

MONITORIZACIÓN DE LA PROTEÍNA E-CATIÓNICA
PARA EVALUAR LA EFICACIA DE LA
INMUNOTERAPIA EN LA ESOFAGITIS
EOSINOFÍLICA

TRABAJO FINAL DE GRADO -GRADO EN MEDICINA
UNIVERSIDAD DE VALLADOLID



HOSPITAL UNIVERSITARIO
RÍO HORTEGA

SERVICIO DE ALERGOLOGÍA

AUTORA: ELENA CRIADO ALBILLOS
TUTORA: DRA. ALICIA ARMENTIA / COTUTORA: SARA MARTÍN-ARMENTIA

VALLADOLID, MAYO 2020

ÍNDICE

ABREVIATURAS	2
RESUMEN.....	3
ABSTRACT.....	4
INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DOCTRINAL	5
Eosinófilo.....	5
Proteína E-catiónica	6
Enfermedades con infiltrado eosinofílico:	6
ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA.....	8
Historia:.....	8
Definición	8
Clínica	8
Diagnóstico	8
Tratamiento.....	9
HIPÓTESIS.....	10
OBJETIVOS.....	10
JUSTIFICACIÓN.....	10
MATERIAL Y MÉTODOS.....	11
RESULTADOS.....	12
DISCUSIÓN.....	15
CONCLUSIONES	17
BIBLIOGRAFÍA.....	18
ANEXOS.....	21

ABREVIATURAS

IL-3/IL-5: Interleucinas 3 y 5

Th: Linfocito T helper

IgE: Inmunoglobulina E

PBM: Proteína básica mayor

PEC: Proteína E-catiónica

EEo: Esofagitis eosinofílica

EGE: Gastroenteritis eosinofílica

EGPA: Granulomatosis eosinofílica con poliangeítis

ANCA: Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos

ERGE: Enfermedad por reflujo gastroesofágico

IBP: Inhibidor de la bomba de protones

CRD: Diagnóstico por componentes (“Component-resolved diagnosis”)

AIT: Inmunoterapia (“Allergen immunotherapy”)

AUC: Área bajo la curva

FDA: “US Food and Drugs Administration”

PEF: Flujo espiratorio máximo

RESUMEN

Introducción: La proteína E-catiónica de los eosinófilos (PEC) ha demostrado ser un marcador útil para la monitorización de muchas enfermedades inflamatorias eosinofílicas activas. En los últimos años, se han tratado con éxito a pacientes que padecían esofagitis eosinofílica con inmunoterapia dirigida (AIT) y una dieta guiada por un diagnóstico por componentes (CRD), que podría detectar posibles alérgenos implicados en la esofagitis eosinofílica (EEo).

Objetivo: Con el fin de comprobar si la PEC sirve como marcador objetivo en la mejora de la esofagitis, se han llevado a cabo mediciones en suero de la PEC en pacientes con EEo tras 3 años de inmunoterapia y 2 años de suspensión del tratamiento sin recaídas,

Métodos: Se han realizado pruebas de alérgenos ambientales y alimentarios a 129 pacientes con EEo, además de análisis histológicos, botánicos y por componentes (CRD). Se les siguió mediante endoscopias y toma de biopsias cada 6 meses durante 5 años. 15 pacientes sanos y 34 asmáticos polínicos fueron incluidos como grupos control.

La inmunoterapia dirigida (AIT) se administró a 91 pacientes con EEo y por otro lado, el tratamiento convencional (IBPs, dieta empírica, corticosteroides) al resto de pacientes (n = 38). Las muestras de suero de todos los pacientes se recogieron antes y después de la supresión del tratamiento y fueron sometidas a análisis aleatorizado a simple ciego. Los resultados se correlacionaron con los hallazgos clínicos y endoscópicos.

Resultados: Tras el estudio de las muestras, se evidenciaron niveles más altos de PEC en pacientes con EEo (media de 46,5 ng / ml) con respecto a los del grupo de asma polínico (media de 19,17 ng / ml) y siendo mayores en ambos procesos que en pacientes sanos (p <0,0001). En pacientes tratados con AIT, se observó una disminución marcada en PEC, significativamente mayor que en pacientes con terapia convencional (p <0.001). Esta mejora se correlacionó con los hallazgos clínicos y endoscópicos de evolución favorable de la enfermedad, obteniendo un resultado estadísticamente significativo (p <0.001).

Conclusión: La medición seriada de la PEC puede ser útil para controlar la eficacia de la inmunoterapia dirigida en pacientes con EEo, ya que también se puede utilizar como un marcador de actividad de la enfermedad.

Palabras clave: Proteína E-catiónica, eosinófilo, esofagitis eosinofílica, inmunoterapia, diagnóstico por componentes.

ABSTRACT

Background: Eosinophil cationic protein (ECP) has proven a useful monitor for many active eosinophilic inflammatory diseases. In the last years we have successfully treated patients suffered from eosinophilic esophagitis whit allergen specific immunotherapy (AIT) and diet guided by Component-resolved diagnosis (CRD), that could detect possible allergens involved in eosinophilic esophagitis (EoE).

Objective: We carried out measurements of ECP after 3 years of AIT in patients with EoE and two year of suspension of this treatment without relapse of disease, in order to evaluate ECP as objective marker of improvement of the esophagitis.

Methods: One hundred and twenty-nine patients with EoE were tested for environmental and food allergens. CRD, histological and botanical analysis were performed. Endoscopic biopsies were performed every six months for five years. Fifteen healthy patients and 34 asthmatics due to pollen were included as control groups.

CRD-directed allergen immunotherapy (AIT) was administered in 91 EoE patients and conventional treatment (proton pump inhibitors, empiric diet, corticosteroids) in the rest of patients (n=38). Sera of all patients were collected before de therapy and after the suppression of the treatment. Randomized blind analysis of ECP was performed in all samples of treated (AIT/conventional) and controls subjects and correlated with clinical and endoscopic findings.

Results: Higher ECP levels were measured in patients with EoE (mean 46.5 ng / mL) with respect to pollen asthma (mean 19.17 ng / mL) and higher in both processes than in healthy patients ($p < 0.0001$). In patients treated with AIT, a marked decrease in CPE was observed, significantly higher than in patients with conventional therapy ($p < 0.001$). This improvement was significantly correlated with clinical and endoscopic findings of favorable evolution of the disease ($p < 0.001$).

Conclusion: Measurement of ECP can be useful in monitoring efficacy of specific immunotherapy in EoE as can be used also as a marker of activity of the disease.

Key words: Eosinophil cationic protein, eosinophil, eosinophilic esophagitis, immunotherapy, component resolved diagnosis.

INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DOCTRINAL

Eosinófilo

Un eosinófilo es una célula sanguínea perteneciente a la serie blanca, que deriva de la estirpe mieloide, y forma parte de los polimorfonucleares junto con los neutrófilos, basófilos y monocitos. Deriva de la médula ósea donde para su desarrollo intervienen el factor estimulante de colonias monocito-macrófago, así como las interleucinas IL-3 e IL-5. Ésta última procede de las células Th (Th2) y de los mastocitos y es primordial para su desarrollo y diferenciación.

Tradicionalmente se ha relacionado al eosinófilo con dos funciones: (1) Defensa frente a parásitos y bacterias intracelulares, de forma que son tapizados por IgE, a los que se adhieren los eosinófilos generando citotoxicidad dependiente de anticuerpos. (2) Modular la respuesta inflamatoria inmediata al inactivar o degradar mediadores liberados por mastocitos, lo cual nos lleva a entender la hipereosinofilia de los pacientes atópicos.

Si bien, en la última década se han encontrado nuevos hallazgos respecto a nuevos roles que podría tener el eosinófilo, algunos ejemplos son:

- Modulación del reclutamiento linfocitario y homeostasis.
- Células presentadoras de antígenos.
- Conducción de la polarización de Th2.
- Regulación del desarrollo de los linfocitos T en el timo
- Pieza clave en el desarrollo del asma y otras enfermedades alérgicas.

Los eosinófilos vienen equipados con proteínas catiónicas enzimáticas y no enzimáticas preformadas, almacenadas y secretadas selectivamente desde sus gránulos específicos. (Imagen 1).

En la función antiparasitaria, participan: La proteína básica mayor (PBM) y la proteína E-catiónica que son muy tóxicas y condicionan el desarrollo de síntomas agudos y subcrónicos de alergia y la neurotoxina, que es capaz de degradar gravemente las neuronas mielínicas.

Por su parte, la histaminasa es la encargada de hidrolizar la histamina mientras que la arilsulfatasa y la fosfolipasa D se ocupan de la actividad antiinflamatoria.

Proteína E-catiónica

La **PEC** es una proteína altamente catiónica, siendo su función citotóxica la más importante. La podemos identificar y medir en gran cantidad de fluidos corporales, resultando de gran utilidad para monitorizar el comportamiento del eosinófilo en enfermedades alérgicas e inflamatorias como es la esofagitis eosinofílica, lo cual ayudará a tomar decisiones acerca del plan terapéutico (19).

Enfermedades con infiltrado eosinofílico:

- Asma eosinofílica: El asma es una enfermedad crónica de las vías aéreas, caracterizada por episodios recurrentes de disnea, sibilancias tos y esfuerzo respiratorio debida a una serie de cambios inflamatorios y estructurales de la vía aérea que van a originar una limitación del flujo aéreo además de una hiperrespuesta bronquial frente a gran cantidad de estímulos ambientales. El asma eosinofílica se caracteriza por altos niveles de eosinófilos en esputo y en sangre periférica. La eosinofilia de las vías respiratorias se puede detectar en más del 50% de los pacientes asmáticos, y los recuentos elevados de eosinófilos se asocian con exacerbaciones frecuentes del asma, así como con un alto grado de limitación del flujo aéreo y gravedad de la enfermedad. Hasta ahora el tratamiento se ha llevado a cabo mediante broncodilatadores y corticosteroides, sin embargo, con la inmunoterapia (Mepolizumab) se han obtenido unos resultados muy prometedores para el tratamiento de esta patología. La diana terapéutica del Mepolizumab es la IL-5, cuyo papel es clave para la maduración, reclutamiento activación, proliferación y supervivencia de los eosinófilos.
- Neumonía eosinofílica: Las neumonías eosinofílicas engloban a un grupo heterogéneo de enfermedades que cursan con aumento de eosinófilos en el tejido pulmonar y en el esputo. Como en el caso anterior, es posible encontrar eosinofilia en sangre periférica. Dentro de la posible etiología, encontramos infecciones parasitarias, medicamentos u otras toxinas, enfermedades autoinmunes y tumores malignos, si bien en muchos casos no identificamos la causa y la etiquetamos como idiopática. El diagnóstico preciso va a ser en muchos casos muy complicado y a su vez vital si estamos frente a una neumonía aguda. En este caso el tratamiento de elección son

los corticosteroides, siendo la respuesta excelente en fases tempranas de la enfermedad (25).

- Gastroenteritis eosinofílica: esta patología implica una infiltración eosinofílica en estómago e intestino. Esta enfermedad tiene relación con antecedentes de atopia (alergias estacionales, alimentarias, eccema...). La clínica varía en función del sitio y de la capa infiltrada por los eosinófilos. Como en los casos anteriores, los resultados de laboratorio, los hallazgos radiológicos y la endoscopia pueden proporcionar evidencia diagnóstica importante para el EGE; sin embargo, la piedra angular del diagnóstico sigue siendo el examen histológico de muestras gástricas y duodenales para detectar evidencia de infiltración eosinofílica (más de 20 eosinófilos por campo de alta potencia). En un 30-40% de los casos, la remisión es espontánea, sin embargo, para el resto es muy probable que necesiten un tratamiento de por vida. El tratamiento de primera línea incluye; por un lado, medidas dietéticas y por el otro farmacológicas, siendo los corticosteroides los fármacos de elección. Dentro de la inmunoterapia el Reslizumab, cuya diana terapéutica es IL-5, está aportando muy buenos resultados (24).
- Granulomatosis eosinofílica con poliangeítis o síndrome de Churg-Strauss (EGPA): trastorno multisistémico, definido como una inflamación granulomatosa rica en eosinófilos que a menudo afecta el tracto respiratorio, y una vasculitis necrotizante que afecta predominantemente vasos pequeños y medianos. Si bien la patogénesis no es muy conocida, podemos destacar como factores implicados, la exposición a diferentes alérgenos, infecciones, vacunas, medicamentos y a la sílice. Los eosinófilos son las células más características de EGPA y diferentes estudios han demostrado su papel como células efectoras e inmunorreguladoras. La EGPA generalmente se desarrolla en tres fases secuenciales: (1) la fase alérgica, que se distingue por la aparición de asma, rinitis alérgica y sinusitis, (2) la fase eosinofílica, en la que el principal hallazgo patológico es la infiltración eosinofílica de órganos (p. Ej., Pulmones, corazón y sistema gastrointestinal), y (3) la fase vasculítica, caracterizada por púrpura, neuropatía periférica y síntomas constitucionales. Los ANCA (especialmente pANCA anti-mieloperoxidasa) están presentes en 40-60% de los pacientes. En cuanto al tratamiento; los corticosteroides y la ciclofosfamida se usan para la inducción de la remisión, mientras que la azatioprina y el metotrexato para el mantenimiento. Por otro lado, el Rituximab y el Mepolizumab están aportando resultados prometedores.

ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA

Historia:

Inicialmente se pensó que la sintomatología de esta patología formaba parte de las manifestaciones de la enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE). Sin embargo, a mediados de la década de 1990, se identificaron nuevos síntomas en pacientes que padecían esta enfermedad. Se les trató con IBP y cirugía antirreflujo pero no se obtuvo respuesta clínica ni histológica, por lo que se descartó que se tratase de ERGE. En una serie de casos y controles se evidenció respuesta al tratamiento con una dieta a base de fórmulas elementales, por lo que se llegó a la conclusión de que se trataba de una entidad única.

Epidemiología

Se trata de una patología emergente que se presenta en niños y adultos (aunque mayoritariamente entre los 20 y 40 años). Es más frecuente en varones (3:1) y en raza blanca, a pesar de que esto último podría deberse a un sesgo de selección). Tiene una amplia distribución geográfica alrededor de Europa, América, Asia y Oceanía.

Definición

La esofagitis eosinofílica se define actualmente como una enfermedad esofágica crónica, inmunomediada o antigénica caracterizada por síntomas relacionados con la disfunción esofágica y la inflamación predominante con eosinófilos. Existe evidencia de que esta patología tiene una fuerte asociación familiar.

Clínica

En adultos provoca disfagia para sólidos, impactación alimentaria aguda y dolor torácico no relacionado con la deglución; todo ello sin pérdida de peso. En niños cursa con vómitos, dolor abdominal o rechazo a la comida. En ambos casos es posible la aparición de perforaciones esofágicas como principal complicación.

Diagnóstico

- Historia clínica compatible.

- Endoscopia digestiva alta con toma de biopsias: los hallazgos típicos son los anillos esofágicos (aspecto traquealizado), las arrugas longitudinales, la mucosa con aspecto de papel crepe y la friabilidad de la mucosa. (Imagen 2). Un esófago macroscópicamente normal, no descarta el diagnóstico.
- Histología: más de 15 eosinófilos por campo en el esófago y ausencia de ellos en otras regiones del tracto gastrointestinal.

Tratamiento

- Dieta: actualmente es el tratamiento mejor aceptado. Se deben eliminar de forma secuencial los alimentos más frecuentemente implicados en esta patología (leche de vaca, huevo, trigo, legumbres, pescado/marisco, soja y frutos secos). Se harán gastroscopias con toma de biopsias de forma concomitante para evaluar la respuesta. Existe otra opción, que consiste en hacer dieta basada en la identificación de alérgenos mediante pruebas alérgicas. Este tratamiento es difícil de seguir y las recaídas son muy frecuentes.
Optamos por una dieta elemental cuando fracase todo lo demás.
- Corticoides tópicos: Con su efecto antiinflamatorio, disminuye el número de linfocitos y mejora los síntomas. Tragar pequeñas dosis de corticoesteroides es la forma de tratamiento más común. Se empieza con dosis altas para paulatinamente ir reduciendo la dosis. Dentro de los efectos adversos, se puede destacar la candidiasis esofágica.
- Inhibidores de la bomba de protones (IBPs): Inducen la remisión clínica e histológica en aproximadamente la mitad de los pacientes. Resultan también efectivos para el mantenimiento de la remisión.
- Inmunoterapia: algunos anticuerpos anti-factor de crecimiento de eosinófilos (IL-5) como el Mepolizumab o Reslizumab han resultado eficaces.

Actualmente se están obteniendo resultados prometedores mediante el diagnóstico por componentes (component-resolved diagnosis o CRD) con microarrays ya que por un lado nos permite detectar posibles alérgenos involucrados además de elaborar una dieta de eliminación e inmunoterapia dirigida (allergen immunotherapy or AIT).

HIPÓTESIS

¿Es posible que, mediante la realización de mediciones seriadas de la proteína E-catiónica en suero, podamos hacer un seguimiento y evaluar a la efectividad de la inmunoterapia en pacientes con esofagitis eosinofílica?

OBJETIVOS

El principal objetivo de esta investigación es lograr encontrar un método no invasivo y no cruento con el que poder hacer un seguimiento de los pacientes que padecen de EEO y monitorizar la respuesta al tratamiento con inmunoterapia.

Para ello se propone la medición en suero de una proteína secretada por los eosinófilos (PEC) y la búsqueda de la relación existente entre los niveles de esta proteína y la respuesta a tratamiento con el fin de obtener unos resultados significativos que hagan de esta una prueba fiable.

JUSTIFICACIÓN

Actualmente, tanto el diagnóstico de la EEO como el seguimiento requieren de la realización de endoscopias digestivas y biopsias de forma seriada. Lo que se busca es una alternativa no invasiva con la que poder llevar a cabo el seguimiento de nuestro paciente, disminuyendo así las molestias e incomodidades. Por otro lado, también supone un ahorro en tiempo, dinero y en carga de trabajo pues con una simple extracción de suero sería suficiente, resultando innecesario la utilización de tanto material estéril invasivo y, además, endoscopistas, anatomopatólogos, personal de enfermería y demás profesionales podrían optimizar su

tiempo de trabajo y llevar a cabo otras tareas. Supondría por tanto un gran avance en todos los sentidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ciento veintinueve pacientes con EEO fueron elegidos para la realización de pruebas frente a alérgenos de tipo ambiental y alimentarios. (Imagen 3). También se llevó a cabo análisis histológicos y botánicos además de “CRD” (component-resolved diagnosis o diagnóstico por componentes resueltos). Cada 6 meses y durante 5 años se les realizaron endoscopias con toma de biopsias y se les estadificó en función de su clínica. Los grupos control estaban compuestos por 15 pacientes sanos y 34 asmáticos de etiología polínica.

Los pacientes recibieron toda la información necesaria y posteriormente decidieron si querían ser tratados de forma convencional (corticosteroides orales, IBPs y dieta empírica de eliminación de alimentos) o mediante dieta guiada por CRD e inmunoterapia (AIT).

El documento de información para el paciente junto con el formulario de consentimiento informado, además de otro consentimiento informado para el estudio histológico de las biopsias, fueron aprobados por el Comité de Ética del Hospital Universitario Río Hortega. (Documento 1).

La inmunoterapia con alérgenos dirigidos a CRD (AIT) fue administrada a 91 pacientes con esofagitis eosinofílica, mientras que, el restante de los pacientes (38) recibieron tratamiento convencional (corticosteroides, IBPs y dieta empírica). Así pues, se recogieron sueros de todos los pacientes antes del tratamiento y después de la supresión de este.

