

# ALTERNATIVAS TERAPEÚTICAS DE INMUNOTERAPIA ESPECÍFICA EN PACIENTES CON ESOFAGITIS, CELIACA Y CONJUNTIVITIS VERNAL

## ALTERNATIVE OF TREATMENT WITH IMMUNOTHERAPY IN EOSINOPHILIC ESOPHAGITIS, CELIAC DISEASE AND VERNAL CONJUNCTIVITIS

Alicia Armentia<sup>1</sup>, Sara Martín-Armentia<sup>2</sup>, Blanca Martín-Armentia<sup>1</sup>,  
Javier Santos-Fernández<sup>3</sup>, Rafael Álvarez<sup>4</sup>, Beatriz Madrigal<sup>5</sup>,  
Delia Fernández-González<sup>6,7</sup>, Sara Gayoso<sup>8</sup>, Manuel J Gayoso<sup>8</sup>,  
Eugenia Sanchís<sup>1</sup>, Javier Montero<sup>9</sup>, Moisés Calderón<sup>10</sup>

<sup>1</sup>*Servicio de Alergia, Hospital Universitario Río Hortega.  
Universidad de Valladolid. España*

<sup>2</sup>*Servicio de Pediatría. Hospital Río Carrión. Palencia. España*

<sup>3</sup>*Servicio de Gastroenterología. Hospital Universitario Río Hortega. España*

<sup>4</sup>*Departamento de Biología Molecular. Biología Celular. Universidad de León. España*

<sup>5</sup>*Departamento de Histología. Universidad de Valladolid. España.*

<sup>6</sup>*Biodiversity and Environmental Management, Universidad de León. León. España*

<sup>7</sup>*Institute of Atmospheric Sciences and Climate. National Research Council. Bologna. Italy*

<sup>8</sup>*Departamento de Histopatología. Hospital Universitario Río Hortega.  
Valladolid. España*

<sup>9</sup>*Servicio de Oftalmología. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. España*

<sup>10</sup>*Section of Allergy and Clinical Immunology, Imperial College London - NHLI, Royal  
Brompton Hospital, London, UK*

Servicio de Alergia, Hospital Universitario Río Hortega. Universidad de Valladolid.  
aliciaarmentia@gmail.com

Fecha de publicación: 9 de noviembre de 2017

---

An Real Acad Med Cir Vall 2017; 54: 189 - 206

## INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas el diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades alérgicas ha presentado importantes avances. A las pruebas cutáneas en prick con alérgenos y a la determinación de inmunoglobulina IgE específica a los mismos, se ha añadido la proteómica aplicada a la detección de epítomos alérgénicos, o el diagnóstico molecular por microarrays, denominado internacionalmente como “component resolved diagnosis” o CRD. Esta tecnología nos permite un análisis de hipersensibilidad *in vitro* a 112 alérgenos recombinantes y nativos, y decidi-

mos implantarla en la Unidad de Investigación del Hospital Universitario Río Hortega en el año 2011.

La alergia al polen parece la patología más sencilla de diagnosticar por un alergólogo. Si embargo existen casos de duda diagnóstica. Gracias al CRD podemos saber si una determinada inmunoterapia de pólenes comercializada será efectiva o no por contener moléculas alergénicas reconocidas por nuestros pacientes, evitando los problemas originados por pruebas falsamente positivas por las reactividades cruzadas, (alérgenos comunes entre pólenes y alimentos vegetales) y la polisensibilización a diferentes especies botánicas cuyo polen comparte alérgenos similares.

Hay enfermedades, como la esofagitis eosinofílica, la celiaquía y la conjuntivitis vernal, con alta incidencia en pacientes atópicos, en los que el diagnóstico por técnicas alergológicas convencionales no nos ayuda. La celiaquía se ha considerado una respuesta celular al gluten, descartando la hipersensibilidad tipo I (mediada por IgE), por lo que la inmunoterapia específica con alérgenos no parecía estar indicada. Sin embargo, hay pacientes celíacos que responden con pruebas cutáneas e IgE específica a pólenes de gramíneas y alérgenos de cereales, además de otros alimentos.

La Alergia es una especialidad que comparte conocimientos con otras especialidades. En el caso de la alergia al polen la colaboración con especialistas en Palinología, Ciencias atmosféricas, Histología vegetal y Biología celular, así como la de expertos en Inmunología, Histopatología y Microscopía electrónica ha sido fundamental para realizar un diagnóstico adecuado de estas patologías polínicas controvertidas y desarrollar un tratamiento dirigido a la causa (etiológico) útil y seguro para nuestros pacientes.

### **PUNTOS CLAVES DE LA PONENCIA**

- La alergia al polen puede ser difícil de diagnosticar y se duda de que sea un agente etiológico a considerar en enfermedades como la esofagitis eosinofílica, celiaquía o conjuntivitis vernal.
- No hay estudios publicados de diagnóstico molecular con CRD en amplias series de pacientes con esofagitis, celíaca ni conjuntivitis vernal.
- En estas enfermedades la hipersensibilidad a alérgenos de polen es muy prevalente.
- El diagnóstico de estas enfermedades por CRD se ha demostrado más eficiente que el diagnóstico por prueba cutánea (prick) y determinación de IgE.
- El padecer celiaquía es compatible con sufrir también hipersensibilidad mediada por IgE, se puede asociar a hipersensibilidad a otros alimentos aparte del gluten y mejora con inmunoterapia específica.

- El análisis molecular fue útil en la esofagitis eosinofílica para decidir un tratamiento menos empírico (evitación alimentaria o inmunoterapia dirigida) y nos permitió una restricción mas razonable de alimentos en la dieta y una inmunoterapia dirigida a los alérgenos responsables de la enfermedad
- La inmunoterapia específica logró mejoría objetiva por clínica y biopsia negativa.

