. Eotaxin-3 is involved in Churg-Strauss syndrome – a serum marker closely correlating with disease activity. *Rheumatology* 2008; 47: 804-808

10. Kiene M, Csernok E, Muller A, Metzeler C, Tranbandt A, Gross WL. Elevated interleukin-4 and interleukin-13 production by T cell lines from patients with Churg-Strauss syndrome. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 469-473
11. Tsukadaira A, Okubo Y, Kitano K et al. Eosinophil active cytokines and surface analysis of eosinophils in Churg-Strauss syndrome. *Allergy Asthma Proc* 1999; 20: 39-44
12. Terrier B, Bièche I, Maisonobe T, Laurendeau I, Rosenzweig M, Kahn JE et al. Interleukin-25: a cytokine linking eosinophils and adaptive immunity in Churg-Strauss syndrome. *Blood* 2010; 116 (22): 4523-4531
13. Conroy DM, Williams TJ. Eotaxin and the attraction of eosinophils to the asthmatic lung. *Respir Res* 2001; 2: 150-156
14. Dewson G, Cohen GM, Waridaw AJ. Interleukin-5 inhibits translocation of Bax to the mitochondria, cytochrome c release, and activation of caspases in human eosinophils. *Blood* 2001; 98: 2239-22-47
15. Barratt S. Mepolizumab in corticosteroid-resistant eosinophilic asthma. *Thorax*. 2009 Jun; 64(6): 552
16. Assa'ad AH, Gupta SK, Collins MH, Thomson M, Heath AT, Smith DA, et al. An antibody against IL-5 reduces numbers of esophageal intraepithelial eosinophils in children with eosinophilic esophagitis. *Gastroenterology* 2011; 141(5):1593-604
17. Moosig F, Gross WL, Herrmann K, Bremer JP, Hellmich B. Targeting interleukin-5 in refractory and relapsing Churg-Strauss syndrome. *Ann Intern Med*. 2011 Sep 6;155(5):341-3
18. Schönermarck U, Csernok E, Trabandt A, Hansen H, Gross WL. Circulating cytokines and soluble CD23, CD26 and CD30 in ANCA-associated vasculitides. *Clin Exp Rheumatol* 2000; 18: 457-463
19. Flood-Page PT, Menzies-Grow AN, Kay AB, Robinson DS. Eosinophil's role remains uncertain as anti-interleukin-5 only partially depletes numbers in asthmatic airway. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 199-204

20. Lloyd CM, Delany T, Nguyen T, Tian J, Martinez AC, Coyle AJ, Gutiérrez-Ramos JC. CC chemokine receptor (CCR)3/eotaxin is followed by CCR4/monocyte-derived chemokine in mediating pulmonary T helper lymphocyte type 2 recruitment after serial antigen challenge in vivo. *J. Exp Med* 2000; 191:265-273
21. Ravensberg AJ, Ricciardolo FL, van Schadewijk A et al. Eotaxin-2 and eotaxin-3 expression is associated with persistent eosinophilic bronchial inflammation in patients with asthma after allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 779-785
22. MacLean JA, Ownbey R, Luster AD. T cell-dependent regulation of eotaxin in antigen-induced pulmonary eosinophilia. *J Exp Med* 1996, 184:1461–1469
23. Cua DJ, Sherlock J, Chen Y, Murphy CA, Joyce B et al. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature* 2003; 421: 744–748
24. Jäger A et Kuchroo VK. Effector and regulatory T-cell subsets in autoimmunity and tissue inflammation. *Scandinavian J of Immunol* 2010; 72: 173-184
25. Saito H, Tsurikisawa N, Tsuburai T, Oshikata C, Akiyama K. Cytokine production profile of CD4+ T cells from patients with active Churg-Strauss syndrome tends toward Th17. *Int Arch Allergy Immunol* 2009; 149 (Suppl 1): 61-65
26. Veldman C, Nagel A et Hertl M. Type 1 regulatory T cells in autoimmunity and inflammatory diseases. *Int Arch Allergy Immunol* 2006; 140: 174-183
27. Saito H, Tsurikisawa N, Tsuburai T, Oshikata C, Akiyama K. The proportion of regulatory T cells in the peripheral blood reflects the relapse or remission status of patients with Churg-Strauss syndrome. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 155(Suppl 1): 46-52
28. Sinico RA, Di Toma L, Maggiore U, Bottero P, Radice A, et al. Prevalence and clinical significance of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies in Churg-Strauss Syndrome. *Arthritis Rheum* 2005; 52 (9): 2926-2935)