Posteriormente, comparamos los niveles de proteína E-catiónica en el suero de 36 pacientes tras 3 años de tratamiento con inmunoterapia y 2 años de supresión de esta por resolución de esta patología (hallazgos clínicos y de biopsia negativos) con los niveles de proteína E-catiónica en los 38 pacientes que siguieron el tratamiento convencional. Se procedió a realizar un análisis ciego aleatorizado de la proteína E-catiónica tanto en todas las muestras de sujetos tratados (AIT / convencionales) como en los controles y los resultados se correlacionaron con los hallazgos clínicos y endoscópicos.

Las muestras de suero fueron recogidas tras la extracción de sangre y posterior centrifugación en tubos de poliestireno (en lugar de tubos de cristal), con el fin de evitar una disminución en los niveles de Proteína E-catiónica. Las muestras fueron entonces congeladas a -20°C y almacenadas en una librería hasta el final del estudio. El método utilizado para hacer las

mediciones fue Immulite ECP Siemens, alemán, un ensayo inmunométrico quimioluminiscente de dos sitios en fase sólida, que se realizó siguiendo las recomendaciones del fabricante. Los valores que esperábamos obtener para individuos sanos en nuestro laboratorio eran de $8,33 \pm 5,86$ ng/mL. También seguimos los procedimientos de los estándares del Comité Nacional de Laboratorio Clínico para la recolección de muestras de sangre de diagnóstico.

La técnica de medición de ECP con Immulite 2000 presenta un rango de calibración de hasta 200 ng / ml y una sensibilidad analítica de 0.2 ng / ml.

Los resultados analizados corresponden a pacientes que han concluido 3 años de inmunoterapia o tratamientos alternativos.

Análisis estadístico: los niveles de ECP se describieron como la media \pm desviación estándar (DE). Al inicio del estudio, se realizó ANOVA con prueba post-hoc de Bonferroni para detectar diferencias entre los grupos. La prueba de Wilcoxon no paramétrica para muestras emparejadas se utilizó para comparar las medias pre y post AIT. Para determinar los mejores valores de corte para detectar esofagitis eosinofílica, se realizó un análisis de curva (ROC o Receiver Operating Characteristic), y se calcularon los valores de sensibilidad, especificidad y predictivos. Para todas las pruebas, se estableció un nivel de significación en $p < 0.05$.

RESULTADOS

Antes del tratamiento, la media de los niveles de proteína E-catiónica era mayor en pacientes con esofagitis eosinofílica ($46,6 \pm 37,7$ ng/ml) comparado con el grupo de asmáticos ($19,2 \pm 18,9$ ng/mL) y con el grupo control de individuos sanos ($8,3 \pm 5,9$ ng/mL) con una diferencia significativa entre los grupos. ($p < 0,0001$).

Además, los niveles de proteína fueron mayores en pacientes con esofagitis eosinofílica que en asmáticos debido al polen ($p < 0.001$) y en controles sanos ($p < 0.001$), mientras que no se detectaron diferencias entre sujetos asmáticos y sanos (Figura 1).

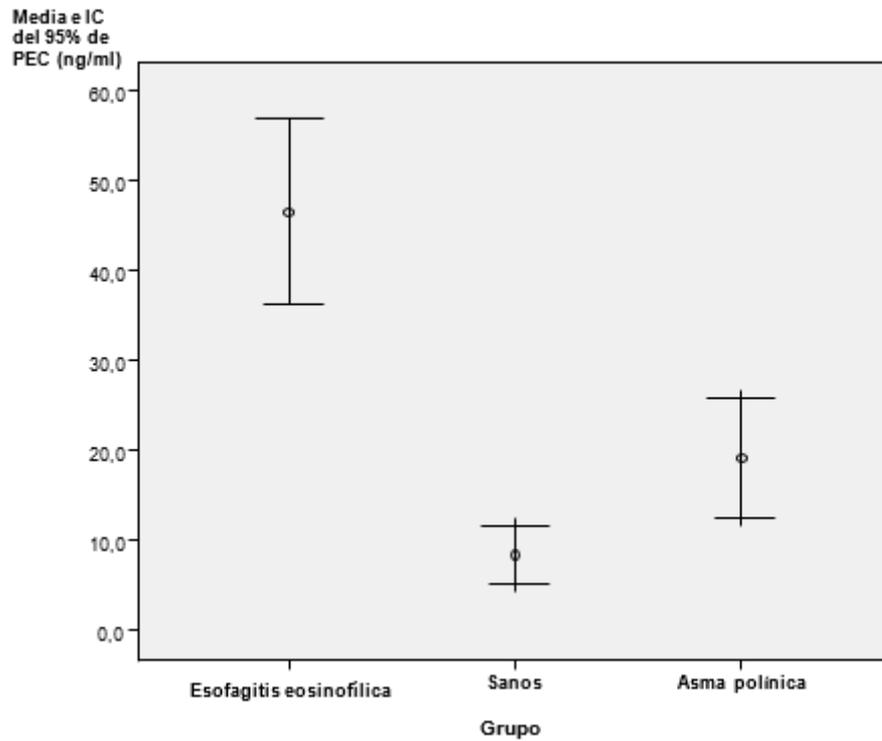


Figura 1. Media y niveles de ECP con IC 95% en pacientes con esofagitis eosinofílica, sanos y asmáticos por polen.

Para detectar la esofagitis eosinofílica al inicio, los valores de ECP mostraron un área bajo la curva de 0.824. (Figura 2)