### KEY POINTS

- Up to date, molecular analysis or CRD with recombinant and native allergens has not been performed in vernal conjunctivitis
- The CRD technique is more efficient in the diagnosis of vernal conjunctivitis than skin prick tests and specific IgE.
- Molecular microarray analysis was useful in decision of the treatment, and allowed us to make a more restricted allergen elimination and specific immunotherapy.
- Specific immunotherapy resulted in improvement in terms of quality of life and symptoms of vernal conjunctivitis.

**Palabras Clave:** Esofagitis eosinofílica, inmunoterapia alérgica, diagnóstico molecular resolutivo, conducto polínico y biopsia.

**Key words:** Eosinophilic esophagitis, allergen immunotherapy, component resolved diagnosis, pollen tube, biopsy

### ¿QUÉ SE SABÍA ANTES SOBRE ESTE TEMA?

Por ahora no existía tratamiento etiológico de la esofagitis eosinofílica (EoE). Muchos pacientes (>87%) con EoE presentan conjuntivitis, rinitis, dermatitis atópica y asma, además de los síntomas típicos de esta enfermedad (disfagia e impactación). Las pruebas alergológicas de rutina no parecían ayudar al diagnóstico y se dudaba si realmente estuviera implicada una respuesta de hipersensibilidad. Se había realizado algún intento de análisis molecular pero en series muy pequeñas de pacientes, y no se consideró el polen detectado como agente etiológico. En este proyecto realizamos CRDs a 129 pacientes con EoE y además un estudio riguroso y multidisciplinar de sus biopsias de esófago durante 5 años de tratamiento con dieta e inmunoterapia guiada por CRDs.

### WHAT IS ALREADY KNOWN ABOUT THIS TOPIC?

There is no a clear etiologic treatment for eosinophilic esophagitis. Many patients present rhinoconjunctivitis, atopic dermatitis and associated asthma, in addition to dysphagia and food impaction, and 87% are sensitive to aeroallergens.

### **¿QUÉ AÑADE ESTE TRABAJO AL CONOCIMIENTO CIENTÍFICO?**

Las técnicas histológicas usadas en mucosas humanas no son aplicables al análisis histológico vegetal. Por primera vez analizamos cientos de biopsias de una amplia serie de pacientes con esofagitis eosinofílica (EoE) con técnicas usadas en análisis histológico de polen y plantas y demostramos la germinación de polen deglutido en el 66% de las mismas midiendo la calosa del tubo polínico y la inflamación eosinofílica que provoca.

### **WHAT DOES THE ARTICLE ADD TO OUR KNOWLEDGE?**

Using plant histology we found germination of pollens in 66% of biopsies in patients with eosinophilic esophagitis and measured callose from the pollen tubes and the eosophilic inflammation it produced.

### **¿CÓMO PUEDE ESTE ESTUDIO MODIFICAR LAS ACTUALES GUÍAS DE MANEJO Y TRATAMIENTO?**

A pesar de la controversia sobre la utilidad de las pruebas alérgicas en la EoE, hemos encontrado que técnicas de microarrays (CRD), detectan más alérgenos posiblemente involucrados y ayudan a realizar una dieta de eliminación más razonada, (no empírica) y una inmunoterapia con alérgenos dirigida a una posible causa.

Para valorar la evolución clínica del tratamiento aplicado (evitación del alimento detectado o inmunoterapia específica), se realizó con consentimiento informado biopsias endoscópicas de esófago en pacientes y controles y evaluación clínica cada 6 meses durante 5 años. Nuestro trabajo concluye que la inmunoterapia y dieta dirigida logra una importante mejoría en nuestros pacientes.

### **HOW DOES THIS STUDY IMPACT CURRENT MANAGEMENT GUIDELINES?**

Component-resolved diagnosis-directed elimination diet and/or allergen immunotherapy may lead to substantial improvement in patients with eosinophilic esophagitis.

### **ANTECEDENTES:**

La esofagitis eosinofílica (EoE) se caracteriza por disfunción esofágica e histológicamente por inflamación eosinofílica. No existe en la actualidad tratamiento etiológico. El diagnóstico por CRD (Component resolved diagnosis) por microarrays puede ser útil para detectar los posible alérgenos involucrados e indicar una dieta de eliminación e inmunoterapia más dirigida. El análisis histológico botánico puede ser útil para demostrar calosa del tubo polínico y otros productos vegetales impactados en la mucosa esofágica.

**BACKGROUND:**

Eosinophilic esophagitis (EoE) is characterized by esophageal dysfunction and, histologically, by eosinophilic inflammation. There is no etiologic treatment. Component resolved diagnosis (CRD) with microarrays could detect possible allergens involved and indicate an elimination diet and allergen immunotherapy (AIT). Histological analysis may show callose from pollen and other plant products in the esophageal mucosa.

**MÉTODOS:**

Estudiamos la sensibilidad a alérgenos ambientales y a alimentos en 129 pacientes diagnosticados de EoE. Se incluyeron 53 pacientes celíacos, 50 asmáticos polínicos y 50 personas sanas.

Se realizó en todos ellos biopsia esofágica y estudio anatomopatológico y también histológico vegetal y CRD. Se decidió dieta dirigida y/o inmunoterapia específica de acuerdo a los resultados. Se administró inmunoterapia específica con alérgenos (AIT), dirigida por CRD, en 91 pacientes con EoE y dieta de eliminación en 140 pacientes (87 EoE y todos los 53 pacientes celíacos). Se midieron valores clínicos y se repitió la biopsia cada 6 meses durante 3 años de tratamiento y 2 años de seguimiento tras el alta.

