

DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA

**Fibrosis Subepitelial Esofágica en
Pacientes Adultos con Esofagitis
Eosinofílica: Efectos Morfológicos
y Moleculares del Tratamiento
Esteroido Tópico.**

Memoria que presenta D^a Livia Cristina De Rezende Borges para
optar al grado de Doctora en Medicina por la
Universidad Autónoma de Madrid.
Madrid, 2010.

Este trabajo ha sido desarrollado en la Sección de Aparato Digestivo del Hospital General de Tomelloso (Ciudad Real), en colaboración con la Unidad de Apoyo a la Investigación y el Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Mancha Centro, y el Laboratorio de Inmunología Molecular de la Unidad de Investigación del Hospital Universitario La Paz de Madrid.

El presente trabajo ha sido tutelado por el Profesor Dr. D. José Miguel Cano López, del Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid y dirigido por el Dr. D. Alfredo José Lucendo Villarín.

Para Alfredo
Para mi Familia

A Ángel Arias Arias, biólogo responsable del Laboratorio de Investigación del Complejo Hospitalario La Mancha Centro, por sus enseñanzas y su trabajo exhaustivo y desinteresado en las técnicas de biología molecular y en todo el innumerable apoyo prestado a la conclusión de este proyecto.

A la Dra. Teresa Bellón Heredia, coordinadora de la Unidad de Investigación del Hospital Universitario La Paz, por sus ideas innovadoras relacionadas con las citoquinas implicadas en este estudio y por su participación indispensable para la realización de los estudios de biología molecular realizados en este proyecto.

A MariLuz Fernández de la Fuente, Mercedes Cruz Campos y Mercedes Serrano Valverde, enfermeras y auxiliar de la Sección de Aparato Digestivo y de la Unidad de Endoscopia del Hospital General de Tomelloso, que además de excelentes compañeras, colaboraron con entusiasmo y gran paciencia en las numerosas exploraciones endoscópicas necesarias para la consecución de este estudio.

A Teresa Mota Cuevas, supervisora y técnico de Anatomía Patológica, a quien debemos las preparaciones histológicas únicas que han permitido desarrollar este estudio.

Al Dr. José Luís Yagüe Compadre, patólogo del Complejo Hospitalario La Mancha Centro, por su aportación en el análisis de las numerosas muestras de biopsias utilizadas en este estudio.

Al Dr. José María Tenias Burillo, epidemiólogo de la Unidad de Apoyo a la Investigación del Complejo Hospitalario La Mancha Centro, por su paciente trabajo en el análisis de todos los datos de este y de otros muchos trabajos.

Al Profesor Dr. José Miguel Cano López, Jefe de Sección de Aparato Digestivo del Hospital Universitario La Paz y tutor de esta Tesis, por haber facilitado en todo momento la consecución de este proyecto y por sus sabios consejos.

A todos los pacientes que han accedido voluntaria y desinteresadamente a participar en este estudio, sin cuyos datos y muestras no podríamos haber realizado.

Y sobre todo quiero mostrar mi agradecimiento al Dr. Alfredo J. Lucendo Villarín, mi director de Tesis, por idear y coordinar este proyecto, por su apoyo y por su compañía, sin los cuales este trabajo no hubiera sido posible.

ÍNDICE

- ÍNDICE	1
- ABREVIATURAS	5
- INTRODUCCIÓN	8
1. EL ESÓFAGO: BASES ESTRUCTURALES	9
2. CAPACIDAD INMUNOLÓGICA Y ALERGIA DIGESTIVA: IMPLICACIONES PARA EL ESÓFAGO	13
2.1. Exposición a antígenos en la mucosa digestiva	13
2.2. Alergia digestiva	14
2.3. Estructura y función de los eosinófilos	15
3. ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA	17
3.1. Definición	17
3.2. Epidemiología	18
3.3. Historia natural de la EE	21
3.4. Manifestaciones clínicas	24
3.5. Hallazgos endoscópicos en la EE	25
3.6. Trastornos motores en la EE	27
3.7. Hallazgos histopatológicos en la EE	29
4. MECANISMOS INMUNOPATOLÓGICOS DE LA EE	32
4.1. La EE como una enfermedad alérgica	33
4.2. Relación de EE con la ERGE	33
4.3. Componente genético de la EE	35
4.4. Bases celulares y moleculares de la EE	35
4.5. El papel de las eotaxinas en la EE	37
5. FIBROSIS SUBEPITELIAL EN LA EE	39
5.1. Definición y origen de la fibrosis	39
5.2. El asma y la remodelación fibrosa de la vía aérea	41
5.3. El eosinófilo y la fibrosis subepitelial	46
5.4. Mecanismos moleculares de la fibrosis subepitelial de la vía aérea	47
5.5. Efecto del tratamiento con corticoides en la fibrosis y angiogénesis de la vía aérea	50
5.6. Remodelación fibrosa esofágica en la EE	51
6. TRATAMIENTO DE LA EE	54
6.1. Manejo dietético y de control de exposición antigénica	55

6.2. Tratamiento farmacológico en la EE	57
6.3. Tratamiento endoscópico. Utilidad y controversias	63
- HIPÓTESIS DE TRABAJO Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	66
- OBJETIVOS	71
- PACIENTES Y MÉTODOS	73
1. PACIENTES	74
2. EXPLORACIÓN ENDOSCÓPICA	77
3. PROCESAMIENTO DE LAS BIOPSIAS Y ANÁLISIS HISTOLÓGICO	78
4. TRATAMIENTO DE LA EE	81
5. EXTRACCIÓN DE RNA DE CITOCINAS Y PCR EN TIEMPO REAL	82
6. CONSULTA DE MATERIAL BIBLIOGRÁFICO	85
7. ESTUDIO ESTADÍSTICO	86
- RESULTADOS	87
1. PACIENTES	88
2. HALLAZGOS ENDOSCÓPICOS	91
3. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS	93
3.1. Preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina	93
3.2. Preparaciones teñidas con tricrómico de Masson	94
4. EXPRESIÓN GÉNICA DE CITOQUINAS	96
4.1. IL-5	96
4.2. TGF- β	96
4.3. CCL-18	96
4.4. FGF-9	97
5. CAMBIOS INDUCIDOS POR EL TRATAMIENTO ESTEROIDEO TÓPICO	97
5.1. Evolución sintomática	97
5.2. Cambios en la densidad eosinofílica	98

5.3. Cambios en la expresión génica de citoquinas profibrogénicas	99
5.4. Cambios en el depósito de colágeno subepitelial	102
5.5. Correlación entre las variables analizadas en pacientes con EE	103
- DISCUSIÓN	106
- CONCLUSIONES	128
- RESUMEN	132
- BIBLIOGRAFÍA	140
- ANEXO 1	158
- ANEXO 2	162
- ANEXO 3	167

ABREVIATURAS

Anti-IL-5	Anticuerpo monoclonal anti interleuquina-5
CCL-18	Ligando 18 del receptor C-C (CCR)
cDNA	Ácido desoxi-ribonucleico complementario
DE	Desviación estándar
DNA	Ácido desoxi-ribonucleico
ECP	Proteína Catiónica del Eosinófilo
EDN	Neurotoxina Derivada del Eosinófilo
EE	Esofagitis eosinofílica
EES	Esfínter Esofágico Superior
EEI	Esfínter Esofágico Inferior
EPO	Peroxidasa Eosinófila
ERGE	Enfermedad por reflujo gastroesofágico
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
FGF-9	Factor de crecimiento de fibroblastos-9
bFGF/FGF 2	Factor de crecimiento de fibroblasto básico (<i>Basic fibroblast growth factor</i>)
HES	Síndrome hipereosinofílico
HPF	Campos de gran aumento
IFN γ	Interferón γ
Ig	Inmunoglobulinas
Ig E	Inmunoglobulina E
IL	Interleuquina
IL-5	Interleuquina 5
LP	Lámina propia
MBP	Proteína Mayor Básica
MMP-9	Metaloproteinasas de matriz
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PDGF	Factor de de crecimiento derivado de plaquetas
RAST	Test alérgicos de radio absorvencia
RGE	Reflujo gastroesofágico
RNA	Ácido ribonucleico

RNAm	Ácido ribonucleico mensajero
SNP	Polimorfismo de un único nucleótido
TGFβ	Factor transformante de fibroblastos-β
Th1	Linocut's T <i>helper</i> 1
Th2	Linocut's T <i>helper</i> 2
TNF α	Factor de necrosis tumoral-α
T reg	Linfocitos T reguladores
VEGF	Factor de crecimiento vascular endotelial

INTRODUCCIÓN

1. EL ESÓFAGO: BASES ESTRUCTURALES.

El esófago es un conducto muscular de aproximadamente 25 cm de longitud, casi recto, que une la faringe con el estómago. Tiene una localización intratorácica, a excepción de los últimos 2-4 cm distales. La función principal del esófago es mecánica: permite el paso del bolo alimenticio al estómago. A pesar de su aparente simplicidad estructural, presenta un alto grado de especialización funcional motora¹.

En su porción proximal, el esófago comienza donde el músculo constrictor faríngeo fusiona sus fibras con las del músculo cricofaríngeo, una zona funcional denominada Esfínter Esofágico Superior (EES) y constituida por músculo esquelético. En la parte más distal del órgano existe un área de 2 a 4 cm de longitud en la que las fibras musculares lisas se engrosan de modo asimétrico y que se denomina Esfínter Esofágico Inferior (EEI) o Cardias².

Desde un punto de vista estructural, la pared del esófago está compuesta de cuatro capas, que desde adentro hacia fuera son: **mucosa, submucosa, muscular propia y adventicia**³ (Figura 1). A diferencia del resto de órganos del tracto gastrointestinal, el esófago carece de serosa^{4,5}.

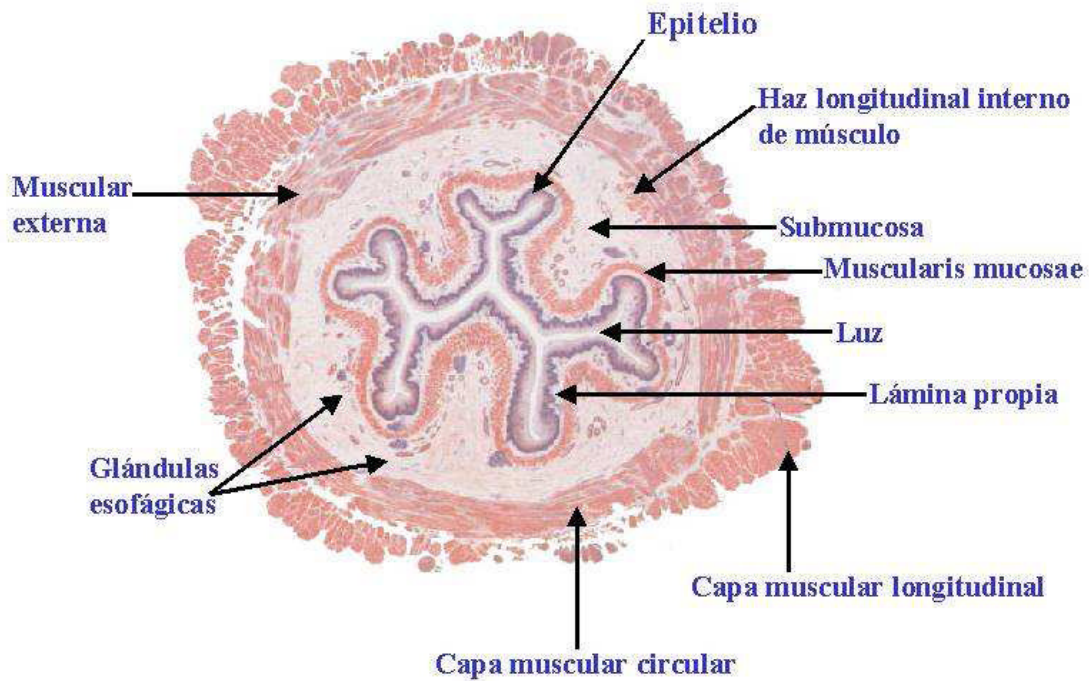


Figura 1. Estructura de la pared esofágica (de: Sobotta, Histología. Panamericana, 2008).

La cubierta interna o **mucosa**, está formada por un epitelio plano, poliestratificado, no queratinizado que recubre la **lámina propia**⁵. Este epitelio está constituido por tres capas funcionalmente distintas: un estrato córneo, un estrato espinoso y uno germinativo⁴.

- Estrato córneo: está orientado hacia la luz y actúa como barrera entre el contenido luminal y el medio interno mediante la presencia de capas de células ricas en glucógeno.
- Estrato espinoso: contiene células metabólicamente activas, con una red desmosómica que mantiene la integridad estructural del tejido.
- Capas basales del epitelio germinativo: contienen células cuboides que se disponen en unas 4 a 6 capas y que ocupan del 10 al 15% del espesor del epitelio y están capacitadas para la replicación. En

consecuencia, la hiperplasia de las células basales, definida cuando las células basales ocupan más del 15% del espesor del epitelio, es común en la Enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) y en otras enfermedades, como manifestación de un aumento del ritmo de reparación celular⁶.

El epitelio esofágico contiene una pequeña cantidad de otros tipos celulares, como células secretoras, melanocitos, linfocitos y células de Langerhans (de estirpe macrofágica que actúan como presentadoras de antígenos)⁴. En circunstancias normales el esófago carece de eosinófilos.

Debajo del epitelio se encuentra la **Lámina propia** (LP), la porción no epitelial de la mucosa, situada sobre la *muscularis mucosae*⁵. Está formada por una red laxa de tejido conectivo dentro del cual existen vasos sanguíneos y linfocitos dispersos, macrófagos y células plasmáticas, además de glándulas secretoras de moco. La lámina propia sobresale a intervalos en el epitelio para formar digitaciones, llamadas “papilas”⁵. Normalmente éstas protruyen en menos del 50% del espesor del epitelio; cuando lo hacen en mayor medida, se reconoce como marcador de actividad regenerativa⁶.

La mucosa se separa de la submucosa a través de la *muscularis mucosae*, una delgada capa de músculo liso orientada de forma longitudinal⁵ cuyas funciones están poco claras.

La **submucosa** está compuesta por una red densa de tejido conectivo que contiene elementos vasculares y linfáticos, neuronas del plexo submucoso de Meissner y glándulas de estructura acinar.

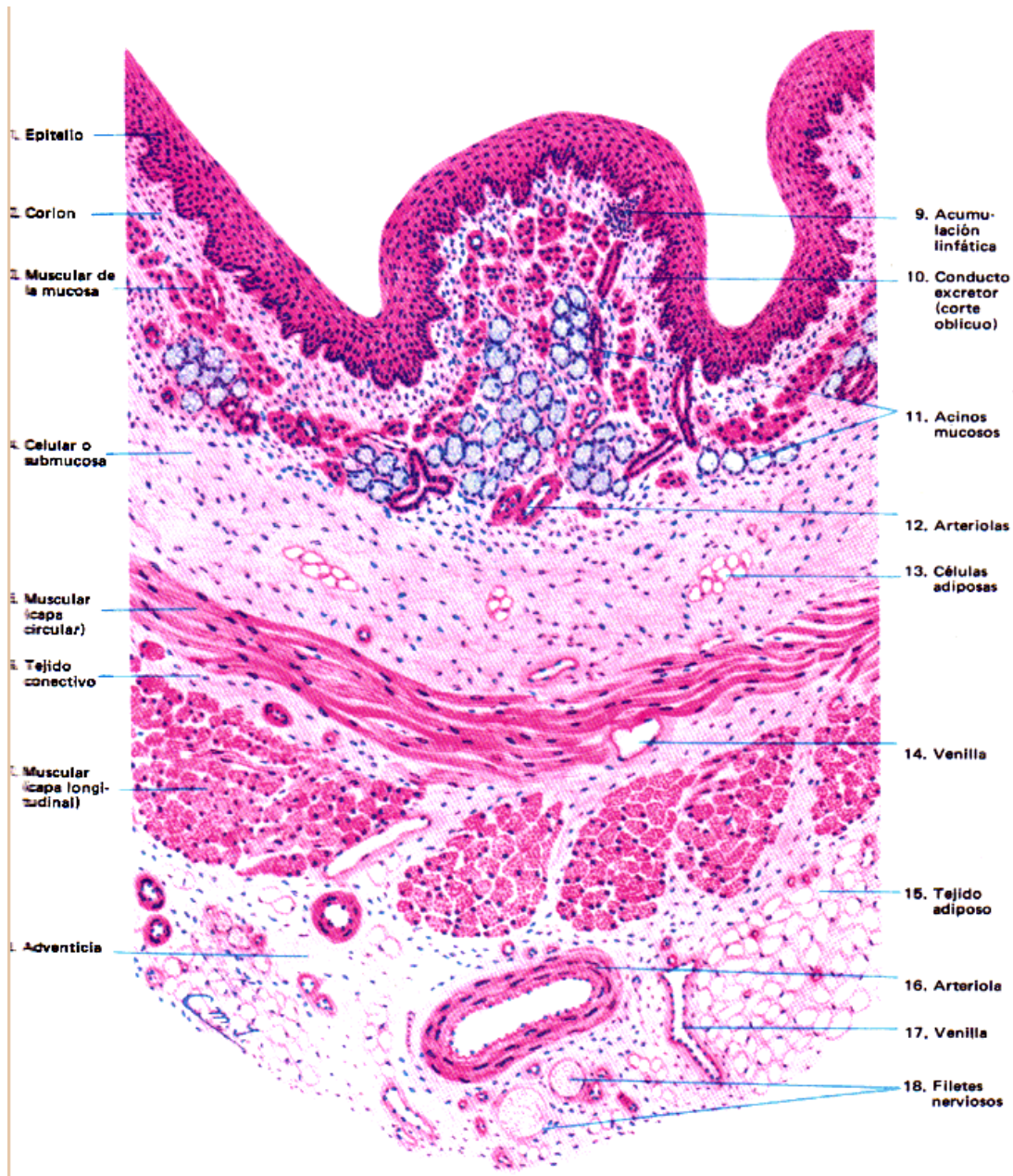


Figura 2. Estructura histológica de la pared del esófago, que muestra la disposición de sus diferentes capas.

