

TÍTULO:

“Valoración de la proteína catiónica eosinofílica como biomarcador para el seguimiento de pacientes con esofagitis eosinofílica en tratamiento con dietas de exclusión específicas”

Autor:

Joan Doménech Witek

Directores:

Juan Bautista Doménech Clar

Vicente Jover Cerdá

Vicente Francisco Gil Guillén

**Programa doctorado:**

Doctorado en Investigación Clínica (RD 1393/2007)

Universidad Miguel Hernandez

D. JAVIER FERNANDEZ SÁNCHEZ, Director del Departamento de Medicina Clínica de la Universidad Miguel Hernández

AUTORIZA:

La presentación y defensa como Tesis Doctoral del trabajo
“Valoración de la proteína catiónica eosinofílica como biomarcador para el seguimiento de pacientes con esofagitis eosinofílica en tratamiento con dietas de exclusión específicas” presentado por D. Joan Doménech Witek bajo la dirección del Dr. D. Juan Bautista Doménech Clar, Dr. D. Vicente Jover Cerdá y Dr. D. Vicente Francisco Gil Guillén

Lo que firmo en San Juan de Alicante a 5 de Julio de 2017.

Prof. J. Fernández
Director
Dpto. Medicina Clínica

Los doctores D. Juan Bautista Doménech Clar, D. Vicente Jover Cerdá y D. Vicente Francisco Gil Guillén como Directores de Tesis Doctoral

CERTIFICAN:

Que el trabajo “Valoración de la proteína catiónica eosinofílica como biomarcador para el seguimiento de pacientes con esofagitis eosinofílica en tratamiento con dietas de exclusión específicas” realizado por D. Joan Doménech Witek ha sido llevado a cabo bajo nuestra dirección y se encuentra en condiciones de ser leído y defendido como Tesis Doctoral en la Universidad Miguel Hernández.

Lo que firmamos para los oportunos efectos en San Juan de Alicante a 5 de Julio de 2017.

Fdo. Dr. D. Juan Bautista Doménech Clar

Fdo. Dr. D. Vicente Jover Cerdá

Fdo. Dr. D. Vicente Francisco Gil Guillén

A Zahira, porque sin ella nada sería posible.

A toda mi familia, por estar siempre a mi lado.

A Elena, ejemplo eterno de lucha y valores.



A mis directores de tesis,

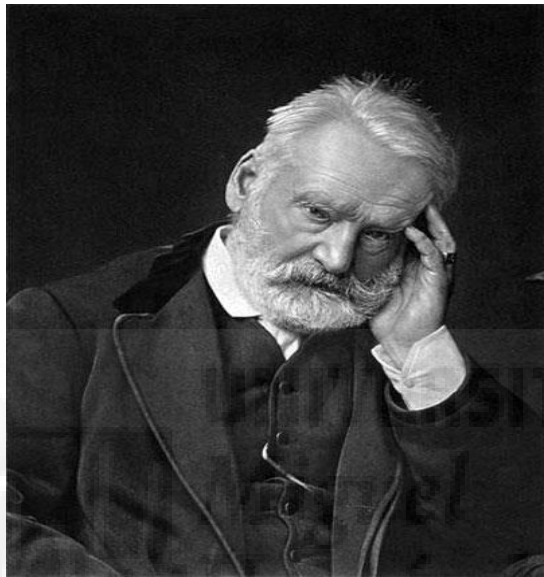
Dr. Juan Bautista Doménech Clar,

Dr. Vicente Jover Cerdá,

Dr. Vicente Francisco Gil Guillén,

por su cariño y apoyo en la realización de esta tesis doctoral.





Victor Hugo

"El futuro tiene muchos nombres. Para los débiles es lo inalcanzable. Para los temerosos, lo desconocido. Para los valientes es la oportunidad"

RESUMEN EN CASTELLANO E INGLÉS

RESUMEN

Introducción

La esofagitis eosinofílica (EoE) es una patología compleja. Se han realizado intentos para relacionar la EoE con la ingesta de ciertos alimentos. El problema es establecer qué alimentos están realmente involucrados en la fisiopatología de esta enfermedad y objetivar un biomarcador inflamatorio fiable para el seguimiento de pacientes sometidos a tratamiento farmacológico y/o dietas.

Objetivo

Nuestro objetivo es evaluar el perfil de sensibilización alimentaria de los pacientes con diagnóstico objetivado de EoE y determinar la utilidad de proteína catiónica eosinofílica (ECP) como biomarcador inflamatorio para el seguimiento de pacientes con EoE tratados con dietas específicas, con la hipótesis de que se observará disminución así como mejoría clínica tras el mantenimiento de estas dietas.

Métodos

Se incluyeron 19 sujetos entre el 1 de enero de 2012 y el 30 de junio de 2015. Se establecieron dietas basadas en pruebas de alergia. Antes del inicio de las dietas, se determinó la ECP basal. Se organizaron citas para los pacientes entre 4 y 6 meses más tarde para evaluar la respuesta clínica a las dietas específicas y para solicitar una segunda muestra de sangre y valorar los niveles séricos de ECP tras las dietas y

compararlos con la cifra basal.

Resultados

Finalmente fueron incluidos 19 pacientes diagnosticados de EoE (12 varones y 7 mujeres) entre enero de 2012 y junio de 2015, con edades comprendidas entre 17 y 68 años ($33,52 \pm 13,67$), 15 de los cuales mostraron una respuesta óptima a las dietas específicas basadas en pruebas de alergia. Se observó una disminución estadísticamente significativa de la ECP en nuestros pacientes.

Discusión

Hasta ahora, la mayoría de los estudios publicados anteriormente en referencia al uso de ECP como biomarcador para el seguimiento de pacientes en tratamiento con dietas muestran una disminución llamativa pero no estadísticamente significativa en los niveles de ECP. Sin embargo, la ECP parece ser un buen marcador de inflamación si las determinaciones se realizan evitando factores confusionales.

Conclusion

La determinación seriada de ECP es útil en el seguimiento de pacientes con EoE tratados con dietas específicas.

ABSTRACT

Background

Eosinophilic esophagitis (EoE) is a complex pathology. Attempts have been made in order to relate EoE with the intake of certain food. The problem is to establish which foods are really involved in the pathophysiology of this condition and to objectify a reliable inflammation biomarker for the follow-up of patients undergoing pharmacological treatment and/or diets. Our aim is to assess the food sensitization profile of patients with objective diagnosis of EoE and objectify the utility of ECP as an inflammation biomarker for the follow-up of patients with EoE treated with specific diets, based on the hypothesis that we will observe a decrease and clinical improvement after maintenance of these diets.

Methods

A total of 19 subjects were included between 1 January 2012 and 30 June 2015. Diets based on allergy testing were established. Prior to the initiation of the diets, baseline ECP was determined. Appointments were arranged for the patients between 4 and 6 months later to assess the clinical response to the specific diets and to request a second blood sample for blood counts and serum ECP levels to compare with the previous baseline.

Results

19 patients diagnosed with EoE (12 males and 7 females) between January 2012 and June 2015, aged between 17 and 68 (33.52; SD 13.67 years), were included

consecutively, 15 of whom showed optimum response to specific diets based on allergy testing. A statistically significant difference ECP decrease was observed in our patients.

Discussion

Until now most of the studies previously published in reference to the use of ECP as a biomarker for monitoring patients on treatment with diets show consistent but insignificant decreases in ECP levels. However, ECP seems to be a good marker of inflammation if the determinations are performed avoiding confounding factors.

Conclusion

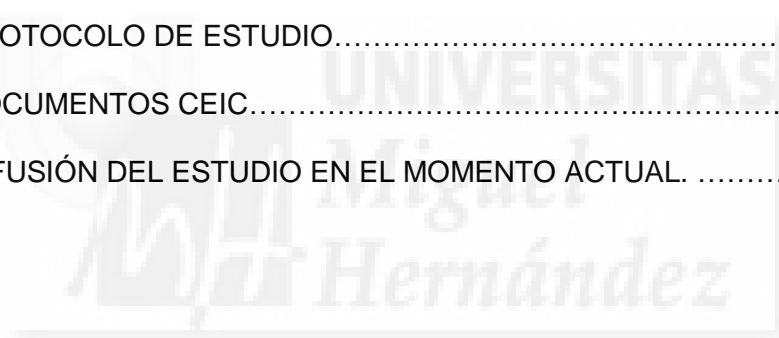
The serial determination of ECP is useful when monitoring patients with EoE treated with specific diets.



ÍNDICE

1. GLOSARIO.....	11
2. INTRODUCCIÓN.....	12
2.1. ALERGIA E INMUNOLOGIA: LA REACCIÓN ALÉRGICA.....	13
2.1.1. TIPOS DE REACCIONES ALÉRGICAS.....	19
2.2. ALERGIA ALIMENTARIA.....	23
2.3. ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA: FENOTIPADO y MANEJO.....	24
2.4. MEDIADORES INFLAMATORIOS EN ALERGIA.....	27
2.5. BÚSQUEDA DE NUEVOS ALERGENOS ALIMENTARIOS y REACTIVIDAD CRUZADA.....	28
2.6. LA PROTEÍNA CATIONICA EOSINOFÍLICA.....	31
2.7. EXPERIENCIA PREVIA DEL INVESTIGADOR EN EL CAMPO ABORDADO...33	
2.8. ESTADO ACTUAL DEL DIAGNÓSTICO Y MANEJO DE PACIENTES CON EoE.....	36
3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	39
4. HIPÓTESIS DEL ESTUDIO.....	42
5. OBJETIVO DEL ESTUDIO.....	44
6. MATERIAL Y MÉTODOS.	46
6.1. RECURSOS MATERIALES y HUMANOS.....	47
6.2. DISEÑO DEL ESTUDIO.	48
6.3. ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO y ENDOSCÓPICO.....	49
6.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	50
6.5. ASPECTOS ÉTICOS.	50

7. RESULTADOS.	51
7.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS.	52
7.2. DATOS CLÍNICOS.	52
7.3. ESTUDIO ESTADÍSTICO.	52
7.4. RESPUESTA CLÍNICA.	53
8. DISCUSIÓN y CONCLUSIONES.....	54
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	59
10. ANEXOS.....	65
10.1. PUBLICACIÓN DEL ESTUDIO.	66
10.2. FIGURA y TABLAS.....	73
10.3. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PACIENTES.	77
10.4. CUESTIONARIO DE CALIDAD DE VIDA.	78
10.5. PROTOCOLO DE ESTUDIO.....	80
10.6. DOCUMENTOS CEIC.....	81
10.7. DIFUSIÓN DEL ESTUDIO EN EL MOMENTO ACTUAL.	84



GLOSARIO

ECP: Proteína catiónica eosinofílica.

EoE: Esofagitis eosinofílica.

IBP: Inhibidor de la bomba de protones.

FeNO: Óxido nítrico en aire exhalado.



2. Introducción



2. INTRODUCCIÓN:

2.1. Alergia e inmunología: La reacción alérgica [1].

La alergia (neologismo creado a partir de los lexemas griegos a *αλλος*—«otro o distinto»—, y *εργία*) es una reacción inmunitaria desmesurada del organismo frente a una sustancia generalmente inocua para el anfitrión, que se manifiesta por unos signos y síntomas característicos cuando este se expone a ella (por inhalación, ingestión o contacto cutáneo). La consecuencia final de este error del sistema inmunitario es la enfermedad del anfitrión, provocada por los efectos colaterales sufridos por los tejidos, allí donde el sistema inmunitario trata de defenderse de esa sustancia inocua. Las manifestaciones clínicas de esta enfermedad son diversas, ya que dependen de la sustancia causal y del órgano afectado. La alergia es la causa fundamental de enfermedades tan frecuentes como la conjuntivitis, la rinitis, el asma y de la anafilaxia.

Para entender como se desarrolla una “reacción alérgica” primero debemos conocer las características fundamentales de nuestro sistema inmune:

1. Especificidad: Es la capacidad para reconocer y responder frente a un antígeno determinado.
2. Diversidad: Pese a poder responder de forma específica frente a un antígeno, nuestro sistema inmune tiene la capacidad para “aprender” a reconocer a una gran variedad de antígenos.
3. Selección clonal de linfocitos para cada antígeno.

4. Memoria inmunológica: Explica la capacidad del organismo para desarrollar una respuesta secundaria frente a un antígeno conocido.

5. Autolimitación, pudiendo atenuar la respuesta para evitar, en situación fisiológica, el daño colateral a los tejidos propios.

6. Tolerancia innata para antígenos propios, pero pudiendo desarrollarla para antígenos foráneos (base de muchas de las terapias empleadas en alergología).

Un antígeno es una molécula que puede ser reconocida por nuestro sistema inmune. Dicha molécula se caracteriza por su inmunogenicidad y su antigenicidad. La parte del antígeno que es específicamente reconocida es el epitopo o determinante antigénico. Un antígeno suele tener distintos epitopos. Por otra parte podemos hablar de antígenos completos o incompletos, constituidos por un hapteno y un "carrier". Un dato importante es que las secuencias de aminoácidos reconocidas, pueden serlo como estructuras secundarias (secuenciales) o terciarias (conformacionales) [Figura 1]. Este hecho condiciona que algunos alérgenos se caractericen por su termoestabilidad o termolabilidad. En muchos casos, al someter un alérgeno a temperaturas extremas condicionamos la pérdida de su estructura terciaria o conformacional, perdiendo su antigenicidad y capacidad para generar una respuesta por parte del sistema inmune. En la práctica supone que algunos alimentos a los que un paciente es alérgico, son tolerados si se cocinan a altas temperaturas o se congelan (como ocurre con el anisakis).

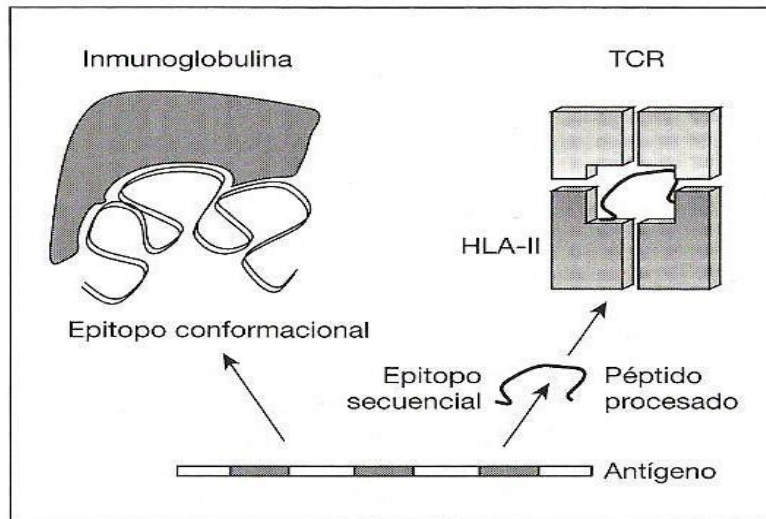


Figura 1. Epitopos secuenciales y conformacionales.

Otro concepto básico para entender como funciona nuestro sistema inmune son las citocinas. Son proteínas o glucoproteínas que actúan sobre receptores de la membrana celular y pueden ejercer más de una acción biológica actuando sobre varios tipos celulares distintos. En la práctica son el mecanismo de comunicación entre las células que componen nuestro sistema inmune, de modo que cada tipo de citocina tiene una serie de finalidades específicas (interleucinas (IL) en el crecimiento y activación de leucocitos; chemocinas para el reclutamiento en el foco inflamatorio; factores de crecimiento hematopoyético; interferones en la respuesta a infecciones virales; factor de necrosis tumoral o el TGF Beta: proliferación de fibroblastos/matriz extracelular)

Los receptores de membrana que permiten los mecanismos de reconocimiento de antígenos propios o exógenos, para su tolerancia o su ataque, respectivamente, son las moléculas de adhesión que constituyen nuestro sistema HLA (complejo mayor de histocompatibilidad). El HLA de tipo I permite la tolerancia y los HLA de tipo II el reconocimiento de antígenos exógenos [Figura 2].