**METHODS:**

129 patients with EoE were tested for environmental and food allergens. CRD, histological and botanical analysis was performed. Clinical scores and endoscopic biopsy were performed every six months for 3 years.

Fifty healthy patients, 50 asthmatics due to pollen and 53 celiac disease patients were included as comparison groups. CRD-directed AIT was administered in 91 EoE patients and elimination diet in 140 patients (87 EoE and all 53 CD patients).

**RESULTADOS:**

Los CRD detectaron sensibilización a alérgenos en el 87.6% de pacientes con EoE. Los alérgenos predominantes fueron el grupo 1 de gramíneas 1 (55%), proteínas transportadoras de lípidos (LTP) de melocotón y artemisia y avellana y albúmina de nuez (tabla 1). En celíacos se pudo demostrar además hipersensibilidad a LTPs de trigo (Tri a 14). Se detectó calosa del tubo polínico en el 65.6 % de las biopsias (figuras 1,2,3)

Tras dieta de eliminación guiada por CRD y/o AIT, 101 (78.3%) de pacientes con EoE mejoraron de forma significativa ( $p < 0.017$ ) y 97 (75.2%) fueron dados de alta (por biopsia negativa, ausencia de síntomas y necesidad de medica-

ción) sin recaída durante los siguientes 2 años (tabla 2 y figura 4). Los pacientes tratados con AIT tuvieron mas mejoría (odds ratio 177.3, 95% CI 16.2-1939.0).

### **RESULTS:**

CRD detected allergen hypersensitivity in 87.6% of patients with EoE. The predominant allergens were grass group 1 (55%), lipid transfer proteins (LTP) of peach and mugwort, hazelnuts and walnuts. Callose from pollen tubes was found in 65.6 % of biopsies. After CRD-guided elimination diet and/or AIT, 101 (78.3%) EoE patients showed significant clinical improvement ( $p < 0.017$ ) and 97 (75.2%) were discharged (negative biopsy, no symptoms, no medication) without relapse.

### **CONCLUSIONES:**

La AIT dirigida por CRD y /o dieta de eliminación guiada por esté método fue eficiente en el tratamiento de pacientes con EoE y fue bien tolerada. Sólo fue necesario retirar un máximo de 2 fuentes alimentarias.

### **CONCLUSIONS:**

CRD-directed AIT and/or elimination diet was efficient in treating EoE patients and was well tolerated.

## **TRATAMIENTO DIRIGIDO POR CRD DE LA CONJUNTIVITIS VERNAL**

### *TREATMENT OF VERNAL CONJUNCTIVITIS WITH ALLERGEN IMMUNOTHERAPY*

### **ANTECEDENTES:**

Las pruebas convencionales con alérgenos son insuficientes para clarificar el diagnóstico etiológico de conjuntivitis vernal (VC). La técnica de Component resolved diagnostic (CRD) por microarrays puede ser útil en detectar que moléculas alergénicas están implicadas en el proceso inflamatorio..

Evaluamos la posible hipersensibilidad alérgica realizando CRD en lágrima y suero de pacientes con VC y la eficacia y seguridad de inmunoterapia específica con los alérgenos detectados por kis arrays.

### **BACKGROUND:**

Conjunctivitis is the first symptom of allergic disease in up to 32% of children, mostly associated with rhinitis<sup>1-13</sup>. Vernal Conjunctivitis (VC) is a form

of chronic conjunctivitis that mainly affects children living in temperate areas with a strong family history of allergies. It is most common in young males, and usually occurs during spring and summer. The etiology remains unknown and in many cases the prognosis is poor<sup>13</sup>.

Routine diagnostic tests (prick test, specific IgE determination) do not resolve the etiologic diagnosis of VC, and therefore there is no truly specific treatment<sup>6</sup>. Component resolved diagnosis (CRD) uses multiple molecular microarray techniques to improve the diagnosis of allergy-related diseases for which conventional techniques are not efficient<sup>9, 14-18</sup>.

### **MÉTODOS:**

Se evaluaron 25 pacientes con VC. Los alérgenos detectados mediante CRD fueron *n Lol p 1* (11 casos), *n Cyn d 1* (8 casos), grupo 4 y 6 de polen de gramíneas (6 casos) y grupo 5 de gramíneas (5 casos). Sin embargo, el Prick test y la IgE solo fue positiva en un caso.

### **METHODS:**

We have hypothesized that the localization of the hypersensitive response in VC is responsible for the low efficacy of routine diagnostic tests. We have designed a comparative longitudinal study. The aim of this study is to evaluate the IgE-mediated allergic hypersensitivity to aeroallergens by CRD in patients with vernal conjunctivitis, seasonal conjunctivitis and healthy controls.

### **RESULTADOS**

Se pautó inmunoterapia específica según los resultados del CRD. Se evidenció mejoría clínica en 13 de las 25 VC tras un año de IT específica. A los 3 años, los pacientes han sido dados de alta.

### **RESULTS**

Twenty-five patients with VC were evaluated. The identified triggering allergens were *n Lol p 1* (11 cases), *n Cyn d 1* (8 cases), group 4 and 6 grasses (6 cases) and group 5 of grasses (5 cases). Prick test and pollen IgE were positive in one case. Clinical improvement was observed in 13/25 VC patients after one-year specific immunotherapy.

### **CONCLUSIONES**

El análisis molecular por CRD fue más sensible para obtener un diagnóstico en la CV.

La inmunoterapia dirigida logró mejoría en los pacientes tratados y fue bien tolerada.