Más externamente se localiza la **capa muscular propia**; ésta es la responsable de la función de transporte. En la parte superior del órgano (entre los 2 y los 6 cm iniciales) se constituye exclusivamente por músculo esquelético y en el tercio inferior exclusivamente por músculo liso, existiendo en la porción intermedia mezcla de ambos tipos de fibras musculares con aumento gradual de las fibras de músculo liso en las porciones distales⁷. El músculo esofágico se estructura en dos capas, una más interna de disposición circular y organización

helicoidal, más gruesa, cuya contracción reduce el calibre de la luz del órgano, y otra más externa y delgada, de disposición longitudinal, que al contraerse reduce la longitud del esófago⁸. Entre ambas se organiza una segunda red de neuronas que constituyen el plexo mientérico de Auerbach⁹. La contracción de las capas musculares esofágicas coordinada por los plexos neuronales de Meissner y Auerbach genera movimientos de avance del bolo deglutido, por activación secuencial de distintos segmentos.

Externamente el esófago está rodeado de una capa conjuntiva o adventicia.

2. CAPACIDAD INMUNOLÓGICA Y ALERGIA DIGESTIVA. IMPLICACIONES PARA EL ESÓFAGO:

2.1. EXPOSICIÓN A ANTÍGENOS EN LA MUCOSA DIGESTIVA:

La mucosa del tubo digestivo es una compleja estructura adaptada tanto para la absorción de nutrientes como para actuar como una barrera protectora. Por este motivo, el sistema inmune de la mucosa gastrointestinal debe permitir el contacto con múltiples sustancias presentes en la luz del órgano, mantener la capacidad de eliminar las estructuras patógenas y permitir el paso de nutrientes. Para ello, debe contar con mecanismos para la identificación de las distintas sustancias y microorganismos con los que contacta, y frente a los que podrá actuar diferencialmente como tolerante o reactiva¹⁰.

La mucosa del esófago, como toda superficie epitelial, posee su propio sistema de vigilancia. El infiltrado esofágico por eosinófilos refleja la capacidad

de respuesta inmune del órgano, y nos indica el tipo de célula efectora que puede ser responsable del cuadro inflamatorio en algunas entidades patológicas¹⁰.

2.2. ALERGIA DIGESTIVA.

La alergia alimentaria es un cuadro clínico secundario a la ingesta, contacto o inhalación de alimentos que desencadenan una respuesta inmune inadecuada del organismo. La pérdida de la capacidad de tolerancia inmunológica digestiva frente a distintos antígenos desencadena respuestas inmunes que resultan en reacciones inflamatorias patológicas que afectan a la pared del tubo digestivo. Se ha observado un gran aumento en la incidencia de alergias alimentarias en los últimos años, hecho probablemente relacionado con el desarrollo socio-económico en los países industrializados como propone la “hipótesis de la higiene”¹¹. Esta teoría proporciona una explicación general para el incremento de las enfermedades alérgicas e inmunológicas en paralelo a un descenso en la incidencia de las enfermedades infecciosas. Los ambientes libres de gérmenes (debido al control exhaustivo de la exposición a microorganismos durante la infancia) han conducido a cambios en los patrones de la microflora intestinal y a un descenso en la exposición a helmintos intestinales, provocando un desbalance en el sistema inmune, predisponiendo a las enfermedades alérgica y autoinmunes^{12,13}. Un cambio en el fino ajuste entre las respuestas de las células T *helper* 1 (Th1), T *helper* 2 (Th2) y células T reguladoras (T reg) que son provocadas por una alteración de la respuesta inmune celular parecen ser las

responsables de este fenómeno. De hecho, las células Th2 (importantes para el desarrollo de las respuestas mediadas por IgE y eosinófilos) normalmente disminuyen en torno al segundo año de vida en los individuos no alérgicos, posiblemente de manera secundaria al estímulo Th1 promovido por las infecciones bacterianas¹⁴.

Recientemente numerosos trabajos científicos han aumentado nuestro conocimiento sobre las características fisiopatológicas de las alergias a alimentos. La hipersensibilidad a alimentos pueden afectar a distintos tramos del tubo digestivo y pueden clasificarse dependiendo de que la reacción alérgica sea independiente o mediada total o parcialmente por la Inmunoglobulina E (Ig E)^{15,16}. Hay numerosos cuadros clínicos relacionados con la hipersensibilidad a alimentos y a la infiltración del tubo digestivo por células inflamatorias, entre ellas las enfermedades gastrointestinales relacionadas con eosinófilos^{13,15,17}.

2.3. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LOS EOSINÓFILOS

Los eosinófilos son granulocitos derivados de la médula ósea cuyos gránulos contienen proteínas básicas que se unen a pigmentos básicos como la eosina¹⁸. Estas células poseen funciones pro-inflamatorias que están implicados principalmente en la protección frente a parásitos¹⁹ y en las reacciones alérgicas²⁰. Su biología no es completamente conocida, pero en actualidad son consideradas como células multifuncionales: son capaces de causar daño tisular

a través de las proteínas preformadas citotóxicas contenidas en sus gránulos citoplasmáticos²¹, pueden liberar mediadores inflamatorios que activan el epitelio, además de activar linfocitos T y provocar respuestas inmunes antígeno-específicas actuando como células presentadoras de antígenos²².

Los eosinófilos forman parte de la estructura normal de ciertos órganos digestivos, donde abundan más que en otros tejidos. En condiciones normales, los eosinófilos no infiltran el epitelio sino son reclutados desde el torrente sanguíneo hacia los tejidos donde desarrollan sus funciones biológicas. En el tubo digestivo se concentran principalmente en el intestino delgado y en colon derecho, y no están presentes nunca en el esófago normalmente. El acumulo de eosinófilos en los tejidos por encima de las concentraciones normales y su presencia dentro del epitelio²² son hallazgos comunes de diversas enfermedades gastrointestinales, incluyendo las alergias alimentarias mediadas por IgE, las enfermedades eosinofílicas gastrointestinales^{13,23}, la ERGE²³ y la enfermedad inflamatoria intestinal²⁴⁻²⁶, donde podrían constituir un factor de mal pronóstico. En todos estos procesos los eosinófilos contribuyen al daño tisular a través de sus funciones proinflamatorias.

Las principales proteínas citotóxicas del eosinófilo son la proteína Mayor Básica (MBP), Proteína Catiónica del Eosinófilo (ECP), Peroxidasa Eosinófila (EPO) y Neurotoxina Derivada del Eosinófilo (EDN)¹⁸. Al igual que los neutrófilos, los eosinófilos utilizan moléculas de adhesión y factores quimiotácticos (comunes a los mastocitos, linfocitos o macrófagos) para

alcanzar los tejidos desde el torrente sanguíneo. Los eosinófilos presentan capacidad de fagocitosis, lo que unido al efecto de sus proteínas tóxicas fuertemente catiónicas les dota de gran efectividad frente a los parásitos, y pueden también inducir lisis de las células epiteliales de los mamíferos, contribuyendo a la lesión tisular en las reacciones inmunitarias²⁷ y en la inflamación.

El crecimiento y la diferenciación de los eosinófilos está estimulado por una citoquina de tipo Th2, denominada interleucina-5 (IL-5)²⁸. La IL-5 actúa como un activador de eosinófilos, transformando los eosinófilos en reposo en una célula de mayor tamaño, y aumentando la capacidad de citotoxicidad, a la vez que sobre la médula ósea aumenta la producción de eosinófilos.

3. ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA:

3.1. DEFINICIÓN:

La Esofagitis Eosinofílica (EE) consiste en un trastorno inflamatorio crónico esofágico, de naturaleza inmunoalérgica y origen desconocido, que se caracteriza por una densa infiltración por granulocitos eosinófilos, limitada exclusivamente a la pared de este órgano, sin afectación de tramos más distales del tubo digestivo. Dicha inflamación no está determinada por reflujo gastroesofágico (RGE) y persiste pese al tratamiento con fármacos inhibidores de la secreción ácida gástrica²⁹. La EE cursa con diversos síntomas esofágicos y

del tracto digestivo superior, con gran variabilidad en cuanto a su frecuencia y duración, caracterizados por trastornos de la motilidad de este órgano producidos como consecuencia de la respuesta inflamatoria más que como una obstrucción física de la luz del órgano.

3.2. EPIDEMIOLOGÍA:

La historia de la infiltración eosinofílica del esófago es relativamente reciente. La primera mención en la literatura fue la descripción en 1977 de un varón con disfagia, antecedentes de asma bronquial y alergias ambientales, diagnosticado de gastroenteritis eosinofílica con afectación esofágica³⁰.

En los años 80, diversos trabajos describieron numerosos de casos de pacientes pediátricos y adultos con síntomas esofágicos y que en las biopsias del esófago mostraban densa infiltración por eosinófilos. Sin embargo, estos pacientes no fueron correctamente diagnosticados debido a que la presencia de eosinófilos permeando el epitelio esofágico era considerada un signo patognomónico de RGE^{31,32}. Esta consideración errónea supuso una complicación para la correcta identificación de múltiples pacientes que no respondían a tratamientos antsecretorios convencionales^{32,33}, ni incluso a funduplicatura de Nissen. Fue el trabajo de Attwood *et al*³⁴ en los años 90, el primero en definir a la EE como un síndrome independiente al describir 12 adultos jóvenes con infiltración de eosinófilos restringida al esófago, en grado significativamente mayor al observado en la ERGE. Tan sólo un año después,

Straumann *et al*³⁵ publicaron un trabajo desarrollado sobre 10 pacientes con disfagia aguda recurrente, en el cual advertían que la prevalencia de la EE estaba siendo infraestimada, pues podía ser considerada como la forma más frecuente de enteropatía eosinofílica. Además, pudieron predecir que el reconocimiento de la EE sería más frecuente en el futuro.

Poco después, Kelly *et al*³⁶ describieron 10 casos pediátricos con eosinofilia esofágica y síntomas severos de RGE de larga evolución, resistentes a fármacos anti-secretorios y a funduplicatura de Nissen que, tras ser alimentados con dieta elemental, constituida por mezclas de aminoácidos sin capacidad antigénica, durante al menos 6 semanas, mostraban resolución (n=8) o mejoría (n=2) de los síntomas, del infiltrado eosinofílico epitelial y de los cambios reactivos de la mucosa. Los síntomas reaparecían tras volver a dieta normal, lo cual definió la esofagitis por reflujo severo con eosinofilia como una forma de alergia alimentaria. Desde entonces, la descripción de casos en la literatura ha aumentado de manera exponencial.

El aumento en la epidemiología de la EE también responde a un mejor conocimiento de la enfermedad por parte de los clínicos, que la empiezan a considerar dentro del diagnóstico diferencial de la disfagia y, por supuesto, por parte de los patólogos, pieza clave del proceso diagnóstico³⁷.

En las últimas décadas hemos podido observar un aumento en la prevalencia de la EE, con casos comunicados procedentes de numerosas áreas geográficas. En los últimos 10 años se ha incrementado en 18 veces la prevalencia de la EE en Australia³⁸ y de 35 veces en Philadelphia (EE.UU.)³⁹. En 2004, Straumann *et al*⁴⁰ estimaron para la enfermedad en adultos suizos una prevalencia de 1,43 casos/10⁴ habitantes/año, semejante a un área sanitaria de Madrid en 2006 (1,8 casos/10⁴ habitantes/año)⁴¹. En población pediátrica, las cifras de incidencia para 2005 en EE.UU. fueron estimadas en 10 casos/10⁴ habitantes/año, con una prevalencia acumulada de 43 pacientes/10⁵. Trabajos del año 2007 elevan la prevalencia a más de 90 casos/10⁵ habitantes⁴².

Es importante resaltar los resultados de un estudio epidemiológico sueco, que demostraba que hasta 1 de cada 100 habitantes adultos de la ciudad de Kalixandra presentaron hallazgos histopatológicos compatibles con EE en las biopsias esofágicas, con independencia de la presencia de síntomas⁴³.

Los casos disponibles de EE en la literatura proceden principalmente de países de Europa y de Norteamérica, y en menor medida, de Asia, Sudamérica y Australia⁴⁴, habiendo sido descrita en todos los continentes excepto África. Esta distribución de la enfermedad afectando a las áreas geográficas de mayor desarrollo socioeconómico es paralela a la del asma bronquial y otras enfermedades atópicas, por lo que podemos implicar en su etiopatogenia factores ambientales e inmunológicos comunes con otras formas de alergia⁴⁵.

Más del 65% de casos de EE se presentan en la infancia⁴⁶, aunque ha sido descrita en pacientes a lo largo de todas las edades de la vida⁴⁷. La EE afecta predominantemente a varones (más de $\frac{3}{4}$ partes de los casos), siendo su presentación más común en adultos durante la 3ª a 5ª décadas de la vida⁴⁸.

3.3. HISTORIA NATURAL DE LA EE:

A pesar de las múltiples investigaciones llevadas a cabo en los últimos años sobre la EE, los aspectos relacionados con su evolución natural, el pronóstico a largo plazo y las posibles complicaciones son todavía poco conocidos. Hasta la fecha solo ha sido publicado un único trabajo prospectivo que describe la historia natural de la EE⁴⁹. La mayor parte del conocimiento sobre esta enfermedad procede de numerosas series de casos y comunicaciones aisladas, pero hoy está claro que la EE constituye una enfermedad crónica; de hecho, los pacientes suelen referir una historia de disfagia mantenida durante varios años previos al diagnóstico de la enfermedad^{34,35}. Además, habitualmente los síntomas y la inflamación eosinofílica recidivan tras la suspensión del tratamiento, que se suele producir de manera rápida (dentro de los 3 primeros meses desde la suspensión de los esteroides tópicos)⁵⁰.

Un estudio focalizado en el conocimiento de la historia natural de la EE consistió en el seguimiento durante una media de 7 años de una serie de 30 pacientes adultos. La gran mayoría de los pacientes mostraban disfagia persistente a través de los años, con un impacto significativo en su calidad de vida. Este análisis demostró además que la infiltración eosinofílica persistía en

todos los pacientes sintomáticos, con una tendencia a presentar peor respuesta a los tratamientos a medida que se retrasaba la instauración de los mismos⁴⁹.

Desafortunadamente, existen pocos datos sobre la historia natural de la EE de presentación en la infancia, de manera que no podemos conocer si todos los casos infantiles persisten hasta la edad adulta. Sin embargo, numerosas observaciones indican que las formas pediátricas son clínica e histológicamente parecidas a las de los adultos, es decir, una enfermedad crónica.

Por otro lado, está bien definido que la actividad clínica e inflamatoria de la EE puede fluctuar espontáneamente, de manera independiente del tratamiento, al menos durante un tiempo limitado. Los pacientes incluidos en grupos placebo de estudios que evalúan la eficacia de los esteroides tópicos también muestran mejorías sintomáticas espontáneas, lo que refuerza esta observación⁵¹.

La exposición a alérgenos también se ha relacionado con la actividad de la enfermedad: Diversos trabajos han demostrado aumento de la densidad del infiltrado inflamatorio y de la intensidad de los síntomas en relación con la exposición estacional al pólenes⁵²⁻⁵⁴.

La EE no parece reducir la expectativa de vida de los pacientes en tanto que no se han comunicado en la literatura mortalidad alguna relacionada con la

EE ni se ha asociado a la aparición de lesiones malignas; en adultos la EE parece no afectar el estado nutricional a lo largo del tiempo, pero si que puede ser causa de retraso del crecimiento en niños. Sin embargo, los periodos de observación de la EE aún son muy cortos como para poder establecer definitivamente su influencia sobre la supervivencia de los pacientes a largo plazo.

Las enfermedades esofágicas pueden empeorar sustancialmente la calidad de vida. La EE ha mostrado un impacto sobre las actividades sociales y profesionales de los pacientes que la padecen: Mediante cuestionarios estructurados, un estudio ha demostrado que la disfagia conducía a ciertos cambios menores en el estilo de vida de la mitad de los pacientes, obligándoles a elecciones de menús atendiendo la textura de los alimentos, a aumentar la cantidad de agua entre bocados y restringiéndoles las salidas a restaurantes⁴⁹. No disponemos de datos específicos sobre calidad de vida de los niños con EE, pero las restricciones dietéticas impuestas y sus consecuencias sociales podrían tener un impacto sobre la calidad de vida, probablemente mayor que en el caso de los adultos^{39,55}. El tratamiento con esteroides tópicos de adultos con EE ha demostrado capacidad para acortar el tiempo necesario para completar una comida y reducir significativamente la cantidad de líquidos que se precisaba ingerir⁵⁶.