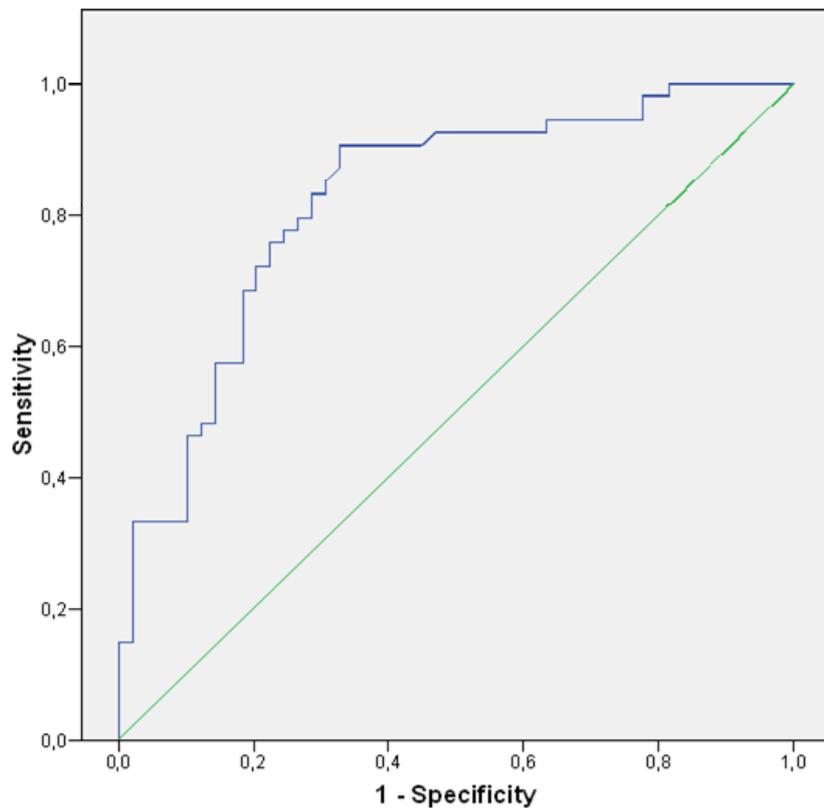


Figura 2. Análisis de curva ROC para detectar EEO mediante la determinación de ECP (ng / mL).

El mejor punto de corte fue establecido en 13 ng/mL, con una sensibilidad del 90,7% y una especificidad del 67,3%. (Tabla 1)

	ECP = 20 ng/mL		ECP = 13 ng/mL	
	Valor (%)	IC95%	Valor (%)	IC95%
Sensibilidad	75.9	63.6 – 88.2	90.7	82.1 – 99.4
Especificidad	77.6	64.8 – 90.	67.3	53.2 – 81.5
Valor predictivo positivo	78.8	66.8 – 90.9	75.4	64.1 – 86.6
Valor predictivo negativo	74.5	61.6 – 87.4	86.8	74.8 – 98.9
Cociente de probabilidad positiva	3.38	1.97 – 5.81	2.78	1.84 – 4.19
Cociente de probabilidad negativo	0.31	0.19 – 0.51	0.14	0.06 – 0.32

Tabla 1. Estudio de prueba de diagnóstico de ECP para detectar EoE.

La progresión favorable de la enfermedad fue más frecuente en pacientes tratados con AIT (39/40 pacientes, 97.5%) que en pacientes con otras terapias (15/27 pacientes, 55.6%) ($p < 0.001$). Los pacientes tratados con AIT mostraron una disminución significativa en los niveles de ECP ($p < 0.001$), mientras que los tratados de forma convencional mostraron un aumento significativo pero leve tras el tratamiento. (Tabla 2)

Además, se detectó una ausencia de relación entre el ECP basal y la progresión de la enfermedad mediante el análisis de la curva ROC (AUC, 0,441; IC95%, 0,314 - 0,569; p = 0,372).

Cabe destacar que, a lo largo del estudio, se fueron incluyendo pacientes que precisaban de AIT de igual modo que otros abandonaron el estudio por diversos motivos (cambio de domicilio, no acuden a revisión, el tratamiento es caro y no pueden permitírselo o simplemente presentan mejoría y no lo comunican a los profesionales).

Por otro lado, solo se validaron las determinaciones analíticas que pasaron el control de calidad de la técnica.

	N	Antes del tratamiento	Después del tratamiento	Sig.
Todos los pacientes	45	41.6 ± 32.4	29.4 ± 30.3	<0,001
Pacientes tratados con inmunoterapia	26	37.7 ± 29.5	14.3 ± 11.9	<0.001
Pacientes sin inmunoterapia	19	46.8 ± 36.1	50.1 ± 35.6	<0.001

Tabla 2: Estadísticas de muestras relacionadas, en pacientes con niveles de PEC pre y post tratamiento.

DISCUSIÓN

La esofagitis eosinofílica es una enfermedad alérgica reconocida. Actualmente, la única forma de diagnosticar EEO es mediante endoscopia y biopsia del esófago.

Excluir los principales alérgenos alimentarios de la dieta antes de cualquier prueba de alergia alimentaria es un tratamiento aceptado para la EEO. Entre los alimentos excluidos generalmente están incluidos los lácteos, huevo, trigo, soja, cacahuetes, nueces y pescado / mariscos. Se ha demostrado que estas dietas son útiles en algunos tratamientos, aunque en

muchos casos resultan muy difíciles de seguir. Los alimentos excluidos, se podrán volver a reintroducir uno a uno, llevando a cabo endoscopias de forma concomitante para asegurarnos que la enfermedad se mantiene bajo control. Sin embargo, las recaídas son frecuentes.

Actualmente no hay ninguna medicación aprobada por “U.S. Food and Drug Administration (FDA)” para el tratamiento de la EEO. Se ha demostrado que ciertos medicamentos reducen la cantidad de eosinófilos en el esófago y mejoran los síntomas. Por un lado, tragar pequeñas dosis de corticosteroides resulta lo más eficaz para tratar la EEO gracias a su acción antiinflamatoria, existiendo diferentes formas de corticosteroides ingeridos disponibles. Inicialmente son necesarias altas dosis para controlar la inflamación lo que conlleva un mayor riesgo de efectos secundarios, por lo que es necesario reducir dosis paulatinamente.

Por otro lado, los inhibidores de la bomba de protones (IBPs), que controlan la cantidad de ácido producido, también sirven de ayuda para diagnosticar y tratar la EEO. Hay un grupo de pacientes que responde bien a los IBPs y experimentan una gran disminución en el número de eosinófilos y en la inflamación que podemos evidenciar mediante endoscopias de seguimiento y toma de biopsias, si bien es cierto que puede haber mejoría clínica sin cambios en la inflamación (4,9).

Investigaciones recientes han contribuido a una mejor comprensión de la enfermedad, pero sigue siendo necesario avanzar en la evaluación de métodos diagnósticos mínimamente invasivos, así como en nuevos enfoques terapéuticos.

Se ha demostrado que la inmunoterapia dirigida con alérgenos y/o la dieta de eliminación es eficiente en el manejo de la enfermedad y además presenta una buena tolerancia.

Gracias al estudio de las biopsias mediante métodos histológicos, se ha demostrado que existen acúmulos de polen impactados en la mucosa esofágica, y, además, los eosinófilos parecen actuar como si estuvieran respondiendo a infecciones parasitarias. El diagnóstico por componentes o “CRD” (“Component-resolved diagnosis) con microarrays podría detectar posibles alérgenos implicados en esta patología e indicar una dieta de eliminación e inmunoterapia con alérgenos (AIT).

En todo tipo de tratamientos se debe controlar la eficacia. Para ello, los métodos más comunes se basan en puntuaciones clínicas subjetivas y en endoscopias con biopsias. En este caso, se ha propuesto un método analítico simple, la medición de proteína E-catiónica (PEC).