## CONCLUSIONS

CRD seems to be a more sensitive diagnostic tool compared with prick test and IgE detection. Specific CRD-led immunotherapy may achieve clinical improvements in VC patients.

## AGRADECIMIENTOS

Estos estudios se realizaron gracias a ayudas del Ministerio de Ciencia e Innovación (Grant GL2014-52555-R y de la Gerencia Regional de Castilla y León ( Expt.: GRS 1058/A/104).

Nuestro mayor agradecimiento a nuestros pacientes, enfermeras y técnicos todo el apoyo técnico prestado en este estudio, así como a Jesús Barrio del Servicio de Digestivo de nuestro Hospital y a todos los becarios que han ayudado a analizar cientos de biopsias.

## DECLARATION OF ALL SOURCES OF FUNDING AND ACKNOWLEDGMENT:

This study was partially supported by the Spanish Ministry of Science and Innovation (Grant GL2014-52555-R) and the General Direction of Public Health, Castile and Leon (SACYL) and registered in its data base as (Expt.: GRS 1058/A/104).

## NOTA:

Al final de esta ponencia intervinieron el poeta Antonio Piedra y el cantautor Luis Antonio González Ruiz y se obsequió con el libro “Partitura marina” de la poetisa Blanca Martín Armentia, coautora de la investigación.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Furuta GT, Katzka DA. Eosinophilic Esophagitis. *N Engl J Med* 2015;373:1640-8
2. Cianferoni A, Spergel J. Eosinophilic Esophagitis: A Comprehensive Review. *Clin Rev Allerg Immunol* 2016;50:159-74
3. Hill DA, Spergel JM. The Immunologic Mechanism of Eosinophilic Esophagitis. *Curr Allergy Asthma Resp* 2016; 16:9
4. Sherill JD, Rothenberg ME. Genetic and epigenetic underpinnings of eosinophilic esophagitis. *Gastroenterol Clin N Am* 2014;43:269-80



5. Olson AA, Evans MD, Johansson Mw, Kim CH, Manthei DM, Gaumnitz EA. Role of food and aeroallergen sensitization in eosinophilic esophagitis in adults. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2016;117:387-393
6. Sugnanam KK, Collins JT, Smith PK, et al. Dichotomy of food and inhalant allergen sensitization in eosinophilic esophagitis. *Allergy* 2007;62:1257-60
7. Gómez Torrijos A, Sánchez Miranda P, Donado Palencia P, et al. Eosinophilic esophagitis: Demographic, clinical, endoscopic, histological and allergological characteristics in children and teenagers in a region of central Spain. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2016; 10. doi 10.18176/jiaci.0112
8. Sherill JD, Kc K, Wu D, Djukic Z, et al. Desmoglein-1 regulates esophageal epithelial barrier function and immune responses in eosinophilic esophagitis. *Mucosal Immunol* 2014;7:718-29
9. Noti M, Wojno ED, Kim BS, Siracusa MC, et al. Thymic stromal lymphopoietin-elicited basophil responses promote eosinophilic esophagitis. *Nat Med* 2013;19:1005-13
10. Sadikoff J, Ikuo Hirano. Therapeutic strategies in eosinophilic esophagitis: induction, maintenance and refractory disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2015;29:829-839
11. Molina-Infante, Lucendo AJ. Letter: dietary therapy in eosinophilic oesophagitis - do not test, just eliminate and reintroduce the most common food triggers. *Alim Pharmacol Ther* 2016;44:904-5
12. Bartra J, Sastre J, del Cuvillo A, et al. From pollinosis to digestive allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2009;19:3-10
13. Armentia A, Martín S, Barrio J, et al. Value of microarray allergen assay in the management of eosinophilic esophagitis. *Allergol Immunopathol* 2015;43:73-80
14. Zerbib F. Eosinophilic esophagitis. *Presse Med* 2017; 46:154-58
15. Ritchter JE. Eosinophilic esophagitis dilation in the community- Try It-You will Like It-But Start Low and Go Slow. *Am J Gastroenterol* 2016;111:214-6
16. Molina-Infante, Katzka DA. Proton-pump inhibitor-responsive esophageal eosinophilia. *Curr Opin Gastroenterol* 2014;30:428-33
17. Ahmet A, Benchimol EI, Goldbloom EB, Barkey JL. Adrenal suppression in children treated with swallowed fluticasone and oral viscous budesonide for eosinophilic esophagitis. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2016 ;10 :12 :49
18. Liacouras CA, Furuta GT, Hirano I, et al. Eosinophilic esophagitis: updated consensus recommendations for children and adults. *Journal Allergy Clin Immunol* 2011;128:3-20
19. Cianferoni A, Spergel JM, Muir A. Recent advances in the pathological understanding of eosinophilic esophagitis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2015;9:1501-10
20. Loizou D, Enay B, Komlodi-Pastor E, et al. A pilot study of omalizumab in eosinophilic esophagitis. *PLoS One* 2015; Mar 19;10(3):e0113483.

