

18. Lawrence RA, Allen JE, Gregory WF, Kopf M, Maizels RM. Infection of IL-4 deficient mice with the parasitic nematode *Brugia malayi* demonstrates that host resistance is not dependent on a Th2 dominated immune response. *Journal of Immunology* 1995; 154: 5995-6001.
19. Else KJ, Finkelman FD, Maliszewski CR, Grencis RK. Cytokine-mediated regulation of chronic intestinal helminth infection. *Journal of Experimental Medicine* 1994; 179: 347-351.
20. Nawa Y, Ishikawa N, Tsuchiya K, et al. Selective effector mechanism for the expulsion of intestinal helminths. *Parasite Immunology* 1994; 16: 333-338.

Ned Tijdschr Klin Chem 1996; 21: 216-218

Chronische myeloïde leukemie: recente ontwikkelingen op het gebied van pathogenese, diagnostiek en behandeling met behulp van interferon of intensieve chemotherapie

J.J. CORNELISSEN

Pathogenese

Chronische myeloïde leukemie (CML) is een maligniteit uitgaande van hematopoïetische stamcellen, waarbij alle cellijnen kunnen zijn aangedaan. Kenmerkend is het reeds in de zestiger jaren beschreven afwijkende chromosoom 22 (Philadelphia chromosoom), welke afwijking het gevolg is van een reciproke translocatie tussen chromosoom 9 en 22. Hierbij ontstaat een chimeer oncogen (BCR-ABL), dat enerzijds bestaat uit delen van het c-ABL gen (afkomstig van chromosoom 9), dat codeert voor een tyrosine kinase enzym, en anderzijds uit een BCR-deel afkomstig van chromosoom 22. Indien het chimere oncogen experimenteel wordt ingebracht in het DNA van gezonde hematopoïetische stamcellen, ontstaat een op CML gelijkende proliferatie (1). Een oorzakelijk verband tussen het eiwitproduct van het BCR/ABL oncogen en CML is daarmee aannemelijk gemaakt. Dit chimere eiwit (P210) vertoont een verhoogde tyrosine-kinase activiteit, die waarschijnlijk verklaard wordt door een interactie van het enzym met het eiwitdeel waarvoor BCR codeert. Zowel de verhoogde tyrosine-kinase activiteit als een aantal andere eigenschappen vanuit het BCR-deel (2), waaronder activatie van de ras-pathway en van het oncogen c-myc, lijken verantwoordelijk voor de toegenomen proliferatie en differentiatie. De voor onbehandelde CML typische transformatie naar een blastaire fase gaat vaak gepaard met additionele afwijkingen aan oncogenen, waarbij ook mutaties of deleties aan het P53 proto-oncogen beschreven zijn (3).

Behandeling

Hydroxyureum en Interferon- α

De enige curatieve behandeling tot op heden is een beenmergtransplantatie met beenmerg van een geschikte (bij voorkeur verwante) allogene donor (4). Echter deze behandelingsvorm is slechts voor een minderheid ($\pm 20\%$) beschikbaar, enerzijds als gevolg van het ontbreken van een geschikte donor en anderzijds doordat de meeste patiënten bij presentatie boven de 50-60 jaar zijn. Patiënten die niet voor een allogene BMT in aanmerking komen, worden momenteel behandeld met hydroxyureum en/of alfa-interferon (IFN- α). Hydroxyureum verdient de voorkeur boven busulfan, daar een gunstig effect op de overleving in een gerandomiseerde studie kon worden aangetoond (5). Daarnaast is hydroxyureum gemakkelijker te doseren, ontstaan minder langdurige cytopenieën, en kan busulfan-gebruik soms gecompliceerd worden door longtoxiciteit.

