

**UNIVERSIDAD DE VALLADOLID  
FACULTAD DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA**



**ASMA ALÉRGICO, ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA Y  
ENFERMEDAD CELÍACA ¿QUÉ TIENEN EN  
COMÚN?**

**ESTUDIO MOLECULAR POR ARRAYS**

**TESIS DOCTORAL**

**SARA MARTÍN ARMENTIA**

**DIRECCIÓN**

**DR. JOSÉ ANTONIO GARROTE ADRADOS  
DRA. ALICIA ARMENTIA MEDINA**

**VALLADOLID**



**JOSÉ ANTONIO GARROTE ADRADOS y ALICIA ARMENTIA MEDINA**

Doctores en medicina y cirugía por la Facultad de Medicina de Valladolid.

CERTIFICAN:

Que **Dña. SARA MARTÍN ARMENTIA** Licenciada en Medicina por la Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid, ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo titulado:

**ASMA ALÉRGICO, ESOFAGITIS ESOFINOFÍLICA Y ENFERMEDAD CELÍACA. ¿QUÉ TIENEN EN COMÚN? ESTUDIO MOLECULAR POR ARRAYS”**

Revisada la investigación realizada que pasmada en la siguiente Memoria, estimamos que reúne los requisitos precisos de originalidad, hipótesis de trabajo, metodología, discusión y bibliografía necesarios para optar con ella al Grado de Doctora.

Para que conste a los efectos oportunos en Valladolid a

Fdo: J.A. Garrote Adrados

A Armentia Medina

## ***AGRADECIMIENTOS***

Mi más sincero agradecimiento a los facultativos de los servicios de Análisis Clínicos, Pediatría, Aparato Digestivo y en particular a la Unidad de Alergología e Inmunología clínica del Hospital Universitario del Río Hortega de Valladolid.

Deseo una especial mención al Profesor Antonio Garrote Adrados, Director de mi tesis, por su ayuda en el diseño metodológico y análisis del estudio.

Mi mayor gratitud así mismo por su apoyo y colaboración en el proyecto a mi hermana, la técnico Blanca Martín Armentia, pues sin su trabajo no hubiese sido posible.

A mis compañeros residentes del hospital.

A mi familia, a mi esposo.

A los pacientes, que son la razón de nuestra profesión.

Y por supuesto y siempre, gracias a mi madre, la Profesora Alicia Armentia Medina.

# ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN Y RESUMEN DE LA TESIS.....</b>	<b>Pág. 2</b>
<b>DEFINICIONES Y ABREVIATURAS .....</b>	<b>Pag. 6</b>
<b>JUSTIFICACIÓN Y ORIGINALIDAD DEL TEMA.....</b>	<b>Pag. 8</b>
<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>Pág. 11</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>Pág. 12</b>
<b>UTILIDAD PRÁCTICA DE LOS RESULTADOS .....</b>	<b>Pág. 14</b>
<b>LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>Pág. 15</b>
<b>REVISIÓN DOCTRINAL.....</b>	<b>Pág. 17</b>
• <b>Diagnóstico en Alergia.....</b>	<b>Pág. 17</b>
• <b>Diagnóstico molecular.....</b>	<b>Pág. 23</b>
○ <b>Principios de la técnica.....</b>	<b>Pág. 24</b>
○ <b>Inmunoterapia y diagnóstico molecular.....</b>	<b>Pag. 29</b>
• <b>Esofagitis Eosinofílica.....</b>	<b>Pág. 31</b>
• <b>Enfermedad Celíaca.....</b>	<b>Pág. 43</b>
• <b>Alergia respiratoria.....</b>	<b>Pág. 65</b>
○ <b>Asma alérgico.....</b>	<b>Pág. 67</b>
• <b>Inmunoterapia y su aplicación en esofagitis y celíaca.....</b>	<b>Pág. 75</b>
<b>PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>Pág. 85</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>Pág. 91</b>
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>Pág. 124</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>Pág. 138</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>Pág. 140</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>Pág. 180</b>

# INTRODUCCIÓN Y RESUMEN DE LA TESIS

## **Antecedentes:**

Las mucosas respiratoria y digestiva comparten un mismo origen embrionario, ambas son de origen endodérmico y en ambas se extiende el **tejido linfoide asociado a las mucosas** (MALT: *Mucosa-associated lymphoid tissue*). Los alérgenos pueden ocasionar inflamación de ambas mucosas. Entre las patologías inmunológicas más prevalentes se encuentran el asma alérgico, y en el aparato digestivo la celíaca y la esofagitis eosinofílica, esta última una enfermedad emergente.

**La esofagitis eosinofílica (EoE)** es una enfermedad con trasfondo alérgico caracterizada por disfunción esofágica e histológicamente por inflamación con infiltrado por eosinófilos. El tratamiento incluye dilataciones, corticoides deglutidos y dietas restrictivas, muchas veces ineficaces. La elección de qué alimento eliminar de la dieta es difícil y la provocación es complicada y tiene riesgos. La eliminación de alimentos fundamentales en los niños puede dar lugar a retraso en su desarrollo.

Hasta ahora, **no existen apenas** estudios randomizados destinados a conocer las causas reales y las medidas preventivas de la esofagitis eosinofílica ni de la colitis eosinofílica.

**La alergia por alimentos** se ha incrementado también en la última década y actualmente, se estima que afecta a un 2-8% de la población, con una especial incidencia de los alimentos de origen vegetal en pacientes adultos. Sin embargo, los métodos de diagnóstico y tratamiento (potencial inmunoterapia), así como el conocimiento de los mecanismos de sensibilización, desarrollo de síntomas clínicos y reacciones a distintas fuentes alérgicas son aún incompletos.

Por otro lado, **la enfermedad celíaca** es cada vez más importante por su elevada prevalencia y por las dificultades clínicas y económicas que plantea a los pacientes que

la padecen. En estudios previos se han encontrado pacientes celíacos con respuesta a diferentes alérgenos, lo que indica que sería posible una hipersensibilidad alérgica coexistente.

**El asma alérgico** es, junto a la rinitis alérgica, la patología alérgica más estudiada tanto en su etiopatogenia y fisiología como en su diagnóstico, tratamiento y pronóstico. Aunque la caracterización de los alérgenos más relevantes ha permitido mejorar el manejo clínico y ha contribuido a esclarecer sus mecanismos básicos, parece justificado aspirar, como etapa posterior, a la disección molecular de los alérgenos causales.

En estudios anatomopatológicos se han comprobado infiltrados eosinofílicos y patrones inflamatorios similares en la mucosa respiratoria y digestiva de pacientes con asma, celíaca y esofagitis, lo que induce a investigar si tienen algo en común..

### **Objetivos**

Realizar un estudio alergológico profundo y un análisis molecular por técnica de microarrays en pacientes con esofagitis, celíaca y asma alérgico. Esta técnica nos ayudará a detectar qué alérgenos estarían implicados en procesos inflamatorios inmunológicos de las mucosas respiratorias y digestivas, detectar similitudes y diferencias según la vía de sensibilización y la respuesta inmune implicada en cada caso y realizar si fuera posible un tratamiento con inmunoterapia específica más dirigida a la causa etiológica.

### **Material y métodos:**

El diseño del estudio fue exploratorio de carácter transversal con casos y controles.

Se valoró hipersensibilidad alérgica medida por IgE a diferentes moléculas y epítomos alérgicos recombinantes y nativos por técnica de microarrays y se comparó con otras técnicas alergológicas ya existentes en pacientes distribuidos en 4 grupos:

1. Pacientes con esofagitis eosinofílica (100 pacientes).

2. Pacientes con enfermedad Celíaca (50 pacientes).
3. Pacientes asmáticos de base alérgica a pólenes de gramíneas (50 pacientes).
4. Controles población sana procedentes de voluntarios del centro de Hemodonación.

### **Resultados:**

Terminaron el estudio finalmente 183 pacientes (55 con EoE, 28 celíacos, 50 polínicos y 50 sanos).

Predominó el sexo masculino y la población más joven fueron los celíacos y los pacientes diagnosticados de ambas enfermedades (15 en total). La asociación entre EoE y celíaca fue significativa ( $p < 0,001$ ). El primer grupo de alérgenos con el que se detectaron más positividades fue el grupo 1 de gramíneas, al que era sensible el 40% de los pacientes con EoE+celíaca y el grupo nCyn d1 del *Cynodon dactylon* o grama, al que era sensible el 53,3% de los pacientes con EoE+celíaca. El n Art v 3 de la artemisia, una proteína transportadora de lípidos (LTP) fue positivo en el 33,3% de pacientes con EoE+celíaca, seguido de las LTPs de avellana y nuez. Los alérgenos alimentarios más prevalentes en pacientes con EoE y celíaca fueron la nuez y la avellana (26,6%) y el melocotón (20%). Sólo el array detectó LTPs de trigo (grupo rTri a 14) en celíacos.

La dieta dirigida y la inmunoterapia específica a los alérgenos detectados durante dos años lograron una mejoría significativa tanto clínica como histológica en ambas enfermedades.

### **Conclusiones:**

- El análisis molecular por microarrays o CRD (component resolved diagnosis) fue útil en el diagnóstico y tratamiento de nuestros pacientes.
- La comorbilidad EoE-celíaca es prevalente (18% pacientes de nuestra serie)

padecían ambas enfermedades), lo que sugiere en parte mecanismos etiopatogénicos comunes.

- Se evidenció una elevada sensibilización a alimentos vegetales y a aeroalérgenos, en concreto a epítomos concretos de pólenes, que pueden causar la lesión inflamatoria al ser deglutidos. Las proteínas más implicadas son el grupo 1 (expansinas) de pólenes y las LTPs (asociadas a clínica grave).
- Nuestros pacientes llevan dos años con dieta de exclusión del alimento implicado y detectado por CRD e inmunoterapia específica con pólenes en el caso de altos niveles de respuesta a los mismos, con resultados favorables en los tres tipos de patología.

## DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

**MALT:** Tejido linfoide asociado a las mucosas

**EoE:** Esofagitis eosinofílica Se define una esofagitis eosinofílica (EoE) por una clínica clara de esofagitis con atragantamiento y una biopsia de la mucosa esofágica de más de 15 eosinofilos por campo.

**CRD:** *Component resolved diagnosis*. Diagnóstico molecular por microarrays.

**Alérgeno:** Los alérgenos son proteínas o glicoproteínas capaces de inducir la producción de IgE específica en individuos susceptibles de desarrollar enfermedades alérgicas. En este trabajo se estudian sobre todo aeroalérgenos y alérgenos alimentarios.

**El grano de polen** es un vehículo de aeroalérgenos de exterior más importante, para lo cual debe reunir unos requisitos de tener un diámetro de 15 a 60µm, proceder alérgenos de plantas anemófilas y liberar fácilmente en las mucosas.

Cuando el polen seco se rehidrata emite el tubo polínico al estigma de la flor. En experimentación animal se ha comprobado que también lo puede emitir en la mucosa conjuntival, respiratoria y orofaríngea y liberar sus alérgenos. Los pólenes más importantes en la patología alérgica en nuestra área de estudio son el del grupo de las Poaceas o gramíneas Se utilizan en cultivo y son base alimentaria de animales y el hombre y los animales. Hay diferentes grupos de pólenes, los más importantes son los grupos 1, 4, 5 y 6 de polen: (denominados en esta tesis **Pol.1,4,5,6**. Dentro de este grupo definimos los alérgenos más prevalentes:

**nLol p1:** Grupo 1 de *Lolium perenne* (ballico, ray grass pollen).

**nCyn d1:** Grupo 1 del *Cynodon dactylon* (grama, Bermuda grass pollen).

**Profilinas:** Son un grupo de proteínas raramente asociadas a síntomas clínicos, pero que pueden causar reacciones apreciables o incluso graves en una pequeña minoría de

enfermos y que además demuestran una gran homología y reactividad cruzada entre ellas. De estas, nombramos de forma abreviada:

**Prof T:** Profilinas de polen de árboles.

**Prof G:** Profilina de polen de gramíneas.

Otras proteínas alérgicas específicas de pólenes:

**Pol T:** Polcalcinas de polen de árboles.

**Pol G:** Polcalcinas de polen de gramíneas.

Otros alérgenos importantes en nuestros pacientes serán :

**nDer p1** y **Der p2:** Cistein-proteasas de *Dermathophagoides pteronyssinus* y *farinae*.

**rAlt a 1:** Glicoproteína ácida recombinante de *Alternatia alternata* (hongo).

**nApi m1:** Fosfolipasa nativa A2 de veneno de abeja.

**Ves v5:** Fosfolipasa nativa A2 de veneno de avispa.

**rAni s 1:** Inhibidor recombinante de la serinproteasa de *Anisakis simplex*.

Proteínas transportadoras de lípidos: son un grupo de proteínas estables al calor y a la digestión que causan reacciones alérgicas incluso en alimentos cocinados, a menudo se asocian a reacciones alérgicas a frutas y verduras del sur de Europa.

**nPrup3:** Proteína transportadora de lípidos (LTP) de melocotón.

**rCor a 8:** Proteína transportadora de lípidos (LTP) de avellana.

**nArt v3:** Proteína transportadora de lípidos (LTP) de artemisia.

**Reactividad cruzada y CCD: Determinantes carbohidratos de reactividad cruzada :**

Muchos alérgenos son glicoproteínas; los llamados CDC son los glicanos unidos a las proteínas capaces de inducir una respuesta alérgica frente al glicano. Los glicanos unidos a proteínas de mamíferos no inducen este tipo de reacción dado que son comunes a todos los mamíferos, no así la presencia de glicanos en los vegetales, causa importante de antigenicidad.

## JUSTIFICACIÓN Y ORIGINALIDAD DEL TEMA

En la presente tesis pretendemos encontrar qué tienen en común tres patologías inmunes prevalentes: asma alérgico, esofagitis eosinofílica y celíaca, con el fin de aportar hallazgos útiles en su diagnóstico y terapéutica.

La **esofagitis eosinofílica** es una enfermedad atópica del esófago cuyo diagnóstico ha ido incrementándose en la última década. Este diagnóstico se realiza por la clínica y por los hallazgos histológicos. Esta enfermedad aparece tanto en niños como en adultos de todo el mundo. La inflamación del esófago provoca, aparte de síntomas de atragantamiento grave, un profundo impacto sistémico y emocional para el paciente y su familia.

Hay diversos tratamientos sintomáticos como corticoides deglutidos, inhibidores de la bomba de protones, modificadores de los leucotrienos y paliativos como la dilatación mecánica del esófago, pero aún no existe un tratamiento etiológico. El tratamiento actual en niños con corticoides y evitación de 6 alimentos fundamentales puede alterar su desarrollo y somete al niño a múltiples estudios endoscópicos y biopsias.

El tratamiento etiológico sería fundamental para saber qué moléculas han causado la inflamación eosinofílica de la mucosa esofágica y tratar de eliminarlas (1-15).

**Los datos de alergia y atopia están presentes en la historia clínica de hasta un 80% de los pacientes que padecen EoE, generalmente alergia alimentaria en los niños. Se ha descrito además que hasta un 60% padecen también enfermedad respiratoria crónica (8). Existen series de casos publicados que sugieren que los aeroalérgenos son causantes también de EoE con exacerbaciones y pruebas con biopsia positiva en los meses cálidos y que remiten en invierno (9).**

Por otro lado, **la enfermedad celíaca** es cada vez más importante por su elevada prevalencia y por las dificultades clínicas y económicas que plantea a los pacientes que la padecen.

En estudios anatomopatológicos se han visto lesiones eosinofílicas similares en mucosa digestiva de pacientes con celíaca y esofagitis, y éste infiltrado eosinófilo es muy similar al observado en la mucosa respiratoria en enfermos con asma alérgico provocado por alimentos, como el asma del panadero (11, 14, 15).

Las técnicas alergológicas de rutina (pruebas de punción o prick tests) y la inmunodetección de IgE tienen un pobre valor predictivo para alérgenos alimentarios en esofagitis y en celíaca (4-10). Las técnicas de provocación con alimentos son muy complicadas y tienen riesgo, y más si existiera una polisensibilización. Además podrían causar clínica grave en celíacos. Tampoco las medidas terapéuticas utilizadas hasta la actualidad en la esofagitis consiguen mejorar la clínica que produce un grave deterioro de la calidad de vida (11). En el caso de la celíaca la eliminación del gluten es eficaz pero en familias con pocos recursos constituye un problema comprar sustitutivos por su elevado precio.

En estudios previos hemos encontrado pacientes celíacos con respuesta alérgica a diferentes proteínas de cereales y pólenes de gramíneas, lo que indica que un paciente celíaco puede también sensibilizarse a alérgenos por mecanismo mediado por IgE y sería teóricamente posible una inmunoterapia específica dirigida.

Sería muy importante completar en enfermos celíacos y con esofagitis un análisis molecular de todas las proteínas implicadas para una restricción dietética más dirigida o si no es posible, un tratamiento hiposensibilizante específico y seguro. Para ello pretendemos utilizar técnica de microarrays, basada en la moderna tecnología de los biochips (*component resolved diagnosis*, CRD). Es una plataforma de

microinmunoensayos que permite determinar, en el panel actual, hasta 112 componentes alergénicos, nativos y recombinantes de aeroalérgenos y alimentos, pudiendo obtener un perfil de sensibilización a alimentos del paciente alérgico de una manera más específica y completa.

En resumen, aunque la enfermedad celíaca y la alergia al trigo son dos entidades patogénica y clínicamente distintas, ambas están relacionadas a respuestas de hipersensibilidad a epítomos que también son potencialmente alergénicos. Existen celíacos que pueden sufrir alergia al trigo y a otros alimentos y aeroalérgenos. La esofagitis eosinofílica puede resultar una enfermedad puente entre ambas. La comparación con el asma alérgico, de etiopatogenia más conocida, nos puede clarificar los mecanismos y asociaciones en las 3 enfermedades. Los estudios moleculares pueden ser una herramienta útil en la tipificación de un subgrupo de pacientes celíacos y de pacientes con esofagitis eosinofílica, que podría beneficiarse de terapias desensibilizantes como tratamiento adjuvante a la dieta sin gluten.

Para realizar esta técnica será necesario estudiar una serie amplia de pacientes recogidos en el Servicio de Digestivo del Hospital Río Hortega, y controles de alérgicos alimentarios y sanos.

## HIPÓTESIS

La esofagitis eosinofílica es una patología inflamatoria emergente y grave de origen inmunológico y de difícil diagnóstico etiológico. La alergia alimentaria puede ser su base etiológica pero aún no existe una técnica diagnóstica fiable y libre de riesgos. La celíaca es una enfermedad que afecta preferentemente al intestino pero que presenta también un infiltrado eosinofílico en los estudios anatomopatológicos. Pacientes con asma ambiental pueden sufrir también daños alérgicos de mucosa digestiva. No existen estudios que indiquen que no sea posible la coexistencia de una sensibilización alérgica mediada por IgE en pacientes con esofagitis y celíaca.

*Puede existir un nexo de unión entre estas enfermedades que afectan al sistema inmune de las mucosas digestivas.* Puede existir un paralelismo en la respuesta a alérgenos que sufre la mucosa respiratoria en el asma. Un mismo paciente puede tener enfermedad celíaca y además alergia al gluten, ambas patologías mediadas por diferentes respuestas inmunes. Las enfermedades inmunes no son excluyentes y el sistema inmune puede implicarse en diferentes tipos de respuesta humorales y celulares.

Así mismo es posible que exista una respuesta molecular diferente a distintos alérgenos alimentarios según sea la vía de sensibilización a los mismos y que se puedan investigar los epítomos implicados.

Es posible un patrón de respuesta inmune específico de estas enfermedades, aún por dilucidar. Si conocemos los epítomos a los que responde cada paciente podríamos intentar una evitación dietética más dirigida y una terapia hiposensibilizante o inmunomoduladora más específica y precisa.

# OBJETIVOS

## Objetivo principal

El objetivo de esta tesis será intentar un abordaje diagnóstico de la esofagitis eosinofílica y la celíaca con pruebas alergológicas que habitualmente se utilizan para el diagnóstico del asma alérgico. Realizaremos estudio molecular de una posible hipersensibilidad mediada por IgE a diferentes alérgenos alimentarios (nativos y recombinantes) en población afectada de asma, esofagitis eosinofílica y celíaca para intentar encontrar los epítomos implicados en estas enfermedades y compararlos con los que causan asma. Intentaremos demostrar nexos patogénicos en las tres enfermedades.

## Objetivos específicos (aplicaciones):

### Los objetivos específicos serán:

- Valorar la incidencia de respuesta mediada por IgE en una muestra amplia de pacientes con esofagitis eosinofílica y celíaca y compararlos con una muestra de alérgicos con clínica respiratoria (asmáticos polínicos) y sanos.
- Valorar la utilidad de la medición del análisis molecular por arrays como parámetro eficaz en detectar población hipersensible a proteínas de alimentos o a otros alérgenos por mecanismo IgE, comparando la rentabilidad y eficiencia diagnóstica de las diferentes determinaciones.
- Valorar la eficacia de las pruebas cutáneas y medición de IgE específica al posible alimento causal para el diagnóstico y la prevención de reacciones adversas al mismo en pacientes diagnosticados de esofagitis eosinofílica y celíaca .
- Valorar si la sensibilización a pólenes de gramíneas sería un factor de riesgo de esofagitis o celíaca.

- Valorar eficiencia del análisis molecular para el diagnóstico etiológico de esofagitis.
- En el caso de encontrar alérgenos incriminados en estas enfermedades, y que exista una inmunoterapia específica comercializada, valorar tras dos años de aplicación de inmunoterapia dirigida la evolución clínica de estos pacientes.

## UTILIDAD PRÁCTICA DE LOS RESULTADOS QUE SE PRETENDE OBTENER

Pensamos que la nueva tecnología del análisis molecular mediante microarrays podría ayudarnos a comprender los diferentes perfiles de reactividad a los distintos alérgenos de alimentos implicados en la esofagitis eosinofílica y en la celíaca. Podríamos diagnosticar su etiología de una manera menos agresiva para el paciente (pudiendo evitar provocaciones y biopsias) y más precisa que alérgenos son altamente específicos para la esofagitis eosinofílica y en la celíaca, cuales lo son para la alergia alimentaria o el asma, y que detecciones de anticuerpos son debidas a reactividades cruzadas con otros alimentos.

Creemos también que sería muy importante completar el análisis molecular de todas las proteínas alérgicas posiblemente implicadas en la hipersensibilidad para una restricción dietética estricta, pero mucho más dirigida o si no es posible, un tratamiento hiposensibilizante específico y seguro.

Este método, sencillo sensible y objetivo tendría importantes repercusiones sociales, terapéuticas (inmunoterapia específica dirigida) y en la industria y creemos sería factible una transferencia útil de resultados de la investigación al sector productivo que concluyera en nuevas patentes y en beneficios tangibles para nuestros pacientes para nuestras instituciones sanitarias.

Todos los estudios de proteómica tienen en la actualidad la novedad suficiente para ser publicados en revistas de alto impacto. Aportamos en los anexos de esta tesis las publicaciones piloto que hemos realizado sobre este tema.

## LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

- Dificultad de encontrar pacientes con enfermedad celíaca en los que aún no se haya retirado el gluten. Al estar retirado el gluten, y a pesar de que la IgE específica al trigo, si la hubiera, persistiría en el suero, es posible que no fuera bien detectada en los microarrays.
- Si se demostrara una sensibilización a un alérgeno vegetal con reactividad cruzada con pólenes, y se administrara inmunoterapia específica a pólenes y evitación de ese alimento, sería después difícil demostrar que la mejoría sea por la retirada de este o por la inmunoterapia. Pero tampoco será ético no eliminar de la dieta cuanto antes un posible trofoalérgeno patógeno.
- En los controles no se incluyen niños, como en los otros grupos, ya que proceden de donantes de sangre, y en hemodonación sólo población adulta es requerida.
- Los estudios anatomopatológicos todavía no están suficientemente desarrollados. Aunque hemos enseñado a los patólogos del Hospital imágenes de pólenes polinizando en mucosas de esófago de ratas, estas imágenes eran consideradas anteriormente como artefactuales, y descritas en el caso del tubo polínico como imágenes de sección tubular no vasculares. Nuestros patólogos han valorado las biopsias de los pacientes y han podido encontrar eosinófilos rodeando los tubos polínicos que penetran en la mucosa pero este tipo de estudio aún es difícil de interpretar. Si que se han podido obtener buenas imágenes en microscopio electrónico de pólenes en mucosa digestiva.
- Ante un paciente con esofagitis, cuando es atendido por primera vez por un

especialista en Gastroenterología, usualmente se inicia tratamiento empírico con inhibidores de la bomba de protones y/o también con corticoides deglutidos. Esta medicación puede haber modificado estudios biópsicos posteriores, aunque en nuestros pacientes hemos retirado los corticoides deglutidos.

- Puede ser difícil el tratar de explicar que para el tratamiento de una esofagitis vamos a utilizar una inmunoterapia que normalmente se utiliza en patología alérgica ambiental, como una inmunoterapia por pólenes. En algún paciente este tratamiento ha sido retirado por otros especialistas al considerarlo una confusión.

# REVISIÓN DOCTRINAL. DIAGNÓSTICO DE ALERGIA

## PRUEBAS *IN VIVO*

La alergia mediada por IgE incluye la mayoría de las respuestas de hipersensibilidad a agentes ambientales, alimentos y fármacos. Las pruebas en piel son un elemento muy importante en el diagnóstico de la alergia mediada por IgE. El diagnóstico de este tipo de alergia se basa en identificar el posible alérgeno mediante una cuidadosa anamnesis que debe especificar la clínica que del paciente y que sea compatible con alergia, demostrar que existe IgE específica al alérgeno por pruebas *in vitro* o *in vivo*. Una prueba de alergia positiva que no se acompañe de sintomatología alérgica no es suficiente para establecer un diagnóstico.

Las pruebas *in vivo* (prick, provocaciones) son peligrosas en pacientes muy alérgicos, por lo que siempre deben ser realizados por especialistas

Las pruebas en piel son las más rápidas, sensibles y coste efectivas que existen para detectar la enfermedad mediada por IgE. EL procedimiento dura menos de una hora y es cómodo para el paciente (16). El tamaño de una reacción positiva nos da alguna indicación del grado de sensibilidad del paciente a un alérgeno específico, sin embargo esto varía mucho entre pacientes. El hecho de poder ver la reacción (edema, eritema) ayuda al paciente a comprender el mecanismo por el que se produce la alergia. Además pueden hacerse extractos para un gran grupo de alérgenos por lo que es muy útil cuando queremos evaluar un alérgeno atípico.

Los métodos de diagnóstico de alergia en piel más importantes son el prick (punción) y el método intradérmico, menos generalizado.



Obtenido de: 1. [www.img.webmd.com](http://www.img.webmd.com) 2. [www.allergyclinic.co.uk](http://www.allergyclinic.co.uk)

Mecanismo biológico: Las pruebas de micro-punción o Prick se fundamentan en la

detección de IgE específica en los mastocitos del paciente. Una reacción positiva implica que los mastocitos del organismo reaccionan a la exposición de un alérgeno. Cuando las IgE del paciente entran en contacto con el alérgeno se inicia la cascada inflamatoria (degranulación de mastocitos y génesis de novo de mediadores inflamatorios. La histamina es el mediador más significativo en la respuesta inflamatoria pero también hay otros (Prostaglandinas, tromboxanos, etc.) por eso el tamaño del habón no se correlaciona directamente con las concentraciones de histamina liberada.

La reacción inmediata cuando la prueba es positiva es el habón, sin embargo existen reacciones retardadas como sensación de calor, prurito y eritema que pueden empezar 1 o 2 horas después y durar hasta 24-48 horas.

Si se demuestra una reacción positiva tanto en las pruebas *in vivo* como *in vitro* se dice que esa persona está sensibilizada a dicho alérgeno.

Para diagnosticar alergia se requiere sintomatología en la historia clínica. No todos los pacientes sensibilizados desarrollan sintomatología alérgica. También hay diferencias en cuanto al tipo de alérgeno. Por ejemplo solo un 50% de los prick positivos a alimentos indican realmente alergia alimentaria. Sin embargo, la proporción de pacientes con prick positivo al polen que tienen reacción alérgica cuando inhalan este alérgeno es mucho más alta. Un prick positivo con síntomas durante la estación correspondiente es suficiente para establecer el diagnóstico.

Indicaciones del prick: Diagnostica una gran variedad de patologías alérgicas cuyo mecanismo se produce por IgE (Ej: asma, rinitis, conjuntivitis, alergia a alimentos, a fármacos a venenos, animales, y a algunos materiales como el látex).

Para elegir los alérgenos que vamos a probar en el paciente debemos tener en cuenta su historia clínica. Por ejemplo para un paciente con asma y rinitis sería apropiado elegir un panel de extractos para alérgenos de interior (ácaros) o de exterior (polen).

Contraindicaciones de las pruebas en piel: Las pruebas en piel están contraindicadas cuando su realización suponga un riesgo para el paciente como puede ser una anafilaxia. Tampoco se deben realizar en personas que estén tomando medicamentos que puedan desvirtuarlas como pueden ser los antihistamínicos, corticoides y anti H2 como la ranitidina.

Otras contraindicaciones incluyen a cardiópatas, embarazadas, y personas con enfermedades de la piel como el dermatofismo, la mastocitosis cutánea y la urticaria aguda y crónica. Para estos pacientes la medida de IgE específica es mejor opción para el diagnóstico de alergia, como luego veremos.

Otro problema de las pruebas en piel es la edad del paciente. Los lactantes pueden tener falsos negativos, sin embargo en escolares pueden obtenerse falsos positivos. La reactividad de la piel aumenta gradualmente y se estanca en la adolescencia y madurez

para volver a descender a partir de los 60 años (2,3). Los ancianos responden con menos intensidad a los controles de histamina y se ha encontrado una gran discordancia en los niños menores de 4 años entre los test en piel y la IgE específica en suero.

Otro agente que puede influir en los resultados de las pruebas en piel es el extracto. Los extractos estandarizados y comerciales son preferibles. Los no estandarizados pueden incluir sustancias irritantes que pueden provocar falsos positivos.



Obtenido de: <http://www.theallergyclinic.co.ke/images2/patch.png>

### PRUEBAS *IN VITRO*

La mayoría de las pruebas diagnósticas de alergia son para descubrir si hay sensibilización alérgica o la presencia de IgE alérgeno específica. Los pacientes que experimentan síntomas tras la exposición a un alérgeno tienen IgE específica que reconoce ese alérgeno en particular, haciendo que estas pruebas sean herramientas esenciales en la patología alérgica.

De todas formas, la demostración de una sensibilización no es suficiente para diagnosticar una alergia, dado que un individuo sensibilizado puede estar enteramente asintomático cuando se expone a dicho antígeno. Menos frecuente es el hecho de que un paciente que reacciona ante un alérgeno no tenga IgE específica detectable en los test de rutina (16-18).

Los test diagnósticos en alergia deben ser interpretados en el contexto de la historia específica del paciente y el diagnóstico no puede ser basado solamente en un test de laboratorio.

Los exámenes de alergia en piel son preferibles a las pruebas *in vitro* para la mayoría de los alérgenos debido a que se obtienen más rápidamente, son más baratos y más sensibles (18, 19) Sin embargo las pruebas *in vitro* tienen amplias ventajas frente a las realizadas en la piel: no generan riesgo de reacción alérgica, no se afectan con la medicación que el paciente esté tomando (ej antihistamínicos) y no depende de las características de la piel, esto es muy útil en pediatría, sobre todo en lactantes menores de 12 meses en los que la sensibilización no se refleja claramente en la piel. Por el contrario los inmunoensayos se pueden hacer en bebés de hasta 6 semanas incluso con muestras de sangre capilar. Por otro lado tampoco le influyen las características de la piel como la dermatitis atópica y el dermatografismo que son muy frecuentes en los niños.

Además en pediatría se ha descubierto que al menos para la alergia a comidas que el nivel de IgE específica medida por el sistema InmunoCAP® de Phadia que es el que usamos en este estudio, puede ser más predictivo que las pruebas en piel para diagnosticar la reactividad clínica con la ingestión de ciertos alimentos. La extensión de estos supuestos en adultos aún no ha sido confirmada (20).

## PRUEBAS *IN VITRO* MÁS COMUNES.

Las pruebas *in vitro* más comúnmente usados son los inmunoensayos. La medida de IgE total también se usa mucho pero tiene poco valor diagnóstico.

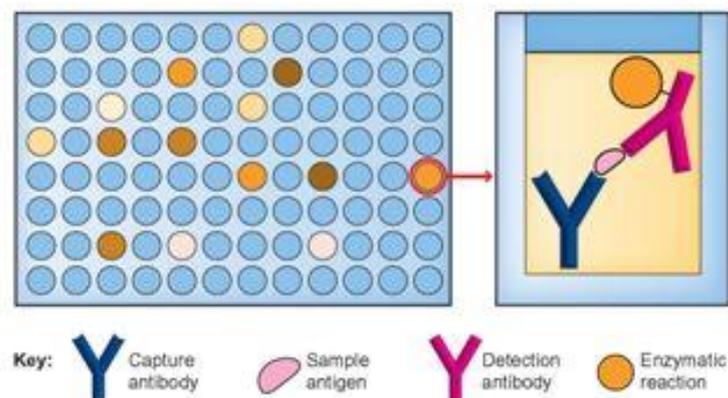
Inmunoensayos:

Se basan en la reacción antígeno anticuerpo. En la patología alérgica los antígenos relevantes son frecuentemente proteínas derivadas de otros organismos vivos (animales, vegetales, insectos...) Los anticuerpos de interés en patología son moléculas de IgE que reconocen varios epítomos en el alérgeno

Tipos:

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas. Cuando se añade el substrato correspondiente a la enzima esta genera una reacción colorimétrica.

RAST (Radioalergosorbent test) radioalergoabsorbencia: implica anticuerpos que son unidos a moléculas radioactivas. Este método apenas se usa ya en la actualidad por lo que es incorrecto y un anacronismo cuando se aplica a los inmunoensayos en general (4).



Obtenido de: [www.abdcam/ELISA](http://www.abdcam/ELISA)

El antígeno se acopla a una matriz (en fase sólida por ejemplo se usa una bandejita de plástico, un disco u otro sustrato) posteriormente se añade el suero del paciente, que contiene anticuerpos de varias clases (IgE, IgM, IgA...) que sirven como anticuerpos primarios (de captura) estos anticuerpos se unen al alérgeno si reconocen epítomos de la proteína alérgica por lo que se pueden unir diferentes tipos de anticuerpos. Los anticuerpos que no se unen son lavados y entonces cualquier IgE unida se diferencia de

los otros tipos de inmunoglobulina unida usando anticuerpos anti IgE (anticuerpos de detección) que están unidos a la enzima. Cuando se añade el sustrato de esa enzima se forma la reacción colorimétrica que pone de manifiesto los anticuerpos detectados.

Los inmunoensayos son tanto cuantitativos como cualitativos. Las moléculas de IgE específica del suero del paciente se unen al antígeno en proporción directa a la concentración que existe en el suero. Permitiendo así que la cantidad de IgE específica se pueda estimar con una referencia a una curva de control.

### **INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.**

Los pacientes con niveles más altos de anticuerpo están más predispuestos a experimentar síntomas derivados de la exposición al alérgeno comparados con los pacientes con niveles más bajos aunque los resultados altamente positivos no predicen que la anafilaxia es más predecible que otras enfermedades IgE mediadas como puede ser la urticaria. Lo que es más, para la mayoría de los alérgenos no se han determinado unos niveles umbral de IgE por encima de los cuales los pacientes presenten clínica (21).

Una excepción notable a esto es la utilidad de los resultados de Phadia InmunoCAP® para algunos alimentos, especialmente en los pacientes pediátricos. Esta medida de IgE específica ha sido determinada en niños con historia clínica compatible. No obstante en adultos todavía no está definido (22-24).

### **PAPEL DE LOS INMUNOENSAYOS EN EL DIAGNÓSTICO DE ALERGIA:**

- Si el resultado es muy positivo, la historia sugiere una reacción pasada al alérgeno y el alérgeno está bien definido, entonces se puede establecer el diagnóstico de alergia sin más exámenes
- Si el resultado es positivo débil, entonces se necesitará realizar más pruebas para realizar el diagnóstico.
- Un resultado negativo en el contexto de una historia muy sugerente no excluye el diagnóstico de alergia. Si no está contraindicado, deberán realizarse pruebas en piel.
- Las pruebas *in vitro* se piden a veces para confirmar los pricks negativos en piel. Por ejemplo en un paciente que ha sufrido una reacción sistémica por picadura de avispa y tiene un prick negativo deberá hacerse niveles de IgE y también asegurarse de que el resultado en piel no era un falso negativo.
- Los falsos positivos también pueden ocurrir en pacientes con niveles altamente elevados de IgE. Por ejemplo los pacientes con síndrome de hiperinmunoglobulinemia tipo E pueden tener altos valores de IgE total y pricks positivos a alérgenos para los cuales no tengan una historia clínica compatible.

Esta situación es muy rara.

## **NIVELES TOTALES DE IgE EN SUERO**

La medida de IgE total no debe ser confundida con la medida de IgE específica. Los pacientes con patología alérgica, como asma y rinitis, tienen habitualmente niveles muy elevados de IgE en comparación con el resto de la población sana. Aunque una tasa total de IgE elevada pueda indicar que el paciente es atópico, esta no proporciona información sobre su condición o a qué alérgenos es sensible el paciente. La utilidad de esta medida es limitada excepto para el diagnóstico y seguimiento de algunas enfermedades como las infecciones por parásitos, la aspergilosis broncopulmonar, el síndrome de hiperinmunoglobulinemia IgE, etc. No se ha demostrado que sea de utilidad en el seguimiento de las enfermedades que tratamos a continuación, la esofagitis eosinofílica y la enfermedad celíaca. Sin embargo sí que se ha demostrado que puede ser útil en el tratamiento del asma alérgico severo con terapia anti IgE (ej Omalizumab)

## **OTRAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS EN ALERGIA.**

**Inmunoblotting:** El inmunoblotting es una técnica no cuantitativa que se usa principalmente en investigación. Detecta anticuerpos contra múltiples proteínas dentro de un mismo agente alérgico. La mezcla de las proteínas se separa con arreglo al peso molecular en gel de electroforesis. Las proteínas una vez separadas son transferidas a una membrana de nitrocelulosa (existen kits comerciales que contienen las proteínas ya preparadas). La membrana se incuba junto al suero del paciente y después se lava para eliminar los elementos que no se han unido. Después se une a anticuerpos específicos anti IgE humana que han sido unidos en el papel de nitrocelulosa. Los resultados son comparados con un suero de referencia.

**Test de activación de basófilos:** Los basófilos y los mastocitos expresan un receptor de IgE muy potente en su superficie celular que cuando la detecta hace que se activen. Estas pruebas consisten en aislar los basófilos circulantes en la sangre del paciente y luego ser incubados con el alérgeno. No se usa mucho este test debido a que estas células se activan también con una gran variedad de estímulos por lo que son muy difíciles de manipular y transportar.

**Diagnóstico molecular en alergia (*component resolved diagnosis*):** utiliza alérgenos recombinantes y nativos para encontrar el epitópo antigénico preciso al que reaccionan los pacientes que son estudiados. Es la técnica que usamos en este estudio y que explicaremos a continuación.

## DIAGNÓSTICO MOLECULAR

En el momento actual la disponibilidad de alérgenos recombinantes y purificados permite determinar IgE específica frente a diversos componentes alérgicos (25). De esta manera es posible diagnosticar el perfil de sensibilización individual de cada paciente. La técnica de las micromatrices (microarrays) permite determinar IgE específica frente a múltiples alérgenos y al mismo en un mismo paciente con una mínima cantidad de suero e incluso permite en una misma muestra de suero determinar IgG e IgM frente a los mismos alérgenos. Ya se están desarrollando no sólo determinaciones de anticuerpos, sino ensayos de activaciones celulares en micromatrices. Además ayudará a explicar reacciones cruzadas, facilitará realizar una evaluación a sujetos en los que no podemos realizar pruebas cutáneas.

Va a significar un gran impulso para el desarrollo de la inmunoterapia dirigida a las sensibilizaciones de cada paciente, consiguiendo formas especialmente hipoalérgicas con gran poder inmunogénico, mejorando la seguridad y la eficacia de la inmunoterapia. Finalmente, estas técnicas van a facilitar la comprensión de la fisiopatología de las enfermedades alérgicas.

Cuando se habla de nuevos métodos de diagnóstico, es bueno no perder de vista la perspectiva histórica. En la década de 1930, Alexander Francis declaró que "Las pruebas cutáneas son simples y fascinantes"; y las vacunas utilizadas para inmunizar contra las proteínas que parecen ser la causa de los síntomas, se hicieron tan populares y universales que se creía que la cura para todas las formas de asma estaban al alcance de la mano. Años más tarde, el descubrimiento de la IgE genera polémica entre los que defendían la fiabilidad de las pruebas cutáneas y los que defendían el diagnóstico *in vitro*, al punto de que un editorial afirmaba que la determinación específica de IgE podrían sustituir rápidamente en la práctica clínica a las primitivas pruebas cutáneas [25]. Tal vez lo mismo sucederá con el diagnóstico molecular. Sin embargo, está claro que las medidas adoptadas por Charles Blakely en la investigación de su propia polinosis mediante la realización de una prueba cutánea en su propia piel, o por Kimishige y Teruko Ishizaka por un lado y Johansson en el otro en el descubrimiento de la IgE, que constituyen hitos en el conocimiento y tratamiento de las enfermedades alérgicas.

A finales de 1980, cuando el primer alérgeno fue clonado [26], se abrió una nueva era para la producción de alérgenos recombinantes purificados y su utilización en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades alérgicas [27].

Hasta ese momento, era posible determinar la fuente alérgica a la que un determinado paciente era sensible. Con la aplicación del diagnóstico molecular o técnicas de diagnóstico por componentes, es posible definir el perfil de sensibilización de cada individuo, es decir, podemos establecer qué partes del alérgeno son reconocidos por cada paciente individualmente. En los últimos años hemos visto la caracterización y la

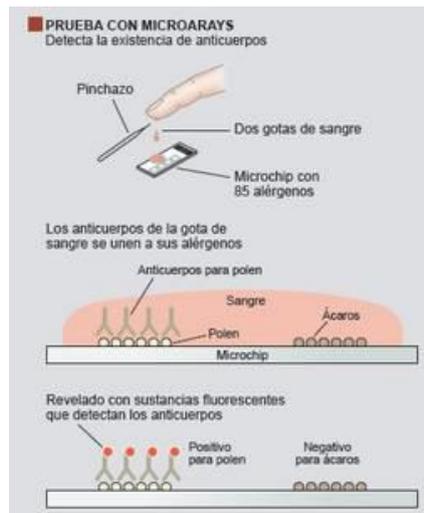
producción de los más relevantes alérgenos a nivel molecular, y la mayoría se han generado como proteínas recombinantes [28]. El número de nuevos alérgenos recombinantes purificados ha aumentado de manera constante, y es casi imposible estudiar todas las familias de recombinantes relacionados en un mismo paciente.

Posteriormente, el esfuerzo se centró (y permanece centrado) en la confirmación de que los alérgenos recombinantes disponibles o alérgenos naturales, son aquellos reconocidos por la IgE del paciente, y que desencadenan los síntomas. El objetivo es establecer que poseen un perfil de reconocimiento del epítipo IgE similar a al de los alérgenos que han sido estudiados hasta la fecha. Además, se están realizando determinaciones para establecer que el panel de alérgenos es representativo de un determinado tipo de sensibilización [29].

## **PRINCIPIOS DE LA TÉCNICA**

Los microarrays o biochips se han desarrollado como una herramienta para el análisis de la expresión de genes en los genomas. Desde su introducción a principios de 1990, la tecnología de microarrays de ADN se ha aplicado para la determinación de ácido nucleico, y esto a su vez fue seguido del análisis de la expresión de ARN. Se necesitaba este paso entre otras razones porque la exploración de la expresión génica necesita herramientas cada vez más eficaces para el estudio de la expresión de proteína a nivel intracelular. La técnica de microarrays para proteínas se desarrolló así, adoptando la misma tecnología de microarray utilizada inicialmente en el ADN.

La técnica de microarrays es un inmunoensayo en fase sólida múltiple en la que las proteínas (recombinante purificada o natural alérgenos) se inmovilizan en una fase sólida, y con cantidades muy pequeñas de suero y se incuban con estas proteínas en condiciones estandarizadas. Los anticuerpos presentes en el suero son captados por los diferentes alérgenos, y después de un lavado para eliminar las sustancias no unidas, los anticuerpos se detectan por medio de un anticuerpo antiisótopo marcado con fluoresceína anticuerpo o una enzima que se detecta mediante láser o quimioluminiscencia.



Hasta la fecha, la IgE específica se ha determinado en un individuo alérgico por un alérgeno base. Con la técnica de microarrays, en un mismo suero de la muestra se determinan múltiples componentes alérgicos, y también permite determinar en el mismo suero muestra y de forma simultánea, no sólo IgE, sino también de IgG, IgM e IgA dirigido a los mismos alérgenos.

Como en el caso de los microarrays de ADN, la técnica se realiza sobre superficies sólidas, como portaobjetos de vidrio de alta calidad, del mismo tipo de los utilizados en la microscopía de luz. Para la inmovilización de la proteína en el sistema [31,32], la superficie se modifica por ejemplo, con nitrocelulosa o estructuras tipo gel. Los diferentes tipos de proteínas (recombinantes, anticuerpos, péptidos o heptámeros) se depositan en espacios micrométricos utilizando la robótica (en la actualidad esto permite depositar hasta 30.000), seguido por la reacción con el ligando. Esta reacción de unión es detectada por anticuerpos marcados con fluorescencia mediante técnicas de tñido o técnicas combinadas. La fluorescencia se detecta habitualmente por láser. Para calcular y analizar los resultados de una manera semicuantitativa, se necesita un software especial que compare la fluorescencia de los alérgenos de estudio con la curva de concentración de una IgE conocida, lo que sirve para extrapolar el resultado de la prueba.



Imágenes de laboratorio de Alergia del Hospital Río Hortega

El proceso puede durar hasta 5 horas. El número de pacientes depende del número de portaobjetos procesados al mismo tiempo. En el caso de IgE específicas, sobre la base de la técnica utilizada por los autores del prototipo VBC-Genomics, cada portaobjeto se puede utilizar para estudiar hasta cuatro pacientes.

El concepto de una “protein ligand reaction” se publicó por primera vez en hace unos 15 años [31]. Estas reacciones no se pudieron hacer antes por la dificultad de fijar proteínas en un espacio tan pequeño debido a su tamaño, su carga y su estructura tridimensional. No fue hasta 10 años más tarde cuando el uso de microarrays con alérgeno raw en portaobjetos convencionales fué publicado por primera vez utilizando un amplificador de señal [32]. Posteriormente, Kim et al. Realizaron la técnica utilizando nitrocelulosa como base del chip [33]. Además, hay que señalar la dificultad que plantea la posible desnaturalización de las proteínas durante el proceso de fijación, y el hecho de que el reconocimiento por la IgE requiere la preservación de la estructura terciaria.

En resumen, la técnica constituye un enzimoimmunoensayo específico indirecto semicuantitativo IgE (EIA). La principal ventaja con respecto a otros métodos es que podemos realizar múltiples determinaciones de IgE específica dirigida a un panel de componentes alergénicos que puede ser ampliado. La técnica reconoce la IgE del paciente por medio de un anticuerpo secundario marcado con fluoresceína. Como se ha comentado anteriormente, un panel de proteínas recombinantes o alérgenos naturales están inmovilizados en un chip con dimensiones que permiten su fácil manejo (el tamaño de un portaobjetos de vidrio). Con la técnica disponible actualmente, cada alérgeno se une al portaobjetos por triplicado, para asegurar la reproducibilidad de la prueba. La cantidad de suero requerida es de 50 µl, junto con el calibrador. Cada pocillo que contiene el alérgeno está rodeado de Teflón a fin de evitar el derramamiento de la muestra. El número de alérgenos que se pueden inmovilizar por promedio con esta técnica es prácticamente ilimitado.

## **CORRELACIÓN CON LA DETERMINACIÓN ESPECÍFICA DE IgE**

Algunos trabajos han estudiado la correlación de la técnica de microarrays y los diferentes métodos utilizados hasta la fecha. El primer estudio comparando la técnica de microarrays fue desarrollado por VBC-Genómics con el sistema Phadia CAP para la determinación de IgE específica para tres alérgenos de: gramíneas, abedul y ácaros del polvo, y mostraron una correlación de 0,9 [34]. Lebrun [35] publicó los resultados obtenidos con una técnica colorimétrica aplica a los alérgenos comunes, detectando niveles de IgE específico por debajo del punto de corte aceptado para la técnica convencional (0,35 Ku/l).

Recientemente, Wöhrle et al. [36] publicaron sus resultados comparando microarrays con la versión técnica CRD-50 ISAC de VBC-Genómics y el UniCAP Phadia. El diagnóstico con recombinantes se mostró igual de sensible para el diagnóstico de

alérgenos completos que con el UniCAP para pacientes alérgicos a las gramíneas, gatos y abedul. La sensibilidad para con los ácaros del polvo es menor, pero se mantuvo alta (de la misma manera para la especificidad), y fue igualmente menor para la detección de los pacientes sensibles a Artemisia.

## VENTAJAS DE LA TÉCNICA CON MICROARRAYS

Los beneficios de la técnica se resumen en la Tabla 2. La principal ventaja de la técnica es que permite analizar cientos de alérgenos al mismo tiempo, con un cantidad mínima de muestra (sólo 50 µl de suero), y con un único análisis. En el caso de VCB-genómics, se utilizan 103 alérgenos por chip. La técnica hace que sea posible mostrar el mayor número posible de epítomos reconocibles de IgE.

Tabla 2. Ventajas de la técnica de microarrays

Sencillez

Volumen mínimo de muestra

Flexibilidad

Alto rendimiento

Alta capacidad de producción

Necesidad de sólo escasa alérgeno

Escalabilidad

Automatización

La técnica también permite analizar diferentes resultados fluorescencias y en una misma prueba se puede medir IgE e IgG específicas.