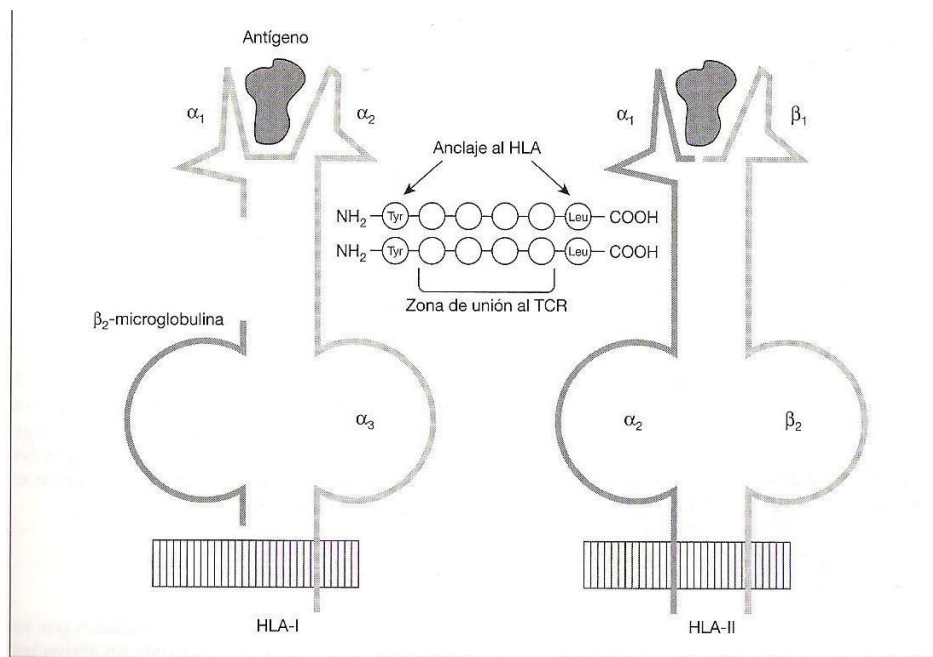


Figura 2. Representación de los HLA de tipo I y de tipo II.

Es por tanto importante destacar que los complejos mayores de histocompatibilidad de tipo I están presentes en todas las células de nuestro organismo mientras que los complejos mayores de histocompatibilidad de tipo II lo hacen en células específicas como las células presentadoras de antígeno o los linfocitos B y T. De hecho los mencionados linfocitos B y T pueden reconocer antígenos que otras células les presentan a través de sus sistemas HLA mediante receptores de membrana propios, denominados BCR (receptores de los linfocitos B caracterizados por ser receptores solubles con capacidad para actuar como inmunoglobulinas circulantes) y TCR (receptores de superficie de los linfocitos T). Es precisamente la exposición al antígeno lo que condiciona una maduración de los linfocitos en dos fases, una primaria e independiente del antígeno y una secundaria dependiente del antígeno y que condiciona las respuestas inmunológicas secundarias que son la base en su forma alterada de las reacciones alérgicas [Figura 3].

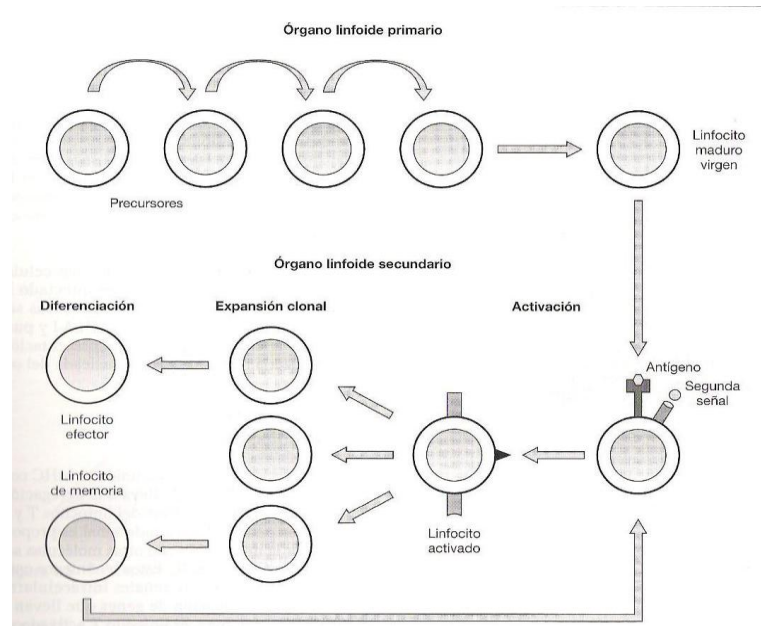


Figura 3. Proceso de maduración linfocitaria.

Un concepto básico a la hora de entender las reacciones alérgicas es el balance Th1 y Th2. Existen dos subpoblaciones linfocitarias de los linfocitos T CD4: Los linfocitos Th1 a través de ciertas citocinas (IL2e IFN Gamma) inducen inmunidad celular (Implicados en procesos de autoinmunidad). Los linfocitos Th2 secretan de forma predominante IL4, IL5 e IL13, induciendo particularmente la secreción de IgE, principalmente implicadas en las reacciones alérgicas de tipo I o inmediato. Es importante destacar que se trata de poblaciones excluyentes. En los pacientes con perfil “alérgico” predomina la subpoblación linfocitaria Th2.

Como se ha comentado previamente, existe un tipo de receptor de membrana soluble o circulante, sintetizado y liberado de forma predominante por los linfocitos B. Nos referimos a las inmunoglobulinas. Las inmunoglobulinas se caracterizan por poseer una región “fija” o carboxiterminal y una región “variable” o aminoterminal, que es la que la capacita para unirse a una gran variedad de antígenos [Figura 4].

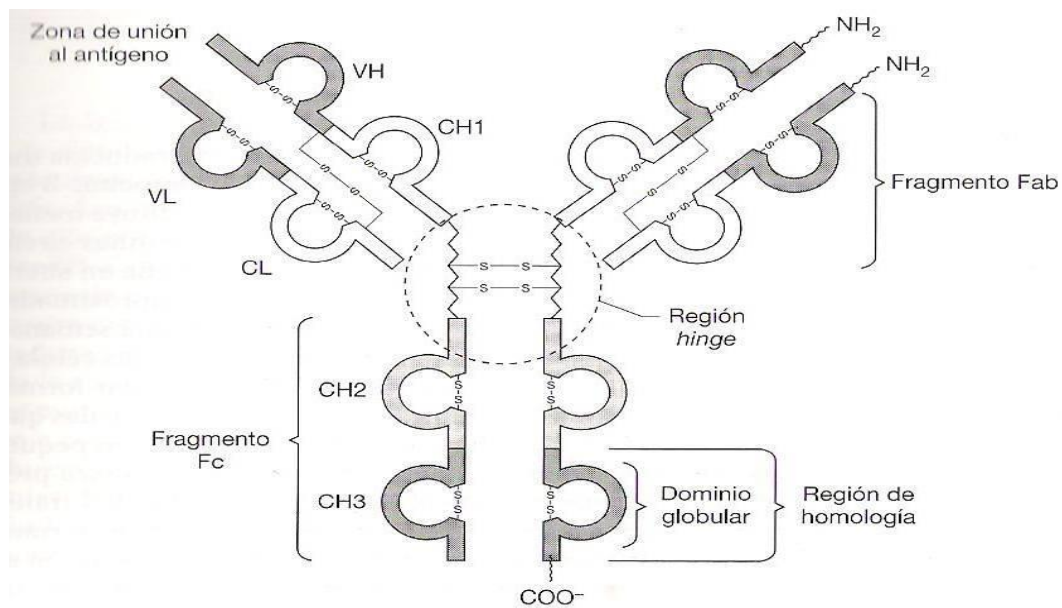


Figura 4. Regiones carboxiterminal (fragmento Fc) y aminoterminal (fragmento Fab) de las inmunoglobulinas.

Existen distintos tipos de inmunoglobulinas y cada tipo posee una distribución y funciones características:

1. IgG, es la más prevalente (80%) y se relaciona con mecanismos de neutralización, opsonización y citotoxicidad celular.
2. IgA (10%) está implicada en la inmunidad de mucosas.
3. IgM (9%) está relacionada con la respuesta inmunitaria primaria. Finalmente
4. IgE (0.04%) está implicada en la protección frente a parásitos y en las reacciones alérgicas de tipo I.

2.1.1. Tipos de reacciones alérgicas:

Las reacciones alérgicas que de forma anómala se pueden desarrollar en nuestro organismo se clasifican artificialmente en 4 tipos:

Las reacciones de tipo I [Figura 5]:

Constituyen la forma típica y posiblemente más frecuente de reacción de hipersensibilidad. Son reacciones inmediatas mediadas por inmunoglobulinas E. La interacción de la IgE de la superficie de mastocitos y basófilos, provoca la degranulación de mediadores inflamatorios por parte de dichas células. Se relaciona directamente con conceptos como anafilaxia.

Las reacciones de tipo I se producen cuando en una segunda exposición al alérgeno, la interacción del mismo (a través de las células presentadoras de antígeno y su complejo mayor de histocompatibilidad de tipo II) con dos moléculas de IgE adheridas a la superficie de mastocitos y basófilos induce la liberación de mediadores.

Suele constar de dos fases de respuesta, la inmediata observada entre 30 y 60 minutos tras la exposición al alérgenos y la tardía, que puede ocurrir hasta 6 a 8 horas después.

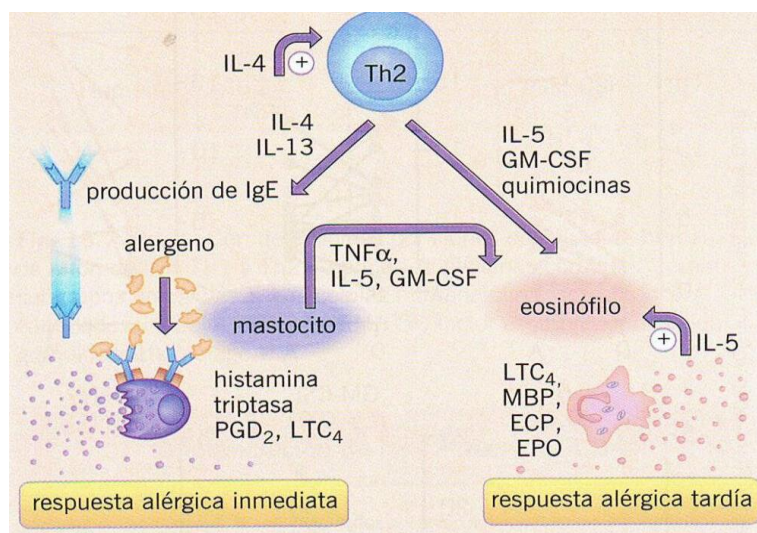


Figura 5. Reacción alérgica de tipo I.

Las reacciones de tipo II:

Son la base de muchas enfermedades autoinmunes. El diagnóstico se basa en la detección del depósito de inmunoglobulinas o factores del complemento en el tejido diana. Se basa en el uso de técnicas diagnósticas como la Inmunofluorescencia o aglutinación (Coombs). Su paradigma son las reacciones transfusionales.

Las reacciones de tipo III [Figura 6]:

Se trata de reacciones mediadas por el depósito de inmunocomplejos. Entendemos como inmunocomplejo la conjunción de un anticuerpo específico y un antígeno soluble. Los anticuerpos deben ser IgM o IgG capaces de activar la vía del complemento.

El problema radica en un exceso de presencia de inmunocomplejos por que se forman demasiados y/o por problemas en el aclaramiento o eliminación de los mismos. Su depósito provocará problemas en los órganos en los que se acumulen.

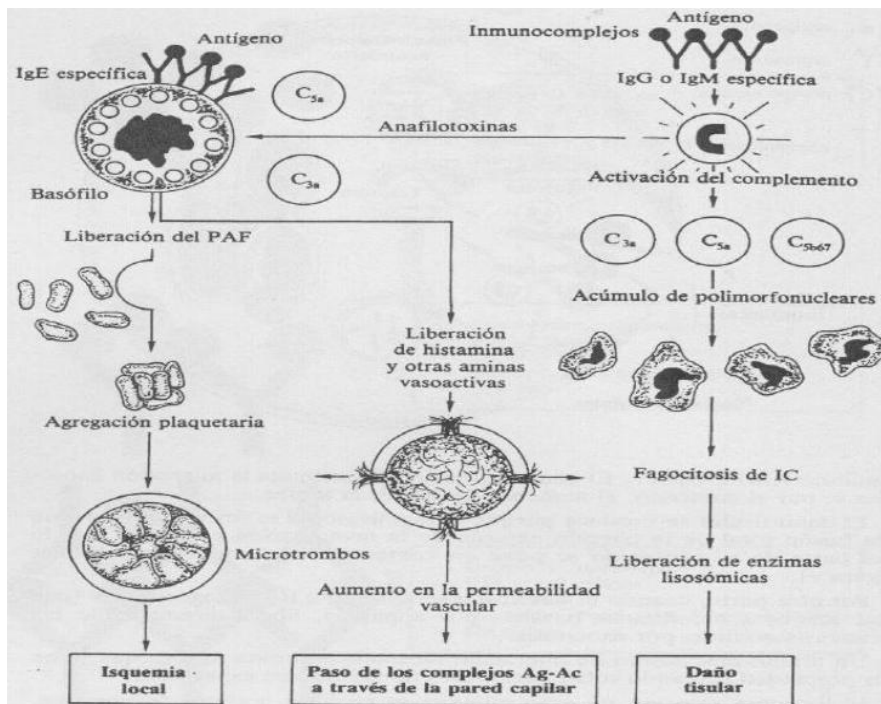


Figura 6. Reacción alérgica de tipo III.

Posiblemente, la reacción de tipo III más conocida sea la “enfermedad del suero”, observada en relación con la administración de la vacuna antitetánica, enzimas como la estreptoquinasa o determinados antibióticos como el cefaclor (mayor prevalencia en pediatría).

Las reacciones de tipo IV [Figura 7]:

Mediadas por respuesta celular “directa”, suelen estar implicados linfocitos Th1, linfocitos citotóxicos CD8+ y células “Natural killer”. Se deben a alérgenos de bajo peso molecular con capacidad para penetrar a través de la piel. Entre los desencadenantes más frecuentes destacamos los metales como el níquel, productos de peluquería o excipientes cosméticos. Es el mecanismo observado en la reacción tuberculínica o la dermatitis de contacto.

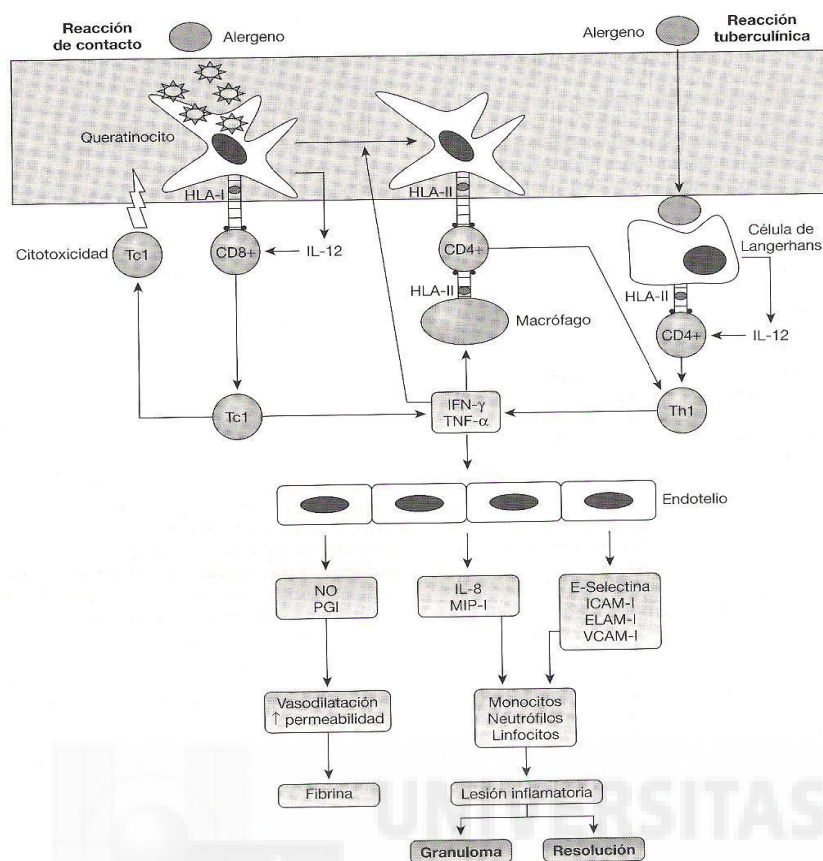


Figura 7. Reacción alérgica de tipo IV.