21. McGowan EC, Platts-Mills TA. Eosinophilic esophagitis from an allergy perspective: How to optimally pursue allergy & dietary modification in the adult population. *Curr Gastroenterol Res* 2016;18 (11):58.
22. Doefler B, Bryce P, Hirano I, Gonsalves N. Practical approach to implementing dietary therapy in adults with eosinophilic esophagitis: the Chicago experience. *Dis Esophagus* 2015;28:42-58.
23. Moawad FJ, Cheng E, Schoepfer A, et al. Eosinophilic esophagitis: current perspectives from diagnosis to management. *Ann Y Y Acad Sci* 2016; 1380:2014-2017
24. Billmyre KK, Hutson M, Klingensmith J. One shall become two: separation of the esophagus and trachea from the common foregut tube. *Dev Dyn* 2015;244:277-88
25. Lucendo A, Arias A, Tenias J. Relation between eosinophilic esophagitis and oral immunotherapy for food allergy: a systematic review with meta-analysis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2014;113:624-629
26. Sánchez A M, Bosch M, Bots M, Niewland J, Feron R & Mariani C. Pistil factors controlling pollination. *The Plant Cell* 2004; 16:98-106.
27. Shedletsky E, Unger C, Delmer DP. A microtiter-based fluorescence assay for (1,3)-beta-glucan synthases. *Ann Biochem* 1997;249:88-93.
28. Pelta R, Igea J, Henle J. Pathologische Untersuchungen. Von den Miasmen und Contagien und Von den Measmatisch Contagiosen Krankheiten. In Clemens von Pirquet; You & US eds. 1th ed. Madrid.Spain. 2016: 5-7
29. van Rhijn BD, Verheij J, Smout AJ, Bredenoord AJ. The endoscopic reference score shows modest accuracy to predict histologic remission in adult patients with eosinophilic esophagitis. *Neurogastroenterol Motil* 2016;28:1714-1722
30. Henderszon CJ, Abonia JP, King EC, et al. Comparative dietary therapy effectiveness in remission of pediatric eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immuno* 2012;129:1570-8
31. Straumann A. Treatment of Eosino philic Esophagitis: Diet, Drugs or Dilatation? *Gastroenterology* 2012;142:1409-1419
32. Fernández-González D., Rodríguez Rajo F.J., González Parrado Z. et al. Differences in atmospheric emissions of *Poaceae* pollen and Lol p 1 allergen. *Aerobiologia*, 2011, 27(4): 301-309
33. Rodríguez Rajo F.J., Jato V., González Parrado Z., et al. The combination of airborne pollen and allergen quantification to reliably assess the real pollinosis risk in different bioclimatic areas. *Aerobiologia* 2011, 27 (1): 1
34. Wang Y, Zhao Z, Deng M, Liu R, Niu S, Fan G. Identification and functional analysis of microRNAs and their targets in *Platanus acerifolia* under lead (Pb) stress. *Int J Mol Sci* 2015;30, 16:7098-111
35. Mahdavinia M, Bishehsari F, Hayt W, Elhassan A, Tobin MC, Ditto AM. Association of eosinophilic esophagitis and food pollen allergy syndrome. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2017;118:116-117.

36. Philpott HL, Nandurkar S, Thien F et al. Seasonal recurrence of food bolus obstruction in eosinophilic esophagitis. *Intern Med J.* 2015; 45:939-43
37. Schneider R, Hanak T, Persson S, Voight CA. Cellulose and callose synthesis and organization in focus, what's new. *Curr Opin Plan Biol* 2016;34:9-16
38. 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
39. Lara-Sanchez H, Vallejo LA. Eosinophilic otitis media. *N Engl J Med* 2017;16:376
40. Bielory L. Allergic and immunologic disorders of the eye. Part II: ocular allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106(6):1019-32.
41. Leonardi A, Castegnaro A, Valerio AL, Lazzarini D Ocular allergy. Epidemiology of allergic conjunctivitis: clinical appearance and treatment patterns in a population-based study. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2015;15(5):482-8.
42. La Rosa M, Lionetti E, Reibaldi M, et al. Allergic conjunctivitis: a comprehensive review of the literature. *Ital J Pediatr* 2013;39:18
43. Leonardi A, Bonini S. Is visual function affected in severe ocular allergies? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2013;13(5):558-62
44. Jalbert I, Golebiowski B. Environmental alerallergens and allergic rhino-conjunctivitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2015;15:247-81
45. Bielory L, Mongia A. Current opinion of immunotherapy for ocular allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002;2(5):447-52.
46. Bousquet J, Schunemann HJ, Samolinski B, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA): achievements in 10 years and future needs. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130(5):1049-62.
47. Vadlamudi A, Shaker M. New developments in allergy immunotherapy. *Curr Opin Pediatr.* 2015;27:649-55
48. 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(7):232-6.
49. Johansson SG, Bieber T, Dahl R, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113(5):832-6.
50. Leonardi A, Bogacka E, Fauquert JL, et al. Ocular allergy: recognizing and diagnosing hypersensitivity disorders of the ocular surface. *Allergy* 2012;67(11):1327-37.
51. Leonardi A, Lazzarini D, Bortolotti M, et al. Corneal confocal microscopy in patients with vernal keratoconjunctivitis. *Ophthalmology* 2012;119(3):509-15.
52. Leonardi A, Sathe S, Bortolotti M, et al. Cytokines, matrix metalloproteases, angiogenic and growth factors in tears of normal subjects and vernal keratoconjunctivitis patients. *Allergy* 2009;64(5):710-7.