Ook behandeling met IFN- α heeft een gunstig effect op de overleving. Inmiddels zijn de resultaten bekend van 3 grote gerandomiseerde studies, waar een duidelijk gunstig effect van IFN- α uit naar voren komt. In een Italiaanse studie (6) werden 332 patiënten in een 1:2 verhouding gerandomiseerd tussen IFN- α en conventionele chemotherapie bestaande uit of hydroxyureum of busulfan. Tweehonderd en achttien patiënten in 1^e chronische fase werden behandeld met IFN- α en 104 patiënten kregen conventionele chemotherapie. Het tijdsinterval vanaf randomisatie tot acceleratie/transformatie was significant langer in de interferon-groep (mediaan: >72 vs 45 maanden; $p < 0.001$) evenals de mediane overleving (72 vs 52 maanden; $p < 0.002$). Het gunstigste effect van interferon- α op de overleving was het meest uitgesproken in een kleine groep van patiënten (19%), die een complete dan wel "major" cytogenetische response bereikten (> 65% Philadelphia-negatieve metafasen). Deze kleine groep kon niet met de bekende prognos-

Afdeling hematologie, Dr. Daniel den Hoed Kliniek, Rotterdam

Correspondentie: Dr. J.J. Cornelissen, Internist-Hematoloog, Dr. Daniel den Hoed Kliniek, Groene Hilledijk 301, 3075 EA Rotterdam.

tische factoren geïdentificeerd worden (waaronder de Sokal-score). Echter, een complete hematologische respons ging in alle gevallen vooraf aan een cytogenetische respons.

Recent zijn de resultaten van de Britse MRC-studie bekend gemaakt (7). Ook in deze studie werd interferon- α vergeleken met conventionele chemotherapie (busulfan/hydroxyureum). In grote lijnen bevestigt de Engelse studie de eerdere Italiaanse resultaten. De mediane overleving was significant langer in de interferon- α groep (mediaan: 60 vs 39 maanden; $p = 0.0005$) en ook hier kon een kleine groep patiënten (15%) geïdentificeerd worden met een zeer goede overleving (90% survival na 5 jaar en in blijvende chronische fase). Het enige duidelijke kenmerk van deze groep was de goede cytogenetische respons, terwijl de bekende prognostische factoren niet van waarde bleken. Een derde studie werd in Duitsland verricht, waarbij in 3 armen interferon- α werd vergeleken met afzonderlijk hydroxyureum of busulfan (8). De overleving van de met interferon- α en hydroxyureum behandelde patiënten bleek significant langer dan de met busulfan behandelde patiënten. Echter in tegenstelling tot de MRC en Italiaanse studie werd geen verschil tussen interferon- α en hydroxyureum gevonden. Een mogelijk verklaring zou een lagere interferon- α dosering kunnen zijn. Een dosis-effect relatie lijkt voor IFN- α aannemelijk. Dosis aanpassingen bleken veelvuldig voor te komen naar aanleiding van toxiciteit, waaronder een influenza-achtig syndroom, misselijkheid en anorexie, leverfunctiestoornissen, polyneuropathie, verwardheid en depressie. Het vraagstuk van de dosis-effect relatie is onderwerp van studie in de huidige HOVON-20 studie.

Het werkingsmechanisme van IFN- α is nog niet geheel opgehelderd. Wel lijkt langzamerhand duidelijk te worden dat de gunstige effecten van interferon niet langs immunologische weg worden gemedieerd, maar door de inductie van genen, die betrokken zijn bij remming van celgroei en wel de overgang van de G1 naar S-phase. Een belangrijke transcriptie factor daarbij is IRF-1 (interferon regulatory factor-1), die een aantal genen activeert, die de celproliferatie remmen (9, 10).

Intensieve chemotherapie

Meer intensieve chemotherapie is in het verleden met weinig succes toegepast bij CML-patiënten, die een blastaire transformatie ontwikkelden. Remissies lijken haalbaar, maar leveren slechts een kort ziekte-vrij interval op. Intensieve (AML-achtige) chemotherapie wordt dan ook alleen toegepast bij transformatie, indien een remissie direct gevolgd kan worden door een allogene transplantatie. Naast de allogene transplantatie, die slechts voor een minderheid van de patiënten beschikbaar is, wordt momenteel gewerkt aan de ontwikkeling van autologe stamceltransplantatie in chronische fase CML. Intensieve chemotherapie heeft daarbij als doel om bij repopulatie na leukopenie gezonde stamcellen te oogsten uit het perifere bloed door middel van fereses (11). Indien een dergelijke behandeling vroeg in de chronische fase plaats vindt, lijkt het mogelijk om normale (Philadelphia-