El problema al que nos enfrentamos con frecuencia es que los distintos tipos de reacciones descritas no son excluyentes, pudiendo observar reacciones de tipo mixto con componente, por ejemplo de tipo I y III o I y IV. Un ejemplo llamativo son las “dermatitis de contacto proteínicas” en las que observamos una expresión clínica característica de una reacción de tipo IV pero en las que podemos identificar alérgenos mediante el uso de técnicas diagnósticas de tipo I como el prick. Otros ejemplos son las propias esofagitis eosinofílicas o ciertos tipos de reacción severa frente a fármacos como el síndrome de DRESS.

2.2. Alergia alimentaria.

La alergia alimentaria es un fenómeno frecuente especialmente prevalente durante el primer año de vida, afectando a un 6% de los niños de menos de 3 años. Se trata de una respuesta alterada del sistema inmune de la mucosa digestiva frente a los antígenos que atraviesan el tracto digestivo. El hecho de que hasta los 4 años de edad no se alcance la madurez del sistema enzimático y unos niveles óptimos de IgA, explica la alta prevalencia de los procesos citados en niños. Podemos clasificar a los alérgenos alimentarios en alérgenos de clase I: Se trata de alérgenos de 10 a 70 kd, estables frente a temperatura, proteasas y enzimas digestivas y en los que la sensibilización ocurre en el tracto digestivo y de clase II: Son lábiles frente a temperatura, proteasas y enzimas digestivas. El paradigma de dichos alérgenos son las profilinas, presentes en las frutas y hortalizas. Son responsables de los fenómenos de reactividad cruzada polen-alimentos y de los SAO (Síndromes de alergia oral). [1]

Tanto la esofagitis como la gastroenteritis eosinofílicas, pueden ser debidas a un mecanismo IgE mediado, no IgE mediado o mixto, de sensibilización a alimentos. Ambos procesos están caracterizados por la presencia de infiltrados de eosinófilos a nivel de esófago, estómago y/o intestino, observándose eosinofilia periférica sólo en un 50% de los casos. En el caso de la esofagitis eosinofílicas no existen manifestaciones clínicas patognomónicas, presentando una mayor prevalencia en hombres y pudiendo debutar a cualquier edad. En niños, las manifestaciones más frecuentes son dificultades en la alimentación, trastornos del medro, vómitos y dolor abdominal. En los adultos lo más frecuente es la disfagia y reflujo gastroesofágico, dolor abdominal/torácico y episodios consistentes en impactación del bolo alimenticio. Un problema en esta entidad es la no correlación entre intensidad de los síntomas e inflamación tisular.

En pacientes con disfagia, la endoscopia y el estudio anatomopatológico confirman los casos de esofagitis eosinofílicas en un 15 a 35% de casos. Aunque las endoscopias y toma de biopsias pueden ser empleadas para el diagnóstico y para el seguimiento de la respuesta del paciente a los tratamientos planteados (en lo que se refiere a la eventual resolución de la inflamación de la mucosa esofágica), se necesitan estudios para hallar un biomarcador inflamatorio fiable que limiten el número de endoscopias invasivas necesarias para el adecuado seguimiento de los pacientes con esofagitis eosinofílica.

Actualmente se admite que las esofagitis eosinofílicas precisan del manejo interdisciplinar de Digestólogos, Alergólogos y Anatómo-patólogos. Objetivar la sensibilización a alérgenos alimentarios implicados en la evolución de esta entidad nosológica es fundamental a la hora de establecer dietas de evitación de los alimentos implicados en la evolución de las esofagitis a estadios de fibrosis y estenosis esofágicas que pueden desencadenar complicaciones graves como la impactación y eventualmente, perforación esofágica.

2.3. Esofagitis eosinofílica: Fenotipado y manejo.

Los pacientes con esofagitis eosinofílica se caracterizan por presentar un amplio abanico de fenotipos, desde pacientes con un importante fondo atópico asociando problemas respiratorios, cutáneos y múltiples y atípicas alergias alimentarias a casos en los que no se aprecia ningún tipo de sensibilización. Por ello, un paso previo fundamental ha sido describir los distintos fenotipos de pacientes con esofagitis y establecer desde un punto de vista epidemiológico los perfiles de sensibilización observada (no solo a alérgenos alimentarios), distribución por edades, sexo o diferentes respuestas a tratamiento.

Hoy en día los criterios diagnósticos de esofagitis eosinofílica están perfectamente establecidos en términos histológicos (como se ha comentado, la clínica no es patognomónica en esta entidad). No obstante, la experiencia clínica nos va ayudando a la hora de superar el problema de infradiagnóstico en casos de esofagitis eosinofílica, habiendo pasado de tratarse de casos excepcionales a una prevalencia nada desdeñable de unos 40-50 casos por 100.000 habitantes. Es un hecho el aumento progresivo en la detección de casos entre los años 2004 y 2011. Globalmente el 85% de los casos de EoE detectados hasta el año 2012 se objetivaron en los últimos 5 años hasta la fecha del estudio referenciado [2]. En la actualidad, la valoración en consulta de un paciente que presenta alergia alimentaria extensa a alimentos “atípicos” para el adulto, junto a clínica de impactación del bolo alimenticio y un perfil “atópico” en referencia a sensibilización a alérgenos ambientales, unido a observar cifras elevadas de proteína catiónica eosinofílica en suero, nos hacen pensar en un posible caso de esofagitis eosinofílica.

La consideración del paciente con EoE desde un punto de vista “atópico” debe ser tomada en cuenta y cada vez la realización de pruebas de alergia y el estudio global de enfermedades alérgicas en estos pacientes se hace más patente y necesaria. Hasta el año 2012 solo un 68% de los pacientes con EoE habían sido sometidos a la realización de pruebas alérgicas. Se ha observado que hasta en un 33% de los pacientes existen familiares de primer grado con enfermedades alérgicas, siendo la más relevante el asma bronquial. En general, entre un 60 y un 70% de los pacientes con EoE tienen enfermedades alérgicas concomitantes siendo las más frecuentes la rinoconjuntivitis (47,4%), el asma (32,8%) y enfermedades cutáneas (6%). La detección de alergia a alimentos es variable (en nuestras series, hasta un 84% de los pacientes presentaron alergia objetivada a alimentos).

El gran problema en lo que se refiere al seguimiento de pacientes con esofagitis eosinofílica es determinar la eficacia de los distintos tipos de dieta recomendadas en cada caso. Como se referencia en el estudio publicado en formato de artículo que justifica la tesis doctoral, las dietas empíricas de 6 alimentos son bastante eficaces pero muchas veces, difíciles de asumir por los pacientes (suponen la evitación sistemática de leche, huevo, gluten y trigo, frutos secos, leguminosas y soja así como mariscos y pescados), lo que lleva a la escasa cumplimentación de las mismas y por tanto, a la dependencia del tratamiento farmacológico (de eficacia comprobada) o en caso de no mantener dichos tratamientos ni ningún tipo de dieta, la no deseable aparición de graves complicaciones como la impactación del bolo alimenticio y la perforación esofágica. Lo deseable (y nuestro objetivo final) es poder identificar los alimentos desencadenantes para poder recomendar dietas más concisas y no tan extensas, que facilitarían al paciente un buen control de su enfermedad y la no dependencia de tratamiento farmacológico de por vida. Nuestras líneas de investigación van encaminadas por tanto a poder identificar dichos alimentos responsables de forma directa o indirecta, mediante el uso de mediadores inflamatorios que varíen en función de la exposición del paciente a los alérgenos responsables.

2.4. Mediadores inflamatorios en alergia:

Uno de los principales problemas a los que nos enfrentamos los especialistas en alergología, es que debemos diagnosticar y realizar el seguimiento de enfermedades caracterizadas por tratarse de procesos inflamatorios, sin poder objetivar esa inflamación. Un ejemplo muy claro es la patología bronquial en general y el asma en particular. La herramienta de uso habitual es la espirometría forzada, en la que valoramos la evolución clínica de nuestros pacientes así como su respuesta al tratamiento mediante el estudio de parámetros de función respiratoria. Lo ideal sería poder determinar el grado de inflamación de la mucosa bronquial, pero es evidente que tomar muestras de forma directa no podría formar parte de la práctica clínica habitual. Por ello y desde hace años se buscan mediadores inflamatorios como el óxido nítrico en aire exhalado (FeNO), que ha llegado a emplearse de forma habitual, aunque con numerosas limitaciones. Tras diversos estudios se ha observado que un mediador inflamatorio puede ser útil si se emplea e interpreta de forma correcta. En el caso de FeNO que describimos se ha observado que su utilidad aumenta si se descartan factores confusionales como que el paciente fume o no o presente rinitis severa. Así mismo se ha demostrado que el FeNO en combinación con otras técnicas que de forma indirecta evalúan la inflamación bronquial (provocación bronquial con adenosina monofosfato o medición del pH del condensado de aire exhalado) permiten estudiar la respuesta del paciente a determinados tratamientos o predecir agudizaciones de su enfermedad [3,4,5].

Es llamativo observar como el comportamiento de la mucosa del esófago en términos de inflamación, recuerda al comportamiento de la mucosa bronquial. Si se comparan biopsias de mucosa nasal, bronquial o esofágica, de pacientes alérgicos y expuestos a alérgenos

relevantes así como con síntomas, se observa que la presencia de celularidad inflamatoria es bastante similar. De hecho, cuando un paciente con esofagitis eosinofílica presenta mala evolución, se habla de los fenómenos de “traqueización” de la mucosa esofágica, observando al realizar los estudios endoscópicos los conocidos patrones de “bandas” y “anillamiento” que a su vez representan la evolución de una mucosa normal a un estado de fibrosis, estrechamiento y los ya comentados episodios de impactación y la temida perforación esofágica.

Dado que por definición, la célula responsable de dichos fenómenos inflamatorios son los eosinófilos, parece lógico que encaminemos nuestras líneas de investigación a la búsqueda de mediadores inflamatorios característicos del eosinófilo, como la proteína catiónica eosinofílica. No obstante se ha trabajado con un importante número de mediadores para valorar la respuesta a tratamiento farmacológico o dietas, como la triptasa mastocitaria o las CCL 17, CCL 18, CCL 26 (distintos tipos de quemocinas) [6,7,8].

2.5. Búsqueda de nuevos alérgenos alimentarios y el fenómeno de la reactividad cruzada pólenes y alimentos:

Clásicamente la alergia alimentaria no suponía un gran problema a la hora de evaluar a pacientes alérgicos. Hasta hace unos años, se creía que la alergia alimentaria quedaba restringida a manifestaciones de tipo I o inmediatas. Desde hace unos años, el manejo del paciente alérgico a alimentos se ha tornado muy complejo. Por una parte los pacientes no solo presentan manifestaciones de tipo I, sino que como ocurre con los pacientes con esofagitis, las manifestaciones son de un perfil tardío que en cierto modo recuerda a la alergia de contacto (mecanismo tipo IV o celular). Esto hecho nos lleva a observar un

amplio abanico de síntomas en relación con la sensibilización a alérgenos alimentarios, con manifestaciones típicas como la urticaria o el angioedema a otras como el prurito oral leve (síndrome de alergia oral), dolor abdominal de predominio epigástrico, síntomas digestivos de tipo más inespecífico como diarrea o fenómenos derivados de la fibrosis de la mucosa esofágica como la impactación del bolo alimenticio. Es fundamental identificar cada alérgeno y poder preveer el tipo de síntomas que el paciente podrá presentar, distinguiendo manifestaciones sistémicas que pueden suponer un riesgo para la vida de síntomas leves, muchas veces evitables con recomendaciones dietéticas o el modo de preparación del alimento.

Por otra parte nos debemos enfrentar a los fenómenos de reactividad cruzada entre pólenes y alimentos, que se deben a la presencia de panalérgenos como la profilina. Algunos pacientes con esofagitis cuentan agudización de sus síntomas pese a respetar las dietas indicadas en periodo estacional de exposición a pólenes a los que están sensibilizados. Este dato refuerza que cuando indicamos dietas a los pacientes, no solo debemos tener en cuenta las alergias alimentarias observadas sino también las ambientales. En este aspecto los pacientes deberán evitar también aquellos alimentos que presenten reactividad cruzada con los pólenes observados, siendo las evitaciones indicadas de forma habitual ciertas frutas (melón o sandía) y alimentos de la familia de las solanáceas (tomate, pimiento o berenjena).

En conclusión, la indicación de las dietas en pacientes con esofagitis debe ser cuidadosamente establecida, teniendo en cuenta las alergias observadas, los fenómenos de reactividad cruzada así como nuevos alérgenos alimentarios que pueden pasar desapercibidos presentando falsos negativos si se emplean métodos convencionales. En este aspecto destacamos a las oleosinas, de reciente conocimiento y que han sido y son objeto de estudio en nuestra unidad [9]. Tomando como ejemplo este último tipo de

alérgeno, podemos observar que los pacientes presentan síntomas variables que van desde las molestias locales en mucosa oral hasta síntomas de carácter sistémico. Se trata de alérgenos de naturaleza lipídica que provoca un falso negativo diagnóstico si se preparan las pruebas cutáneas basándonos en las técnicas clásicas de dilución en suero. Solo podremos detectar la sensibilización a dichos alérgenos si preservamos la fracción lipídica o empleamos determinadas técnicas de diagnóstico como el inmunoblotting.

Mención aparte merece la consideración de la realización de pruebas en parche para la detección de sensibilización a alérgenos alimentarios en pacientes con esofagitis eosinofílica. Parece lógico pensar en su utilidad, si asumimos que se trata de una entidad de mecanismo IgE mediado y no IgE mediado (probable reacción mixta tipo I y IV). En la realidad, la realización de parches presenta problemas. Por una parte exige la preparación con alimentos en fresco, lo que lo hace poco práctico en consulta. Por otra, no se ha conseguido una reproductibilidad aceptable ni una estandarización adecuada, con resultados muy variables al emplearlas. Pese a todo, no debemos descartar su posible utilidad en el futuro si se consiguen superar las limitaciones descritas.

Pensamos que una prometedora línea de investigación en lo referente a la identificación de alérgenos alimentarios, podría ir dirigida al estudio simultáneo de niveles de IgE y subclases de IgG. Existen publicaciones al respecto [10], pero se requieren más estudios en este sentido .

2.6. La proteína catiónica eosinofílica:

El eosinófilo pertenece al grupo de los granulocitos polimorfonucleares, originados a partir de la cascada hematopoyética. Su función principal es probablemente atacar y defender a nuestro organismo de parásitos invasores, por lo que pese a que es capaz de fagocitar partículas bacterianas su principal arma consiste en la producción de radicales libres y de gránulos proteicos tóxicos; también son productores de citocinas y mediadores inflamatorios como el leucotrieno C4 (LTC4) y el factor activador plaquetario (PAF). No obstante, en ausencia de parásitos o agentes patógenos los eosinófilos activados pueden causar daño tisular e inflamación. Existe un gran número de procesos inflamatorios asociados a la eosinofilia como el asma, la rinitis alérgica, enfermedades atópicas de la piel y procesos inflamatorios que pueden afectar a cualquier tramo del tracto digestivo.

En el caso de las enfermedades alérgicas están involucradas un gran número de células, aunque tres de ellas tienen un rol destacado en su desarrollo: los eosinófilos, los mastocitos y los linfocitos de perfil Th2, siendo los eosinófilos y los mastocitos importantes células efectoras. En este sentido la liberación por parte de los eosinófilos de potentes proteínas citotóxicas como la ECP (proteína catiónica eosinofílica) que condiciona el desarrollo de síntomas agudos, subagudos y crónicos en el ámbito de la patología alérgica. La ECP fue purificada por primera vez en 1971 a partir de gránulos de células mieloides obtenidas de pacientes con leucemia mieloide crónica, pero no fue hasta 1975 cuando se describió claramente que provenía de los gránulos eosinofílicos.