29. Sable-Fourtassou R, Cohen P, Mahr A, Pagnoux C, Mouthon L, et al. Antineutrophil Cytoplasmic antibodies and the Churg-Strauss-Syndrome. *Ann Intern Med* 2005; 143: 632-638
30. Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood* 1998; 92: 3007-3017
31. Csernok E, Ernst M, Schmitt W, Bainton DF, Gross WL. Activated neutrophils express proteinase 3 on their plasma membrane in vitro and in vivo. *Clin Exp Immunol* 1994; 95: 244-250
32. Hsieh SC, Yu HS, Cheng SH, Li KJ, Lu MC, Wu CH et al. Anti-myeloperoxidase antibodies enhance phagocytosis, IL-8 production, and glucose uptake of polymorphonuclear neutrophils rather than anti-proteinase 3 antibodies leading to activation-induced cell death of neutrophils. *Clin Rheumatol* 2007; 26: 216-224
33. Porges AJ, Redeccha PB, Kimberly WT, Csernok E, Gross WL, Kimberly RP. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies engage and activate human neutrophils via Fc gamma RIIa. *J Immunol* 1994; 153: 1271-1280.
34. Keogh KA, Specks U. Churg-Strauss síndrome: clinical presentation, antineutrophil cytoplasmic antibodies, and leukotriene receptor antagonists. *Am J Med* 2003; 115: 284-290.
35. Oka N, Kawasaki T, Matsui M, Shigematsu K, Unuma T, Sugiyama H. Two subtypes of Churg-Strauss syndrome with neuropathy: the role of eosinophils and ANCA. *Mod Rheumatol* 2011; 21: 290-295.
36. Wieczorek S, Hellmich B, Arning L, Moosig F, Lamprecht P, Gross WL et al. IL-10 genetic variations in ANCA- negative Churg-Strauss Syndrome but not with Wegener's Granulomatosis. *Arthritis Rheum* 2008; 58 (6): 1839-1848.
37. Ramentol-Sintas M, Martínez-Valle F, Solans-Laqué R. Churg-Strauss Syndrome: an evolving paradigm. *Autoimmune Rev* 2012; 12 (2): 235-240.

38. Guillevin L, Cohen P, Gayraud F, Lhote F, Jarrousse B, Casassus P: Churg-Strauss syndrome: clinical study and long-term follow-up of 92 patients. *Medicine* 1999;78:26–37.
39. Lanham JG, Elkon KB, Pusey CD, Hughes GR. Systemic vasculitis with asthma and eosinophilia: a clinical approach to the Churg-Strauss syndrome. *Medicine (Baltimore)* 1984;63(2):65-81.
40. Hayakawa, Sato A, Yagi T, Shimizu T, Miyajima H, Taniguchi M et al. [Clinical Features and prognosis of Churg-Strauss syndrome]. *Nihon Kyobu shikkan Gakkai Zasshi* 1993; 31 (1): 59-64.
41. Bottero P, Bonini M, Vecchio F, Grittini A, Patrino GM, Colombo B, et al. The common allergens in the Churg-Strauss syndrome. *Allergy* 2007;62(11):1288-94.
42. Rolla G, Guida G, Heffler E. Churg-Strauss syndrome: still a clinical challenge. *Expert Rev. Clin. Immunol* 2007; 3 (6): 833-837.
43. Müschen M, Warskulat U, Perniok A et al. Involvement of soluble CD95 in Churg-Strauss syndrome. *Am J Pathol* 1999; 155: 915-925.
44. Vanoli M, Scorza R et al. A case of Churg-Strauss vasculitis after hepatitis B vaccination. *Ann Rheum Dis* 1998; 57: 256-257.
45. Serna-Candel C, Moreno-Verez O, Soriano V et al. Churg-Strauss syndrome triggered by hyposensitization to *Alternaria* fungus. *Clin Rheumatol* 2007; 26: 2195-2196.
46. Masjedi MR, Tafti SF, Cheraghvandi A et al. Churg-Strauss syndrome following cessation of allergic desensitization vaccination: a case report. *Journal of Medical Case Reports* 2010; 4: 188.
47. Knoell DL, Lucas J, Allen JN. Churg-Strauss syndrome associated with zafirlukast. *Chest*. 1998 Jul; 114(1):332-4.