Otra ventaja de la técnica es que facilita el diagnóstico basado en componentes [37,38]. Este hecho ofrece una mayor seguridad en establecer qué alérgeno es reconocido por un paciente dado, lo que ayuda a explicar las reacciones cruzadas, y resolver enigmas como el de los pacientes con positividad a múltiples pólenes a los que nunca han estado expuestos (la explicación en estos casos sería la sensibilización a panalérgenos). Con los métodos tradicionales sería prácticamente imposible analizar el panel de alérgenos naturales y recombinantes que garanticen la presentación de un número significativo de epítomos. Por otro lado, las moléculas podrían no estar presentes en la misma reacción

immune como con los alérgenos naturales completos.

Otra ventaja importante de esta técnica es que permite realizar el estudio en individuos en los que las pruebas cutáneas no se puede hacer, tales como pacientes con dermatitis atópica severa, dermatografismo o niños, o casos en los que la intensidad de la reacción contraindicaría la realización de estas pruebas cutáneas.



Imagen de hoja de resultados. Laboratorio de alergia del del Hospital Río Hortega.

## **INMUNOTERAPIA Y DIAGNÓSTICO MOLECULAR.**

Un campo en el que la contribución de la técnica de microarray ha sido fundamental es en el desarrollo de la inmunoterapia. Hasta la fecha, la composición de la inmunoterapia ha consistido en la utilización de extractos de alérgenos mezclados con componentes no alérgicos. Estas formulaciones son difíciles de estandarizar y no se adaptan al perfil individual de sensibilización de cada paciente. La inmunoterapia en la actualidad puede contener alérgenos a los que el paciente no es sensible, o pueden contener dosis insuficiente de los alérgenos que son relevantes para el paciente. Más importante aún, la formulación utilizada puede carecer de precisión en esos componentes a los que el paciente está más sensibilizado. Por último, la inmunoterapia con extractos completos posee un potencial alérgico además de inmunogénico lo que entraña un riesgo de reacciones de hipersensibilidad.

Varios estudios han demostrado que la inmunoterapia dirigida a los alérgenos recombinantes es a la vez eficaz y segura [38,39], y además, permite el uso especial de formas hipoalérgicas con gran potencial inmunogénico. Como consecuencia, en un futuro próximo la calidad, seguridad y eficacia de la inmunoterapia se verá reforzada [40-45]. Adicionalmente, tales procedimientos permitirán explorar el mecanismo de la inmunoterapia.

Para este efecto, es necesario demostrar que tales formulaciones poseen la misma potencia que los alérgenos naturales completos, y que el panel de alérgenos recombinantes abarca a todos los epítomos reconocidos por los linfocitos B y T. En el caso de las gramíneas, se ha demostrado que un panel de 5 recombinantes (Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5a, Phl p 5b) [41], y el Panel plus Phl p 6 [42], reduce significativamente los síntomas e induce intensa respuesta específica mediada por IgG frente a estos alérgenos [42]. Con los alérgenos de abedul se comporta de una forma similar.

Aunque los ácaros del polvo producen un número mucho mayor de recombinantes, también se ha demostrado que mediante la combinación de un panel de recombinantes se puede inhibir completamente la unión de IgE a el alérgeno [43]. De este modo, se muestra que alérgenos recombinantes pueden sustituir a extractos naturales, y que varios recombinantes son suficientes para establecer el diagnóstico. En pacientes sensibilizados a los ácaros del polvo, la técnica nos permite determinar si están sensibilizados al grupo de alérgenos 1 o al grupo 2, o si por el contrario los sujetos están sensibilizados a tropomiosina que puede ser una contraindicación para la inmunoterapia con extractos de ácaros del polvo que contengan alérgenos del grupo 1 y 2.

Incluso se ha demostrado que los híbridos recombinantes a partir de procedencias alérgicas no relacionadas poseen gran capacidad inmunogénica [44].

## **OTRAS APLICACIONES DEL DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN ALERGOLOGÍA**

Se ha publicado recientemente una aplicación innovadora de la técnica de microarrays

en el diagnóstico alergológico. El procedimiento se basa en pruebas de activación de basófilos, consistente en el análisis de la expresión de la activación de basófilos de marcadores como el CD63, después de su estimulación con diferentes alérgenos [45]. Los autores eliminan IgE de basófilos humanos maduros y de una línea celular basófila, seguido por la resensibilización de las células con suero de pacientes con alergia a las gramíneas. Esto es seguido por la determinación de la expresión de CD63 después de la incubación. Los autores encontraron además, que la línea celular respondía de la misma manera que los basófilos adultos en la sangre periférica. Estos resultados necesitan ser reproducidos y confirmados por otros investigadores, aunque ya muestran el potencial de desarrollo de la tecnología de microarrays.

Esta técnica, en la que la presencia de IgE específica no implica necesariamente que es capaz de unirse a los receptores de IgE de los basófilos y mastocitos y por lo tanto desencadenar síntomas, sólo indica la existencia de sensibilización. La técnica cuantifica la activación de basófilos en respuesta a un determinado alérgeno a través de la unión a la IgE específica presente en el suero del paciente estudiado y no sólo la presencia de la IgE en el suero.

### **APLICACIONES FUTURAS**

Una posible aplicación en el futuro será la identificación de nuevos pacientes previamente clasificados como individuos no alérgicos, ya que algunos alérgenos recombinantes no están presentes en los extractos alérgicos utilizados hasta la fecha.

En cuanto a la alergia a los alimentos, el potencial es especialmente importante, ya que los paneles se podrían desarrollar para que incluyan por lo menos las proteínas a las que estamos expuestos habitualmente con una dieta determinada, o para los pacientes de un determinado entorno geográfico que están más expuestos. Esto se está haciendo, por ejemplo, con dietas en el Reino Unido [39].

Por último, la técnica puede servir para establecer valores predictivos de la gravedad de los síntomas, como ya se está haciendo para LTPs y anafilaxis, o para determinar la probabilidad de sensibilización a los alimentos en los niños que últimamente se está incrementando. Otra posibilidad es la definición de la adecuada composición de la inmunoterapia de la inmunoterapia a aplicar.

La técnica requiere la validación y la realización de de nuevos estudios con grandes cohortes de población y la correlación de los resultados con los síntomas clínicos.

# ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA

## INTRODUCCIÓN.

La esofagitis eosinofílica (EoE) es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por infiltrado de eosinófilos en la mucosa esofágica y que cursa con síntomas que limitan la calidad de vida del paciente y que van desde la disfagia hasta episodios de impactación esofágica. Se trata de un trastorno de reciente descripción y su diagnóstico se basa en la clínica y en la endoscopia con biopsia esofágica junto con la exclusión de otros procesos que pueden causar eosinofilia como por ejemplo en reflujo gastroesofágico (ERGE), como posteriormente describiremos (46-53).

Su primera aparición en la literatura data en el año 1977 (54) en el que se describe a un varón de 51 años con clínica de disfagia, dolor torácico, antecedentes de asma bronquial y alergias ambientales en el que se realizó una biopsia que revelaba infiltrado eosinofílico. Esta patología se consideró en un inicio como una entidad asociada con la gastroenteritis eosinofílica y se la incluyó en esa clasificación.

Posteriormente comenzaron a aparecer series de pacientes pediátricos diagnosticados como enfermedad por reflujo gastroesofágico que no mejoraban con el tratamiento habitual ni tampoco con el paso de los años como suele ocurrir en esta patología (55,56). Estos niños que cursaban con clínica de disfagia habitual a sólidos y líquidos, impactaciones de alimento en esófago, pérdida de peso y que con frecuencia eran alérgicos a diferentes alimentos; reaparecían años después en las consultas de adultos con el mismo problema. Inicialmente eran diagnosticados en enfermedad eosinofílica intestinal pero posteriormente no se visualizaban los eosinófilos en tramos del tracto GI diferentes al esófago (12-13).

Fue en 1993 cuando Atwood et al consideraron la esofagitis eosinofílica primaria y la excluyeron de la gastroenteritis eosinofílica (59). Describieron una serie de pacientes jóvenes diagnosticados inicialmente como ERGE pero que presentaban mayor número de eosinófilos en la biopsia esofágica, sin presentar otro tipo de infiltrado inflamatorio y que no se encontraba en otros tramos del tracto GI. A partir de ese momento se habla de la esofagitis eosinofílica como una enfermedad emergente y existen multitud de artículos, revisiones, y series de casos en la literatura médica que van aumentando a medida que lo hace el número de pacientes diagnosticados de esta patología.

## FISIOPATOLOGÍA

La inflamación eosinofílica del tracto gastrointestinal ocurre de forma primaria en la enfermedad eosinofílica del tracto gastrointestinal (EGID) y de forma secundaria en otras patologías.

La clasificación de la EGID se realiza de acuerdo a los lugares donde sucede esta inflamación eosinofílica. La más característica es la esofagitis eosinofílica y la gastroenteritis eosinofílica que afectan a todas las edades y cursan con infiltrado inflamatorio eosinofílico. Otras enfermedades pediátricas como la enterocolitis inducida por proteínas alimentarias, la proctitis eosinofílica cursan con infiltrado inflamatorio con densa eosinofilia (46).

## Clasificación de la enfermedad eosinofílica gastrointestinal primaria y secundaria

PRIMARIA	SECUNDARIA
<b>Esofagitis eosinofílica.</b>	Esofagitis
<b>Alérgica</b>	Patología esofágica aislada
<b>Idiopática</b>	Enfermedad por reflujo gastroesofágico
	Patología extraesofágica
<b>Gastroenteritis</b>	Gastroenteritis eosinofílica
<b>Mucosa</b>	Síndrome hipereosinofílico
<b>Muscular</b>	Enfermedad autoinmune: Vasculitis del tejido conectivo (Esclerodermia).
<b>Serosa</b>	Medicamentos, trasplante, leiomiomatosis...
<b>Colitis</b>	
<b>Inducida por proteínas de los alimentos</b>	Gastroenteritis
<b>Proctitis eosinofílica</b>	<p>Infecciosa (en especial parásitos)</p> <p>Síndrome hipereosinofílico.</p> <p>Enfermedad inflamatoria intestinal.</p> <p>Enfermedad celíaca.</p> <p>Enfermedad autoinmune, medicación..</p> <p>Poliposis intestinal</p>
	Colitis
	<p>Infecciones por parásitos</p> <p>Enfermedad inflamatoria intestinal</p> <p>Enfermedades autoinmunes, medicación y trasplante.</p> <p>Poliposis juvenil, adenomas...</p>

Obtenido de: *Sleisenger and Fordtran's: gastrointestinal and liver disease ninth edition Saunders Elsevier.2010 27: 426*

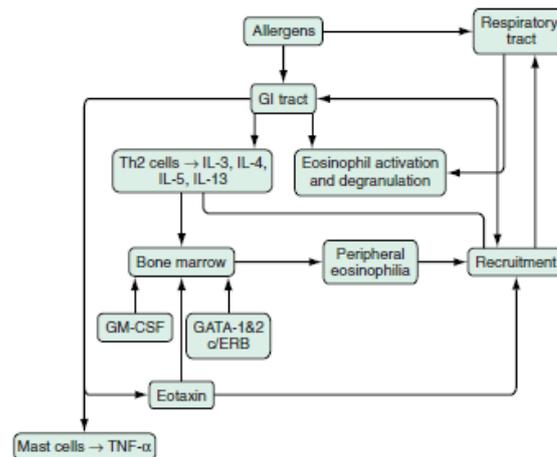
La causa de estas enfermedades todavía no es bien conocida pero tienen una gran asociación con la alergia y responden al tratamiento nutricional. El esfuerzo de gastroenterólogos, alergólogos e inmunólogos ha hecho grandes avances en entender su fisiopatología en los últimos años. En esta tabla se incluyen muchas enfermedades que cursan con inflamación del tracto gastrointestinal que deben entrar dentro del diagnóstico diferencial de la esofagitis eosinofílica primaria.

### **FISIOPATOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD EOSINOFÍLICA INTESTINAL.**

El eosinófilo es un granulocito bilobulado y nucleado cuya forma madura se diferencia de su progenitor medular por contener granulos catiónicos birrefringentes con alta afinidad por la tinción de eosina. Los mediadores de la cascada inflamatoria (citoquinas, IL-3, IL 5, y el factor estimulador de colonias GM-CSF) participan muy significativamente en el desarrollo y madurez del eosinófilo así como en su quimiotaxis al tracto GI que es el principal órgano no hematopoyético al que se dirigen estas células (47). Es corriente encontrar eosinófilos en la lámina propia del tracto GI pero su número aumenta cuando existe patología eosinofílica.

La fisiopatología se puede explicar de la siguiente manera: La exposición a un antígeno (por ejemplo un alérgeno) estimula la síntesis, adhesión y diapédesis del eosinófilo hasta el lugar de la exposición. El reclutamiento de eosinófilos en los segmentos del tracto GI es regulado por diferentes vías que envuelven una serie de receptores celulares llamados integrinas. La función de los eosinófilos como células presentadoras de antígeno pueden también afectar al proceso inflamatorio a través de proteínas granulares específicas derivadas del eosinófilo EDGPs (ej. Proteína catiónica del eosinófilo). Estas proteínas son citotóxicas para el epitelio intestinal y tienen propiedad antiviral y anti-ribonucleasa y activan la degradación de mastocitos, liberación de más citoquinas y activan el factor de necrosis tumoral TNF- $\alpha$ . Numerosos científicos han investigado los mecanismos por los que los eosinófilos median la respuesta gastrointestinal. La ruta de la exposición del alérgeno determina la localización de esta respuesta eosinofílica, por ejemplo, un alérgeno oral o intragástrico no inicia la esofagitis eosinofílica por sí mismo, pero se ha demostrado que la exposición repetida de aeroalérgenos en ratones induce **esofagitis eosinofílica junto a asma polínica**. Es interesante remarcar como el mismo aeroalérgeno no produce inflamación eosinofílica en el estómago o en intestino delgado de los ratones. La exposición crónica a estos alérgenos puede causar la remodelación del epitelio causando hiperplasia de la zona basal, fibrosis, angiogénesis y hipertrofia/hiperplasia del músculo liso, y esto ocurre **tanto en el esófago como en el epitelio bronquial** (48). En humanos sin embargo la sensibilización ocurre en el tracto respiratorio con la consecuente exposición de alérgenos en vía oral que al deglutirlos inician la respuesta inmunitaria y posterior infiltrado eosinófilo.

Estudios experimentales han sugerido que el mecanismo de unión entre la mucosa del epitelio bronquial y del esófago es por vía de los linfocitos Th2 que producen una serie de citoquinas de las cuales la IL-5 es la más específica para eosinófilos ya que estimula su crecimiento activación y diferenciación (49).



Obtenido de: *Sleisenger and Fordtran's: gastrointestinal and liver disease ninth edition Saunders Elsevier.2010 27: 426*

En el esófago la infiltración por eosinófilos se localiza en el epitelio a diferencia del resto del tracto GI donde se localiza en la lámina propia. Este epitelio escamoso normalmente está desprovisto de eosinófilos. Cuando hemos descartado que el infiltrado eosinófilo se deba a otras causas como infecciones por parásitos, enfermedades autoinmunes, síndrome hipereosinofílico, o enfermedades del esófago como son el reflujo gastroesofágico podremos hablar de esofagitis eosinofílica primaria.

## EPIDEMIOLOGÍA ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA

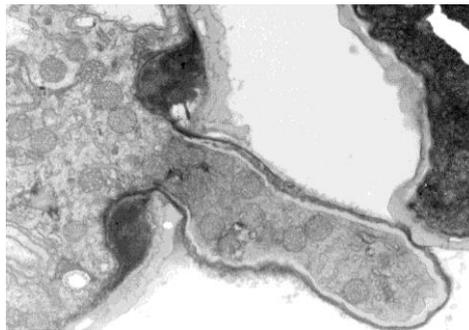
La esofagitis eosinofílica es una enfermedad global con un gran número de casos diagnosticados en Norteamérica y Sudamérica, también en el oeste y este de Europa y en Australia. Se han encontrado pocos casos en Asia y aún no se ha publicado ningún caso en la India ni en África subsahariana (49)

Esta patología, que raramente se diagnosticaba antes de la primera mitad de los 90, constituye hoy una enfermedad muy importante del esófago, particularmente en niños pero aumentando progresivamente en adultos. El aumento de casos ha ido paralelo al del diagnóstico de asma y alergia. Es debatido si este aumento es debido a un verdadero aumento de la enfermedad o si es por que está mejorando el diagnóstico de esta patología. Aunque mucha culpa de este infradiagnóstico lo tenga el hecho de que en el pasado no se biopsiase la mucosa del esófago aparentemente sana en las gastroscopias en adultos algunos estudios demuestran que la incidencia de EE está realmente aumentando en 1 por cada 10,000 casos al año con una prevalencia ya de 1 por cada 1000 (49,50). De forma similar, **en pediatría donde la rutina de biopsiar mucosa esofágica sana macroscópicamente ya estaba establecida se ha documentado un pico de incidencia en niños en edad escolar.** Es claro que este grupo de edad junto a otro en la juventud claramente padece más esofagitis eosinofílica.

El hecho de que esta enfermedad sea a veces infradiagnosticada puede deberse al tiempo que permanece latente hasta el diagnóstico que pueden ser episodios de pocos días en pacientes que se presenten con episodios súbitos de impactación a muchos años en pacientes que tengan síntomas similares al reflujo. Como en las enfermedades alérgicas, pueden encontrarse varios casos de esofagitis en la familia y aunque se ha propuesto un patrón de herencia autosómico dominante, los avances en diagnóstico

molecular han ayudado mucho tanto en la comprensión de los mecanismos que influyen en su fisiopatología como en la identificación de los genes cuyos poslimorfismos de un solo nucleótido (SNP) son los causantes de la enfermedad. Innegablemente la herencia de la EoE es una herencia poligénica compleja de la que estamos en el primer escalón de su conocimiento(6).

**Los datos de alergia y atopia están presentes en la historia clínica de hasta un 80% de los pacientes que padecen EoE, generalmente alergia alimentaria en los niños. Se ha descrito además que hasta un 60% padecen también enfermedad respiratoria crónica.** Existen series de casos publicados que demuestran que **los aeroalérgenos son causantes también de EoE con exacerbaciones y pruebas con biopsia positiva en los meses cálidos y que remiten en invierno (53,54).**



*Hallazgo en biopsia de mucosa de esófago proximal: Polen de Parietaria judaica penetrando con el tubo polínico en epitelio esofágico (imagen cedida por la profesora Delia Fernández, Universidad de León)*

Resulta intrigante el porqué del aumento en la incidencia de la EOE (54-72). Este tipo de cambios responde más a un cambio en el ambiente que a una causa genética. Se ha propuesto un gran número de factores de riesgo incluyendo también la disminución en la prevalencia de infección por *Helicobacter pylori*, el uso de inhibidores de la bomba de protones sobre todo cuando se usan muy tempranamente en la vida, al igual que los antibióticos. Además se ha visto que la esofagitis eosinofílica es más común en climas fríos y áridos y también en áreas rurales. Se ha asociado también a enfermedades autoinmunes y del tejido conectivo. La hipótesis de la higiene, las alteraciones en la microbiota del esófago sumado a los cambios en las fuentes de alimentos, fertilizantes antibióticos et. Y también al uso de materiales sintéticos para envolver las comidas han sido propuestos como causas de este aumento de incidencia. Sin embargo aún no se sabe si uno o todos estos factores, o si un factor no identificado todavía influye en el aumento del riesgo de la esofagitis eosinofílica (72-81).

En relación a este factor no identificado se han estudiado muchas hipótesis sobre factores que pueden precipitarla, una de las cuales es el uso generalizado de inhibidores de la bomba de protones (82) Se cree que algunos péptidos que en condiciones normales se degradarían con el pH del estómago podrían ser los causantes de esofagitis. También se cree que los inhibidores de la bomba de protones (IBP) podrían aumentar la permeabilidad de la barrera gastrointestinal lo que podría facilitar la entrada de alérgenos.

Se ha estudiado la posible relación entre la inmunoterapia oral para la alergia alimentos con la esofagitis eosinofílica Se ha publicado un metaanálisis (83) que concluye que **hasta un 2,7% de los pacientes con alergia alimentaria IgE mediada podrían desarrollar esofagitis aunque muchos de estos estudios que se evalúan en este**

**metanálisis no valoran si la esofagitis eosinofílica era previa a la terapia.**

## CLÍNICA DE LA ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA

Aunque la fisiopatología de la EoE todavía no está muy bien definida sabemos que es de carácter crónico debido a la larga duración de los síntomas antes del diagnóstico y la existencia de periodos libres de síntomas con posterior exacerbación. Existen múltiples series de casos publicadas que nos dan la guía de los síntomas que se presentan en esta enfermedad. Así mismo, podemos objetivar claras diferencias en la sintomatología de adultos y la de niños (60,61). Estas diferencias posiblemente están en estrecha relación con el tiempo de evolución de la enfermedad y por tanto la exposición a un posible alérgeno. La impactación esofágica es el síntoma que con más frecuencia lleva al diagnóstico en adultos (hasta el 80%) (62). En niños es menos frecuente (hasta un 20%) (18). Incluso hay descritos síndromes de Boerhaave (disección esofágica) en esta enfermedad (63). La clínica de disfagia crónica con intensidad variable e incluso fenómenos on-off, impactación del alimento esofágico, **implica la contracción del músculo liso esofágico, lo que guarda muchas similitudes con el asma bronquial** como lo han demostrado estudios en animales (65,66). Se sabe también que la infiltración esofágica por eosinófilos se asocia a pérdida de peso y dismotilidad gástrica como se ha evidenciado en modelos animales y posteriormente en estudios en humanos (67).

### Síntomas asociados con la esofagitis eosinofílica

Adultos	Niños
<b>Disfagia</b>	Disfagia
<b>Impactación de alimento</b>	Impactación de alimento
<b>Vómitos, emesis</b>	Vómitos, emesis, regurgitación
<b>Dolor torácico</b>	Dolor torácico
	Náuseas
	Pirosis
	Hipersalivación
	Comportamiento alimentario aversivo, hipoprecimiento
	Dolor abdominal epigástrico
	<b>Síntomas respiratorios: tos, estridor, sinusitis, obstrucción,</b>
	Neumonía

Modificado de Fox et al (60).

El grado en el que estas presentaciones impliquen daño estructural o problemas de motilidad no está claro y parece variar entre los pacientes. Se han realizado numerosos estudios de manometría que registran dismotilidad en los pacientes con EoE que puede ser la causa de su disfagia. Así mismo el infiltrado inflamatorio es también causa de fibrosis lo que provoca los cambios estructurales en el esófago (68-70).

## **DIAGNÓSTICO DE LA ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA.**

Los siguientes criterios se requieren para el diagnóstico de la esofagitis eosinofílica:

1. Inflamación eosinofílica localizada en el esófago con al menos 15 eosinófilos por campo (high power field) vistos en la biopsia esofágica.
2. Exclusión de otras causas reconocidas de eosinofilia esofágica incluyendo la eosinofilia que responde a inhibidores de la bomba de protones como se define actualmente.

La evaluación de los pacientes con sospecha de enfermedad eosinofílica intestinal incluye un diagnóstico diferencial para establecer posibles complicaciones secundarias asociadas al diagnóstico final. En la esofagitis eosinofílica en concreto.

### **Anamnesis:**

La historia personal y familiar debe incluir información sobre intolerancia a alimentos y agentes medioambientales que se manifiesten con síntomas gastrointestinales, respiratorios (asma) o en la piel (eczema). Muy frecuentemente se incluye el dato de dermatitis atópica en la historia. La mayoría de los pacientes de esofagitis eosinofílica tienen un estado nutricional normal, pero en algunas ocasiones, sobretodo en niños puede presentarse con malnutrición o fallo de medro.

Exámenes de laboratorio:

La eosinofilia periférica en el contexto de síntomas gastrointestinales es una pista muy útil para el diagnóstico de enfermedad eosinofílica gastrointestinal aunque la ausencia de esta no excluye este diagnóstico. Es importante resaltar que los eosinófilos circulantes representan un balance entre la producción de eosinófilos en médula ósea y de la infiltración en tejidos. Además las fluctuaciones frecuentemente observadas en las concentraciones de eosinófilos periféricas pueden ser causadas por el ritmo circadiano. Para excluir otras causas importantes de eosinofilia los análisis deben incluir un análisis de heces o un aspirado duodenal para encontrar huevos de parásitos. En los pacientes que tengan ascitis la paracentesis también puede darnos una pista si en el líquido peritoneal se encontrasen eosinófilos. Con suerte los avances en el conocimiento de esta enfermedad pronto permitirán un test simple, fiable y relativamente no invasivo que envuelva los marcadores de inflamación eosinofílica activa (Ej. ECP fecal) para monitorizar el curso de la enfermedad y la respuesta al tratamiento (71).

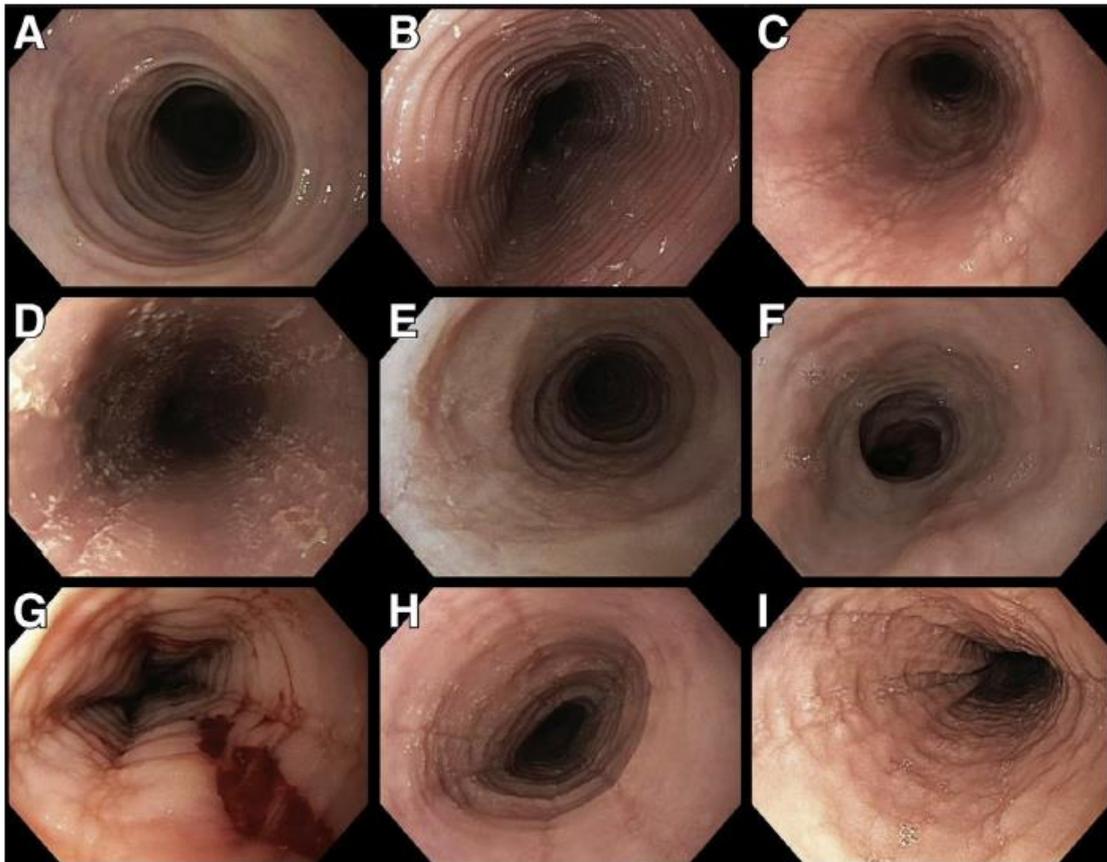
### **Endoscopia**

Existe un gran número de cambios estructurales y esofágicos asociados a la esofagitis eosinofílica. Los anillos esofágicos permanentes son el hallazgo prototípico pero los anillos también pueden ser transitorios. Estas estructuras se desarrollan debido a los cambios inflamatorios crónicos y a la fibrosis. En algunos casos, la luz esofágica está difusamente estrechada, lo que se denomina esófago de pequeño calibre. Esto puede ser difícil de apreciar durante la endoscopia, pero se detecta muy bien con un esofagograma de bario. Los surcos lineales y las placas blanquecinas y exudados también se ven con mucha frecuencia. Un hallazgo menos frecuente es una disminución del flujo vascular debido a la congestión de la mucosa (edema). Estos hallazgos pueden aparecer

juntos o por separado y también pueden no encontrarse hasta en un 10% de los casos por lo que la biopsia es de extrema importancia.

Las diferencias en la presentación endoscópica por edad (Los niños tienen con más frecuencia placas y edemas y los adultos anillos) ha llevado a que algunos de estos cambios son atribuidos a la inflamación y otros a la fibrosis.

Se ha desarrollado un nuevo sistema de clasificación para describir los hallazgos endoscópicos en la endoscopia así como su severidad. Se llama el score de la esofagitis endoscópica de referencia EFERS que es un acrónimo de los hallazgos más importantes de la endoscopia (Exudates, rings, edema, furrows, strictures) (32)



Hallazgos endoscópicos en esofagitis eosinofílica A. anillos esofágicos fijos (antes llamado traquealización)

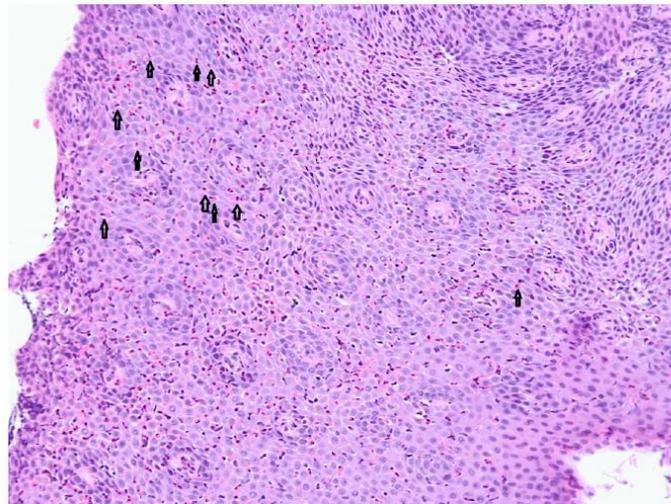
B. Anillos esofágicos transitorios C. Surcos lineales. D. Exudados blanquecinos y placas E. Estrechamiento esofágico con edema de la mucosa y escasa vascularización. F. Constricción focal en esófago distal G. Mucosa en “papel de crepé” H, I Combinación de múltiples hallazgos, incluyendo anillos, surcos profundos, placas etc...

Obtenido de: Advances in clinical management of Eosinophilic Esophagitis Dellon E. S. Liacouras C.A. Gastroenterology 2014. 1-17

### **Histología y biopsia.**

Los cambios histológicos en la esofagitis eosinofílica en adultos y niños son iguales. Existe un infiltrado eosinofílico del epitelio esofágico que puede ser detectado con tinción hematoxilina eosina. Al menos 15 eosinófilos por campo de alta definición han

de estar presentes para considerar el diagnóstico de esofagitis eosinofílica en la mayoría de los casos. Aunque este umbral fue definido para aumentar la uniformidad en el diagnóstico de esofagitis eosinofílica es en cierto modo arbitrario. Hace falta juicio clínico para interpretar el significado de los casos límite. Otros hallazgos histopatológicos relacionados incluyen la degranulación de los eosinófilos, microabscesos, hiperplasia de la capa basal, espacios intracelulares dilatados etcétera aunque ninguno es patognomónico de EE. Las biopsias esofágicas raramente obtienen material más allá de la lámina propia pero cuando se han obtenido muestras de esofagectomía se observa un infiltrado transmural eosinofílico, lo que corrobora los estudios de ecografía endoscópica que muestran un aumento del grosor de la pared en pacientes con esofagitis eosinofílica (32-33).



Los hallazgos típicos de esofagitis eosinofílica: Hipereosinofilia normalmente con más de 15-20 eosinófilos por campo de alta definición. Los eosinófilos en la mucosa escamosa se señalan con las flechas

Obtenido de: Update on celiac disease and Eosinophilic Esophagitis. Pellicano R, De Agellis C, Ribaldones D, G Nutrients 2013. 5, 3329-3336.

### Pruebas de alergia

Hasta ahora las pruebas de alergia en la esofagitis eosinofílica tenían muy poca sensibilidad y especificidad además de una alta tasa de falsos positivos. Las pruebas en piel y el CAP se usaban para detectar anticuerpos IgE específicos contra alérgenos inhalados e ingeridos (84,85). Las pruebas en piel son muy sensibles así que son útiles para confirmar la ausencia de reacciones IgE mediadas si se usan extractos de buena calidad. En los niños mayores de un año las pruebas en piel se asocian a un alto valor predictivo negativo pero a un valor predictivo positivo del 50% o menor. Estas pruebas identifican alergia alimentaria con gran precisión sobre todo cuando se combinan con las pruebas intradérmicas por lo que han tenido tanto éxito las dietas de exclusión aunque todavía no se ha detectado un antígeno particular que cause esofagitis eosinofílica midiendo en suero los anticuerpos IgE específicos. Esto provocaría la exclusión de alimentos fundamentales ante pruebas falsamente positivas lo que es peligroso sobre todo en niños (sensibilización subclínica).

**Nuestro trabajo de investigación se basará en intentar un diagnóstico etiológico más preciso utilizando técnicas de CRD (*component resolved diagnosis*) basadas en microarrays.**

### Retos diagnósticos

Durante los últimos años se ha descrito la esofagitis eosinofílica con respuesta a inhibidores de la bomba de protones. En esta condición los pacientes en los que se sospecha la EE (síntomas, hallazgos endoscópicos y biopsia) tienen una recuperación clínica e histológica tras la terapia con inhibidores de bomba de protones. Aún no está claro que esta entidad sea un subtipo de enfermedad por reflujo gastroesofágico o una enfermedad diferente (79-81).

### TRATAMIENTO DE LA ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA.

En la actualidad se habla de las 3 D cuando nos referimos al tratamiento de la EE: Drugs (fármacos), Dieta, Dilataciones. Los fármacos y los cambios en la dieta tratan de disminuir la inflamación asociados a la patogénesis de la esofagitis eosinofílica y son los tratamientos de primera línea, mientras que las dilataciones tratan de disminuir la remodelación y la fibrosis producida en la esofagitis crónica. La elección del tratamiento depende de las características del paciente. Es importante recordar que **ningún fármaco ha sido aprobado por la Food and Drug Administration para el tratamiento de la esofagitis eosinofílica por lo que todos los tratamientos son de indicación “off label”**. Sin embargo hay datos de sobra que sostienen el uso de agentes farmacológicos.

#### Corticoesteroides

Los corticoides son los únicos fármacos que han demostrado mejorar los cambios histológicos y clínicos en la esofagitis eosinofílica y son un pilar de tratamiento tanto en adultos como en niños ya que reducen la inflamación y remodelación (86).

*Corticoides sistémicos:* resuelven rápidamente la eosinofilia en esófago y mejoran la sintomatología. Fue los primeros fármacos ensayados en la esofagitis. Como cabe esperar, tras su uso revierten los síntomas. La mayor parte de su experiencia ha sido en niños. Este tratamiento solo se reserva para pacientes con síntomas severos como en niños enfermos de esofagitis con fallo de medro.

*Corticoides tópicos:* Se descubrió que los corticoides en MDI (fluticasona, budesonida) tragados, no inhalados, ejercían un cambio considerable en la clínica del paciente (88). Aunque los pacientes tratados de esta forma no sufren las complicaciones a corto plazo de los corticoides sistémicos todavía no se han hecho estudios a largo plazo (89). Si se han recogido casos de esofagitis por candida y Herpes (90).

#### Agentes Biológicos

Cuando se estudio el uso de anticuerpos monoclonales anti IL-5 (mepolizumab) en el tratamiento de la esofagitis eosinofílica, se llegó a la conclusión de que a pesar de los cambios histológicos favorables con este tratamiento, la respuesta clínica no era significativa comparada a placebo (91). También han sido estudiados los anticuerpos anti IgE (Omalizumab) sin encontrar evidencias significativas (92). Tampoco ha sido efectivos el inhibidor del factor de necrosis tumoral; Infliximab (93), por lo que este conjunto de fármacos no se recomiendan para el tratamiento de la esofagitis eosinofílica.

#### Antagonistas de los leucotrienos y estabilizadores del mastocito.

Los estudios con montelukast son controvertidos. En una serie de casos parecía que los antileucotrienos en dosis altas (20-40 mg) eran bastante efectivos al inicio del tratamiento, lo que no se confirmó en el seguimiento posterior de estos pacientes por lo

que estos tratamientos no se usan en la práctica habitual (94).

### **Inmunomoduladores**

Hay varios estudios observacionales que asocian mejoría clínica con el tratamiento de inmunomoduladores tipo 6-mercaptopurina o azatioprina y empeoramiento del cuadro con la retirada de estos. Sin embargo no hay datos que corroboren estos estudios. Al ser estos fármacos altamente tóxicos, hacen falta más investigaciones para que se puedan recomendar en el tratamiento de esofagitis eosinofílica (95).

### **Terapias farmacológicas emergentes.**

A medida que ha ido aumentando el conocimiento de la Esofagitis eosinofílica se han identificado y probado muchos agentes terapéuticos a destacar inhibidores de las prostaglandinas como el OCT000459, anticuerpos monoclonales tipo IL-13,IL-4, y eotaxina 3, antagonistas del receptor de angiotensina y los ya muy usados corticoides tópicos incluyendo la budesonida viscosa y las pastillas efervescentes de fluticasona

### **La terapia con dieta alimentaria.**

La identificación y posterior retirada de la dieta de alérgenos es uno de los pilares del tratamiento de la esofagitis eosinofílica. A pesar de que los corticoides pueden temporalmente mejorar la sintomatología, la enfermedad vuelve cuando se retira este tratamiento. En cambio cuando se identifican y retiran las comidas que pueden provocar sintomatología la enfermedad remite por más tiempo sin necesidad de medicación. La dieta también mejora la fibrosis y el remodelado en la esofagitis eosinofílica (96).

Existen tres formas esenciales de realizar este tratamiento: Las primeras son mediante fórmulas de aminoácidos esenciales. Aunque se ha demostrado que este tratamiento es eficaz son la falta de palatabilidad de estas fórmulas lo que les convierte en un tratamiento poco práctico a lo que se suma el alto coste de este tratamiento. Tras tomar estas fórmulas durante 4 a 6 semanas se reintroduce la alimentación convencional desde los alimentos menos a los más alérgicos (98).

Otra forma de hacer el tratamiento es mediante dietas de eliminación directa basadas en las pruebas de alergia. Este tratamiento alcanza el máximo rendimiento cuando se establecen dietas de eliminación basadas en los resultados que aportan pruebas combinadas de test en piel de alergia (prick test) con patch test (99) la soja, el trigo, el pollo, y la carne de vaca son las comidas más frecuentemente identificadas como posibles alérgenos.

Sorprendentemente, los lácteos no han sido los más frecuentemente identificados en las pruebas de alergia sin embargo son los que más se han relacionado con la esofagitis eosinofílica y los más retirados en las dietas de eliminación indirecta.

En las dietas de eliminación indirecta se van excluyendo de forma progresiva y empírica diferentes antígenos de la dieta. Un reciente meta análisis de estos estudios en adultos ha revelado que las dietas elementales directas son eficaces para el 91% de los pacientes contra un 72% de las dietas elementales indirectas y un 46% en las dietas según las pruebas de alergia (97). Las dietas han de ser diseñadas específicamente para cada paciente dependiendo de su patología alérgica, edad y gustos del paciente y de la familia, por lo que para su correcto cumplimiento requieren un seguimiento estrecho del paciente.

En situaciones en las que no es posible un test de alergia y en las que no se puede considerar una dieta elemental la dieta empírica es el tratamiento de elección. Sin embargo requiere numerosas endoscopias para valorar su eficacia pues se realiza una endoscopia después de cada retirada de alimento tantas como 10 en un periodo de 18

meses (100) y en niños en ocasiones requieren la retirada de alimentos fundamentales para su crecimiento y desarrollo.

### **Dilataciones**

Las dilataciones endoscópicas en la esofagitis eosinofílica son un procedimiento altamente peligroso debido a las perforaciones que inicialmente llegaban hasta el 8% y por las heridas esofágicas que causaban mucho dolor y eran causa de hospitalización (101). A partir del 2007 las guías mostraron un enfoque mucho más cauteloso en cuanto a las dilataciones, considerándolas como último recurso. Las nuevas técnicas han evolucionado para que la dilatación no sea tan traumática y un metaanálisis reciente calcula el riesgo de perforación en un 0,03%, aunque solo en centros con alta experiencia (102). Esto no evita la sintomatología post dilatación que incluye al 75% de los pacientes y que describen como dolor torácico disfagia o disconfort por lo que no es el tratamiento de elección.

# LA ENFERMEDAD CELÍACA

## HISTORIA

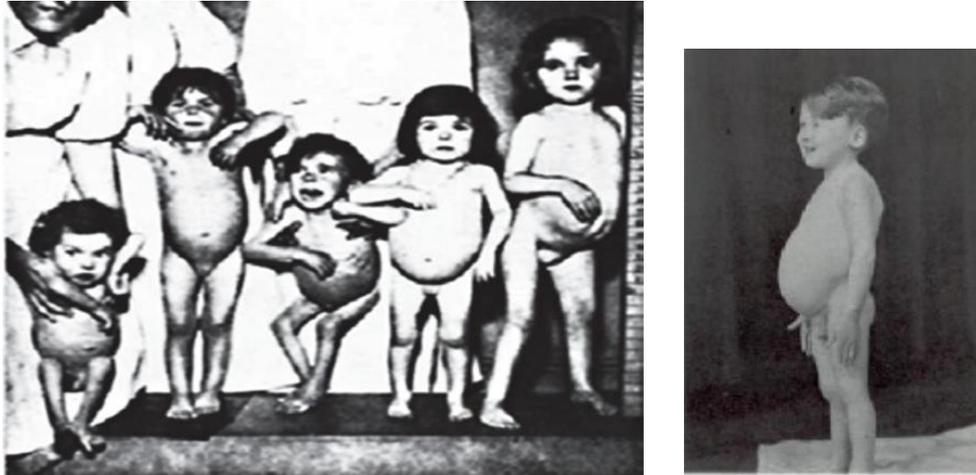
La harina de trigo es un componente alimentario básico en la dieta humana de la que forma parte desde hace más de 10.000 años. En el Siglo II AC, las observaciones de Areteus de Cappadocia, médico griego probablemente contemporáneo de Galeno, le llevaron a describir en sus escritos una relación negativa entre el consumo de pan de trigo y una afectación intestinal. El trigo formaba parte habitual de la dieta infantil, y los efectos digestivos perniciosos en algunos pequeños se manifestaban como diarrea de contenido graso de carácter persistente, hasta el punto de provocar un adelgazamiento notable con debilidad extrema y afectación del estado general de estos niños y también algunos adultos. Areteus pensaba que el problema residía en una falta de retención de los alimentos por el estómago que pasarían a través de él sin ser digeridos, e intuyó que hay unas personas, “koliacos”, para las que sería pernicioso la ingesta de pan de trigo. Concluye el pan es poco adecuado para estas personas.

Con sus observaciones, Areteus de Cappadocia fue el primero en señalar que el pan de trigo, si bien constituía un alimento en general bien tolerado, no lo era así para algunos niños y también adultos, para los cuales suponía un efecto nocivo. Se habían sentado las bases históricas de una nueva enfermedad: “La afección celíaca”. “Koliakos” es un término griego que significa “aquéllos que sufren del intestino” Posteriormente derivó en el latín en “coeliacus”. En la actualidad la conocemos como Enfermedad Celíaca (EC).

En los siglos posteriores, sorprende la ausencia de comunicaciones sobre esta afección transcurriendo más de dieciocho siglos sin noticias de la misma. Esto es motivo de sorpresa, si tenemos en cuenta que la harina de trigo se mantuvo incluida en la dieta europea durante todo este tiempo, como un alimento básico de gran importancia tanto desde el punto de vista nutricional, como económico y social. En conjunto, podemos hablar de tres grandes áreas geográficas en cuanto al predominio del tipo de cereal, como componente alimentario básico en la dieta humana: el trigo en la zona europea, el arroz en el continente asiático y el maíz en el americano.

En el año 1888, un pediatra londinense llamado Samuel Jones Gee se percató con claridad de la importancia, ya descrita en la antigüedad, del trigo en los padecimientos del vientre de algunos de sus pacientes. Este destacado clínico que llegó a ser nombrado médico del Príncipe de Gales en 1901, realizó una descripción clínica de la condición celíaca y de la afección celíaca. Su aportación constituye la segunda descripción clásica de la enfermedad. En sus escritos, Gee recomienda en esos casos eliminar el pan de trigo en la dieta, afirmando que si el paciente pudiera llegar a curarse, ello se debería a los efectos de la dieta. Sobre todo eran los niños los que respondían de una forma espectacular al tratamiento dietético (Fig 15)

Fig 15: Enfermos celíacos infantiles en el Hospital de Londres, en 1938



La capacidad de observación de Gee se basó en su profunda formación médica y su conocimiento del griego, lo cual le permitió traducir las descripciones de Areteus de Cappadocia. Gee en su honor respetó el término de “La afección celíaca” para denominarla.

En 1908 se publica un libro sobre la Enfermedad Celíaca escrito por Herter, otro pediatra de reconocido prestigio en la materia. Herter sostenía la mejor tolerancia de la dieta grasa con escasos hidratos de carbonos.

En 1921, sir Frederick Still, en una lección magistral en le Royal College of Physicians, insistía en el daño del pan de trigo para estos enfermos con Enfermedad Celíaca.

La Segunda Guerra Mundial, entre los años 1939 a 1945, da lugar a una época de hambruna y carencia de trigo en los años posteriores. Esta situación determina una ausencia prácticamente total de diagnósticos de Enfermedad Celíaca. Esta observación no le pasó por alto a un pediatra holandés plasmando sus conclusiones con detalle en su Tesis Doctoral, presentada en la Universidad de Utrecht en 1950.

Dicke demostró mejoría en los niños celíacos que evitaban el trigo, el centeno y la avena (103). Recomendaba que la dieta de los enfermos fuera a base de harina de maíz y arroz y conseguía mejorar su estado nutricional, con aumento del apetito y recuperación de la absorción intestinal de las grasas, con desaparición de la diarrea.

Tampoco le pasó desapercibido el efecto de esa hambruna, desde Birmnighan, a la proferosa Charlotte Anderson (104), quien consiguió la extracción del almidón del trigo

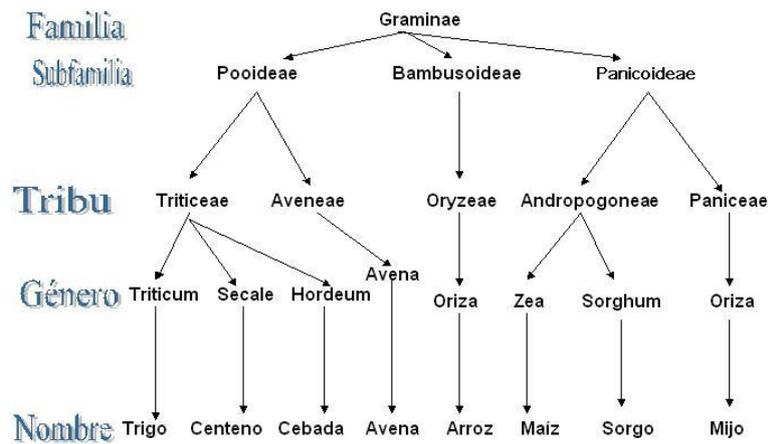
y otros componentes solubles, encontrando que la masa resultante, elástica y cohesiva, era la parte dañina para los celíacos (aunque también es la que confiere la propiedad de formar masa, tan apreciada para la fabricación de pan y multitud de productos alimenticios).

Dicke y Anderson comprobaron, cada uno por su lado, que separando el almidón del cereal, la toxicidad residía en el gluten. De esta manera es como desde 1950, la base del tratamiento de la Enfermedad Celíaca se constituye en la dieta sin gluten y se va comprueba que cuanto más joven es el paciente, más asombrosa es la mejoría sobre todo si la dieta sin gluten es muy estricta. Si bien hay que señalar que mantener una dieta sin gluten no es fácil puesto que el trigo es un componente esencial en la alimentación humana.

Veinte años después se determina concretamente a la alfa-gliadina como el principal componente nocivo del gluten en trabajos de Dicke, Hekkens, Van der Kamer, Kendal y otros (105-107).

## **DEFINICIÓN**

La Enfermedad Celíaca es una intolerancia alimentaria de por vida debida a una respuesta inmune doble innata y adaptativa, inadecuadas frente al gluten, que da lugar a una reacción de hipersensibilidad tipo IV de Gell y Coombs, mediada por linfocitos T CD 4 + específicos (que expresan marcador de diferenciación celular CD4, que infiltran la lámina propia mucosa del intestino de individuos genéticamente susceptibles, al igual que ocurre con las enfermedades alérgicas (108). El desencadenante fundamental de la reacción se localiza en el gluten de los granos de cereales pertenecientes a la tribu Triticaceae (trigo: *Triticum aestivum*; cebada: *Hordeum vulgare*; y centeno: *Secale cereale*) y posiblemente también la avena, ésta última perteneciente a la tribu Aveneae . Ambas tribus pertenecen a la familia Graminae y subfamilia Pooideae (Fig 16).



### Taxonomía de los cereales .

Kagnoff MF. Gastroenterology 2005; 128 (4 suppl 1): 10-18

El triticale es un cereal nuevo, hecho por el hombre, producto del cruzamiento entre el trigo (género *Triticum*) y el centeno (género *Secale*). Su nombre está formado por la mezcla de los nombres de sus géneros de procedencia.

El gluten es la fracción proteica soluble en alcohol del endospermo del grano de cereal, prolaminas, junto a las gluteninas (109).

En la composición de estas semillas intervienen diferentes clases de proteínas (110) que se detallan para el caso del trigo de la siguiente forma (ver también Tabla 1):

- Las solubles en agua o albúminas.
- Las solubles en sal o globulinas.
- Las solubles en alcohol o prolaminas.
- Y por último, las insolubles gluteninas (sólo solubilizables empleando ácidos, bases, detergentes, urea,...etc).