53. Ballmer-Weber BK, Skamstrup Hansen K, Sastre J, et al. Component-resolved in vitro diagnosis of carrot allergy in three different regions of Europe. *Allergy* 2012;67(6):758-66.
54. Eigenmann PA. Component-resolved diagnosis in food allergy, are micro-array assays helpful to the clinician? *Allergy* 2008;63(11):1519-20.
55. Gonzalez-Buitrago JM, Ferreira L, Isidoro-Garcia M, et al. Proteomic approaches for identifying new allergens and diagnosing allergic diseases. *Clin Chim Acta* 2007;385(1-2):21-7.
56. Tuano KS, Davis CM. Utility of Component-Resolved Diagnostics in Food Allergy. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2015;15:32
57. Aalberse RC, Aalberse JA. Molecular Allergen-Specific IgE Assays as a Complement to Allergen Extract-Based Sensitization Assessment. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2015;3:863-9
58. Fernández-González D, Rodríguez-Rajo FJ, González-Parrado Z, et al. Differences in atmospheric emissions of Poaceae pollen and Lol p 1 allergen. *Aerobiologia* 2011;27(4):301-9.
59. Rohit A, Stapleton F, Brown SH, et al. Comparison of Tear Lipid Profile among Basal, Reflex, and Flush Tear Samples. *Optom Vis Sci* 2014.
60. Tabbara KF. Tear tryptase in vernal keratoconjunctivitis. *Arch Ophthalmol* 2001;119(3):338-42.
61. Tabbara KF. Ocular complications of vernal keratoconjunctivitis. *Can J Ophthalmol* 1999;34(2):88-92.
62. Rodríguez-Rajo FJ, Jato V, González-Parrado Z, et al. 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.
63. Joss J, Craig T. Seasonal allergic conjunctivitis. *Drugs Today (Barc)* 1998;34(3):259-65.
64. Sastre J, Landivar ME, Ruiz-Garcia M, et al. How molecular diagnosis can change allergen-specific immunotherapy prescription in a complex pollen area. *Allergy* 2012;67(5):709-11.
65. 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. *Allergol Immunopathol* 2015;43:73-80
66. Huss-Marp J, Gutermuth J, Schäffner I, Darsow U, Pfab F, Brockow K, Ring J, Behrendt H, Jakob T, Ahlgrim C. Comparison of molecular and extract-based allergy diagnostics with multiplex and singleplex analysis. *Allergo J Int*, 2015;24:46-53

## TABLAS

Tabla 1: Alérgenos detectados por CRD, Prick e IgE en &gt; 10% de pacientes.

CRD positivos	Controles sanos n=50	Asma polínico n=50	Enfermedad celiaca n=52	Esofagitis eosinofílica n=129	Total n=282	p (Chi cuadrado)
<i>pol 1</i>	1 (2%)	36 (72%)	13 (24%)	71 (55%)	121 (43%)	<0.001
<i>n Cyn d 1</i>	0 (0.0%)	17 (34%)	8 (15.1%)	50 (38.8%)	75 (26.6%)	<0.001
<i>n Pru p 3</i>	0 (0.0%)	1 (2%)	3 (5.7%)	27 (20.9%)	31 (11%)	<0.001
<i>n Art v 3</i>	0 (0.0%)	2 (4%)	4 (7.5%)	26 (20.2%)	32 (11.6%)	<0.001
<i>r Cor a 8</i>	0(0.0%)	2 (4%)	4 (7.5%)	24 (18.6%)	30 (10.6%)	<0.001
<i>n Jug r1</i>	0(0.0%)	3 (6%)	3 (5.7%)	23 (17.8%)	29 (10.3%)	<0.001
<i>pol 5</i>	0 (0.0%)	6 (12%)	6 (11.3%)	16 (12.4%)	28 (9.9%)	0.08
<i>r Ani s 1</i>	2 (4%)	3 (6%)	0 (0.0%)	15 (12.4%)	21 (7.4%)	0.020
<i>Profilina de gramin</i>	0(0.0%)	2 (4%)	3 (5.7%)	15 (11.6%)	20 (7.1%)	0.033
<i>Profilina de árboles</i>	0(0.0%)	7 (14%)	3 (5.7%)	14 (10.9%)	24 (8.5%)	0.045
<b>SPT positivos</b>						
<i>Lolium perenne</i> (rye grass)	2 (4%)	44(88%)	3(5.7%)	47 (36.4%)	96 (34%)	<0.001
<i>Cynodon dactylon</i> (bermuda grass).	1 (2%)	20 (40%)	3(5.7%)	35 (27.1%)	59 (20.9%)	<0.001
<i>Olea europaea</i>	0(0.0%)	14 (28%)	0(0.0%)	22 (17.1%)	36 (12.8%)	<0.001
<i>Melocotón</i>	0(0.0%)	3 (6%)	0(0.0%)	16 (12.4%)	19 (6.7%)	0.003
<i>Cupressus spp.</i>	0(0.0%)	4 (8%)	0(0.0%)	15 (11.6%)	19 (6.7%)	0.006
<i>Avellana</i>	0(0.0%)	3 (6%)	0(0.0%)	12 (9.3%)	15 (5.3%)	0.019
<i>Nuez</i>	0(0.0%)	2 (4%)	0(0.0%)	12 (9.3%)	14 (5%)	0.014
<b>IgE positiva</b>						
<i>Lolium perenne</i>	0(0.0%)	25(50%)	4(7.5%)	23 (17.8%)	52 (18.4%)	<0.001
<i>Cynodon dactylon</i>	0(0.0%)	12 (24%)	6(11.3%)	18 (14%)	36 (12.8%)	0.004
<i>Olea europaea</i>	0(0.0%)	6 (12%)	1(1.9%)	16 (12.4%)	23 (8.2%)	0.01
<i>Cupressus spp.</i>	0(0.0%)	1 (2%)	0(0.0%)	11 (8.5%)	52 (18.4%)	0.12
<i>Melocotón</i>	0(0.0%)	7 (14%)	1(1.9%)	11 (8.5%)	36 (12.8%)	0.15

*pol 1*: Grupo 1 de polen (incluye  $\beta$ -expansinas *n Lol p 1* de *Lolium perenne* y *r Phl p 1* de *Phleum pratense*). *pol 4,5*: Incluye *r Phl p 5* ribonucleasa., *n Cyn d 1*: Grupo 1  $\beta$ -expansina de *Cynodon dactylon*; *n Pru p 3*: Proteína transportadora de lípidos de melocotón; *r Cor a 8*: Proteína transportadora de lípidos de avellana; *n Art v 3*: Proteína transportadora de lípidos de artemisia, *r Jug r1*: Nuez 2S Albumins, *r Ani s 1*: Serin-protease inhibidora de *Anisakis simplex*. **n**: native allergen. **r**: recombinant allergen