La proteína catiónica eosinofílica es por tanto una proteína altamente catiónica con gran número de funciones biológicas y efecto citotóxico con un peso molecular de 16 a 22 kDa y que presenta homología aminoacídica con proteínas de la familia de las ARNasas.

Su efecto citotóxico es probablemente debido a su capacidad para construir poros en las membranas celulares que permiten el tránsito no controlado de agua e iones, lo que termina por afectar la integridad celular y provocar una lisis osmótica. Otros efectos observados “in vitro” y no citotóxicos son la inhibición de la proliferación de la respuesta de células T frente a antígenos, la interferencia de la síntesis de inmunoglobulinas por parte de las células B o la liberación de histamina y triptasa por parte de mastocitos. En células epiteliales, la ECP aumenta la expresión de varios receptores y ligandos como el factor de crecimiento asociado a la insulina (IGF-1) o la molécula de adhesión intracelular (ICAM-1). Todas estas observaciones “in vivo” e “in vitro” parecen hacer patente la capacidad inmunomoduladora que puede ser ejercida por los eosinófilos en el organismo a través de la secreción de ECP.

Por otra parte se ha observado que la ECP puede estimular la secreción de “mucus” en las vías aéreas, el cual desempeña un papel muy importante en los procesos de reparación de los tejidos y es indicativo de la influencia de los eosinófilos en los procesos de inflamación crónica que terminan por condicionar fenómenos como el remodelado o la fibrosis (muy importantes en el ámbito del asma y de la esofagitis eosinofílica).

La ECP puede ser medida en numerosos fluidos biológicos y diferentes condiciones patológicas, lo que refleja una marcada activación eosinofílica en un importante número de enfermedades. Se han realizado mediciones en suero y plasma, esputo, lavado bronco-alveolar, secreción nasal o heces. Dichas determinaciones pueden ser útiles en el seguimiento de numerosas patologías. La patología más estudiada es el asma y la alergia respiratoria. Diversos autores han descritos los niveles de proteína catiónica eosinofílica sérica característicos de distintos tipos de procesos como rinitis y asma alérgicas, dermatitis atópica, infecciones bacterianas o parasitarias o el síndrome hipereosinofílico [11] así como en pacientes sanos control.

Podría por tanto tratarse de un marcador útil en el seguimiento de otras entidades como la esofagitis eosinofílica, sobre todo en lo que respecta a uno de los aspectos más controvertidos como es el establecimiento de las dietas de evitación de alimentos (en ocasiones, muy extensas) y en lo referente a la reintroducción de los mismos de forma secuencial. Existen publicaciones de series cortas de pacientes en las que la proteína catiónica eosinofílica parece ser un biomarcador útil (determinada en sangre y/o en heces). No obstante es necesario realizar estudios en series más amplias y establecer la utilidad no solo en lo que respecta a la evitación de alimentos, sino también en su reintroducción y posterior seguimiento de estos pacientes.

2.7. Experiencia previa del investigador en el campo abordado:

El doctorando inició su experiencia en el estudio y manejo de mediadores inflamatorios en patología alérgica (inicialmente respiratoria) en el Hospital Dr. Peset de Valencia. En dicha sección a cargo del Dr. Luis Prieto (investigador muy reputado en el ámbito del asma) adquirió experiencia en el uso y aplicación práctica de mediadores inflamatorios en asma. Como se comenta en apartados previos, el uso de mediadores como en FeNO (óxido nítrico exhalado) es útil si se emplea de forma correcta (eliminando factores confusionales) y concomitante con otras técnicas basadas en el estudio de la inflamación bronquial (provocación bronquial con adenosina, esputo inducido o pH del condensado de aire exhalado).

Posteriormente y durante una rotación específica en relación a alergia alimentaria en el Hospital San Carlos (Madrid) entró en contacto con los primeros casos de esofagitis eosinofílica. Se trataba de una entidad de reciente descripción y con escasa prevalencia por infradiagnóstico. Ya en ese momento existía un gran interés en la búsqueda de mediadores inflamatorios que de forma fiable pudiesen ayudar en el seguimiento y la respuesta de los pacientes a las dietas recomendada. Entre esos mediadores o determinaciones que inicialmente se valoraron destacaban la proteína catiónica eosinofílica, la IgE o la eosinofilia periférica. De estas determinaciones la que parecía ser más específica de la entidad que nos ocupa era la proteína catiónica. Inicialmente se trabajaba con la determinación de proteína en heces, sin llegar a conclusiones definitivas en cuanto a su utilidad. La determinación en heces no estaba disponible para la práctica clínica habitual, lo que unido a las, por aquel entonces escasas series de pacientes, determinó que no se profundizase en su uso en pacientes con esofagitis eosinofílica [12].

No obstante, y dado que la obtención de los niveles séricos de proteína catiónica eosinofílica es más asequible, fueron descritos ensayos en los que se observaba una disminución llamativa aunque no significativa de sus niveles en respuesta a las dietas planteadas. Dichos estudios contaban con la ventaja de agrupar series de pacientes más amplias, pero la desventaja de no tener en cuenta todos los factores que podían influir en su variabilidad. También pecaban de ser poco sistemáticos a la hora de indicar las dietas de evitación, mezclando dietas específicas basadas en pruebas de alergia y dietas empíricas, incluyendo alimentos cuya sensibilización no había sido objetivada [13].

Posteriormente, el gran trabajo del Dr. Lucendo (digestólogo y reputado investigador) logró poner de relevancia que estamos ante una entidad mucho más prevalente de lo que inicialmente parecía. Sus publicaciones en relación al fenotipado de pacientes,

metodología diagnóstica, recomendación de dietas empíricas de 6 alimentos o respuesta clínica e histológica al tratamiento farmacológico con inhibidores de la bomba de protones o corticoides inhalados-deglutidos, han permitido profundizar y progresar espectacularmente en el conocimiento de la esofagitis eosinofílica. El doctorando participó como investigador colaborador aportando datos clínicos y de sensibilización a alérgenos ambientales y alimentarios, con la finalidad de poder describir los distintos fenotipos de pacientes ya comentados previamente.

Es precisamente la conjunción de conocimiento previo así como la valoración total y multidisciplinar del paciente lo que ha llevado al desarrollo de la actual tesis doctoral publicada como artículo de investigación. Pensamos que el éxito a la hora de valorar al paciente con esofagitis e indicar una dieta asumible y eficaz depende de una serie de factores, que pasamos a enumerar:

1. Valoración extensa de todas las sensibilizaciones alimentarias y aerógenas, teniendo en cuenta los fenómenos de reactividad cruzada entre alimentos y entre pólenes y alimentos (fundamental para indicar las dietas específicas sin obviar posibles desencadenantes).
2. Búsqueda activa de alérgenos alimentarios no frecuentes o atípicos en el adulto así como la evitación de falsos negativos, por no emplear la técnica idónea y adecuada para detectar sensibilizaciones (por ejemplo, detección de lipoproteínas).

3. Fidelización del paciente con la finalidad de evitar transgresiones dietéticas o en caso de que éstas se produzcan, que no sean ocultadas en las sucesivas revisiones (en nuestro estudio aprovechamos las transgresiones para objetivar el eventual aumento de los niveles de ECP).
4. Valoración seriada de la proteína catiónica eosinofílica como mediador o marcador de inflamación de la mucosa esofágica, llevando al límite el evitar que los factores confusionales puedan invalidar su uso en el seguimiento de pacientes.

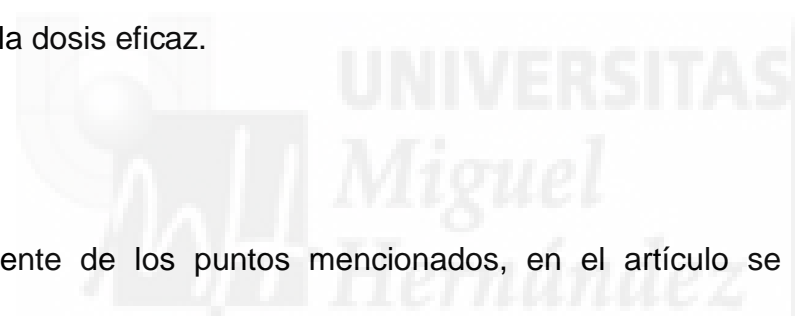
2.8. Estado actual del diagnóstico y manejo de pacientes con esofagitis eosinofílica.

Según un artículo de revisión y posicionamiento en referencia a la esofagitis eosinofílica [14], lo que actualmente se acepta en términos diagnósticos y terapéuticos es lo siguiente:

1. La esofagitis eosinofílica es una entidad clínica y anatomopatológica a cuyo diagnóstico se llega mediante un cuadro compatible y los correspondientes hallazgos endoscópicos e histológicos, con 15 o más eosinófilos por campo, infiltrados de eosinófilos confinados a la mucosa esofágica y excluyendo otras entidades que pueden cursar con hipereosinofilia.
2. El estudio histopatológico mediante la toma de biopsias es esencial.

3. La respuesta al tratamiento con inhibidores de la bomba de protones ha dejado de considerarse un criterio de exclusión (en relación con el diagnóstico diferencial con un cuadro clásico de reflujo gastroesofágico).
4. El objetivo del tratamiento en los pacientes con EoE es conseguir la remisión de la enfermedad en lo referente a los síntomas y al infiltrado inflamatorio de la mucosa esofágica.
5. Aunque la mejoría de los síntomas por sí sola es importante, debe ir acompañada de la remisión de las alteraciones inflamatorias de la mucosa esofágica. En ausencia de otras herramientas, el estudio endoscópico sigue siendo el “Gold standard” en relación al diagnóstico y seguimiento de la enfermedad.
6. Se acepta que la primera línea de tratamiento son los IBPs durante al menos ocho semanas.
7. Los corticoides inhalados-deglutidos son una segunda línea a pautar tras el fallo en la respuesta a la primera línea con IBPs.
8. En los pacientes con ausencia de respuesta al tratamiento deben considerarse pautas más largas y dosis más altas así como la combinación de ambos tratamientos y la indicación de dietas.

9. Las dietas podrías ser consideradas una primera línea de tratamiento en pacientes con EoE.
10. El tipo de dieta recomendada (elemental, empírica o específica y guiada por pruebas de alergia) debe ser individualizada en cada caso y dependerá de los medios diagnósticos con los que cuente el facultativo responsable.
11. La dilatación esofágica puede ser útil en pacientes sintomáticos pese a las medidas terapéuticas mencionadas.
12. Una vez se consigue respuesta, se recomienda el tratamiento a largo plazo con la mitad de la dosis eficaz.



Independientemente de los puntos mencionados, en el artículo se comenta que los alérgenos responsables no son solo los alimentarios, pudiendo depender de la exposición a aeroalergenos ambientales. Destacan el aumento de la incidencia y que en ocasiones el infradiagnóstico va asociado a décadas de retraso en el diagnóstico de la enfermedad con las complicaciones asociadas al inicio tardío de las medidas terapéuticas en cada caso.

3. Justificación del estudio



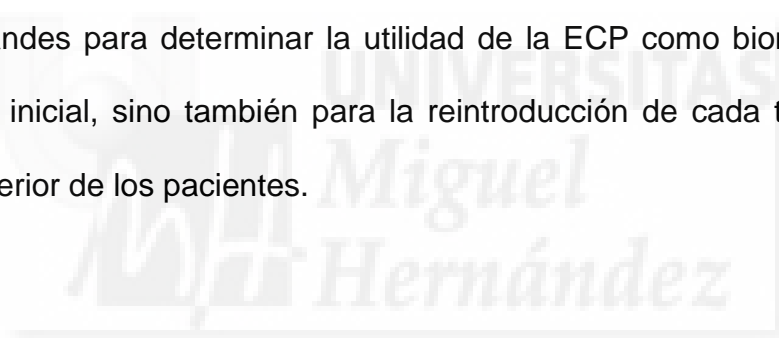
3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La esofagitis eosinofílica (EoE) puede ser mediada por inmunoglobulina E (IgE), no mediada por IgE o deberse a mecanismos mixtos de sensibilización a alimentos. La EoE se caracteriza por la presencia de infiltrados de eosinófilos en el esófago, con eosinofilia periférica observada en ~ 50% de los casos. La EoE no tiene manifestaciones clínicas patognomónicas, es más común en los hombres, y puede manifestarse a cualquier edad [15]. En los niños, las manifestaciones más frecuentes son las dificultades de alimentación, trastornos del crecimiento, vómitos y dolor abdominal. En adultos, las manifestaciones más frecuentes son disfagia, reflujo gastroesofágico, dolor abdominal y episodios de impactación del bolo alimenticio. Además, una cuestión importante es la falta de correlación entre la intensidad de los síntomas y la inflamación de los tejidos.

En pacientes con disfagia, la endoscopia y el estudio anatómico-patológico pueden confirmar la EoE en un 15 a 35% de los casos [16]. Sin embargo, es necesario identificar biomarcadores inflamatorios fiables para limitar el número de endoscopias invasivas necesarias para la monitorización adecuada de los pacientes con EoE.

Ahora se conoce que la EoE requiere del manejo interdisciplinar por parte de gastroenterólogos, alergólogos y anatómicos-patólogos. La sensibilización objetivada a los alérgenos alimentarios es fundamental para establecer dietas que eviten la evolución de la esofagitis a la fibrosis y el desarrollo de estados de estenosis esofágica que pueden desencadenar complicaciones graves, incluyendo la impactación del bolo alimenticio y posiblemente la perforación del esófago.

La proteína catiónica eosinofílica (ECP) es una proteína altamente catiónica con numerosas funciones biológicas y efectos citotóxicos, y que es almacenada por los eosinófilos y los neutrófilos. Los niveles de ECP pueden ser medidos en muchos fluidos biológicos, y aunque es más comúnmente utilizada para estudiar el asma [17], también puede ser un marcador útil para monitorizar a pacientes con EoE. En particular, se necesitan mejores métodos de seguimiento en el contexto de las dietas de evitación de alimentos, dietas que a menudo son complejas y precisan de su re-evaluación tras la reintroducción secuencial de cada alimento. Estudios anteriores han descrito series cortas de pacientes en los que la ECP parece ser un biomarcador útil (determinado en sangre o heces). Sin embargo, se necesitan estudios adicionales que involucren tamaños de muestra más grandes para determinar la utilidad de la ECP como biomarcador, no sólo para la evitación inicial, sino también para la reintroducción de cada tipo de alimento y seguimiento posterior de los pacientes.



4. Hipótesis del estudio



4. HIPÓTESIS DEL ESTUDIO

Se sugirió la siguiente hipótesis basada en nuestra experiencia clínica: Los niveles séricos de ECP disminuirán significativamente tras el establecimiento de dietas específicas recomendadas tras la sensibilización objetivada a alimentos mediante pruebas cutáneas y/o IgE específica. Además, esperamos que la disminución objetivada se correlacione con mejoría clínica y posiblemente con la suspensión del tratamiento sintomático con inhibidores de la bomba de protones o con corticosteroides inhalados/deglutidos.

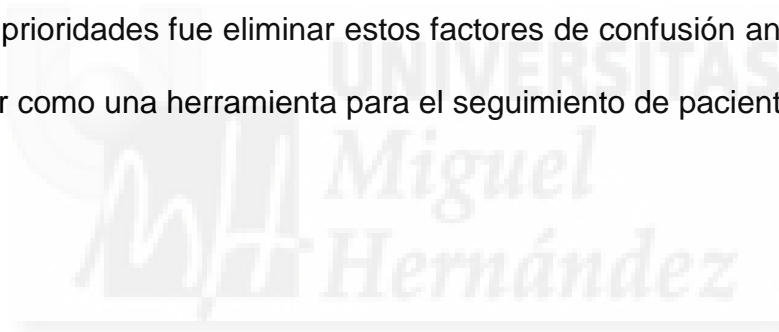


5. Objetivo del estudio



5. OBJETIVO DEL ESTUDIO

Nuestro objetivo fue confirmar o descartar la utilidad de la ECP como biomarcador en el seguimiento de pacientes con EoE. Diversos marcadores han sido previamente identificados en el marco de esta enfermedad incluyendo la IgE total o la propia ECP [18]. En concreto buscamos establecer la utilidad de la ECP para la monitorización de pacientes con esofagitis eosinofílica (EoE) tratados con dietas de exclusión específicas. Teniendo en cuenta que los niveles de ECP pueden variar debido a muchos factores, particularmente aquellos asociados con patologías respiratorias o dietas mal controladas, una de nuestras prioridades fue eliminar estos factores de confusión antes de caracterizar este biomarcador como una herramienta para el seguimiento de pacientes.