CEREAL	PROLAMINA	%PROTEÍNA	%PROLAMINA
TRIGO	GLIADINA	10-15	4,7-7,5
CENTENO	SECALINA	9-14	3-7
CEBADA	HORDEINA	10-14	3,5-7
AVENA	AVENINA	8-14	0,8-2,1

Tabla 1: Contenido de proteínas y prolaminas de los granos de cereal .Obtenido de: Calvo C. Tratamiento de la Enfermedad Celiaca. *Pediatrka* 2003; 23: 46-49

Las prolaminas (gliadinas del trigo, hordeinas de la cebada y secalinas del centeno) y las gluteninas contienen fragmentos peptídicos, en especial el denominado fragmento alfa-2 de la gliadina, que resultan dañinos para los enfermos celíacos. Las gliadinas del trigo se han clasificado según su movilidad electroforética en geles de poliacrilamida en alfa-gliadina, beta-gliadina y omega-gliadina (y de la misma forma se determinan las fracciones de secalinas y hordeinas).

Las prolaminas tienen la peculiaridad de compartir una secuencia de aminoácidos muy similar, constituida especialmente por una gran cantidad de aminoácidos hidrofóbicos: glutamina y prolina (110). Forman polímeros por el establecimiento de puentes disulfuro intercatenarios que dificultan su extracción salvo con soluciones alcohólicas en alta concentración, como el etanol al 70%. Esta estructura tan compacta muestra gran estabilidad frente a altas temperaturas y sólo reacciones de intercambio con los grupos sulfhidrilo y puentes disulfuro, afectarán a su estructura nativa.

Las prolaminas constituyen la fuente de nitrógeno en el endospermo del grano, para la posterior síntesis proteica durante la germinación. Pero este alto contenido en glutamina y prolina va a determinar la inmunogenicidad, así como su distribución en la estructura primaria de la proteína, que determinará la conformación molecular. Serán el punto de anclaje de la molécula de HLA-DQ. Por otra parte, serán también el lugar de actuación de una enzima llamada transglutaminasa tisular (TG). Los pacientes celíacos tienen en su sangre elevados niveles de autoanticuerpos antiendomiosio (AEA) y especialmente antitransglutaminasa (AtTG) (111).

En el individuo celíaco se ha perdido la tolerancia inmunológica a un alimento esencial de la dieta que será la fuente de sus problemas. Fisiológicamente existe una tolerancia o falta de respuesta inmunológica a los alimentos en el intestino humano tanto por vía oral como cuando se administran por vía sistémica (112). Gracias a ello podemos alimentarnos sin reaccionar contra los alimentos. Pero los pacientes con la condición celíaca tienen la particularidad de que su sistema inmune pierde la tolerancia al gluten de la dieta desencadenando una respuesta inmunológica frente al mismo. Actualmente siguen siendo desconocidos los mecanismos que subyacen en la tolerancia oral y que consiguen evitar la reactividad frente al estímulo persistente que significa el contacto con los alimentos, así como cuando penetran en el organismo. Sí conocemos que existe una reducción a esos niveles de linfocitos T cooperadores CD4+ (113-115). También sabemos que las células dendríticas, que son las células presentadoras de antígenos a los linfocitos T por excelencia, cuando lo hacen en ausencia de señales químicas coestimuladoras, se produce tolerancia (12 y 13) gracias a una diferenciación de los linfocitos hacia la forma de linfocitos T reguladores (CD4+ y CD25+) las cuales son consideradas las células de la homeostasis inmune tanto general como intestinal (116).

Los linfocitos T reguladores llevan a cabo una paralización de la proliferación clonal de los linfocitos T (tanto CD4+ como CD8+) y una inhibición de la producción de interleuquina 2 (IL-2) y entre otras funciones cooperan con los linfocitos B en la síntesis

local de inmunoglobulina A –IgA– (117)

Por otra parte, los propios enterocitos llegan a expresar moléculas HLA tipo II y pueden actuar como células presentadoras de antígenos (CPA) a los linfocitos T en ausencia de señales químicas coestimuladoras, lo cual también contribuye a la tolerancia en el intestino sano (118-119).

## HISTOPATOLOGÍA

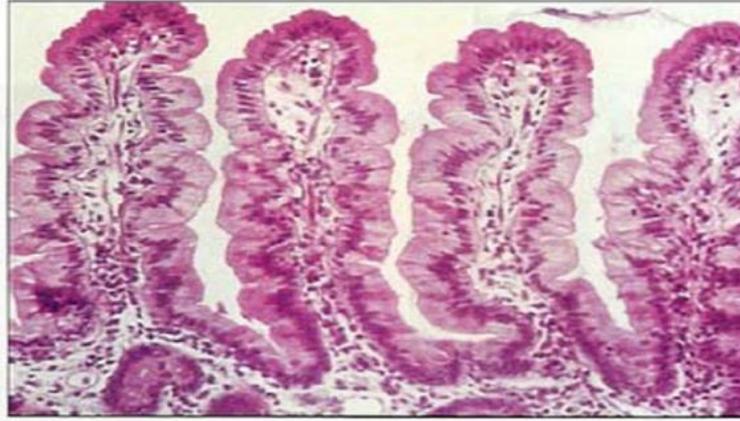
El intestino, especialmente duodeno distal y yeyuno proximal, es el principal órgano diana de la sensibilidad al gluten. La lesión intestinal se caracteriza por cambios reversibles que llevan a la remodelación de la arquitectura mucosa sin pérdida de tejido. Estos cambios son reversibles puesto que desaparecen con la dieta sin gluten. La enteropatía que produce el gluten en el intestino del celíaco da lugar en última instancia a una atrofia de las vellosidades intestinales que es la lesión característica; pero el primer hallazgo significativo que produce el gluten es un incremento de los linfocitos intraepiteliales (120).

En un individuo sano el compartimiento de linfocitos intraepiteliales (LIE) es abundante si tenemos en cuenta que se hallan en una relación numérica de 1 a 10 con respecto a las células epiteliales circundantes y se estiman en unos 300 metros cuadrados la superficie absorptiva intestinal. Su función aún muy desconocida, está en relación con los mecanismos de tolerancia intestinal (121). En la Enfermedad Celíaca, los LIE aumentan en la mucosa del intestino delgado pero también aumentan en estómago e intestino grueso (122, 123). Pueden aparecer algunos neutrófilos, los cuales no forman parte de el conjunto de células normales del sistema linfoide asociado a las mucosas (124).

En las primeras etapas de la enfermedad no hay cambios significativos en los enterocitos, pero según avanza el proceso se va produciendo una atenuación del borde en cepillo de los mismos y la aparece vacuolización citoplásmica supranuclear. Se incrementa el índice mitótico en las criptas intentando reparar el daño epitelial, gracias a factores de crecimiento liberados por las células mesenquimales y los linfocitos intraepiteliales (125).

Las lesiones histológicas intestinales pueden estar parcheadas con zonas de mucosa sana entre las mismas. En estas lesiones se pueden reconocer varias fases interrelacionadas de progresivo incremento lesional, denominadas fases de Marsh, que fue quien las describió y clasificó (126):

- **Tipo 0 (mucosa normal: pre-infiltrativa)**, caracterizada por una mucosa de morfología normal (Fig 17), aunque la inmunidad humoral local está alterada.

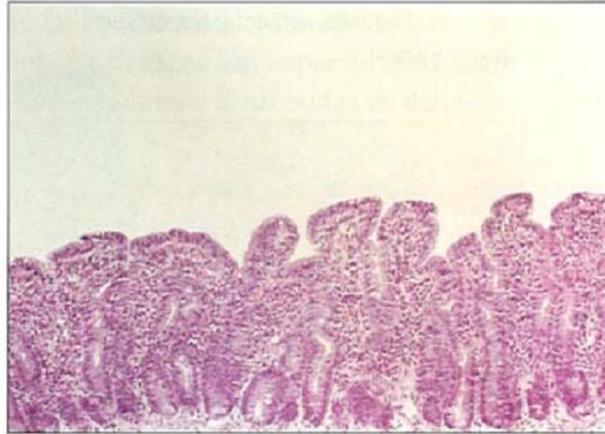


*Mucosa yeyunal normal a microscopio óptico*

o **Tipo I (lesión infiltrativa)**, caracterizada por una arquitectura mucosa normal, pero hay infiltración de linfocitos intraepiteliales (LIE), más de 25 por cada 100 enterocitos. Se puede encontrar en enfermos diagnosticados que siguen dieta sin gluten pero que aún no han conseguido la remisión completa o bien están ingiriendo sin darse cuenta, pequeñas cantidades de gluten. Si se encuentra este tipo de lesión en familiares de un paciente indicaría una Enfermedad Celíaca en potencia. Esta fase aún no es diagnóstica de EC establecida.

o **Tipo II (lesión hiperplásica)**, en la que además de la infiltración de LIE existe alteración de la arquitectura mucosa mostrando alargamiento de las criptas de Lieberkühn y un aumento del número de células en mitosis, pero manteniendo la altura de las vellosidades intestinales. Esta fase es difícil de encontrarla en la clínica salvo en el caso de pacientes a los que se les biopsia por una Dermatitis Herpetiforme o estudios experimentales (127)

o **Tipo III (lesión atrófica o destructiva)**, en la que además de la infiltración de LIE e hiperplasia de las criptas, existe aplanamiento de las vellosidades intestinales. Es la lesión diagnóstica típica de Enfermedad Celíaca. Cuando el paciente ha comenzado a hacer dieta sin gluten puede verse esta fase lesional sin la infiltración de LIE, muy necesarios, por otra parte, para el diagnóstico.



*Mucosa yeyunal típica celíaca con atrofia vellositaria e hipertrofia de las criptas, a microscopio óptico*

Según la severidad de la atrofia se divide esta fase en tres subfases:

- Tipo III a: atrofia vellositaria parcial o leve.
- Tipo III b: atrofia vellositaria subtotal o marcada.
- Tipo III c: atrofia vellositaria total o fase de mucosa plana.

o **Tipo IV (hipoplásica)**, con depósitos de colágeno que dan lugar a una verdadera atrofia. Existe una mucosa plana con criptas normales y sin incremento de LIE. Es muy infrecuente encontrar esta fase en la actualidad. Se veían antes en niños pequeños caquéticos y hoy en día puede observarse en un pequeño grupo de pacientes que no responden al tratamiento: Enfermedad Celíaca Refractaria (128). Es tipo de EC que no responde a la dieta sin gluten tras al menos seis meses de seguimiento con la misma y que se piensa pueda ser debida a transgresiones dietéticas mínimas o inconscientes que conllevaría estímulos constantes de gliadina en la dieta. Lleva a una situación realmente grave con elevada mortalidad y complicaciones, con infecciones recurrentes.

Ya hemos visto más arriba, en algunos casos, las lesiones intestinales de la Enfermedad Celíaca son parcheadas lo cual puede dificultar el diagnóstico endoscópico. *El mejor diagnóstico endoscópico se conseguirá cuanto mayor sea el número de muestras que se tomen a distintos niveles.* Tampoco conocemos cuál es la evolución natural de la enfermedad. Los pacientes pueden desarrollar cualquiera de los tipos citados. El grado de lesión intestinal no se relaciona con su intensidad o expresión clínica.

Se pueden realizar **morfometría cuantitativa** valorando por ejemplo el cociente entre las longitudes de las vellosidades y las criptas: el cociente normal vellosidad/ cripta debe ser mayor de 2,5. Por debajo es significativo de atrofia vellositaria. Es fácilmente reconocible tanto por endoscopia como por estudio histológico.

Excepcionalmente los cambios histológicos descritos pueden ser debidos a otras

enfermedades con las que se debe hacer el diagnóstico diferencial como son el esprúe tropical, la giardiasis, la enteropatía autoinmune, el esprúe colágeno, estados de hipersensibilidad alimentaria, gastroenteritis infecciosa o una grave desnutrición .

Entre las complicaciones a las que se puede asistir cuando el diagnóstico no se realiza precozmente o bien no se sigue con adherencia el tratamiento de la dieta sin gluten están: osteoporosis, EC refractaria, crisis celíaca, atrofia esplénica, linfomas no Hodgkin, carcinomas digestivos de faringe, esófago y estómago o adenocarcinomas de intestino delgado, recto, linfomas intestinales y sobrecrecimiento bacteriano (129-167).

Enfermedades que deben considerarse diagnóstico diferencial de EC según la biopsia

*Obtenido de: Grupo de Trabajo de “Diagnóstico Precoz en la Enfermedad Celíaca” Ministerio de Sanidad y Consumo.*

<b>Biopsia duodenal normal</b>	<b>Enteritis linfocítica</b>	<b>Atrofia vellositaria</b>
<b>Insuficiencia pancreática.</b> <b>Intolerancia a disacáridos.</b> <b>Sobrecrecimiento bacteriano.</b> <b>Patología funcional.</b> <b>Colitis microscópica.</b> <b>Malabsorción de ácidos biliares.</b> <b>Anemia ferropénica por pérdidas.</b>	Infección por Helicobacter pylori. Lesión por anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs). Parasitosis por Giardia lamblia. Enfermedad de Whipple. Enfermedad de Crohn. Enteropatía del SIDA. Sobrecrecimiento bacteriano. Enteritis eosinofílica. Linfoma intestinal. Hipo o agammaglobulinemia. Amiloidosis. Linfangiectasia intestinal. Enteritis por radiación. Hipertiroidismo. Gastroenteritis infecciosa.	Esprúe tropical. Enteropatía autoinmune. Linfoma intestinal. Parasitosis por Giardia lamblia. Intolerancias o alergias alimentarias en niños (p.e. leche de vaca). Enfermedad de injerto contra huésped. Isquemia crónica del intestino delgado. Déficit de IgA, especialmente si se asocia a sobrecrecimiento bacteriano.

## CLASIFICACIÓN

La forma de **EC con presentación clásica** grave con malabsorción intestinal, serología positiva y atrofia intestinal no es la forma de presentación más frecuente sino que se presenta en una pequeña parte de los pacientes que constituyen en realidad la punta de un iceberg. Por debajo de la línea de flotación subyacen el mayor volumen de casos de EC, muchas veces sin diagnosticar, por ser formas monosintomáticas o asintomáticas.

La forma más frecuente de presentación es paucisintomática o monosintomática, tanto en el niño como en el adulto. Se han propuesto otras formas de la enfermedad asintomáticas que son:

- **EC silente:** presenta lesiones histológicas, incluso de atrofia intestinal. Estos casos se descubren por la positividad de marcadores séricos.
- **EC latente:** no presenta lesiones histológicas pero o las ha presentado con anterioridad (adultos diagnosticados de EC en la infancia, actualmente asintomáticos a pesar de seguir una dieta normal) o las presentará en un futuro, porque suelen tener positivos los marcadores séricos.
- **EC potencial:** estado de riesgo potencial al desarrollo de EC ya que muestra las características genéticas propias de la EC : HLA-DQ2 y HLA-DQ8 (*Human leukocyte antigens*, ver adelante “Genética de la EC”).
- **Hipersensibilidad al gluten:** Entidad descrita por primera vez en 1976 es una categoría de pacientes con respuesta sintomática al gluten pero sin evidencia serológica ni en biopsias de enfermedad celíaca. Carece de criterios diagnósticos específicos así que se diagnostica por exclusión de enfermedad celíaca.

### Hipersensibilidad al gluten

Se cree que esta entidad está en relación al síndrome de intestino irritable (SII) ya que un 25% de estos pacientes mejora con la dieta libre de gluten y porque sus síntomas se asemejan mucho más a esta patología que a la enfermedad celíaca en sí (168, 199, 200). Se estima que puede afectar hasta el 5-10% de la población occidental y estos datos se sustentan en la popularidad que han adquirido los productos libres de gluten que han aumentado hasta tres veces sus ventas desde 2006 a 2010 (197).

La proporción de pacientes con hipersensibilidad al gluten no está demasiado establecida debido a que la mayoría de ellos inicia la dieta sin gluten por su cuenta pero se piensa que la prevalencia puede ser hasta 5 veces mayor que la de la enfermedad celíaca. En un estudio realizado en Reino Unido con pacientes autodiagnosticados de hipersensibilidad al gluten se descubrió que hasta un 62% de ellos eran en realidad celíacos por lo que se cree que esta mayoría de pacientes con hipersensibilidad al gluten son en realidad celíacos no diagnosticados (198).

Las biopsias realizadas en pacientes de hipersensibilidad al gluten no muestran las características típicas de la enfermedad celíaca, sin embargo se acepta que puedan tener un número elevado de linfocitos intraepiteliales en el duodeno (>25 linf/100 EC) lo que se denomina enteritis linfocítica, entidad también presente en infecciones del intestino delgado como la del *Helicobacter pylori*.

Sin embargo hay otros estudios que hablan del efecto placebo de la dieta sin gluten. Un ejemplo de ello son los adultos cuyos síntomas parecen ser causados por los hidratos de carbono de cadena corta que son difíciles de digerir. Como estos

azúcares están reducidos en la dieta sin gluten, la buena respuesta clínica se puede explicar por la reducción de oligosacáridos más que en la eliminación del gluten (169).

*Pero hay otros dos estudios que afirman que el gluten es el causante de los síntomas gastrointestinales en un buen número de pacientes.*

El primero se realizó en una cohorte de niños sin hallazgos serológicos ni histológicos de enfermedad celíaca o alergia IgE mediada en los que los síntomas gastrointestinales aparecían sometiendo a los niños a un estudio ciego (en el que el padre, pero no el niño sabía que había gluten en la comida) (170)

En un estudio a doble ciego en adultos con síndrome de intestino irritable, aquellos con dieta con gluten presentaron más movimientos intestinales y una permeabilidad aumentada en el intestino delgado, siendo más común en individuos HLA DQ2-8 positivos (171).

El diagnóstico de la hipersensibilidad al gluten debe ser abarcado con mucha cautela y no debe basarse en una mejoría transitoria de los síntomas con una dieta libre de gluten. Desafortunadamente ni los anticuerpos anti gliadina ni otros biomarcadores pueden identificar con seguridad a los pacientes con hipersensibilidad al gluten (172)

### ¿Es hipersensibilidad al gluten o una forma menor de enfermedad celíaca?

*Para los niños con sintomatología atribuible a la ingesta de gluten es importante hacer los exámenes diagnósticos tanto para la enfermedad celíaca como para la alergia al gluten IgE mediada antes de eliminar el gluten definitivamente porque estos exámenes pueden dar falsos negativos si se desarrolla en niños que toman una dieta libre de gluten . Los trabajos que se están realizando actualmente van en dirección de proponer nuevos métodos diagnósticos así como un tratamiento alternativo a la dieta libre de gluten.*

### ¿Debo de retirar el gluten de la dieta en los pacientes con hipersensibilidad al gluten?

En la actualidad no hay evidencia sólida de que se deba quitar el gluten de la dieta en pacientes con hipersensibilidad como primera medida terapéutica. Se ha estudiado que una dieta libre de hidratos de carbono de cadena corta es mucho más eficaz que eliminar el gluten de la dieta en estos pacientes. Hay evidencia suficiente que nos permite diferenciar tres grupos de pacientes dentro del grupo etiquetado como hipersensibles al gluten: Los **pacientes “Celiac lite”** (pacientes con serología y biopsia negativa, pero HLA positivo y enteritis linfocitaria (muchos de los cuales se detectan anticuerpos antiendomiso en el sobrenadante de la biopsia aunque no en el suero, *estos sí se benefician* de una dieta libre de gluten (201-203) los pacientes con **hipersensibilidad al gluten** (mediada enteramente por inmunidad innata) y los pacientes con **hipersensibilidad a hidratos de carbono de cadena corta** (también denominados FODMAPs, del inglés "Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides,

Monosaccharides And Polyols") (103-105).

## EPIDEMIOLOGÍA

La Enfermedad Celíaca es más frecuente en su presentación en la infancia pero puede debutar a cualquier edad siendo más frecuente en la mujer en una relación 2:1 se constituye como la intolerancia alimentaria más frecuente en los países desarrollados del área europea (129) y sus áreas de influencia genética y dietética, como son el continente australiano y estados norteamericanos, situándose su prevalencia entre el 0,5-1% de la población (130-133). Aunque sólo están diagnosticados uno de cada ocho afectados (136), es la reacción adversa a alimentos más diagnosticada y con la positividad de una sola prueba serológica podemos calcular una prevalencia del 1% (137). La EC no es exclusiva de países desarrollados. En estudios recientes se estiman prevalencias similares en países en vías de desarrollo en los que los hábitos de alimentación están cambiando de una dieta tradicionalmente exenta de gluten hacia una dieta rica en derivados del trigo en forma de pastas, panes y bollería (138-141). Se encuentran frecuencias de EC comparables a las de los países desarrollados mediante *cribaje serológico* en población general (142). En estas sociedades, unido al cambio de su dieta en los adultos se presentan también cambios en los hábitos de la alimentación infantil por la misma influencia occidental globalizadora, reduciendo los tiempos de lactancia materna protectora (150 y 151) e incluyendo en la dieta el gluten más tempranamente, en estas sociedades donde antes apenas se consumía.

Estos cambios en las costumbres alimentarias en zonas donde el gluten no formaba parte de la dieta, aunque la prevalencia potencial de la enfermedad siempre estuviera presente (149), está dando lugar a un recrudecimiento sintomatológico. En el futuro es fácil suponer que asistiremos a un aumento de la prevalencia de la EC sintomática en estos países, los cuales no siempre contarán con los medios económicos para enfrentarse a ella. Por otra parte la dieta sin gluten es un remedio caro en especial para sociedades con dificultades para dar alimento a la totalidad de la población. La posibilidad de volver al pasado hacia otro tipo de cultivos y hábitos alimentarios se plantea como una tarea difícil teniendo en cuenta la fuerte influencia globalizadora de las sociedades occidentales. Es necesario plantear estrategias terapéuticas alternativas.

## Genética

La Enfermedad Celíaca tiene las características de una enfermedad autoinmune, además de aparecer asociada clínicamente con algunas de ellas (Diabetes mellitus tipo I, tiroiditis autoinmune, déficit selectivo de IgA, enfermedad inflamatoria intestinal crónica, síndrome de Sjogren (ver Tabla 3).

1. Familiares de primer grado 5-15% (10-30% si son DQ2 + o DQ8 +).
2. Pacientes con enfermedades asociadas:

<b>Enfermedades autoinmunes y otras inmunopatías:</b>	<b>Trastornos neurológicos y psiquiátricos:</b>	<b>Otras asociaciones:</b>
<b>Diabetes mellitus I (5-6%).</b>	Encefalopatía progresiva.	Síndrome de Down (12%).
<b>Tiroiditis autoinmune (5%).</b>	Síndromes cerebelosos.	Síndrome de Williams.
<b>Déficit selectivo de IgA (4%).</b>	Demencia con atrofia cerebral.	Síndrome de Turner.
<b>Enfermedad inflamatoria intestinal.</b>	Leucoencefalopatía.	Fibrosis quística.
<b>Síndrome de Sjogren.</b>	Epilepsia y calcificaciones.	Enfermedad de Hartnup.
<b>Lupus eritematoso sistémico.</b>	Esquizofrenia.	Cistinuria.
<b>Enfermedad de Addison.</b>		Colitis microscópica.
<b>Nefropatía por IgA.</b>		Cardiomiopatía.
<b>Hepatitis crónica autoinmune.</b>		Fibromialgia.
<b>Cirrosis biliar primaria.</b>		Síndrome de fatiga crónica
<b>Artritis reumatoide.</b>		
<b>Psoriasis, vitíligo y alopecia areata.</b>		

Tabla 3: Grupos de Riesgo de EC

*Grupo de Trabajo de “Diagnóstico Precoz en la Enfermedad Celiaca”*

*Ministerio de Sanidad y Consumo*

Al igual que en dichas afecciones, encontramos asociación con algunas variantes (alelos) de las moléculas del sistema HLA (Human leukocyte antigens) de clase II (HLA DR, DQ, DP) . La asociación de la EC con el HLA es una de las más fuertes descritas (41).

Las moléculas del HLA son glucoproteínas situadas en la membrana plasmática celular constituyendo heterodímeros, es decir, una unión no covalente de una cadena alfa y otra beta entre las cuales queda la una hendidura peptídica, lugar al que se fijará el antígeno .

Los genes que codifican para cada una de las cadenas expresan, en forma codominante, los dos alelos. Por tanto tendremos como resultado la expresión de por lo menos seis moléculas de clase II en la membrana celular para un individuo DR, DQ y DP.

En la mayor parte de las de las poblaciones que han sido estudiadas a nivel molecular el punto de vista genético, en la EC, muestran resultados contundentes con una expresión en más del 90-95% de los enfermos del heterodímero HLA-DQ2. del sistema HLA de clase II. Esto indica una susceptibilidad de la EC asociada al heterodímero DQ2. Esta

proteína está codificada por los alelos DQA1\*0501 y DQB1\*02.

Sin embargo, el DQ2 también se encuentra presente la cuarta parte de la población general (144).

Los pocos celíacos (5-10%) que carecen del heterodímero DQ2, suelen presentar el heterodímero DQ8, codificado en este caso por los alelos DQA1\*0301 Y DQB1\*0302.

Estas moléculas HLA-DQ confieren susceptibilidad ya que su función principal es presentar los epítomos de la gliadina a los linfocitos T CD4+. La capacidad de unir estos epítomos es mayor para el HLA-DQ2 (43).

La presencia de las moléculas DQ2 y DQ8 se determina mediante el análisis de los alelos que las codifican mediante un sencillo proceso de laboratorio a partir de una pequeña muestra de sangre total en tubo con anticoagulante EDTA (etilen-diamino-tetra-acetato) del cual se extrae el ADN (ácido desoxirribonucleico) y se hacen copias de pequeños fragmentos concretos del mismo, mediante SSP-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con cebadores específicos) y se detectan estas copias mediante una electroforesis con gel de agarosa (146).

En nuestro área geográfica, el DQ2 es especialmente útil por su valor predictivo negativo y el DQ8 debería quedar restringido a los pacientes celíacos DQ2 negativos (147).

Estudios sobre gemelos homocigotos muestran una concordancia de desarrollo de EC del 70%, atribuyéndose el 30% restante a factores ambientales como la duración de lactancia materna o la edad de comienzo con los cereales en la dieta del bebé o incluso la presencia de infecciones víricas o bacterianas coincidentes con la inclusión de la dieta con gluten.

Esto se demostró en un estudio realizado en niños con HLA DR3-DQ2 y DR4-DQ8 que habían sido seguidos desde el nacimiento. Hacia los 5 años de edad el 26% de los niños homocigotos para HLA DR3-DQ2 habían desarrollado anticuerpos y el 11% había desarrollado enfermedad celíaca. Mientras que la presencia de HLA- DQ2 o DQ8 es indispensable para desarrollar enfermedad, no se considera suficiente.165)

### **Serología**

Si bien el diagnóstico exacto de Enfermedad Celíaca lo da la biopsia intestinal, el hecho de que la EC sea una enfermedad autoinmune ha permitido disponer de marcadores serológicos de gran utilidad como indicadores de enfermedad. La aparición de marcadores serológicos fiables ha supuesto una mejora en cuanto al diagnóstico con técnicas no invasivas, estudios poblacionales y para el seguimiento de los pacientes.

Ya hemos visto arriba, en las formas clínicas de EC, que la negatividad de los marcadores serológicos no excluye el diagnóstico, siendo entonces necesario recurrir al

estudio genético.

Los primeros anticuerpos serológicos identificables en aparecer fueron los anticuerpos contra elementos de la dieta, en concreto contra determinantes antigénicos de la alfa-gliadina (148). Pero en la actualidad han sido superados para el diagnóstico, porque son poco específicos de EC, encontrándose positivos en otras enfermedades y también en individuos sanos.

No se encuentra relación de los anticuerpos antigliadina (AAG) con la patogenia de la EC sino que más bien responden más al aumento de la permeabilidad intestinal.

Los AAG de clase IgG (inmunoglobulina G) son muy inespecíficos aunque sean sensibles, porque son los que se encuentran en individuos que no padecen EC.

Los AAG de clase IgM e IgE carecen de valor. Serán los de clase IgA los que más interesan por ser más específicos y aumentan sobre todo en niños (149).

Tras la retirada de la dieta sin gluten los AAG-IgA disminuyen pero no así los AAG-IgG que permanecen más tiempo o incluso no se negativizan nunca.

En la actualidad los AAG no se utilizan para el diagnóstico en la práctica debido a que tenemos otros marcadores serológicos de mucha mayor sensibilidad (150).

En los casos de niños menores de 2 años de edad para control de la dieta sin gluten se utilizarán y mejor aún una variante, los anticuerpos anti-péptidos deaminados de gliadina (aDGP) (151).

En la EC también se ha encontrado positividad a un tipo de autoanticuerpos antirreticulina que sin embargo no son específicos de la misma y pueden encontrarse en otras muchas enfermedades. Además existen problemas técnicos y de interpretación de patrones de inmunofluorescencia, por lo que no han llegado a conseguir un papel práctico (152-154).

En la actualidad se dispone de marcadores séricos muy fiables como indicadores de Enfermedad Celíaca. Son los anticuerpos antiendomiso (AEM) y los anticuerpos antitransglutaminasa (Tabla 4) (155).

<b>Anticuerpo</b>	<b>Sensibilidad (%)</b>	<b>Especificidad (%)</b>
<b>Antigliadina AAG</b>	75-90	80-95
<b>Antiendomiso AEM</b>	85-98	97-100
<b>Antitransglutaminasa</b>	90-98	94-97

*Tabla 4. Fiabilidad de los autoanticuerpos séricos utilizados en el diagnóstico de EC*

### ***Anticuerpos antiendomiso (AEM)***

La determinación en suero de la presencia de anticuerpos antiendomiso presenta una sensibilidad y especificidad que, aunque varían según la edad, alcanzan cifras superiores a 95% (156). Se detectan IgG e IgA siendo estos últimos los que nos interesan para el diagnóstico de Enfermedad Celíaca. Su principal inconveniente, vuelven a ser los problemas técnicos de interpretación de los patrones inmunofluorescencia indirecta (157), debiendo contarse con la influencia subjetiva del observador, que habrá de ser suficientemente experimentado. En cualquier caso la aparición de estos AEM IgA, ha supuesto una gran aportación para el diagnóstico de la EC.

### ***Anticuerpos antitransglutaminasa (AtTG)***

La transglutaminasa (TG) es una enzima de amplia distribución en el organismo, cuya principal función es catalizar la modificación de proteínas mediante procesos de transamidación o desamidación y al inducir la desamidación de los péptidos inmunodominantes de gliadinas aumenta su afinidad por la molécula HLA-DQ (158) además de ser el principal antígeno de los autoanticuerpos específicos. El principal substrato exógeno de la TG es la gliadina, que contiene aminoácidos de carga positiva, donde induce la sustitución ordenada y específica de residuos de glutamina por ácido glutámico (carga negativa). Este mecanismo podría estar implicado en la pérdida de tolerancia oral al gluten al descubrir los epítomos inmunogénicos o dar lugar a otros nuevos (159). Además la gliadina es capaz de debilitar las uniones intercelulares del epitelio intestinal tipo “zona de oclusión” o “Tight-junction” también llamadas “uniones herméticas” y “zónula ocludens”. Sirven para impedir el libre paso de moléculas entre dos células de un epitelio y constituyen un componente esencial de la defensa innata intestinal (160).

La aparición de los anticuerpos antitransglutaminasa (AtGT) (161) se demostró como un hallazgo de gran utilidad, por su mayor fiabilidad (54) y la posibilidad de su utilización en la clínica de forma automatizada. En la actualidad existe acuerdo generalizado para el empleo sólo de estos anticuerpos de clase IgA, para el cribado de la Enfermedad Celíaca. Se suele determinar simultáneamente la IgA sérica total ya que en los enfermos celíacos es frecuente la coincidencia con un déficit selectivo de IgA. En estos casos se analizaría la clase IgG de la AtGT.

Hay que tener en cuenta la posibilidad de que existan falsos positivos en *hepatopatías*, *psoriasis* y *enfermedad de Crohn*. En estos casos se deberían determinar los **AEM** (162). Pero en los casos de alteraciones parciales de la mucosa intestinal o lesiones intestinales leves, ambos tipos de autoanticuerpos pueden perder mucha sensibilidad (163-164).

Hasta el momento actual no hay una indicación clara de cribado en la población general y una opción plausible sería hacerlo en grupos de riesgo como son los familiares de primer grado o pacientes con enfermedades asociadas (Tabla 3).

## **Enfermedad celíaca y autoinmunidad :**

Numerosos estudios han querido explicar la fisiopatología de la enfermedad celíaca comparándola con otras patologías

Es posible que haya similitudes inmunológicas entre la estructura de la proteína gliadina y otros patógenos enterales lo que explicaría la respuesta inmunológica contra los antígenos del gluten. Esta hipótesis se sostuvo en un estudio que analizó la proteína alfa gliadina poniendo de manifiesto una región en ella homóloga a la de una proteína de membrana del adenovirus 12, lo que sugería que la exposición a este virus en una persona susceptible podría desarrollar la enfermedad celíaca (166).

Sin embargo el papel en la enfermedad que tienen estos anticuerpos todavía queda por esclarecer. Se sabe que existen mecanismos humorales y celulares en su patogénesis y el rango de cantidades de gluten que disparan la reacción puede variar con la edad del paciente, aunque esto no está del todo demostrado. *Existen dos estudios randomizados que aseguran que no hay relación entre la edad de la introducción del gluten, la lactancia materna y el riesgo de desarrollar enfermedad celíaca.* El primero incluye a 944 niños de ocho países europeos que estaban con riesgo elevado de desarrollar enfermedad celíaca debido a su perfil genético (HLA-DQ2 o DQ8 y al menos un familiar de primer grado con enfermedad celíaca.) que fueron distribuidos en dos grupos uno que recibió una pequeña dosis de gluten desde la 16 a la 24 semanas de edad y otro que recibió un placebo. No se registró ninguna diferencia en la prevalencia de enfermedad celíaca a los tres años de edad y tampoco modificó la prevalencia el hecho de recibir lactancia materna. (167) El segundo trabajo incluyó a 832 niños italianos con el mismo riesgo de desarrollar enfermedad celíaca y fueron randomizados en dos grupos, uno que recibió gluten a los 6 meses de edad, frente a otro que lo recibió a los 12 meses. El primer grupo resultó en mayor incidencia de casos a los dos años de edad pero no hubo ninguna diferencia entre grupos a los cinco años y tampoco se encontró asociación con la lactancia materna (168). Por tanto, *la introducción tardía del gluten no altera el riesgo de padecer enfermedad celíaca aunque sí retrasa su debut.*

Dada la *alta prevalencia* de enfermedad celíaca en nuestra sociedad, nos obliga a los clínicos a hacernos las siguientes preguntas:

### *¿Quién debe hacerse el cribado?*

Y dada la *gran incidencia* de genética positiva y al hecho de poder encontrarnos con pacientes con enfermedad celíaca potencial nos lleva a la siguiente pregunta

### *¿A quien debemos tratar?*

## **¿QUÉ DEBE HACERSE EL CRIBADO?**

No está muy claro, ni definido el beneficio de hacer un cribado de celíaca en individuos asintomáticos. Se cree que esta estrategia obtendría una mejora en síntomas leves de la

enfermedad, resolvería malnutriciones subclínicas y potencialmente disminuiría el riesgo de malignización. Sin embargo hay pocos datos que sustenten estos efectos beneficiosos y la estrategia requeriría el esfuerzo de adherirse a una dieta muy estricta a individuos poco sintomáticos.

Según la NASPGHAN se debe realizar el cribado en los siguientes grupos, siempre y cuando se haya corroborado que siguen en el actualidad una dieta con gluten (174):

Los pacientes con estos síntomas que no se expliquen de ninguna otra forma:

<b>Síntomas sospechosos</b>	
Diarrea persistente	Fallo de Medro
Estreñimiento crónico	Estomatitis aftosa recurrente
Hipoplasia del esmalte dentario	Fracturas patológicas
Talla baja idiopática	Alteraciones hepáticas en analíticas
Anemia que no responde a feroterapia	Fatiga crónica
Dermatitis herpetiforme	Dolor abd recurrente/ vómitos

Todos los miembros de los siguientes grupos de riesgo deben estudiarse

<b>Grupos de riesgo que deben estudiarse</b>	
Familiares de primer grado	Síndrome de William
Diabetes tipo I	Inmunodeficiencia IgA
Síndrome Down	Hepatitis autoinmune
Síndrome de Turner	

El debate sobre cuando se ha de estudiar o no a estos grupos continúa abierto, y las recomendaciones pueden cambiar a medida que se publiquen nuevos estudios sobre los riesgos y beneficios potenciales sobre el cribado y tratamiento precoz.

En estos grupos de riesgo el cribado en individuos asintomáticos debe hacerse al menos una vez cada tres a cinco años desde los tres años de edad o antes si aparece sintomatología. Otra opción sería investigar los alelos HLA DQ2 o DQ8 y solo seguir investigando en los pacientes que dan positivo en esta prueba aunque el coste efectividad de esta prueba aún no ha sido bien descrito (175).

### **¿CÓMO SE HACE EL CRIBADO?**

En la mayoría de los casos un diagnóstico de presunción de enfermedad celíaca requiere resultados positivos tanto de anticuerpos como de biopsia, siempre en el contexto de una dieta con gluten. El diagnóstico se confirma si hay una normalización de los anticuerpos (al menos en un año) y de los síntomas con una dieta libre de gluten.

**Serologías:** Como hemos dicho con anterioridad el anticuerpo más sensible específico y coste-efectivo en niños son los antitransglutaminasa, incluidos los niños menores de dos años. En adultos la sensibilidad de estos anticuerpos disminuye drásticamente. Para

los individuos con déficit selectivo de IgA los exámenes han de hacerse con IgG. Aproximadamente un dos por ciento de los niños con enfermedad celíaca pueden padecer este tipo de inmunodeficiencia. No se considera coste efectivo realizar un cribado de inmunoglobulinas en todos los niños que son estudiados por enfermedad celíaca (177) Se hará solamente en los niños que tengan anticuerpos negativos y una alta sospecha de enfermedad celíaca.

Para los niños asintomáticos con elevado riesgo de padecer enfermedad celíaca con elevaciones moderadas de los anticuerpos antitransglutaminasa (pero menos de 10 veces el límite de la normalidad) las nuevas guías recomiendan el cribado secuencial con anticuerpos antiendomiso. Si este examen es negativo es razonable observar al paciente y diferir la biopsia ya que se ha visto que las posibilidades de encontrar cambios histológicos característicos en esta situación es muy baja. Esto aún no está del todo demostrado y se contará también con la opinión del paciente y la familia. Aquellos que elijan no realizar biopsia han de ser seguidos de cerca y repetirse los exámenes serológicos si desarrollan síntomas de enfermedad celíaca.

En el grupo de niños menores de dos años se recomienda analizar los anticuerpos anti gliadina ya que se cree son más sensibles que los antitransglutaminasa y antiendomiso en este grupo de edad (178,179).

Para los pacientes que cuando llegan a la consulta están ya siguiendo una dieta libre de gluten se deben hacer serologías para anticuerpos antitransglutaminasa y antiendomiso. Si estos son elevados se debe hacer una biopsia intestinal para confirmar el diagnóstico de enfermedad celíaca. Si no están elevados la enfermedad celíaca no está excluida. En este caso se debe obtener el HLA del paciente para saber si es susceptible de enfermedad celíaca. Si el paciente es positivo para HLA DQ2 o DQ8 se debe reintroducir el gluten en aumentos moderados y haciendo anticuerpos antitransglutaminasa si aparece sintomatología o después de seis meses si el paciente está asintomático SI el HLA es negativo para DQ2-DQ8 la enfermedad celíaca se excluye del diagnóstico diferencial (176, 186).

**Biopsia intestinal:** Todos los individuos con anticuerpos antitransglutaminasa positivos o anticuerpos antiendomiso deben tener hecha una biopsia intestinal para establecer el diagnóstico de enfermedad celíaca. La biopsia debe ser realizada sin retirar el gluten de la dieta. Deben obtenerse múltiples biopsias desde el duodeno distal y el bulbo duodenal ya que la enfermedad puede tener una distribución parcheada (180) y han de ser interpretadas por un patólogo experto. La enfermedad puede tener una distribución parcheada. También se debe de hacer biopsia en pacientes con exámenes serológicos negativos si hay una fuerte sospecha de enfermedad (176).

Existe una serie de casos que sugiere que la enfermedad celíaca puede ser diagnosticada con seguridad sin necesidad de biopsia en pacientes sintomáticos con muy altos resultados de anticuerpos antitransglutaminasa (ac antitransglutaminasa > 100 U/mL o por encima de 10 veces el límite de lo normal según cada laboratorio.) y siempre y

cuando esa sintomatología remita con la dieta exenta de gluten (181). No obstante si se sigue esta estrategia se ha de hacer un análisis de HLA DQ2 Y DQ8 para asegurar este diagnóstico (se excluirían los pacientes con HLA negativo.) aunque esta aportación es bastante modesta en el diagnóstico final (182). Todavía faltan muchos estudios para que esta estrategia de diagnóstico sea totalmente aceptada y en la actualidad se postula que la biopsia intestinal es requerida para la máxima seguridad diagnóstica, dado el daño que una dieta libre de gluten establecida de por vida pueda causar. Además es importante excluir otras agresiones de la mucosa intestinal diferentes a la enfermedad celíaca incluyendo por supuesto la esofagitis eosinofílica pero también la gastritis por H, Pylori y la enfermedad de Crohn (183,184)

### ¿QUIÉN DEBE TRATARSE?

El tratamiento con una dieta libre de gluten se recomienda con objetivo tanto diagnóstico como terapéutico para todos los niños en cada uno de los siguientes grupos:

- Niños sintomáticos con biopsia confirmatoria.
- Niños con o sin síntomas pertenecientes a los grupos de riesgo con biopsia característica
- Pacientes con dermatitis herpetiforme confirmada con biopsia cutánea (sin necesidad de biopsia intestinal)

*No se puede recomendar de ninguna manera comenzar una dieta libre de gluten antes de realizar una biopsia intestinal dado que la sintomatología de enfermedad celíaca es muy inespecífica y la biopsia en la mayoría de los casos es esencial para hacer un diagnóstico. Esto último sumado a las complicaciones de una dieta exenta de gluten de por vida (No es fácil de seguir, son alimentos muy costosos y puede tener consecuencias en la calidad de vida) supone que esta dieta no se debe pautar a no ser que haya evidencia fiable de enfermedad celíaca. Por otro lado los pacientes sintomáticos con enfermedad celíaca que no siguen una dieta estricta están en riesgo de efectos potencialmente malignos a largo plazo que aumentan morbilidad y mortalidad.*

Los pacientes con exámenes positivos (antitransglutaminasa o antiendomiso) pero resultados normales en la biopsia intestinal, se dice que tienen una *enfermedad latente*. A estos pacientes NO se les debe quitar el gluten de la dieta si no tienen síntomas. Sin embargo es importante saber que las lesiones son parcheadas por ello la importancia de obtener tantas biopsias. Además estos pacientes han de ser seguidos estrechamente para detectar de forma precoz fallo de medro y otros síntomas que puedan sugerir enfermedad celíaca y ha de repetirse la biopsia si estos síntomas aparecen. En los casos en los que el diagnóstico de enfermedad celíaca no está claro se debe hacer un examen de HLA DQ2 DQ8 ya que si el resultado es negativo excluye la probabilidad de padecer enfermedad celíaca (176).

Los niños sintomáticos con serología positiva pero biopsia negativa son muy sospechosos de padecer enfermedad celíaca. En diversos estudios en los que se siguió a

niños en esta situación al final desarrollaron la enfermedad tal y como se demostró en biopsias sucesivas (187).

### Nuevos avances:

## TRATAMIENTO PARA LA ENFERMEDAD CELÍACA NO BASADO EN LA DIETA.

La necesidad de un tratamiento más allá de la dieta sin gluten puede resultar poco relevante en nuestros días, en los que los productos libres de gluten están más disponibles en tiendas y restaurantes que nunca. Sin embargo la explosión de la oferta de productos sin gluten ha creado preocupaciones en los pacientes que necesitan adherirse a una dieta totalmente estricta para el tratamiento de su enfermedad. Por todo el mundo se están desarrollando estándares de cuanto gluten puede estar presente en un producto para que este pueda denominarse “libre de gluten”. Este estándar se mide en partes por millón de gluten den la comida que se calcula basándose en lo que se cree que es una ingesta de gluten segura en los pacientes con enfermedad celíaca (10-15 mg/día) (188).

Se cree que las personas que comen más comida procesada (aunque sea de alimentos libres de gluten) más probabilidad tienen de consumir más cantidad de gluten inadvertida. Esto se convierte en un grave problema para la gente que por su trabajo tiene que comer fuera de casa y viajar por su trabajo. Debido a esto no debe sorprendernos que incluso en celíaco que más adherido está a su dieta se expone sin saberlo al gluten a pesar de sus grandes esfuerzos (188). A pesar de lo difícil que es llevar esta dieta (alimentos poco palatables, hasta tres veces más caros que sus análogos con gluten) los celíacos están muy satisfechos con el efecto que hace en su salud. En 2012 se publicó un estudio que tasaba la efectividad de varios tratamientos valorada por sus pacientes y refería que para los celíacos la dieta sin gluten era vista como mucho más efectiva para su enfermedad comparándola con la percepción de efectividad que tenían pacientes con otras enfermedades sobre su tratamiento (ej. Pacientes con insuficiencia renal con hemodiálisis, pacientes diabéticos con Insulina), y lo que es todavía más curioso, tasaban la carga que les supone el tratamiento de la dieta sin gluten de igual o superior manera a estos otros pacientes.

Un porcentaje significativo de pacientes celíacos que siguen una dieta libre de gluten tienen síntomas persistentes y anticuerpos elevados a pesar de seguir una dieta estricta (190,191). Esto puede ser por ingesta de gluten continuada a menudo de alimentos que tienen trazas de gluten no reconocidas o en las llamadas “fuentes ocultas” de gluten (medicación, pasta de dientes...) Hay un elevado interés acerca de los factores que causan estos síntomas incluyendo almidones fermentados, hipersensibilidad a otras semillas usadas en los alimentos libres de gluten y el papel del sobrecrecimiento bacteriano.

Estos pacientes buscan desesperadamente otra solución para su enfermedad y a pesar de que esta patología se conozca desde hace más de un siglo solo se han publicado otras alternativas a la dieta sin gluten desde hace relativamente poco tiempo (193).

Solo un número limitado de terapias experimentales han sido probadas en ensayos clínicos randomizados, algunos de estos son:

**Acetato de larazotide:** reduce el paso paracelular del gluten a través de la Barrera epitelial hacia la lámina propia inhibiendo las uniones firmes (194).

**AN-PEP:** Es una endopeptidasa que rompe el gluten produciendo fragmentos peptídicos poco o nada inmunogenicos (195).

**Inmunoterapia contra el gluten:** El objetivo es desarrollar tolerancia contra el gluten.

**Necator americanus:** Se ha investigado si la infección por este nematodo puede cambiar la respuesta linfocitaria (196).

**ALV003** última opción terapéutica publicada, se trata de una mezcla de dos proteasas recombinantes y específicas para gluten que se han probado en adultos con biopsia positiva con buen resultado (197).

# ALERGIA RESPIRATORIA

## 1. RINITIS ALÉRGICA

La rinitis es una inflamación de la mucosa que se caracteriza por uno o más de los siguientes síntomas: estornudos, rinorrea (anterior y/o posterior), congestión nasal y prurito.<sup>1</sup> Es frecuente que se acompañe de clínica ocular, ótica y faríngea. Todos estos síntomas afectan a la calidad de vida del paciente, siendo causa importante de absentismo escolar y bajas laborales, con repercusión en los costes sociosanitarios.

La etiología es múltiple: infecciosa, alérgica, ocupacional, farmacológica, hormonal, idiopática, etc. pero la forma más común es la rinitis alérgica.

La rinitis alérgica es una reacción inmunológica desencadenada por exposición continuada a alérgenos y mediada por IgE, a nivel de la mucosa nasal.

Afecta al 10-30% de la población, pudiendo alcanzar el 40% en la edad pediátrica, pero esta prevalencia varía según el país y los métodos de cuantificación (208)

Los alérgenos de las rinitis alérgicas intermitentes suelen ser pólenes y esporas de hongos mientras que en las persistentes son los ácaros y animales domésticos (pelo, saliva, orina).

Se han descrito diferentes factores de riesgo asociados al desarrollo de rinitis alérgica (209) :

---

**Historia familiar de atopia**

**Sexo masculino**

**Nacimiento en primavera**

**Uso de corticoides nasales durante el embarazo**

**Exposición a tabaco o a alérgenos de interior (ej. Ácaros del polvo)**

**Uso precoz de antibióticos**

**IgE sérica > 100 UI / ml antes de los 6 años**

**Presencia de alérgenos específicos IgE**

---

Los síntomas y signos de la rinitis alérgica aparecen como respuesta a la exposición de un alérgeno específico. En el 70% de los casos, la clínica es más intensa por la mañana

---

## **SÍNTOMAS y SIGNOS**

---

**Rinorrea acuosa, en ocasiones goteo posterior**

**Congestión nasal**

**Prurito: nasal, palatino, oído interno, ocular**

**Estornudos, frecuentemente en salvas**

**Clínica ocular: prurito, eritema, quémosis conjuntival, edema periorbitario**

**Pliegues en párpados inferiores (líneas de Dennie-Morgan)**

**Pliegue nasal transversal, por frotamiento continuo: “saludo alérgico”**

**Facies alérgicas (niños): paladar arqueado, boca abierta y maloclusión dental**

**Mucosa nasal pálida, edema de cornetes y rinorrea acuosa**

---

### *Tabla II. Clínica de la rinitis alérgica*

La rinitis alérgica se asocia a múltiples trastornos:

- Conjuntivitis alérgica: presente hasta el 60% de los pacientes con rinitis
- Asma: Hasta el 50% de los asmáticos tienen rinitis alérgica 3,9
- Sinusitis
- Dermatitis atópica
- Síndrome de alergia oral

## **DIAGNÓSTICO**

El diagnóstico de la rinitis alérgica es clínico, basándose en una anamnesis minuciosa con la presencia de sintomatología típica, en el examen físico y en la respuesta a tratamiento empírico.

En determinadas ocasiones, como rinitis alérgica permanente o grave, difícil control de los síntomas o diagnóstico dudoso, puede ser necesario realizar exploraciones complementarias por un especialista en Alergología para un diagnóstico más preciso.

- Análisis de sangre: puede aparecer eosinofilia o elevación de niveles de IgE sérica total (30-40% de los pacientes) De poca ayuda en el diagnóstico por su baja

sensibilidad.