3.4. MANIFESTACIONES CLÍNICAS:

La EE se caracteriza por la aparición de diversos síntomas esofágicos, agudos y crónicos, que se presentan en edades considerablemente variables⁵⁷. Además, estos síntomas presentan algunas diferencias en función de la edad de los pacientes. Una amplia revisión sobre EE publicada en 2002⁵⁸ recogía que sus síntomas en adultos estaban integrados por disfagia, impactaciones de alimentos, vómitos y dolor torácico, mientras que en niños se añadían además otros, como náuseas, pirosis, epigastralgia, sialorrea, aversión alimentaria, bajo crecimiento y síntomas respiratorios (tos, estridor, sinusitis, obstrucción y neumonía). Es común que los pacientes presenten a lo largo de todas las edades diversos síntomas simultáneos atribuibles a la EE.

En niños, la capacidad para comunicar de forma eficaz sus síntomas determina distintas formas de presentación de la EE⁵⁹, de modo que ha sido propuesta la posibilidad de una secuencia temporal en su presentación clínica⁶⁰; así, los niños más pequeños (incapaces de manifestar disfagia) presentarían distintos trastornos alimentarios con aversión al alimento; más adelante, vómitos, regurgitación y dolor torácico y abdominal, asemejando una ERGE, y solo a partir de los 11 años de edad, la enfermedad se manifestaría con disfagia e impactaciones, que son los síntomas predominantes en los adultos. Es interesante hacer notar que estos pacientes comen muy lentamente, empleando más tiempo que el resto de la familia, y suelen beber tras cada bocado, debiendo indagar por estos datos en la anamnesis a los padres⁴⁴.

En los pacientes adultos, la disfagia intermitente es el síntoma más común, presente en más del 70% de los casos en algunas series, pero las impactaciones de alimento son el síntoma que conduce al diagnóstico con más frecuencia (56 a 88% de los casos)⁵⁶. Aunque son menos frecuentes, también son comunes los síntomas propios de ERGE⁶¹. En general, los síntomas están presentes durante largo tiempo, incluso años, antes de llegar al diagnóstico⁶². Mucho menos comunes en adultos son los vómitos, el dolor torácico o abdominal o la pérdida de peso.

3.5. HALLAZGOS ENDOSCÓPICOS EN LA EE:

Desde el punto de vista endoscópico, la EE presenta una gran variedad de hallazgos posibles⁶³⁻⁶⁵. En la literatura se describen reducciones en el calibre del esófago⁶⁶, en forma de estenosis focales o segmentarias, esófagos de aspecto anillado o traquealizado, mucosa de aspecto irregular, mucosa enrojecida, sobreelevaciones papulares blanquecinas que remedan a candidiasis⁶⁷, surcos lineales longitudinales (también denominados corrugación esofágica)⁶⁸, alteraciones del patrón mucoso esofágico⁶⁹, fragilidad mucosa⁷⁰, frecuentes desgarros esofágicos⁷¹, e impactación de alimentos^{35,57,62}. Una revisión retrospectiva desarrollada sobre 117 pacientes con diagnóstico histológico de EE advirtió que hasta en el 24,79% de los casos, el esófago había sido definido como normal⁶³, lo que indica que los cambios en el aspecto del órgano pueden

ser tan sutiles que en muchas ocasiones pasan desapercibidos para el endoscopista no habituado a ellos.

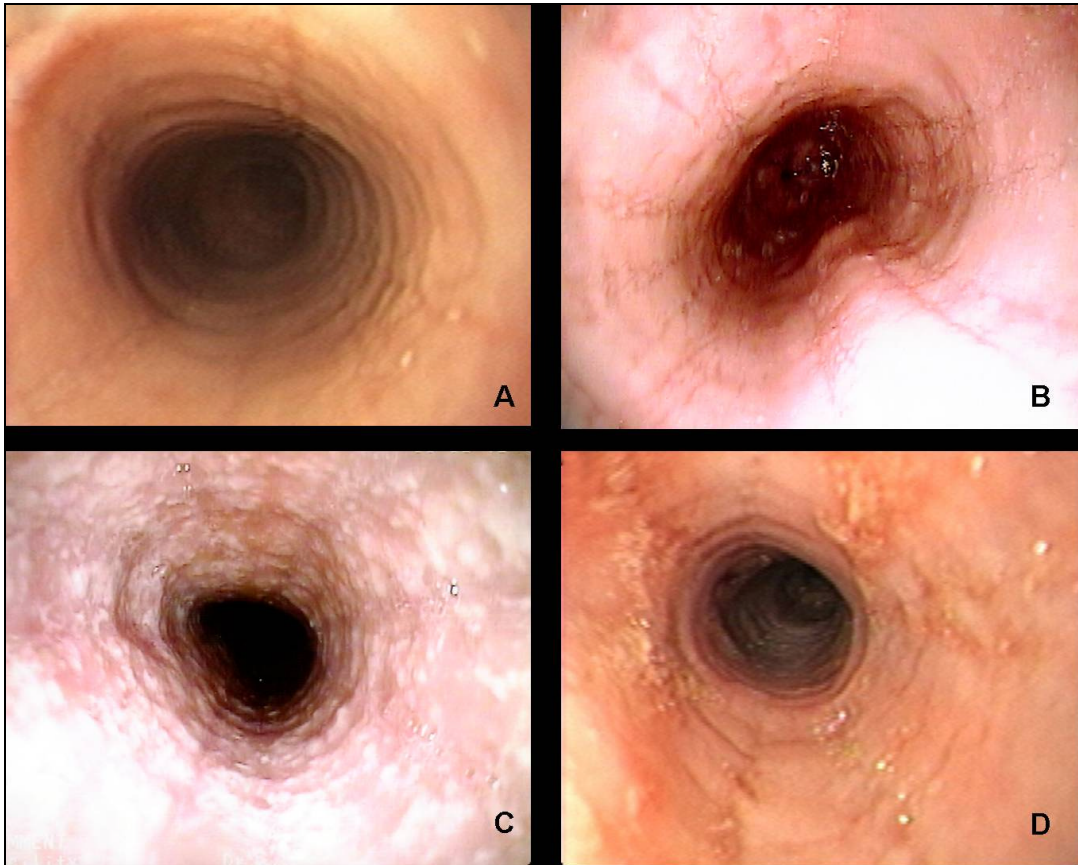


Figura 3. Varios aspectos endoscópicos de la EE: A) esófago de calibre normal con mucosa lisa y surcos lineales longitudinales; B) mucosa de aspecto quebradizo de “papel crêpe” y marcada corrugación esofágica; C) esófago de calibre reducido con superficie mucosa cubierta de exudados blanquecinos que remedan a una candidiasis, y D) esófago anillado con aspecto de empedrado.

La gran variedad en los hallazgos endoscópicos puede ser clasificada atendiendo a dos aspectos⁵⁶: Los cambios en el calibre del órgano, que son consecuencia de las alteraciones motoras desarrolladas en el mismo, y los cambios en la superficie mucosa, consecuencia del daño histológico producido por el infiltrado inflamatorio epitelial. El efecto de la contracción del músculo liso esofágico se manifiesta como estenosis concéntricas que impiden el avance

del endoscopio, también como anillos de contracción simultánea, y son también las responsables de la impactación de alimentos que puede también ocurrir sobre esófagos de calibre normal. Las distintas alteraciones observables sobre la superficie del órgano traducen distintos grados de lesión histopatológica sobre el epitelio, y ha sido observada una correlación directa entre la severidad del daño endoscópico, el grado de lesión histológica y la densidad y estado de activación de los eosinófilos en el infiltrado inflamatorio⁵⁶.

3.6. TRASTORNOS MOTORES EN LA EE:

La infiltración por eosinófilos del tracto digestivo humano se asocia con distintos trastornos de la motilidad gastrointestinal⁷²⁻⁷⁴. Pacientes pediátricos con EE han sido estudiados mediante ultrasonografía endoscópica, mostrando un engrosamiento de la mucosa y submucosa esofágicas⁷⁵, y también de la capa muscular propia⁷⁶. En modelos murinos de la enfermedad se aprecia una densa infiltración por eosinófilos del músculo esofágico⁷⁷, dato también observado en humanos⁷⁸.

A lo largo de la literatura han sido descritos distintos trastornos motores asociados a la EE, detectables mediante manometría estacionaria, y que abarcan todo el espectro de posibles registros patológicos⁴⁸, aunque se han descrito también registros normales⁷⁹⁻⁸³. Atendiendo a la edad, en las formas infantiles de EE predominan los trastornos caracterizados por ondas potentes y amplias afectando al esófago distal, frecuentemente simultáneas, que aparecen también

durante el sueño y periodos interprandiales, cuando el esófago debiera permanecer en reposo^{44,84}. Por otra parte, el espectro de trastornos motores en pacientes adultos es más amplio, pues incluye trazados similares a los de la infancia, pero también trastornos caracterizados por ondas de baja amplitud y no transmitidas en el esófago distal. Los trastornos motores observados afectan predominantemente a los dos tercios distales del órgano, que están constituidos por músculo liso⁷⁹.

El origen del trastorno motor es complejo, y en él se ha implicado a los propios eosinófilos, que a través de la MBP actúan sobre la fibra muscular lisa, al ser ésta un potente agonista capaz de unirse a los receptores M2 para acetilcolina que gobiernan la función del músculo liso^{85,86}. Además, los mastocitos incluidos en el propio infiltrado eosinofílico tisular⁸⁷ también tienen capacidad para inducir la contracción muscular lisa a través de la acción de la histamina, que induce la liberación de acetilcolina a la vez que puede alterar el potencial de membrana de las neuronas de los plexos esofágicos⁸⁸, y de su contenido de Leucotrieno C4, otro estimulante directo de la contracción del músculo liso.

Se ha observado una asociación entre el tipo de trastorno motor en la EE y el tiempo de evolución de los síntomas⁸⁹, de modo que los adultos con menor tiempo de evolución de la enfermedad presentan trastornos hipercinéticos semejantes a los que se observan en casos infantiles, mientras que aquellos con

síntomas de largo tiempo presentan registros manométricos hipocinéticos. Se ha propuesto así la evolución temporal del trastorno motor, en la que tras una primera fase hiperkinética se llega a un esófago “agotado”^{79,89}, de modo semejante a lo que ocurre en la achalasia.

En todo caso, distintas evidencias sugieren que el trastorno motor es reversible tras el tratamiento, una vez resuelta la infiltración eosinofílica del órgano^{79,90}, reforzando la idea del origen funcional del mismo⁸⁴.

3.7. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS EN LA EE:

La presencia de eosinófilos en el epitelio esofágico puede ser observada en numerosas condiciones patológicas del órgano²², pero por sí misma, no define ninguna enfermedad de modo definitivo, sino que debe valorarse dentro del contexto clínico y anatomopatológico del paciente. La infiltración eosinofílica en la EE afecta a toda la longitud del esófago, pero frecuentemente lo hace de manera parcheada. Por esta razón, un buen diagnóstico requiere la toma de múltiples biopsias de la mucosa a distintos niveles del órgano. Distintos trabajos han mostrado que la densidad del infiltrado eosinofílico es similar en tercio distal y proximal esofágicos^{91,92}, pero una buena estrategia de diagnóstico consiste en tomar muestras sobre ambos tercios proximal y distal del órgano²⁹. El número de biopsias es relevante en cuanto a la sensibilidad diagnóstica, de modo que ésta aumenta con el número de muestras, siendo del 100% si se han tomado 5 especímenes⁹³.

El hallazgo histológico más característico consiste en un gran número de eosinófilos infiltrando el epitelio esofágico. El método de recuento habitual es la determinación de su número en los campos más densamente inflamados de la preparación histológica, utilizando el objetivo de 40 aumentos (recuento por campos de gran aumento o HPF, 400x). Sin embargo, esta medida no está estandarizada, al variar el área comprendida en un HPF entre distintos fabricantes de microscopios. El límite de eosinófilos para considerar el diagnóstico EE ha variado entre distintos autores^{34,37,39,94-96}, con una tendencia a la reducción progresiva en el dintel diagnóstico durante los últimos años, hasta en la actualidad que se acepta que serían suficientes 15 eosinófilos/HPF en presencia de un contexto clínico adecuado cuando se añaden otros hallazgos histopatológicos²⁹.

Los eosinófilos pueden encontrarse difusamente distribuidos por todo el espesor del epitelio, pero tienden a ser más abundantes en los estratos apicales, más cercanos a la luz del órgano⁹².

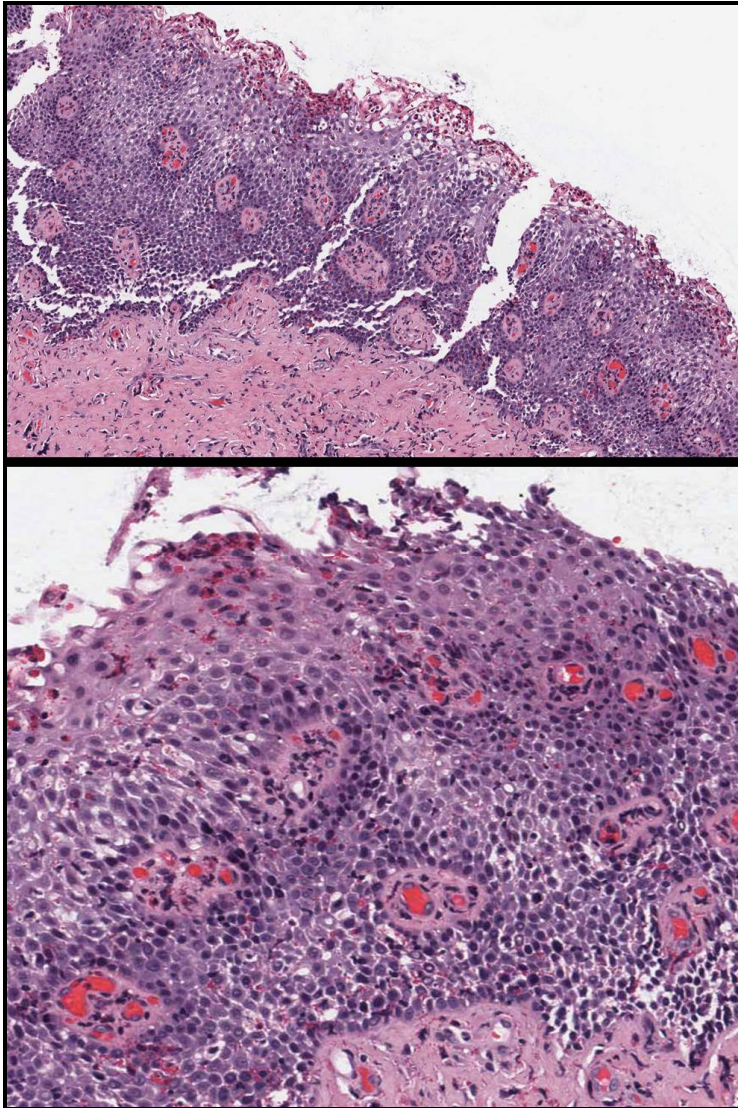


Figura 4. Hallazgos histopatológicos típicos en la EE: En A) aumento de la celularidad y cambios proliferativos en el estrato basal, con elongación, engrosamiento e hipervascularización de las papilas de lámina propia. Obsérvese el denso infiltrado por eosinófilos, más llamativo en la parte superficial del epitelio. En B) los cambios descritos a mayor detalle. (E-E 200x / 400x).

En los casos en los que son muy numerosos, suelen confluir y constituir **Microabscesos**⁹⁷, que llegan a destruir los planos más superficiales del epitelio⁵⁶. Se pueden observar **gránulos eosinofílicos extracelulares**, y depósito de proteína mayor básica (MBP), tanto extracelular⁹⁸ como dentro del citoplasma de los eosinófilos^{57,92,99}. La presencia de microabscesos, de depósito extracelular

de proteínas eosinofílicas y la inmunotinción positiva frente a MBP son hallazgos exclusivos de la EE que no se observan en la ERGE¹⁰⁰.

En las biopsias bien orientadas es posible estudiar otros hallazgos histopatológicos típicos de la EE, como **hiperplasia de las capas basales**, con **acantosis** o presencia de células del estrato proliferativo en planos altos del epitelio, **elongación de las papilas** de la lámina propia y **edema** intercelular, manifestado por ensanchamiento de los espacios intercelulares. Estos hallazgos reflejan una respuesta proliferativa epitelial de carácter inespecífico⁵⁶, pues son observables también en la ERGE¹⁰¹⁻¹⁰³.

Ha sido descrito el **depósito subepitelial de colágeno** en la lámina propia esofágica de pacientes pediátricos con EE, significativamente mayor al observado en condiciones normales y en la ERGE^{98,104}.