negatieve) stamcellen te verzamelen. Deze stamcellen kunnen dan in een later stadium na een ablatieve behandeling als autoloog transplantaat gereïnfundeerd worden. Een recente retrospectieve analyse van autologe BMT bij 200 patiënten uit 8 verschillende centra toonde een overleving van $\pm 60\%$ na 5 jaar (12). Ten opzichte van een historische controle-groep behandeld met IFN- α en/of hydroxyureum lijkt dit relatief gunstig. Momenteel richt men zich bij de ontwikkeling van de autologe stamceltransplantatie op die patiënten, die geen allogene donor hebben en geen complete of major respons na IFN- α behandeling.

Moleculaire diagnostiek

Naast de cytogenetische analyse van beenmerg is het gebruik van de polymerase ketting reactie voor het aantonen van het BCR/ABL oncogen een belangrijk instrument geworden (13). Met de PCR techniek is het mogelijk om één Philadelphia positieve cel temidden van 10^6 normale cellen te detecteren. Daarmee leent deze techniek zich goed voor de detectie van residuale ziekte na intensieve therapie, zoals na allogene beenmergtransplantatie. De PCR techniek is ook gebruikt voor analyse van beenmerg-monsters bij patiënten met een complete cytogenetische respons na interferon- α . Hierbij bleef residuale ziekte met behulp van PCR steeds aantoonbaar. Dit geeft enerzijds aan dat interferon- α 'slechts' de Philadelphia positieve hematopoiese onderdrukt tot aan een bepaald detectie-niveau. Het geeft echter ook aan dat langdurige overleving ($> 90\%$ na ± 6 jaar indien complete cytogenetische respons op IFN- α) mogelijk is, zonder volledige eliminatie van de Philadelphia positieve hematopoiese. Toekomstige ontwikkelingen richten zich op het kwantificeren van de PCR waarmee ook longitudinaal voor de individuele patiënt een beter beeld van progressie/regressie van de Philadelphia-positieve hematopoiese verkregen zou kunnen worden (14).

Literatuur

1. Daley GQ, Van Etten R, Baltimore D. Induction of chronic myelogenous leukemia in mice by the P210 BCR/ABL gene of the Philadelphia chromosome. *Science* 1990; 247: 824-830.
2. Pendergast AM, Quilliam LA, Cripe LD, et al. BCR/ABL induced oncogenesis is mediated by direct interaction with the SH2 domain of the GRB-2 adaptor protein. *Cell* 1993; 75: 175-185.
3. Imamura J, Miyoshi I, Koeffler HP. P53 in hematologic malignancies. *Blood* 1994; 84: 2412-2421.
4. McGlave PB. Therapy of chronic myelogenous leukemia with related or unrelated donor bone marrow. *Leukemia* 1992; 6: 115-117.
5. Hehlmann R, Heimpel H, Hasford J et al. Randomized comparison of Busulfan and Hydroxyurea. The German CML Study Group. *Blood* 1993; 82: 398.
6. The Italian cooperative study group on chronic myelogenous leukemia. Interferon-Alfa-2a as compared with conventional chemotherapy for the treatment of chronic myeloid leukemia. *N Eng J of Med* 1994; 330: 820-825.
7. Allan NC, et al. Interferon- α (IFN- α) prolongs survival for patients with CML in chronic phase: preliminary results of the UK MRC randomized multicenter trial. *Blood* 1994; 84: 382a.