– Pruebas de alergia: Prick test, determinación de IgE específica (CAP) diagnóstico molecular en casos severos. Test de provocación conjuntival o nasal. Pruebas radiológicas (estas últimas descartan patología asociada o anomalías anatómicas, pero no diagnostican de alergia)

---

#### **Infecciosa**

- **Vírica**
- **Bacteriana**
- **Otros gérmenes**

#### **Inducida por fármacos**

- **Intolerancia a AINE**
- **Abuso de vasoconstrictores**

---

#### **Ocupacional (alérgica y no alérgica)**

- **Intermitente**
- **Persistente**

#### **Otras causas**

- **NARES (rinitis eosinofílica no alérgica)**
- **Sustancias irritantes**
- **Alimentos**
- **Emocional**
- **Atrófica**
- **Reflujo gastroesofágico**

#### **Hormonal**

- **Menstruación**
- **Embarazo**
- **Endocrinopatía**

#### **Idiopática (vasomotora)**

---

Diagnóstico diferencial de la rinitis alérgica.

## **ASMA ALÉRGICO**

El asma es una enfermedad heterogénea caracterizada por la inflamación crónica de la vía aérea. Cursa con hiperreactividad bronquial y obstrucción variable del flujo aéreo, total o parcialmente reversible, espontáneamente o con tratamiento farmacológico. Los síntomas característicos son episodios recurrentes de tos, disnea, opresión torácica y sibilantes.

Afecta a más de 300 millones de personas en el mundo, existiendo gran variabilidad en la prevalencia global. La prevalencia está aumentando sobre todo en países occidentales e industrializados, en relación a un aumento de la sensibilización atópica. Representa un

coste económico importante y un elevado número de muertes evitables.

Su etiología es multifactorial existiendo diferentes factores de riesgo para su desarrollo tanto genéticos como ambientales: exposición a alérgenos, infecciones, tabaquismo (activo o pasivo), contaminación (hipótesis de la higiene), ejercicio, nutricionales, embarazo, etc.

En la exacerbación asmática puede ocasionarse por diversos factores desencadenantes

---

<b>DIRECTOS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Infección viral respiratoria</b></li> <li>• <b>Tabaquismo (activo/pasivo)</b></li> <li>• <b>Frío y humedad</b></li> <li>• <b>Alérgenos</b></li> <li>• <b>Contaminantes atmosféricos</b></li> </ul>
<b>INDIRECTOS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ejercicio físico</li> <li>• Alérgenos y aditivos alimentarios</li> <li>• Embarazo</li> <li>• Tormentas e inversión térmica</li> <li>• Fármacos</li> <li>• Sinusitis</li> <li>• Menstruación</li> <li>• Reflujo gastroesofágico</li> </ul>

---

#### Factores desencadenantes de la exacerbación asmática (GEMA 2015)

Rinitis y asma coexisten frecuentemente, siendo la rinitis un factor de riesgo para padecer asma. El 20-40% de pacientes con rinitis padecen asma, y el 70-80% de los pacientes con asma padecen rinitis. Ante el diagnóstico de asma investigar la presencia de rinitis y viceversa.

El asma puede desarrollarse a cualquier edad, aunque el asma de nueva aparición es menos frecuente en los adultos mayores. Se diagnostica antes de los 7 años en el 75% de los casos

El comienzo de los síntomas suele deberse a los diferentes factores desencadenantes y

tiene predominio nocturno o de madrugada

Cursa a modo de crisis presentando los siguientes síntomas:

- Tos: al inicio irritativa; en la fase de resolución productiva con esputo claro.
- Disnea: síntoma más frecuente, aunque no siempre presente. Es episódica y variable, como consecuencia a la dificultad espiratoria. No guarda relación directa con el grado de obstrucción.
- Sibilancias: predominio espiratorio. La espiración suele estar alargada.
- Opresión torácica: no existe relación con el grado de obstrucción.

La atopia o la predisposición para generar los anticuerpos IgE específicos dirigidos contra los alérgenos es el mayor riesgo identificable en el desarrollo del asma. Mientras que esta asociación es indiscutible, los caminos por los que la atopia se expresa como el asma clínico y por que el asma podría producirse en ausencia de atopia todavía no está definido (208).

Las anomalías intrínsecas del músculo liso en la vía aérea, la remodelación en respuesta al daño o inflamación y los efectos e interacciones entre las células epiteliales y mesenquimales parecen modular y añadirse a los efectos de la inflamación de la vía aérea y presentándose como asma. Los diferentes fenotipos del asma que pueden ser definidos clínicamente refuerzan la noción del que el asma es realmente un síndrome con múltiples mecanismos subyacentes como también se cree que es la esofagitis eosinofílica.

### **Patogénesis del asma y su relación con la esofagitis eosinofílica y la enfermedad celíaca.**

Los síntomas y signos clásicos del asma son la disnea intermitente la tos y los estornudos. Este síndrome bien reconocido se caracteriza por la limitación variable del flujo respiratorio y por la hipersensibilidad de la vía aérea lo que representa una respuesta contractil exagerada a una gran variedad de estímulos.

La atopia o la predisposición genética para desarrollar anticuerpos IgE específicos contra los alérgenos ambientales comunes es el factor de riesgo más fácilmente identificable en el desarrollo del asma. Mientras que la asociación de asma y atopia es indiscutible, los caminos por los que la atopia se manifiesta como asma clínico y porqué el asma puede ocurrir en ausencia de atopia no está definido claramente (208). Las anomalías intrínsecas en la función del músculo liso de las vías aéreas en respuesta a herida o inflamación y las interacciones entre el epitelio y las células mesenquimales parecen modular y añadirse a los efectos de la inflamación de la vía aérea para crear la presentación clínica del asma. Los diferentes fenotipos de esta patología que pueden ser descritos clínicamente aseguran la noción de que el asma es realmente un síndrome con múltiples mecanismos subyacentes (209).

## INFLAMACIÓN DE LA VÍA AÉREA

Las biopsias obtenidas por broncoscopia han demostrado que la inflamación en el asma generalmente envuelve a las mismas células que participan en la respuesta alérgica en la rinitis y la piel, independientemente de que el individuo sea o no atópico. Esto mantiene la suposición de que las consecuencias de la activación de los mastocitos mediados por una gran variedad de células citoquinas y otros mediadores son la clave del desarrollo del asma alérgico.

1. La exposición inicial al alérgeno seguida de la elaboración de Ac IgE.: Parece ser una sobre expresión de los linfocitos Th2 por encima de los Th1, esta sobreexpresión es debida a una combinación de influencias ambientales y genéticas
2. Después de que se sintetizan los Ac IgE y son secretados por las células del plasma se unen a una serie de receptores de alta afinidad en los mastocitos y basófilos.
3. Cuando el alérgeno es inhalado y se pone en contacto con los mastocitos de la mucosa respiratoria, la degranulación rápida y liberación de mediadores es debida a un proceso dependiente del calcio. Esto es conocido como la respuesta temprana o inmediata (210)

### La respuesta inmediata

En los estudios realizados con provocación bronquial la inhalación de alérgenos por un individuo sensibilizado lleva a la broncoconstricción en pocos minutos. Esto se llama la respuesta temprana. Los mediadores liberados incluyen la histamina, prostaglandina D2 y los leucotrienos (LTC4, D4 y E4) que contraen el músculo liso de la vía aérea directamente (209-211).

Esta fase temprana puede seguirse de una respuesta tardía de broncoconstricción varias horas después, coincidiendo con el influjo de células inflamatorias incluyendo células de la inmunidad innata (monocitos, células dendríticas y neutrófilos) y también células asociadas con el sistema inmune adaptativo (Linfocitos T, eosinófilos, células dendríticas y basófilos) Los mediadores liberados por estas células también causan contracción del músculo liso pero esta es fácilmente reversible con la administración de Beta-agonistas (212). Sin embargo se ha observado que la reversión completa de estos efectos no se consigue completamente por lo que se piensa que esta reacción tardía es más compleja que la simple contracción del musculo liso.

**Eosinófilos:** estas células son las más características del asma y la inflamación alérgica. Su presencia se relaciona con la severidad de la enfermedad (213). Producen mediadores lipídicos como los leucotrienos y también activación plaquetaria que median la contracción del musculo liso, Producen también

neurotoxina derivada del eosinófilo, peroxisada del eosinófilo y proteína catiónica del eosinófilo que son las responsables del daño en el epitelio de la vía aérea y citoquinas como el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), el TGF- $\alpha$  (factor de crecimiento) y las interleuquinas que pueden estar implicadas en la remodelación de la vía aérea y la fibrosis. Los eosinófilos se activan con la interleukina IL-5 y la familia de quimiocinas que se unen al receptor selectivo del eosinófilo (CCR3) y los receptores Toll (214).

**Mastocitos:** los mastocitos aumentan en número en las vías aéreas y pueden estar en íntima relación con las células del músculo liso (215). Además de producir mediadores de la broncoconstricción (como la histamina, ciertas prostaglandinas y leucotrienos) los mastocitos también liberan TNF  $\alpha$ , mediador muy importante en la respuesta inflamatoria.

**Linfocitos Th2.** Estos linfocitos son los predominantes en el asma y producen un panel restrictivo de citoquinas (IL3, IL4, IL5 e IL13) y también GM-CSF. También secretan factores quimiotácticos como son los receptores de quimiocinas (CCR4 y CCR8) y el CRTH2 que es un receptor de prostaglandinas, Lo que sugiere que los eosinófilos y los linfocitos Th2 son las células que mantienen la inflamación de la vía aérea (216-218).

#### **Papel de las citoquinas en el asma alérgico:**

**IL-3:** factor de supervivencia de eosinófilos y basófilos.

**IL4:** ayuda en la diferenciación de la conversión de las células T en células Th2 y la producción de IgE por los linfocitos B así como la liberación de moléculas de adhesión vascular celular tipo 1 (VCAM-1) que modera el reclutamiento específico de eosinófilos basófilos y células T

**IL5:** La interleukina del eosinófilo: Infiere en su producción y supervivencia.

**IL13:** Contribuye en la eosinofilia de la vía aérea de la hiperplasia de las glándulas mucosas y en el remodelado y fibrosis de la vía aérea (219-220).

**GM-CSF:** Factor de supervivencia del eosinófilo.

**Sin embargo y a pesar de la preponderancia de linfocitos Th2 en el asma y la respuesta alérgica, las intervenciones farmacológicas contra la IL-4 y la IL5 usando agentes biológicos no ha demostrado eficacia al igual que ha ocurrido en la enfermedad celíaca y la esofagitis eosinofílica (221-229).**

**Linfocitos N-Killer:** estos linfocitos generan un receptor de células T (Valpha24-Jalfa14) que es capaz de reconocer antígenos glucolipídicos como los del pólen. Estos rápidamente producen IL-4 e IL-13 que están envueltos en la inflamación de la vía aérea y la producción de IgE (230).

**Basófilos:** son una fuente de histamina , leucotrienos y producen muchas más IL-4 e IL-13 que las células T (231).

### Inmunidad Innata

**Células epiteliales:** Expresan receptores Toll-like en su superficie incluyendo TLR4 que es un receptor que reconoce al lipopolisacárido LPS. Este LPS del que hemos hablado anteriormente , es un contaminante de los alérgenos inhalados como el polvo de las casas y el epitelio animal y se ha demostrado que el contacto de este alérgeno con el TLR-4 produce la síntesis de interleuquinas proinflamatorias (232).

**Células dendríticas.** Muy numerosas en la vía aérea de pacientes asmáticos, son el principio de la respuesta inmune adaptativa por su papel como células presentadoras de antígeno y también en la fase efectora después de la sensibilización del paciente (233).

**Neutrófilos:** son el granulocito predominante en la vía aérea de algunos pacientes con asma severo corticodependiente, en el asma fulminante y en las exacerbaciones del asma (234-237). Todavía no se conoce su papel en la patogénesis de esta enfermedad.

**Correlación clínica:** a pesar de todo lo descrito a veces la intensidad de los cambios inflamatorios de la respuesta alérgica no se correlaciona con la severidad de la enfermedad. En el asma severo con pobre respuesta a corticoides, la inflamación predominante por neutrófilos puede que tenga un papel. También los estudios de eficacia de fármacos han dilucidado el papel de cada uno de los mediadores en la patología del asma.

- El tratamiento con anti IgE (omalizumab) antihistamínicos, corticoides y agnetes modificadores de los leucotrienos mejora la respuesta temprana y tardía al alérgeno (237-341).
- El éxito de las terapias modificadoras de los leucotrienos asegura que los mastocitos, basófilos y leucotrienos participan en la patogénesis del asma crónico (242,243).
- El hecho de que las reducciones espectaculares de eosinófilos con anticuerpos monoclonales contra IL5 no lleva a una mejora del control del asma sugiere la complejidad de esta patología (238,239,244).

### CONTRIBUCIÓN DEL EPITELIO MESENQUIMAL.



Fig. 1.— Bronquio interlobulillar. (50 X.)

Obtenido de: *Atlas de Histología Geneser 1ª Edición (Lámina 71 pag 143)*

La disfunción epitelial y la inflamación mediada por Th2 son caminos paralelos para mandar señales proliferativas al musculo liso, fibroblastos y células vasculoendoteliales que causan el remodelado de la vía aérea. Factores profibrogénicos: (FGF-2, IGF-1, PDGF-2, endotelina ET-1 y TGF-beta 2. que actúan sobre el músculo liso produciendo la diferenciación de los miofibroblastos la producción de colágeno. El factor de crecimiento de la epidermis (EGFR) y la metalo proteinasa-9 está aumentado en la vía aérea del epitelio de los asmáticos y se correlaciona con el engrosamiento de la membrana basal (245,246,248).

## FISIOLOGÍA DE LA OBSTRUCCIÓN DEL FLUJO AÉREO.

Los factores que influyen en el paso de aire a la vía aérea incluyen la contracción del músculo liso, el edema de las células del epitelio bronquial, la producción de moco y también el remodelado de la vía aérea.

Hiperreactividad bronquial: la hiperreactividad bronquial es otra característica definitoria del asma que es una manifestación del flujo de aire reversible debido a la contracción muscular. Se trata de una respuesta constrictora exagerada a una gran variedad de estímulos físicos químicos o medioambientales.

Esta hiperreactividad puede ser cuantificada con la respuesta a agentes farmacológicos como la metacolina o la histamina que causan una caída del 20% en el FEV1. Mientras que la hiperreactividad bronquial no es específica del asma, los pacientes con asma la presentan típicamente a dosis más bajas de estos agentes en comparación con los individuos normales o alérgicos (249).

No se conoce el mecanismo por el cual el músculo liso se convierte en hiperreactivo. Las posibles explicaciones han sido alteraciones en la función del músculo liso o de su masa, falta de independencia del parénquima de la vía aérea, pérdida del efecto broncodilatador de las respiraciones profundas y la sensibilidad aumentada de las vías neuronales que manejan la broncoconstricción como consecuencia del remodelado y las anomalías estructurales de la vía aérea.

## **REMODELADO DE LA VÍA AÉREA.**

La obstrucción al flujo aéreo irreversible es producida por el remodelado de la vía aérea.

Los cambios histopatológicos que se producen se deben al daño o pérdida del epitelio pseudoestratificado, un aumento en la proporción de glándulas secretoras de moco, el engrosamiento y la fibrosis de la membrana basal epitelial o “Lámina reticular”, el aumento de miofibroblastos, aumento de la vascularidad, aumento de musculo liso en la vía aérea y aumento de la matriz extracelular.

Estos cambios estructurales contribuyen al engrosamiento de la pared bronquial a las alteraciones fisiológicas de la contracción del musculo liso a la pérdida de interacción del flujo aéreo con el parénquima

### ***Contribución del remodelado de la vía aérea a la hiperreactividad bronquial.***

El estrechamiento estructural asociado al remodelado parece que aumenta la Hiperreactividad bronquial (250-256), se cree es una de las características más tempranas de los niños asmáticos (68). En los adultos, la evidencia del remodelado viene de la observación de que muchos adultos con asma tienen un componente irreversible en su enfermedad (251). El consenso es que los pacientes con asma más severo e iniciado más precozmente experimentan una pérdida acelerada de la función pulmonar debida al remodelado de la vía aérea. Sin embargo la extensión de esta progresión y la pérdida de función pulmonar es altamente variable. Se cree que se produce sobre todo en asma severo y no tanto en los asmáticos leves (252,253). Dada la prontitud con la que se presenta el remodelado es intuitivo pensar que los pacientes que lo requieran puedan necesitar un acercamiento diferente a aquellos que no (254-257).

## INMUNOTERAPIA ESPECÍFICA. SU POSIBLE APLICACIÓN EN ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA Y ENFERMEDAD CELÍACA

La primera vez que se utilizó la inmunoterapia fue en 1911 para tratar la “fiebre del heno” o rinitis alérgica que es una reacción vasomotora que se produce en la mucosa de la nariz y ojos después de una exposición a partículas de polvo, de polen, algunas veces al frío, u otros alérgenos. Noon y Freeman inyectaban por vía subcutánea a sus pacientes dosis crecientes de extracto de polen. El éxito de esta terapia fue publicado y se comenzó a usar esta terapia no solo para el polen si no también para un gran número de alergias perennes como la alergia a los ácaros y a los hongos. Sin embargo no fue hasta 50 años después cuando se hicieron ensayos controlados que probaban la efectividad de esta terapia en la rinitis y el asma alérgico.

En la actualidad, aunque haya muchos pacientes que se beneficiarían ampliamente del tratamiento con inmunoterapia no la están recibiendo. El hecho de que la inmunoterapia esté infrautilizada se debe a dos razones: a la presencia de reacciones adversas que pueden ser severas (anafilaxia) y a la falta de cumplimiento ya que este tratamiento requiere muchas visitas médicas durante un largo periodo de años. Estos problemas se están intentando solucionar a base del desarrollo de diferentes métodos por ejemplo encontrar una ruta diferente a la inyección subcutánea o modificar los alérgenos para que sean menos reactivos a la IgE sin disminuir su inmunogenicidad para la células T lo que se cree es el mecanismo más importante de mejora.

Hasta el momento actual las principales indicaciones de la inmunoterapia

- Rinoconjuntivitis alérgica
- Asma alérgico
- Alergia alimentaria (sólo Inmunoterapia sublingual: avellana, melocotón )
- Alergia a venenos de himenópteros
- Alergia profesional (látex, asma del panadero..)

Para pautar Inmunoterapia a un paciente debe existir evidencia relevante de que el paciente tiene sensibilidad a un alérgeno de estas dos maneras:

- A. Síntomatología con la exposición natural al alérgeno
- B. Presencia de respuesta alérgica en el suero del paciente (IgE específica) o en los test en piel.

**En esta tesis intentamos inmunoterapia específica dirigida por arrays en la esofagitis eosinofílica, una enfermedad en la que hasta la fecha no se había intentado este tipo de terapia.**

## INMUNOTERAPIA SUBCUTÁNEA

La inmunoterapia subcutánea (SCIT) ha sido una opción de tratamiento para los pacientes alérgicos durante muchos años y su efecto modificador de la enfermedad induce una respuesta de alergia a tolerancia (258-260) Además de reducir la severidad de los síntomas de alergia y el riesgo de un eventos que comprometan la vida como puede ser una anafilaxia, otros muchos beneficios clínicos de la inmunoterapia son la reducción de la rinitis, conjuntivitis y asma alérgico. Además otros estudios han demostrado que la inmunoterapia subcutánea disminuye la progresión de la enfermedad alérgica reduciendo el desarrollo de nuevas hipersensibilidades a otros alérgenos y la aparición de asma en el paciente alérgico. La tasa de reacciones sistémicas con la inmunoterapia convencional es de 0,1% de acuerdo a una revisión recientemente publicada (261). En la práctica los médicos manejan ese pequeño pero existente riesgo al tener personal formado para identificar y tratar una reacción sistémica durante los 30 minutos posteriores a recibir la vacuna. A través de pequeñas dosis controladas de alérgeno los pacientes son desensibilizados y son más capaces de tolerar la exposición al alérgeno que le causaba los síntomas.

La inmunoterapia subcutánea se puede usar en pacientes con asma o rinitis/conjuntivitis alérgica en los pacientes cuyos síntomas no son bien controlados con medicación o que no pueden tomar esa medicación durante mucho tiempo.

*La inmunoterapia es actualmente el único tratamiento que modifica la respuesta inmune alterada que supone la enfermedad alérgica. Sin embargo, los mecanismos responsables de esta mejora clínica no están todavía descritos ampliamente a pesar de la investigación intensiva.*

Los alérgicos que entran en contacto con un elemento al que son sensibles a menudo desarrollan una respuesta inflamatoria bifásica. Esta respuesta se traduce en cambios en la piel y en las mucosas: mucosa respiratoria, (bronquial, nasal) y mucosa digestiva. Los cambios en la mucosa nasal son usados con mucha frecuencia para estudiar los efectos de la inmunoterapia tanto en la sintomatología como en la anatomía patológica (262, 263)

*Sin embargo no se ha hecho aún ningún estudio de efectos de la inmunoterapia específica en la mucosa digestiva, que constituye en sistema de defensa inmune más extenso de nuestro organismo.*

Como hemos explicado con anterioridad la respuesta alérgica es bifásica, consistiendo en una primera fase que se corresponde con la liberación de mediadores por parte de los mastocitos en el tejido (histamina, prostaglandinas, citoquinas leuotrienos...) que ejercen quimiotaxis con otras células que llegan al foco inflamatorio: Linfocitos T, eosinófilos y otros basófilos que liberan mediadores inflamatorios específicos contra el alérgeno en cuestión y que perpetúan la respuesta alérgica. Después de varios meses de inmunoterapia se puede ver en la mucosa nasal de los pacientes una respuesta primaria claramente disminuida aunque la inhibición completa es muy poco común. La respuesta secundaria se reduce incluso más. Esta respuesta también puede verse en los test en piel (Prick test), aunque no es el método para comprobar la efectividad de la inmunoterapia (264, 266)

## Cambios en la inmunidad humoral con la inmunoterapia

- La IgE específica aumenta inicialmente en el suero y luego disminuye con lentitud
- La IgG específica se eleva y se mantiene elevada varias semanas y meses después de los cambios en IgE
- Los niveles de IgA en suero y secreciones aumentan.
- Se establecen niveles elevados y crecientes de IgG4 que se correlacionan con la mejoría clínica

**Cambios en IgE:** La eficacia de la inmunoterapia no solo consiste en la disminución de los niveles de IgE. La mejoría clínica se desarrolla antes de que disminuyan los niveles de IgE específica. Los niveles de IgE aumentan inicialmente pero después disminuyen incluso por debajo de los niveles de IgE pretratamiento.

**Cambios en IgG:** Muchos de los cambios que se producen con la inmunoterapia afectan a los anticuerpos IgG específicos, aunque ninguno de ellos se relaciona claramente con el alivio clínico de la sintomatología. Sin embargo si no se producen anticuerpos IgG si puede predecir una falta de respuesta a la inmunoterapia. Este hallazgo si que puede ser usado clínicamente para comprobar la eficacia en un paciente de la inmunoterapia previa.

Los antígenos IgG específicos se presentan a menudo a bajos niveles en los pacientes alérgicos. La inmunoterapia aumenta estos niveles de IgG y este aumento se produce semanas o meses después del aumento de IgE. Los niveles pueden continuar aumentando durante muchos meses durante la inmunoterapia y pueden mantenerse elevados años después de terminar el tratamiento (267).

**Anticuerpos IgG4 :** antes de comenzar la inmunoterapia los pacientes alérgicos presentan una IgG específica que consiste sobretodo en isotipos IgG1 e IgG2. Con la inmunoterapia la IgG4 se vuelve predominante, lo que se llama la respuesta Th2 modificada. En experimentos realizados *in vitro* los anticuerpos IgG específicos (incluyendo los IgG4) son capaces de bloquear la liberación de mediadores de la inflamación por parte de los mastocitos estimulados por alérgenos (la respuesta inmune precoz) y por eso se llaman “anticuerpos bloqueantes” (*blocking antibodies*) (268-270) La IgG4 puede actuar de forma aislada a otras inmunoglobulinas y por eso ser más efectiva en bloquear otros anticuerpos que otros isotipos de las IgG (270-273).

También se ha cuestionado un papel protector de las IgG4 debido a la inmunidad desarrollada por los apicultores. Tras muchas picaduras de abeja los apicultores desarrollan altos niveles de IgG4 (274) sin embargo, individuos que han sufrido pocas picaduras de abeja tienen más anticuerpos IgG1 contra su veneno.

*Esto significa que el contacto crónico con el alérgeno induce una respuesta predominante IgG4 mientras que la exposición limitada induce una respuesta IgG1.*

Como la IgG4 modifica la respuesta alérgica es un área de investigación continua las dos teorías predominantes son:

1. Las moléculas de IgG4 pueden competir por el alérgeno con la IgE en la unión con el mastocito (está es *la teoría del anticuerpo bloqueante*) sin embargo los

pasos en los que el alérgeno se une a la IgG4 todavía no han sido bien definidos (271).

2. La IgG4 específica puede reducir la sensibilidad de las células presentadoras de antígeno (células B y consecuentemente células T) al competir con la IgE en un mecanismo denominado *presentación facilitada por IgE*. Esto se deduce por que las células B con menos afinidad por IgE (CD23) pueden ser activados por niveles muy bajos de alérgeno en la presencia de de IgE específica. Sin embargo si la IgG4 es añadida la cantidad de alérgeno requerida para activar a las células B es mucho mayor, lo que presumiblemente indica que la IgG 4 compite con la IgE. Esta presentación de antígeno *atenuada* interfiere con la activación de las células T (272).

A pesar de los datos anteriormente reseñados que sugieren que la IgG4 es más importante para que la inmunoterapia sea eficaz, aunque no todos los estudios han encontrado que los aumentos de IgG4 se correlacionen con mejoría clínica. En un análisis retrospectivo de 6 estudios de inmunoterapia solo en dos se ha encontrado relación con el aumento de IgG4 y mejoría clínica (273-285).

**Anticuerpos IgA** la inmunoterapia provoca un aumento en la secreción y en suero de IgA alérgeno específica. La significación clínica de este fenómeno aún no está clara, aunque un estudio ha sugerido que el subtipo IgA2 puede funcionar como anticuerpo bloqueador en la superficie mucosa (286).

### **Cambios en la inmunidad celular**

La inmunoterapia resulta en cambios de respuesta en las células T contra el alérgeno (287-302. Estos cambios contribuyen al desarrollo de tolerancia al alérgeno. La tolerancia puede surgir a base de diferentes mecanismos. Los siguientes hallazgos sugieren que la inmunoterapia induce un estado de tolerancia.

---

#### **Inducción de tolerancia con Inmunoterapia**

**Reducción de respuestas linfoproliferativas (30-35).**

**Linfocitos Th CD4+ comienzan a producir citoquinas Th1 (IL-4) en vez de Th2 (36-38).**

**Puede eliminar los subconjuntos patógenos específicos Th2 (39).**

**Aumenta la proporción de células T reguladoras CD4+, CD25+ y linfocitos productores de IL-10 y TGF beta (40-44).**

---

### **Cambios en la celularidad del tejido.**

La inmunoterapia disminuye el reclutamiento de mastocitos, basófilos y eosinófilos en la piel la nariz los ojos y la mucosa bronquial después de la provocación o la exposición natural a alérgenos (302-307). En cuanto a los basófilos se ha demostrado que se requiere más cantidad de alérgeno para activar la liberación de histamina y la habilidad de los basófilos para la liberación de histamina se ve disminuida en respuesta al alérgeno con la inmunoterapia (308).

### **Esofagitis Eosinofílica y respuesta inmune humoral. El papel de la IgG4:**

Recientemente en *Gastroenterology* 2014 (277), se ha publicado un ensayo clínico con omalizumab (un anticuerpo monoclonal anti-IgE) en 16 pacientes con esofagitis eosinofílica. En él además de una falta de eficacia de esta terapia observan depósitos granulares de IgG4 en las biopsias esofágicas y niveles elevados de IgG4 frente a alimentos. Con estos datos concluyen tajantemente que la esofagitis es una enfermedad asociada a IgG4 y no una enfermedad alérgica mediada por IgE. Los resultados de esta tesis no apoyarán esta hipótesis pero merece la pena desarrollar el papel de la Inmunoglobulinas IgG en las enfermedades alérgicas y en la esofagitis:

### **Enfermedades relacionadas con un aumento de Ig tipo IgG**

Las inmunoglobulinas (IgG, IgA, IgM, IgD e IgE), son moléculas proteicas que poseen actividad de anticuerpo, que es la propiedad de combinación específica con la sustancia que provoca su formación. Representan aproximadamente el 20 % del total de proteínas plasmáticas. Estudios realizados en la década de los 60, con antisero policlonal de conejo contra proteínas de mieloma de la clase IgG, revelaron en humanos la existencia de 4 subclases de IgG humana, las que fueron designadas IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. En los años 1980 se obtuvieron anticuerpos monoclonales contra IgG humano y sus subclases, que permitieron mediciones más reproducibles y posibilitaron desarrollar estudios de los niveles de subclases de IgG en una variedad de enfermedades (278,279).

Deficiencias de subclases de IgG indican alteraciones de la respuesta inmune, aunque niveles disminuidos de subclases de IgG se han observado en individuos asintomáticos. Una respuesta de anticuerpos puede producir cambios en la distribución de subclases de IgG en plasma, dependiendo de la naturaleza del antígeno (proteínas o polisacáridos), así como la frecuencia y duración del estímulo antigénico. Esto puede resultar en un incremento o disminución de una o más subclases de IgG. La consecuencia más importante de la deficiencia de una de las subclases de IgG es un defecto de la inmunidad humoral, aunque esto no necesariamente lleva a manifestaciones clínicas.

La indicación clínica principal para la medición de subclases de IgG es la ocurrencia de infecciones severas prolongadas o anormalmente frecuentes, que no pueden ser explicadas por la información obtenida con la clínica y el laboratorio.

En la mayoría de las infecciones el primer anticuerpo es de la clase IgM, mientras que aquellos de la clase IgG se producirán posteriormente.

En general, **antígenos proteicos microbianos** inducirán, fundamentalmente, una respuesta de anticuerpos de la subclase **IgG1 e IgG3**. Por otra parte, **antígenos de polisacáridos** inducirán, preferencialmente, una respuesta de anticuerpos **IgG2** (280).

**Niveles de IgG4:** las deficiencias de esta subclase son difíciles de establecer por su baja concentración en individuos sanos. Los métodos empleados en la actualidad para medir IgG4 no siempre tienen la sensibilidad adecuada para distinguir la ausencia completa de los niveles bajos, normales o elevados de IgG4. Aún cuando diversos estudios han establecido que pacientes con infecciones recurrentes del tracto respiratorio presentan bajas concentraciones de IgG4, el significado de estos hallazgos no resulta convincente, debido a que en un elevado porcentaje de individuos sanos se han demostrado niveles

disminuidos de esta subclase de IgG.

En contraste con el clásico factor reumatoide que utiliza los dominios variables de unión, la interacción entre el Fc y la IgG4 es a través del fragmento Fab lo que contribuye a la actividad antiinflamatoria de esta inmunoglobulina (278-281).

Recientemente (278,279) se ha publicado un extenso trabajo de revisión sobre las enfermedades relacionadas con un aumento de IgG4, aunque la esofagitis no está incluida

---

### **Enfermedades relacionadas con aumento de IgG4**

**Síndrome de Mikulicz (glándulas salivares y lacrimales).**

**Tumor de Küttner (glándulas submandibulares).**

**Tiroiditis de Riedel.**

**Fibrosis angiocéntrica eosinofílica (tracto respiratorio superior).**

**Fibroesclerosis multifocal (órbitas, tiroides, tracto respiratorio superior).**

**Fibroesclerosis multifocal (órbitas, tiroides, retroperitoneo, mediastino, otros tejidos y órganos).**

**Pseudotumor inflamatorio (órbitas, tiroides, pulmones, riñones y otros órganos).**

**Fibrosis mediastínica.**

**Fibrosis retroperitoneal (Enfermedad de Ormond).**

**Periaortitis y periarteritis.**

**Aneurisma aórtico inflamatorio.**

**Nefritis tubulointersticial con complemento bajo y depósitos extensos tubulointersticiales.**

---

Se han descrito infiltrados anormales de IgG4 en vía biliar, glándulas salivares, tejido periorbitario, riñón, pulmón, ganglios linfáticos, meninges, aorta, próstata, pericardio y piel . Se ha sugerido una denominación común: enfermedades relacionadas con IgG4. Sin embargo, *aún no se sabe que la participación de la IgG4 sea la causa primaria de la enfermedad o un proceso secundario*. En el caso de las enfermedades alérgicas la IgG 4 se suele asociar a una buena respuesta clínica a la inmunoterapia y su aumento como reagina específica suele ir paralelo al aumento de la IgE específica al alérgeno

desencadenante.

Entre los anticuerpos alérgenos específicos en individuos alérgicos existe una preponderancia de IgG1 e IgG4, mientras que la respuesta a IgG2 e IgG3 es pobre. Otros hallazgos en pacientes alérgicos incluyen:

- Concentraciones elevadas de IgG4 se observan frecuentemente en pacientes con rinitis, asma, eczema y dermatitis atópica, probablemente como resultado de una prolongada estimulación antigénica.
- Existen elevados niveles de IgG4 en pacientes con sensibilización cutánea a un alérgeno alimentario pero sin clínica (sensibilización subclínica o asintomática).
- En las reacciones alérgicas a diferentes alérgenos, los anticuerpos de la clase IgG, alérgeno -específicos, son predominantemente de la subclase IgG4 y sus niveles se incrementan durante la terapia de desensibilización.

**Existe evidencia de que la IgG4, bajo ciertas condiciones, interfiere en la activación de células efectoras, mediadas por IgE e inducidas por alérgenos, lo que significa que actúa como un anticuerpo bloqueador. Datos recientes indican la similitud en relación con el tipo de antígeno que activa la respuesta a IgG4 e IgE. El empleo de ensayos para medir los niveles de anticuerpos de la subclase IgG4 en la inmunoterapia es justificable; si no ocurre la inducción de la síntesis de anticuerpos IgG4, la terapia se considera inefectiva. La inmunoterapia se considera efectiva si se produce al menos un incremento entre 10 y 100 veces en los niveles de IgG4 alérgeno-específica.**

Los anticuerpos IgG4 son pues moléculas dinámicas con actividad antiinflamatoria que se sintetizan siempre que hay una respuesta IgE, para contrarrestarla, por eso se llaman anticuerpos bloqueantes. El que exista IgG4 indica siempre que antes ha existido una IgE con la misma especificidad de la IgG4 al antígeno causante de la inflamación.

La IgG4 tiene una baja afinidad para el C1q (el fragmento q del primer componente del complemento). Como consecuencia no tiene la actividad inflamatoria que si tiene la IgE, por lo que es muy difícil que la esofagitis haya sido producida por esta inmunoglobulina. Lo lógico por lo tanto es encontrar depósitos de IgG4 en la esofagitis pero eso no significa que sea la culpable de la inflamación.

El que el Omalizumab no tenga efecto para la esofagitis (según el artículo de *Gastroenterology*) es equivalente su falta de efecto para determinados tipos de asma extrínsecos. Al ser un monoclonal anti-IgE puede disminuir la IgE pero no la IgG4. El aumento de IgG4 que han encontrado estos autores no sugiere que sea la causa de la esofagitis sino un epifenómeno más (como el aumento de eosinófilos y otras moléculas solubles) en esta enfermedad o un mecanismo de defensa para regular la inflamación. De hecho, ahora se está pensando que los eosinófilos también podrían proteger la mucosa pues se ha visto que al tratar a el asma extrínseco con anti-IL5, interleucina que atrae eosinófilos, los resultados fueron decepcionantes (283).

**La producción de grandes cantidades de IgG4 tras inmunoterapia se define finalmente como un mecanismo de tolerancia, pues bloquea los receptores de la IgG, La IgG4 se comporta como una inmunoglobulina para la tolerancia, no para incrementar la inflamación (283). Su sobreexpresión se produce tras un estímulo inflamatorio primario más del 40% de pacientes con hiper-respuesta IgG4 padecen enfermedades alérgicas como el asma, aunque esto no significa que sea**

**elemento patogénico de la enfermedad (284). De la misma manera ante una infestación parasitaria también aumentaría esta inmunoglobulina aunque la inflamación sería producida por el parásito agresor.**

**Su aumento va parejo a la IL10, implicada también en los mecanismos de tolerancia inmune. Los anticuerpos IgG4 no sólo bloquean alergias alimentarias por IgE, sino que también bloquean las reacciones de antígenos de alimentos con otras subclases de IgG, lo que reduce las reacciones inflamatorias causadas por las otras subclases de anticuerpos.**

**A pesar de los datos que sugieren que el aumento de IgG4 es importante para el éxito de la inmunoterapia subcutánea no todos los estudios que se han publicado relacionen el aumento de este isotipo con la mejoría clínica. Puede ser que algunos ensayos funcionales con IgG alérgeno específica o en nuestro caso con la proteómica estén más cercanos de explicar la respuesta a la inmunoterapia.**

### **La inmunoterapia como tratamiento de la esofagitis eosinofílica**

#### **Anti IL-5**

La IL 5 es la citoquina responsable de la diferenciación, reclutamiento activación y supervivencia de los eosinófilos. Se ha demostrado que la IL 5 es muy importante para el desarrollo de EoE (52-54). Los pacientes con EoE desarrollan muchos receptores contra IL-5R así como grandes cantidades de esta citoquina (312,313), por lo que ha sido considerada como diana de tratamiento en múltiples estudios con anticuerpos monoclonales anti IL5 (mepolizumab, reslizumab) que sí que han conseguido disminuir el número de eosinófilos en las biopsias realizadas tras tratamiento pero en muy pocos casos llegar a un número de eosinófilos considerado normal y con muy poca reducción de la sintomatología clínica, así como numerosos efectos secundarios (289, 327).

#### **Anti TNF-alfa**

El Infliximab ha demostrado ser altamente eficaz en el tratamiento de numerosas enfermedades inflamatorias crónicas (Crohn, colitis ulcerosa, artritis reumatoide y también el asma) Sin embargo no ha tenido éxito en el tratamiento en monoterapia según un ensayo clínico realizado en tres pacientes con esofagitis eosinofílica grave, no demostrando cambios en la biopsia ni tampoco en la sintomatología del paciente (316).

#### **Anti IgE:**

El Omalizumab se une con gran afinidad al anticuerpo IgE y a su receptor de alta afinidad por lo que es muy útil en el asma alérgico. Se vio que los pacientes mejoraban su clínica alérgica, no así los síntomas de la esofagitis eosinofílica ni la biopsia, aunque se trata de un estudio con una muestra pequeña (317).

#### **Anti CRTH**

El CRTH2 es un receptor que se expresa en múltiples células de la respuesta alérgica (linfocitos Th2, Eosinófilos y basófilos) e influye en su quimiotaxis el OC000459 es un antagonista de ICRTH2 que bloquea la quimiotaxis mediada por prostaglandinas y la activación de las células que presentan este receptor en su superficie. Este fármaco ha sido muy útil en los pacientes con asma. En un ensayo clínico en pacientes con

esofagitis eosinofílica se observó una disminución poco marcada en el número de eosinófilos presentes en la biopsia así como mejoría modesta en la sintomatología clínica. No se observaron efectos adversos muy significativos (318)

### Desensibilización oral

La inmunoterapia oral se ha usado con mucho éxito contra la alergia alimentaria mediada por IgE. Se basa en aumentar poco a poco las cantidades de alimento al que el paciente es alérgico en su ingesta de forma que no presente una reacción inmune (319) Todavía son poco conocidos los mecanismos por los cuales se adquiere esta tolerancia, pero se sabe que se negativizan los test en piel y que progresivamente disminuyen los niveles de IgE en suero y un aumento de IgG4 inhibiendo el complejo IgE-alérgeno. También se sugiere que existe un cambio de Th2 a Th1 como en la inmunoterapia subcutánea. Estos aumentos de las cantidades de alimento ingeridas deben hacerse en la consulta del especialista, pero la ingesta regular de estas dosis se hace en el domicilio del paciente (320,321) Así se han logrado controlar numerosos tipos de alergias alimentarias (leche, huevo, fruta, pescado...) (323,324,325)

*A pesar del éxito que ha tenido la desensibilización oral en el tratamiento de las alergias IgE mediadas uno de los efectos adversos que más se está encontrando en los pacientes que reciben esta terapia es el desarrollo de una esofagitis eosinofílica hasta en un 10% de los pacientes tratados (326-328)*

La desensibilización oral podría estar induciendo una esofagitis eosinofílica con las dosis mínimas repetidas que el paciente solo toleraría parcialmente. Este dato podría confirmar que la alergia alimentaria y la esofagitis eosinofílica tendrían mecanismos fisiopatológicos diferentes por lo que la desensibilización oral no está considerada como tratamiento en la esofagitis eosinofílica.

### Inmunoterapia subcutánea (inmunoterapia ambiental)

Tema fundamental de este trabajo, desde 2007 se viene observando que existe una variación estacional en el diagnóstico de la esofagitis eosinofílica, descubriéndose menos casos en el invierno cuando el aire contiene menos polen (329) Durante la época polínica hay un aumento del número total de eosinófilos en sangre en los pacientes con rinitis alérgica pero no tan elevado como en los de esofagitis eosinofílica. Se sabe también que el control de la sintomatología es muy difícil durante la época de polinización, aunque todavía hay muy poco publicado con respecto a la inmunoterapia subcutánea en esofagitis (330,331). Sin embargo **en los estudios de anatomía patológica que presentaremos observamos que pólenes emiten su tubo polínico en la mucosa esofágica lo que supone un estímulo alérgico muy potente en la esofagitis eosinofílica.**

### La inmunoterapia en la enfermedad Celíaca

### **Bloqueo e inhibición de los linfocitos T.**

Se han probado anticuerpos monoclonales que bloquean los linfocitos específicos que causan daño en la mucosa, como por ejemplo los linfocitos T efectores contra el gluten son atraídos a la mucosa al menos en parte por la quimiocina 25 y el receptor 9 (332,333). El bloqueo de esta interacción por un antagonista selectivo ha sido propuesto como un posible tratamiento contra la enfermedad celíaca. Otros tratamientos sugeridos son el desarrollo de anticuerpos monoclonales anti CD3 , anti CD20 y anti IL-10 y 15.

### **Bloqueo de TG2 y HLA- DQ2**

El TG2 promueve la fusión de los péptidos de gliadina al HLA DQ2 de forma que activa los linfocitos T en la mucosa intestinal (334). La inhibición *in vitro* de estos TG2 hace que se inactiven los linfocitos T contra el gluten y también algunas células de la respuesta inmune (CD8, linfocitos de la lámina propia). Aunque el TG2 se encuentra en otros tejidos esta propuesta se incluye entre las de posible desarrollo para tratar la enfermedad celíaca.

Otro área que se está barajando es en la posibilidad de desarrollar sustancias que bloqueen el HLA DQ2 como análogos del gluten. Estos incluyen gluten cíclico y dimerico y también gluten sintético en el que se sustituye azidoprolina por la prolina del gluten normal (335).

### **Inducción de la tolerancia.**

Aún no ha sido definida la secuencia peptídica específica contra la que debería ir una posible vacuna para los pacientes celíacos y así ser capaz de inducir tolerancia al cambiar los efectos sobre la mucosa que producen las células de la inflamación. Existe un estudio con Nexvax 2 una vacuna que contiene una mezcla de gliadinas inmunotóxicas (336,337) , sin embargo este estudio está todavía en fase I-II.

Hoy por hoy, el tratamiento de la celíaca se basa en una dieta libre de gluten pero es necesario evaluar nuevas medidas terapéuticas que sean útiles en estos enfermos y que no estén basados en restricciones dietéticas (338).

## PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODO

Para la consecución de los objetivos, se procedió a realizar una búsqueda eficiente de la bibliografía publicada hasta la fecha mediante filtros metodológicos (Clinical queries, SUM Search, Grade, Cochrane Library) y se aplicaron los criterios de la normativa CONSORT de febrero 2009 y de CALIDAD 2013 del Hospital Universitario Río Hortega, intentando ofrecer un servicio de máxima confortabilidad a los pacientes que consientan su inclusión en el estudio (Declaración de Helsinki y UNESCO) y teniendo en cuenta la complejidad de la interacción humano-técnológica, primando siempre al factor humano.

El diseño del estudio fue exploratorio de carácter transversal con casos y controles. La selección de la muestra se realizó a razón de 1 caso/2 controles. Los pacientes diagnosticados de esofagitis eosinofílica procedieron de una base de datos de pacientes con esta etiología recogida durante años en el Servicio de Digestivo y de Pediatría del Hospital Universitario Río Hortega y del Hospital Clínico Universitario, al que se añadieron los nuevos casos que fueron apareciendo durante el tiempo que se realizó este proyecto.

Los pacientes se seleccionaron durante 2 años y los análisis se realizaron evitando el periodo de polinización (mayo a julio en nuestra área).

Los pacientes celíacos provenían de los Servicios de Digestivo y Pediatría de nuestro Hospital y se diagnosticaron siguiendo todos los criterios clínicos, analíticos y con biopsia compatible.

Estos pacientes se compararon con un grupo control de pacientes alérgicos con asma por pólenes, la etiología alérgica más frecuente en nuestra zona, y con controles sanos.

Para incluir pacientes con asma por pólenes y sin otra patología por alimentos se partió

de un registro de 23.873 pacientes atendidos en los últimos 22 años en la consulta de Alergia del Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid, de los que seleccionamos de forma aleatoria simple 50 pacientes con asma polínico con residencia habitual en Valladolid o provincia, de ambos sexos, que desde su nacimiento hayan vivido en la misma casa y ambientes, y que cumplan criterios similares de severidad clínica de su clínica. La sensibilización a pólenes se definió como la presencia de: a) una o más pruebas cutáneas positivas a polen, b) un CAP (IgE) positivo  $> 0,35$  IU/mL a estos alérgenos o c) provocación específica positiva.

Excluimos pacientes no nacidos en nuestra área o residentes en otras zonas distantes. Consideramos las posibles variables sociales, ambientales, genéticas y biológicas que pudieran actuar como agentes de confusión. Intentamos aumentar la validez disminuyendo los sesgos.

Todos los pacientes fueron estudiados simultáneamente utilizando las mismas pruebas diagnósticas, y en el mismo periodo de tiempo. Se admite que todos ellos han sido expuestos a similares concentraciones de pólenes y polución y otros factores ambientales, gracias a los análisis de niveles de calidad ambiental que son amablemente enviados cada semana desde la Dirección de Salud Pública de la Consejería de Sanidad. También se realizaron encuestas nutricionales para descartar a los pacientes con dietas diferentes a la dieta mediterránea. Todos nuestros pacientes seguían una dieta mediterránea estandar, verificada por encuestas nutricionales.

El grupo control (concurrente, su evaluación coincidió con el grupo de pacientes problema) estuvo constituido por 50 personas sanas, sin síntomas digestivos, no fumadores ni expuestos a tabaco seleccionados de forma aleatoria por la Unidad de Hemodonación del SACYL. Además en el grupo control ninguno de ellos había tenido que acudir a consulta de Alergia..

Una vez que nuestros pacientes aceptaron participar en el estudio (con consentimiento informado, ver anexo I) se les realizó encuesta clínico epidemiológica que incluyó las características y origen de su hipersensibilidad, la posible aparición de reacciones adversas (se preguntará a sus allegados próximos), potencial implicación de órganos y sistemas y tratamiento requerido.

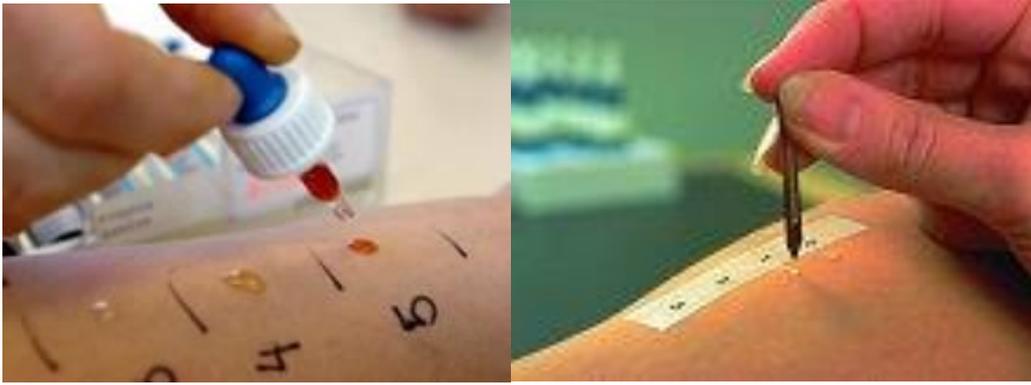
El objetivo de nuestro estudio fue, en resumen, valorar hipersensibilidad alérgica mediada por IgE a diferentes moléculas y epítomos alergénicos recombinantes y nativos por técnica de microarrays (CRD) en pacientes distribuidos en 4 grupos de pacientes y controles:

1. Pacientes con esofagitis eosinofílica (100 pacientes)
2. Celíacos (50 pacientes).
4. Alérgicos a pólenes de gramíneas (50 pacientes).
5. Controles población sana de Hemodonación (50 pacientes).

### **Pruebas *in vivo*:**

Pruebas cutáneas:

Se realizaron con técnica convencional de prick para el caso de alérgenos comercializados y con proteínas purificadas de trigo, nativas y recombinantes. Para la realización de las pruebas de prick se procedió de acuerdo con las normas de la Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica (EAACI). Así, tras depositar una gota de cada alérgeno a testar en la zona volar del antebrazo, se realizó una mínima punción, que no debe alcanzar la dermis, a través de la gota con una lanceta.



El exceso de extracto se retiró a continuación y tras un tiempo de espera de 15 minutos, se procedió a la lectura del resultado, considerando positiva aquella prueba que produzca un habón cuyo diámetro mayor sea igual o superior a 3 mm. Cada alérgeno se probó por duplicado y los resultados se registraron en una hoja de recogida de datos para su posterior digitalización.

*Extractos alérgicos:* Batería estandar de aeroalérgenos y alimentos que incluye pólenes (gramíneas, árboles, malezas y flores), ácaros (dermatophagoides y de almacenamiento), hongos, antígenos animales y alimentos comunes: trigo, cebada, centeno, huevo, leche, legumbres, frutos secos, pescados, mariscos, anisakis, profilinas (ALK -Abelló, Madrid, España).