De entre las cuatro proteínas enzimáticas que se conocen, la proteína E-catiónica ha demostrado ser un monitor útil para muchas enfermedades inflamatorias activas (14), siendo producida de forma exclusiva por los eosinófilos.

Varios estudios demuestran que existe correlación tanto de forma individual como grupal entre los niveles de PEC y los síntomas clínicos del asma como, los aumentos en el flujo espiratorio máximo (PEF), agonistas β_2 inhalados, la capacidad de respuesta de las vías

respiratorias y las espirometrías (2, 5, 14). Se encuentran niveles más altos de PEC en las muestras de “suero atópico” que en las muestras control de “suero no atópico”, incluso cuando el recuento de eosinófilos circulantes permanece dentro del rango normal (5). En paciente asmáticos estacionales, las mediciones de PEC reflejan cambios en la actividad de la enfermedad durante todo el año. Una vez más, se ha demostrado que existe correlación entre los niveles de PEC y la hiperreactividad bronquial en pacientes con asma leve (3).

La medición de PEC permite evitar la inestabilidad inherente a las evaluaciones subjetivas e incluso pueden determinar el grado de severidad de ciertas patologías de la piel y anejos (15, 17).

La objetividad de las mediciones de PEC en suero presenta una ventaja sobre las medidas clínicas subjetivas, que son propensas a sufrir alteraciones como consecuencia de las evaluaciones llevadas a cabo de forma individual por un amplio abanico de investigadores y de pacientes a su vez. Existen aún varias cuestiones que se deben resolver cuanto antes dentro de la EEO, como la búsqueda de métodos de monitorización no invasivos además de biomarcadores para un uso rutinario, el desarrollo de nuevas terapias y pruebas de alergia con el objetivo de encontrar los alimentos desencadenantes y establecer los medicamentos y las dosis necesarias para una correcta terapia inicial, así como para evitar problemas de seguridad con la terapia de mantenimiento a largo plazo, entre otros.

Además, para una correcta gestión de la EEO, serán necesarias unidades multidisciplinarias, que incluyan entre su plantilla a médicos especialistas en aparato digestivo, pediatras, alergólogos, anatomopatólogos y dietistas.

CONCLUSIONES

Se ha demostrado que la medición de la proteína E-catiónica puede ser útil para controlar la eficacia de la inmunoterapia específica como tratamiento en EEO, ya que se puede utilizar como un marcador de actividad de la enfermedad. De este modo, podría cambiarse la forma de enfocar el diagnóstico y seguimiento de estos pacientes evolucionando hacia un manejo menos invasivo y más cómodo tanto para el paciente como para los propios profesionales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sastre B, Rodrigo-Muñoz JM, Garcia Sanchez DA, Cañas JA, Del Pozo V. Eosinophils: old players in a new game. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2018;28:289-304
2. D'Amato G, Liccardi G, et al. Measurement of serum levels of eosinophil cationic protein to monitor patients with seasonal respiratory allergy induced by *Parietaria* pollen (treated and untreated with specific immunotherapy). *Allergy* 1996;51:245-50.
3. Roquet A, Hallden G, et al. Eosinophil activity markers in peripheral blood have high predictive value for bronchial hyperreactivity in patients with suspected mild asthma. *Allergy* 1996;51:482-8.
4. Gómez-Torijos E, Gonzalez-Mendiola R, Alvarado M, Avila R, Prieto-García A, Valbuena T et al. Eosinophilic esophagitis: Review and update. *Front Med (Lausanne)* 2018;5:247.
5. Tomassini M, Magrini L, et al. Serum levels of eosinophil cationic protein in allergic diseases and natural allergen exposure. *J Allerg Clin Immun* 1996;97:1350-5.
6. Vatrella A, Ponticiello A, et al. Serum eosinophil cationic protein (ECP) as a marker of disease activity and treatment efficacy in seasonal asthma. *Allergy* 1996;51:547-55.
7. Wardlaw AJ. Eosinophils in the 1990s: new perspectives on their role in health and disease. *Postgrad Med J* 1994;70:536-552.
8. Armentia A, Martín-Armentia S, Martín-Armentia B, Santos-Fernández J, Álvarez R, Madrigal B, et al. Is eosinophilic esophagitis an equivalent of pollen allergic asthma? Analysis of biopsies and therapy guided by component resolved diagnosis. *Allergol Immunopathol (Madr)*. Abril de 2018;46(2):181-9
9. Armentia A, Martín-Armentia S, Alvarez R, Martín-Armentia B, Gayoso MJ, Fernández D. Germination of pollen grains in the esophagus of individuals with eosinophilic esophagitis. *Clinical Experimental Allergy* 2018;
10. Ram G, Lee J, Ott M, Brown-Whitehorn TF, Cianferoni A, Shuker M et al. Seasonal exacerbation of esophageal eosinophilia in children with eosinophilic esophagitis and allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2015;115:224-228.

11. Rubira N, Rodrigo MJ, Pena M, Nogueiras C, Cruz MJ, Cadahia A.. Blood sample processing affect on cationic protein concentraion. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997;78:394-8.
12. Reimert CM, Poulsen LK, Bindslev-Jensen C, Kharazmi A, Bendtzen K. Measurement of eosinophil cationic protein (ECP) and eosinophil protein X/eosinophilderived neurotoxin (EPX/EDN). Time and temperature dependent spontaneous release in vitro demands standardized sample processing. *J Immun Meth* 1993;166:183-90.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard.4th ed. NCCLS Document H3-A4, Wayne, PA:NCCLS, 1998.
14. Mogensen I, Alving K, Dahlen SE, James A, Forsberg B, Ono J, et al. Fixed airflow obstruction relates to eosinophil activation in asthmatics. *Clin Exp Allergy*. 2018 Oct 26. doi: 10.1111/cea.13302
15. Czech W, Krutmann J, Schöpf E, Kapp A. Serum eosinophil cationic protein (ECP) is a sensitive measure for disease activity in atopic dermatitis. *Br. K. Dermatol* 1992;126:351-5.
16. Jo SY, Lee CH, Jung WJ, Kim SW, Hwang YH. Common features of atopic dermatitis with hypoproteinemia. *Korean J Pediatr*. 2018 Sep 16. doi: 10.3345/kjp.2018.06324
17. Amber KT, Chernyavsky A, Agnoletti AF, Cozzani E, Grando SA. Mechanosms of pathogenic effects of eosinophil cationic protein and eosinophil-derived neurotoxin on human keratinocytes. *Exp Dermatol*. 2018 Sep 15. doi: 10.1111/exd.13782.
18. ¿Qué es ANOVA? [Internet]. [citado 9 de enero de 2020]. Disponible en: <https://support.minitab.com/es-mx/minitab/19/help-and-how-to/modeling-statistics/anova/supporting-topics/basics/what-is-anova/>
19. Álvarez A, Sánchez C, Garrido G, Guevara M, Riaño A, Varona P, et al. Características de la Proteína Catiónica del Eosinófilo (ECP) y su Uso como Marcador de la Activación Eosinofílica en Procesos Patológicos Inflamatorios. *acta farmacéutica bonaerense*. 2005;24:9.
20. Curvas ROC: Elección de puntos de corte y área bajo la curva (AUC) [Internet]. [citado 9 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.bioestadistica.uma.es/analisis/roc1/>
21. Furuta GT, Katzka DA. Eosinophilic Esophagitis. *N Engl J Med*. 22 de octubre de 2015;373(17):1640-8.