4. MECANISMOS INMUNOPATOLÓGICOS DE LA EE:

Aunque diversos trabajos, la gran mayoría publicados en los últimos 5 años, han abordado distintos aspectos fisiopatológicos de la EE, carecemos hasta la fecha de una hipótesis concluyente que explique completamente la génesis y los mecanismos íntimos de la enfermedad, para cuyas causas últimas se han barajado la alergia, diversos genes y la ERGE.

4.1. LA EE COMO UNA ENFERMEDAD ALÉRGICA.

Desde las descripciones iniciales, la EE ha sido considerada como una enfermedad inflamatoria asociada a la atopia. Varias razones han llevado a relacionar la alergia con la etiología de la EE, debido a que la mayoría de los pacientes muestran historia familiar o personal de asma bronquial, rinitis alérgica, dermatitis atópica, hipersensibilidad a fármacos, a alimentos, a inhalantes, eosinofilia sanguínea o aumento de los niveles de IgE^{30,105,106}. Todo ello ha llevado al uso del término *esofagitis alérgica*³³.

Se han descrito en pacientes con EE *prick test* y test alérgicos de radio absorvencia (RAST) positivos, los cuales suelen responder a los tratamientos empleados en las enfermedades alérgicas. En 1995 Kelly *et al* proporcionaron por vez primera evidencias definitivas del origen inmunoalérgico de la EE, al describir la resolución de las lesiones histológicas y de la sintomatología en pacientes pediátricos alimentados exclusivamente con dietas elementales, basadas en aminoácidos, carentes de capacidad antigénica³⁶. Además, se ha considerado el papel potencial de los aeroalergenos en el desarrollo de EE, debido a la correlación entre las variaciones estacionales en el diagnóstico de nuevos casos y la concentración de polen ambiental⁵⁴.

4.2. RELACIÓN DE EE CON LA ERGE.

Además de la hipótesis alérgica, algunos autores han sugerido recientemente que el RGE podría desempeñar algún papel etiológico en EE^{12,107}.

En este sentido, se podría establecer una relación bidireccional entre ambas enfermedades. Aunque la fisiopatología y el patrón de expresión génica son claramente diferentes entre EE y ERGE⁹⁵, los trastornos motores asociados a la EE podrán determinar un aclaramiento esofágico deficiente y generar síntomas de ERGE. Al mismo tiempo, el uso de fármacos inhibidores de la secreción ácida también ha sido sugerido como posible factor predisponente al desarrollo de EE; en este sentido, los antígenos de la dieta no serían degradados cuando el pH intragástrico alcanza los valores comúnmente observados en los pacientes bajo tratamiento con inhibidores de la bomba de protones (IBP), lo que facilitaría la captación de péptidos alérgicos no degradados por un incremento de permeabilidad mucosa gastrointestinal¹⁰⁸.

La presencia del alérgeno completo es necesaria para la inducción de respuestas alérgicas IgE mediadas, mientras que la activación de los linfocitos T sólo requiere la presencia de péptidos concretos¹⁰⁹. Durante los procesos digestivos pueden ser generados péptidos que no contienen epítomos de reconocimiento para IgE, pero que preservan aquellos epítomos reconocidos por células T¹¹⁰, pudiendo ser capaces de inducir fuertes respuestas inflamatorias, tanto locales como sistémicas, mediadas exclusivamente por linfocitos T^{111,112} en ausencia de eventos IgE-mediados previos.

Tras la re-exposición al antígeno en la mucosa esofágica los linfocitos T sensibilizados podrían así organizar una respuesta inflamatoria por eosinófilos

sin participación de IgE¹¹³. De todos modos, la compleja relación entre EE y ERGE precisa ser aclarada mediante futuros estudios.

4.3. COMPONENTE GENÉTICO DE LA EE.

Varios genes han sido implicados en la EE, especialmente aquellos codificantes para eotaxina-3 y TGF- β . Un polimorfismo de un único nucleótido (SNP) en el gen de eotaxina-3 se ha relacionado con la susceptibilidad a la enfermedad⁹⁵, y otro SNP en el promotor del gen de TGF- β 1 se ha relacionado con una reducción de la remodelación esofágica tras tratamiento esteroideo tópico¹¹⁴. La asociación familiar de casos de EE también ha sido frecuentemente descrita^{95,115,116}. Todas estas razones nos invitan a reconocer un componente genético relativamente fuerte en la EE, mayor al descrito para el asma bronquial, que podría estar relacionado con otras enfermedades inflamatorias gastrointestinales. Distintas pruebas recientes que relacionan a la EE con la Enfermedad celíaca requieren ulteriores investigaciones^{117,118}.

4.4. BASES CELULARES Y MOLECULARES DE LA EE:

En la patogénesis de la EE ha sido implicada una respuesta inflamatoria de tipo Th2 debido a que la enfermedad se caracteriza por la presencia de linfocitos T, expresión de IL-5, eosinófilos e inmunotinción positiva para IgE¹¹⁹, de manera similar a como ocurre en el asma bronquial. Las respuestas Th2 están mediadas por células T *helper* CD4 +, y dirigidas por la producción de

citoquinas como IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13, cuyo papel potencial en la EE ha sido investigado en distintos trabajos.

La IL-5 posee una función integral en la inducción de inflamación por eosinófilos, en tanto que constituye un importante factor para la proliferación, diferenciación, supervivencia y activación, no sólo de los eosinófilos, sino también de los linfocitos T y de los mastocitos en las reacciones alérgicas crónicas. IL-5 ha sido claramente implicada en el asma alérgico^{120,121} y en los fenómenos de remodelación fibrosa que acontecen en la inflamación bronquial¹²² y cutánea¹²³. Estudios en ratones transgénicos que sobre-expresaban IL-5 mostraban eosinófilos aumentados en sangre circulante e intensa acumulación de estas células en la lámina propia del esófago y del intestino delgado, que eran proporcionales a la concentración sérica de IL-5^{22,23} tras su estimulación por vía inhalatoria^{124,125} o epicutánea¹²⁶. En contraste, ratones deficientes en IL-5 no desarrollaban EE experimental tras su exposición a aeroalergenos¹²⁴.

La producción de IL-5 por los linfocitos sanguíneos en pacientes con EE también muestra un aumento significativo en comparación con controles¹²⁷. La importancia del efecto de la IL-5 fue evidente en estudios clínicos con un anticuerpo monoclonal humanizado anti-IL-5 (MepolizumAb): En adultos con EE el fármaco disminuyó significativamente el número de eosinófilos en tejido esofágico, y los cambios en la expresión de las moléculas asociadas con la

remodelación esofágica fueron revertidos, aunque con moderado efecto¹²⁸. Estos datos sugieren que el efecto de la IL-5 por sí misma no parece suficiente para explicar la patología molecular de la EE, por lo que se podría considerar un efecto sinérgico de otros factores, en particular en un subgrupo de pacientes en los cuales no se ha observado una sobreexpresión de IL-5¹²⁹.

Otras citoquinas de perfil Th2 como IL-13 ha sido también implicada en la fisiopatología de la EE: La IL-13 ha mostrado estar sobreexpresada en el esófago de pacientes con EE donde induce selectivamente la expresión de eotaxina-3 por las células epiteliales¹³⁰.

Los linfocitos Th2 son potentes activadores de la producción de anticuerpos por las células B, especialmente de Ig E a través de su estimulación de la producción de IL-4 e IL-13¹³¹. También pueden inducir el reclutamiento y activación de células efectoras como eosinófilos a través de la producción de IL-5 y diversas quimiocinas. Tenemos evidencia de la producción local de IgE en la mucosa esofágica de pacientes con EE, en tanto que un trabajo reciente ha mostrado una expresión incrementada de la cadena pesada de la IgE y de transcritos primarios en comparación con controles¹³².

4.5. EL PAPEL DE LAS EOTAXINAS EN LA EE:

Las eotaxinas son una subfamilia de quimiocinas compuestas por 3 moléculas denominadas eotaxina-1, 2 y 3, con actividad quimioatrayente

selectiva sobre los eosinófilos. Las 3 eotaxinas humanas interactúan selectivamente con el mismo receptor CCR-3, que es hallado primariamente en estos leucocitos¹³³.

La quimiocina más estudiada en el tracto digestivo es la eotaxina-1/CCL11. Ratones deficientes en eotaxina-1/CCL11 poseen menos eosinófilos en todos los tramos del tubo digestivo, cuando son estimulados por alérgenos y altos niveles de IL-5. Niveles elevados de eotaxina-1 se asocian con distintas enfermedades respiratorias humanas y se correlacionan con la severidad de las mismas¹³⁴⁻¹³⁶. Esta quimiocina parece desarrollar un importante papel tanto en la EE murina¹²⁴ como humana¹²⁹.

Distintos estudios se han centrado en el análisis de eotaxina-2/CCL24¹³⁷ y especialmente de eotaxina-3/CCL26, cuyo gen es el más intensamente sobreexpresado en el epitelio de pacientes con EE en comparación con sujetos controles⁹⁵. Los niveles de mRNA de eotaxina-3 y su proteína mostraban una correlación muy estrecha con el grado de eosinofilia y de mastocitosis tisular, al mismo tiempo que sus niveles plasmáticos eran mayores en los pacientes con EE que en los sujetos controles. Un SNP (+2496T>G, rs2302009) en su gen se asoció con la susceptibilidad a la enfermedad. Este SNP se localiza en la región 3' no traducida del gen y podría tener una función en la estabilidad del mRNA, que podría ser el mecanismo por el que contribuye a la enfermedad⁹⁵.

Ratones deficientes en el receptor de quimiocinas CCR-3 están protegidos frente al desarrollo de EE experimental⁹⁵. Otras investigaciones ha confirmado que la proporción de eosinófilos en sangre periférica y su expresión de CCR-3 están elevados en pacientes con EE activa en comparación con controles no atópicos. También se ha sugerido que los niveles elevados de eotaxina-3 en la EE podrían ser útiles como marcador diferencial de la ERGE¹³⁸.

5. FIBROSIS SUBEPITELIAL EN LA EE:

5.1. DEFINICIÓN Y ORIGEN DE LA FIBROSIS:

La fibrosis es la formación o desarrollo en exceso de tejido conectivo fibroso en un órgano o tejido como consecuencia de un proceso reparativo o reactivo, siendo el resultado de un desbalance entre la regeneración y la reparación tisular¹³⁹⁻¹⁴¹. Para este proceso parece ser necesaria la contribución, al menos en parte, de la infiltración leucocitaria y de la inflamación¹⁴².

La fibrosis se produce como consecuencia de un proceso inflamatorio crónico, que desencadena un aumento en la producción y deposición de matriz extracelular. Las fibras que componen la matriz extracelular pueden ser de varios tipos: fibras colágenas, fibras elásticas y microfibrillas.

El colágeno es una molécula proteica que forma fibras, componente básico de la matriz extracelular de todos los animales pluricelulares. Es secretado por las células principales del tejido conjuntivo: los fibroblastos, pero

también por otros tipos celulares. Según la composición bioquímica de las cadenas que constituyen la triple hélice de la molécula de colágeno, se han descrito varios tipos: Los tipos I, II y III son los fibrilares o intersticiales. Los tipos IV, V y VI son amorfos y se pueden observar en los tejidos intersticiales y en las membranas basales²⁷. La síntesis de colágeno está estimulada por varios factores, como los factores de crecimiento (PDGF, FGF, TGF- β) y las citoquinas (IL-1, IL-4) que son secretadas por leucocitos y fibroblastos²⁷. La acumulación neta de colágeno depende no solamente de su síntesis sino también de su degradación. La degradación es realizada por las metaloproteinasas, cuya actividad depende a su vez de otras sustancias y enzimas, que son sintetizadas por varios tipos celulares (fibroblastos, macrófagos, neutrófilos, células sinoviales y algunas células epiteliales) y su secreción está inducida por diferentes estímulos como los factores de crecimiento (PDGF, FGF), citoquinas (IL-1, TNF α) y estímulos de células fagocíticas²⁷. La migración de los fibroblastos está activada por los factores de crecimiento así como por las citocinas fibrogénicas, modulando la activación y la síntesis de las metaloproteinasas. El efecto neto de síntesis frente a degradación de la matriz extracelular permite la remodelación de la trama de tejido conjuntivo, lo que constituye una característica importante de los procesos de inflamación crónica y de reparación.

De los factores de crecimiento implicados en la fibrosis de origen inflamatorio, el **Factor Transformante del crecimiento β (TGF- β)**²⁷ parece ser el

que desempeña un papel más crítico debido a que da lugar a múltiples efectos que favorecen el depósito de tejido fibroso. Lo sintetizan los eosinófilos, las plaquetas, los macrófagos activados y otras células, y se libera en una forma inactiva que debe ser fragmentada mediante proteólisis para convertirse en el producto funcional. El TGF- β , principalmente el TGF- β 1, aunque también las isoformas 2 y 3, da lugar a la emigración y proliferación de los fibroblastos, al incremento de la síntesis de colágeno y fibronectina, y a la disminución de la degradación de la matriz extracelular por las metaloproteinasas. El TGF- β también posee capacidad de quimiotaxis para los monocitos e induce la angiogénesis *in vivo*, posiblemente al facilitar la afluencia de macrófagos. Se ha implicado en diversas enfermedades fibrosantes crónicas del ser humano y de animales de experimentación²⁷.

5.2. EL ASMA Y LA REMODELACIÓN FIBROSA DE LA VÍA AÉREA:

El asma bronquial es una enfermedad crónica que cursa con inflamación de las vías aéreas, donde participan muchas células y mediadores de la inflamación. Se caracteriza por una obstrucción reversible de la vía aérea, hiperreactividad bronquial y por inflamación alérgica^{143,144}.

En el infiltrado inflamatorio bronquial del asma se observa un aumento de eosinófilos y linfocitos Th2. Además de la presencia de células inflamatorias, la vía aérea de los pacientes con asma presenta distintos niveles de cambios estructurales que dan lugar al fenómeno denominado remodelación tisular¹⁴⁵⁻

¹⁴⁷, que se puede definir como cambios en la composición, contenido y organización en las células y en las moléculas que constituyen la pared de la vía aérea. Estos cambios estructurales incluyen hipertrofia e hiperplasia de músculo liso, metaplasia de células epiteliales mucosas, aumento de la angiogenesis¹⁴⁸, y como hallazgo más importante, fibrosis subepitelial, con aumento del depósito de colágeno tipo I y III¹⁴⁷.

La remodelación en la vía aérea es un hallazgo característico en el asma bronquial, con importantes implicaciones funcionales debido a que puede contribuir en la hipereactividad de la vía aérea y eventualmente llevar a la obstrucción irreversible de la misma y a la progresión de la enfermedad, por lo que se ha relacionado con su severidad clínica ¹⁴⁹.

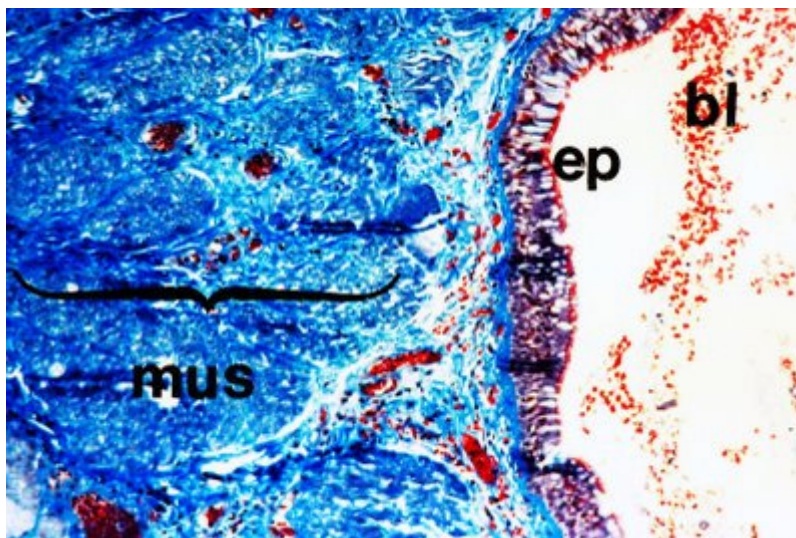


Figura 5. Pared de un bronquio en el asma. Se puede observar hiperplasia del músculo liso (mus), hiperplasia de células caliciformes en el epitelio (ep) y engrosamiento moderado de la membrana basal.