### **Pruebas *in vitro*:**

Técnicas de arrays y proteómica (component resolved diagnostics):

Se realizaron en suero siguiendo las instrucciones habituales de ISAC, Thermofisher scientific®, Uppsala, Suecia. Cada microarray midió en cada paciente la respuesta a 112 proteínas de diferentes orígenes y valoró la respuesta debida a reactividad cruzada con otros alérgenos (profilinas, CCDs, polcalcinas, etc.). Se valoró también la respuesta molecular de cada paciente a 4 extractos de proteínas purificadas de trigo:

*nFag e 2: trigo sarraceno, fagopyrum esculentum (proteína de almacenamiento,*

*albúmina 2S*

*rTri a 14: triticum aestivum, proteína transportadora de lípidos (LTPne)*

*rTri a 19.0101: de triticum aestivum, omega 5 gliadina (implicada en anafilaxia por ejercicio tras comer cereales).*

*nTri aA\_II: de triticum aestivum*

### **Evaluación de la eficacia del tratamiento dirigido por arrays:**

En los pacientes en los que se evidenció una hipersensibilidad por arrays para alérgenos para los cuales existe inmunoterapia eficaz y que aceptaron este tratamiento se inició una inmunoterapia específica subcutánea convencional depot y se mantuvo durante dos años, valorando su eficacia durante la primavera-verano de 2014 con el “average rhinoconjunctivitis total symptom score (ARTSS) (339). En el caso de que el alérgeno fuera un alimento se indicó la supresión del mismo de la dieta.

Se consideró que el tratamiento era eficaz en el caso de que:

Se consideró que el tratamiento era eficaz en el caso de que:

1. La biopsia fuera negativa, sin evidencia de eosinófilos.
2. Ausencia de síntomas y de necesidad de tratamiento sintomático
3. El paciente era dado de alta.

### **Análisis estadísticos:**

El análisis estadístico se realizará con el programa SPSS versión 15.0. Para analizar la asociación entre las variables del estudio se utilizará el test Chi-cuadrado de Pearson. En el caso de que el número de celdas con valores esperados menores de 5 sea mayor de un 20% se calculará mediante el test exacto de Fisher o Prueba de razón de verosimilitudes. Se realizará la prueba t de Student para muestras independientes en la

comparación de los valores medios y cuando el número de grupos a comparar sea mayor se tomará el ANOVA. Las alternativas no paramétricas utilizadas, en el caso de no ser conveniente la utilización de las anteriores, serán la prueba U de Mann-Whitney (para dos grupos) o la prueba H de Kruskal Wallis (para más de dos grupos). En el análisis multivariante se ajustará un modelo de regresión logística teniendo en cuenta las variables que fueron significativas en el análisis bivariante. Aquellos valores de  $p < 0,05$  se considerarán estadísticamente significativos.

# RESULTADOS

## ANÁLISIS DESCRIPTIVO

### Cálculo del tamaño muestral

Aceptando un riesgo alfa de 0,05 y un riesgo beta de 0,2 en un contraste bilateral, se precisaron 48 sujetos en cada grupo para detectar una diferencia mínima de 8 entre los dos grupos, asumiendo que existen 4 grupos y una desviación estándar de 10. Se ha estimado una tasa de pérdidas de seguimiento del 20%.

Finalmente se estudiaron en total 183 pacientes, (55 con EoE, 28 celíacos, 50 polínicos y 50 sanos) edades medias en tablas. De ellos 12 pacientes pudieron ser diagnosticados de las 2 enfermedades: Eos+celíaca

GRUPOS		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Sano	50	22,7	22,7	22,7
	Esofagitis	55	25,0	25,0	47,7
	Celíaca	50	22,7	22,7	70,5
	Esofagitis + Celíaca	12	6,8	6,8	77,3
	Polínicos	50	22,7	22,7	100,0
	Total	220	100,0	100,0	

No pudimos incluir en el estudio 48 celíacos porque la mayoría de los mismos ya habían sido diagnosticados y tratados con exclusión del gluten y en nuestro estudio necesitábamos celíacos recién diagnosticados sin tratamiento, para evaluar el tratamiento que nosotros le íbamos a aplicar tras el estudio molecular.

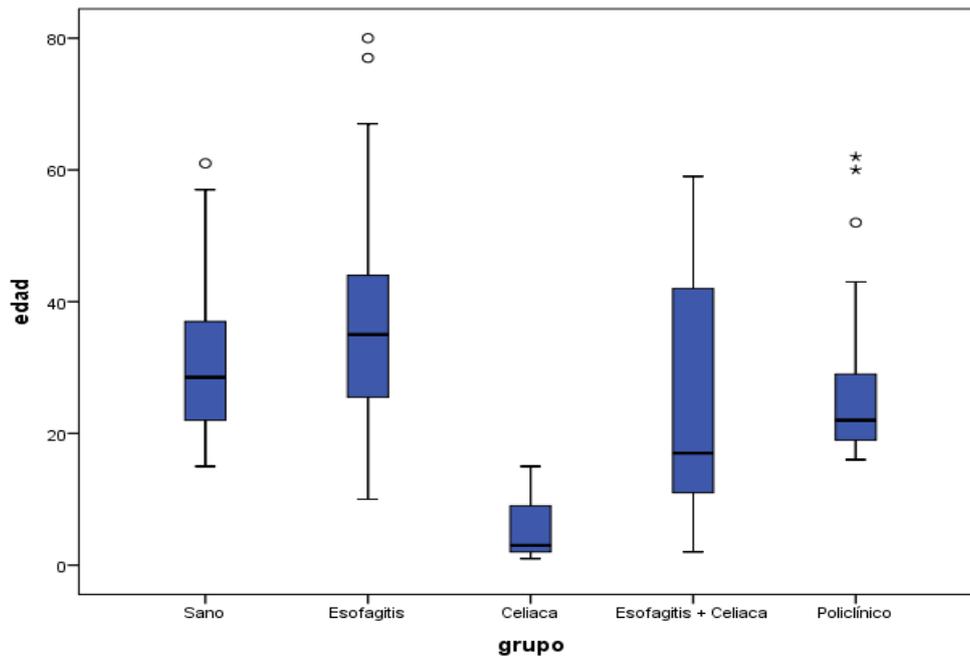
### VARIABLES DE EDAD Y SEXO DE LA MUESTRA:

La edad media fue de  $35.7 \pm 16,6$  años en pacientes con EoE, de  $25.82 \pm 10,26$  en pacientes con asma y de  $31.62 \pm 11.47$  en controles.

### Grupos de edad

		Edad		
Grupo	<b>Sano</b>	Media	32	
		Desviación típica	11	
		Mínimo	15	
		Máximo	61	
		Mediana	29	
		Percentil 75	37	
		Percentil 25	22	
		<b>Esofagitis</b>	Media	37
			Desviación típica	16
	Mínimo		10	
	Máximo		80	
	Mediana		35	
	Percentil 75		45	
	Percentil 25		25	
	<b>Celíaca</b>		Media	5
			Desviación típica	5
		Mínimo	1	
		Máximo	15	
		Mediana	3	
		Percentil 75	9	
		Percentil 25	2	

<b>Esofagitis + Celíaca</b>	Media	27	
	Desviación típica	20	
	Mínimo	2	
	Máximo	59	
	Mediana	17	
	Percentil 75	42	
	Percentil 25	9	
	<b>Polínico</b>	Media	26
		Desviación típica	10
		Mínimo	16
Máximo		62	
Mediana		22	
Percentil 75		29	
Percentil 25		19	



La única diferencia significativa en las variables sociodemográficas fue que los pacientes con asma eran más jóvenes que los EoE  $<0.001$  y que los celíacos eran más jóvenes que los pacientes con esofagitis y los que padecían ambas enfermedades,  $p<0.001$ .

### Variabes de sexo

Aunque no hubo diferencias significativas en el sexo entre grupos de enfermedad el sexo predominante tanto en celíacos como en pacientes con esofagitis fue el masculino

		Sano	Esofagitis	Celiaca	Esofagitis + Celiaca	Policlínico	p-valor
<b>Sexo</b>	<b>Mujer</b>	15 (30 %)	16 (29,1 %)	4 (14,3 %)	5 (33,3 %)	23 (46 %)	<b>0,064</b>
	<b>Varón</b>	35 (70 %)	39 (70,9 %)	24 (85,7%)	10 (66,7 %)	27 (54 %)	

**VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS:****Relación entre celíaca y Esofagitis eosinofílica. Comorbilidades.**

Tras el diagnóstico clínico se pudo evidenciar una comorbilidad en el mismo paciente de *Esofagitis eosinofílica y celíaca*, y entre la *EoE* y la *hipersensibilidad polínica*. Se observó entre los pacientes con EoE coexistía de forma significativa un diagnóstico de celíaca  $p < 0.0001$ , (12 pacientes, un 17,9%), pero no demostró asociación con otras enfermedades intestinales.

Tras la realización de prick e IgE a todos los pacientes, 2 pacientes del grupo control de hemodonación presentaron bajos niveles de sensibilización a polen y anisakis, pero nunca habían sufrido clínica alérgica.

	EoE	Asma polínico	Controles sanos
<b>Numero</b>	55	50	50
<b>Edad (SD)</b>	35.75 (16.60)	25.82 (10.26)	25.82 (11.48)
<b>Sexo (mujer)</b>	19	23	15
<b>Celíaca</b>	12	0	0
<b>Otros problemas digestivos</b>	4	0	0
<b>Asma polínico</b>	21	50	0
<b>Anafilaxia</b>	6	1	0

CELÍACA	GRUPO						Total	
	ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA		CONTROLES		POLÍNICOS			
	N	%	N	%	N	%	N	%
NO	55	82.09	50	100.0	50	100.0	15	92.81
							5	
SI	12	17.91	.	.	.	.	12	7.19
Total	67	100.0	50	100.0	50	100.0	16	100.0
							7	

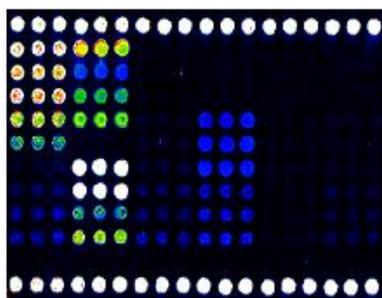
**P(Fisher's Exact Test) <.0001**

COMPARA	FISHER_P	bon_p	hoc_p
ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA - CONTROLES	.001124862	.003374586	.001124862
ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA - POLÍNICOS	.001124862	.003374586	.001124862
CONTROLES - POLÍNICOS	.000866802	.002600406	.001124862

### Sensibilización a alérgenos

Los resultados de sensibilización a diferentes alérgenos nativos y recombinantes en los grupos estudiados por técnica de array y determinación de IgE a alérgenos por CAP pueden verse en las siguientes tablas.

Resultados por técnica de microarrays:



		Sano	Esofagitis	Celiaca	Esofagitis + Celiaca	Polínico	p- valor
pol1	negativo	49 (98 %)	33 (60 %)	24 (85,7 %)	9 (60 %)	14 (28 %)	<0,001
	positivo	1 (2 %)	<b>22 (40 %)</b>	4 (14,3 %)	<b>6 (40 %)</b>	36 (72 %)	
pol2	negativo	50 (100 %)	52 (94,5 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	16 (32 %)	<0,001
	positivo	0 (0 %)	3 (5,5 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	34 (68 %)	
pol4	negativo	50 (100 %)	46 (83,6 %)	27 (96,4 %)	12 (80 %)	29 (58 %)	<0,001
	positivo	0 (0 %)	9 (16,4 %)	1 (3,6 %)	3 (20 %)	21 (42 %)	
pol5	negativo	50 (100 %)	49 (89,1 %)	25 (89,3 %)	13 (86,7 %)	44 (88 %)	0,033
	positivo	0 (0 %)	6 (10,9 %)	3 (10,7 %)	2 (13,3 %)	6 (12 %)	
pol6	negativo	50 (100 %)	52 (94,5 %)	27 (96,4 %)	11 (73,3 %)	36 (72 %)	<0,001
	positivo	0 (0 %)	3 (5,5 %)	1 (3,6 %)	4 (26,7 %)	14 (28 %)	
cynd1	negativo	50 (100 %)	34 (61,8 %)	26 (92,9 %)	7 (46,7 %)	33 (66 %)	<0,001
	positivo	0 (0 %)	<b>21 (38,2 %)</b>	2 (7,1 %)	<b>8 (53,3 %)</b>	17 (34 %)	
dp1	negativo	50 (100 %)	50 (90,9 %)	26 (92,9 %)	13 (86,7 %)	49 (98 %)	0,046
	positivo	0 (0 %)	5 (9,1 %)	2 (7,1 %)	<b>2 (13,3 %)</b>	1 (2 %)	
dp2	negativo	49 (98 %)	51 (92,7 %)	27 (96,4 %)	13 (86,7 %)	49 (98 %)	0,338
	positivo	1 (2 %)	4 (7,3 %)	1 (3,6 %)	2 (13,3 %)	1 (2 %)	
Alt1	negativo	50 (100 %)	49 (89,1 %)	24 (85,7 %)	12 (80 %)	48 (96 %)	0,009
	positivo	0 (0 %)	6 (10,9 %)	4 (14,3 %)	<b>3 (20 %)</b>	2 (4 %)	
Apim1	negativo	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	-----
	positivo	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
FAv5	negativo	50 (100 %)	52 (94,5 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	0,099
	positivo	0 (0 %)	3 (5,5 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
Perro	negativo	50 (100 %)	53 (96,4 %)	27 (96,4 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	0,260
	positivo	0 (0 %)	2 (3,6 %)	1 (3,6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
Gato	negativo	50 (100 %)	44 (80 %)	25 (89,3 %)	14 (93,3 %)	49 (98 %)	0,001

Anis1	positivo	0 (0 %)	11 (20 %)	3 (10,7 %)	1 (6,7 %)	1 (2 %)	<b>0,058</b>
	negativo	48 (96 %)	48 (87,3 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	47 (94 %)	
pruo3	positivo	2 (4 %)	7 (12,7 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	3 (6 %)	<b>&lt;0,001</b>
	negativo	50 (100 %)	44 (80 %)	27 (96,4 %)	12 (80 %)	49 (98 %)	
cora8	positivo	0 (0 %)	11 (20 %)	1 (3,6 %)	<b>3 (20 %)</b>	1 (2 %)	<b>0,001</b>
	negativo	50 (100 %)	44 (80 %)	27 (96,4 %)	13 (86,7 %)	48 (96 %)	
Art3	positivo	0 (0 %)	11 (20 %)	1 (3,6 %)	<b>2 (13,3 %)</b>	2 (4 %)	<b>&lt;0,001</b>
	negativo	50 (100 %)	46 (83,6 %)	27 (96,4 %)	10 (66,7 %)	48 (96 %)	
ProfT	positivo	0 (0 %)	9 (16,4 %)	1 (3,6 %)	<b>5 (33,3 %)</b>	2 (4 %)	<b>0,110</b>
	negativo	50 (100 %)	51 (92,7 %)	26 (92,9 %)	13 (86,7 %)	48 (96 %)	
ProfL	positivo	0 (0 %)	4 (7,3 %)	2 (7,1 %)	2 (13,3 %)	2 (4 %)	<b>0,014</b>
	negativo	50 (100 %)	47 (85,5 %)	26 (92,9 %)	13 (86,7 %)	48 (96 %)	
ProfG	positivo	0 (0 %)	8 (14,5 %)	2 (7,1 %)	<b>2 (13,3 %)</b>	2 (4 %)	<b>0,037</b>
	negativo	50 (100 %)	51 (92,7 %)	26 (92,9 %)	14 (93,3 %)	43 (86 %)	
PolT	positivo	0 (0 %)	4 (7,3 %)	2 (7,1 %)	1 (6,7 %)	7 (14 %)	<b>0,616</b>
	negativo	50 (100 %)	54 (98,2 %)	27 (96,4 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	
PolG	positivo	0 (0 %)	1 (1,8 %)	1 (3,6 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	<b>0,261</b>
	negativo	50 (100 %)	53 (96,4 %)	27 (96,4 %)	15 (100 %)	47 (94 %)	
CCD	positivo	0 (0 %)	2 (3,6 %)	1 (3,6 %)	0 (0 %)	3 (6 %)	<b>0,161</b>
	negativo	50 (100 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	50 (100 %)	
PR_avellana	positivo	0 (0 %)	2 (3,6 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	0 (0 %)	<b>&lt;0,001</b>
	negativo	50 (100 %)	45 (81,8 %)	28 (100 %)	11 (73,3 %)	47 (94 %)	
PR_manzana	positivo	0 (0 %)	10 (18,2 %)	0 (0 %)	<b>4 (26,7 %)</b>	3 (6 %)	<b>0,270</b>
	negativo	50 (100 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	
PR_guisante	positivo	0 (0 %)	2 (3,6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	<b>0,631</b>
	negativo	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	
Soja	positivo	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	<b>0,270</b>
	negativo	50 (100 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	
PR_cacahuet	positivo	0 (0 %)	2 (3,6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	<b>0,597</b>
	negativo	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	
e	positivo	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	<b>0,737</b>
	negativo	49 (98 %)	53 (96,4 %)	26 (92,9 %)	14 (93,3 %)	49 (98 %)	
Kiwi	positivo	1 (2 %)	2 (3,6 %)	2 (7,1 %)	1 (6,7 %)	1 (2 %)	<b>&lt;0,001</b>
	negativo	50 (100 %)	43 (78,2 %)	26 (92,9 %)	11 (73,3 %)	47 (94 %)	
Nuez	positivo	0 (0 %)	<b>12 (21,8 %)</b>	2 (7,1 %)	<b>4 (26,7 %)</b>	3 (6 %)	<b>&lt;0,001</b>
	negativo	50 (100 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	50 (100 %)	
Huevo	positivo	0 (0 %)	2 (3,6 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	0 (0 %)	<b>0,161</b>
	negativo	50 (100 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	50 (100 %)	

<b>Leche</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	52 (94,5 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	49 (98 %)	<b>0,183</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	3 (5,5 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	1 (2 %)	
<b>Otro</b>		0 (0 %)	0 (0 %)	22 (44 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	---
	<b>0</b>	50 (100 %)	48 (87,3 %)	25 (50 %)	8 (53,3 %)	50 (100 %)	
	<b>anacardo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	0 (0 %)	
	<b>gluten</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	0 (0 %)	
	<b>olivas</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
	<b>olivlett</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
	<b>LTP melocotón</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	1 (6,7 %)	0 (0 %)	
	<b>perejil</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
	<b>pistacho</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
	<b>sesamo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
	<b>nuez</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
	<b>trigo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	3 (20 %)	0 (0 %)	
	<b>LTP trigo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	1 (6,7 %)	0 (0 %)	

La siguiente tabla muestra las positividades de cada alérgeno por prick



Pricklolium	negativo	48 (96 %)	44 (80 %)	28 (100 %)	11 (73,3 %)	6 (12 %)	<0,001
	positivo	2 (4 %)	11 (20 %)	0 (0 %)	4 (26,7 %)	44 (88 %)	
Prickcynodon	negativo	49 (98 %)	43 (78,2 %)	28 (100 %)	13 (86,7 %)	30 (60 %)	<0,001
	positivo	1 (2 %)	12 (21,8 %)	0 (0 %)	2 (13,3 %)	20 (40 %)	
Prickolea	negativo	50 (100 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	36 (72 %)	<0,001
	positivo	0 (0 %)	2 (3,6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	14 (28 %)	
Prickplatanus	negativo	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	38 (76 %)	<0,001
	positivo	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	12 (24 %)	
Prickarizónica	negativo	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	46 (92 %)	0,067
	positivo	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	4 (8 %)	
Prickphleum	negativo	50 (100 %)	52 (94,5 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	34 (68 %)	<0,001
	positivo	0 (0 %)	3 (5,5 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	16 (32 %)	
Prickartemisia	negativo	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	43 (86 %)	0,004
	positivo	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	7 (14 %)	
prickchenopodium	negativo	50 (100 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	41 (82 %)	0,001
	positivo	0 (0 %)	2 (3,6 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	9 (18 %)	
Prickperro	negativo	49 (98 %)	55 (100 %)	27 (96,4 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	0,416
	positivo	1 (2 %)	0 (0 %)	1 (3,6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
Prickgato	negativo	50 (100 %)	53 (96,4 %)	27 (96,4 %)	15 (100 %)	48 (96 %)	0,399

	positivo	0 (0 %)	2 (3,6 %)	1 (3,6 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	
Prickconejo	negativo	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,597</b>
	positivo	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
Prickcaballo	negativo	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	----
	positivo	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
Prickdpteroniy	negativo	50 (100 %)	52 (94,5 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,196</b>
	positivo	0 (0 %)	3 (5,5 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
Prickdfarinae	negativo	49 (98 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,673</b>
	positivo	1 (2 %)	2 (3,6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
pricklepidoglyph	negativo	50 (100 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,392</b>
	positivo	0 (0 %)	2 (3,6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
Prickalternaria	negativo	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	48 (96 %)	<b>0,234</b>
	positivo	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	
Prickcladospo	negativo	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	----
	positivo	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
Prickaspergill	negativo	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	-----
	positivo	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
Pricktrigo	negativo	50 (100 %)	55 (100 %)	27 (96,4 %)	15 (100 %)	48 (96 %)	<b>0,225</b>
	positivo	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (3,6 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	
Prickcenteno	negativo	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	48 (96 %)	<b>0,367</b>
	positivo	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	
Prickrye	negativo	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	48 (96 %)	<b>0,234</b>
	positivo	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	
Prickclara de huevo	negativo	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	-----
	positivo	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
Prickyema	negativo	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	-----
	positivo	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
Prickleche	negativo	50 (100 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,392</b>
	positivo	0 (0 %)	2 (3,6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
Prickguisante	negativo	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,634</b>
	positivo	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
Prickcacahuete	negativo	50 (100 %)	50 (90,9 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	48 (96 %)	<b>0,037</b>
	positivo	0 (0 %)	5 (9,1 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	
Prickavellana	negativo	50 (100 %)	50 (90,9 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	47 (94 %)	<b>0,046</b>
	positivo	0 (0 %)	5 (9,1 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	3 (6 %)	

<b>Prickcastaña</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	52 (94,5 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,196</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	3 (5,5 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>Prickpiñon</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	52 (94,5 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	48 (96 %)	<b>0,160</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	3 (5,5 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	
<b>Pricklegumbres</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	48 (96 %)	<b>0,367</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	
<b>Prickmostaza</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,597</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>Prickmelocotón</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	52 (94,5 %)	28 (100 %)	13 (86,7 %)	47 (94 %)	<b>0,055</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	3 (5,5 %)	0 (0 %)	2 (13,3 %)	3 (6 %)	
<b>Prickpescado</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	<b>-----</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<b>Prickanisakis</b>	<b>negativo</b>	47 (94 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	48 (96 %)	<b>0,447</b>
	<b>positivo</b>	3 (6 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	2 (4 %)	
<b>Prickmarisco</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	50 (100 %)	<b>0,265</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	0 (0 %)	
<b>Pricklechuga</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	<b>0,631</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<b>Pricktomate</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	48 (96 %)	<b>0,367</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	
<b>Prickmelón</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	49 (98 %)	<b>0,414</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	1 (2 %)	
<b>Prickbanana</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	50 (100 %)	<b>0,161</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	2 (3,6 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	0 (0 %)	
<b>Prickalmendra</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	48 (96 %)	<b>0,367</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	
<b>Prickmanzana</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	48 (96 %)	<b>0,288</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	2 (4 %)	
<b>Prickpollo</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	50 (100 %)	<b>0,265</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	0 (0 %)	
<b>Prickperejil</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	49 (98 %)	<b>0,267</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	1 (2 %)	
<b>Prickpistacho</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	50 (100 %)	<b>0,286</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	0 (0 %)	
<b>Prickanacardo</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	49 (98 %)	<b>0,414</b>

	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	1 (2 %)	
<b>Pricklatex</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	51 (92,7 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	50 (100 %)	<b>0,031</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	4 (7,3 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	0 (0 %)	

La siguiente tabla muestra los resultados de la IgE específica por CAP a cada alérgeno:

<b>IgElolium</b>	<b>negativo</b>	<b>50</b> <b>(100 %)</b>	<b>52</b> <b>(94,5 %)</b>	<b>28 (100 %)</b>	<b>13</b> <b>(86,7 %)</b>	<b>25</b> <b>(50 %)</b>	<b>&lt;0,001</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	3 (5,5 %)	0 (0 %)	<b>2 (13,3 %)</b>	25 (50 %)	
<b>IgEcynodon</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	49 (89,1 %)	26 (92,9 %)	13 (86,7 %)	38 (76 %)	<b>0,001</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	6 (10,9 %)	2 (7,1 %)	<b>2 (13,3 %)</b>	12 (24 %)	
<b>IgEolea</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	27 (96,4 %)	15 (100 %)	44 (88 %)	<b>0,020</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	1 (3,6 %)	0 (0 %)	6 (12 %)	
<b>IgEplatanus</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	44 (88 %)	<b>0,002</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	6 (12 %)	
<b>IgEarizónica</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,597</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>IgEphleum</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	27 (96,4 %)	15 (100 %)	41 (82 %)	<b>0,001</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	1 (3,6 %)	0 (0 %)	9 (18 %)	
<b>IgEartemisia</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	46 (92 %)	<b>0,067</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	4 (8 %)	
<b>IgEchenopodium</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	46 (92 %)	<b>0,022</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	4 (8 %)	
<b>IgEperro</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	27 (96,4 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	<b>0,414</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (3,6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	

<b>IgEgato</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	27 (96,4 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,416</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (3,6 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>IgEconejo</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,597</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>IgEcaballo</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	----
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<b>IgEpteron</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,392</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	2 (3,6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>IgEfarinae</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,634</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>IgElepitelio de perro</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,392</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	2 (3,6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>IgEalternaria</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	27 (96,4 %)	15 (100 %)	48 (96 %)	<b>0,225</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (3,6 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	
<b>IgEcladosporium</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	-----
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<b>IgEasperg</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	----
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<b>IgEtrigo</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,597</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>IgEcebada</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	----
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<b>IgEcenteno</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	27 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	----
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	

<b>IgEclara</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	----
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<b>IgEyema</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	----
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<b>IgEleche</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	49 (98 %)	<b>0,308</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	2 (3,6 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	1 (2 %)	
<b>IgEguisante</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	----
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<b>IgEcacahuete</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,392</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	2 (3,6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>IgEavellana</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	27 (100 %)	15 (100 %)	46 (92 %)	<b>0,068</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	4 (8 %)	
<b>IgEcastaña</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,634</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>IgEpiñon</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	48 (96 %)	<b>0,367</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	
<b>IgElegumbre</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,597</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>IgEmostaza</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,597</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>IgEmelocotón</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	53 (96,4 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	43 (86 %)	<b>0,007</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	2 (3,6 %)	0 (0 %)	<b>1 (6,7 %)</b>	7 (14 %)	
<b>IgEpescado</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	-----
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	

<b>IgEanisakis</b>	<b>negativo</b>	48 (96 %)	52 (94,5 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	48 (96 %)	<b>0,453</b>
	<b>positivo</b>	2 (4 %)	3 (5,5 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	
<b>IgEmarisco</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	----
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<b>IgElechuga</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,597</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>IgEtomate</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	54 (98,2 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,634</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	1 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>IgEmelon</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	49 (98 %)	<b>0,597</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2 %)	
<b>IgEbanana</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	----
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<b>IgEalmendra</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	48 (96 %)	<b>0,234</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	
<b>IgEmanzana</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	49 (98 %)	<b>0,267</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	1 (2 %)	
<b>IgEpollo</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	----
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<b>IgEperejil</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	48 (96 %)	<b>0,234</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	
<b>IgEpistacho</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	55 (100 %)	28 (100 %)	15 (100 %)	50 (100 %)	----
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<b>IgElatex</b>	<b>negativo</b>	50 (100 %)	52 (94,5 %)	28 (100 %)	14 (93,3 %)	50 (100 %)	<b>0,075</b>
	<b>positivo</b>	0 (0 %)	3 (5,5 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	0 (0 %)	

En resumen se observa una elevada frecuencia de sensibilización a **aeroalérgenos y a alimentos** en pacientes con EoE y celíaca y más importante cuando coexisten ambas enfermedades. Los pacientes con asma polínico presentan sensibilización a diferentes grupos de pólenes sin diferencias significativas entre ellos. Los alérgenos alimentarios más frecuentemente detectados por arrays en este grupo son los procedentes de vegetales, sobre todo el melocotón y frutos secos (nuez y avellana).

Sin embargo, **con el estudio de arrays**, además de detectarse más alérgenos positivos de forma estadísticamente significativa (ver tabla posterior), se detecta sensibilización predominante ( $p < 0.001$ ) a alérgenos recombinantes del **grupo 1 de gramíneas** (40% en EoE, 14,3% en celíacos y 40% de los pacientes con ambas enfermedades), del alérgeno específico de la grama o *Cynodon dactylon* **nCyn d1** (38% en EoE, 7% en celíacos y 53% cuando coexiste EoE y celíaca), a proteínas transportadoras de lípidos (**LTPs**) de **melocotón** (20% en EoE, 3,6% en celíacos y 20% en la comorbilidad), a LTP de artemisia (16% en Eoe, 3,6% en celíacos y 33,3% en comorbilidad), **proteína PR de nuez** (18% en EoE y 26,7% en ambas enfermedades), y **avellana** (21% en EoE, 7% en celíaca y 26,7% en ambas).

Sólo con microarrays detectamos 6,7% de pacientes respondedores a alérgenos recombinantes de trigo (LTP de trigo).

Con el estudio de Prick, se detecta un 26% de pacientes con EoE+Celíaca positivos a grupo 1 de pólenes y 13,3% a Cynodon. Un 6% a nuez y un 13% a melocotón. No se detecta sensibilidad a harina de trigo.

Con el estudio con IgE específica se detectan un 13% de pacientes con EoE+celíaca positivos a pólenes de lolium y cynodon y un 6,7% positivo a melocotón, ninguno a frutos secos.

Comparando el número de resultados positivos de las pruebas diagnósticas utilizadas

(arrays vs prick e IgE por CAP), con el array se detectaron de forma significativa ( $p < 0.001$ ) más positividads alérgicas.

La comparación de los resultados positivos por arrays, prick e IgE (CAP) en los diferentes grupos utilizando las odds-ratio puede verse en la siguiente tabla..

	EoE %			Celíacos %			EoE+Celíaca %			pvalor
	Array	Prick/	IgE	Array	Prick	IgE	Array	Prick	IgE	
<b>G1pollen/ Lolium</b>	40	20	5,5	14,3	0	0	40	26,7	13,3	<b>&lt;0.001</b>
<b>Cyn d1/ Cynodon</b>	38,2	21,8	10,9	7,1	7,1	7,1	53,3	13,3	13,3	<b>&lt;0.001</b>
<b>Prup3/ Melocotón</b>	20	5,5	3,6	3,6	0	0	20	13,3	6,7	<b>&lt;0.001</b>
<b>Cor a 8 avellana</b>	21,8	9,1	1,8	7,1	0	0	26,7	6,7	0	<b>&lt;0.001</b>
<b>LTP trigo</b>	<b>6,7</b>	<b>0</b>		<b>4</b>	<b>3,6</b>	<b>0</b>	<b>6,7</b>	<b>3,6</b>	<b>0</b>	<b>&lt;0.001</b>

Tras aplicar el Breslow-Day para medir la homogeneidad de las odds ratio encontramos que el análisis molecular por microarrays tiene más utilidad diagnóstica que el prick y los estudios de IgE específica para obtener un diagnóstico positivo de hipersensibilidad, y que es significativamente más útil ( $p < 0.0001$ ) en detectar sensibilización a Cynodon y LTPs.

**Sensibilidad y especificidad de las pruebas con más resultados positivos:**

Las siguientes tablas muestran la sensibilización a alérgenos recombinantes y nativos medidos por técnica de arrays, por prick y la determinación de IgE por CAP. Las técnicas de arrays detectaron de forma significativa más positividad a alérgenos comparada con la detección por CAP.  $p < 0.001$ .

**Respuesta a los principales alérgenos detectados por las tres técnicas, arrays, prick e IgE:**

<b>poll * grupo</b>		<b>p-valor&lt;0,001</b>	
	Esofagitis	Celíaca	Esofagitis + Celíaca
Sensibilidad	40,0 (26,1;53,8)	14,0 (0;28,6)	<b>40,0 (11,8 ; 68,1)</b>
Especificidad	97,9 (93,1 ; 100)	97,9 (93,1 ; 100)	<b>97,9 (93,1 ; 100)</b>

<b>pricklolium *</b>		<b>p-valor=0,001</b>	
<b>grupo</b>	Esofagitis	Celíaca	Esofagitis + Celíaca
Sensibilidad	20,0 (8,5;31,4)	0	26,6 (0,9 ; 52,3)
Especificidad	96,0 (89,5;100)	96,0 (89,5;100)	96,0 (89,5;100)

<b>IgElolium * grupo</b>		<b>p-valor=0,034</b>	
	Esofagitis	Celíaca	Esofagitis + Celíaca
Sensibilidad	5,4 (0;12,3)		13,3 (0;33,8)
Especificidad	100 (99;100)		

<b>cynd1 * grupo</b>		<b>p-valor&lt;0,001</b>	
	Esofagitis	Celíaca	Esofagitis + Celíaca

Sensibilidad	38,1 (24,4;51,9)	7,1 (0;18,4)	<b>53,3 (24,7;81,9)</b>
Especificidad	100 (99;100)		

<b>prickcynodon * grupo</b>		<b>p-valor&lt;0,001</b>	
	Esofagitis	Celíaca	Esofagitis + Celíaca
Sensibilidad	21,8 (9,9 ; 33,6)	0	13,3 (0;33,8)
Especificidad	97,9 (93,1;100)	97,9 (93,1;100)	97,9 (93,1;100)

<b>IgEcynodon * grupo</b>		<b>p-valor=0,028</b>	
	Esofagitis	Celíaca	Esofagitis + Celíaca
Sensibilidad	10,9 (1,7 ; 20,0)	7,1 (0;18,4)	13,3 (0;33,8)
Especificidad	100 (99;100)		

<b>prup3 * grupo</b>		<b>p-valor&lt;0,001</b>	
	Esofagitis	Celíaca	Esofagitis + Celíaca
Sensibilidad	20 (8,5;31,4)	3,5 (0;12,2)	20 (0;43,5)
Especificidad	100 (99;100)		

<b>Prick melocotón * grupo</b>		<b>p-valor=0,034</b>	
	Esofagitis	Celíaca	Esofagitis + Celíaca
Sensibilidad	5,4 (0;12,3)		13,3 (0;33,8)
Especificidad	100 (99;100)		

<b>IgE melocotón * grupo</b>		<b>p-valor=0,187</b>	
	Esofagitis	Celíaca	Esofagitis + Celíaca
<b>Sensibilidad</b>	3,6 (0;9,4)		6,6 (0;22,6)
<b>Especificidad</b>	100 (99;100)		

<b>cora8 * grupo</b> (avellana)		<b>p-valor=0,001</b>	
	Esofagitis	Celíaca	Esofagitis + Celíaca
Sensibilidad	20 (8,5;31,4)	3,5 (0;12,2)	13,3 (0;33,8)
Especificidad	100 (99;100)		

<b>Prick nuez * grupo</b>		<b>p-valor=0,025</b>	
	Esofagitis	Celíaca	Esofagitis + Celíaca
Sensibilidad	9,09 (0,5 ;17,6)		6,6 (0;22,6)
Especificidad	100 (99;100)		

<b>IgE nuez* grupo</b>		<b>p-valor=0,577</b>	
	Esofagitis	Celíaca	Esofagitis + Celíaca
Sensibilidad	1,8 (0;6,2)		
Especificidad	100 (99;100)		

<b>Prick trigo * grupo</b>		<b>p-valor=0,339</b>	
	Esofagitis	Celíaca	Esofagitis + Celíaca
Sensibilidad	-----	3,5 (0;12,2)	
Especificidad	100 (99;100)		

<b>LTP wheat</b>		<b>p-valor=0,001</b>	
	Esofagitis	Celíaca	Esofagitis + Celíaca
Sensibilidad	20 (8,5;31,4)	4 (0;12,2)	6.7 (0;33,8)
Especificidad	100 (99;100)		

## **EFECTO DEL TRATAMIENTO DIRIGIDO POR ARRAYS**

Se han utilizado dos tipos de intervención terapéutica:

**EVITACIÓN:** En el caso de que por arrays se evidenciara positividad a algún alimento se realizaba evitación del mismo. En los celíacos se evitaba el gluten.

**INMUNOTERAPIA (IT):** Se aplicó tanto en esofagitis con sensibilización a un alérgeno para el que existiera IT comercializada como en los celíacos. La IT predominante fue con pólenes de gramíneas, en celíacos se introducía polen de gramíneas cultivadas (*triticum aestivum 100%*)

Se valora la evolución a los 2 años como **favorable** si hay ausencia de síntomas y mejoría de la calidad de vida (según score indicado en material y métodos) y mejoría histológica y desfavorable si no existen estos cambios.

**Se consideró que el tratamiento era eficaz en el caso de que se cumplieran 3 condiciones:**

- 4. La biopsia fuera negativa, sin evidencia de eosinófilos.**
- 5. Ausencia de síntomas y de necesidad de tratamiento sintomático**
- 6. El paciente era dado de alta.**

**La regresión logística** fue utilizada para determinar la influencia de la sensibilización a un determinado alérgenos en la evolución clínica. Demostró que los pacientes con EoE y alergia al polen tratados con inmunoterapia con pólenes tienen una mejor evolución: odds ratio >1 (CI 95%), significativamente mayor que los pacientes sin alergia al polen. Los pacientes con EoE sensibilizados a la vez a *Lolium perenne* y *Cynodon dactylon* son los que tiene peor evolución (p=0.004).

Al aplicar el modelo de regresión logística, se observa que los grupos de pacientes con enfermedad polínica tienen un valor de Ods Ratio mayor de 1, es decir, se observa que

los pacientes sensibles a lolium tienen mejor evolución que los que no son sensibles al alérgeno.

Odds Ratio estimadas

Efecto		Point Estimate	95% Wald Confidence Limits	
GRUPO	ESOFAGITIS ESOFINOFÍLICA vs POLÍNICOS	0.043	0.005	0.370
	NPRICKLOLIUM NO vs SI	23.859	2.710	210.032

### Medida de la asociación de las diferentes variables estudiadas:

Asociación de las variables estudiadas medidas por tablas de contingencia:

Significación aproximada  $>0.5$ , con valor Kappa estadísticamente significativo.

### Medidas simétricas

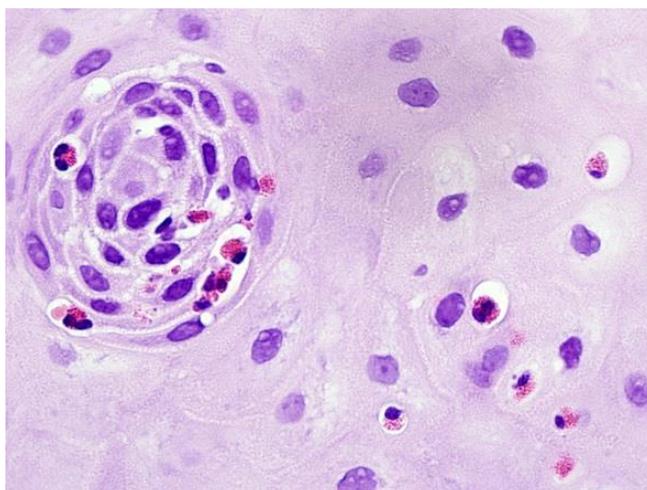
	Valor	Error típic. asint. <sup>a</sup>	T	Sig.
<b>Indice Kappa</b>	,543	,076	6,476	0,0001
<b>N de casos válidos</b>	125			

**a. Asumiendo la hipótesis alternativa.**

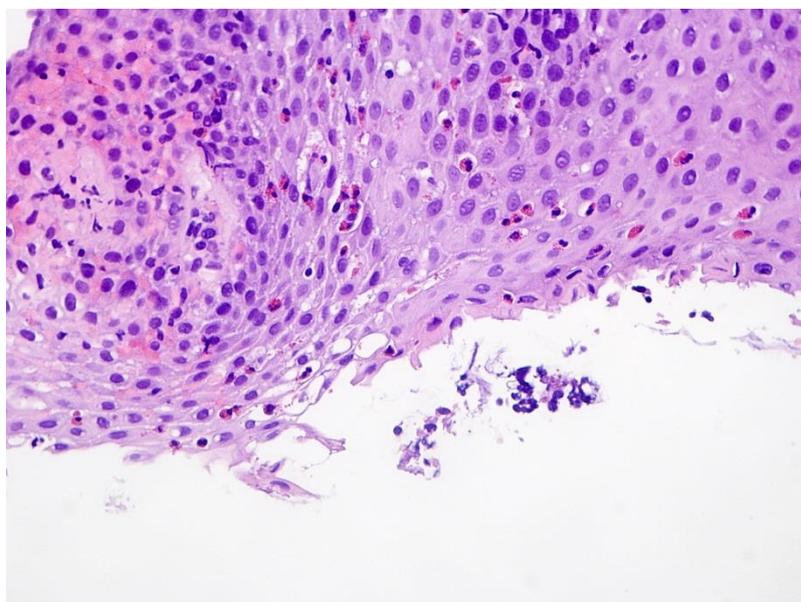
**b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.**

El efecto de un año de dieta de eliminación sobre el infiltrado eosinofílico en la biopsia y la evolución clínica de los pacientes con dieta de eliminación dirigida por microarrays fue favorable, (un 84% de los pacientes con EoE presentaban una disminución significativa del infiltrado eosinófilo en la biopsia).

Figuras 1 y 2

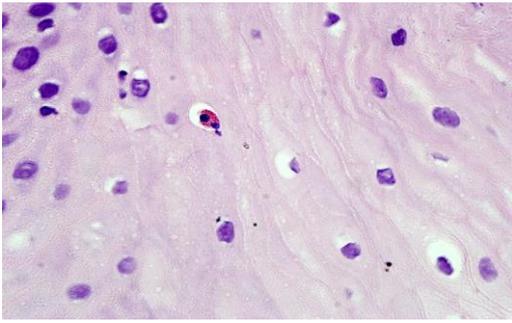


Biopsia de esófago proximal 100 aumentos, antes del tratamiento dirigido

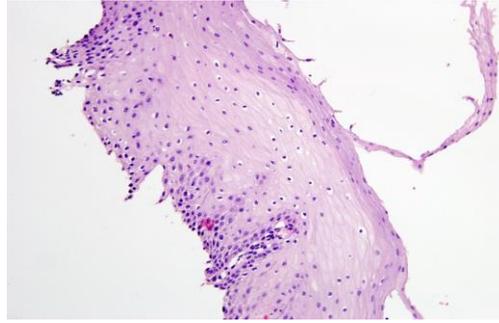


Biopsia de esófago distal, 40 aumentos, con eosinofilia >15%, antes del tratamiento dirigido.

A



B



A. Biopsia de esófago distal tras un año de IT y dieta dirigida en la que se observa la disminución de eosinófilos.

B. Biopsia de esófago proximal tras un año de IT y dieta dirigida por arrays 100 aumentos.

Los pacientes con EoE con respuesta positiva a pólenes tuvieron mejor evolución que los pacientes con EoE sin respuesta positiva a los mismos. Los pacientes que más mejoraron con la dieta de exclusión dirigida por arrays fueron los que mayores niveles de sensibilización tenían a los mismos ( $p < 0,01$ ).

### **Tablas de contingencia tras la terapéutica utilizada**

Vamos a ver las tablas de contingencia de los diferentes tratamientos utilizados:

- Evitación de los alimentos detectados en el array
- Inmunoterapia específica con pólenes de gramíneas
- Combinación de ambos

<b>Evolución tras evitación. Tabla de contingencia.</b>						
Grupo				evolucion		Total
				desfavorable	favorable	
<b>Sano</b>	TTO Evitar	NO	n		50	50
			%		100,0%	100,0%
	Total		n		50	50
			%		100,0%	100,0%
<b>Esofagitis (p-valor&lt;0,001)</b>	TTO Evitar	NO	n	8	8	16
			%	50,0%	50,0%	100,0%
		SI	n	2	37	39
	%		5,1%	<b>94,9%</b>	100,0%	
	Total		n	10	45	55
			%	18,2%	81,8%	100,0%
<b>Celiaca</b>	TTO Evitar	SI	n	13	15	28
			%	46,4%	53,6%	100,0%
	Total		n	13	15	28
			%	46,4%	53,6%	100,0%
<b>Esofagitis + Celiaca (p-valor=1,000)</b>	TTO Evitar	NO	n	0	2	2
			%	0,0%	100,0%	100,0%
		SI	n	1	12	13
	%		7,7%	92,3%	100,0%	
	Total		n	1	14	15
			%	6,7%	93,3%	100,0%
<b>Polínico (p-valor=0,071)</b>	TTO Evitar	NO	n	8	30	38
			%	21,1%	78,9%	100,0%
		SI	n	6	6	12
	%		50,0%	50,0%	100,0%	
	Total		n	14	36	50

			%	28,0%	72,0%	100,0%
<b>VALORES TOTALES</b>	TTO Evitar	NO	n	16	90	106
			%	15,1%	84,9%	100,0%
<b>Total (p-valor=0,148)</b>		SI	n	22	70	92
			%	23,9%	76,1%	100,0%
	Total		n	38	160	198
			%	19,2%	80,8%	100,0%
<b>Grupo</b>				evolucion		Total
				desfavorable	favorable	
<b>Sano</b>	TTO IT	NO	N		50	50
			%		100,0%	100,0%
	Total		N		50	50
			%		100,0%	100,0%
<b>Esofagitis (p-valor=0,706)</b>	TTO IT	NO	N	2	14	16
			%	12,5%	87,5%	100,0%
		SI	N	8	31	39
			%	20,5%	79,5%	100,0%
	Total		N	10	45	55
			%	18,2%	81,8%	100,0%
<b>Celiaca (p-valor=1,000)</b>	TTO IT	NO	N	13	14	27
			%	48,1%	51,9%	100,0%
		SI	N	0	1	1
			%	0,0%	100,0%	100,0%
	Total		N	13	15	28
			%	46,4%	53,6%	100,0%
<b>Esofagitis + Celiaca (p-valor=0,200)</b>	TTO IT	NO	N	1	2	3
			%	33,3%	66,7%	100,0%
		SI	N	0	12	12

			%	0,0%	100,0%	100,0%
		<b>Total</b>	N	1	14	15
			%	6,7%	93,3%	100,0%
<b>Polínico (p-valor&lt;0,001)</b>	TTO IT	NO	N	13	0	13
			%	100,0%	0,0%	100,0%
		SI	N	1	36	37
			%	2,7%	<b>97,3%</b>	100,0%
	<b>Total</b>		N	14	36	50
			%	28,0%	<b>72,0%</b>	100,0%
<b>Total (p-valor=0,004)</b>	TTO IT	NO	N	29	80	109
			%	26,6%	73,4%	100,0%
		SI	N	9	80	89
			%	10,1%	89,9%	100,0%
	<b>Total</b>		N	38	160	198
			%	19,2%	80,8%	100,0%

<b>Inmunoterapia más evitación. Tabla de contingencia.</b>						
<b>Grupo</b>				<b>Evolución</b>		<b>Total</b>
				<b>desfavorable</b>	<b>favorable</b>	
<b>Sano</b>	Tratamiento	Ninguno	n	50		50
			%	100,0%		100,0%
	Total		n	50		50
			%	100,0%		100,0%
<b>Esofagitis (p-valor=0,001)</b>	Tratamiento	Ninguno	n	1	0	1
			%	100,0%	0,0%	100,0%
		IT	n	7	8	15
	%		46,7%	53,3%	100,0%	
		Evitar	n	1	14	15
	%		6,7%	93,3%	100,0%	
		IT + Evitar	n	1	23	24
	%		4,2%	<b>95,8%</b>	100,0%	
		Total	n	10	45	55
	%		18,2%	<b>81,8%</b>	100,0%	
<b>Celíaca (p-valor=1,000)</b>	Tratamiento	Evitar	n	13	14	27
			%	48,1%	51,9%	100,0%
		IT + Evitar	n	0	1	1
	%		0,0%	100,0%	100,0%	
		Total	n	13	15	28
%	46,4%		<b>53,6%</b>	100,0%		
<b>Esofagitis + Celíaca (p-valor=0,0171)</b>	Tratamiento	IT	n	0	2	2
			%	0,0%	100,0%	100,0%
		Evitar	n	1	2	3
	%		33,3%	66,7%	100,0%	
		IT + Evitar	n	0	10	10
%						

		Evitar	%	0,0%	<b>100,0%</b>	100,0%	
		Total		n	1	14	
				%	6,7%	<b>93,3%</b>	
<b>Polínico (p-valor&lt;0,001)</b>	Tratamiento	Ninguno	n	8	0	8	
			%	100,0%	0,0%	100,0%	
		IT	N	0	30	30	
	%		0,0%	100,0%	100,0%		
		Evitar	N	5	0	5	
	%		100,0%	0,0%	100,0%		
		IT +	N	1	6	7	
	%		14,3%	85,7%	100,0%		
		Total		n	14	36	50
				%	28,0%	72,0%	100,0%
<b>Total (p-valor&lt;0,001)</b>	Tratamiento	Ninguno	n	9	50	59	
			%	15,3%	84,7%	100,0%	
		IT	n	7	40	47	
	%		14,9%	85,1%	100,0%		
		Evitar	n	20	30	50	
	%		40,0%	60,0%	100,0%		
		IT +	n	2	40	42	
	%		4,8%	95,2%	100,0%		
		Total		n	38	160	198
				%	19,2%	80,8%	100,0%

El evitar los alimentos detectados en el array (avellana, nuez, melocotón...) solo mejora significativamente la evolución de los pacientes con esofagitis (un 81,8% mejoraron con las medidas dietéticas aconsejadas). Sin embargo a los pacientes celíacos que una vez retirado el gluten, se les aconsejó además evitar el melocotón, avellana y nuez por sus resultados positivos en los arrays, refirieron una clara mejoría posterior en sus diferentes molestias abdominales. En el caso de los polínicos es razonable que no puedan evitar la inhalación de pólenes, sólo se valora en los que no aceptaron inmunoterapia, que no mejoraron.