22. Miranda García M, Gutiérrez Teira B. [Eosinophilic esophagitis, a pathology on the rise]. *Semergen*. octubre de 2013;39(7):e60-62.
23. Gómez-Aldana A, Jaramillo-Santos M, Delgado A, Jaramillo C, Lúquez-Mindiola A. Eosinophilic esophagitis: Current concepts in diagnosis and treatment. *World Journal of Gastroenterology*. 28 de agosto de 2019;25(32):4598-613.
24. Sunkara T, Rawla P, Yarlagadda KS, Gaduputi V. Eosinophilic gastroenteritis: diagnosis and clinical perspectives. *Clin Exp Gastroenterol*. 5 de junio de 2019;12:239-53.
25. Allen J, Wert M. Eosinophilic Pneumonias. *J Allergy Clin Immunol Pract*. octubre de 2018;6(5):1455-61.
26. Rose DM, Hrcir DE. Primary eosinophilic lung diseases [Internet]. 2013 [citado 20 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.ingentaconnect.com/content/ocean/aap/2013/00000034/00000001/art0008%3bjsessionid=5e5jho3eld3d.x-ic-live-01>
27. Producción y función de los eosinófilos - Hematología y oncología [Internet]. Manual MSD versión para profesionales. [citado 15 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es/professional/hematolog%C3%ADa-y-oncolog%C3%ADa/trastornos-de-los-eosin%C3%B3filos/producci%C3%B3n-y-funci%C3%B3n-de-los-eosin%C3%B3filos>
28. PRUEBAS-POST-HOC.pdf [Internet]. [citado 9 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.scientific-european-federation-osteopaths.org/wp-content/uploads/2019/01/PRUEBAS-POST-HOC.pdf>
29. Wen T, Rothenberg ME. The Regulatory Function of Eosinophils. *Microbiol Spectr* [Internet]. octubre de 2016 [citado 11 de noviembre de 2019];4(5). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5088784/>
30. Ahn K. The Usefulness of Component-Resolved Diagnostics in Food Allergy. *Allergy Asthma Immunol Res*. marzo de 2014;6(2):103-4.

ANEXOS

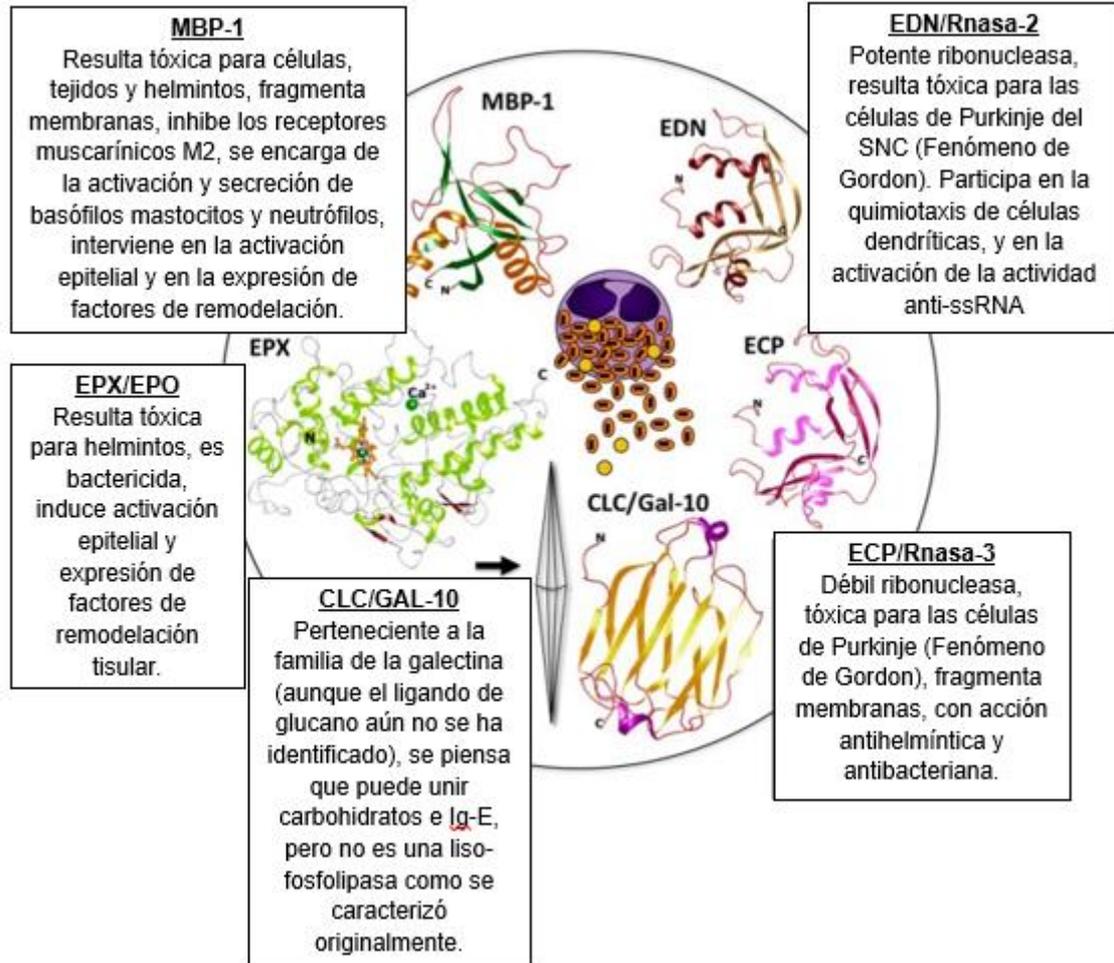


Imagen 1. Proteínas eosinofílicas y sus principales funciones. **MBP-1**: Proteína básica mayor. **EPX/EPO**: Eosinófilo peroxidasa. **CLC/GAL-10**: Eosinófilo lisofosfolipasa. **EDN/RNASE 2**: Eosinófilo neurotoxina. **ECP/Rnasa-3**: Proteína E-catiónica.