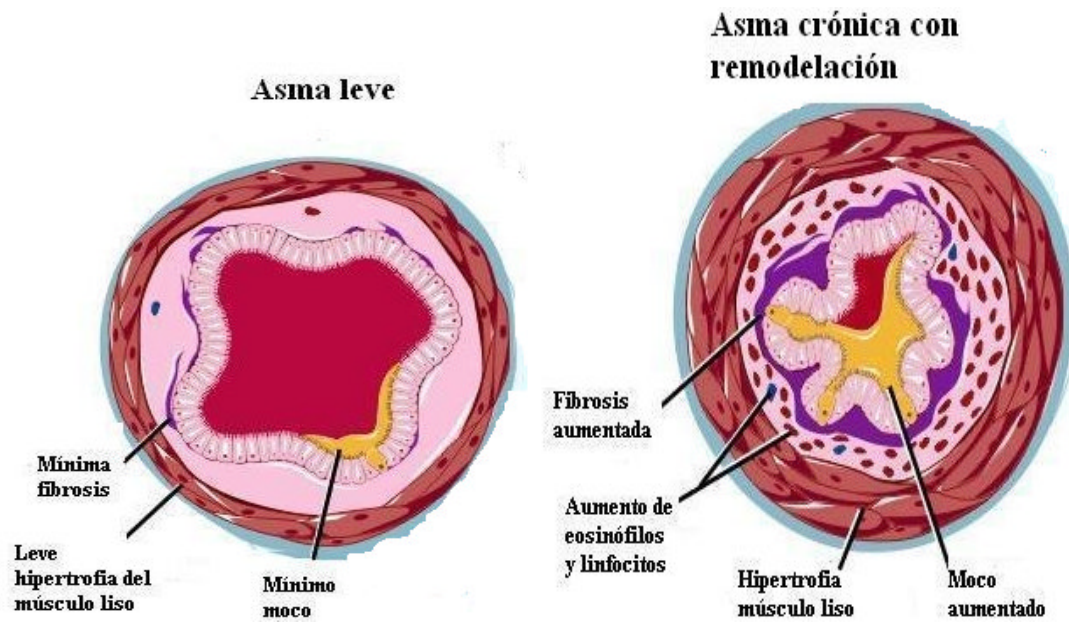
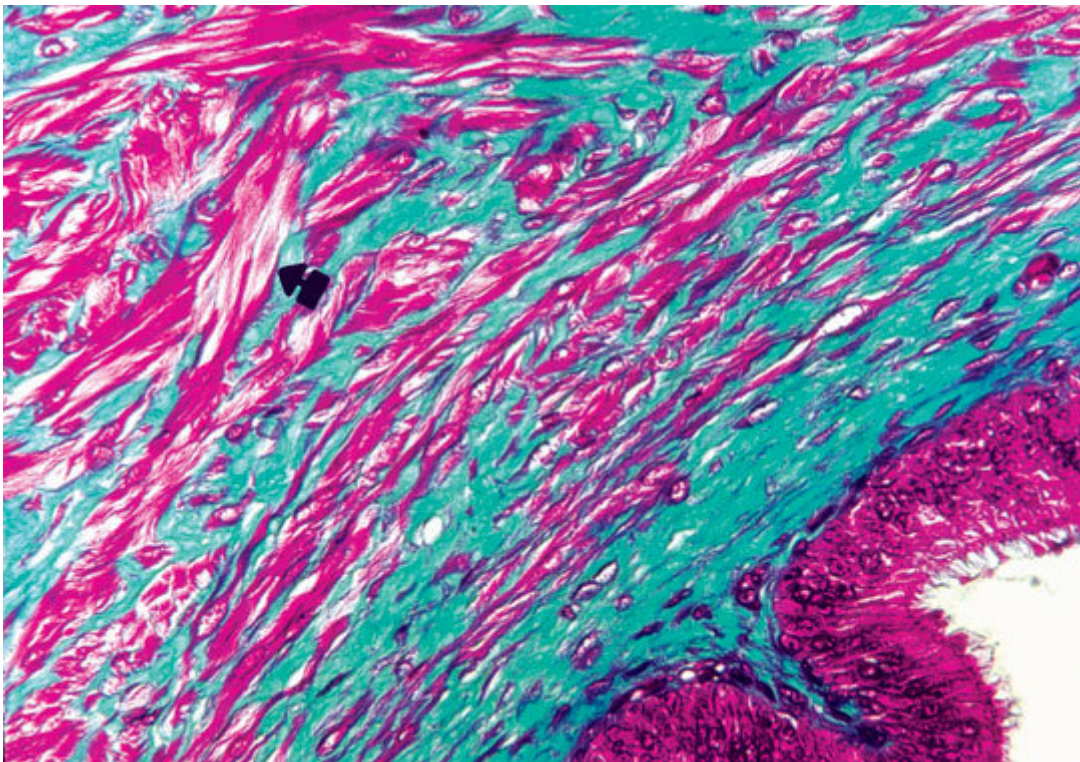


Figura 6. Asma leve y moderada crónica con remodelación.



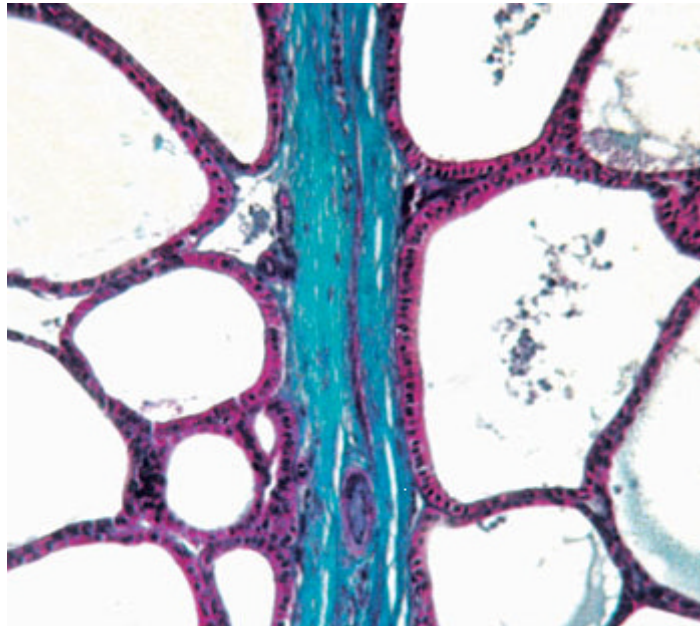


Figura 7. Se observa fibrosis en lámina propia pulmonar teñida con la técnica de tricrómico masson.

Gran parte de los mecanismos conducentes a la remodelación de la vía aérea son responsabilidad de los eosinófilos, los cuales generan un gran número de mediadores que contribuyen a este proceso, incluyendo factores de crecimiento pro-fibróticos, como TGF- β , el factor de de crecimiento de fibroblasto básico (*Basic fibroblast growth factor* bFGF ó FGF 2), citoquinas promotoras de fibrosis (IL-5, -6, -11, -13 y -17), metaloproteinasas de matriz (MMP-9), además de mediadores pro-angiogénicos como el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF)^{150,151}.

CCL-18 es una quimiocina que se expresa preferentemente en el pulmón humano, que es secretada principalmente por las células pulmonares acinares¹⁵², estando implicada en el estímulo de la síntesis de colágeno en los fibroblastos pulmonares¹⁵³. Se ha descrito un aumento de CCL-18 en lavados

broncoalveolares de pacientes con asma alérgico comparados con controles y parece ser que esta quimiocina se relaciona con el reclutamiento de células Th2 y basófilos, lo que sugiere que puede jugar un papel en esta enfermedad¹⁵².

Además, niveles elevados de CCL-18 se han asociado con una gran afluencia de linfocitos T, con acumulo de colágeno y con una disminución de la función pulmonar en pacientes con fibrosis pulmonar¹⁵⁴. Luzina *et al* han comunicado que la sobreexpresión de CCL18 en los pulmones de ratón desencadenaría una infiltración selectiva de los linfocitos T y un acumulo moderado de colágeno a través de un mecanismo dependiente de TGF- β 1¹⁵⁵. Este mismo grupo, en un trabajo más reciente, también han observado que CCL18 es de por sí ligeramente profibrótica en un pulmón sano, pero que podría servir de protección contra la fibrosis pulmonar severa en un entorno proinflamatorio profibrótico, de modo similar a como ha sido descrito para la metaloproteinasas. Las metaloproteinasas MMP-2 y MMP-9 son reguladores bien conocidos de la homeostasis del tejido conectivo que están involucrados en la inflamación y la fibrosis pulmonar y actúan doblemente de una manera compleja, en la cual según las características del medio inflamatorio y la concentración local de MMP, sus efectos pueden ser alternativamente pro o antifibróticos¹⁵⁴.

5.3 EL EOSINÓFILO Y LA FIBROSIS SUBEPITELIAL:

La capacidad intrínseca de los leucocitos eosinófilos para inducir fibrosis tisular ha sido bien estudiada en aquellas enfermedades inflamatorias en las que el infiltrado eosinofílico es relevante. Gran parte del conocimiento inicial sobre la actividad pro-fibrogénica del eosinófilo procede del estudio de pacientes con síndrome hipereosinofílico (HES), una enfermedad infrecuente caracterizada por marcada eosinofilia tisular e infiltración eosinofílica multiorgánica¹³. Los pacientes con HES presentan marcadores de activación de estas células, que se traducen en degranulación del contenido citoplasmático y fibrosis multiorgánica¹⁴⁸.

Estudios en modelos animales también aportan información respecto al papel del eosinófilo en la remodelación de la vía aérea en el asma. Mediante la provocación repetida con alérgenos se puede inducir asma crónica experimental en ratones, caracterizado por la producción de citoquinas de perfil Th2, infiltración eosinofílica de la vía aérea, fibrosis subepitelial, metaplasia de glándulas mucosas, hipertrofia de músculo liso y neovascularización¹⁴⁸. En el extremo contrario, ratones *knock-out* carentes de eosinófilos¹⁵⁶ muestran una reducción significativa del depósito de colágeno subepitelial y del contenido pulmonar de colágeno cuando son crónicamente estimulados con inhalantes antigénicos¹⁵⁷.

5.4. MECANISMOS MOLECULARES DE LA FIBROSIS SUBEPITELIAL DE LA VÍA AÉREA:

Los eosinófilos, y en menor medida otras células, determinan la remodelación de la vía aérea mediante la producción y secreción de diversas moléculas. Los cambios submucosos característicos de remodelación de la vía aérea incluyen el aumento del depósito de proteínas del colágeno (colágeno I, II, III, IV, V, pro-colágeno), además de componentes de la matriz proteica extracelular (fibronectina, tenascina, lumican y laminina)^{145,146}. Entre las citoquinas implicadas en inducir la remodelación se incluye TGF- β y otras citocinas de perfil Th2 como IL-5¹⁵⁸. La principal fuente de TGF- β en el pulmón de los pacientes asmáticos es el eosinófilo¹⁵⁸⁻¹⁶⁰ que actúa en este sentido como el principal modulador de la fibrosis en el asma. Además, TGF- β también es liberado por células T reguladoras, que podrían desempeñar un importante papel en la tolerancia inmune a alérgenos en esta enfermedad¹⁶¹.

El TGF- β maduro es secretado inicialmente como un homodimero inactivo que precisa ser activado antes de unirse a su receptor, poniendo en marcha una cascada señalizadora que incluye la fosforilación y la formación de complejos Smad¹⁶¹.

El TGF- β promueve fibrosis estimulando a los fibroblastos para la producción de fibronectina, proteoglicanos y colágeno I y II, y reduciendo la producción de colagenasas^{147,148}. El lavado broncoalveolar de los pacientes asmáticos presenta altos niveles de TGF- β 1, que se correlacionan con la severidad del asma bronquial y aumentan tras la exposición a alérgenos^{147,158-160}.

Además la expresión génica de TGF- β está aumentada en la vía aérea de pacientes con asma, correlacionándose igualmente con la severidad y el grado de la fibrosis subepitelial¹⁴⁷. Respecto al grado de fibrosis, algunos estudios no han podido encontrar correlación entre la intensidad del depósito de colágeno y la severidad de la clínica¹⁶⁰.

Modelos murinos demuestran que el bloqueo experimental de la acción de TGF- β mediante anticuerpos específicos reduce significativamente el grado de fibrosis subepitelial inducida por alérgenos¹⁶², al igual que ocurre en ratones deficientes en Smad2/3, la molécula señalizadora del TGF- β .

Otros mediadores derivados de los eosinófilos también podrían desempeñar un papel importante en la remodelación fibrótica de la pared bronquial en el asma, como IL-5¹⁵⁰. El efecto general de IL-5 sobre todas las etapas del ciclo vital del eosinófilo, y no sus efectos directos sobre la remodelación de la vía aérea, son los responsables de considerar a esta citoquina como profibrogénica. Tanto ratones deficientes en IL-5 como humanos tratados con anti-IL5 presentan depleción de eosinófilos y reducción significativa de la remodelación de la vía aérea¹⁴⁸.

Flood-Page *et al* trataron a 24 pacientes con asma alérgica con un anticuerpo anti-IL-5 en un estudio doble ciego controlado con placebo, y demostraron una disminución significativa en el grado de remodelación de la

vía aérea comparando las biopsias basales y a los 3 meses tras el inicio del tratamiento, así como una reducción en el recuento de eosinófilos y en los niveles de TGF- β en el lavado broncoalveolar¹⁶³. A pesar de esto, también observaron que el tratamiento con anti-IL-5 sólo disminuía aproximadamente el 50-60% de los eosinófilos de la vía aérea y que los productos de los gránulos citoplasmáticos pro-inflamatorios de los eosinófilos, especialmente la MBP libre, no cambiaban con el tratamiento con Anti-IL-5, lo que podría traducir que otras citoquinas también ejercen un control sobre el daño tisular mediado por eosinófilos. Resultados paralelos se han obtenido en el tratamiento de pacientes adultos con EE tratados con anti-IL-5¹²⁸.

Además de las citoquinas descritas, las proteínas contenidas en los gránulos citoplasmáticos de los eosinófilos, como la MBP y la EDN¹⁵¹, pueden afectar la función de los fibroblastos. La MBP también interactúa con IL-5 y TGF- β aumentando la transcripción y la secreción de IL-6 y IL-11 por los fibroblastos, otras moléculas que también favorecen los procesos de fibrosis.

Los propios fibroblastos también interaccionan de manera recíproca con los eosinófilos, promoviendo su supervivencia y quimioatracción. Cultivos primarios de fibroblastos de la vía aérea de pacientes asmáticos producían eotaxina-1 en respuesta al estímulo con IL-13 y TGF- β ¹⁶⁴. La eotaxina-1, que también es producida por los eosinófilos, puede tener efectos directos en los

fibroblastos pulmonares humanos en cultivo, aumentando su proliferación y la síntesis de MMP¹⁵¹.

5.5 EFECTO DEL TRATAMIENTO CON CORTICOIDES EN LA FIBROSIS Y ANGIOGÉNESIS DE LA VÍA AÉREA:

Los corticoides son fármacos muy efectivos para reducir la inflamación de la vía aérea, incluyendo la infiltración eosinofílica, hasta el punto de que los corticoides tópicos inhalados (como el dipropionato de beclometasona, budesonida o propionato de fluticasona) representan hoy la piedra angular del tratamiento del asma, al reducir los síntomas y prevenir las exacerbaciones y la muerte¹⁴³.

Diversos estudios han tratado de valorar el efecto de los corticoides sobre la remodelación de la vía aérea en pacientes asmáticos, con resultados contradictorios: la mayoría de los estudios muestran que los corticoides inhalados inhiben la remodelación¹⁶⁵⁻¹⁶⁷ mientras que otros estudios no muestran efecto en ésta^{147,168}. La duración de la terapia y la dosis de corticoides parecen ser factores importantes en determinar la remodelación de la vía aérea¹⁶⁵⁻¹⁶⁹. Chetta *et al* demostraron que los corticoides inhalados administrados durante 6 semanas disminuían el número de vasos sanguíneos y de células positivas a VEGF en las biopsias bronquiales de pacientes asmáticos¹⁷⁰. Este mismo grupo demostró que, en pacientes con asma leve y moderada, altas dosis de propionato de fluticasona durante 6 semanas podrían afectar

significativamente la remodelación reduciendo tanto la vascularización submucosa como el grosor de la membrana basal¹⁶⁹. Sin embargo, la mejoría en las biopsias de las vías aéreas proximales podría no reflejar fielmente la remodelación de las pequeñas vías distales¹⁴⁸. Por otro lado, los corticoides disminuyen el número de eosinófilos en la vía aérea, lo que se asociaría con un descenso concomitante en los mediadores pro-fibrogénicos asociados al eosinófilo, como el TGF- β , IL-5 y FGF-9¹⁷⁰.

5.6. REMODELACIÓN FIBROSA ESOFÁGICA EN LA EE:

La presencia de remodelación fibrosa en la EE posee importantes implicaciones clínicas, al poder estar asociada con los síntomas de disfagia, y ello podría explicar y predecir futuras estenosis esofágicas y dismotilidad.

Contamos con recientes descripciones de remodelación fibrosa subepitelial en la EE; un modelo murino de la enfermedad ha definido que la fibrosis subepitelial era consecuencia de la eosinofilia tisular inducida por IL-5¹³⁹ cuya expresión está también aumentada en la EE humana¹⁷¹. El tratamiento de adultos con EE con el anticuerpo monoclonal anti-IL-5 MepolizumAb mostró eficacia para la reducción de los mediadores inflamatorios relacionados con la remodelación fibrosa del órgano¹²⁸. La fibrosis asociada a la EE ha sido relacionada con la extensión de la activación eosinofílica esofágica, como se evidencia por la degranulación eosinofílica determinada por tinción inmunohistoquímica frente a MBP¹⁰⁴.