6. Material y métodos



6. MATERIAL y MÉTODOS

6.1. Recursos materiales y humanos.

Nuestro Departamento de Salud atiende de forma integral a la población de los municipios de Benejama, Biar, Campo de Mirra, La Cañada, Elda, La Algueña, La Romana, Monóvar, Novelda, Salinas, Sax, Petrer, Pinoso y Villena, con un total de más de 120.000 personas.

Para ello contamos con el Hospital General Universitario de Elda, el Centro de Especialidades de Elda, el Centro Sanitario Integrado de Villena, los centros de salud de: Acacias, Biar, Marina Española, Monóvar, Novelda, Petrer I, Petrer II, Pinoso, Sax, Villena I y Villena II, así como con los consultorios auxiliares de: Avda. de Sax de Elda, Benejama, Campo de Mirra, La Cañada, Casas del Señor-Chinorlet, La Algueña, La Encina, La Romana y Salinas, además también del Centro de Salud Pública de Elda.

La Sección de Alergología está formada por tres alergólogos, tres enfermeras y dos auxiliares administrativas, que realizan su actividad asistencial en la zona de Consultas externas HGUE, de lunes a viernes, y en Centro de Salud Integrado de Villena (CSIV), martes y jueves. En el hospital contamos con tres consultas, dos salas para la realización de pruebas, una zona para pacientes en estudio y zona de espera.

6.2. Diseño del estudio

El estudio incluyó a pacientes adultos y adolescentes remitidos por un especialista en medicina digestiva con un diagnóstico objetivo de EoE, basado en los criterios actualmente aceptados (15 o más eosinófilos por campo de la biopsia de la mucosa del esófago). Se incluyeron 19 sujetos entre el 1 de enero de 2012 y el 30 de junio de 2015. Durante la cita inicial se recogió información relevante sobre la historia clínica y se realizaron pruebas cutáneas con baterías completas de aeroalérgenos estándar (23 ítems) y alérgenos alimentarios (62 ítems) (se realizaron pruebas en prick utilizando extractos estandarizados de alérgenos de Laboratorios Bial Aristegui®). A continuación, los pacientes fueron remitidos al laboratorio del hospital para tomar una muestra de sangre para determinar los niveles de IgE específicos para alimentos, recuento sanguíneo y ECP sérica (valor basal antes de indicar dietas específicas). Se informó a los pacientes de que la muestra de sangre debía tomarse sin síntomas respiratorios compatibles con rinitis o asma y ninguna infección activa; La recogida de muestras de sangre se llevó a cabo fuera del período de empeoramiento correspondiente en cada caso (en relación con la sensibilización a aeroalérgenos ambientales). Se programaron citas para todos los pacientes para informar de los resultados de sus pruebas y recomendar dietas específicas. Se indicó a nuestros pacientes la evitación de alimentos cuya sensibilización había sido objetivada por prueba cutánea, niveles de IgE específicos superiores a 0,35 kUA/L así como alimentos con reactividad cruzada con polen a los que los pacientes estaban sensibilizados (principalmente frutas y solanáceas). Una vez indicadas las dietas, se citó a los pacientes entre 4 y 6 meses después para evaluar la respuesta clínica a las dietas específicas y para solicitar una segunda muestra de sangre para los recuentos sanguíneos y los niveles séricos de ECP para comparar con la cifra basal. Las

características de los pacientes incluidos en el estudio, valores analíticos y hallazgos endoscópicos se resumen en la Tabla 1.

Los pacientes que no siguieron el criterio de proporcionar muestras de sangre sin síntomas respiratorios o fuera del período estacional (la mayoría de las muestras fueron tomadas en agosto, diciembre y enero) fueron excluidos. Además, los pacientes que habían iniciado dietas antes de la consulta no fueron incluidos en el estudio.

A los pacientes se les dijo que continuaran con tratamiento sintomático según indicación de su gastroenterólogo durante 2 a 3 meses para luego suspenderlo y continuar solo con las dietas, si presentaban mejoría clínica y estabilidad.

6.3. Estudio anatomopatológico y endoscópico

Los procedimientos endoscópicos fueron realizados por un gastroenterólogo experimentado usando un gastroscopio flexible de 8,5 mm con un canal de 2,8 mm (EG-530 FP, Fujinon, Fujifilm Corporation, Tokio, Japón). Las biopsias se realizaron con fórceps convencionales (Radial Jaw™ 4 Boston Scientific, Proparck, Costa Rica). No se observaron complicaciones como resultado de los procedimientos endoscópicos o biopsias realizadas. El estudio histológico se realizó sólo para tener un diagnóstico confirmado de EoE, no realizando un estudio de control después del mantenimiento de las dietas indicadas.

Las muestras obtenidas en la biopsia fueron enviados al Departamento de Anatomía Patológica, donde fueron fijados con formalina y embebidos en parafina. A continuación se realizaron secciones en serie utilizando un microtomo y se tiñeron con eosina

hematoxilina. Se confirmó el diagnóstico de EoE con 15 eosinófilos / hpf o más en al menos un campo de alta potencia (HPF).

6.4. Análisis estadístico

Las comparaciones se realizaron mediante pruebas no paramétricas de muestras pareadas. Cada individuo se comparó con sus mediciones basales. Las variables continuas (ECP) se expresan en valores de media \pm DE, y la prueba de rango de Wilcoxon se utilizó para contrastar las hipótesis con respecto a variables continuas para pre y post-dieta. Los gráficos muestran diagramas de caja que expresan mediana y rango intercuartil.

6.5. Aspectos éticos del estudio

Los pacientes firmaron el documento de consentimiento informado para participar en el estudio (anexo 3). El proyecto de investigación y el protocolo de estudio (anexo 5) fue evaluado y aprobado por el CEIC (Comité de Ética del Hospital General Universitario Elda (anexo 6). Adicionalmente el doctorando declara que no tiene conflictos de interés y que no se recibieron fondos para el presente estudio.

7. Resultados



7. RESULTADOS

7.1. Datos epidemiológicos

Se incluyeron consecutivamente 19 pacientes con EoE (12 varones y 7 mujeres) entre enero de 2012 y junio de 2015, con edades comprendidas entre 17 y 68 años (33,52; DE 13,67 años). Las variables epidemiológicas se resumen en la Tabla 1.

7.2. Datos clínicos

La mayoría de nuestros pacientes presentaban alergia a alimentos. Observamos alergias alimenticias atípicas, siendo los alimentos más prevalentes los frutos secos, las leguminosas, el gluten y la leche. Las sensibilizaciones alimentarias objetivadas se resumen en la Tabla 2. La característica atópica más común fue la rino-conjuntivitis con algunos casos de asma y dermatitis atópica. Se destacó la diversidad fenotípica de los pacientes estudiados, desde pacientes con múltiples sensibilizaciones alimenticias y ambientales hasta pacientes sin rasgo atópico o patología respiratoria asociada. También encontramos pacientes cuyos síntomas digestivos fueron peores durante los períodos de empeoramiento de sus síntomas respiratorios debido a la exposición al polen

7.3. Resultados del estudio estadístico

Basalmente todos nuestros pacientes presentaron altos niveles de ECP en comparación con el estándar normalmente aceptado, con niveles promedio de $34.253 \mu\text{g} / \text{mL} \pm 26.3725$. Primero analizamos los cambios en los niveles de ECP para los 19 casos inicialmente incluidos en el estudio sin corrección de posibles transgresiones de la dieta o

muestras de sangre tomadas en período estacional, y observamos una reducción no estadísticamente significativa de los niveles de ECP a $23,663 \mu\text{g} / \pm 14,692$ ($p = 0,052$). Sin embargo, cuando se incluyeron sólo los 16 pacientes que siguieron los protocolos con respecto a las transgresiones dietéticas y obtención de las muestras de sangre sin síntomas respiratorios, observamos una media de ECP pre-dieta de $37,3875 \pm 26,66871$ y una media ECP posterior a la dieta de $21,4688 \pm 10,56325$, que son significativamente diferentes ($P < 0,001$) (Figura 1).

7.4. Respuesta clínica

15 de los 19 pacientes mostraron una respuesta óptima a las dietas específicas y permanecieron asintomáticos sin tratamiento farmacológico. Esta respuesta se evaluó mediante el EoO-QOL-A (cuestionario de calidad de vida de pacientes con EoE) [19]. De los 4 pacientes restantes, se indicaron dietas empíricas de 6 alimentos [20] en 2 pacientes, ya que no se estableció sensibilización o no respondieron a dietas específicas; Uno de estos pacientes no respondió a la dieta, y el otro no pudo mantenerla. En ambos casos, estos pacientes continuaron el tratamiento con corticosteroides inhalados/deglutidos e inhibidores de la bomba de protones (IBP). Los otros dos pacientes continuaron con IBP solo. Dos pacientes en seguimiento necesitaron tratamiento sintomático durante el período estacional y siguieron la dieta específica durante el resto del año. Uno de los pacientes que respondió a la dieta específica presentó la resolución de las bandas en mucosa observadas en el primer estudio endoscópico. Nuestra intención es repetir el estudio endoscópico con el resto de los pacientes incluidos.

8. Discusión y conclusiones



8.1. DISCUSIÓN

Nuestro estudio muestra que la ECP puede ser un biomarcador útil para el seguimiento de pacientes con EoE tratados con dietas específicas. Somos conscientes de que el pequeño tamaño de la muestra no nos permite extrapolar más allá la eficiencia de las dietas utilizadas.

Hasta ahora, la mayoría de los estudios publicados anteriormente en referencia al uso de ECP como biomarcador para el seguimiento de pacientes en tratamiento con dietas muestran disminuciones consistentes pero no significativas en los niveles de ECP después de las dietas. Sin embargo, hay que destacar otras publicaciones en las que ECP y otros marcadores han mostrado disminuciones significativas en respuesta al tratamiento farmacológico con corticosteroides o IBPs [21, 22]. Como se discute en estas publicaciones es imprescindible lograr un control adecuado de nuestros pacientes mediante el uso de técnicas no invasivas que pueden ser utilizadas en la práctica clínica normal. En este sentido, la ECP parece ser un buen marcador de inflamación si las determinaciones se realizan correctamente.

La EoE es una entidad compleja caracterizada por la variedad de fenotipos. Afecta predominantemente a hombres entre 30 y 40 años de edad, y generalmente se diagnostica al menos tres años después del inicio de los síntomas y en clara relación con la sensibilización a alimentos y aeroalérgenos ambientales [23]. Sin embargo, es cada vez más evidente que la EoE puede ser una entidad infradiagnosticada con diagnóstico tardío.

Este retraso pone de relieve la importancia de buscar activamente pacientes con síntomas compatibles, ya que el diagnóstico precoz es fundamental para evitar el desarrollo de complicaciones, como la impactación del bolo alimenticio. Según nuestra experiencia, los médicos deben sospechar esta condición si los pacientes informan episodios de impactación de bolo alimenticio o si se detectan sensibilizaciones alimenticias "atípicas" para el adulto como la leche, el huevo y el gluten. El paciente debe entonces ser derivado a un especialista de la medicina digestiva para el estudio endoscópico y poder confirmar el diagnóstico de sospecha.

Estudios recientes [24] han profundizado en el tratamiento de pacientes con EoE. Cabe destacar que se puede lograr mejoría clínica e histológica en un 50,5% y 60,8% respectivamente, de los pacientes utilizando solo IBPs. El tratamiento con esteroides tópicos (particularmente fluticasona y budesonida) también es eficiente. El tratamiento dietético conduce a una mejoría en los pacientes, con dietas empíricas y elementales de 6 alimentos siendo más eficientes que las dietas desarrolladas en base a los resultados de las pruebas de alergia. La eficiencia de este último tipo de dieta es bastante variable según la literatura (de 30 a 70%) [25].

Por lo tanto, existe un amplio abanico de posibilidades de tratamiento y manejo de pacientes EoE, lo que hace fundamental escoger la mejor opción en cada caso en particular [26].

Aunque el tratamiento con IBP o corticosteroides tópicos permite un buen control de los pacientes, no es deseable depender de este tipo de tratamiento durante toda la vida. Hay que destacar que el uso indiscriminado y mantenido de los inhibidores de la bomba de protones se ha asociado a fenómenos no deseados como el incremento del riesgo de osteopenia, osteoporosis, fracturas, neumonía nosocomial o problemas como la baja

absorción de vitamina B12 o de magnesio [27]. Por su parte, los corticoides inhalados-deglutidos pueden condicionar problemas de infecciones fúngicas, que pueden ser molestas para los pacientes (afortunadamente al tratarse de administración tópica, no se observan efectos adversos de carácter sistémico en estos casos).

Por lo tanto, es preferible establecer una dieta que permita a los pacientes controlar su condición a largo plazo sin depender del tratamiento crónico. Como se discutió anteriormente, la variabilidad fenotípica de EoE hace imposible formular reglas de tratamiento simples. Se debe establecer un perfil para cada paciente con esofagitis, y los tratamientos deben ser adaptados en cada caso. En base en nuestra experiencia, las dietas específicas fueron más aceptadas por los pacientes, ya que son más fáciles de seguir que las dietas empíricas de 6 alimentos o las elementales (inviabiles en adultos). Lamentablemente, este enfoque no siempre es posible. En los casos en que pudimos establecer dietas con respuesta clínica y disminución en los niveles de ECP, estamos reintroduciendo secuencialmente los alimentos en cuestión (inicialmente gluten o legumbres cocidas). Se esta evaluando cada respuesta en particular así como la posibilidad de repetir el estudio endoscópico después de un cierto periodo de tiempo para evaluar la respuesta y concordancia entre histología, mejoría clínica y reducción de ECP.

8.2. CONCLUSIONES

Creemos que la determinación seriada de ECP es útil para el seguimiento de pacientes con EoE, siempre que se eviten factores de confusión tales como infecciones, agudizaciones de dermatitis atópica, transgresiones alimenticias o síntomas respiratorios, aunque somos conscientes de que los síntomas perennes pueden obstaculizar la utilidad de este biomarcador en muchos casos. Se necesitan más estudios y baterías con más pacientes para comprender mejor esta patología.



9. *Bibliografía*



1. G. Jorro Martínez, J.V. Brasó Aznar. Manual de Alergia Clínica. Barcelona. Masson 2003. ISBN: 84-458-1309-9.
2. Lucendo AJ, Arias Á, Molina-Infante J, Rodríguez-Sánchez J, Rodrigo L, Nantes Ó, Pérez-Arellano E, de la Riva S, Pérez-Aisa Á, Barrio J; ACAD Group of Researchers. Diagnostic and therapeutic management of eosinophilic oesophagitis in children and adults: results from a Spanish registry of clinical practice. *Dig Liver Dis.* 2013 Jul;45(7):562-8. doi: 10.1016/j.dld.2013.01.013.
3. Prieto L, Ferrer A, Palop J, Domenech J, Llusar R, Rojas R. Differences in exhaled breath condensate pH measurements between samples obtained with two commercial devices. *Respir Med.* 2007 Aug;101(8):1715-20.
4. Prieto L, Reig I, Rojas R, Ferrer A, Domenech J. The effect of challenge method on sensitivity and reactivity to adenosine 5'-monophosphate in subjects with suspected asthma. *Chest.* 2006 Nov;130(5):1448-53.
5. Prieto L, Ferrer A, Domenech J, López V, Marin J. Predictive value of the response to inhaled adenosine 5'-monophosphate for reducing the dose of inhaled corticosteroids in asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2013;23(5):351-8.
6. Schlag C, Pfefferkorn S, Brockow K, Haller B, Slotta-Huspenia J, Schulz S, et al. Serum eosinophil cationic protein is superior to mast cell tryptase as marker for response to topical corticosteroid therapy in eosinophilic esophagitis. *J Clin Gastroenterol* 2014;48(7):600-6.