No se observa una mejoría significativa ni en los celíacos ni en los pacientes con esofagitis tratado sólo con inmunoterapia pero si en el 72% de polínicos tratados con inmunoterapia específica.

**Con el tratamiento combinado observamos una clara mejoría en los pacientes con EoE (98,5% mejoraron) y en la totalidad de los pacientes que realizaron las dos terapias (Evitación de gluten, alimentos detectados en arrays más inmunoterapia específica con los pólenes positivos).**

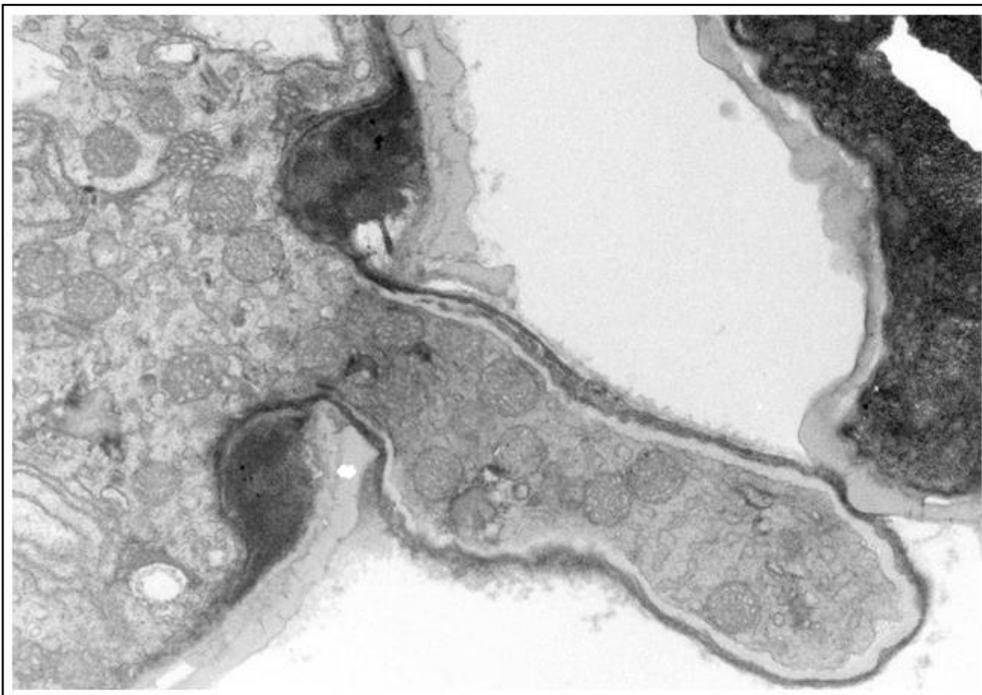
-

## **HALLAZGOS EN LAS BIOPSIAS ESOFÁGICAS**

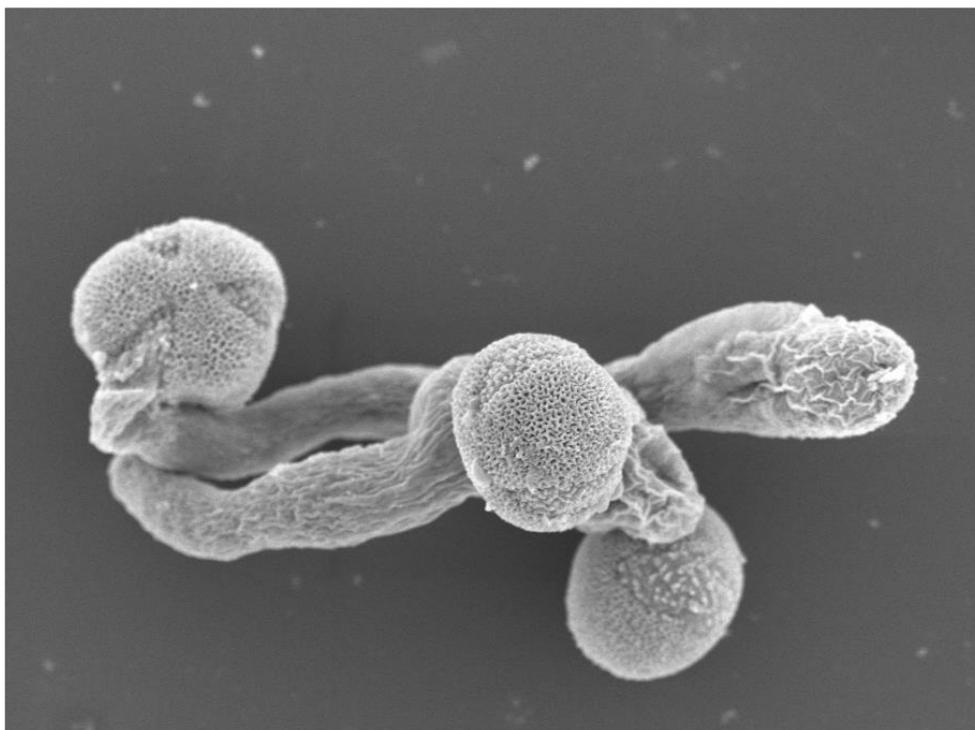
Presentamos las imágenes más claras obtenidas en las biopsias de mucosa esofágica:



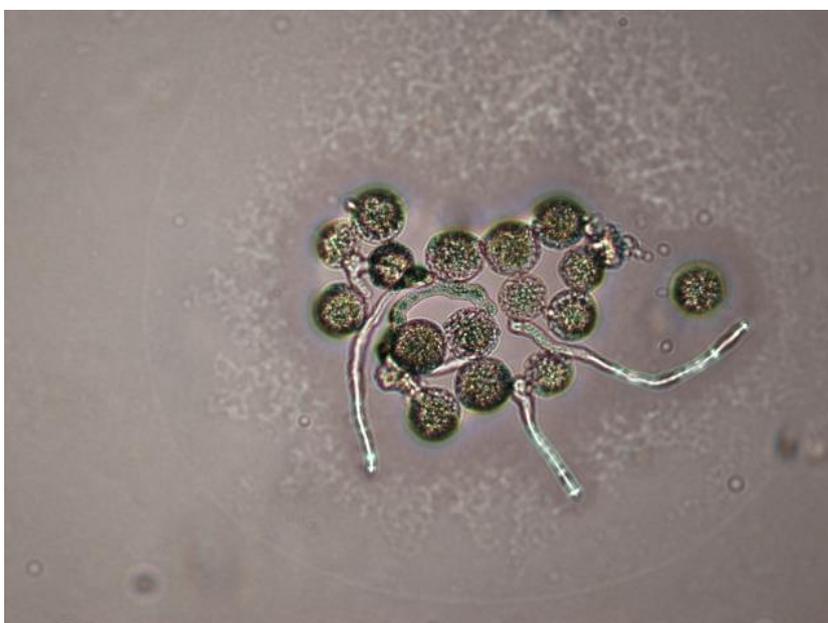
**Imagen serpenteante de tubo polínico emitiendo sus gránulos**



**Tubo polínico en mucosa esofágica media con sus organelas.**



**Platanus hispánica en líquido de biopsia esofágica con su tubo polínico**



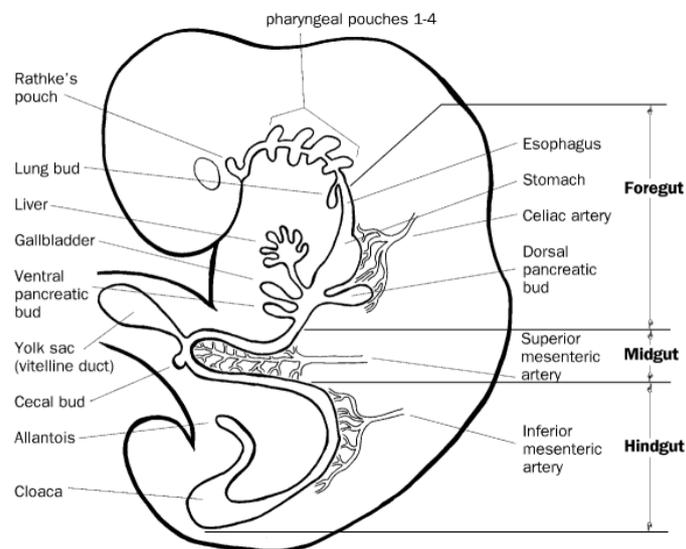
**Plantado lanceolata con sus tubos polínicos en biopsia obtenida a la hora de su extensión**

## DISCUSIÓN

En la presente tesis pretendimos encontrar que tienen en común tres patologías inmunes prevalentes: asma alérgico, esofagitis eosinofílica y celíaca, con el fin de aportar hallazgos útiles en su diagnóstico y terapéutica.

La mucosa respiratoria y digestiva comparten un mismo origen embrionario, ambas son de origen endodérmico y en ambas se extiende el **tejido linfoide asociado a las mucosas** (MALT: *Mucosa-associated lymphoid tissue*) (340). El sistema respiratorio surge como una invaginación de la pared ventral que se forma en la porción más cefálica del intestino anterior entre la 3<sup>o</sup> y 4<sup>o</sup> semana, en el periodo somítico. De este brote derivarán los bronquios y pulmones y también la mucosa nasal.

El divertículo respiratorio comunica con el intestino y posteriormente queda separado del mismo por el tabique tráqueo-esofágico pero comunicado con el esófago por la laringe.



Netter's Atlas of Human Embryology: Updated Edition, 1e Netter Basic Science: Larry R. Cochard PhD

El esquema anterior nos ilustra el concepto de que la mucosa respiratoria, por su origen embriológico común, podría tener un comportamiento ante agresiones inmunes similar

a la digestiva.

**Dentro de la patología alérgica la afectación de las mucosas respiratorias es muy frecuente.** La prevalencia del asma en España es del 7% y se considera la enfermedad alérgica más prevalente después de la rinitis (341).

**Los métodos de diagnóstico alergológico de estas patologías respiratorias de origen alérgico han experimentado un gran avance en los últimos años. Más complicado es el diagnóstico y manejo de la patología alérgica que afecta a las mucosas del aparato digestivo.**

La alergia por alimentos se ha incrementado en la última década (343). Los alérgenos causales más frecuentes son el huevo, la leche, los frutos secos, el trigo, el marisco y la soja (8). **Actualmente, se estima que afectan entre un 2-8% de la población, con una especial incidencia de los alimentos de origen vegetal en pacientes adultos. Sin embargo, los métodos de diagnóstico y tratamiento (potencial inmunoterapia), así como el conocimiento de los mecanismos de sensibilización, desarrollo de síntomas clínicos y reacciones a distintas fuentes alérgicas (varios alimentos y/o pólenes), son aún incompletos.**

Aunque la caracterización de los alérgenos más relevantes ha permitido mejorar el manejo clínico y ha contribuido a esclarecer los mecanismos básicos de las reacciones alérgicas, parece justificado aspirar, como etapa posterior, a la disección molecular de todos estos alérgenos ambientales y trofoalérgenos, para establecer las bases estructurales de su alergenicidad, capacidad patogénica y reactividad cruzada (12-13).

Posiblemente esto nos ayudaría a dilucidar el por qué pacientes con el mismo trasfondo

genético atópico se sensibilizan mayormente a aeroalérgenos o a alimentos (11). Pretendemos en esta tesis encontrar si hay factores en común en patologías que afectan de manera clínicamente diferente a estas mucosas y definir patrones de respuesta molecular aún no estudiados en esofagitis y celíaca.

**La enfermedad eosinofílica gastrointestinal** en niños se relaciona con alimentos y se resuelve tras la identificación y eliminación del alimento agresor, pero esta identificación es muy difícil con las técnicas alergológicas actuales y en ocasiones se somete al niño a restricciones dietéticas que entorpecen su crecimiento normal (4-6).

**La esofagitis eosinofílica** es una patología inflamatoria del esófago, de origen inmunológico y de difícil diagnóstico etiológico. La alergia alimentaria puede ser su base etiológica pero aún no existe una técnica diagnóstica fiable y libre de riesgos. Su diagnóstico ha ido incrementándose en la última década. Este diagnóstico se realiza por la clínica y los hallazgos histológicos. Hay diversos tratamientos sintomáticos como corticoides, modificadores de los leucotrienos y paliativos como la dilatación mecánica del esófago. Pero el tratamiento etiológico sería fundamental para saber que alérgenos han causado la inflamación eosinofílica de la mucosa esofágica (1-9). Esta enfermedad aparece tanto en niños como adultos de todo el mundo. La inflamación del esófago provoca aparte de síntomas de atragantamiento grave un profundo impacto sistémico y emocional para el paciente y sus familias.

Hasta ahora, **no existen apenas** estudios randomizados destinados a conocer las causas reales y las medidas preventivas de la esofagitis eosinofílica (46-102). En adolescentes y adultos el diagnóstico es aún más complejo y su tratamiento requiere **además corticoides deglutidos o inhibidores de la bomba de protones (5-11)**. La esofagitis eosinofílica afecta a 1 de cada 2500 habitantes tanto en USA como en UE, pero la incidencia está aumentando. Hasta la actualidad ningún tratamiento (dieta, corticoides)

ha dado resultados. Las esofagitis por reflujo mejoran con inhibidores de la bomba de protones pero las debidas a un alérgeno no, y este hecho es determinante en el diagnóstico diferencial (345).

El diagnóstico diferencial con el reflujo es además de clínico, basado en diferentes hallazgos histológicos: en el reflujo hay hiperplasia epitelial, células balonzadas, hiperplasia de células basales, elongación papilar, dilatación de espacios intercelulares que representan edema epitelial, congestión vascular e infiltración linfocitaria, de neutrófilos y eosinófilos, inespecíficos. En la esofagitis eosinofílica se asocia a un evidente infiltrado eosinófilo.. El punto de corte diagnóstico es más de 15 eosinófilos por campo. Estos eosinófilos se concentran en la superficie formando microabscesos. También se puede asociar fibrosis densa y productos de degranulación de los eosinófilos (7).

**La esofagitis eosinofílica es, por tanto, una patología inflamatoria emergente, grave, de origen inmunológico y de difícil diagnóstico etiológico. La alergia alimentaria puede ser su base etiológica pero aún no existe una técnica diagnóstica fiable y libre de riesgos para demostrarlo (46-54).**

**La celíaca** es una enfermedad que afecta preferentemente al intestino pero que presenta también un infiltrado eosinofílico en los estudios anatomopatológicos (58, 75, 78, 113, 183)

La enfermedad celíaca es una entidad también en ascenso (104-207), tanto por su prevalencia como por las dificultades clínicas que plantea su caracterización, sobre todo en adultos, y por los problemas sociosanitarios que comporta su tratamiento con el establecimiento de una dieta de exclusión de gluten de por vida.

La enfermedad celíaca se debe a una intolerancia a las prolaminas de los cereales que contienen gluten. La patogenia de la lesión intestinal es de base inmunológica celular

con un fuerte componente genético, pero también participan componentes de autoinmunidad humoral, con respuestas exacerbadas de clase IgA. Se trata de mecanismos no incluidos dentro de las reacciones inmunológicas de tipo alérgico convencionales. En la lesión típica de la mucosa intestinal con frecuencia aparece un infiltrado de eosinófilos en la lámina propia, junto con linfocitos y células plasmáticas.

Nuestra hipótesis de un nexo de unión entre la enfermedad celíaca y la esofagitis eosinofílica como enfermedades que afectan al sistema inmune de las mucosas digestivas se basó en los siguientes puntos:

1) Un porcentaje de pacientes con esofagitis eosinofílica son también celíacos (344).

2) La lesión histológica de la mucosa intestinal en la enfermedad celíaca es similar a la de la esofagitis eosinofílica y es indistinguible de la que aparece en el intestino en otras intolerancias alimentarias, como en la intolerancia a las proteínas de la leche de vaca (113,183).

3) En los pacientes con asma por inhalación de cereales (asma del panadero) que también tienen alergia digestiva están implicadas respuestas a diferentes alérgenos (11). En estos casos los estudios anatomopatológicos evidencian infiltrado eosinófilo no solo en la mucosa respiratoria, sino también en la mucosa esofágica y en las criptas de la mucosa intestinal.

4) Hemos detectado que un subgrupo de nuestros pacientes celíacos padece también alergia a las proteínas del trigo, lo que puede ser causa de cambios en el patrón de presentación clínica y dificultades para el tratamiento.

La importancia de estas observaciones cobra interés si tenemos en cuenta que la ingesta episódica, inadvertida o voluntaria de cereales con gluten por un sujeto celíaco, aunque indeseable, no desencadena clínica aparente en la mayoría de los pacientes. Sin embargo, sí que lo haría e incluso sería peligrosa si existe un componente alérgico. Parece, pues,

importante que en este grupo de celíacos y por extensión en los pacientes con esofagitis eosinofílica se efectúe un análisis de las proteínas frente a las que se ha perdido la tolerancia inmunológica para dirigir específicamente la restricción dietética y en su caso intentar un tratamiento hiposensibilizante específico y seguro.

**Las técnicas alergológicas de rutina** (pruebas de punción o prick tests) y la inmunodetección de IgE tenían un pobre valor predictivo para alérgenos alimentarios en esofagitis eosinofílica (10, 84,85).

Vimos posible probar la existencia de una respuesta molecular diferente a distintos alérgenos alimentarios, según sea la vía de sensibilización a los mismos, y que se pudieran investigar los epítomos implicados utilizando técnicas de proteómica, en concreto el estudio molecular por microarrays denominado actualmente *component resolved diagnosis* (CRD). Queríamos comprobar si podría ser posible un patrón de respuesta inmune común o diferente, específico de estas enfermedades, aún por dilucidar.

Los estudios de diagnóstico molecular son escasos, pero se sabía que la esofagitis eosinofílica podría ser causada por una hipersensibilidad causada a un antígeno que provoca una respuesta mixta dependiente de IgE, de una cascada de citoquinas y de factores de crecimiento. Sin embargo, la etiología y el porqué de esta respuesta está aumentando su incidencia aún estaba aún por dilucidar (46-102).

La deglución de proteínas de pólenes y endospermo de gramíneas y cereales, y en concreto del trigo, podrían ser algunos de los factores desencadenantes de la respuesta eosinofílica en el esófago. Las pruebas de provocación, sin embargo, pueden resultar peligrosas o incluso estar contraindicadas en este proceso. Las técnicas de provocación con cereales causarían clínica grave en celíacos. Por tanto, la detección de la respuesta IgE frente a los epítomos específicos, bien a nivel local o sistémico, podría ser

determinante para el establecimiento de una terapia dirigida y más eficaz.

Las medidas terapéuticas utilizadas hasta la actualidad en la esofagitis, consiguen mejorar la clínica que produce un grave deterioro de la calidad de vida, pero en muchas ocasiones son difíciles de aplicar. Según comunicación verbal del Dr. J. Barrio, especialista de Digestivo de nuestro centro, de 202 pacientes con EoE a los que se les intruyó en dieta empírica de 6 alimentos fundamentales (trigo, leche, huevo, pescado, soja y frutos secos) sólo 4 lo siguen en la actualidad por la complejidad que entraña seguirla y la desnutrición que les provocaba. Por otra parte la eliminación de alimentos guiada por prick, tenía escasa rentabilidad (345). Tampoco las determinaciones de IgE específica a alimentos ayudaban a dirigir la dieta (85)

Las dilataciones de esófago como hemos comentado, tampoco están exentas de riesgo y son dolorosas (88-102).

Aunque en la celíaca la eliminación del gluten es eficaz, en familias con pocos recursos constituyen un problema comprar sustitutivos por su elevado precio.

Era muy importante completar en enfermos celíacos y con esofagitis un análisis molecular de todas las proteínas implicadas para una restricción dietética más dirigida y si fuese necesario un tratamiento hiposensibilizante específico y seguro.

La técnica de microarrays está basada en la moderna tecnología de los biochips. Es una plataforma de microinmunoensayos que permite determinar, en el panel actual, hasta 112 componentes alergénicos, nativos y recombinantes de aeroalérgenos y alimentos, pudiendo obtener un perfil de sensibilización a alimentos del paciente alérgico de una manera más específica y completa (127-39). **Pensamos que podría utilizarse para valorar la hipersensibilidad alérgica mediada por IgE a diferentes alérgenos alimentarios (nativos y recombinantes) en población afectada de esofagitis eosinofílica y enfermedad celíaca, compararlos con los arrays obtenidos en asma**

**alérgico (que responde aceptablemente a inmunoterapia específica) e intentar encontrar los epítomos responsables de esta respuesta aberrante.**

La mayor utilidad clínica de este estudio sería que si conocemos los epítomos a los que responde cada paciente, podríamos intentar una evitación dietética más dirigida y una terapia hiposensibilizante o inmunomodiladora más específica y precisa.

Por ello el objetivo principal de nuestro estudio fueron valorar hipersensibilidad alérgica mediada por IgE a diferentes alérgenos alimentarios (nativos y recombinantes) en población afectada de esofagitis eosinofílica y celíaca e intentar encontrar los epítomos posiblemente responsables de esta hipersensibilidad en cada paciente.

Tras nuestra investigación hemos comprobado que si es posible medir la hipersensibilidad a alérgenos mediante las técnicas de diagnóstico molecular. El primer grupo de alérgenos con el que se detectaron más positividades fue el grupo 1 de gramíneas al que eran sensibles el 40% de pacientes con EoE+celíaca y el nCyn d1 del *Cynodon dactylon* o grama al que eran sensibles el 53,3% de pacientes con EoE+celíaca.

Estos resultados pueden ser especialmente relevantes si tenemos en cuenta que, en la atmosfera de Valladolid, la presencia de polen de gramíneas representa solamente entre el 10% y el 18% del total de polen anual, sin embargo los alérgenos del grupo 1 de gramíneas (Lol p 1) aparecen en la atmosfera durante un largo periodo de tiempo (abril a julio) y en cantidades importantes (ratio alérgeno/gramíneas = 2,8 pg/polen), duplicando a los alérgenos del grupo 5 de gramíneas (Lol p 5, ratio 1,7pg/polen) y superando en mucho a Pla a 1 (ratio 0,2 pg/polen), alérgeno del polen mayoritario en la ciudad, el plátano de sombra (346). Es decir el aeroalérgeno Lol p 1 representa a priori un gran factor de riesgo para los afectados de asma alérgico y otros problemas respiratorios, como ha sido puesto de manifiesto en estudios ambientales realizados en otras

localidades (Fernández et al. 2011, Rodríguez Rajo et al. 2011) (347).

El n Art v 3 de la artemisia, una proteína perteneciente al grupo de transportadoras de lípidos (LTPs), proteínas muy patogénicas por su resistencia al calor y digestión, fue positivo en el 33,3% de pacientes con EoE+celíaca, seguido del LTPs de avellana y nuez. Los alérgenos alimentarios más prevalentes en pacientes con EoE y celíaca fueron la nuez y avellana (26,6%) y el melocotón (20%). Sólo el array detectó LTPs de trigo (rTri a 14) en celíacos.

Todos estos alérgenos son los mayores representantes de hipersensibilidad alimentaria en nuestra área mediterránea, con lo que podemos, a la vista de nuestros resultados, y aunque parecía lógico, demostrar de forma objetiva que los aeroalérgenos más importantes en nuestra atmósfera y los alimentos que mayormente consumimos son los principales agentes etiológicos de patología ambiental y alimentaria en nuestros pacientes.

La esofagitis eosinofílica además de ser una patología inflamatoria emergente, es grave, su origen inmunológico no está totalmente dilucidado y era de muy difícil diagnóstico etiológico hasta ahora. En los pacientes con EoE los antecedentes atópicos y la sensibilización a aeroalérgenos ha sido evidente, sobre todo a pólenes. Es totalmente conocido que los pólenes tienen reactividad cruzada con alimentos vegetales (348). La hipersensibilidad a estos alimentos vegetales puede ser su base etiológica pero en este trabajo hemos comprobado que los pólenes también pueden causar la lesión inflamatoria en la mucosa faríngea y esofágica, posiblemente al ser deglutidos, como hemos podido ver en las imágenes microscópicas de la mucosa esofágica biopsiada. Los pólenes se tragan además de ser respirados y hemos podido ver pólenes en la mucosa esofágica emitiendo su tubo polínico como en las imágenes de los resultados. También se ha podido demostrar este fenómeno en estudios histológicos de mucosa respiratoria

traqueal y digestiva en modelos experimentales animales. De todas las formas, el mecanismo patogénico exacto de los pólenes en esta enfermedad precisa de nuevos estudios.

Como nos han demostrado las técnicas de arrays las proteínas más implicadas son el grupo 1 de gramíneas y las LTPs (asociadas a clínica grave), seguidos de alérgenos de avellana y nuez. El grupo 1 de gramíneas son  $\beta$ -expansinas, de peso molecular 31-35 KDa, implicadas en la relajación de las membranas celulares vegetales y en el crecimiento de la planta. El Cyn d 1 del *Cynodon dactylon* tiene función antifúngica contra el *claviceps*, fuente de alcaloides (ergonovina y ergonovinina), causantes del síndrome tremorgénico en las bóvidos por consumo de *Cynodon* (349). Esta gramínea es muy prevalente en nuestra área, según diferentes estudios aerobiológicos (346,347)

El evitar los alimentos detectados en el array (avellana, nuez, melocotón...) solo mejora significativamente la evolución de los pacientes con esofagitis (un 81,8% mejoraron con las medidas dietéticas aconsejadas). Sin embargo a los pacientes celíacos que una vez retirado el gluten, se les aconsejó además evitar el melocotón, avellana y nuez por sus resultados positivos en los arrays, refirieron una clara mejoría posterior en sus diferentes molestias abdominales. Este hallazgo tiene la utilidad práctica de que en un celíaco convendría hacer pruebas alérgicas a alimentos pues podrían ser pacientes más proclives a sensibilizarse a otros trofoalérgenos además de al gluten.

Nuestros pacientes han mejorado con dieta de exclusión del alimento implicado e inmunoterapia específica con pólenes en el caso de altos niveles de respuesta a los mismos.

El infiltrado eosinofílico puede también encontrarse en otras enfermedades digestivas inmunológicas con un significado todavía no explicado. En nuestros resultados observamos una comorbilidad muy significativa de la esofagitis con la enfermedad

celíaca, y en las biopsias duodenales es frecuente encontrar también eosinófilos. La asociación con celíaca se ha visto sobre todo en niños donde el riesgo de comorbilidad de ambas enfermedades aumenta de 50 a 75 veces más, pero en nuestro estudio aparece también en adultos. Tras el diagnóstico clínico y anatomopatológico de nuestro pacientes se pudo evidenciar una comorbilidad en el mismo paciente de Esofagitis eosinofílica y celíaca, y entre la EoE y la hipersensibilidad polínica. Se observó entre los pacientes con EoE coexistía de forma significativa un diagnóstico de celíaca  $p < 0.0001$ , (12 pacientes, un 17,9%), pero no demostró asociación con otras enfermedades intestinales.

En la alergia a alimentos se constata, como en nuestros pacientes, una especial incidencia de los alimentos de origen vegetal en pacientes adultos. Cuando se conoce el alimento implicado y se retira la mejoría es evidente pero muchas veces son alimentos ocultos o difíciles de identificar. Los métodos de diagnóstico y tratamiento (potencial inmunoterapia), así como el conocimiento de los mecanismos de sensibilización, desarrollo de síntomas clínicos y reacciones a distintas fuentes alergénicas (varios alimentos y/o pólenes), son complejos y las técnicas de CRD pueden ayudarnos de forma poco lesiva para el paciente.

Pudimos observar en nuestros pacientes con esofagitis una respuesta molecular diferente a distintos alérgenos alimentarios, y también a aeroalérgenos que se pueden deglutir cuando son respirados.

Es posible que la enfermedad celíaca, por la alteración de la barrera mucosa, permita la entrada de moléculas altamente alergénicas y resistentes a la digestión y el cocinado como las LTPs de frutas y frutos secos, también relacionadas con anafilaxias y las expansinas del grupo 1 de pólenes, los más prevalentes en nuestro entorno. Los pacientes celíacos pueden estar ingiriendo estos alimentos vegetales y podría ser esta

hipersensibilidad a los mismos la causa de una mala evolución a pesar de retirar el gluten.

Recientes descubrimientos señalaban a una respuesta de hipersensibilidad retardada, más que una respuesta inmediata en la esofagitis y es probable que así suceda ya que el paciente no responde de una manera inmediata a la agresión en su mucosa esofágica, como respondería la mucosa nasal o bronquial. Es posible que cantidades muy pequeñas y aparentemente toleradas de alérgeno estén provocando una respuesta inflamatoria crónica en la mucosa digestiva. No creemos que la IgG4 sea un elemento patogénico en la enfermedad, sino una reagina bloqueante y protectora, como lo es también en la inmunoterapia específica.

También es posible que los eosinófilos no tengan el papel patogénico que se les atribuye y que actúen defendiendo a la mucosa digestiva de lo que parece ser un parásito que intenta agredirla (el tubo polínico). Todas estas hipótesis necesitan estudios que no son el objeto de esta tesis.

Hemos comprobado también que las técnicas moleculares son más útiles, más sensibles y específicas para detectar sensibilización a proteínas de alimentos. Es decir, comparando el número de resultados positivos de las pruebas diagnósticas utilizadas (arrays vs prick e IgE por CAP), con el array se detectaron de forma significativa ( $p < 0.001$ ) más positividades alérgicas

Nuestro estudio ha sido útil sobre todo para demostrar que el prick test y la detección de IgE específica por métodos de rutina no identifica óptimamente el alimento causal, pero el CRD utilizando una técnica de microarray ha sido una forma útil, simple y no invasiva para el diagnóstico de este tipo de pacientes con sensibilización compleja.

La cuantificación de los anticuerpos IgE tanto frente a componentes alérgicos específicos como a componentes de reactividad cruzada ha contribuido a identificar la

fuente alérgica sensibilizante. Además hemos medido respuesta a otros alérgenos de diferentes orígenes y valorado la respuesta debida a reactividad cruzada con otras proteínas vegetales y animales (profilinas, CCDs, polcalcinas, tropomiosinas..), causantes de reactividad cruzada y que crean problemas de diagnóstico.

Pensamos que los resultados de los arrays han sido de extrema utilidad para una mejor y más específica inmunoterapia en nuestros enfermos con EEO y resultados positivos a pólenes. En el caso de respuestas positivas a un alimento determinado este fue retirado de la dieta de una forma no empírica. En las revisiones endoscópicas de nuestros pacientes tratados hemos evidenciado desaparición del infiltrado eosinófilo pero serán necesarios parámetros de resolución clínica a largo plazo para valorar adecuadamente la eficacia de las medidas tomadas.

En conclusión, las pruebas *in vitro* basadas en componentes alérgicos han sido eficaces para caracterizar con gran detalle los perfiles de sensibilización de los pacientes y tener una base para instaurar una inmunoterapia dirigida y posiblemente eficaz.

Por último, para concluir podemos decir que la enfermedad celíaca, la esofagitis eosinofílica y el asma alérgico son entidades clínicamente distintas, aunque comparten similitud de comportamientos inmuno-histológicas y están relacionadas a respuestas de hipersensibilidad a epítomos que también son potencialmente alérgicos. Existen similitudes de respuesta alérgica en la mucosa respiratoria y digestiva, aunque en la respiratoria este tipo de respuesta suele ser inmediata y en la mucosa digestiva retardada. Existen celíacos que pueden sufrir alergia al trigo y a otros alimentos y aeroalérgenos. La esofagitis eosinofílica puede resultar una enfermedad puente entre ambas. Los estudios moleculares pueden ser una herramienta útil en la tipificación de un subgrupo de pacientes celíacos y de pacientes con esofagitis eosinofílica, que podrían beneficiarse

de terapias desensibilizantes como tratamiento adjuvante a la dieta sin gluten.

## CONCLUSIONES

1. Las mucosas respiratorias y digestivas, por su origen embriológico común y pertenencia al sistema MALT podrían tener respuestas inmunes similares a alérgenos alimentarios y ambientales.
2. Hasta la fecha no se había realizado un análisis molecular o CRD (*component resolved diagnosis*) con alérgenos recombinantes y nativos en esofagitis y celíaca. Esta técnica se ha demostrado más eficiente en estas patologías que las pruebas cutáneas por prick y la determinación de IgE específica.
3. Pacientes con asma ambiental pueden sufrir también daños alérgicos de mucosa digestiva originado por alérgenos comunes. Nuestro estudio añade también posible la coexistencia de una sensibilización alérgica mediada por IgE en pacientes con esofagitis y celíaca.
4. Hemos comprobado que un mismo paciente puede tener enfermedad celíaca y además alergia al gluten, ambas patologías mediadas por respuestas inmunes que en estas enfermedades no son excluyentes. La comorbilidad EoE-celíaca es prevalente (18% pacientes de nuestra serie padecían ambas enfermedades) lo que sugiere en parte mecanismos etiopatogénicos comunes.
5. Hemos encontrado patrones de respuesta molecular a alérgenos similares en asma extrínseco, esofagitis eosinofílica y celíaca, con predominio de hipersensibilidad a alérgenos vegetales (pólenes, frutas, frutos secos).
6. En pacientes con esofagitis eosinofílica hemos podido demostrar una sensibilización a pólenes que son deglutidos, tanto por los datos analíticos, anatomopatológicos, como por la buena respuesta tras inmunoterapia con pólenes.

7. Se evidenció una elevada sensibilización a alimentos vegetales y a aeroalérgenos, en concreto a epítomos concretos de pólenes, que pueden causar la lesión inflamatoria al ser deglutidos. Las proteínas más implicadas son el grupo 1 (expansinas) de pólenes con actividad antifúngica y las LTPs de semillas y frutas (asociadas a clínica grave).
8. Los estudios moleculares han resultado una herramienta útil en la tipificación de un subgrupo de pacientes celíacos y de pacientes con esofagitis eosinofílica, que han podido beneficiarse de terapias desensibilizantes como tratamiento adyuvante a la dieta sin gluten.
9. El análisis molecular por microarrays fue útil en el diagnóstico y tratamiento de nuestros pacientes **y nos permitió hacer una eliminación dietética y una inmunoterapia más dirigida.**
10. . Nuestros pacientes llevan dos años con dieta de exclusión del alimento detectado por CRD e inmunoterapia específica con pólenes en el caso de altos niveles de respuesta a los mismos, con resultados favorables en los tres tipos de patología. En total, un 68% han sido dados de alta.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Watson W. Eosinophilic esophagitis. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2011;10;Suppl 1:S8.
2. Abonia JP, Rotjemberg ME. Eosinophilic esophagitis: Rapidly advancing insights. *R Med Bull* 2011;100:59-72.
3. Shahzad G, Mustacchia P, Frieri M. Role of mucosal inflammation in eosinophilic esophagitis: review of the literature. *Therap Adv Gastroenterol* 2011;4:301-9.
4. Alfadda AA, Storr MA, Shaffer EA. Eosinophilic colitis: epidemiology, clinical features, and current management. *SRN Gastroenterol* 2011; 2011:468073.
5. Alfadda AA, Storr MA, Shaffer EA. Eosinophilic colitis: epidemiology, clinical features and current management, *Curr Opin Gastroenterol* 2011;27:515-22.
6. Masterson JC, Furuta GT, Lee JJ. Update on clinical and immunological features of eosinophilic gastrointestinal disease. *Gastroenterol* 2011;74:323-9.
7. Ensari A. Eosinophilic oesophagitis versus reflux oesophagitis. *Curr Gastroenterol Rep* 2011; 13:426-34.
8. Guandalini S, Newland C. Differentiating food allergies from food intolerance. *Mucosal Immunol* 2011;4:139-47.
9. Mulder DJ, Justinich CJ. Understanding eosinophilic esophagitis: the cellular and molecular mechanisms of an emerging disease. *Clin Mol Allergy* 2010;17:8-16.
10. Kamdar TA, Ditto AM, Bryce PJ. Skin prick testing not reflect the presence of IgE against food allergens in adult eosinophilic esophagitis patients: a case study. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44:663-71.
11. Armentia A, Arranz E, Hernández N, Garrote A, Panzani R, Blanco A. *Allergy*

after inhalation and ingestion of cereals involve different allergens in allergic and celiac disease.

12. Vieths S, Scheurer S, Reindl J, Lüttkopf D, Wangorsch A, Kästner M et al. Optimized allergens extracts and recombinant allergens in diagnostic applications. *Allergy* 2001;56 Supp. 67:78-82.

13. Viera T, Lopes C, Pereira AM, Araújo L, Moreira A, Delgado L. Microarray based IgE detection in poly-sensitized allergic patients with suspected food allergy-an approach in four clinical cases. *Allergologia et Immunopathologia*. 2013.

14. Walker MM, Talley NJ. Clinical value of duodenal biopsies-beyond the diagnosis of coeliac disease. *Pathol Res Pract* 2011; 207:538-44.

15. Thompson JS, Lebwohl B, Reilly NR, Talley NJ, Bhagat G, Green PH. Increased incidence of eosinophilic esophagitis in children and adults with celiac disease. *J Clin Gastroenterol*. 2012 Jan;46(1):e6-e11.

16. Heinzerling L, Mari A, Bergmann KC, et al. The skin prick test - European standards. *Clin Transl Allergy* 2013; 3:3.

17. Song WJ, Lee SM, Kim MH, et al. Histamine and allergen skin reactivity in the elderly population: results from the Korean Longitudinal Study on Health and Aging. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2011; 107:344.

18. de Vos G, Nazari R, Ferastraoar D, et al. Discordance between aeroallergen specific serum IgE and skin testing in children younger than 4 years. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2013; 110:438.

19. Golden DB, Tracy Jm, Freeman TM et al. Negative venom skin test results un oatiens with histories if systemic reaction to a sting *J Allergy Clin Immunol* 2003 112:495

20. Hoffman DR Fatal reactions to hymenoptera stings *Allergy Asthma Proc* 2003;

24:123

21. Hamilton RG, Franklin Adkinson N Jr. In vitro assays for the diagnosis of IgE mediated disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 213.
22. Wide L, Dennich H, Johansson SG. Diagnosis of allergy by an In-vitro test for allergen antibodies. *Lancet* 1967; 2:1105
23. Sampson HA, Ho DG. Relationship between food-specific IgE concentrations and the risk of positive food challenges in children and adolescents. *J Allergy Clin Immunol*. 1997;100(4):444.
24. Simons FE, Frew AJ, Asotegui IJ et al. Risk assessment in anaphylaxis current and future approaches. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120:S2.
25. Kniker WT. Is the choice of allergy skin testing versus in vitro determination of specific IgE no longer a scientific issue? *Ann Allergy* 1989;62:373-4.
26. Thomas WR, Stewart GA, Simpson RJ, et al. Cloning and expression of DNA coding for the major house dust mite allergen Der p 1 in *Escherichia coli*. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1988;85:127-9.
27. Gonzalez-Buitrago JM, Ferreira L, Isidoro-Garcia M, Sanz C, Lorente F, Davila I. Proteomic approaches for identifying new allergens and diagnosing allergic diseases. *Clin Chim Acta* 2007;385:21-7.
28. Chapman MD, Smith AM, Vailes LD, Arruda LK, Dhanaraj V, Pomes A. Recombinant allergens for diagnosis and therapy of allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:409-18.
29. Vrtala S. From allergen genes to new forms of allergy diagnosis and treatment. *Allergy* 2008;63:299-309.
30. Harwanegg C, Hiller R. Protein microarrays for the diagnosis of allergic diseases: state-of-the-art and future development. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2006;38:232-6.

31. Ekins R, Chu F, Biggart E. Fluorescence spectroscopy and its application to a new generation of high sensitivity, multi-microspot, multianalyte, immunoassay. *Clin Chim Acta* 1990;194:91-114.
32. Wiltshire S, O'Malley S, Lambert J, et al. Detection of multiple allergen-specific IgEs on microarrays by immunoassay with rolling circle amplification. *Clin Chem* 2000;46:1990-3.
33. Kim TE, Park SW, Cho NY, et al. Quantitative measurement of serum allergen-specific IgE on protein chip. *Exp Mol Med* 2002;34:152-8.
34. Jahn-Schmid B, Harwanegg C, Hiller R, et al. Allergen microarray: comparison of microarray using recombinant allergens with conventional diagnostic methods to detect allergen-specific serum immunoglobulin E. *Clin Exp Allergy* 2003;33:1443-9.
35. Lebrun SJ, Suquilanda E, Petchpud WN. Development of an individual-specific autoantibody (ISA) protein microarray. *Biotechnol Appl Biochem* 2005;41:85-8.
36. Wohrl S, Vigl K, Zehetmayer S, et al. The performance of a component-based allergen-microarray in clinical practice. *Allergy* 2006;61:633-9.
37. Descotes F, Dessen P, Bringuier PP, et al. Microarray gene expression profiling and analysis of bladder cancer supports the sub-classification of T1 tumours into T1a and T1b stages. *BJU Int*;113:333-42.
38. Granlund H, Adadoyin J, Reininger R, et al. Higher immunoglobulin E antibody levels to recombinant Fel d 1 in cat-allergic children with asthma compared with rhinoconjunctivitis. *Clin Exp Allergy* 2008;38:1275-81.
39. van Ree R, Chapman MD, Ferreira F, et al. The CREATE project: development of certified reference materials for allergenic products and validation of methods for their quantification. *Allergy* 2008;63:310-26.
40. Bufe A, Ziegler-Kirbach E, Stoeckmann E, et al. Efficacy of sublingual swallow

immunotherapy in children with severe grass pollen allergic symptoms: a double-blind placebo-controlled study. *Allergy* 2004;59:498-504.

41. Vrtala S, Focke M, Kopec J, et al. Genetic engineering of the major timothy grass pollen allergen, Phl p 6, to reduce allergenic activity and preserve immunogenicity. *J Immunol* 2007;179:1730-9.

42. Jutel M, Jaeger L, Suck R, Meyer H, Fiebig H, Cromwell O. Allergen-specific immunotherapy with recombinant grass pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:608-13.

43. Weghofer M, Thomas WR, Pittner G, Horak F, Valenta R, Vrtala S. Comparison of purified *Dermatophagoides pteronyssinus* allergens and extract by two-dimensional immunoblotting and quantitative immunoglobulin E inhibitions. *Clin Exp Allergy* 2005;35:1384-91.

44. Linhart B, Hartl A, Jahn-Schmid B, et al. A hybrid molecule resembling the epitope spectrum of grass pollen for allergy vaccination. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:1010-6.

45. Lin J, Renault N, Haas H, et al. A novel tool for the detection of allergic sensitization combining protein microarrays with human basophils. *Clin Exp Allergy* 2007;37:1854-62.

46. Talley NJ. Gut eosinophilia in food allergy and systemic and autoimmune diseases. *Gastroenterol Clin North Am Jun* 2008; 37:307-32.

47. Fulkerson PC, Rothenberg ME. Origin, regulation and physiological function of intestinal eosinophils. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2008; 22:411-23.

48. Aceves SS. Remodeling and fibrosis in chronic eosinophil inflammation. *Dig Dis*. 2014;32(1-2):15-21. doi:

49. Dellon ES. Epidemiology of eosinophilic esophagitis. *Gastroenterol Clin North*

Am. 2014 Jun;43(2):201-18.

50. Bonis PA. The epidemiology and characteristics of eosinophilic esophagitis. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2014 Jan;10(1):56-8.

51. Holvoet S, Blanchard C. Genetic and molecular mechanisms leading to eosinophilic esophagitis. *Rev Esp Enferm Dig*. 2014 Apr;106(4):276-80

52. Wolf WA, Jerath MR, Dellon ES. De-novo onset of eosinophilic esophagitis after large volume allergen exposures. *J Gastrointestin Liver Dis*. 2013 Jun;22(2):205-8.

53. Moawad FJ, Veerappan GR, Lake JM, Maydonovitch CL, Haymore BR, Kosisky SE, Wong RK. Correlation between eosinophilic oesophagitis and aeroallergens. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010 Feb 15;31(4):509-15.

54. Dobbins JW. Eosinophilic gastroenteritis with esophageal involment. *Gastroenterology*. 1977;72: 1312-6.

55. Lightdale JR, Gremse DA. Gastroesophageal reflux: management guidance for the pediatrician. *Pediatrics*. 2013 May;131(5):e1684-95

56. Tolaymat N, Chapman DM. Gastroesophageal reflux disease in children older than two years of age. *W V Med J*. 1998 Jan-Feb;94(1):22-5.

57. Brown LF, Goldman H, Antonioli DA. Intraepitelial eosinophils in endoscopic biopsies of adults with reflux esophagitis. *Am J Surg Pathol*. 1984;8:899-905.

58. Cello JP. Eosinophilic gastroenteritis a complex disease entity. *Am J Med*. 1979;67:1097-104.

59. Attwood SE, Smyrk TC, Demeester IR, Jones JB. Esophageal eosinophilia with dysphagia. A distinct clinicopathologic syndrome. *Dig Dis Sci*. 1993;38:109-16.

60. Fox VL, Nurko S, Furnta GT. Eosinophilic esophagitis: I t's not just kid's stuff. *Gastrointest Endosc*. 2002;56:260-70.

61. Sant'Anna AM, Rolland S, Fournet JC, Yazbeck S, Drouin E. Eosinophilic

esophagitis in children: symptoms, histology and pH probe results. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004 Oct;39(4):373-7

62. Desai TK, Stecevic V, Chang C-H, Goldstein NS, Badizadegan K, Furuta GT. Association of eosinophilic inflammation with esophageal food impaction in adults. *Gastrointest Endosc.* 2005;61:795-801.

63. Liacouras e. Eosinophilic esophagitis in children and adults. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003;37:23S-8S.

64. Jackson WE, Mehendiratta V, Palazzo J, Dimarino AJ, Quirk DM, Cohen S. Boerhaave's syndrome as an initial presentation of eosinophilic esophagitis: a case series. *Ann Gastroenterol.* 2013;26(2):166-169.

65. Mishra A, Hogan SP, Brandt EB, Rothenberg ME. An etiological role for aeroallergens and eosinophils in experimental esophagitis. *J Clin Invest.* 2001; 107:83-90.

66. Lucendo Villarin AJ et al.. Esofagitis eosinofílica revisión de los conceptos fisiopatológicos y clínicos actuales. *Gastroenterol Hepatol.* 2007;30(4):234-43

67. Martín ST, Collins CG, Fitzgibbon J, Lee G, Quigley EM, O'Sullivan GO. Gastric motor dysfunction: is eosinophilic mural gastritis a causative factor? *Eur J Gastroenterol HepatoL* 2005;17:983-6.

68 Mavi P, Rajavelu P, Rayapudi M, Paul RJ, Mishra A. Esophageal functional impairments in experimental eosinophilic esophagitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2012 Jun 1;302(11):G1347-55

69. Moawad FJ, Maydonovitch CL, Veerappan GR, Bassett JT, Lake JM, Wong RK. Esophageal motor disorders in adults with eosinophilic esophagitis. *Dig Dis Sci.* 2011 May;56(5):1427-31

70. Nurko S, Rosen R, Furuta GT. Esophageal dysmotility in children with

eosinophilic esophagitis: a study using prolonged esophageal manometry. *Am J Gastroenterol*. 2009 Dec;104(12):3050-7.

71. Dellon ES, Speck O, Woodward K, Covey S, Rusin S, Gebhart JH, Chen X, Woosley JT, Shaheen NJ. Markers of Eosinophilic Inflammation for Diagnosis of Eosinophilic Esophagitis and Proton Pump Inhibitor-Responsive Esophageal Eosinophilia: A Prospective Study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014 Jun 30 doi: 10.1016/j.cgh.2014.06.019.

72. Merwat SN, Spechler SJ. Might the use of acid-suppressive medications predispose to the development of eosinophilic esophagitis? *Am J Gastroenterol* 2009;104:1897–1902.

73. Jensen ET, Kappelman MD, Kim HP, et al. Early life exposures as risk factors for pediatric eosinophilic esophagitis: a pilot and feasibility study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013;57:67-71.

74. Jensen ET, Hoffman K, Shaheen NJ, et al. Esophageal eosinophilia is increased in rural areas with low population density: results from a national pathology database. *Am J Gastroenterol* 2014;109:668–675.

75. Jensen ET, Martin CF, Shaheen NJ, et al. High prevalence of co-existing autoimmune conditions among patients with eosinophilic esophagitis (abstr Su1852). *Gastroenterology* 2013;144(suppl 1):S-491.

76. Bonis PA. Putting the puzzle together: epidemiological and clinical clues in the etiology of eosinophilic esophagitis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2009;29:41–52.

77. Dellon E. S. Liacouras C.A. Advances in clinical management of Eosinophilic Esophagitis *Gastroenterology* 2014. 1-17

78. Pellicano R, De Agellis C, Ribaldones D,G, Update on celiac disease and Eosinophilic Esophagitis. *Nutrients* 2013. 5, 3329-3336.

79. Dranove JE, Horn DS, Davis MA, et al. Predictors of response to proton pump inhibitor therapy among children with significant esophageal eosinophilia. *J Pediatr* 2009;154:96–100.
80. Sayej WN, Patel R, Baker RD, et al. Treatment With highdose proton pump inhibitors helps distinguish eosinophilic esophagitis from noneosinophilic esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009;49:393–399.
81. Vazquez-Elizondo G, Ngamruengphong S, Khrisna M, et al. The outcome of patients with oesophageal eosinophilic infiltration after an eight-week trial of a proton pump inhibitor. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;38:1312–1319.
82. Mewart SN, Spechler SJ Might the use of acid supressive medications predispose to the development of eosinophilic esophagitis? *Am J Gastroenterol*. 2009 Aug; 104 (8): 1987-902
83. Lucendo AJ, Arias A, Tenias JM Relation between eosinophilic esophagitis and oral immunotherapy for food allergy: a systematic review with meta-analysis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2014 Sep 9 Pii: S10811206(14)00557-2.
84. Ishimura N, Furuta K, Sato S, Limited role of allergy testing in patients with eosinophilic gastrointestinal disorders *J Gastroenterol Hepatol* 2013 Aug; 28(8): 1306-13
85. Kambdar TA, Ditto AM Skin prick testing does not reflect the presence of IgE against food allergens in adult eosinophilic esophagitis patients: a case study *Clin Mol Allergy* 2010 Nov 17;8:16
86. Kagalwalla AF, Akhtar N, Woodruff SA, et al. Eosinophilic esophagitis: epithelial mesenchymal transition contributes to esophageal remodeling and reverses with treatment. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:1387–1396.e7.
87. Liacouras CA, Wenner WJ, Brown K, et al. Primary eosinophilic esophagitis in

children: successful treatment with oral corticosteroids. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998;26:380–385.