El factor de crecimiento de fibroblastos -9 (FGF-9) es una citoquina profibrogénica que participa en la reparación tisular subsiguiente al daño histológico, induciendo proliferación celular. La propia MBP de los eosinófilos se ha mostrado capaz de incrementar la expresión génica de FGF-9 en las biopsias de pacientes con EE¹⁷². Esta expresión, que se observó también en pacientes con ERGE, era mucho más extensa en EE comparados con controles. Precisamente el mayor grado de activación de los eosinófilos (y por tanto su mayor liberación de MBP), pero no el número total de eosinófilos se correlaciona con el mayor grado de hiperplasia de la capa basal o proliferativa del epitelio esofágico, en un efecto mediado por FGF-9, molécula que actúa directamente en las células epiteliales esofágicas estimulando su proliferación¹⁷².

El papel importante que parece desempeñar FGF-9 en la patogénesis de la EE no ha sido aún analizado en la lámina propia del órgano, el lugar en el que habitan los fibroblastos en condiciones normales.

Trabajos realizados en niños con EE han mostrado igualmente una fibrosis subepitelial significativa en la lámina propia del esófago comparada con controles normales o con niños con ERGE, que estaba determinada por expresión aumentada de TGB- β en los eosinófilos y de su factor señalizador Smad2/3⁹⁸. Además, la EE se asociaba con un número incrementado de vasos

sanguíneos activados, con el fin de facilitar el reclutamiento de células al infiltrado inflamatorio.

Una investigación reciente ha mostrado que la reducción en la densidad de eosinófilos epiteliales tras un periodo de 3 meses de tratamiento con budesonida se asociaba con reducción significativa de la expresión de células positivas para TGF- β y Smad2/3, además de un descenso en los marcadores de activación vascular de remodelación esofágica en niños con EE¹¹⁴. Otro estudio, también retrospectivo y realizado en pacientes pediátricos con EE, realizó un análisis de muestras de biopsias incluyendo 17 pacientes con EE y comparándolos con controles normales y ERGE, observó un grado significativamente mayor de eosinófilos y fibrosis en los casos de EE respecto al control. Tras tratamiento con corticoides observaron una disminución en el número de eosinófilos epiteliales y del grado de fibrosis, aunque la mayoría sin resolución de la remodelación¹⁷⁴.

Sin embargo, la dificultad para biopsiar sistemáticamente tejido de la lámina propia de los pacientes con EE utilizando los fórceps endoscópicos convencionales de apertura frontal impide conocer el alcance de los cambios estructurales de la remodelación esofágica, y carecemos de datos sobre la intensidad y la reversibilidad de los fenómenos de remodelación fibrosa esofágica en pacientes adultos con EE, aquellos con más tiempo de exposición a

los cambios estructurales ocasionados por la persistencia prolongada de la inflamación eosinofílica.

En este trabajo prospectivo analizaremos por primera vez los fenómenos de remodelación fibrosa esofágica y los cambios inducidos por el tratamiento prolongado con el corticoide tópico propionato de fluticasona sobre una serie de pacientes adultos con EE.

6. TRATAMIENTO EN LA EE:

La acumulación de eosinófilos en el esófago de los pacientes con EE parece estar dirigida por la exposición a ciertos antígenos, lo que ha determinado la consideración de la enfermedad como un trastorno inmunoalérgico y su tratamiento basado en fármacos útiles en el asma bronquial¹⁷⁵. Más recientemente se han implicado ciertos genes reguladores de la inmunidad en el posible origen de la EE¹⁰ e incluso la participación del ERGE en la fisiopatología de la enfermedad¹⁷⁶. En este sentido, la EE bien pudiera tratarse de una enfermedad de causa multifactorial, determinada por la exposición a alérgenos alimentarios o ambientales sobre el sistema inmunológico de la mucosa esofágica modulado por la exposición al ácido en individuos genéticamente predispuestos. La contribución de cada uno de estos posibles factores etiológicos al desarrollo de la enfermedad sería crucial para definir tratamientos específicos.

Pese a la importancia adquirida en los últimos años por la EE, carecemos hoy en día de estrategias de tratamiento comúnmente aceptadas y el manejo adecuado de estos pacientes posee diversos aspectos controvertidos. A esto contribuye el carecer de estudios controlados y randomizados (excepto un estudio en pacientes pediátricos⁵¹ y otro reciente en adultos¹⁷⁷, la dificultad para controlar todos los factores etiológicos que podrían contribuir al desarrollo de la EE y el escaso conocimiento sobre el efecto a largo plazo de las distintas terapias para el control de la inflamación del órgano y de su capacidad para modificar la historia natural de la EE.

Entre las terapias ensayadas se encuentran: a) aquellas dirigidas a la eliminación de la dieta de posibles alérgenos desencadenantes, una medida que, aunque puede resultar útil, no está exenta de dificultades; b) el empleo de diversos fármacos útiles en otras condiciones inflamatorias, pero sin indicación formalmente establecida para la EE, y, por último, c) los tratamientos endoscópicos, que mediante dilataciones esofágicas, tratan de corregir las alteraciones en el calibre del esófago.

6.1. MANEJO DIETÉTICO Y DE CONTROL DE EXPOSICIÓN ANTIGÉNICA:

Los estudios iniciales desarrollados en niños con EE demostraron que la alergia a ciertos componentes de la dieta contribuía de manera significativa a la patogenia de la EE, al constatarse el hecho de que la supresión de determinados

alimentos lograba la mejoría de los síntomas y los hallazgos histopatológicos de la enfermedad en la mayoría de pacientes pediátricos. Tras los estudios iniciales basados en la alimentación exclusiva con dietas elementales que sustituían a todas las proteínas de la dieta³⁶, se han seguido otras aproximaciones de tratamiento que pretenden solo la eliminación de aquellos alimentos responsables de la enfermedad. Estas estrategias se han basado en la utilización de distintas pruebas de alergia como las pruebas de sensibilización intradérmica (*prick test*) y la pruebas de sensibilización epicutánea (*patch test*) para detectar alergias alimentarias en niños^{178,179}, y ambos han sido utilizados con cierto éxito para guiar el manejo de los estos pacientes. Sin embargo, la cada vez más asumida participación de una respuesta celular no mediada por IgE en la EE⁸⁷ hacen que el uso de estas técnicas de alergia sea controvertido, especialmente en el caso de los pacientes adultos con EE, donde es necesario desarrollar de nuevos estudios específicos. A esto se suma el inconveniente que presentan las estrategias de tratamiento basadas en la eliminación de alimentos guiada por pruebas de alergia es la dificultad para repetir los resultados obtenidos en otros estudios debido a la falta de estandarización en la realización de las pruebas alergológicas. También, la necesidad de excluir más de un alimento de la dieta en la mayoría de pacientes, lo que puede ocasionar importantes déficit nutricionales, que habrá que suplir convenientemente, especialmente en el caso de niños.

6.2. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO EN LA EE:

En la elección del tratamiento farmacológico de la EE deben ser consideradas diversas cuestiones. Por un lado, carecemos hoy en día de fármacos específicamente aprobados para su uso en esta enfermedad, debiendo recurrir a medicamentos utilizados en otras enfermedades alérgicas. La EE es además una enfermedad crónica que puede requerir tratamiento a largo plazo, por lo que cualquier terapia debe ser evaluada tanto en su eficacia como en su seguridad, evitando o minimizando sus posibles efectos secundarios. A esto se une el hecho de que ninguna terapia de las actualmente disponibles ha demostrado modificar el curso de la enfermedad ni la resolución total de sus síntomas a largo plazo. Pese a estos problemas, la necesidad de ofrecer un tratamiento para los pacientes con EE ha llevado a la utilización en los últimos años de distintos fármacos:

- Inhibidores de bomba de protones (IBP): No están considerados como un tratamiento específico para la EE, pero sí son útiles para diferenciar la EE de ERGE^{29,180,181}, y también pueden ofrecer claros beneficios para algunos pacientes diagnosticados con EE y con síntomas de ERGE secundarios, muy verosímilmente por el mal aclaramiento de ácido del esófago producido por alteraciones motoras asociadas a la inflamación eosinofílica del órgano.

Pese a esto, 2 estudios recientes revelan que la terapia con IBP puede ser efectiva a corto plazo en algunos pacientes. En el primero, Ngo *et al*, mostraron como 3 pacientes diagnosticados de EE (de 5, 14 y 25 años de edad) llegaron a estar asintomáticos tras un tratamiento con IBP durante 2 meses, normalizando los hallazgos endoscópicos y reduciendo el número de eosinófilos en el infiltrado epitelial¹⁸². En el segundo estudio, Peterson *et al*, realizan en adultos el primer estudio prospectivo, aleatorizado y controlado comparando 15 pacientes tratados con fluticasona deglutida y con otros 15 pacientes tratados con esomeprazol durante 8 semanas, concluyendo que ninguno de los tratamientos es superior al otro y que ambos muestran una reducción del número de eosinófilos, y una mejora de aproximadamente el 50% en disfagia y una resolución histológica parcial¹⁷⁷. A la luz de estos resultados los IBP pueden ser recomendados en algunos pacientes como coterapia y no solo para distinguir entre EE y ERGE. Desconocemos, sin embargo, el efecto a medio y largo plazo que el tratamiento antisecretor de ácido gástrico puede tener sobre los síntomas y hallazgos histopatológicos de la EE, no pudiendo descartar que reaparezcan los síntomas tras algún tiempo, al persistir la exposición antigénica dietética o ambiental que determina la enfermedad. Debido a la coexistencia de ERGE en muchos casos de EE y al efecto que los fármacos inhibidores de la secreción ácida han demostrado en el control de los síntomas, parece razonable ante una sospecha de EE realizar durante 8 semanas una prueba terapéutica con

IBP antes de repetir la endoscopia y toma de biopsias. Esta medida, además de excluir ERGE como causa de la eosinofilia, podría caracterizar correctamente aquellos pacientes en los que coexisten EE y ERGE mejor que la monitorización del pH esofágico. Sólo cuando se haya comprobado la persistencia del infiltrado inflamatorio eosinofílico y los síntomas derivados de éste, podremos plantear un tratamiento específico.

- Corticoides Sistémicos: Varias publicaciones antiguas habían mostrado la eficacia de los corticoides sistémicos en el control de los síntomas y del infiltrado inflamatorio esofágico de la EE, pero el hecho de que sea una enfermedad crónica desaconseja el uso de estos esteroides sistémicos, debido a sus efectos adversos, en favor de otras terapias más seguras. La Prednisona ha sido uno de los fármacos más utilizados desde la descripción de los primeros casos de la enfermedad. Otros estudios han mostrado que dosis de metilprednisona¹⁸³ entre 0.5 a 1.5 mg/kg/día por vía oral eran también altamente eficaces, aunque los síntomas y el infiltrado eosinofílico esofágico reaparecían unos meses tras la interrupción del tratamiento.

Un reciente estudio ha comparado un corticoesteroide sistémico (prednisona) con un corticoesteroide tópico (propionato de fluticasona), mostrando una eficacia similar en ambos casos, caracterizada por rápida respuesta clínica e histológica, aunque los efectos adversos eran mayores

en el grupo tratado con corticoesteroides sistémicos, y con reaparición de los síntomas tras la interrupción del tratamiento¹⁸⁴. Por estas razones, únicamente se recomendaría el uso de corticoesteroides sistémicos en casos severos de EE, refractarios o urgentes.

- Esteroides tópicos: Es el tratamiento de primera línea en una gran parte de los casos de EE¹⁸⁵, y en concreto el más utilizado es el propionato de fluticasona. Desde su primera utilización en EE¹⁸⁶, múltiples estudios^{37,50,51,56,79,82,92,94,116,184,187-189} han mostrado su eficacia tanto en niños como en adultos de manera similar a los esteroides sistémicos, pero sus efectos adversos son mínimos, siendo el más común la candidiasis faringo-esofágica.

Las dosis de propionato de fluticasona utilizadas en los distintos trabajos publicados sobre EE oscilan desde 176 µg/día en niños hasta 1 gr/día en adultos (dividida en dos administraciones), durante un periodo de 6 a 12 semanas.

El inconveniente principal de estos tratamientos era su difícil administración (normalmente son dispositivos de inhalación, debiendo aplicarse sobre la lengua y después tragarse en el tratamiento de la EE).

Por este motivo resulta muy importante instruir al paciente para la correcta administración del fármaco, advirtiéndole que no debe comer ni beber durante al menos 30 minutos después de la administración del medicamento. Para solucionar estas posibles dificultades en la correcta administración, sobre todo en pacientes pediátricos, Aceves *et al*¹⁹⁰ han utilizado una solución viscosa de budesonida preparada como fórmula magistral, logrando respuesta favorable en el 80% de los pacientes, que mostraron una reducción en el número de eosinófilos y una remisión de los síntomas, sin comunicarse problemas de seguridad con el fármaco. Recientemente hemos podido disponer de una formulación líquida de propionato de fluticasona, originalmente diseñada para administración nasal, que facilita su deglución, además de disminuir su adherencia en cavidad oral, y que es la que hemos utilizado en los pacientes de este estudio. Las ventajas farmacocinéticas de fluticasona frente a budesonida pueden suponer un mayor uso de esta formulación líquida comercialmente disponible.

Además de resolver el infiltrado inflamatorio epitelial y los cambios histopatológicos secundarios al mismo en el epitelio del esófago, propionato de fluticasona ha mostrado reducir la expresión de citoquinas proinflamatorias responsables de la EE; así los pacientes tratados con este fármaco muestran un descenso significativo en la expresión de IL-4, IL-5, IL-13 y eotaxinas -1,-2 y -3 en muestras epiteliales respecto a la situación

basal^{45,95,129,130}. Estos datos son paralelos al efecto de los esteroides tópicos sobre la pared bronquial durante el tratamiento de los pacientes con asma bronquial^{143,147}.

- Sustancias estabilizadoras de los mastocitos (cromoglicato disódico, nedocromil): Aunque el cromoglicato disódico ha sido utilizado en la gastroenteritis eosinofílica por su resistencia a la acidez gástrica¹⁹¹, en un estudio con 14 niños con EE, Liacouras *et al*³⁹¹, tras utilizar dosis de 100mg/día (repartidas en 4 tomas) durante 1 mes no observaron ninguna mejora clínica ni histológica, por lo carecemos de pruebas para aconsejar este tratamiento en EE.
- Anti-leucotrienos: Montelukast, un antagonista de los receptores de leucotrienos utilizado en el tratamiento del asma bronquial, fue utilizado en una serie pequeña de 8 pacientes con EE, empleando altas dosis (hasta 100 mg/día)¹⁹², se observó que después de varias semanas de tratamiento, 7 pacientes tuvieron una remisión de los síntomas pero ninguno tuvo una mejora histológica significativa. Tras la interrupción del tratamiento los síntomas volvieron a aparecer. En otro estudio más reciente¹⁹³, se determinaron los niveles de expresión génica de los cisteinil leucotrienos en el epitelio esofágico, no encontrando diferencias entre niños con EE y controles normales. Según estos datos parece que el Montelukast no logra remisión clínica e histológica de la EE, aunque

todavía se necesitan más estudios para conocer la potencial eficacia en mantener una remisión inducida por esteroides.

- Azathioprina/6-mercaptopurina: De manera análoga a la enfermedad inflamatoria intestinal, en pacientes dependientes del uso de esteroides para mantener el control de la inflamación eosinofílica del esófago se han ensayado inmunomoduladores tiopurínicos. En un estudio realizado por Netzer *et al* ¹⁹⁴, 3 pacientes adultos con EE dependiente de esteroides fueron tratados con AZA o 6-MP (2 - 2,5 mg/kg y día), mostrando remisión de los síntomas y del infiltrado eosinofílico, que fue mantenida durante la terapia (de 3 a 8 años) sin la necesidad de esteroides. Tras la interrupción del tratamiento la enfermedad recurrió en dos pacientes. Más ensayos con un mayor número de casos serían necesarios para evaluar la eficacia del tratamiento.

6.3. TRATAMIENTO ENDOSCÓPICO. UTILIDAD Y CONTROVERSIAS

La EE se acompaña de una marcada fragilidad en la mucosa del esófago: se ha descrito una alta tasa de laceraciones en la mucosa, probablemente secundarias a los esfuerzos de los pacientes en inducir el vómito tras la impactación de alimento. La propia inflamación esofágica crónicamente mantenida podría alterar la elasticidad y la resistencia de las capas de la pared del esófago, llegando al extremo de que el simple roce del endoscopio dé lugar a desgarros. Incluso han sido comunicados casos de perforación esofágica espontánea¹⁹⁵, Síndrome de Boerhaave¹⁹⁶ y tras el simple paso del

endoscopio¹⁹⁷ en pacientes con EE, lo que obliga a realizar los diferentes procedimientos endoscópicos de manera suave en estos pacientes.