7. Schlag C, Miehlke S, Heiseke A, Brockow K, Krug A, von Arnim U, et al. Peripheral blood eosinophils and other non-invasive biomarkers can monitor treatment response in eosinophilic oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2015;42(9):1122-30.
8. Gupta SK. Noninvasive markers of eosinophilic esophagitis. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2008;18:157-67.
9. Lacomba Montoro J, Doménech Witek J, Pineda de la Losa F, Jover Cerdà V. Oral Allergy Syndrome Due to Nut Oleosins. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2015;25(4):301-2.
10. Clayton F, Fang JC, Gleich GJ, Lucendo AJ, Olalla JM, Vinson LA, Lowichik A, Chen X, Emerson L, Cox K, O'Gorman MA, Peterson KA. Eosinophilic esophagitis in adults is associated with IgG4 and not mediated by IgE. *Gastroenterology*. 2014. Sep;147(3):602-9. doi: 10.1053/j.gastro.2014.05.036.
11. Bystrom J, Amin K, Bishop-Bailey D. Analysing the eosinophil cationic protein--a clue to the function of the eosinophil granulocyte. *Respir Res* 2011;12:10. doi: 10.1186/1465-9921-12-10.
12. Garcia-Rubio I, Martinez-Cocera C, Zayas L. Eosinophil cationic protein in feces: reference values in healthy and atopic individuals and patients with digestive diseases. *Allergy Asthma Proc*. 2007 Jul-Aug;28(4):468-71.

13. Rodríguez-Sánchez J, Gómez-Torrijos E, de-la-Santa-Belda E, López-Viedma B, Martín-Dávila F, Pilkington-Woll JP, Donado-Palencia P, Sánchez-Miranda P, Olmedo-Camacho J. Effectiveness of serological markers of eosinophil activity in monitoring eosinophilic esophagitis. *Rev Esp Enferm Dig* 2013;105:462-7.
14. de Bortoli N, Penagini R, Savarino E, Marchi S. Eosinophilic esophagitis: Update in diagnosis and management. Position paper by the Italian Society of Gastroenterology and Gastrointestinal Endoscopy (SIGE). *Dig Liver Dis*. 2017 Mar;49(3):254-260. doi: 10.1016/j.dld.2016.11.012. Epub 2016 Dec 2. Review.
15. Liacouras CA, Furuta GT, Hirano I, Atkins D, Attwood SE, Bonis PA, Burks AW, Chehade M, Collins MH, Dellon ES, Dohil R, Falk GW, Gonsalves N, Gupta SK, Katzka DA, Lucendo AJ, Markowitz JE, Noel RJ, Odze RD, Putnam PE, Richter JE, Romero Y, Ruchelli E, Sampson HA, Schoepfer A, Shaheen NJ, Sicherer SH, Spechler S, Spergel JM, Straumann A, Wershil BK, Rothenberg ME, Aceves SS. Eosinophilic esophagitis: updated consensus recommendations for children and adults. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:3-20.
16. Croese J, Fairley SK, Masson JW, Chong AK, Whitaker DA, Kanowski PA, Walker NI. Clinical and endoscopic features of eosinophilic esophagitis in adults. *Gastrointest Endosc* 2003;58:516-22.
17. Alvarez A, Sanchez C, Garrido-Garrido G, Guevara M, Riaño A, Varona P, Rodriguez, JM. The eosinophil cationic protein (ECP) characteristics and its use as a marker of the eosinophil activation in inflammatory pathological processes. *Acta Farm. Bonaerense* 2005; 24 (): 601-9.

18. Min SB, Nylund CM, Baker TP, Ally M, Reinhardt B, Chen YJ, Nazareno L, Moawad FJ. Longitudinal Evaluation of Noninvasive Biomarkers for Eosinophilic Esophagitis. *J Clin Gastroenterol* 2017;51(2):127-135.
19. Taft TH, Kern E, Kwiatek MA, Hirano I, Gonsalves N, Keefer L. The adult eosinophilic oesophagitis quality of life questionnaire: a new measure of health-related quality of life. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34:790-8.
20. Lucendo AJ, Arias Á, González-Cervera J, Yagüe-Compadre JL, Guagnozzi D, Angueira T, Jiménez-Contreras 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.
21. Schlag C, Pfefferkorn S, Brockow K, Haller B, Slotta-Huspenia J, Schulz S, et al. Serum eosinophil cationic protein is superior to mast cell tryptase as marker for response to topical corticosteroid therapy in eosinophilic esophagitis. *J Clin Gastroenterol* 2014;48(7):600-6.
22. Schlag C, Miehke S, Heiseke A, Brockow K, Krug A, von Arnim U, et al. Peripheral blood eosinophils and other non-invasive biomarkers can monitor treatment response in eosinophilic oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2015;42(9):1122-30.

23. Castro Jiménez A, Gómez Torrijos E, García Rodríguez R, Feo Brito F, Borja, Segade J, Galindo Bonilla PA, Rodríguez-Sánchez J, Guerra Pasadas F. Demographic, clinical and allergological characteristics of Eosinophilic Esophagitis in a Spanish central region. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2014; 42:407-14. doi: 10.1016/j.aller.2013.04.004.
24. González-Cervera J, Lucendo AJ. Eosinophilic Esophagitis: An Evidence-Based Approach to Therapy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2016; 26:8-18.
25. Chehade M, S. Aceves S. Food allergy and eosinophilic esophagitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010, 10: 231-37.
26. Haffer CC, Ghaffari G. International survey on evaluation and management of eosinophilic esophagitis. *World Allergy Organ J* 2012;5(9):95-102.
27. Freedberg DE, Kim LS, Yang YX. The Risks and Benefits of Long-term Use of Proton Pump Inhibitors: Expert Review and Best Practice Advice From the American Gastroenterological Association. *Gastroenterology*. 2017 Mar;152(4):706-715. Review.
28. Lucendo AJ, Sánchez-Cazalilla M, Molina-Infante J, Pérez-Martínez I, Tenías JM, Barrio J, Nantes Ó, Ciriza-de-los-Ríos C, Perelló A, Arias Á. Transcultural adaptation and validation of the "Adult Eosinophilic Esophagitis Quality of Life Questionnaire" into Spanish. *Rev Esp Enferm Dig*. 2014 Jun;106(6):386-94.

10. Anexos



ANEXO 10.1

PUBLICACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL



Title(s): The World Allergy Organization journal. **Other Title(s):** WAO journal

Publication Start Year: 2008

Frequency: Monthly

Country of Publication: England

Publisher: [Philadelphia, PA] : Lippincott Williams & Wilkins

Latest Publisher: <2013- > : London, England : BioMed Central

Language: English

ISSN: 1939-4551 (Electronic); 1939-4551 (Linking); **LCCN:** 2007212655

Electronic Links: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1903/>; <http://www.waojournal.org>

Current Format Status: Electronic only

MeSH: Immune System Diseases*; Immune System Phenomena

Publication Type(s): Periodicals

Notes: Official publication of the World Allergy Organization.

Other ID: (OcoLC)163580274. **NLM ID:** 101481283.

ORIGINAL RESEARCH

Open Access



Assessing eosinophilic cationic protein as a biomarker for monitoring patients with eosinophilic esophagitis treated with specific exclusion diets

Joan Doménech Witek^{1*}, Vicente Jover Cerdà¹, Vicente Gil Guillén², Juan Bautista Doménech Clar³ and Ramón Rodríguez Pacheco¹

Abstract

Background: Eosinophilic esophagitis (EoE) is a complex pathology. Attempts have been made in order to relate EoE with the intake of certain food. The problem is to establish which foods are really involved in the pathophysiology of this condition and to objectify a reliable inflammation biomarker for the follow-up of patients undergoing pharmacological treatment and/or diets. Our aim is to assess the food sensitization profile of patients with objective diagnosis of EoE and objectify the utility of ECP as an inflammation biomarker for the follow-up of patients with EoE treated with specific diets, based on the hypothesis that we will observe a decrease and clinical improvement after maintenance of these diets.

Methods: A total of 19 subjects were included between 1 January 2012 and 30 June 2015. Diets based on allergy testing were established. Prior to the initiation of the diets, baseline ECP was determined. Appointments were arranged for the patients between 4 and 6 months later to assess the clinical response to the specific diets and to request a second blood sample for blood counts and serum ECP levels to compare with the previous baseline.

Results: 19 patients diagnosed with EoE (12 males and 7 females) between January 2012 and June 2015, aged between 17 and 68 (33.52; SD 13.67 years), were included consecutively, 15 of whom showed optimum response to specific diets based on allergy testing. A statistically significant difference ECP decrease was observed in our patients.

Discussion: Until now most of the studies previously published in reference to the use of ECP as a biomarker for monitoring patients on treatment with diets show consistent but insignificant decreases in ECP levels. However, ECP seems to be a good marker of inflammation if the determinations are performed avoiding confounding factors.

Conclusion: The serial determination of ECP is useful when monitoring patients with EoE treated with specific diets.

Keywords: Eosinophilic esophagitis, Eosinophil cationic protein, Specific diet

Background

Eosinophilic esophagitis (EoE) can be caused by immunoglobulin E (IgE)-mediated, non-IgE-mediated or mixed food sensitization mechanisms. EoE is characterized by the presence of eosinophil infiltration in the oesophagus, with peripheral eosinophilia observed in ~50% of cases. EoE has no pathognomonic clinical manifestations, is more common in men, and can manifest at any age [1]. In children, the most

frequent manifestations are feeding difficulties, growth disorders, vomiting and abdominal pain. In adults, the most frequent manifestations are dysphagia, gastroesophageal reflux, abdominal pain and impaction episodes of the alimentary bolus. Furthermore, an important issue is the lack of correlation between symptom intensity and tissue inflammation.

In patients with dysphagia, endoscopy and anatomopathology testing can confirm cases of EoE in 15 to 35% of cases [2]. However, reliable inflammatory biomarkers need to be identified to limit the number of invasive endoscopies needed for the adequate monitoring of EoE patients.

* Correspondence: joanwitek@yahoo.es

¹Hospital General de Elda, Sección de Alergología. H. Elda, Carretera de Sax, 03600 Elda, Alicante, Spain

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2017 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

It is now acknowledged that EoE requires interdisciplinary management by gastroenterologists, allergists and anatomical-pathologists. Objective sensitization to food allergens is fundamental to establishing diets that avoid the evolution of oesophagitis to fibrosis and the development of oesophageal stricture states that can trigger serious complications, including impaction and possibly oesophageal perforation.

Eosinophilic cationic protein (ECP) is a highly cationic protein with numerous biological functions and cytotoxic effects, and it is stored by eosinophils and accumulated by neutrophils. ECP levels can be measured in many biological fluids, and though it is most commonly used to study asthma [3], ECP may also be a useful marker for monitoring EoE. In particular, better testing methods are needed in the context of food avoidance diets, which are often complex and involve multiple testing steps after the sequential reintroduction of each type of food. Previous studies have described short patient series in which ECP appears to be a useful biomarker (determined in blood or faeces). However, further studies are needed involving larger sample sizes to determine the usefulness of ECP as a biomarker, not only for initial avoidance but also for the reintroduction of each kind of food and subsequent monitoring of EoE patients.

The aim of this study was to better characterize a number of previously identified biomarkers, including IgE [4] and ECP [5] levels. We seek to establish the usefulness of ECP for the monitoring of patients with EoE under treatment with specific exclusion diets. Considering that ECP levels can vary due to many factors, particularly those associated with respiratory pathologies or poorly controlled diets, one of our priorities was to eliminate these confounding factors prior to characterizing this biomarker as a patient monitoring tool.

Methods

Study design

To determine the usefulness of ECP as a biomarker, the following hypothesis was suggested based on our clinical experience: Serum ECP levels will significantly decrease after recommended specific diets have been established following objective food sensitization by means of skin tests or specific IgE. Furthermore, we expect the objective decrease to correlate with clinical improvements and possibly with the cessation of symptomatic treatments with proton-pump inhibitors or swallowed/inhaled corticosteroids.

The study included adult and adolescent patients referred by a digestive medicine specialist with an objective diagnosis of EoE, which was based on currently accepted metrics (15 or more eosinophils per oesophageal mucosal biopsy field) [1]. A total of 19 subjects were included between 1 January 2012 and 30 June 2015. During the initial appointment, relevant medical history information was gathered, and skin tests were performed with complete batteries of standard aeroallergens (23 items) and food allergens (62

items) (prick tests were performed using standardized allergen extracts from Bial Aristegui* Laboratories). Patients were then referred to a hospital laboratory for a blood sample to be taken to establish IgE levels specific to food, blood count and serum ECP (baseline prior to establishing relevant specific diets). Patients were informed that the blood sample had to be taken when the subject had no respiratory symptoms compatible with rhinitis or asthma and no active infection; the blood sample collection took place outside the relevant aggravation period in each case (in relation to aero-allergen sensitization). Appointments were arranged for all patients to discuss the results of their tests and to recommend specific diets. We indicated to our patients the avoidance of food whose sensitization had been objectified by skin tests, specific IgE levels higher than 0.35 kUA/L as well as foods with cross-reactivity with pollen to which the patients were sensitized (mainly fruits and the solanaceae family). After the diets had been established, appointments were arranged for the patients between 4 and 6 months later to assess the clinical response to the specific diets and to request a second blood sample for blood counts and serum ECP levels to compare with the previous baseline. The characteristics of patients included in the study with analytical values and endoscopic findings are summarized in Table 1.

Table 1 Characteristics of patients included in the study with analytical values and endoscopic findings

Number of patients	19
Men/Women	12/7 (63.15%/36.85%)
Age	33.52 ± 13.67
Asthma	4 (21%)
Rhinoconjunctivitis	12 (63.15%)
Atopic dermatitis	5 (26.3%)
Aeroallergens	13 (68.4%)
Food allergies	16 (84.2%)
Overall clinical response to diet	
Improvement	15 (79%)
No response	1 (5.22%)
Not included	3 (15.78%)
Endoscopic findings	
Eosinophil in biopsies (n/hpf)	22,06 ± 5,34
Inflammatory phenotype	9 (47.36%)
Stenosing phenotype	4 (21%)
Mixed phenotype	6 (31,64%)
Analytical values	
Total IgE	255,53 ± 272,26
ECP Pre diet (µg/mL)	34,25 ± 26,37
Eosinophils in peripheral blood	343,33 ± 177,83

Patients who did not follow the criteria of providing blood samples during a period without respiratory symptoms or outside the aggravation period (the majority of samples were taken in August, December and January) were excluded. Furthermore, patients who had previously started diets prior to consultation were not included in the study.

Patients were told to continue with their symptomatic treatments as directed by their gastroenterologists for 2 to 3 months and then to stop the treatment and continue with the diets alone if they began to see improvements.

Histological and endoscopic studies

Endoscopic procedures were performed by an experienced gastroenterologist using a flexible 8.5 mm gastroscope with a 2.8 mm work channel (EG-530 FP, Fujinon, Fujifilm Corporation, Tokyo, Japan). Biopsies were performed using conventional forceps (Radial Jaw™ 4 Boston Scientific, Proparck, Costa Rica). No complications were observed as a result of the endoscopic procedures or biopsies performed. The histological study was performed only to have a confirmed diagnosis of EoE, not carrying out a control study after the maintenance of the indicated diets.

Biopsy specimens were sent to the Pathology Department, where they were formalin-fixed and paraffin-embedded. Serial sections were then performed using a microtome and stained with eosin haematoxylin. EoE was diagnosed in cases with 15 eosinophils/hpf or more in at least one high-power field (HPF).

Analysis

Comparisons were performed using non-parametric tests of paired samples. Each individual was compared to their baseline measurements. Continuous variables (ECP) are expressed in mean \pm SD values, and the Wilcoxon rank test was used to contrast hypotheses regarding continuous variables for pre- and post-diet. Graphs show box plots with median and interquartile ranges.

Results

Epidemiological data

Nineteen patients diagnosed with EoE (12 males and 7 females) between January 2012 and June 2015, aged between 17 and 68 (33.52; SD 13.67 years), were included consecutively. The epidemiological variables are summarized in Table 1.