8. Hehlmann R, et al. Randomized comparison of Interferon-Alpha with Busulfan and Hydroxyurea in chronic myelogenous leukemia (CML). *Blood* 1994; 84: 382a
9. Fujita T, Kimura Y, Miyamoto M, et al. Induction of endogenous IFN- α and IFN- β genes by a regulatory transcription factor, IRF-1. *Nature* 1989; 337: 270-272.
10. Fujita T, Reis LF, Watanabe N, et al. Induction of the transcription factor IRF-1 and interferon mRNAs by cytokines and activators of second-messenger pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 729-739.
11. Carella AM, Podesta M, Frassoni F, et al. Collection of "normal" blood repopulating cells during early hematopoietic recovery after intensive conventional chemotherapy in chronic myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplantation* 1993; 12: 267-271.
12. McGlave PB, De Fabritis P, Deisseroth A, et al. Autologous transplants for chronic myelogenous leukaemia: results from eight transplant groups. *The Lancet* 1994; 343: 1486-1488.
13. Lion Th, on behalf of the E.I.C.M.L. group. 1993. Clinical implications of qualitative and quantitative polymerase chain reaction analysis in the monitoring of patients with chronic myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplantation*.
14. Cross NCP, Feng L, Chase A, et al. Competitive polymerase chain reaction to estimate the number of BCR-ABL transcripts in chronic myeloid leukemia patients after bone marrow transplantation. *Blood* 1993; 82: 1929-1936.

Ned Tijdschr Klin Chem 1996; 21: 218-220

When is the 'idiopathic' hypereosinophilic syndrome eosinophilic leukaemia?

B.J. BAIN

The diagnosis of idiopathic hypereosinophilic syndrome is one of exclusion, requiring significant unexplained eosinophilia which persists for at least 6 months and is associated with tissue damage. The relationship of this condition to eosinophilic leukaemia remains controversial. In some patients who present with hypereosinophilia and damage to the heart and other tissues the condition can be shown to be reactive. In others a diagnosis of eosinophilic leukaemia can be made when an increase of blast cells or a clonal cytogenetic abnormality is detected. Other cases which fit the definition of idiopathic hypereosinophilic syndrome can be recognized in retrospect as eosinophilic leukaemia when there is subsequently development of a clonal cytogenetic abnormality or of acute myeloblastic leukaemia or granulocytic sarcoma. In a small number of patients other mechanisms of eosinophilia have been demonstrated with secretion of cytokines by T cells, sometimes a clonal population of T cell, being demonstrated.

Chronic eosinophilic leukaemia has been associated with a number of cytogenetic abnormalities including trisomy 8, isochromosome 17q, monosomy 7 and t(5;12)(q31-q33;p12-13). The most specific association is with t(5;12). Cytogenetic analysis is recommended in cases of unexplained eosinophilia.

Keywords: eosinophils; eosinophilia; hypereosinophilic syndrome; leukaemia

Department of Haematology, St. Mary's Hospital, London W2 1NY

Address for correspondence: Dr. B.J. Bain MBBS, MRCP, FRACP, Department of Haematology, St. Mary's Hospital, London W2 1NY.

The nature of the idiopathic hypereosinophilic syndrome (idiopathic HES) remains uncertain and its relationship to eosinophilic leukaemia is controversial. The diagnosis is one of exclusion. Idiopathic HES has been defined as an eosinophil count in excess of $1.5 \times 10^9/l$, persisting for at least six months which is associated with tissue damage (such as cardiac damage and intracardiac thrombosis) and is unexplained (1).

With appropriate investigation and an adequate period of follow up most cases of reactive eosinophilia can be distinguished from the idiopathic hypereosinophilic syndrome. However the distinction of eosinophilic leukaemia, defined as a neoplastic condition with marked or predominant eosinophilic differentiation, from idiopathic HES is not always possible.

Equally high eosinophil counts and cardiac and other tissue damage as a consequence of release of eosinophil granule contents can occur in eosinophilic leukaemia, reactive eosinophilia and idiopathic HES. Similarly, morphological abnormalities of eosinophils - such as vacuolation and hypogranularity, hyper and hyposegmentation and ring nuclei - can occur in all these categories of disease. Other criteria are needed to make the distinction. A diagnosis of eosinophilic leukaemia can be made when there is an increase of blast cells, when a clonal cytogenetic abnormality is demonstrable or when there is other evidence of clonality such as skewed expression of G6PD or other X chromosome genes or mutation of an oncogene (table 1).

The significance of eosinophilia in myeloproliferative disorders

Since the eosinophil is derived from the multipotent haemopoietic stem cell it is not unexpected that eosinophilia occurs in some myeloproliferative diseases. 80 to 90% of cases of Ph-positive chronic granulo-