Durante la endoscopia de los pacientes con EE o mediante técnicas de radiología pueden ser observadas alteraciones en el calibre del esófago, con estrechamiento de su luz. Por este motivo, las dilataciones mecánicas han sido empleadas desde las primeras descripciones de casos como una opción de tratamiento para la EE, análogamente a como se emplean en otras estenosis esofágicas de carácter rígido o fibroso, consecuencia de la cicatrización de procesos inflamatorios de curso prolongado que afectan a la mucosa del tracto digestivo (como en caso de ERGE o tras causticación). Los fenómenos inflamatorios crónicos que acontecen en EE también determinan remodelación fibrosa subepitelial, como recientemente ha sido demostrado en formas infantiles de la enfermedad⁹⁸ y en modelos animales¹³⁹. En este contexto, el uso de dilatadores hidroneumáticos o bujías ha sido empleado como tratamiento de la EE por diversos autores. Del análisis de la literatura se desprende que la dilatación esofágica constituye un tratamiento eficaz, que proporciona mejoría sintomática inmediata^{198,199}, pero también se ha advertido que las dilataciones endoscópicas presentan un mayor riesgo de complicaciones en los pacientes con EE. La mayoría de los casos de perforación esofágica (espontánea o tras procedimientos endoscópicos) descritos no han pasado de pneumomediastino^{200,201}, pero en dos casos se precisó esofagectomía urgente^{202,203}.

Por otro lado, las dilataciones endoscópicas son un procedimiento mecánico sin ningún efecto sobre el proceso inflamatorio subyacente, por lo que su eficacia puede ser limitada con el paso del tiempo, siendo muy habitual que los pacientes tengan que someterse a dilataciones repetidas (hasta en 5 ocasiones^{204,205} para controlar sus síntomas.

Estas razones llevan a considerar que las dilataciones endoscópicas pueden constituir una técnica de riesgo en estos pacientes²⁰⁶, debiendo contemplarse como una alternativa de tratamiento para aquellos pacientes con EE y estenosis esofágicas después del fracaso de otras medidas, especialmente los esteroides tópicos.

*HIPÓTESIS DE TRABAJO Y
JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO*

HIPÓTESIS DE TRABAJO Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.

La EE es una enfermedad de muy reciente descripción, por lo que disponemos de pocos datos sobre su historia natural. Sin embargo, distintas observaciones sugieren que los síntomas podrían tender a persistir a lo largo del tiempo, con severidad progresiva y con una peor respuesta al tratamiento en caso de retrasarse su instauración²⁰⁷. Se ha sugerido que este hecho podría relacionarse con fenómenos de remodelación del esófago y depósito de colágeno en la pared del órgano^{49,175}.

Existen pruebas claras de remodelación fibrosa en el asma bronquial de larga evolución, enfermedad que, como hemos expuesto, guarda múltiples similitudes con la EE, tanto en su naturaleza alérgica como en los mecanismos celulares y moleculares que comparten ambas enfermedades, entre los que destaca la infiltración de la mucosa por eosinófilos²⁰⁸. Los leucocitos eosinófilos poseen mecanismos moleculares que pueden determinar fibrosis tisular, tanto por los fenómenos inespecíficos de reparación tisular tras las acción citotóxica de las proteínas contenidas en sus gránulos, como por la producción de sustancias profibrogénicas directas, como TGF- β ²².

Contamos con escasas descripciones en la literatura de remodelación fibrosa en EE infantil⁹⁸. Sin embargo, y debido fundamentalmente a limitaciones de carácter técnico, hasta la fecha no ha podido ser sistemáticamente demostrada la existencia de remodelación fibrosa en el esófago de pacientes

adultos con EE, y especialmente su resolución o permanencia tras la aplicación de medidas de tratamiento anti-inflamatorio. Este hecho se debe principalmente a que los fórceps de biopsia estándar empleados para la obtención de las muestras de mucosa a través de endoscopia digestiva, necesarias para el diagnóstico de EE, generalmente son de apertura frontal, y toman muestras de forma tangencial a la mucosa del órgano, con lo que sólo incluyen el estrato epitelial. En comunicaciones aisladas en las que sí se obtuvo tejido conjuntivo de la lámina propia del esófago de niños con EE se muestra depósito de colágeno en el mismo⁹¹. Un trabajo ha determinado que el tratamiento con budesonida de niños con EE (aquéllos con menor tiempo de evolución de la enfermedad y menor daño potencial en el subepitelio) es capaz de revertir la expresión de TGF- β y los fenómenos de activación vascular, pero las limitaciones expresadas previamente impiden valorar adecuadamente los cambios en la fibrosis¹¹⁴.

En este contexto, se torna de gran importancia el conocimiento exacto del depósito de colágeno en la pared del esófago de pacientes con EE, y en especial de los casos en adultos, aquéllos con más tiempo de evolución de la enfermedad, un fenómeno importante desde el punto de vista clínico, en tanto que condicionaría una remodelación del órgano que se asociaría a deterioro de la capacidad dinámica del mismo, con rigidez y deterioro clínico del paciente. Además, podría implicar irreversibilidad de estos cambios inflamatorios desde el punto de vista clínico y la necesidad de cambios en el abordaje terapéutico de

esos pacientes, en los que las dilataciones endoscópicas podrían sustituir al tratamiento con corticoides.

Los estudios sobre la reversibilidad del depósito de colágeno subepitelial en el asma bronquial tras el tratamiento con corticoides tópicos han mostrado resultados dispares: la mayoría de los estudios muestran que los corticoides inhalados inhiben la remodelación¹⁶⁵⁻¹⁶⁷ mientras que otros menos estudios no muestran efecto en la remodelación^{147,168}. La duración de la terapia con corticoides parece ser un factor importante en determinar la remodelación de la vía aérea, una cuestión que podría estar en la base de estas diferencias.

Nuestro estudio pretende analizar de manera prospectiva el depósito de colágeno subepitelial en una serie de pacientes adultos con EE, mediante muestras tisulares adecuadas, y compararlo con el contenido en condiciones normales y en la ERGE. Además, y de modo más importante, pretende valorar los cambios inducidos sobre los fenómenos de remodelación por el tratamiento esteroideo prolongado (mantenido durante 12 meses) con el fin de garantizar el tiempo suficiente como para poder observar cambios. Este análisis se realizará sobre el propio tejido, sobre el infiltrado inflamatorio tisular y sobre la expresión génica de las principales moléculas reguladoras de la remodelación fibrosa (TGF- β , FGF-9, IL-5 y CCL18).

Nuestra hipótesis de trabajo implica que el tratamiento esteroideo prolongado sería eficaz para reducir la expresión de citoquinas profibrogénicas al inducir la remisión del infiltrado inflamatorio. Sin embargo, hipotetizamos que los cambios fibrosos establecidos en el órgano no serán reversibles, unos hallazgos paralelos a los observados con mayor frecuencia en el asma bronquial.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

OBJETIVOS PRINCIPALES:

- 1) Cuantificar el depósito de colágeno en la lámina propia de la pared del esófago de una serie de pacientes adultos con EE, determinar el nivel de expresión génica de citoquinas profibrogénicas responsables de estos fenómenos, en comparación con sujetos controles normales y con pacientes con enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE).
- 2) Valorar los cambios inducidos por el tratamiento tópico con propionato de fluticasona sobre la el depósitos de colágeno en el subepitelio esofágico y sobre la expresión génica de las citoquinas profibrogénicas en los pacientes con EE.

OBJETIVOS SECUNDARIOS:

- 1) Definir las posibilidades de remisión de los fenómenos de remodelación de la pared esofágica en los pacientes adultos con EE.
- 2) Contribuir al conocimiento sobre la historia natural de la EE, aportando datos sobre la posible evolución de la enfermedad a largo plazo, y sus consiguientes implicaciones clínicas y terapéuticas.

PACIENTES Y MÉTODOS

1. PACIENTES.

Se reclutaron de manera consecutiva 10 pacientes adultos diagnosticados de EE en la Sección de Aparato Digestivo del Hospital General de Tomelloso, tras su estudio por la presencia de síntomas esofágicos de larga evolución, consistentes en disfagia y/o impactaciones de alimento. Los pacientes fueron remitidos desde su centro de Atención Primaria, desde el Servicio de Urgencias o desde las consultas de Alergología del mismo hospital.

En todos los casos se realizó historia clínica completa con antecedentes personales y familiares de síntomas digestivos y de manifestaciones atópicas, anamnesis orientada de sus síntomas esofágicos y exploración física. Se realizó endoscopia digestiva alta para la resolución de las causas mecánicas en el caso de impactaciones cuando existieron, y para el diagnóstico de la disfagia mediante estudio endoscópico del tracto digestivo superior, y se tomaron biopsias endoscópicas a distintos niveles.

El diagnóstico de EE se estableció según los criterios diagnósticos clínico-patológicos recomendados por la Asociación Americana de Gastroenterología (AGA)²⁹, y consistentes en :

1. Presencia de datos clínicos sugestivos de EE (síntomas esofágicos de larga evolución en un paciente generalmente con antecedentes personales y/o familiares de atopia).

2. Demostración de la existencia de un infiltrado inflamatorio en muestras de biopsia endoscópica de la mucosa esofágica caracterizado por la presencia de más de 15 eosinófilos por HPF.
3. Coexistencia de otros datos histopatológicos característicos de la enfermedad (proliferación epitelial, acantosis y papilomatosis).
4. Ausencia de infiltración eosinofílica en las muestras obtenidas de mucosa gástrica y duodenal.
5. Exclusión de reflujo gastroesofágico como causa de la eosinofilia, descartado mediante pH-metría de 24 horas o por persistencia de los cambios histológicos característicos de EE tras tratamiento antisecretor potente (Omeprazol 20mg cada 12 horas durante 8 semanas).
6. Exclusión mediante datos de la historia clínica de causticaciones, neoplasias hematológicas, consumo de fármacos o exposición a radioterapia.

7. Exclusión de parasitosis intestinal mediante examen de parásitos en 3 muestras de heces recogidas en días sucesivos.

Los pacientes con diagnóstico de EE fueron estudiados según el protocolo utilizado en la sección de Aparato digestivo de nuestro hospital (ver anexo 1). Previo a la realización de las distintas exploraciones, se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes.

Como grupo control, se incluyeron 20 pacientes de ambos sexos a los que se solicitó su participación voluntaria en este estudio. Todos ellos iban a ser sometidos a exploración endoscópica bajo sedación por distintos motivos y en ningún caso existía sospecha de EE. En 10 pacientes la exploración endoscópica se realizó por presencia de síntomas de ERGE, y en la endoscopia mostraron hernia de hiato, cardias incompetente y/o erosiones pépticas esofágicas. En los 10 pacientes restantes se excluyó clínica de reflujo y otros síntomas esofágicos así como las lesiones previamente mencionadas, por lo que su esófago fue considerado normal. Los pacientes de ambos grupos controles firmaron un modelo de consentimiento informado específico que implicaba la cesión del material biológico obtenido.

Así mismo, todos aceptaron por escrito la participación voluntaria en este estudio, la cual implicaba la utilización del material biológico o de los

documentos gráficos obtenidos durante las exploraciones para fines investigadores o docentes. Toda la información obtenida, así como el curso de la atención clínica a los pacientes, fue recopilada en la historia clínica, y de esta forma fue garantizada la confidencialidad de los mismos. El estudio se llevó a cabo siguiendo las directrices de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (AMM) y fue aprobado por el Comité de Ética e investigación clínica del Complejo Hospitalario Mancha Centro.

2. EXPLORACIÓN ENDOSCÓPICA.

Las endoscopias de todos los pacientes del grupo de estudio fueron realizadas bajo sedación consciente con Propofol, con un videogastroscopio flexible de 9 mm de calibre (Pentax EG2770K), con procesador de imagen (Pentax EPK-100p), y monitor de color de alta definición (Sony LMD-1420 MD).

Durante las exploraciones endoscópicas se realizó toma de biopsias endoscópicas mediante fórceps bivalva de apertura lateral (Olympus FB11K, Olympus Medical Systems Corp, Tokyo, Japón) que permite la obtención de muestras profundas de la pared esofágica, incluyendo el epitelio, tejido de lámina propia, además de alcanzar hasta la *muscularis mucosae*.

En todos los pacientes con sospecha de EE se realizó la toma de biopsias a distintos niveles del tracto digestivo superior, en un número de muestras determinado por el protocolo de muestras de nuestra Sección (ver

anexo 1), que incluía la toma de al menos 5 biopsias en cada uno de los tercios superior e inferior del esófago (considerando el primero como el tramo distal a la boca de Killian y proximal a la impronta aórtica, y el segundo como los 5 cm de mucosa proximales a la unión mucosa esofagogástrica), antro gástrico y segunda porción duodenal. La toma de biopsias esofágicas de los pacientes del grupo control se realizó en un número mínimo de 5 especímenes sobre esófago medio para estudios de histología. Todas las muestras fueron fijadas en una solución de formaldehído al 4%, inmediatamente tras su obtención, y procesadas en el Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Mancha Centro.

Durante la misma exploración se obtuvieron también 3 muestras de mucosa del tercio medio esofágico de todos los casos estudiados (tanto con la sospecha de EE como de los controles) siguiendo el mismo protocolo, las cuales fueron incluidas en una solución estabilizadora de RNA (RNA-later®, Ambion Inc. Austin, TX) para estudios moleculares y conservadas a la temperatura de -20° C hasta su procesamiento.

3. PROCESAMIENTO DE LAS BIOPSIAS Y ANÁLISIS HISTOLÓGICO.

Las muestras de mucosa digestiva que habían sido previamente fijadas en una solución de formaldehído al 4%, fueron incluidas en parafina, y se tallaron obteniendo cortes seriados de 5 micrometros de grosor, que fueron montados sobre portaobjetos y teñidos con hematoxilina y eosina (H-E) para su

estudio con un microscópico óptico Nikon Eclipse 50i (Nikon corporation, Tokyo, Japan). Los bloques de tejido restantes, incluidos en parafina, se conservaron para su posterior procesamiento mediante técnicas de histoquímica para demostración de colágeno tisular. Las tinciones histológicas fueron analizadas por un investigador ciego a la identidad de la biopsia.

En las muestras procesadas y teñidas con hematoxilina y eosina (H-E) para su estudio microscópico y recuento de eosinófilos intraepiteliales (células/mm²) se estableció el diagnóstico histológico de esofagitis eosinofílica según los siguientes criterios:

a) Biopsias de mucosa esofágica tomada en los tercios superior e inferior del órgano, incluidas en parafina y teñidas con H-E que mostraban una infiltración del epitelio esofágico por más de 15 leucocitos eosinófilos por HPF (400 X), valorado mediante microscopía óptica con objetivo de 40 aumentos²⁹, con un tamaño del campo de 0,212 mm².

b) Ausencia de infiltración eosinofílica en muestras de mucosa de estómago y/o duodeno, procesadas por la misma técnica.

Posteriormente, se determinó el pico y número medio de eosinófilos sobre epitelio y en la lámina propia, mediante el recuento de células en 3 HPF a nivel de los tercios superior e inferior esofágicos. Los resultados se expresaron

como células por mm². El mismo procedimiento de recuento celular se realizó en la muestras obtenidas en los grupos controles.

Los bloques de tejido incluidos en parafina se conservaron en temperatura ambiente hasta completar la inclusión de todos los pacientes en el estudio y fueron todos procesados simultáneamente (cada paciente con EE pre y post tratamiento con propionato de fluticasona y cada control) para tinción de colágeno mediante la técnica de tricrómico de Masson. El tricrómico de Masson, al igual que otros colorantes tricrómicos, es una tinción especial que permite visualizar claramente las fibras de colágeno tipo I que forman fibras gruesas o haces, diseñados para dar resistencia; también evidencia, aunque en menor intensidad, las fibras reticulares. Se emplean tres colorantes para diferenciar el núcleo celular, el citoplasma y las fibras de colágeno. El tejido conjuntivo con sus fibras de colágeno se teñirá de azul. Los glóbulos rojos, el tejido muscular, la queratina y los citoplasmas se teñirán de rojo y los núcleos celulares de marrón o lila.

La evaluación fue hecha preferiblemente en el estrato subepitelial, 150 micrometros inmediatamente por debajo de la membrana basal, área que consideramos la menos afectada por el procedimiento de biopsia. La valoración de la fibrosis subepitelial en la lámina propia se realizó en una escala semicuantitativa con valores entre 0 y 3, atendiendo a los siguientes aspectos:

1. Preferentemente en las áreas subepiteliales.
2. Presencia de haces gruesos de colágeno.
3. Compactación de los haces de colágeno.
4. Pérdida de celularidad en las áreas fibrosas (esclerosis).