Clinical data

Most of our patients presented food sensitization, and we observed atypical food allergies, being the most prevalent allergy to nuts, legumes, gluten and milk. Objectified food sensitizations are summarized in Table 2. The most common atopic feature was rhino-conjunctivitis with some cases of asthma and atopic dermatitis. The phenotypic diversity of the patients studied, from patients with multiple

Table 2 Food sensitization objectified by percentage of each kind of food

Nuts	19%
Rice/Vegetables	19%
Gluten	18%
Milk	13%
Peach	11%
Egg	9%
Banana/Kiwi	8%
Fish	2%
Meat	<1%
Anisakis	
Solanaceae	
Cocoa	
Other fruits	

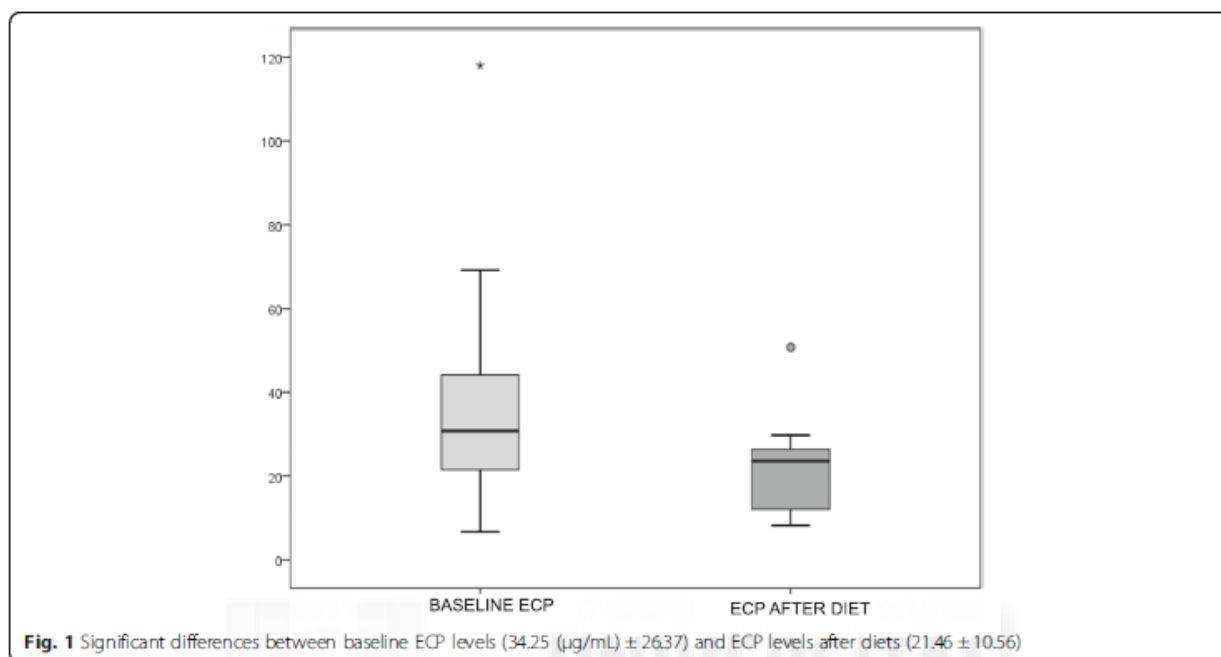
food and environmental sensitizations to patients with no atopic trait or associated respiratory pathology, was noteworthy. We also encountered a number of cases in which patients said their digestive symptoms were worse during aggravation periods of their respiratory symptoms due to pollen exposure.

Analytical values

At baseline, all our patients presented with high ECP levels compared with the normally accepted standard [6], with average levels of $34.253 \mu\text{g/mL} \pm 26.3725$. We first analysed changes in ECP levels for the 19 cases initially included in the study without correction for possible diet transgressions or blood samples taken in a seasonal period, and we observed a non-statistically significant reduction in ECP levels to $23.663 (\mu\text{g/mL}) \pm 14.692$ ($p = 0.052$). However, when we included only the 16 patients who followed the protocols regarding dietary transgressions and blood sampling without respiratory symptoms, we observed a pre-diet ECP mean of 37.3875 ± 26.66871 and post-diet ECP mean of 21.4688 ± 10.56325 , which are significantly different ($p < 0.001$) (Fig. 1).

Clinical response

Fifteen of the 19 patients showed optimal responses to their specific diets and remained asymptomatic without pharmacological treatment. This response was assessed using the EoO-QOL-A (Adult eosinophilic oesophagitis quality of life questionnaire) [7]. Of the 4 remaining patients, empirical diets of 6 food items [8] were indicated in 2 patients, as sensitization was not established or they did not respond to specific diets; one of these patients did not respond to the diet, and the other could not maintain it. In both cases, these patients continued treatment with inhaled corticosteroids and proton-pump inhibitor (PPIs). The remaining two patients continued with PPIs alone. Two respondent patients required



symptomatic treatment during the seasonal period and followed the specific diet for the rest of the year. One of the patients responding to the specific diet presented resolution of the mucosal banding observed in the first endoscopic study. Our intention is to repeat the endoscopic study with the remainder of the included patients.

Discussion

This study shows that ECP may be a useful biomarker for monitoring EoE patients being treated with specific diets. We are aware that the small sample size does not allow us to extrapolate beyond the efficiency of the diets used.

Until now most of the studies previously published in reference to the use of ECP as a biomarker for monitoring patients on treatment with diets show consistent but insignificant decreases in ECP levels following diets. However, we should highlight other publications in which ECP and other markers have shown significant decreases in response to pharmacological treatment with corticosteroids or PPIs [9–11]. As discussed in these publications it is imperative to achieve an adequate control of our patients through the use of non-invasive techniques that can be used in normal clinical practice. In this sense the ECP seems to be a good marker of inflammation if the determinations are performed correctly.

EoE is a complex entity characterized by a variety of phenotypes. It predominantly affects men between 30 and 40 years old, and it is generally diagnosed at least three years after the start of symptoms involving sensitization to food and environmental aeroallergens

[12]. However, it is becoming increasingly apparent that EoE may be an under-diagnosed entity with a late diagnosis. This delay highlights the importance of actively searching for patients with compatible symptoms, as early diagnosis is fundamental to avoiding the development of complications, such as impaction of the alimentary bolus. In our experience, doctors should suspect this condition if patients report episodes of choking or if one detects “atypical” adult food sensitizations such as milk, egg and gluten. The patient should then be referred to a digestive medicine specialist for endoscopy and biopsy to confirm the suspected diagnosis.

Recent studies [13] have further described the therapeutic management of patients with EoE. It is noteworthy that clinical and histological improvements can be achieved in 50.5 and 60.8% of patients, respectively, using PPIs alone. Treatment with topical steroids (particularly fluticasone and budesonide) is also efficient. Dietary treatment leads to improvement in patients, with 6-food empirical and elemental diets being more efficient than diets developed based on allergy test results. The efficiency of the latter diet type is quite variable according to the literature (from 30 to 70%) [14].

Therefore, there are a number of management and monitoring solutions available for EoE patients, which makes selecting the best option for each patient very important [15].

Although treatment with PPIs or topical corticosteroids allows for good control of patients, life-long dependency on this type of treatment is not desirable. Establishing a diet that allows patients to control their

condition in the long term without depending on chronic treatment is preferable. As previously discussed, the phenotypic variability of EoE makes it impossible to formulate simple treatment rules. A profile must be established for each patient with esophagitis, and the treatments must be adapted in each case. Based on our experience, specific diets were most widely accepted by patients, as they are easier to follow than the elemental (unfeasible in adults) and 6-food empirical diets. Unfortunately, this approach is not always possible. In cases in which we were able to establish diets with clinical responses and a decrease in ECP levels, we are sequentially reintroducing the foods in question (initially gluten or cooked legumes). We observed responses in each case and assessed the possibility of repeating the endoscopic study after a certain period of time to assess the response and concordance between histology, clinical improvement and ECP reduction.

Conclusions

We believe that the serial determination of ECP levels is useful for monitoring most patients with EoE, given one avoids confounding factors such as infections, acute atopic dermatitis, dietary transgressions or respiratory symptoms, although we are aware that perennial symptoms may hinder the utility of this biomarker in many cases. More studies and batteries with more patients are needed to better understand this pathology.

Study limitations

Our study has two important limitations: the small number of patients and the absence of a histological study after the establishment of the diets and ECP measurement. We are currently including more patients, although this is complicated by the low prevalence of this disease. Although an anatomo-pathological study is desirable as a gold standard, it is ethically questionable to subject an asymptomatic patient to an invasive technique with potential complications. We must remember that most of our patients remain asymptomatic without pharmacological treatment.

Abbreviations

ECP: Eosinophil cationic protein; EoE: Eosinophilic esophagitis; PPI: Proton pump inhibitor

Acknowledgements

We sincerely thank the Digestive Medicine and Pathological Anatomy units at Elda University General Hospital for their impeccable work. We also thank the ALK ABELLO and BIAL ARISTEGUI laboratories for their collaboration, without which it would have been impossible to conduct this study. This study was developed in the Elda University General Hospital and the Miguel Hernandez University of Elche.

Funding

The authors declare that no funding was received for the present study.

Availability of data and materials

All the clinical and laboratory data are available, on request, at joanwitek@yahoo.es in the respect of patients' anonymity.

Author's contribution

JDW conceived the study and drafted the manuscript. VGG performed the statistical analysis. VJC, JBDC and RRP helped to draft the manuscript and participated in the study design. All authors read and approved the final manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Consent for publication

Patients signed a consent document to participate in the study.

Ethics approval and consent to participate

The study was assessed and approved by the IEC (Independent Ethics Committee) at the Elda General University Hospital.

Financial/non-financial disclosures

The authors report no potential conflicts of interest with any companies/organizations whose products or services may be discussed in this article and a lack of financial sources.

Author details

¹Hospital General de Elda, Sección de Alergología, H. Elda, Carretera de Sax, 03600 Elda, Alicante, Spain. ²Universidad Miguel Hernandez de Elche, Alicante, Spain. ³Hospital Universitario Dr. Peset, València, Spain.

Received: 17 January 2017 Accepted: 24 February 2017

References

- Liacouras CA, Furuta GT, Hirano I, Atkins D, Attwood SE, Bonis PA, Burks AW, Chehade M, Collins MH, Dellon ES, Dohil R, Falk GW, Gonsalves N, Gupta SK, Katzka DA, Lucendo AJ, Markowitz JE, Noel RJ, Odze RD, Putnam PE, Richter JE, Romero Y, Ruchelli E, Sampson HA, Schoepfer A, Shaheen NJ, Sicherer SH, Spechler S, Spergel JM, Straumann A, Wershil BK, Rothenberg ME, Aceves SS. Eosinophilic esophagitis: updated consensus recommendations for children and adults. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128:3–20.
- Croese J, Fairley SK, Masson JW, Chong AK, Whitaker DA, Kanowski PA, Walker NL. Clinical and endoscopic features of eosinophilic esophagitis in adults. *Gastrointest Endosc*. 2003;58:516–22.
- Alvarez A, Sanchez C, Garrido-Garrido G, Guevara M, Riaño A, Varona P, Rodríguez JM. The eosinophil cationic protein (ECP) characteristics and its use as a marker of the eosinophil activation in inflammatory pathological processes. *Acta Farm Bonaerense*. 2005;24(4):601–9.
- Gupta SK. Noninvasive markers of eosinophilic esophagitis. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2008;18:157–67.
- Rodríguez-Sánchez J, Gómez-Torrijos E, de-la-Santa-Belda E, López-Viedma B, Martín-Dávila F, Pilkington-Woll JP, Donado-Palencia P, Sánchez-Miranda P, Olmedo-Camacho J. Effectiveness of serological markers of eosinophil activity in monitoring eosinophilic esophagitis. *Rev Esp Enferm Dig*. 2013;105:462–7.
- Bystrom J, Amin K, Bishop-Bailey D. Analysing the eosinophil cationic protein—a clue to the function of the eosinophil granulocyte. *Respir Res*. 2011;12:10. doi:10.1186/1465-9921-12-10.
- Taft TH, Kern E, Kwiatek MA, Hirano I, Gonsalves N, Keefer L. The adult eosinophilic esophagitis quality of life questionnaire: a new measure of health-related quality of life. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34:790–8.
- Lucendo AJ, Arias Á, González-Cervera J, Yagüe-Compadre JL, Guagnozzi D, Angueira T, Jiménez-Contreras 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.
- Schlag C, Pfeifferkorn S, Brockow K, Haller B, Slotta-Huspenia J, Schulz S, et al. Serum eosinophil cationic protein is superior to mast cell tryptase as

- marker for response to topical corticosteroid therapy in eosinophilic esophagitis. *J Clin Gastroenterol.* 2014;48(7):600–6.
10. Schlag C, Miehlke S, Heiseke A, Brockow K, Krug A, von Arnim U, et al. Peripheral blood eosinophils and other non-invasive biomarkers can monitor treatment response in eosinophilic oesophagitis. *Alliment Pharmacol Ther.* 2015;42(9):1122–30.
 11. Min SB, Nylund CM, Baker TP, Ally M, Reinhardt B, Chen YJ, Nazareno L, Moawad FJ. Longitudinal evaluation of noninvasive biomarkers for eosinophilic esophagitis. *J Clin Gastroenterol.* 2017;51(2):127–35.
 12. Castro Jiménez A, Gómez Torrijos E, García Rodríguez R, Feo Brito F, Borja Segade J, Galindo Bonilla PA, Rodríguez-Sánchez J, Guerra Pasadas F. Demographic, clinical and allergological characteristics of eosinophilic esophagitis in a Spanish central region. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2014;42:407–14. doi:10.1016/j.aller.2013.04.004.
 13. González-Cervera J, Lucendo AJ. Eosinophilic esophagitis: an evidence-based approach to therapy. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2016;26:8–18.
 14. Chehade M, S. Aceves S. Food allergy and eosinophilic esophagitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2010;10:231–7.
 15. Haffer CC, Ghaffari G. International survey on evaluation and management of eosinophilic esophagitis. *World Allergy Organ J.* 2012;5(9):95–102.



Submit your next manuscript to BioMed Central and we will help you at every step:

- We accept pre-submission inquiries
- Our selector tool helps you to find the most relevant journal
- We provide round the clock customer support
- Convenient online submission
- Thorough peer review
- Inclusion in PubMed and all major indexing services
- Maximum visibility for your research

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



10.2 TABLAS y FIGURAS

Tabla 1. Características de los pacientes incluidos en el estudio con valores analíticos y hallazgos endoscópicos.

Tabla 2. Sensibilizaciones alimentarias objetivadas expresadas en porcentaje por alimento.

Figura 1. Diferencias significativas entre los niveles basales de ECP ($34,25 \mu\text{g} / \text{mL} \pm 26,37$) y tras las dietas ($21,46 \pm 10,56$).