88. Faubion WA Jr, Perrault J, Burgart LJ, et al. Treatment of eosinophilic esophagitis with inhaled corticosteroids. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998;27:90–93.

89. Gupta SK, Collins MH, Lewis JD, et al. Efficacy and safety of oral budesonide suspension (OBS) in pediatric subjects with eosinophilic esophagitis (EoE): results from the double-blind, placebo-controlled PEER study. *Gastroenterology* 2011;140(suppl 1):S-179

90. Lindberg GM, Van Eldik R, Saboorian MH. A case of herpes esophagitis after fluticasone propionate for eosinophilic esophagitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008;5:527–530.

91. Spergel JM, Rothenberg ME, Collins MH, et al. Reslizumab in children and adolescents with eosinophilic esophagitis: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129:456–463, 463.e1–3.

92. Fang JC, Hilden K, Gleich GJ, et al. A pilot study of the treatment of eosinophilic esophagitis with omalizumab (abstr Sa11143). *Gastroenterology* 2011;140(suppl 1): S-235.

93. Straumann A, Bussmann C, Conus S, et al. Anti-TNFalpha (infliximab) therapy for severe adult eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:425–427.

94. Lucendo AJ, De Rezende LC, Jimenez-Contreras S, et al. Montelukast was inefficient in maintaining steroidinduced remission in adult eosinophilic esophagitis. *Dig Dis Sci* 2011;56:3551–3558

95. Netzer P, Gschossmann JM, Straumann A, et al. Corticosteroid- dependent eosinophilic oesophagitis: azathioprine and 6-mercaptopurine can induce and maintain long-term remission. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19:865–869.

96. Kagalwalla AF, Akhtar N, Woodruff SA, et al. Eosinophilic esophagitis: epithelial mesenchymal transition contributes to esophageal remodeling and reverses with treatment. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:1387–1396.e7.
97. Arias A, Gonzalez-Cervera J, Tenias JM, et al. Efficacy of dietary interventions for inducing histologic remission in patients with eosinophilic esophagitis: a systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology* 2014;146: 1639–1648
98. Markowitz JE, Spergel JM, Ruchelli E, et al. Elemental diet is an effective treatment for eosinophilic esophagitis in children and adolescents. *Am J Gastroenterol* 2003; 98:777–782.
99. Spergel JM, Andrews T, Brown-Whitehorn TF, et al. Treatment of eosinophilic esophagitis with specific food elimination diet directed by a combination of skin prick and patch tests. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 95:336–343.
100. Lucendo AJ, Arias A, Gonzalez-Cervera J, et al. Empiric 6-food elimination diet induced and maintained prolonged remission in patients with adult eosinophilic esophagitis: a prospective study on the food cause of the disease. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:797–804
101. Kaplan M, Mutlu EA, Jakate S, et al. Endoscopy in eosinophilic esophagitis: “feline” esophagus and perforation risk. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2003;1:433–437
102. Bohm ME, Richter JE. Review article: oesophageal dilation in adults with eosinophilic oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;33:748–757.
103. De Paz Arranz S, Pérez Montero A, Remon LZ, Molero MI. Allergic contact urticaria to oatmeal. *Allergy* 2002; 57: 1215.
104. Anderson CM, Frazer AC, French JM, Gerrard J, Sammonds H, Smellie JM. Coeliac disease: gastro-intestinal studies and the effect of dietary wheat flour. *Lancet* 1952; 1: 836-42.

105. Dicke, Weijers HA, Van der Kamer JH. Coeliac disease II. *Acta Paediatr* 1953; 42: 34-42
106. Hekkens WT, Haex AJ, Whillighagen RGJ. En Booth cc, Dowling H (eds.). *Coeliac disease*. Edimburgo: Churchill Livingstone; 1970
107. Kendall MJ, Cox Ps, Scheider W, Hawkins CF. Gluten subfractions in celiac disease. *Lancet* 1972; 2: 1065.
108. Jabri B, Kasarda DD, Green PH. Innate and adaptive immunity: the yin and yang of celiac disease. *Immunol Rev* 2005; 206: 219-231
109. Sollid LM. Celiac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat Rev Immunol* 2002 Sep; 2(9): 647-55.
110. Baldo BA, Wrigley CW. IgE antibodies to wheat flour components. Studies with sera from subjects with baker's asthma or coeliac condition. *Clinical Allergy* 1978; 9: 109-124.
111. McGough N, Cummings JH. Coeliac disease: a diverse clinical syndrome caused by intolerance of wheat, barley and rye. *Proc Nutr Soc* 2005; 64: 434-50
112. Chehade M, Mayer L. Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. *J Allergy Clin Immunol*. 2005 Jan;115(1):3-12;
113. Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol*. 2003 Apr;3(4):331-41.
114. Finkelman FD, Lees A, Birnbaum R, Gause WC, Morris SC. Dendritic cells can present antigen in vivo in a tolerogenic or immunogenic fashion. *J Immunol*. 1996 Aug 15;157(4):1406-14.
115. Viney JL, Mowat AM, O'Malley JM, Williamson E, Fanger NA. Expanding dendritic cells in vivo enhances the induction of oral tolerance. *J Immunol*. 1998 Jun 15;160(12):5815-25.

116. La Cava A, Van Kaer L, Fu-Dong-Shi. CD4+CD25+ Tregs and NKT cells: regulators regulating regulators. *Trends Immunol* 2006;27:322-7.
117. Kim HJ, Hwang SJ, Kim BK, Jung KC, Chung DH. NKT cells play critical roles in the induction of oral tolerance by inducing regulatory T cells producing IL-10 and transforming growth factor beta, and by clonally deleting antigen-specific T cells. *Immunology* 2006;118:101-11
118. Dippold W, Wittig B, Schwaeble W, Mayet W, Meyer zum Büschenfelde KH. Expression of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1, CD54) in colonic epithelial cells. *Gut*. 1993 Nov;34(11):1593-7.
119. Bloom S, Simmons D, Jewell DP. Adhesion molecules intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), ICAM-3 and B7 are not expressed by epithelium in normal or inflamed colon. *Clin Exp Immunol*. 1995 Jul;101(1):157-63.
120. Marsh MN, Loft DE, Garner VG, Gordon D. Time dose responses of celiac mucosae to graded oral challenges with Frazer's fraction III of gliadin. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1992; 4: 667-73.
121. Bagat G, Naiyer AJ, Shah JG, Harper J, Jabri B, Wang TC. Small intestinal CD8+TCRgd+NKG2A+ intraepithelial lymphocytes have attributes of regulatory cells in patients with celiac disease. *J Clin Invest* 2008; 118: 281-93.
122. Oberhuber G, bodingbauer M, Mosberger I, Stottle M, Vogelsong H. High proportion of granzyme B-positive (activated) intraepithelial and lamina propria lymphocytes in lymphocytic gastritis. *Am J Surg Pathol* 1998; 22: 450-8.
123. Cellier C, Cervoni JP, Patey N, Leborgne M, Marteau P, Laudi B. Gluten free diet induces regression of T-cell activation in the rectal mucosa of patients with celiac disease. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 1527-30.
124. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang G. The histopathology of celiac disease:

time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 1185-94.

125. Boismenu R, Havran WL. Modulation of epithelial cell growth by intraepithelial gamma delta T cells. *Science* 1994; 266:1253-5.

126. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity (“celiac sprue”). *Gastroenterology* 1992; 102 (1): 330-354.

127. Marsh MN. Studies of intestinal lymphoid tissue XV. Histopathologic features suggestive of cell-mediated reactivity in jejunal mucosae of patients with dermatitis herpetiformes. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1989; 416:125-32.

128. Daum S, Cellier C, Mulder CJ. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005. Jun;19(3):413-24

129. Green PH, Cellier C. Celiac Disease. *N Eng J Med* 2007; 357 (17): 1731-43

130. Riestra S, Fernández E, Rodrigo L, Garcia S, Ocio G. Prevalence of Coeliac disease in the general population of northern Spain. Strategies of serologic screening. *Scand J Gastroenterol*. 2000 Apr;35(4):398-402.

131. Castaño L, Blarduni E, Ortiz L, Núñez J, Bilbao JR, Rica I, Martul P, Vitoria JC. Prospective population screening for celiac disease: high prevalence in the first 3 years of life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004 Jul;39(1):80-4.

132. García Novo MD, Garfía C, Acuña Quirós MD, Asensio J, Zancada G, Barrio Gutiérrez S, Manzanares J, Solís Herruzo JA. Prevalence of celiac disease in apparently healthy blood donors in the autonomous community of Madrid *Rev Esp Enferm Dig*. 2007 Jun;99(6):337-42.

133. Schapira M, Maisin JM, Ghilain JM, De Maeght S, Deltenre P, Henrion J. Epidemiology of coeliac disease. *Acta Gastroenterol Belg* 2003; 66(3):234-6.

134. Hill I, Fasano A, Schwartz R, Counts D, Glock M, Horvath K. The prevalence of celiac disease in at-risk groups of children in the United States. *J Pediatr*. 2000 Jan;136(1):86-90.
135. Cataldo F, Montalto G. Celiac disease in the developing countries: a new and challenging public health problem. *World J Gastroenterol*. 2007 Apr 21;13(15):2153-9.
136. Catassi C, Räscht IM, Fabiani E, Rossini M, Bordicchia F, Candela F, Coppa GV, Giorgi PL. Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. *Lancet*. 1994 Jan 22;343(8891):200-3
137. Poole JA, Barriga K, Leung DY, Hoffman M, Eisenbarth GS, Rewers M, Norris JM. Timing of initial exposure to cereal grains and the risk of wheat allergy. *Pediatrics* 2006; 117: 2175-82.
138. Cataldo F, Montalto G. Celiac disease in the developing countries: a new and challenging public health problem. *World J Gastroenterol*. 2007 Apr 21;13(15):2153-9.
139. Catassi C, Cobellis G. Coeliac disease epidemiology is alive and kicking, especially in the developing world *Dig Liver Dis*. 2007 Oct;39(10):908-10.
140. Rostami K, Malekzadeh R, Shahbazkhani B, Akbari MR, Catassi C. Coeliac disease in Middle Eastern countries: a challenge for the evolutionary history of this complex disorder? *Dig Liver Dis*. 2004 Oct;36(10):694-7.
141. Malekzadeh R, Sachdev A, Fahid Ali A. Coeliac disease in developing countries: Middle East, India and North Africa. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2005 Jun;19(3):351-8.
142. Catassi C. El mapa mundial de la enfermedad celíaca. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2005;35:46-55
143. Louka AS, Sollid LM. HLA in celiac disease: unravelling the complex genetics of a complex disorder. *Tissue Antigens* 2003; 61 (2): 105-17

144. Arranz E, Garrote JA. HLA en la enfermedad celíaca. *An Pediatr Contin* 2004; 2 (3): 163-6
145. Vader LW, Stepniak DT, Bunnik EM, Mearin L, Thompson A, van Rood JJ. Characterization of cereal toxicity for celiac disease patients based on protein homology in grains. *Gastroenterology* 2003; 125: 1105-13
146. Olerup O, Aldener A, Fogdell A, HLA-DQB1 and DQA1 typing by PCR amplification with séquence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hour. *Tissue Antigens* 1993; 41: 119-134.
147. Marqués Vals T, Vilar Escrigas P, Tondo Colomer M, Hernández García M, Cusi Sánchez V, Ugarriza Izaguirra S, Farré Masip C. Acerca de 475 familias con uno, dos o tres pacientes celíacos. I Congreso Nacional de Laboratorio Clínico. Sevilla 2007. Comunicación 103. p 27
148. Katz J, Kantor FS, Herskovic T. Intestinal antibodies to wheat fractions in celiac disease. *Ann Intern Med* 1968; 69 (6): 1149-53
149. Arranz E, Blanco A, Alonso M, Calvo C, Tellería J, Guisasola J. IgA1 antigliadin antibodies are the most specific in children with Coeliac Disease. *J Clin Nutr Gastroenterol* 1986; 1: 291-5
150. Green PH, Rostami K, Marsh MN. Diagnosis of coeliac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005; 19 (3): 389-400.
151. Agardh D. Antibodies against synthetic deamidated gliadin peptides and tissue transglutaminase for the identification of childhood celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5(11): 1276-81.
152. Rizzetto M, Doniach D. Types of reticulín antibodies detected in human sera by immunofluorescence. *J Clin Pathol* 1973; 26 (11): 841-51.
153. Unsworth DJ, Holborow EJ, Does the reticulín binding property of cereal

proteins demonstrable in vitro have pathogenetic significance for coeliac disease?

154. Maki M, Hallstrom o, Vesikari T, Visakorpi JK. Evaluation of a serum IgA-class reticulin antibody test for the detection of childhood celiac disease. *J Pediatr* 1984; 105 (6): 901-5.
155. Farrell R, Kelly C. Diagnosis of celiac sprue. *Am J Gastroenterol* 2002; 96: 3237-46.
156. Rostom A, Dube C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C. The diagnostic accuracy of serologic test for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterology* 2005; 128 (Suppl 1). 38-46
157. Amara W, Husebekk A. Improved method for serological testing in celiac disease, IgA anti-endomysium antibody test: a comparison between monkey oesophagus and human umbilical cord as substrate in indirect immunofluorescence test. *Scand J Clin Lab Invest* 1998; 58(7): 547-54.
158. Arentz-Hansen H, Korner R, Molberg O, Quarsten H, Vader W, Kooy YMC, et al. The intestinal T cell response to a-gliadin in adult celiac disease is focused on a single deaminated glutamine targeted by tissue transglutaminase. *J Exp Med* 2000; 191: 603-612
159. Jabri B, Sollid LD Mechanism of disease: immunopathogenesis of celiac disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006; 3(9): 516-525.
160. Clemente MG, De Virgiliis S, Kang JS, Macatagney R, Musu MP, Di Pierro MR et al. Early effects of gliadina on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function. *Gut* 2003; 52 (2): 218-223
161. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997; 3(7): 797-801.

162. Carroccio A, Vitale G, Di Prima L, Chifari N, Napoli S, La Russa C. Comparison of anti-transglutaminase ELISAs and an anti-endomysial antibody assay in the diagnosis of celiac disease: a prospective study. *Clin Chem* 2002; 48 (9): 1546-50
163. Abrams JA, Brar P, Diamond B, Róterdam H, Green PH. Utility in clinical practice of immunoglobulin A anti-tissue transglutaminase antibody for the diagnosis of celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4(6): 726-30
164. Rostami K, Kerckhaert JP, Tiemessen R, Meijer JW, Mulder CJ. The relationship between anti-endomysium antibodies and villous atrophy in coeliac disease using both monkey and human substrate. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11 (4): 439-42.
165. Liu E, Lee HS, Aronsson CA, et al. Risk of pediatric celiac disease according to HLA haplotype and country. *N Engl J Med* 2014; 371:42.
166. Kagnoff MF, Paterson YJ, Kumar PJ, et al. Evidence for the role of a human intestinal adenovirus in the pathogenesis of coeliac disease. *Gut* 1987; 28:995.
167. Vriezinga SL, Auricchio R, Bravi E, et al. Randomized feeding intervention in infants at high risk for celiac disease. *N Engl J Med* 2014; 371:1304.
168. Lionetti E, Castellaneta S, Francavilla R, et al. Introduction of gluten, HLA status, and the risk of celiac disease in children. *N Engl J Med* 2014; 371:1295.
169. Biesiekierski JR, Newnham ED, Irving PM, et al. Gluten causes gastrointestinal symptoms in subjects without celiac disease: a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Am J Gastroenterol* 2011; 106:508.
170. Biesiekierski JR, Peters SL, Newnham ED, et al. No effects of gluten in patients with self-reported non-celiac gluten sensitivity after dietary reduction of fermentable, poorly absorbed, short-chain carbohydrates. *Gastroenterology* 2013; 145:320.
171. Francavilla R, Cristofori F, Castellaneta S, et al. Clinical, serologic, and

- histologic features of gluten sensitivity in children. *J Pediatr* 2014; 164:463.
172. Vazquez-Roque MI, Camilleri M, Smyrk T, et al. A controlled trial of gluten-free diet in patients with irritable bowel syndrome-diarrhea: effects on bowel frequency and intestinal function. *Gastroenterology* 2013; 144:903.
173. Husby S, Murray JA. Gluten sensitivity: celiac lite versus celiac like. *J Pediatr* 2014; 164:436.
174. Mubarak A, Gmelig-Meyling FH, Wolters VM, et al. Immunoglobulin G antibodies against deamidated-gliadin-peptides outperform anti-endomysium and tissue transglutaminase antibodies in children <2 years age. *APMIS* 2011; 119:894.
175. Murch S, Jenkins H, Auth M, et al. Joint BSPGHAN and Coeliac UK guidelines for the diagnosis and management of coeliac disease in children. *Arch Dis Child* 2013; 98:806.
176. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, et al. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2013; 108:656.
177. Sandström O, Rosén A, Lagerqvist C, et al. Transglutaminase IgA antibodies in a celiac disease mass screening and the role of HLA-DQ genotyping and endomysial antibodies in sequential testing. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 57:472.
178. Mubarak A, Gmelig-Meyling FH, Wolters VM, et al. Immunoglobulin G antibodies against deamidated-gliadin-peptides outperform anti-endomysium and tissue transglutaminase antibodies in children <2 years age. *APMIS* 2011; 119:894.
179. Barbato M, Maiella G, Di Camillo C, et al. The anti-deamidated gliadin peptide antibodies unmask celiac disease in small children with chronic diarrhoea. *Dig Liver Dis* 2011; 43:465.
180. Bonamico M, Mariani P, Thanasi E, et al. Patchy villous atrophy of the duodenum in childhood celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38:204.

181. Mubarak A, Wolters VM, Gerritsen SA, et al. A biopsy is not always necessary to diagnose celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 52:554.
182. Kurppa K, Salminiemi J, Ukkola A, et al. Utility of the new ESPGHAN criteria for the diagnosis of celiac disease in at-risk groups. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54:387.
183. Stewart MJ, Shaffer E, Urbanski SJ, et al. The association between celiac disease and eosinophilic esophagitis in children and adults. *BMC Gastroenterol* 2013; 13:96.
184. Aydogdu S, Cakir M, Yuksekkaya HA, et al. Helicobacter pylori infection in children with celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43:1088.
185. Virta LJ, Kolho KL. The risk of contracting pediatric inflammatory bowel disease in children with celiac disease, epilepsy, juvenile arthritis and type 1 diabetes--a nationwide study. *J Crohns Colitis* 2013; 7:53.
186. Crowe SE. In the clinic. Celiac disease. *Ann Intern Med* 2011; 154:ITC5.
187. Virta LJ, Kolho KL. The risk of contracting pediatric inflammatory bowel disease in children with celiac disease, epilepsy, juvenile arthritis and type 1 diabetes--a nationwide study. *J Crohns Colitis* 2013; 7:53.
188. Catassi C, Fabiani E, Iacono G, et al. A prospective, double-blind, placebo-controlled trial to establish a safe gluten threshold for patients with celiac disease. *Am J Clin Nutr* 2007;85:160–166.
189. Hall NJ, Rubin G, Charnock A. Systematic review: adherence to a gluten-free diet in 492 adult patients with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;30:315–330
190. Shah S, Akbari M, Vanga R, et al. Patient perception that treatment burden is high in celiac disease compared to other common conditions. *Am J Gastroenterol*.

Forthcoming.

191. Lanzini A, Lanzarotto F, Villanacci V, et al. Complete recovery of intestinal mucosa occurs very rarely in adult coeliac patients despite adherence to gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;29:1299–1308.
192. Ilus T, Lähdeaho ML, Salmi T, et al. Persistent duodenal intraepithelial lymphocytosis despite a long-term strict gluten-free diet in celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2012;107:1563–1569.
193. Schuppan D, Junker Y, Barisani D. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology* 2009; 137:1912–1933.
194. Kelly CP, Green PH, Murray JA, et al. Larazotide acetate in patients with coeliac disease undergoing a gluten challenge: a randomised placebo-controlled study. Larazotide Acetate Celiac Disease Study Group. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;37:252–262.
195. Tack GJ, van de Water JM, Bruins MJ, et al. Consumption of gluten with gluten-degrading enzyme by celiac patients: a pilot-study. *World J Gastroenterol* 2013;19:5837–5847.
196. Daveson AJ, Jones DM, Gaze S, et al. J. Effect of hookworm infection on wheat challenge in celiac disease– a randomised double-blinded placebo controlled trial. *PLoS One* 2011;6:e17366.
197. Lähdeaho ML, Kaukinen K, Laurila K, et al. Glutenase ALV003 attenuates gluten-induced mucosal injury in patients with celiac disease. *Gastroenterology* 2014; 146:1649–1658.
198. Percentage of U.S. Adults Trying to Cut Down or Avoid Gluten in Their Diets Reaches New High in 2013, Reports NPD. Available at: <https://www.npd.com/wps/portal/npd/us/news/press-releases/percentage-of-us-adults->

trying-to-cut-down-or-avoid-gluten-in-their-diets-reaches-new-high-in-2013-reports-  
npd/. Accessed June 1 2014.

199. Aziz I, Lewis NR, Hadjivassiliou M, Winfield SN, Rugg N, Kelsall A, et al. A UK study assessing the population prevalence of self-reported gluten sensitivity and referral characteristics to secondary care. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2014;26:33-9.
200. Volta U, De Giorgio R. New understanding of gluten sensitivity. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012;9:295-9.
201. Catassi C, Bai JC, Bonaz B, Bouma G, Calabro A, Carroccio A, Castillejo G, et al. Non-celiac gluten sensitivity: the new frontier of gluten related disorders. *Nutrients* 2013;5:3839-3853
202. Carroccio A, Mansueto P, Iacono G, Soresi M, D'Alcamo A, Cavataio F, et al. Non-celiac wheat sensitivity diagnosed by double-blind placebo-controlled challenge: exploring a new clinical entity. *Am J Gastroenterol* 2012;107:1898-906.
203. Wahnschaffe U, Ullrich R, Riecken EO, Schulzke JD. Celiac disease-like abnormalities in a subgroup of patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2001;121:1329-38.
204. Molina-Infante J, Santolaria S, Fernandez-Bañares F, Montoro M, Esteve M. Lymphocytic enteropathy, HLA DQ2/DQ8 genotype and wheat-dependent symptoms: non-celiac wheat hypersensitivity or Marsh I celiac disease?. *Am J Gastroenterol* 2013;108:451.
205. Staudacher HM, Irving MN, Lme MC, Whelan K. Mechanisms and efficacy of dietary FODMAP restriction in IBS. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;11:256-66.
206. Vazquez-Roque MI, Camilleri M, Smyrk T, Murray JA, Marietta E, O'Neill J, Carlson P, Lamsam J, Janzow D, Eckert D, Burton D, Zinsmeister AR, et al. A controlled trial of gluten-free diet in patients with irritable bowel syndrome-diarrhea:

- effects on bowel frequency and intestinal function. *Gastroenterology* 2013;144:903-911.
207. Bernardo D, Garrote JA, Fernandez-Salazar L, Riestra S, Arranz E. Is gliadin really safe for non-coeliac individuals? Production of interleukin 15 in biopsy culture from non-coeliac individuals challenged with gliadin peptides. *Gut* 2007;56:889-90.
208. National Asthma Education and Prevention Program: Expert panel report II: Guidelines for the diagnosis and management of asthma. National Heart, Lung, and Blood Institute (NIH publication no. 97-4051), Bethesda, MD 1997.
209. Moore WC, Meyers DA, Wenzel SE, et al. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181:315.
210. Liu MC, Hubbard WC, Proud D, et al. Immediate and late inflammatory responses to ragweed antigen challenge of the peripheral airways in allergic asthmatics. Cellular, mediator, and permeability changes. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144:51.
211. Riccio MM, Proud D. Evidence that enhanced nasal reactivity to bradykinin in patients with symptomatic allergy is mediated by neural reflexes. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97:1252.
212. Peebles RS Jr, Permutt S, Togias A. Rapid reversibility of the allergen-induced pulmonary late-phase reaction by an intravenous beta2-agonist. *J Appl Physiol* (1985) 1998; 84:1500.
213. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med* 1990; 323:1033.
214. Wong CK, Cheung PF, Ip WK, Lam CW. Intracellular signaling mechanisms regulating toll-like receptor-mediated activation of eosinophils. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 37:85.
215. Brightling CE, Bradding P, Symon FA, et al. Mast-cell infiltration of airway

smooth muscle in asthma. *N Engl J Med* 2002; 346:1699.

216. Mikhak Z, Fukui M, Farsidjani A, et al. Contribution of CCR4 and CCR8 to antigen-specific T(H)2 cell trafficking in allergic pulmonary inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123:67.

217. Xue L, Gyles SL, Wetley FR, et al. Prostaglandin D2 causes preferential induction of proinflammatory Th2 cytokine production through an action on chemoattractant receptor-like molecule expressed on Th2 cells. *J Immunol* 2005; 175:6531.

218. Gyles SL, Xue L, Townsend ER, et al. A dominant role for chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on T helper type 2 (Th2) cells (CRTH2) in mediating chemotaxis of CRTH2+ CD4+ Th2 lymphocytes in response to mast cell supernatants. *Immunology* 2006; 119:362.

219. Zhu Z, Homer RJ, Wang Z, et al. Pulmonary expression of interleukin-13 causes inflammation, mucus hypersecretion, subepithelial fibrosis, physiologic abnormalities, and eotaxin production. *J Clin Invest* 1999; 103:779.

220. Ingram JL, Kraft M. IL-13 in asthma and allergic disease: asthma phenotypes and targeted therapies. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130:829.

221. Borish LC, Nelson HS, Lanz MJ, et al. Interleukin-4 receptor in moderate atopic asthma. A phase I/II randomized, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160:1816.

222. Borish LC, Nelson HS, Corren J, et al. Efficacy of soluble IL-4 receptor for the treatment of adults with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107:963.

223. Corren J, Busse W, Meltzer EO, et al. A randomized, controlled, phase 2 study of AMG 317, an IL-4Ralpha antagonist, in patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181:788.

224. Kips JC, O'Connor BJ, Langley SJ, et al. Effect of SCH55700, a humanized anti-human interleukin-5 antibody, in severe persistent asthma: a pilot study. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167:1655.
225. Flood-Page P, Swenson C, Faiferman I, et al. A study to evaluate safety and efficacy of mepolizumab in patients with moderate persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176:1062.
226. Nair P, Pizzichini MM, Kjarsgaard M, et al. Mepolizumab for prednisone-dependent asthma with sputum eosinophilia. *N Engl J Med* 2009; 360:985.
227. Haldar P, Brightling CE, Hargadon B, et al. Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma. *N Engl J Med* 2009; 360:973.
228. Pavord ID, Korn S, Howarth P, et al. Mepolizumab for severe eosinophilic asthma (DREAM): a multicentre, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2012; 380:651.
229. Castro M, Mathur S, Hargreave F, et al. Reslizumab for poorly controlled, eosinophilic asthma: a randomized, placebo-controlled study. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 184:1125.
230. Vijayanand P, Seumois G, Pickard C, et al. Invariant natural killer T cells in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2007; 356:1410.
231. Redrup AC, Howard BP, MacGlashan DW Jr, et al. Differential regulation of IL-4 and IL-13 secretion by human basophils: their relationship to histamine release in mixed leukocyte cultures. *J Immunol* 1998; 160:1957.
232. Hammad H, Chieppa M, Perros F, et al. House dust mite allergen induces asthma via Toll-like receptor 4 triggering of airway structural cells. *Nat Med* 2009; 15:410.
233. van Rijt LS, Jung S, Kleinjan A, et al. In vivo depletion of lung CD11c+

dendritic cells during allergen challenge abrogates the characteristic features of asthma. *J Exp Med* 2005; 201:981.

234. Wenzel SE, Schwartz LB, Langmack EL, et al. Evidence that severe asthma can be divided pathologically into two inflammatory subtypes with distinct physiologic and clinical characteristics. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160:1001.

235. Wenzel SE, Szeffler SJ, Leung DY, et al. Bronchoscopic evaluation of severe asthma. Persistent inflammation associated with high dose glucocorticoids. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:737.

236. Sur S, Crotty TB, Kephart GM, et al. Sudden-onset fatal asthma. A distinct entity with few eosinophils and relatively more neutrophils in the airway submucosa? *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:713.

237. Fahy JV, Fleming HE, Wong HH, et al. The effect of an anti-IgE monoclonal antibody on the early- and late-phase responses to allergen inhalation in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:1828.

238. Roquet A, Dahlén B, Kumlin M, et al. Combined antagonism of leukotrienes and histamine produces predominant inhibition of allergen-induced early and late phase airway obstruction in asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:1856.

239. Milgrom H, Fick RB Jr, Su JQ, et al. Treatment of allergic asthma with monoclonal anti-IgE antibody. rhuMAb-E25 Study Group. *N Engl J Med* 1999; 341:1966.

240. Laitinen LA, Laitinen A, Haahtela T. A comparative study of the effects of an inhaled corticosteroid, budesonide, and a beta 2-agonist, terbutaline, on airway inflammation in newly diagnosed asthma: a randomized, double-blind, parallel-group controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90:32.

241. Djukanović R, Wilson SJ, Kraft M, et al. Effects of treatment with anti-

- immunoglobulin E antibody omalizumab on airway inflammation in allergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170:583.
242. Reiss TF, Chervinsky P, Dockhorn RJ, et al. Montelukast, a once-daily leukotriene receptor antagonist, in the treatment of chronic asthma: a multicenter, randomized, double-blind trial. Montelukast Clinical Research Study Group. *Arch Intern Med* 1998; 158:1213.
243. Liu MC, Dubé LM, Lancaster J. Acute and chronic effects of a 5-lipoxygenase inhibitor in asthma: a 6-month randomized multicenter trial. Zileuton Study Group. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98:859.
244. Leckie MJ, ten Brinke A, Khan J, et al. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* 2000; 356:2144.
245. Holgate ST, Davies DE, Lackie PM, et al. Epithelial-mesenchymal interactions in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:193.
246. Hackett TL, Warner SM, Stefanowicz D, et al. Induction of epithelial-mesenchymal transition in primary airway epithelial cells from patients with asthma by transforming growth factor-beta1. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180:122.
247. Puddicombe SM, Polosa R, Richter A, et al. Involvement of the epidermal growth factor receptor in epithelial repair in asthma. *FASEB J* 2000; 14:1362.
248. Wenzel SE, Balzar S, Cundall M, Chu HW. Subepithelial basement membrane immunoreactivity for matrix metalloproteinase 9: association with asthma severity, neutrophilic inflammation, and wound repair. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:1345.
249. Liu MC, Bleecker ER, Lichtenstein LM, et al. Evidence for elevated levels of histamine, prostaglandin D<sub>2</sub>, and other bronchoconstricting prostaglandins in the airways of subjects with mild asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142:126.

250. Brown RH, Pearse DB, Pyrgos G, et al. The structural basis of airways hyperresponsiveness in asthma. *J Appl Physiol* (1985) 2006; 101:30.
251. Barbato A, Turato G, Baraldo S, et al. Epithelial damage and angiogenesis in the airways of children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174:975.
252. ten Brinke A, Zwinderman AH, Sterk PJ, et al. Factors associated with persistent airflow limitation in severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:744.
253. Phelan PD, Robertson CF, Olinsky A. The Melbourne Asthma Study: 1964-1999. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109:189.
254. Aysola RS, Hoffman EA, Gierada D, et al. Airway remodeling measured by multidetector CT is increased in severe asthma and correlates with pathology. *Chest* 2008; 134:1183.
255. Jacobsen L, Niggemann B, Dreborg S, Ferdousi HA, Halken S, Høst A, Koivikko A, Norberg LA, Valovirta E, Wahn U, Möller C; (The PAT investigator group). Specific immunotherapy has long-term preventive effect of seasonal and perennial asthma: 10-year follow-up on the PAT study. *Allergy*. 2007 Aug;62(8):943-8.
256. Durham SR, Emminger W, Kapp A, Colombo G, de Monchy JG, Rak S, Scadding GK, Andersen JS, Riis B, Dahl R. Long-term clinical efficacy in grass pollen-induced rhinoconjunctivitis after treatment with SQ-standardized grass allergy immunotherapy tablet. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Jan;125(1):131-8.e1-7. doi:10.1016/j.jaci.2009.10.035.
257. Philippe Devillier<sup>12\*</sup>, Jean-François Dreyfus<sup>2</sup>, Pascal Demoly<sup>3</sup> and Moisés A Calderón. A meta-analysis of sublingual allergen immunotherapy and pharmacotherapy in pollen-induced seasonal allergic rhinoconjunctivitis. *BMC Medicine* 2014, 12:71 doi:10.1186/1741-7015-12-71.)
258. Cox L, Nelson H, and Lockey R, et al. Allergen immunotherapy:A practice

- parameter third update. *J Allergy Clin Immunol* 127(suppl 1):S1–S55, 2011.
259. Burks AW, Calderon MA, Casale T, et al. Update on allergy immunotherapy: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology/European Academy of Allergy and Clinical Immunology/ PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol* 131:1288–1296.e3, 2013.
260. Barbara J. Daigle Donna J. Rekkerth Practical recommendations for mixing allergy immunotherapy extracts *Allergy Rhinol* 6:e1–e7, 2015; doi: 10.2500/ar.2015.6.0111
261. Epstein TG, Liss GM, Murphy-Berendts K, and Bernstein DI. AAAAI/ACAAI surveillance study of subcutaneous immunotherapy, years 2008–2012: An update on fatal and nonfatal systemic allergic reactions. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2:161–167, 2014.
262. Creticos PS. Immunotherapy with allergens. *JAMA* 1992; 268:2834.
263. Creticos PS, Adkinson NF Jr, Kagey-Sobotka A, et al. Nasal challenge with ragweed pollen in hay fever patients. Effect of immunotherapy. *J Clin Invest* 1985; 76:2247.
264. Van Metre TE Jr, Adkinson NF Jr, Kagey-Sobotka A, et al. Immunotherapy decreases skin sensitivity to ragweed extract: demonstration by midpoint skin test titration. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86:587
265. Gleich GJ, Zimmermann EM, Henderson LL, Yunginger JW. Effect of immunotherapy on immunoglobulin E and immunoglobulin G antibodies to ragweed antigens: a six-year prospective study. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 70:261.

266. Creticos PS, Van Metre TE, Mardiney MR, et al. Dose response of IgE and IgG antibodies during ragweed immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73:94.
267. Peng ZK, Naclerio RM, Norman PS, Adkinson NF Jr. Quantitative IgE- and IgG-subclass responses during and after long-term ragweed immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89:519.
268. Aalberse RC, van der Gaag R, van Leeuwen J. Serologic aspects of IgG4 antibodies. I. Prolonged immunization results in an IgG4-restricted response. *J Immunol* 1983; 130:722.
269. Aalberse RC, Stapel SO, Schuurman J, Rispens T. Immunoglobulin G4: an odd antibody. *Clin Exp Allergy* 2009; 39:469.
270. Peng ZK, Naclerio RM, Norman PS, Adkinson NF Jr. Quantitative IgE- and IgG-subclass responses during and after long-term ragweed immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89:519.
271. Aalberse RC, van der Gaag R, van Leeuwen J. Serologic aspects of IgG4 antibodies. I. Prolonged immunization results in an IgG4-restricted response. *J Immunol* 1983; 130:722.
272. Wachholz PA, Soni NK, Till SJ, Durham SR. Inhibition of allergen-IgE binding to B cells by IgG antibodies after grass pollen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112:915.
273. Djurup R, Malling HJ. High IgG4 antibody level is associated with failure of immunotherapy with inhalant allergens. *Clin Allergy* 1987; 17:459.
274. Loizou D, Enav B, Komlodi-Pasztor E, A pilot study of omalizumab in

- eosinophilic esophagitis. *PLoS One*. 2015 Mar 19;10(3):e0113483. doi: 10.1371/journal.pone.0113483
275. Clayton F, Fang JC, Eosinophilic Esophagitis in Adults Is Associated With IgG4 and Not Mediated by IgE. *Gastroenterology* 2014;147:602–609
276. Rocha R, Vitor AB, Omalizumab in the treatment of eosinophilic esophagitis and food allergy. *Eur J Pediatr*. 2011 Nov;170(11):1471-4. doi: 10.1007/s00431-011-1540-4.
277. Frederic Clayton, John C. Fang Eosinophilic Esophagitis in Adults Is Associated With IgG4 and Not Mediated by IgE, *Gastroenterology* 2014;147:602–609
278. Jefferis R. Polyclonal and monoclonal reagents specific for IgG subclasses. *Monograf Allergy* 1986;19:71-5.
279. Harada S, Nishumura S, Saiga A, Hosoi S, Mikawa H. Evaluation of production and characterization of monoclonal antibodies to human IgG of four subclasses. *Microbiol Immunol* 1989;33(7):579-92.
280. Siber GR, Schur PH, Aisenberg AC. Correlation between serum IgG2 concentrations and the antibody response to bacterial polysaccharide antigens. *New Engl J Med* 1990;303:178-180.
281. Yan Y, Cui Z, Zhao MH. The distribution and clinical significance of IgG subclasses of anti-glomerular basement membrane antibodies. *Beijing Da Xue Xue Bao* 2004;36(5):501-4
282. Moss RB, Carmack MA, Esrig S. Deficiency of IgG4 in children: association of isolated IgG4 deficiency with recurrent respiratory tract infections. *J Pediatr*

1992;120:161-3

283. Walsh GM, An Update on biologic-based therapy in asthma. *Immunotherapy*. 2013 Nov;5(11):1255-64. doi: 10.2217/imt.13.118.

284. Kamisawa T, Anjiki H, Egawa N, Kubota N. Allergic manifestations in autoimmune pancreatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009;21:1136-9)

285. Djurup R, Malling HJ. High IgG4 antibody level is associated with failure of immunotherapy with inhalant allergens. *Clin Allergy* 1987; 17:459.

286. Batard T, Basuyaux B, Lambin P, et al. Isotypic analysis of grass pollen-specific immunoglobulins in human plasma. 1. Specialization of certain classes and subclasses in the immune response. *Int Arch Allergy Immunol* 1993; 100:68.

287. Walker SM, Pajno GB, Lima MT, et al. Grass pollen immunotherapy for seasonal rhinitis and asthma: a randomized, controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107:87.

288. Hedlin G, Silber G, Naclerio R, et al. Comparison of the in-vivo and in-vitro response to ragweed immunotherapy in children and adults with ragweed-induced rhinitis. *Clin Exp Allergy* 1990; 20:491.

289. Durham SR, Ying S, Varney VA, et al. Grass pollen immunotherapy inhibits allergen-induced infiltration of CD4+ T lymphocytes and eosinophils in the nasal mucosa and increases the number of cells expressing messenger RNA for interferon-gamma. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97:1356.

290. Li JT. Immunotherapy for allergic rhinitis. *Immunol Allergy Clin North Am*

2000; 20:383.

291. Leynadier F, Banoun L, Dollois B, et al. Immunotherapy with a calcium phosphate-adsorbed five-grass-pollen extract in seasonal rhinoconjunctivitis: a double-blind, placebo-controlled study. *Clin Exp Allergy* 2001; 31:988.

292. Schmidt BM, Kusma M, Feuring M, et al. The phosphodiesterase 4 inhibitor roflumilast is effective in the treatment of allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108:530.

293. Ewbank PA, Murray J, Sanders K, et al. A double-blind, placebo-controlled immunotherapy dose-response study with standardized cat extract. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:155.

294. Nanda A, O'connor M, Anand M, et al. Dose dependence and time course of the immunologic response to administration of standardized cat allergen extract. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114:1339.

295. Ross RN, Nelson HS, Finegold I. Effectiveness of specific immunotherapy in the treatment of allergic rhinitis: an analysis of randomized, prospective, single- or double-blind, placebo-controlled studies. *Clin Ther* 2000; 22:342.

296. Wambre E, DeLong JH, James EA, et al. Differentiation stage determines pathologic and protective allergen-specific CD4<sup>+</sup> T-cell outcomes during specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129:544.

297. Bellinghausen I, Metz G, Enk AH, et al. Insect venom immunotherapy induces interleukin-10 production and a Th2-to-Th1 shift, and changes surface marker expression in venom-allergic subjects. *Eur J Immunol* 1997; 27:1131.

298. Blaser K, Akdis CA. Interleukin-10, T regulatory cells and specific allergy treatment. *Clin Exp Allergy* 2004; 34:328.
299. Francis JN, Till SJ, Durham SR. Induction of IL-10+CD4+CD25+ T cells by grass pollen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:1255.
300. Jutel M, Akdis M, Budak F, et al. IL-10 and TGF-beta cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy. *Eur J Immunol* 2003; 33:1205.
301. Savolainen J, Laaksonen K, Rantio-Lehtimäki A, Terho EO. Increased expression of allergen-induced in vitro interleukin-10 and interleukin-18 mRNA in peripheral blood mononuclear cells of allergic rhinitis patients after specific immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 2004; 34:413.
302. Wilson DR, Irani AM, Walker SM, et al. Grass pollen immunotherapy inhibits seasonal increases in basophils and eosinophils in the nasal epithelium. *Clin Exp Allergy* 2001; 31:1705.
303. Monteseirín J, Bonilla I, Camacho J, et al. Elevated secretion of myeloperoxidase by neutrophils from asthmatic patients: the effect of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107:623.
304. Wilson DR, Nouri-Aria KT, Walker SM, et al. Grass pollen immunotherapy: symptomatic improvement correlates with reductions in eosinophils and IL-5 mRNA expression in the nasal mucosa during the pollen season. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107:971.
305. Furin MJ, Norman PS, Creticos PS, et al. Immunotherapy decreases antigen-

induced eosinophil cell migration into the nasal cavity. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88:27.

306. Durham SR, Varney VA, Gaga M, et al. Grass pollen immunotherapy decreases the number of mast cells in the skin. *Clin Exp Allergy* 1999; 29:1490.

307. Håkansson L, Heinrich C, Rak S, Venge P. Priming of eosinophil adhesion in patients with birch pollen allergy during pollen season: effect of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99:551.

308. Creticos PS. Immunologic changes associated with immunotherapy. *Immunol Allergy Clin N Am* 1992; 12:13.

309. Mishra A, Wang M, Pemmaraju VR et al. Esophageal remodeling develops as a consequence of tissue specific IL-5-induced eosinophilia. *Gastroenterology* 134(1), 204–214 (2008).

310. Pope SM, Brandt EB, Mishra A et al. IL-13 induces eosinophil recruitment into the lung by an IL-5- and eotaxin-dependent mechanism. *J. Allergy Clin. Immunol.* 108(4), 594–601 (2001).

311. Mishra A, Hogan SP, Brandt EB et al. Enterocyte expression of the eotaxin and interleukin-5 transgenes induces compartmentalized dysregulation of eosinophil trafficking. *J. Biol. Chem.* 277(6), 4406–4412 (2002).

312. Blanchard C, Stucke EM, Rodriguez-Jimenez B et al. A striking local esophageal cytokine expression profile in eosinophilic esophagitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 127(1), 208–217 (2011).

313. Kinoshita Y, Furuta K, Ishimura N, Ishihara S. Elevated plasma cytokines in

Japanese patients with eosinophilic esophagitis and gastroenteritis. *Digestion* 86(3), 238–243 (2012).

314. Spergel JM, Rothenberg ME, Collins MH et al. Reslizumab in children and adolescents with eosinophilic esophagitis: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J. Allergy Clin. Immunol.* 129(2), 456–463, 463 e451–453 (2012).

315. Conus S, Straumann A, Bettler E, Simon HU. Mepolizumab does not alter levels of eosinophils, T cells, and mast cells in the duodenal mucosa in eosinophilic esophagitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 126(1), 175–177 (2010).

316. Straumann A, Bussmann C, Conus S, Beglinger C, Simon HU. Anti-TNF-alpha (infliximab) therapy for severe adult eosinophilic esophagitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 122(2), 425–427

317. (Rocha R, Vitor AB, Trindade E et al. Omalizumab in the treatment of eosinophilic esophagitis and food allergy. *Eur. J. Pediatr.* 170(11), 1471–1474 (2011).2008).

318. Straumann A, Hoesli S, Bussmann C et al. Anti-eosinophil activity and clinical efficacy of the CRTH2 antagonist OC000459 in eosinophilic esophagitis. *Allergy* 68(3), 375–385 (2013).

319. Nowak-Wegrzyn A, Sampson HA. Future therapies for food allergies. *J. Allergy Clin. Immunol.* 127(3), 558–573; quiz 574–555 (2011).

320. Jones SM, Pons L, Roberts JL et al. Clinical efficacy and immune regulation with peanut oral immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 124(2), 292–300, 300

e291–297 (2009).

321. Skripak JM, Nash SD, Rowley H et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of milk oral immunotherapy for cow's milk allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 122(6), 1154–1160 (2008).

322. Buchanan AD, Green TD, Jones SM et al. Egg oral immunotherapy in nonanaphylactic children with egg allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 119(1), 199–205 (2007).

323. Patriarca G, Nucera E, Pollastrini E et al. Oral specific desensitization in food-allergic children. *Dig. Dis. Sci.* 52(7), 1662–1672 (2007).

324. Patriarca G, Schiavino D, Nucera E, Schinco G, Milani A, Gasbarrini GB. Food allergy in children: results of a standardized protocol for oral desensitization. *HepatoGastroenterology* 45(19), 52–58 (1998).

325. Brozek JL, Terracciano L, Hsu J et al. Oral immunotherapy for IgE-mediated cow's milk allergy: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Exp. Allergy* 42(3), 363–374 (2012).

326. Hofmann AM, Scurlock AM, Jones SM et al. Safety of a peanut oral immunotherapy protocol in children with peanut allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 124(2), 286–291, 291 e281–e286 (2009).

327. Narisety SD, Skripak JM, Steele P et al. Open-label maintenance after milk oral immunotherapy for IgE-mediated cow's milk allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 124(3), 610–612 (2009).

328. Sanchez-Garcia S, Rodriguez Del Rio P, Escudero C, Martinez-Gomez MJ,

Ibanez MD. Possible eosinophilic esophagitis induced by milk oral immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 129(4), 1155–1157 (2012).

329. Wang FY, Gupta SK, Fitzgerald JF. Is there a seasonal variation in the incidence or intensity of allergic eosinophilic esophagitis in newly diagnosed children? *J. Clin. Gastroenterol.* 41(5), 451–453 (2007).

330. De Swert L, Veereman G, Bublin M et al. Eosinophilic gastrointestinal disease suggestive of pathogenesis-related class 10 (PR-10) protein allergy resolved after immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 131(2), 600–602 (2013).

331. Ramirez RM, Jacobs RL. Eosinophilic esophagitis treated with immunotherapy to dust mites. *J. Allergy Clin. Immunol.* 132(2), 503–504 (2013).

332. Mention JJ, Ben Ahmed M, Bègue B, Barbe U, Verkarre V, Asnafi V, Colombel JF, Cugnenc PH, Ruemmele FM, McIntyre E, Brousse N, Cellier C, Cerf-Bensussan N. Interleukin 15: a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in celiac disease. *Gastroenterology* 2003; 125: 730-745 [PMID: 12949719 DOI: 10.1016/S0016-5085(03)01047-3]

333. Salvati VM, Mazzarella G, Gianfrani C, Levings MK, Stefanile R, De Giulio B, Iaquinto G, Giardullo N, Auricchio S, Roncarolo MG, Troncone R. Recombinant human interleukin 10 suppresses gliadin dependent T cell activation in ex vivo cultured coeliac intestinal mucosa. *Gut* 2005; 54: 46-53 [PMID: 15591503 DOI: 10.1136/gut.2003.023150]

334. Griffin M, Casadio R, Bergamini CM. Transglutaminases: nature's biological glues. *Biochem J* 2002; 368: 377-396 [PMID: 12366374 DOI: 10.1042/BJ20021234]

335. Silano M, Vincentini O, Iapello A, Mancini E, De Vincenzi M. Antagonist peptides of the gliadin T-cell stimulatory sequences: a therapeutic strategy for celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42 Suppl 3 Pt 2: S191-S192 [PMID: 18685513 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31817df76a]
336. Keech CL, Dromey J, Tye-Din JA. Immune tolerance induced by peptide immunotherapy in an HLA DQ2-dependent mouse model of gluten immunity. *Gastroenterol* 2009; 136: A-57 [DOI: 10.1016/S0016-5085(09)60258-4]
337. Rossi M. Vaccination and other antigen-specific immunomodulatory strategies in celiac disease. *Dig Dis*. 2015;33(2):282-9. doi: 10.1159/000369511. Epub 2015 Apr 22.
338. Green HR, Lebwohl B, Greywoode MD. Celiac disease. *JACI* 2015;135:1099-1106
339. Groujin JM, Vicaud E, Jean-Alphonse S, Demoly P, Wahn U, Didier A, Beaumont O, Montagut A, Le Gail M, Deville P. The average adjusted symptom score, a new primary efficacy end-point for specific allergen immunotherapy trials. *Clinical et Experimental Allergy* 2011; 41:1282-1288
340. Tratado de Alergología. 2015. Ergón Ed. Madrid. Pg.325
341. Netter's Atlas of Human Embryology: Updated Edition, 1e Netter Basic Science: Amazon.es: Larry R. Cochard PhD. 2014
342. Colás C, De la Hoz B, Reig R, Rodríguez M. Calidad de vida y repercusión socioeconómica de las enfermedades alérgicas. *Tratado de Alergología*. 2015. Ergón Ed. Madrid. Pg.325
343. Cárdbaba B. Aspectos genéticos, ambientales y epigenéticos de las enfermedades alérgicas. *Tratado de Alergología*. 2015. Ergón Ed. Madrid. Pg.81

344. Armentia A, Martín S, Barrio J, Martín B, García JC, Vega JM, Sánchez A, Fernández P, Corell A. Value of microarray allergen assay in the management of eosinophilic oesophagitis. *Allergologia et immunopathologia*. 661: 2015
345. Molina-Infante J, Martín-Noguerol E, Alvarado-Arenas M, et al. Selective elimination diet based on skin testing has suboptimal efficacy for adult eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130(5):1200-2
346. Jato V. & Moreno Grau S. Differences in atmospheric emissions of Poaceae pollen and Lol p 1 allergen. *Aerobiologia*, 2011, 27(4): 301-309
347. Rodríguez Rajo F.J., Jato V., González Parrado Z., Elvira-Rendueles, B., Moreno Grau S., Vega Maray, A.M., Fernández-González D., Asturias J.A. & Suárez-Cervera M. The combination of airborne pollen and allergen quantification to reliably assess the real pollinosis risk in different bioclimatic areas. *Aerobiologia* 2011, 27 (1): 1-12
348. Lucendo AJ, Arias A, González-Cervera J, Yagüe-Compadre JL, Guagnozzi D, Angueira T, Jiménez-Contrearras S, González-Castillo S, Rodríguez-Domínguez B, De Rezende LC, Tenias JM. Empiric 6-food elimination diet induced and maintained prolonged remission in patients with adult eosinophilic esophagitis: a prospective study on the food cause of the disease. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131;797-804
349. Odriozola E, Bretschneider G, Pagalday M, Odriozola H, Quiroz J, Ferreira J. Intoxicación natural con cynodon dactylon (pata de perdiz) en un rodeo de cría. *Ver. Arg.* 1998;15:579-583.