Imagen 2. Hallazgos endoscópicos en esofagitis eosinofílica.



Imagen 3. Estudio de todas las biopsias de esófago con EoE (129) y otras patologías no eosinofílicas.

INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS (CEIm)

Dña. ROSA M^a CONDE VICENTE, Secretario del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos (CEIm) del Área de Salud Valladolid Oeste

CERTIFICA:

Que este Comité ha tenido conocimiento del Proyecto de Investigación, Trabajo Fin de Grado (TFG), titulado: **“Monitorización de la proteína e catiónica para valorar la eficacia de la inmunoterapia en la esofagitis eosinofílica”**, Ref. CEIm: PI014-20, Protocolo versión 1.0, y considera que:

Una vez evaluados los aspectos éticos del mismo, acuerda que no hay inconveniente alguno para su realización, por lo que emite **INFORME FAVORABLE**.

Este Proyecto de Investigación será realizado por las alumnas **D^a Elena Criado Albillos** y **D^a Sara Ramos Alonso**, siendo su tutora en el Hospital Universitario Río Hortega la **Dr. Alicia Armentia Medina**.

Lo que firmo en Valladolid, a 20 de Febrero de 2020

ROSA MARIA
CONDE
VICENTE - DNI
09206839D

Firmado digitalmente
por ROSA MARIA
CONDE VICENTE - DN
09206839D
Fecha: 2020.02.24
19:43:00 +01'00'

Fdo. Dña. Rosa M^a Conde Vicente
Secretario Técnico CEIm

Documento 1. Informe del comité de ética de la investigación con medicamentos.



MONITORIZACIÓN DE LA PROTEÍNA E CATIÓNICA PARA EVALUAR LA EFICACIA DE LA INMUNOTERAPIA EN LA ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA

Autores: Elena Criado Albillos, Sara Ramos Alonso. Tutor: Alicia Armentia. Cotutor: Sara Martín-Armentia



INTRODUCCIÓN

La proteína E-catiónica ha demostrado ser un marcador útil para la monitorización de muchas enfermedades eosinofílicas activas. En los últimos años, se han tratado con éxito a pacientes con esofagitis eosinofílica (EEO) con inmunoterapia dirigida (AIT) y una dieta por un diagnóstico por componentes (CRD).

¿Es posible que, mediante la medición seriada de proteína E-catiónica en el suero de los pacientes, podamos hacer un seguimiento y evaluar la efectividad de la AIT en pacientes con EEO?



OBJETIVO

El propósito de esta investigación es encontrar un método no invasivo con el que hacer un seguimiento a los pacientes que padecen EEO y monitorizar la respuesta al tratamiento con AIT.

MATERIAL Y MÉTODOS

1º Comparación niveles de ECP en:

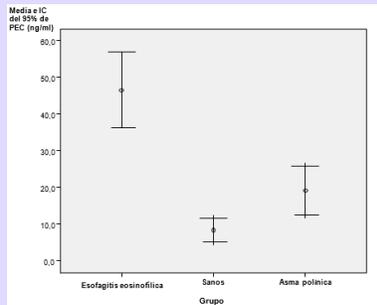
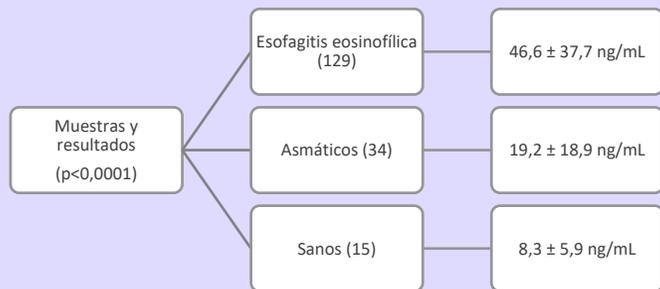
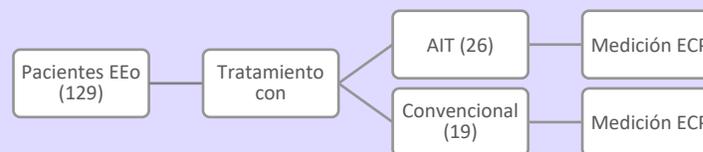


Figura 1. Media y niveles de ECP con IC 95% en pacientes con esofagitis eosinofílica, sanos y asmáticos por polen.

2º Comparación niveles de ECP en:



3º Correlación con hallazgos endoscópicos:



Hallazgos endoscópicos en Esofagitis Eosinofílica.

RESULTADOS

Se midieron los niveles más altos de ECP en pacientes con EEO con respecto a los pacientes asmáticos por polen, y superiores en ambos procesos con respecto a pacientes sanos. En pacientes tratados con AIT, se observó una marcada disminución de la ECP, significativamente mayor que en pacientes con tratamiento convencional. Esta mejora se correlacionó significativamente con los hallazgos clínicos y endoscópicos de la evolución favorable de la enfermedad.

	N	Antes trat.	Después	Sig.
Todos pacientes	45	41.6 ± 32.4	29.4 ± 30.3	<0,001
Pacientes con AIT	26	37.7 ± 29.5	14.3 ± 11.9	<0.001
Pacientes sin AIT	19	46.8 ± 36.1	50.1 ± 35.6	<0.001

Tabla: Estadísticas de muestras relacionadas de niveles de ECP, en pacientes antes y después del tratamiento.

CONCLUSIÓN

Se ha demostrado que la medición de la proteína E-catiónica puede ser útil para controlar la eficacia de la inmunoterapia específica como tratamiento en EEO, ya que se puede utilizar como un marcador de actividad de la enfermedad. De este modo, podría cambiarse la forma de enfocar el diagnóstico y seguimiento de estos pacientes evolucionando hacia un manejo menos invasivo y más cómodo tanto para el paciente como para los propios profesionales.

BIBLIOGRAFÍA

Armentia A, Martín-Armentia S, Álvarez-Nogal R, Armentia BM, Gayoso MJ, Fernández-González D. Germination of pollen grains in the esophagus of individuals with eosinophilic oesophagitis. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2019;49(4):471-3

Armentia A, Martín-Armentia S, Martín-Armentia B, Santos-Fernández J, Álvarez R, Madrigal B, et al. Is eosinophilic esophagitis an equivalent of pollen allergic asthma? Analysis of biopsies and therapy guided by component resolved diagnosis. *Allergol Immunopathol (Madr)*. abril de 2018;46(2):181-9