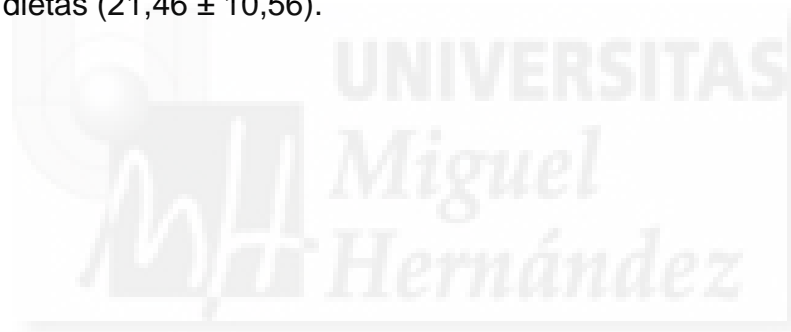


TABLA 1

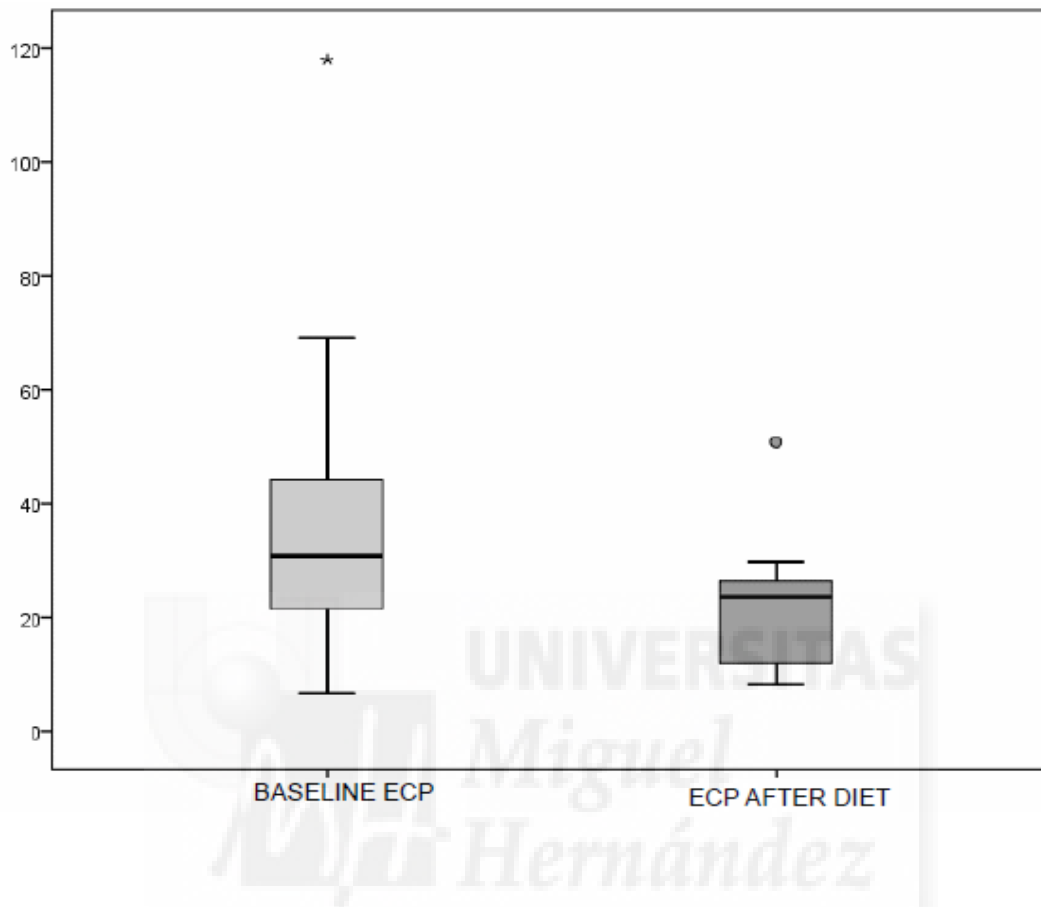
Número de pacientes	19
Hombres/Mujeres	12/7 (63.15 %/36.85 %)
Edad	33.52 ± 13.67
Asma	4 (21%)
Rinoconjuntivitis	12 (63.15%)
Dermatitis atópica	5 (26.3%)
Aeroalergenos	13 (68.4%)
Alergias alimentarias	16 (84.2%)
Respuesta clínica a las dietas	
Mejoría	15 (79%)
No respuesta	1 (5.22%)
No incluidos	3 (15.78%)
Hallazgos endoscópicos	
Eosinófilos en biopsia (n/hpf)	22,06 ± 5,34
Fenotipo inflamatorio	9 (47.36%)
Fenotipo estenótico	4 (21%)
Fenotipo mixto	6 (31,64%)
Valores analíticos	
IgE total	255,53 ± 272,26
ECP Pre dieta (µg/mL)	34,25 ± 26,37
Eosinofilia en sangre periférica	343,33 ± 177,83

TABLA 2

Frutos secos	19%
Arroz/Legum.	19%
Gluten	18%
Leche	13%
Melocotón	11%
Huevo	9%
Plátano/Kiwi	8%
Pescados	2%
Carnes	<1%
Anisakis	
Solanáceas	
Cacao	
Otras frutas	



FIGURA 1



ANEXO 10.3

HOJA DE INFORMACIÓN PARA PACIENTES/CONSENTIMIENTO INFORMADO.

PROYECTO (CÓDIGO EOE-1):

“ESTUDIO DE LA VALIDACIÓN DE LA PROTEÍNA CATIÓNICA EOSINOFÍLICA EN EL SEGUIMIENTO DE PACIENTES CON ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA EN TRATAMIENTO CON DIETAS DE EXCLUSIÓN ESPECÍFICAS”

Tengo constancia de que he sido diagnosticado/a de ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA, una enfermedad de reciente conocimiento caracterizada por la inflamación de la mucosa esofágica causada por entre otros factores, la ingesta de ciertos tipos de alimentos a los que el paciente puede o no estar sensibilizado.

Se trata de una entidad en la que el diagnóstico está perfectamente establecido pero en la que existen dudas en términos de seguimiento y sobretodo, en lo que se refiere a la duración del tratamiento con fármacos y a la recomendación de dietas, que pueden ser empíricas o basadas en la realización de pruebas de alergia.

Numerosos investigadores intentan en la actualidad aclarar este punto para recomendar la mejor forma de seguimiento y tratamiento a los pacientes con esofagitis eosinofílica.

De este modo consiento que se realice el DIAGNÓSTICO y SEGUIMIENTO de mi enfermedad (en lo que se refiere a control de síntomas, pruebas alérgica y peticiones analíticas) en la SECCIÓN DE ALERGOLOGIA del H.G.U de ELDA así como en el resto de las unidades, servicios o secciones pertinentes (normalmente MEDICINA DIGESTIVA y ANATOMIA PATOLÓGICA). Así mismo consiento que los datos clínicos y analíticos derivados del estudio realizado (y sin que nunca trasciendan mis datos personales, nombre, apellidos, dirección y en general información personal no pertinente al estudio) puedan ser publicados para que otros pacientes en seguimiento puedan beneficiarse del desarrollo de nuevos protocolos para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con esofagitis eosinofílica.

Paciente:

Facultativo responsable/Investigador.

ANEXO 10.4

CUESTIONARIO DE CALIDAD DE VIDA (INGLÉS)

Appendix S1. Items for each subscale of the Adult Eosinophilic Oesophagitis Quality of Life.

Eating/Diet Impact	<p>I have to be very cautious about eating. I am always thinking about food. I spend a lot of time planning my meals. I worry about never being able to eat normally again. I find myself spending more money on food because of EoE. I find it time consuming to read food labels and shop at special stores. I have difficulty finding foods I can eat. I feel frustrated that I cannot eat what I want because of EoE. I find it embarrassing when I have to make special requests at restaurants. I worry about going to new restaurants for fear of eating something I shouldn't.</p>
Social Impact	<p>I feel embarrassed when I have a choking episode in public. I try to hide choking episodes so that other people do not realize what is happening. I feel embarrassed if I need to spend a long time in the bathroom trying to resolve a choking episode. I worry about scaring other people around me when I have an attack. I feel frustrated when people think I cause my own choking episodes by eating too fast or taking too big of bites. I worry that I cause my family members anxiety when I have an attack. I feel embarrassed if I need to leave the table abruptly during a meal.</p>
Emotional Impact	<p>I find EoE to be a stressful disease. I feel like my life is less enjoyable because of EoE. My daily life does not feel normal. I feel helpless because of my disease. I feel angry that I have this disease. I find myself getting nervous or anxious before a meal. I feel isolated from others because of my disease. I have a difficult time explaining the disease to my family in order to ease their concerns.</p>
Disease Anxiety	<p>I worry about the future with this disease. I worry about the side effects of my medications long-term. I worry that my disease will get worse. I worry about having to be on medications for the rest of my life. I worry about never identifying the trigger or root cause of my EoE. I have anxiety because this is a relatively new disease. I worry that this disease may progress or turn into something else.</p>
Choking Anxiety	<p>I feel panicked or out of control when I have difficulty swallowing. I fear that I will choke during a swallowing episode. I worry about when the next choking episode will occur. I fear that I will not be able to breathe when I have difficulty swallowing. I fear that I will not be able to resolve my difficulty swallowing using things that have worked before (e.g. raising my arms over my head, inducing vomiting).</p>

CUESTIONARIO DE CALIDAD DE VIDA (CASTELLANO) [28]

Spanish version of EoE-QoL-A Questionnaire

Elija la respuesta que mejor describe su experiencia día a día con la esofagitis eosinofílica (EE).

Pregunta

1. Encuentro estresante la enfermedad de EoE
2. Tengo que tener cuidado al comer porque padezco EoE
3. Tengo sensación de pánico o de no poder controlarme al tener dificultades para tragar
4. Me preocupan los efectos secundarios a largo plazo causados por la medicación para la EoE
5. A causa de la EoE, mi rutina diaria no me parece normal
6. Me siento impotente a causa de la EoE
7. Me pongo nervioso o me entra ansiedad antes de las comidas
8. Me asusta no poder respirar cuando tengo dificultad para tragar
9. Me avergüenza tener que pedir comidas especiales en los restaurantes
10. Me preocupa tener que seguir un tratamiento para la EoE durante el resto de mi vida
11. Tengo la sensación de que disfruto menos de mi vida por la EoE
12. Me preocupa que nunca se identifique lo que causa mi EoE
13. Me siento frustrado por padecer la EoE
14. Trato de disimular mi dificultad al tragar para que el resto de la gente no se dé cuenta de lo que me ocurre
15. Me preocupa que la EoE vaya a más o empeore
16. Me siento frustrado al no poder comer lo que quiero por la EoE
17. Me preocupa causar ansiedad a mi familia cuando me atraganto
18. El hecho de que la EoE sea una enfermedad relativamente nueva me provoca ansiedad
19. Me siento frustrado cuando la gente piensa que soy yo quien causa mis atragantamientos por comer demasiado deprisa o tomar bocados demasiado grandes
20. Me preocupa no saber cuándo volveré a tener otro atragantamiento
21. Lo paso mal cuando tengo que explicar la EoE a mi familia para que no se preocupen tanto
22. Me resulta embarazoso el tener que permanecer largo rato en el baño intentando solucionar un atragantamiento
23. Me siento aislado de los demás a causa de mi EoE
24. Me preocupa el no poder comer nunca con normalidad por la EoE
25. Me preocupa que cuando estoy fuera de casa no vaya a encontrar comida adecuada para mí
26. Me preocupa comer en restaurantes por miedo a la contaminación de los alimentos
27. Paso mucho tiempo planificando mis comidas
28. Encuentro problemático leer las etiquetas de [los envases de] la comida y comprar en tiendas especializadas
29. Acabo gastando más dinero en comida por la EoE
30. Me resulta difícil encontrar productos que yo pueda comer por la EoE

Respuestas en escala de 1 a 5 (*Nada Poco Algo Bastante Mucho*)

ANEXO 10.5

PROTOCOLO DE ESTUDIO

Diagnóstico objetivado de EoE: Confirmación AP >15-20 eos/campo.



Hª Completa: Síntomas respiratorios/Desencadenantes alimentarios



Pruebas cutáneas: Baterías completas/exhaustivas para aeroalergenos/alimentos



Estudio analítico:

1. Hemograma completo/VSG.
2. IgE total/IgE específica (Ampliada).
3. Proteína catiónica eosinofílica sérica (Basal)



Establecimiento de dietas específicas: Alimentos objetivados/React. cruzada.



4/6 meses con dieta estricta



ECP seriada.

Vigilar mejoría clínica.

Pudo suspender tratamiento sintomático?

ANEXO 10.6

DOCUMENTOS CEIC



Comité de Valoración Institucional del Hospital General Universitario de Elda
 Institutional Review Board of Elda General University Hospital

Fecha Date	27 / 03 / 2017
---------------	----------------

Número Protocolo Estudio Clínico Clinical Study Protocol Number	EOE-1
--	-------

Investigador Principal Principal Investigator	Dr. Joan Domenech Witek
--	-------------------------

Departamento Department	Servicio de Alergología del H.G.U. de Elda
----------------------------	---

Título del Proyecto Project Title	ESTUDIO DE LA VALIDEZ DE LA PROTEINA CATIONICA EOSINOFÍLICA COMO BIOMARCADOR PARA EL SEGUIMIENTO DE LA EFICACIA DE DIETAS ESPECÍFICAS EN PACIENTES CON ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA. ASSESSING EOSINOPHILIC CATIONIC PROTEIN AS A BIOMARKER FOR MONITORING PATIENTS WITH EOSINOPHILIC ESOPHAGITIS TREATED WITH SPECIFIC EXCLUSION DIETS.
--------------------------------------	---

CERTIFICA /CERTIFIES

Que el estudio arriba indicado, habiendo completado satisfactoriamente todos los requerimientos impuestos por las autoridades de este País, incluyendo los de la Declaración de Helsinki (AMM, 2008) y las Normas de Buena Práctica Clínica de la Unión Europea,

That the above study, having successfully completed all the requirements imposed by the authorities of this Country, including those of the Declaration of Helsinki (WMA, 2008) and Norms of Good Clinical Practice of the European Union,

fue APROBADO por este CEIC
was APPROVED by this IRB

en (fecha) on (date)	27 / 03 / 2017
-------------------------	----------------

y efectivo hasta (fecha) and effective until (date)	27 / 03 / 2022
--	----------------



Dr. D. Alendro Lizaur Utrilla
 Secretario/Presidente [Secretary/President]
 CEIC Hospital G. U. Elda [IRB Elda G. U. Hospital]

**(ST-3c) DICTAMEN SOBRE ADECUACIÓN ÉTICA
PARA OTROS PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN**

Dr. D. Alejandro Lizaur Utrilla
Presidente del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital General Universitario de Elda

CERTIFICA:

Que en relación al protocolo de investigación siguiente:

Título:

ESTUDIO DE LA VALIDEZ DE LA PROTEINA CATIONICA EOSINOFÍLICA COMO BIOMARCADOR PARA EL SEGUIMIENTO DE LA EFICACIA DE DIETAS ESPECÍFICAS EN PACIENTES CON ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA.

Investigador principal: Dr. Joan Domenech Witek
del Servicio: de Alergología

del Centro: Hospital General Universitario de Elda

Este Comité, en su reunión de fecha 27/03/2017, tras la evaluación realizada en sus aspectos generales y éticos, y tomando en consideración las siguientes cuestiones:

1. Cuestiones relacionadas con la adecuación a los postulados éticos, y específicamente los relativos a la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial y las Normas de Buena Práctica Clínica de la Unión Europea.
2. Cuestiones relacionadas con el procedimiento de información y obtención del consentimiento informado y el plan de reclutamiento.
3. Cuestiones relacionadas con los aspectos generales (pertinencia, científicos, metodológicos, éticos y documentación anexa)
4. Cuestiones relacionadas con la idoneidad del investigador y de sus colaboradores
5. Cuestiones relacionadas con la idoneidad de las instalaciones.
6. Cuestiones relacionadas con los aspectos económicos.

Este CEIC emite un DICTAMEN FAVORABLE para su realización en el Servicio de Alergología del Hospital General Universitario de Elda por el Dr. Dr. Joan Domenech Witek como investigador principal.

Lo que firmo en ELDA a 28 de marzo de 2017



Fdo., El Presidente
Dr. D. Alejandro Lizaur Utrilla

ANEXO 10.7. DIFUSIÓN DEL ESTUDIO EN EL MOMENTO ACTUAL

El artículo fue publicado como “ORIGINAL RESEARCH” el 23 de marzo del 2017 en la revista “World allergy organization journal” (ISSN: 1939-4551) . Dicha revista está indexada en CAS, DOAJ, Embase, Emerging Sources Citation Index, PubMed, PubMed Central, SCImago y Scopus.

La revista esta clasificada en Q1 según la base de datos de SCImago (SJR) (Categoría de Alergia e Inmunología). Presenta un percentil 89 en Scopus (Posición 17 de 162 publicaciones en su categoría) con un “Cite score 2015” de 5.25, SJR 1.940 y SNIP 2.467.

Desde la publicación (23 de marzo del 2017) hasta la fecha de redacción del manuscrito de tesis doctoral se han observado más de 700 accesos/descargas del artículo (Open access) consiguiendo una puntuación “Altmetric” de 13 que sitúa al artículo en un percentil 87 de atención en su categoría.