**Tabla 2:** Evolución de pacientes con EoE tras dos años de inmunoterapia específica y/o dieta de eliminación.

<b>Intervención en 129 pacientes con EoE</b>	<b>No AIT/ no evitación</b>	<b>AIT solo</b>	<b>Evitación solo</b>	<b>AIT+ evitación</b>	<b>Polen/ tubos polínicos</b>	<b>Calosa</b>
<b>AIT: Inmunoterapia</b>	19	23	19	68	80	76
Grupo 1 de polen de gramíneas		22		33	55	55
Otras mezclas de polen		1		25	25	21
<b>Evitación</b>						
Avellana			1			
Avellana+nuez			2			
Melocotón/ frutas			16			
<b>AIT/Evitación</b>						
Avellana				23		
Avellana+nuez				22		
Melocotón/ frutas				15		
Alimentos marinos				8		
<b>Mejoría significativa a los 2 años</b>	1 (5.2%)	22 (95.6%)	14 (73.7%)	64 (94.1%)	7	3
<b>Libre de síntomas a los 2 años</b>	1 (5.2%)	22 (95.6%)	11(57.9%)	64 (94.1%)	6	2

**Tabla 3:** Resultados del Component Resolved Diagnosis en Conjuntivitis

Positive arrays	Healthy controls n=50	AC n=50	VC n=25	p (Chi square test)
<i>pol 1</i>	1	36	11	<0.001
<i>pol 2</i>	0	34	2	<0.001
<i>pol 4</i>	0	21	3	<0.001
<i>pol 5</i>	0	6	5	0.009
<i>pol 6</i>	0	14	3	<0.001
<i>n Cyn d 1</i>	0	17	9	<0.001
<i>n Der p 1</i>	0	1	2	0.1
<i>n Der p 2</i>	1	1	2	0.31
<i>r Alt a 1</i>	0	2	1	0.36
<i>r Ani s 1</i>	2	3	0	0.46
<i>n Pru p 3</i>	0	1	2	1
<i>r Cor a 8</i>	0	2	2	0.16
<i>n Art v 3</i>	0	2	2	0.16

VC: vernal conjunctivitis

AC: Allergic conjunctivitis

*pol 1*: Group one of pollen (include the  $\beta$ -expansines *n Lol p 1* from *Lolium perenne* and *r Phl p 1* from *Phleum pratense*)

*pol 4,5,6*: Include *r Phl p 5* ribonuclease and *r Phl p 6* from *Phleum pratense*.

*n Cyn d 1*: Group 1 of *Cynodon dactylon* (Bermuda grass pollen)

*n Der p 1* and *n Der p 2*: Cysteine-proteases of *Dermatophagoides pteronyssinus* and *farinae*, respectively.

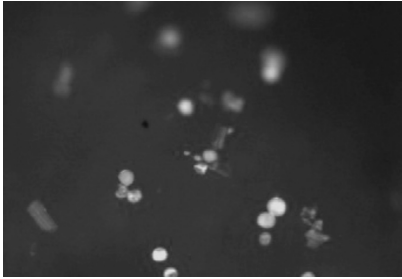
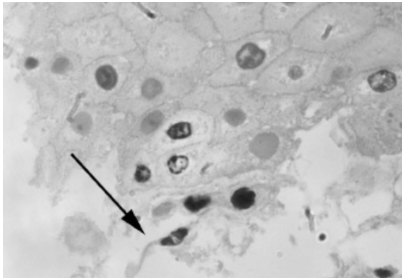
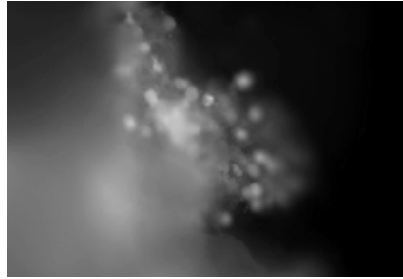
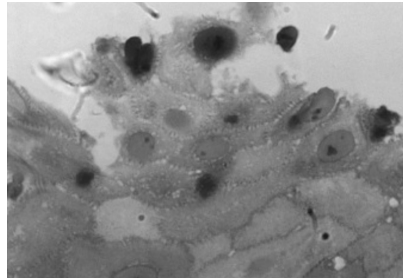
*r Alt a 1*: Acidic glycoprotein of *Alternatia alternata*

*r Ani s 1*: Serin-protease inhibitor of *Anisakis simplex*

*n Pru p 3*: Peach lipid transfer protein

*r Cor a 8*: Hazelnut lipid transfer protein

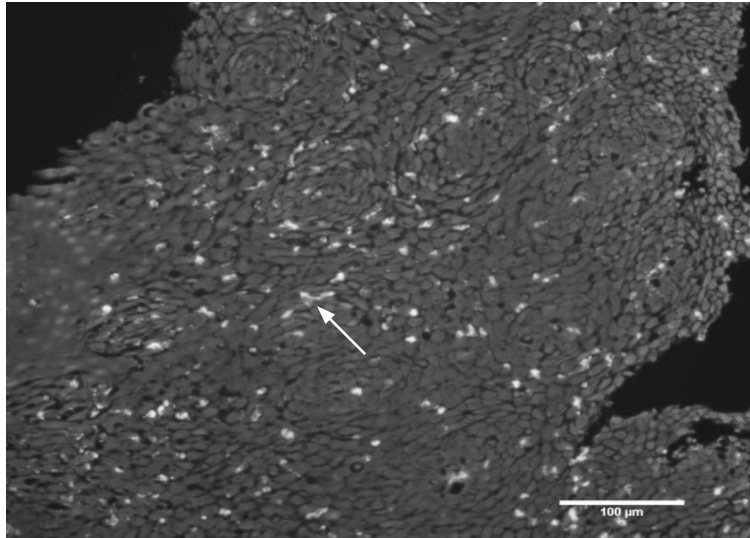
*n Art v 3*: Mugwort lipid transfer protein. n: native allergen. r: recombinant allergen