48. Solans R, Bosch JA, Selva A, Orriols R, Vilardell M. Montelukast and Churg-Strauss síndrome. *Thorax* 2002; 57 (2): 183-185.
49. Bibby S, Healy B, Steele R, Kumareswaran K, Nelson H, Beasley R. Association between leukotriene receptor antagonist therapy and Churg-Strauss syndrome: an analysis of the FDA AERS database. *Thorax* 2010; 65: 132-138
50. Hauser T, Mahr A, Metzler C, Coste J, Sommerstein R, Gross WL, Guillevin L, Hellmich B The leucotriene receptor antagonist montelukast and the risk of Churg-Strauss syndrome: a case-crossover study. *Thorax* 2008; 63 (8):677-82.
51. Saito H, Tsurikisawa N, Tsuburai T, Oshikata C, Akiyama K. Involvement of regulatory T cells in the pathogenesis of Churg-Strauss syndrome. *Int Arch Allergy Immunol* 2008; 146 (Suppl 1): 73-76
52. Langier S, Sade K, Kivity S. Regulatory T cells: the suppressor arm of the immune system. *Autoimm Rev* 2010; 10: 112-115
53. Masi AT, Hunder GG, Lie JT, Michel BA, Bloch DA, Arend WP, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Churg-Strauss syndrome (allergic granulomatosis and angiitis). *Arthritis Rheum* 1990; 33: 1094-100.
54. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, et al. 2012 revised international Chapel Hill consensus conference nomenclature of vasculitides. *Arthritis Rheum* 2013; 65: 1-11.
55. Hellmich B, Flossmann O, Gross WL, Bacon P, Cohen-Tervaert JW, Guillevin L, et al. EULAR recommendations for conducting clinical studies and/or clinical trials in systemic vasculitis: focus on anti-neutrophil cytoplasm antibody associated vasculitis. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 605-17.
56. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Revised 2002. NIH Publication No 02-3659. National institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute

57. Ishii T, Fujita T, Matsushita T, Yanaba K, Hasegawa M, Nakashima H, et al. Establishment of Experimental Eosinophilic Vasculitis by IgE-Mediated Cutaneous Reverse Passive Arthus Reaction. *Am J Pathol*. 2009 June; 174(6): 2225-2233
58. Giavina-Bianchi P, Giavina-Bianchi M, Agondi R *et al*. Administration of anti-IgE to a Churg-Strauss syndrome patient. *Int. Arch. Allergy Immunol*. 2007; 144: 155–8
59. Pabst S, Tiyerili V, Grohe C. Apparent response to anti-IgE therapy in two patients with refractory ‘forme fruste’ of Churg–Strauss syndrome. *Thorax* 2008; 63: 747–8
60. Wechsler ME, Wong DA, Miller MK *et al*. Churg-Strauss syndrome in patients treated with omalizumab. *Chest* 2009; 136: 507–18
61. Lau EM, Cooper W, Bye PT and Yan K. Difficult asthma and Churg-Strauss-like syndrome: a cautionary tale. *Respirology* 2011; 16: 180-181