# ANEXOS

## ANEXO I.

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Se está realizando una investigación de alergia a trigo y a alimentos derivados de los cereales y le rogamos responda la encuesta que se incluye. Se le pide consentimiento para realizar en una muestra de suero determinación de anticuerpos (IgE específica) a alérgenos (pólenes, trigo, vegetales).

En el caso de poseer anticuerpos positivos a alguno de estos alérgenos, se le citará a consulta de alergia (Dr<sup>a</sup> Armentia, Hospital Río Hortega) para la realización de pruebas cutáneas. Estas pruebas se realizaran depositando una gota de extracto de los alérgenos sospechosos en la superficie de la piel de su antebrazo. Posteriormente se realizará una micropunción para una vez transcurridos 15 minutos comprobar la presencia de un habón que indicaría una respuesta al alérgeno probado.

En el caso de que la respuesta fuera positiva a cereales, se le pedirá consentimiento para realizar una espirometría. La espirometría es una técnica inocua que consiste en una vez tomado aire en los pulmones, soplar en un circuito cerrado que mide sus capacidades funcionales respiratorias, para comprobar si este consumo las está afectando.

Yo doy mi consentimiento para la realización de estas pruebas, tras ser informado verbalmente y por escrito por

En Valladolid a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

Fdo: \_\_\_\_\_ .

ANEXO II.

ARRAYS

**Diagnóstico molecular de paciente con Enfermedad Celíaca**





SAMPLE INFORMATION		PATIENT INFORMATION	
Sample ID:	AEZ6827_4	Patient ID:	3094
Sampling date:	27.09.2013	Name:	3094
Approval status:	Approved	Birth date:	Age:
Print date:	27.09.2013	ID/MRF#:	Gender:
Calibration curve:	CTR02 17/04/2013 14:13:52		

ORDERING PHYSICIAN INFORMATION	
Ordering physician:	DRA. ALICIA ARMENTIA MEDINA
Address:	

**1. Summary of positive IgE results**

Mainly species-specific aeroallergen components

Category	Antigen	Component	ISU-E	Level
<b>Grass pollen</b>	Bermuda grass	nCyn d 1	Grass group 1	108 ISU-E
	Timothy grass	rPhl p 1	Grass group 1	89 ISU-E
		rPhl p 4	Berberine bridge enzyme	7,9 ISU-E
		rPhl p 5	Grass group 5	49 ISU-E
		rPhl p 6	Grass group 6	1,8 ISU-E
<b>Tree pollen</b>	Cypress	nCup a 1	Pectate lyase	0,6 ISU-E
	Olive pollen	nOle e 1	Common olive group 5	5,9 ISU-E
	Plane tree	rPla a 2	Polygalacturonase	0,4 ISU-E
<b>Weed pollen</b>	Plantain	rPla l 1	Ole e 1-related protein	5,6 ISU-E
<b>Animal</b>	Cat	rFel d 1	Uteroglobin	0,8 ISU-E
<b>Mold</b>	Alternaria	rAlt a 1	Acidic glycoprotein	0,6 ISU-E

ISAC Standardized Units (ISU-E)	Level
< 0.3	Undetectable
0.3 - 0.9	Low
1 - 14.9	Moderate / High
≥ 15	Very High

Mainly species-specific aeroallergen components				
<b>Grass pollen</b>				
Timothy grass	rPhl p 2	Grass group 2	<0,3 ISU-E	
	nPhl p 4	Berberine bridge enzyme	7,9 ISU-E	
	rPhl p 5	Grass group 5	49 ISU-E	
	rPhl p 6	Grass group 6	1,8 ISU-E	
	rPhl p 11	Ole e 1-related protein	<0,3 ISU-E	
<b>Tree pollen</b>				
Birch	rBet v 1	PR-10 protein	<0,3 ISU-E	
Japanese cedar	nCry j 1	Pectate lyase	<0,3 ISU-E	
Cypress	nCup a 1	Pectate lyase	0,6 ISU-E	
Olive pollen	nOle e 1	Common olive group 5	5,9 ISU-E	
	rOle e 9	Beta-1,3-glucanase	<0,3 ISU-E	
Plane tree	rPla a 1	Putative invertase inhibitor	<0,3 ISU-E	
	nPla a 2	Polygalacturonase	0,4 ISU-E	
Ole e 1 is also a marker for ash sensitization.				
<b>Weed pollen</b>				
Ragweed	nAmb a 1	Pectate lyase	<0,3 ISU-E	
Mugwort	nArt v 1	Defensin	<0,3 ISU-E	
Goosefoot	rChe a 1	Ole e 1-related protein	<0,3 ISU-E	
Wall pellitory	rPar j 2	Lipid transfer protein (nsLTP)	<0,3 ISU-E	
Plantain	rPla l 1	Ole e 1-related protein	5,6 ISU-E	
Saltwort	nSal k 1	Pectin methylesterase	<0,3 ISU-E	
<b>Animal</b>				
Dog	rCan f 1	Lipocalin	<0,3 ISU-E	
	rCan f 2	Lipocalin	<0,3 ISU-E	
	rCan f 5	Arginine Esterase	<0,3 ISU-E	
Horse	rEqu c 1	Lipocalin	<0,3 ISU-E	
Cat	rFel d 1	Uteroglobin	0,8 ISU-E	
	rFel d 4	Lipocalin	<0,3 ISU-E	
Mouse	nMus m 1	Lipocalin	<0,3 ISU-E	
<b>Mold</b>				
Alternaria	rAlt a 1	Acidic glycoprotein	0,6 ISU-E	
	rAlt a 6	Enolase	<0,3 ISU-E	
Aspergillus	rAsp f 1	Mitogillin family	<0,3 ISU-E	
	rAsp f 3	Peroxisomal protein	<0,3 ISU-E	
	rAsp f 6	Mn superoxide dismutase	<0,3 ISU-E	
Cladosporium	rCla h 8	Mannitol dehydrogenase	<0,3 ISU-E	
<b>Mite</b>				
B. tropicalis (HDM)	rBlo t 5	Mite group 5	<0,3 ISU-E	
D. farinae (HDM)	nDer f 1	Cysteine protease	<0,3 ISU-E	
	rDer f 2	NPC2 family	<0,3 ISU-E	
D. pteronyssinus (HDM)	nDer p 1	Cysteine protease	<0,3 ISU-E	
	rDer p 2	NPC2 family	<0,3 ISU-E	
L. destructor (storage mite)	rLep d 2	NPC2 family	<0,3 ISU-E	
<b>Cockroach</b>				
Cockroach	rBla g 1	Cockroach group 1	<0,3 ISU-E	
	rBla g 2	Aspartic protease	<0,3 ISU-E	
	rBla g 5	Glutathione S-transferase	<0,3 ISU-E	
<b>Other mainly species-specific components</b>				
<b>Venom</b>				
Honey bee venom	rApi m 1	Phospholipase A2	<0,3 ISU-E	

SAMPLE ID: AE28827\_4

PATIENT ID: 3094

PATIENT NAME: 3094

27.09.2013

Page 3 / 8

**Diagnóstico molecular de paciente con esofagitis eosinofílica****Thermo**  
SCIENTIFICImmunoCAP<sup>®</sup>  
ISAC

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA		INFORMACIÓN DEL PACIENTE	
ID de la muestra:	A0A3127_10/29_4	Identificación del paciente:	
Fecha de la muestra:	11.05.2012	Nombre:	
Estado de aprobación:	Measured	Fecha de nacimiento:	
Fecha de impresión:	11.05.2012	IDIMR#:	
Calibration curve:	CTR02 11/05/2012 10:30:30		
INFORMACIÓN DEL MÉDICO PETICIONARIO			
Médico peticionario:	DRA. ALICIA ARMENTIA	Técnico	Blanca Martín
Dirección:	Sección de Alergia. Hospital Universitario Río Hortega Valladolid		
Diagnóstico:	Esofagitis		

**1. Sumario de los resultados positivos IgE****Componentes aeroalérgenos especie-específicos**

Polen de gramíneas				
Gramma mayor	rCyn d 1	Gramínea grupo 1	1,3 ISU-E	
Hierba Timotea	rPhl p 1	Gramínea grupo 1	2,9 ISU-E	
	rPhl p 4	Enzima cortadora de berberina	2,2 ISU-E	
	rPhl p 5	Gramínea grupo 5	4,8 ISU-E	
Animales				
Gato	rFel d 1	Uteroglobina	1,5 ISU-E	
Hongos				
Alternaria	rAlt a 1	Glicoproteína ácida	3,5 ISU-E	

**Componentes marcadores de reactividad cruzada**

Profilina				
Abedul	rBet v 2	Profilina	1,4 ISU-E	
Látex	rHev b 8	Profilina	1,1 ISU-E	
Mercurial	rMer a 1	Profilina	2,1 ISU-E	

ISAC unidades estandarizadas (ISU-E)	Nivel	
< 0,3	Indetectable	
0,3 - 0,9	Bajo	
1 - 14,9	Moderado /alto	
≥ 15	Muy alto	

**Componentes alimentarios especie-específicos**

Trigo	rTf a 14	Proteína transportadora de lípidos (LTP)	<0,3 ISU-E
	rTf a 19.0101	Omega-5 gliadina	<0,3 ISU-E
	nTf a aA_TI	Alfa-Amilasa / Inhibidor de tripsina	<0,3 ISU-E
Kiwi	nAct d 1	Cistein proteasa	<0,3 ISU-E
	nAct d 5	Kiweína	<0,3 ISU-E

Alergeno mayoritario del pescado y panalergeno de este grupo. Marcador de reactividad cruzada entre diferentes especies de pescado y anfibios. Proteína estable al calor y la digestión causando reacciones con alimentos cocinados.

**Componentes aeroalergenos especie-específicos****Polen de gramíneas**

Gramma mayor	nCyn d 1	Gramínea grupo 1	1,3 ISU-E	
Hierba Timotea	rPhl p 1	Gramínea grupo 1	2,9 ISU-E	
	rPhl p 2	Gramínea grupo 2	<0,3 ISU-E	
	nPhl p 4	Enzima cortadora de berberina	2,2 ISU-E	
	rPhl p 5	Gramínea grupo 5	4,8 ISU-E	
	rPhl p 6	Gramínea grupo 6	<0,3 ISU-E	
	rPhl p 11	Proteína relacionada con Ole e 1	<0,3 ISU-E	

**Polen de árboles**

Abedul	rBet v 1	Proteína PR10	<0,3 ISU-E
Cedro del Japón	nCry j 1	Pectato liasa	<0,3 ISU-E
Ciprés	nCup a 1	Pectato liasa	<0,3 ISU-E
Polen de olivo	nOle e 1	Olivo grupo 5	<0,3 ISU-E
	rOle e 9	Beta-1,3-glucanasa	<0,3 ISU-E
Plátano de sombra	rPla a 1	Inhibidor putativo de la invertasa	<0,3 ISU-E
	nPla a 2	Polipecturonasa	<0,3 ISU-E

Ole e 1 es también un marcador de la sensibilización al fresno.

**Polen de malezas**

Ambrosia	nAmb a 1	Pectato liasa	<0,3 ISU-E
Artemisa	nArt v 1	Defensina	<0,3 ISU-E
Chenopodium	rChe a 1	Proteína relacionada con Ole e 1	<0,3 ISU-E
Parietaria	rPar j 2	Proteína transportadora de lípidos (LTP)	<0,3 ISU-E
Plántago	rPla l 1	Proteína relacionada con Ole e 1	<0,3 ISU-E
Salsola	nSal k 1	Pectín metilsterasa	<0,3 ISU-E

**Animales**

Perró	rCan f 1	Lipocalina	<0,3 ISU-E	
	rCan f 2	Lipocalina	<0,3 ISU-E	
	rCan f 5	Arginina esterasa	<0,3 ISU-E	
Caballo	rEqu e 1	Lipocalina	<0,3 ISU-E	
Gato	rFel d 1	Uteroglobina	1,5 ISU-E	
	rFel d 4	Lipocalina	<0,3 ISU-E	
Ratón	nMus m 1	Lipocalina	<0,3 ISU-E	

**Hongos**

Alternaria	rAlt a 1	Glicoproteína ácida	3,5 ISU-E	
	rAlt a 6	Erolasa	<0,3 ISU-E	
Aspergillus	rAsp f 1	Mitogilina	<0,3 ISU-E	
	rAsp f 3	Proteína peroxisomal	<0,3 ISU-E	
	rAsp f 6	Superóxido Mn dismutasa	<0,3 ISU-E	
Cladosporium	rCla h 8	Manitol deshidrogenasa	<0,3 ISU-E	

**Ácaros**

B. tropicalis (HDM)	rBlo t 5	Ácaro grupo 5	<0,3 ISU-E
---------------------	----------	---------------	------------

*Paciente diagnosticado de Esofagitis y enfermedad celíaca*

**Thermo**  
SCIENTIFIC

**ImmunoCAP**  
ISAC

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA		INFORMACIÓN DEL PACIENTE	
ID de la muestra:	A435027_3	Identificación del paciente:	
Fecha de la muestra:	10.09.2012	Nombre:	
Estado de aprobación:	Measured	Fecha de nacimiento:	
Fecha de impresión:	10.09.2012	ID/IR#: _____	
Calibration curve:	CTR02 23/05/2012 13:41:59		
INFORMACIÓN DEL MÉDICO PETICIONARIO			
Médico petionario:	DR. SÁNCHEZ ALONSO Tecnico Blanca Martín		
Dirección:	Sección de Alergia. Hospital Universitario Río Hortega Valladolid		

### 1. Sumario de los resultados positivos IgE

Componentes aeroalergenos especie-específicos				
<b>Polen de gramíneas</b>				
Gramma mayor	rCyn d 1	Gramínea grupo 1	3,5 ISU-E	
Hierba Timotea	rPhl p 1	Gramínea grupo 1	4,2 ISU-E	
	rPhl p 4	Enzima cortadora de berberina	5,8 ISU-E	
	rPhl p 5	Gramínea grupo 5	55 ISU-E	
	rPhl p 6	Gramínea grupo 6	7,3 ISU-E	
<b>Polen de árboles</b>				
Polen de olivo	rOle e 1	Olivo grupo 5	38 ISU-E	
Componentes marcadores de reactividad cruzada				
<b>Proteína transportadora de lípidos (nsLTP)</b>				
Avellana	rCor a 8	Proteína transportadora de lípidos (LTP)	2,3 ISU-E	
Nuez	rJug r 3	Proteína transportadora de lípidos (LTP)	2 ISU-E	
Melocotón	rPru p 3	Proteína transportadora de lípidos (LTP)	2,7 ISU-E	
<b>Profilina</b>				
Abedul	rBet v 2	Profilina	6,9 ISU-E	
Látex	rHev b 8	Profilina	20 ISU-E	
Mercurial	rMer a 1	Profilina	13 ISU-E	
ISAC unidades estandarizadas (ISU-E)		Nivel		
< 0.3		Indetectable		
0.3 - 0.9		Bajo		
1 - 14.9		Moderado /alto		
≥ 15		Muy alto		

**Componentes alimentarios especie-específicos**

Trigo	rTif a 19.0101 nTif a aA_Tl	Omega-5 gliadina Alfa-Amilasa / Inhibidor de tripsina	<0,3 ISU-E <0,3 ISU-E
Kivi	nAct d 1 nAct d 5	Cistein proteasa Kivulina	<0,3 ISU-E <0,3 ISU-E

Alergeno mayoritario del pescado y panalergeno de este grupo. Marcador de reactividad cruzada entre diferentes especies de pescado y anfibios. Proteína estable al calor y la digestión causando reacciones con alimentos cocinados.

**Componentes aeroalergenos especie-específicos****Polen de gramíneas**

Gramma mayor	nCyn d 1	Gramínea grupo 1	3,5 ISU-E	
Hierba Timotea	rPhl p 1	Gramínea grupo 1	4,2 ISU-E	
	rPhl p 2	Gramínea grupo 2	<0,3 ISU-E	
	nPhl p 4	Enzima cortadora de berberina	5,8 ISU-E	
	rPhl p 5	Gramínea grupo 5	55 ISU-E	
	rPhl p 6	Gramínea grupo 6	7,3 ISU-E	
	rPhl p 11	Proteína relacionada con Ole e 1	<0,3 ISU-E	

**Polen de árboles**

Abedul	rBet v 1	Proteína PR10	<0,3 ISU-E	
Cedro del Japón	nCry j 1	Pectato liasa	<0,3 ISU-E	
Ciprés	nCup a 1	Pectato liasa	<0,3 ISU-E	
Polen de olivo	nOle e 1	Olivo grupo 5	38 ISU-E	
	rOle e 9	Beta-1,3-glucanasa	<0,3 ISU-E	
Plátano de sombra	rPla a 1	Inhibidor putativo de la invertasa	<0,3 ISU-E	
	nPla a 2	Poligalacturonasa	<0,3 ISU-E	

Ole e 1 es también un marcador de la sensibilización al freno.

**Polen de malezas**

Ambrosia	nAmb a 1	Pectato liasa	<0,3 ISU-E
Artemisa	nArt v 1	Defensina	<0,3 ISU-E
Chenopodium	rChe a 1	Proteína relacionada con Ole e 1	<0,3 ISU-E
Parietaria	rPar j 2	Proteína transportadora de lípidos (LTP)	<0,3 ISU-E
Plántago	rPla l 1	Proteína relacionada con Ole e 1	<0,3 ISU-E
Salsola	nSal k 1	Pectín metiltransferasa	<0,3 ISU-E

**Animales**

Perró	rCan f 1 rCan f 2 rCan f 5	Lipocalina Lipocalina Arginina esterasa	<0,3 ISU-E <0,3 ISU-E <0,3 ISU-E
Cabello	rEqu e 1	Lipocalina	<0,3 ISU-E
Gato	rFel d 1 rFel d 4	Uteroglobina Lipocalina	<0,3 ISU-E <0,3 ISU-E
Ratón	nMus m 1	Lipocalina	<0,3 ISU-E

**Hongos**

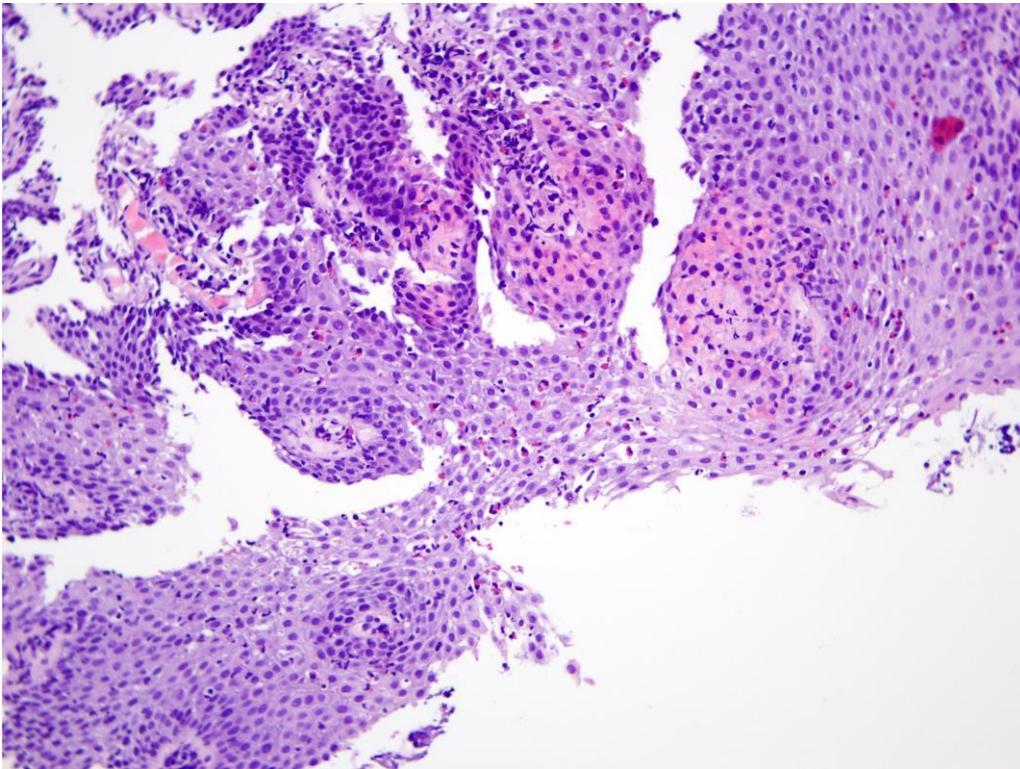
Alternaria	rAlt a 1 rAlt a 6	Glicoproteína ácida Enolasa	<0,3 ISU-E <0,3 ISU-E
Aspergillus	rAsp f 1 rAsp f 3 rAsp f 6	Mitogilina Proteína peroxisomal Superoxido Mn dismutasa	<0,3 ISU-E <0,3 ISU-E <0,3 ISU-E
Cladosporium	rCla h 8	Manitol deshidrogenasa	<0,3 ISU-E

**Ácaros**

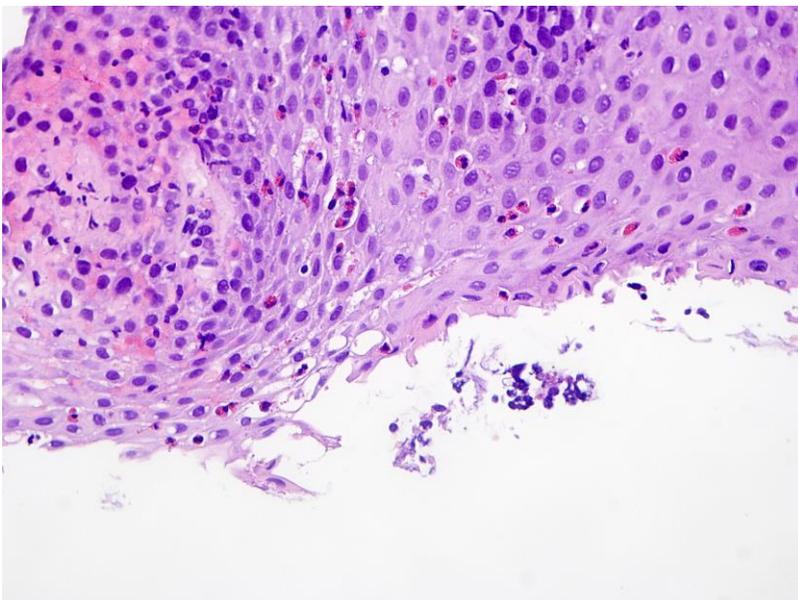
B. tropicalis (HDM)	rBlo t 5	Ácaro grupo 5	<0,3 ISU-E
D. farinae (HDM)	nDer f 1 rDer f 2	Cistein proteasa Familia NPC2	<0,3 ISU-E <0,3 ISU-E

**ANEXO III.**

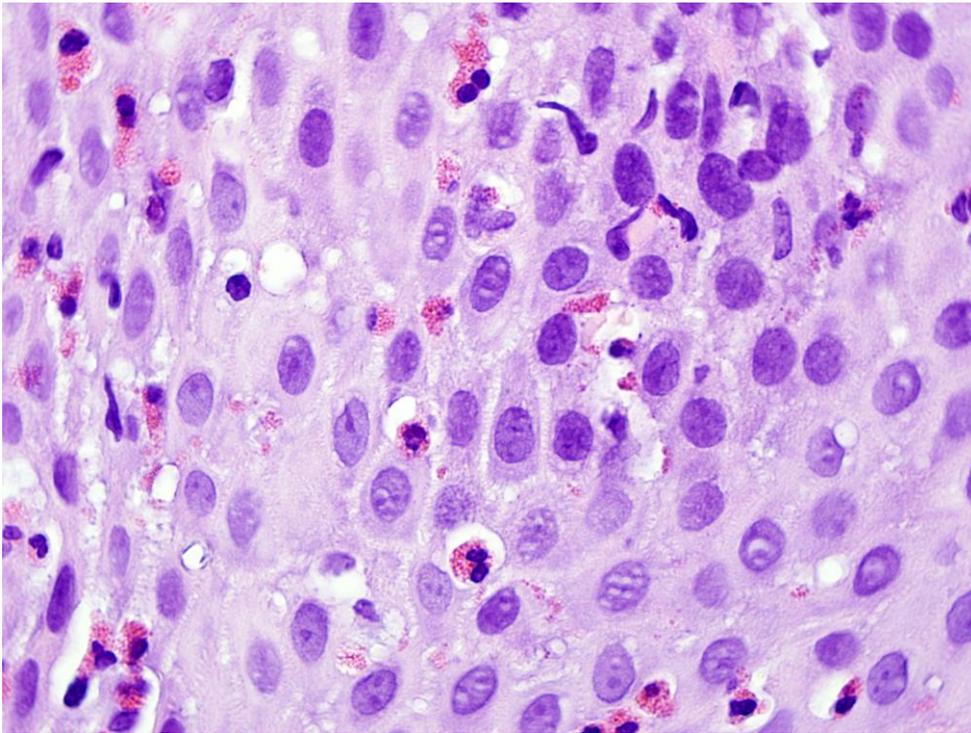
**IMÁGENES DE BIOPSIAS ANTES DE INMUNOTERAPIA**



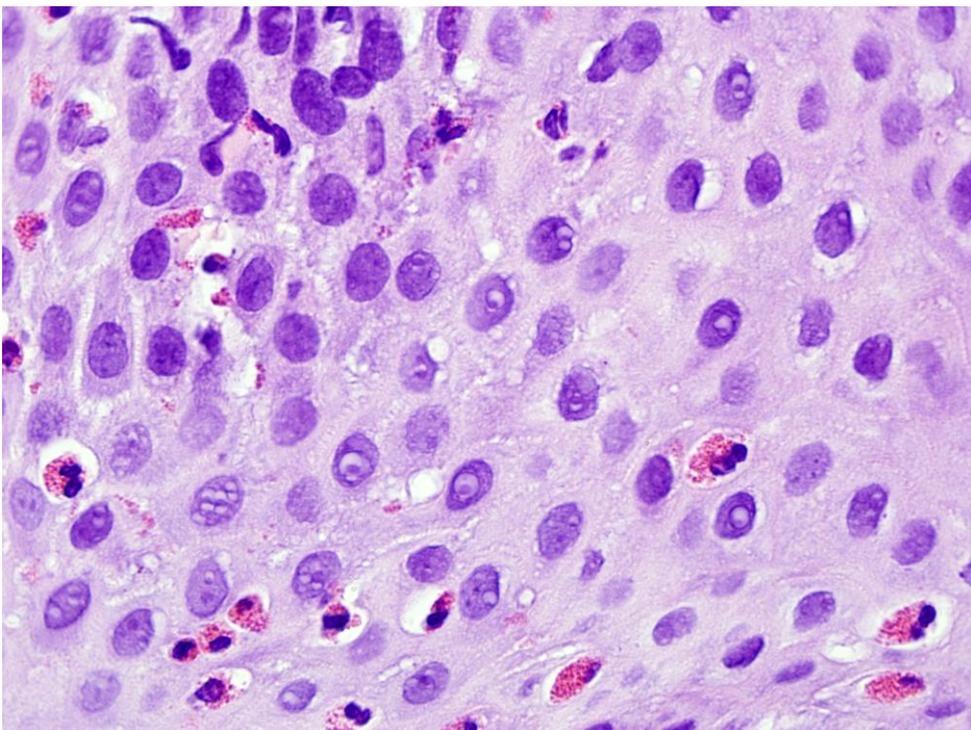
**20 X. ESÓFAGO DISTAL. PACIENTE CON ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA**



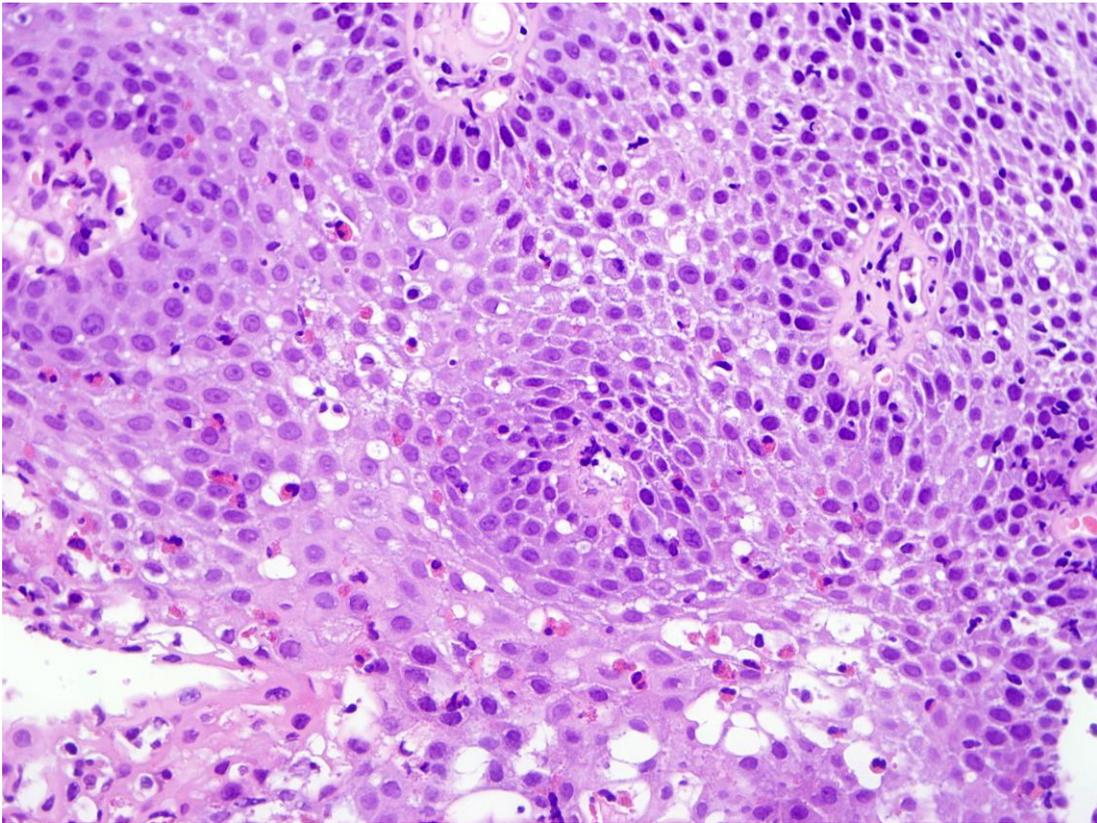
**40 X ESÓFAGO DISTAL. PACIENTE CON ESOFAGITIS+CELÍACA**



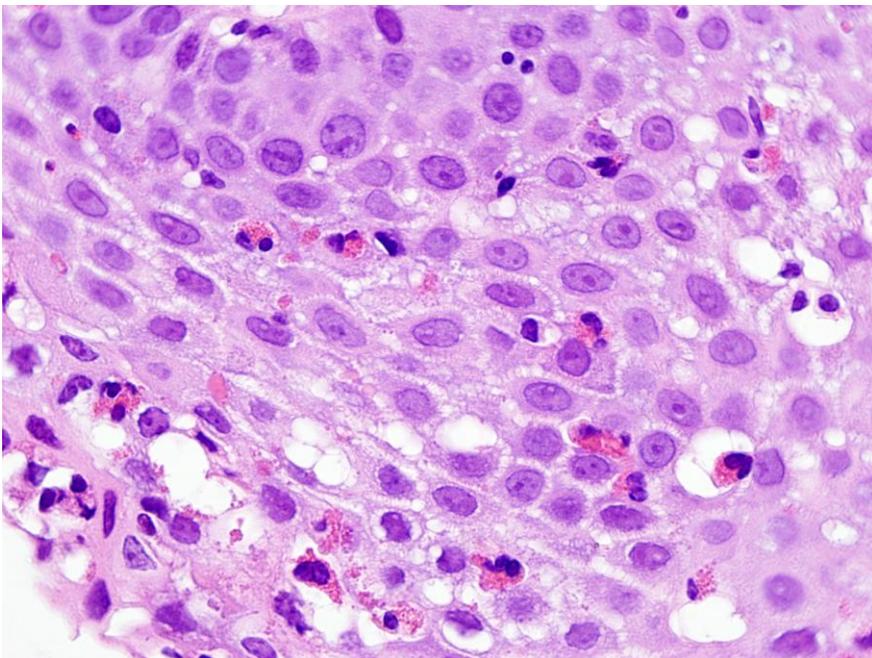
***100 X ESÓFAGO DISTAL. PACIENTE CON ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA.***



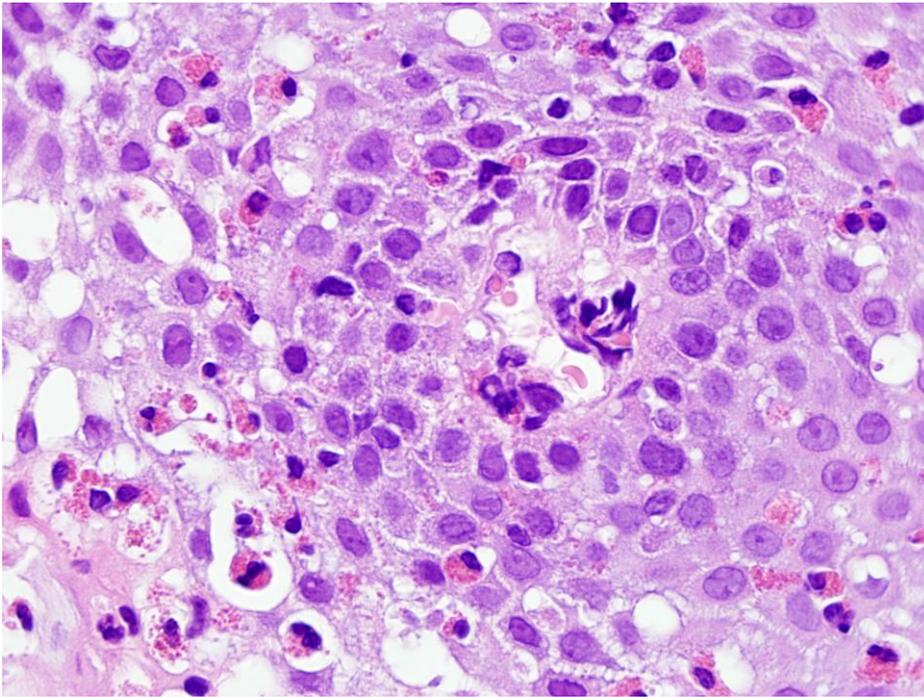
***100 X ESÓFAGO DISTAL. PACIENTE CON CELÍACA.***



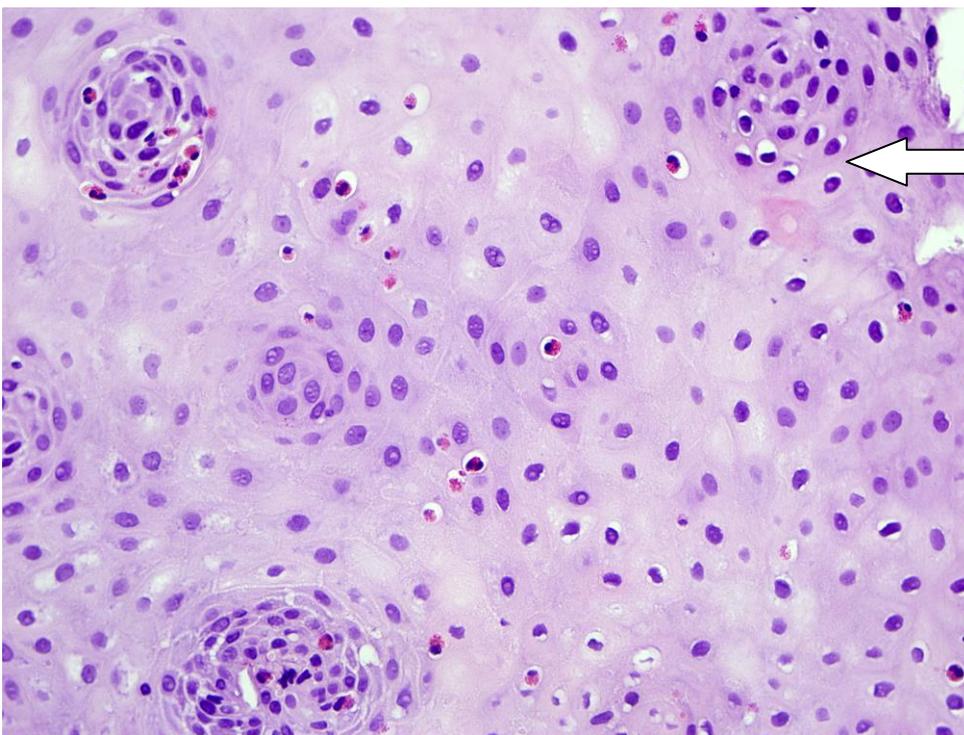
***40 X ESÓFAGO MEDIO. PACIENTE CPN ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA***



***100 X ESÓFAGO MEDIO. PACIENTE CON ESOFAGITIS+CELÍACA***

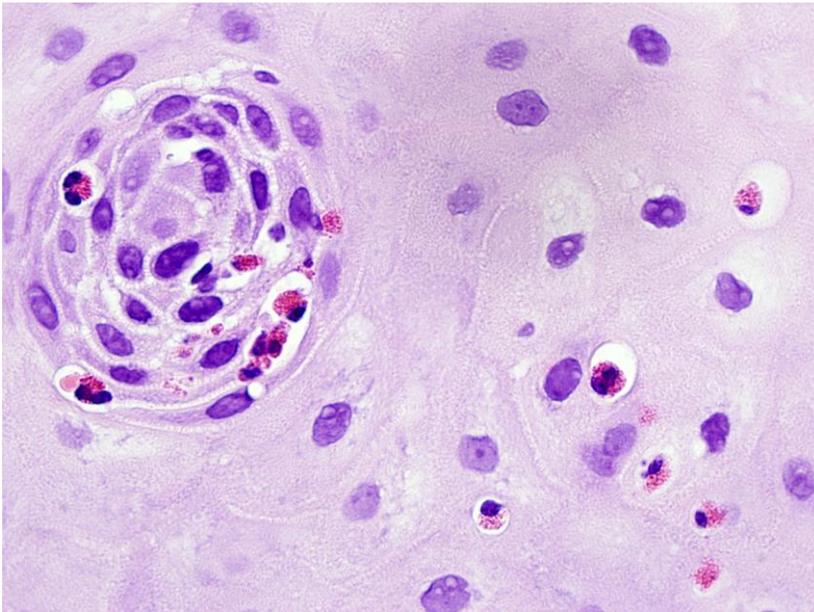


***100 X ESÓFAGO MEDIO. PACIENTE CON ASMA DEL PANADERO.***



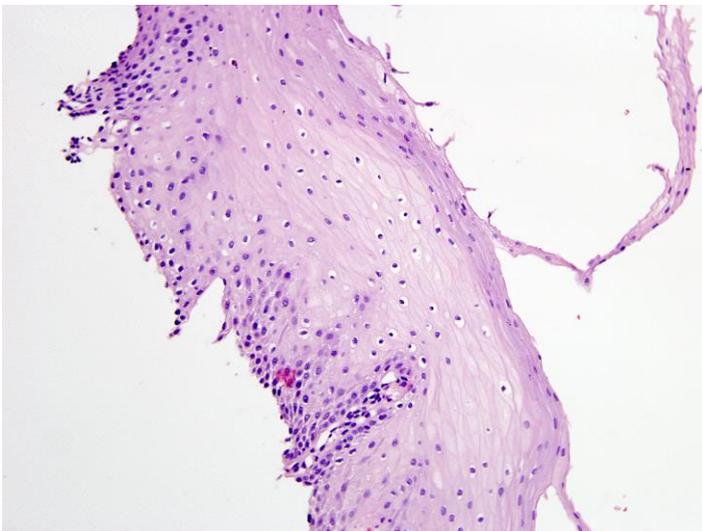
***40 X ESÓFAGO PROXIMAL. PACIENTE CON ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA.***

*Se señalan posibles estructuras correspondientes a tubos polínicos con celularidad concéntrica.*

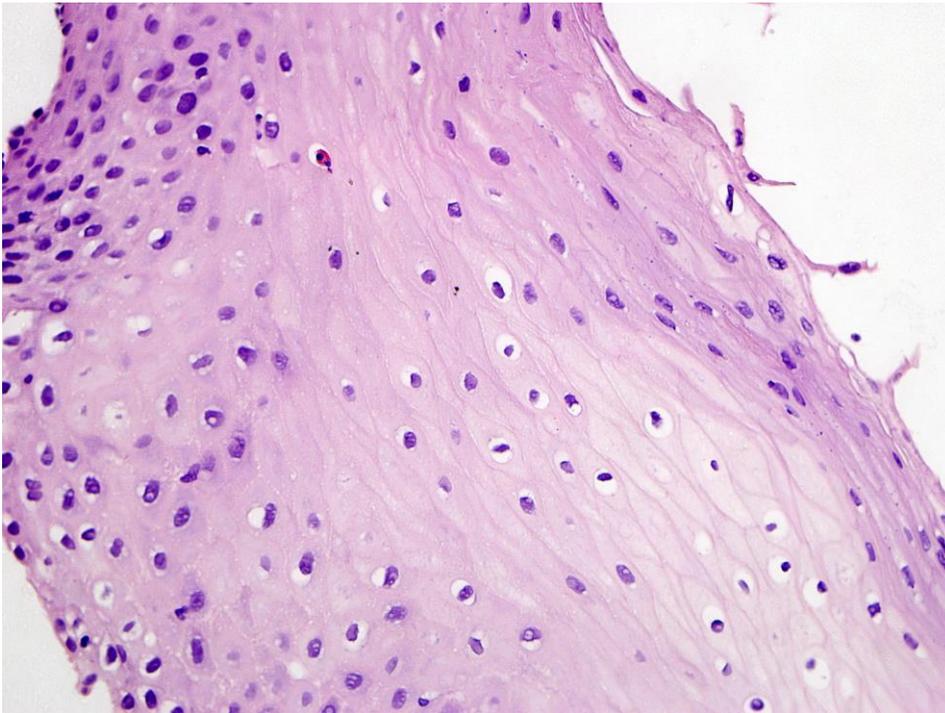


***100 X ESÓFAGO PROXIMAL. Detalle de infiltrado eosinófilo alrededor de un tubo polínico.***

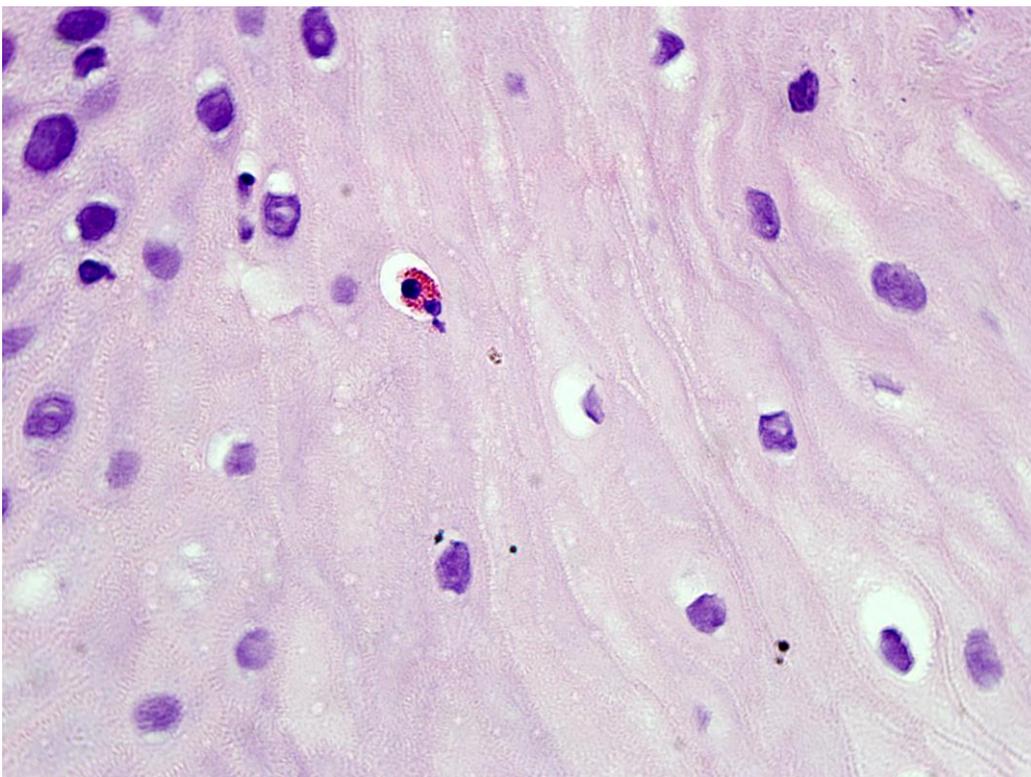
***IMÁGENES DE BIOPSIAS DE LOS MISMOS PACIENTES DESPUÉS DEL TRATAMIENTO CON INMUNOTERAPIA.***



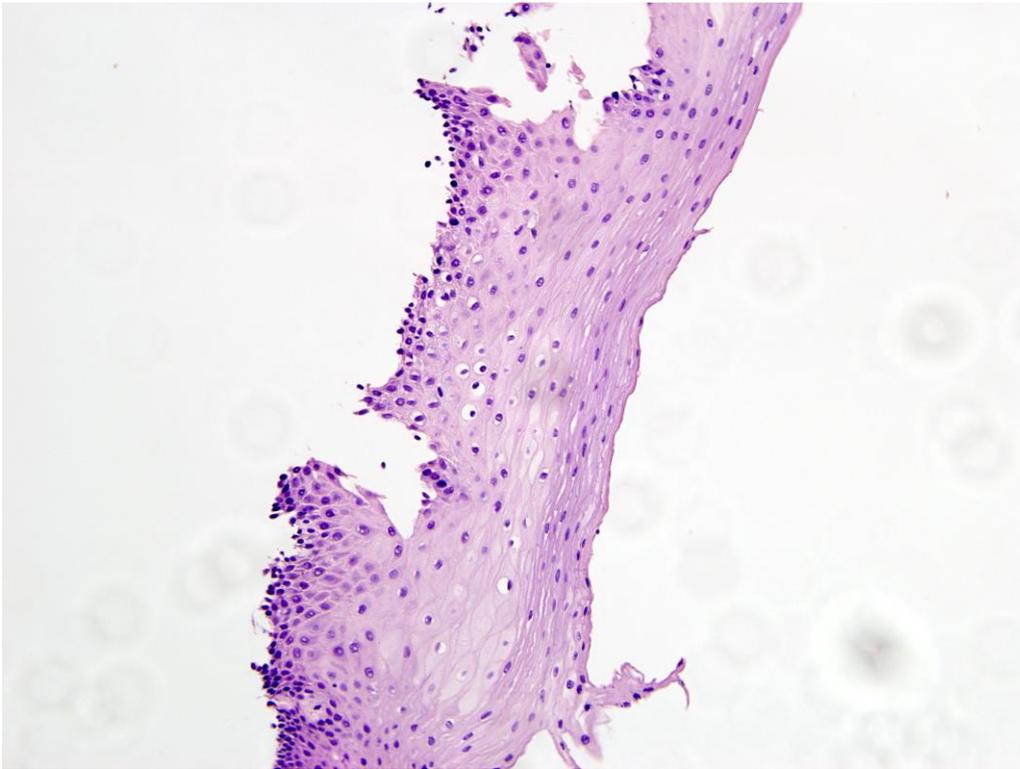
***20 X ESÓFAGO DISTAL.***



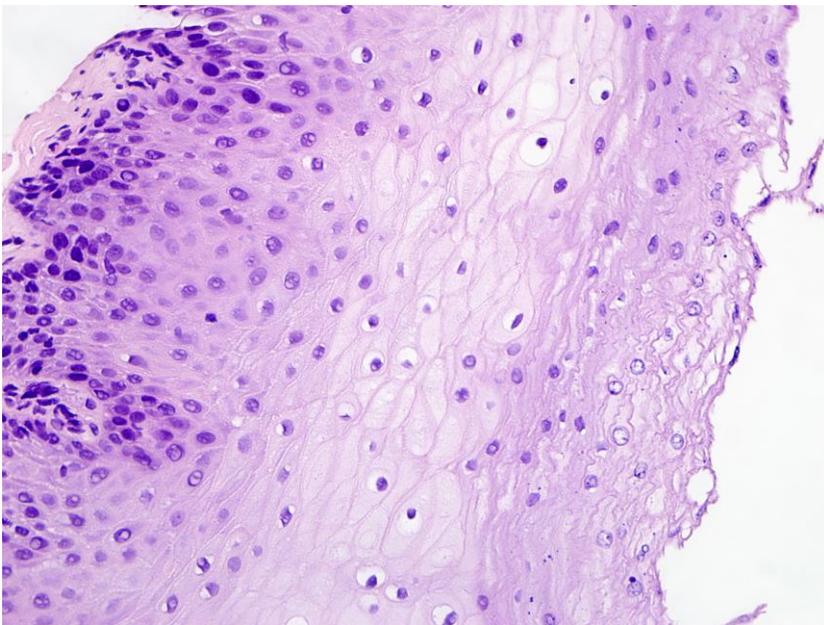
*40 X ESÓFAGO DISTAL*



*100 X ESÓGAGO DISTAL*



***20 X ESÓFAGO MEDIO***



***40 X ESÓFAGO MEDIO***