**FIGURAS****1A. 200  $\mu\text{m}$** **1B. 200  $\mu\text{m}$** **1C. 50  $\mu\text{m}$** **1D. 20  $\mu\text{m}$** 

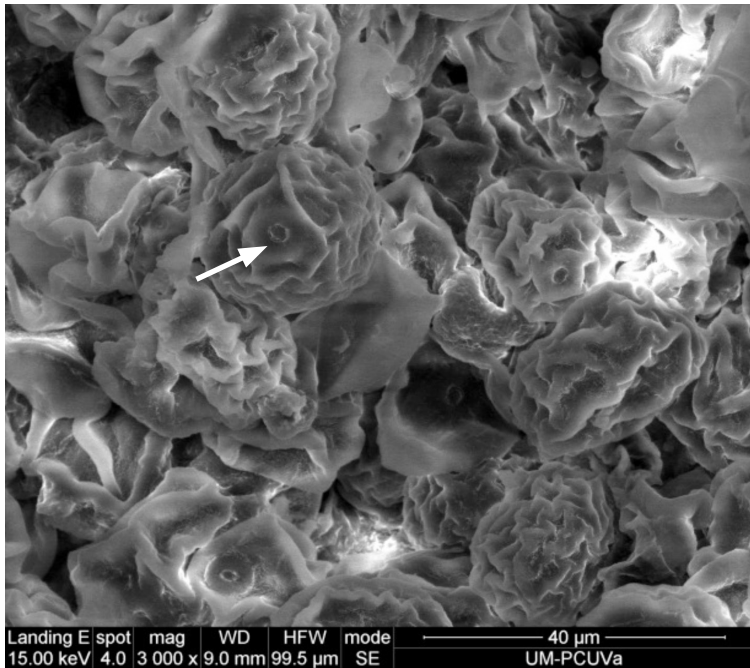
**Figura 1:** Epifluorescencia (A y B) mostrando polen, esporas y otros elementos de plantas sobre la superficie de las biopsias de esófago tras la fijación histológica. (C and D): Impactación de polen en la mucosa esofágica mostrando epitelio escamoso dañado. Semi-tinción con azul de toluidina. La flecha indica los tubos polínicos.



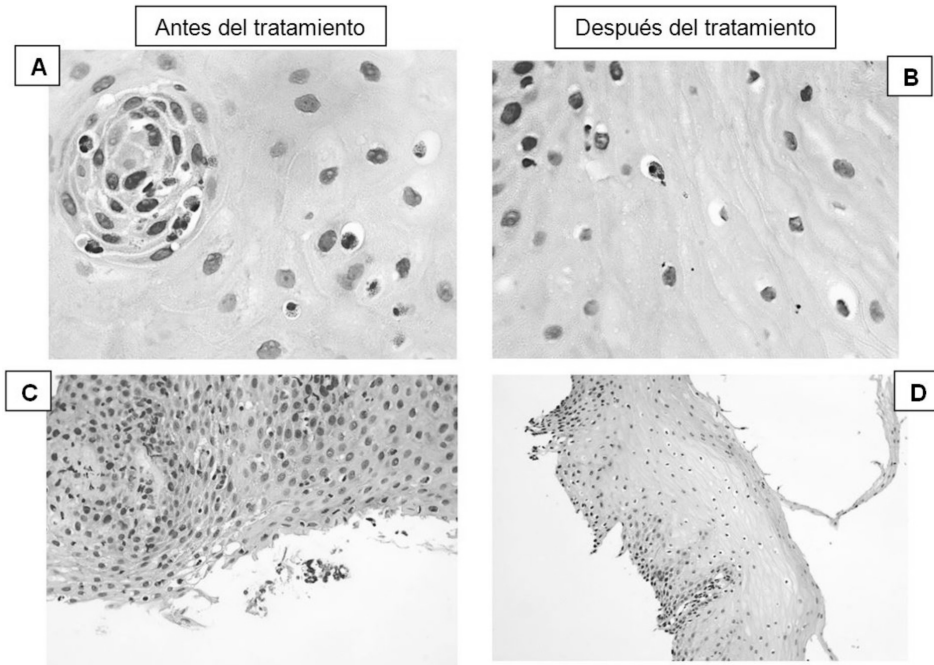
2A



2B



**Figura 2:** A: Células epiteliales dañadas y espacios intercelulares ampliados. La flecha indica el tubo polínico. B: Micro-impactación sobre todo compuesta de granos de polen de la familia *Poaceae* infiltrando los espacios intercelulares. Las flechas indican los característicos *annulus* del polen de gramíneas.



**Figura 3.** La histología humana demostró infiltrado de eosinófilos antes y después del tratamiento dirigido con inmunoterapia y dieta . Se observa un descenso significativo del infiltrado eosinófilo a los 2 años de tratamiento. Human histology showed eosinophilic infiltration before AIT and elimination diet with significant decrease of eosinophil infiltrate at two years.  
(Antes de AIT H/E 100x, > 15 Eo/CGA: Después de AIT (H/E 40x). H/E: Hematosiline-eosine