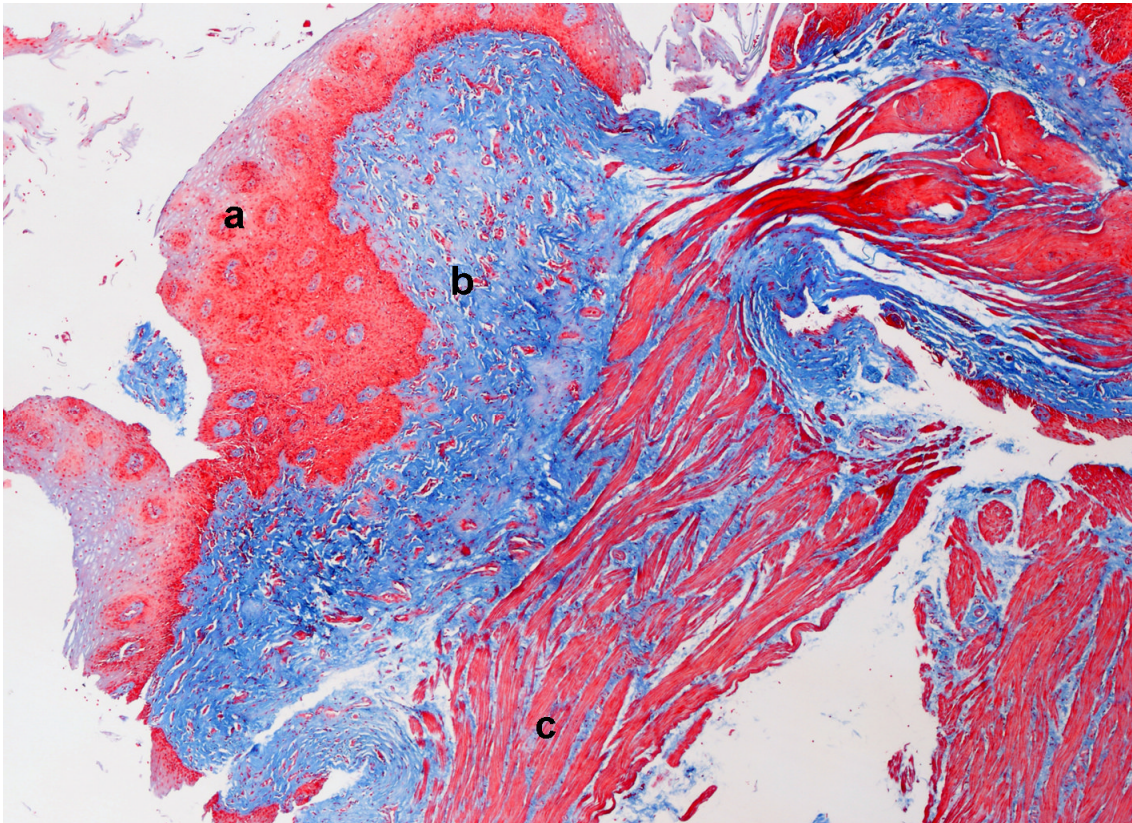


Figura 8. Muestra de una biopsia endoscópica tomada con pinza de apertura lateral y teñida con Tricrómico de Masson de un paciente con EE. Observe la profundidad del tejido que obtenido que contiene a) epitelio, b) lámina propia en su espesor completo y c) fibras musculares lisas de la *muscularis mucosae*.

4. TRATAMIENTO DE LA EE

En todos los pacientes estudiados y diagnosticados de EE se instauró tratamiento tópico con propionato de fluticasona en solución líquida (Flixonase

0,4 ® GlaxoSmithKline, Durham, UK), un corticoide sintético trifluorado disponible en ampollas con 2 mL para administración intranasal, que se administró de forma deglutida, a dosis de 400 µg dos veces al día, durante un periodo mínimo de 11 meses. Por las características farmacocinéticas del producto se recomendó a los pacientes la administración del fármaco después del desayuno y antes de acostarse, con el fin de prolongar el contacto entre el fármaco y la superficie esofágica al máximo tiempo posible. Con esta posología se trataba de que los pacientes no comieran ni bebieran en las horas siguiente a la aplicación. Durante el período de tratamiento los pacientes acudieron a consulta de aparato digestivo cada 2 meses con la finalidad de garantizar el mayor grado de cumplimiento terapéutico posible y se aconsejó a los pacientes que no realizaran cambios significativos en su dieta habitual hasta completar los estudios alérgicos.

Tras el tratamiento esteroideo se repitió la endoscopia digestiva alta y la toma de biopsias mucosas esofágicas en tercios superior e inferior en los pacientes con EE, según el mismo protocolo.

5. EXTRACCIÓN DE RNA DE CITOCINAS Y PCR EN TIEMPO REAL.

En todos los pacientes con EE incluidos en nuestro estudio analizamos la expresión de los genes codificantes de las citoquinas implicadas en los fenómenos de remodelación fibrosa subepitelial EE y en asma bronquial (IL-5,

TGF- β , CCL-18 y FGF-9) en el epitelio esofágico antes y después del tratamiento esteroideo. También se analizó la expresión de estos genes en las muestras de los controles con ERGE y los esófagos considerados normales.

Para ello se extrajeron los ácidos nucleicos totales de las 3 muestras de mucosa del tercio medio esofágico conservadas en solución estabilizadora del RNA mediante TriReagent (Molecular Research Center Inc., Cincinnati, OH)) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Tras el tratamiento con DNAasa I (para degradar el DNA celular y evitar interferencias en la técnica), se transcribieron 5 μ g de RNA total a cDNA mediante transcriptasa inversa SuperScript II® (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA) y hexámeros de nucleótidos randomizados, en un termociclador a tiempo final Light Cycler (Roche Penzburg, Germany) durante 1 hora a 42° C.

El análisis cuantitativo de la expresión de los genes objetivo se realizó mediante amplificación por PCR cuantitativa de los cDNA resultantes en un termociclador a tiempo total Light Cycler with FastStart DNA Master SYBR Green I (Roche Penzburg, Germany). Los cebadores (*primers*) empleados fueron los siguientes:

- Para IL-5:

IL-5 cebador *sentido* 5'-GCT TCT GCA TTT GAG TTT GCT-3'

IL-5 cebador *anti-sentido* 5'-CCG TCA ATG TAT TTC TTT ATT AAG-3'

- Para TGF- β :

TGF- β cebador *sentido* 5'-GGT GGA AAC CCA CAA CGA AAT C-3'

TGF- β cebador *antisentido* 5'-AAT TCC CCT CCA CGG CTC AAC-3'

- Para CCL-18:

CCL-18 cebador *sentido* 5'-ACA AAG AGC TCT GCT GCC TC- 3'.

CCL-18 cebador *antisentido* 5'-CCC ACT TCT TAT GGG GTC A- 3'

- Para FGF-9:

FGF-9 cebador *sentido* 5'- AAG GAC TGC GGC CTG ATG- 3'.

FGF-9 cebador *antisentido* 5'-TTT GCT TTA AGT TCA CTG CGA TG- 3'

- Para β -2 microglobulina:

cebador *sentido* 5'-CCA GCA GAG AAT GGA AGG TC-3'

cebador *antisentido* 5'-GAT GCT GCT TAC ATG TCT CG-3'.

Las curvas estándar empleadas para la cuantificación del RNA mensajero (mRNA) objetivo fueron generadas mediante el empleo de diluciones seriadas (1/10) de cantidades conocidas de los productos amplificados de los genes en estudio. La cuantificación de la expresión de los genes se obtuvo a través del programa informático del termociclador Light Cycler (Roche) mediante

interpolación en las respectivas curvas patrón. Las moléculas de mRNA estimadas de la cuantificación fueron normalizadas a la expresión del gen constitutivo de la β -2 microglobulina, calculando la relación entre las moléculas de mRNA específicas/ μ L de cDNA frente a las moléculas de β -2 microglobulina/ μ L de cDNA.

6. CONSULTA DE ARCHIVOS Y MATERIAL BIBLIOGRÁFICO.

Se realizó una búsqueda informática en repertorios bibliográficos (Pubmed, Embase) con los términos de búsqueda "*Eosinophilic esophagitis/oesophagitis*", "*Eosinophils*", "*Allergic esophagitis/oesophagitis*", "*esophageal remodeling*", "*subepithelial fibrosis*", para localizar las publicaciones referentes a esta patología. Así mismo, fueron analizados los libros de resúmenes de las 2 últimas ediciones del Congreso Nacional de la Sociedad española de Enfermedades Digestivas, de la Sociedad española de Endoscopia digestiva, y de los congresos internacionales más relevantes de la especialidad, la *Digestive Diseases Week* de Estados Unidos de América y la *United European Gastroenterological Week* de Europa. Así mismo, fueron también consultados los tratados más relevantes de las especialidades de gastroenterología, alergología e inmunología.

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se resumieron los diferentes niveles de las variables analizadas como media (desviación estándar).

Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante test no paramétricos: U de Mann-Whitney en el contraste de variables cuantitativas y test exacto de Fisher en las cualitativas.

Las correlaciones entre variables cuantitativas se exploraron con el coeficiente de correlación no paramétrico de Spearman (Rho).

Se utilizó un nivel de riesgo alfa del 5% ($p < 0,005$) aunque también se interpretaron como posiblemente relevante aquellos contrastes con una p inferior a 0,1.

Todos los cálculos se llevaron a cabo con el programa estadístico PASW, versión 18.0 (SPSS Inc).

RESULTADOS

1. PACIENTES:

A lo largo del periodo de estudio fueron incluidos en el presente trabajo 10 pacientes con diagnóstico de EE, 9 varones y 1 mujer. La edad media de los mismos fue de 29,9 años, con una desviación estándar (DE) de 9,2 y un rango de 18 a 48.

Todos los pacientes presentaban síntomas esofágicos crónicos: El motivo de consulta fue disfagia crónica e intermitente en 5 de los casos, habiendo presentado 9 de ellos episodios de impactación alimentaria en esófago, que requirieron resolución endoscópica en 4 casos. En 2 pacientes se habían requerido endoscopias hasta en 4 ocasiones por este motivo.

Todos los pacientes menos uno presentaban historia personal de atopia, en forma de asma bronquial en 6 de ellos y rinoconjuntivitis estacional en 8. Dos pacientes habían presentado reacciones alérgicas a medicamentos. Entre los familiares de primer grado de 6 pacientes existían antecedentes alérgicos, pero no síntomas de disfagia. Las características clínicas de los pacientes se muestran en la Tabla 1.

Nueve pacientes presentaban eosinofilia sanguínea (>500 eosinófilos/mL), sin otros datos relevantes en las determinaciones del hemograma y bioquímica sérica. Los estudios de sensibilizaciones alérgicas demostraron títulos de IgE elevados (>50 KUI/mL) en todos los casos, excepto en 1, con niveles de IgE específicas frente a la batería de alimentos e inhalantes testada en nuestro centro según los resultados de la Tabla 1.

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes con EE incluidos.

Pacientes	AF alergia	Clínica	AP alergia	IgE (KUI/mL)	Prick (+)
1	Padre asma bronquial	Impactación alimentaria autolimitada, varios episodios previos.	Alérgico a AAS Rinitis alérgica , prurito con omeprazol	Total: 616,5 Específica: trigo, centeno, cebada, olivo, ácaros, gramíneas,	Sensibilizado a ácaros, pólenes y harinas
2	Hermano asmático, sensibilizado a pólenes y harinas	Episodios semanales de impactación autolimitada desde 2 años antes	Rinoconjuntivis y asma bronquial	Total: 363 Específica: pólenes, olivo y epitelio de gato	Alérgico a pólenes, olivo y epitelio de gato
3	Hermana con polinosis	Disfagia crónica desde 5 años antes, impactaciones múltiples autolimitadas	Rinoconjuntivis y asma bronquial	Total: 187,8 Específica: garbanzo, lenteja, olivo, almendra, avellana.	Gramíneas y olivo, sensibilización a legumbres, frutos secos y setas
4	No	Desde infancia impactaciones de alimentos, con pescado, carnes y cebolla	Rinoconjuntivitis y asma estacionales	Total: 137,1 Específica: ácaros gramíneas, epitelio de gato	Gramíneas, epitelio de gato, ácaros del polvo
5	No	Impactación alimentaria sobre estenosis, endoscopia urgente.	Rinoconjuntivitis estacional desde la infancia	Total: 255,5 Específica: maíz, cebada, almendra, avellana.	Legumbres, frutos secos, harinas trigo, maíz y arroz
6	No	Disfagia y dolor retroesternal desde 2 años antes, impactaciones de carne de ternera.	Asma bronquial desde los 2 años de edad. rinocinujtivitis	Total: 928,5 Específica: trigo, avena, cebada, centeno, arroz, maíz, olivo, gramíneas, carne de ternera.	Gramíneas, cupresus, arizónica
7	Hermano	Impactaciones autolimitadas, especialmente con arroz	Rinitis estacional	Total: 103,4 Específica: trigo, arroz, maíz, gramíneas, perro.	Gramíneas, olivo, chenopodium, plantago, harinas y perro
8	No	Disfagia desde hace años	Asma bronquial tras exposición a harinas	Total: 1119 Específica: trigo, cebada, centeno, avena, anisakis, ovoalbumina, ovomucoide.	Leche, huevo, harinas, anisakis
9	Hermano asmático	Disfagia intermitente, impactación de alimentos autolimitados	No	Total: 30 Específica: gramíneas.	Todo negativo
10	3 hermanos asmáticos	Dolor epigástrico y disfagia crónica, impactaciones frecuentes	Rinoconjuntivitis y asma bronquial perenne	Total: 205 Específica: trigo, centeno, avena, avella, malezas y gramíneas	Frutos secos, hongos, pólenes, poa

Los estudios de hipersensibilidad inmediata IgE mediada mediante *prick test* mostraron resultados positivos frente a alimentos y/o inhalantes en todos los casos, excepto en 1, según se muestra en la Tabla 1, resultando los estudios de hipersensibilidad cutánea retardada mediante *Patch test* negativos en todos los casos. El paciente número 9 mostraba recuento de eosinófilos normales, Ig E total dentro de lo normal y *prick test* negativo, además de no contar con antecedentes personales de atopía.

El tiempo medio de evolución de los síntomas hasta el diagnóstico de EE fue de 62,7 meses (rango de 5 a 300 meses), con curso intermitente en todos los casos. Cuatro pacientes habían sido estudiados previamente por los síntomas esofágicos, habiendo sido diagnosticados de ERGE y habiendo recibido tratamiento antisecretor sin mejoría clínica.

Tras el diagnóstico, todos los pacientes recibieron tratamiento con propionato de fluticasona a dosis de 400 µg cada 12 horas deglutida durante el período medio previsto en el protocolo de 12 meses (rango 11 a 14 meses), tiempo en el que se completaron los estudios alergológicos.

El grupo control 1, con el diagnóstico de ERGE, estuvo constituido por 10 pacientes, entre ellos 5 varones y 5 mujeres, con una edad media de 35,3 años (DE 11,2 y rango de 25 a 55), 7 de los cuales presentaban entre los hallazgos endoscópicos hernia de hiato (con lesiones pépticas en 3 de ellos) y los 3

restantes cardias incompetente. Ninguno de ellos mostró eosinofilia esofágica en rango patológico en las biopsias del tercio medio del órgano.

El grupo de controles 2, con esófago normal, estuvo constituido por 10 pacientes (3 varones y 7 mujeres), con una edad media de 29,6 (DE 12,3 y rango de 15 a 52).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto a la edad entre los grupos incluidos (Tabla 2).

Tabla 2. Datos descriptivos de los pacientes incluidos en el estudio: diagnóstico, edad y sexo

Variable	EE	ERGE	Normal	p*
Edad media (DE; rango)	29,9 (9,2;18 - 48)	35,3 (11,2;25 - 55)	29,6 (12,3;15 - 52)	0,37
Sexo, h/m	9/1	5/5	3/7	0,02

2. HALLAZGOS ENDOSCÓPICOS.

Nueve de nuestros pacientes presentaban esófago de calibre normal, apareciendo ligeramente reducido de calibre en el caso restante. No se observaron estenosis que impidieran el avance del endoscopio en ninguno de nuestros pacientes. En 6 los casos se observaron surcos lineales longitudinales (“esófago corrugado”), a modo de líneas marcadas sobre la mucosa del esófago. Cuatro pacientes mostraban además superficie mucosa irregular y en 4 de ellos se observaron exudados algodonosos blanquecinos sobre la superficie del

órgano (que correspondían a abscesos de eosinófilos en la histología). Los hallazgos endoscópicos se resumen en la tabla 3.

Tras el periodo de tratamiento, las endoscopias realizadas mostraban resolución de los hallazgos endoscópicos descritos en todos los casos.

Tabla 3. Hallazgos endoscópicos de los pacientes con EE.

Pacientes	Calibre del esófago	Presencia de anillos esofágicos	Patrón de la mucosa esofágica
1	Normal	Anillos de contracción simultánea	Surcos lineales longitudinales
2	normal	no	Surcos lineales longitudinales y mucosa de aspecto quebradizo
3	normal	no	Surcos longitudinales y exudados algodonosos en tercios medio y distal.
4	normal	Anillos de contracción simultáneos	Tenues surcos lineales longitudinales
5	normal	no	Normal
6	normal	Incipiente anillo de Schatzki	Normal
7	normal	no	Surcos lineales longitudinales y exudados blanquecinos
8	normal	Tenues anillos de contracción	Mucosa quebradiza con exudados blanquecinos finos
9	normal	no	Surcos lineales longitudinales, aspecto quebradizo y superficie irregular
10	reducido de calibre	Anillos de contracción simultánea	Mucosa muy irregular, con aspecto granujiento. Placas grandes blanquecinas tapizando la pared

3. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS.

3.1. PREPARACIONES TEÑIDAS CON HEMATOXILINA-EOSINA:

En las preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina, el estudio histológico del epitelio de los pacientes con EE mostró aumento del número de capas de células epiteliales en todos los casos, con células poligonales basófilas en extractos altos del epitelio y elongación de las papilas conjuntivas. Los recuentos de eosinófilos intraepiteliales fueron ligeramente más elevados en el tercio inferior del órgano, sin diferencias estadísticamente significativas respecto al tercio superior. En el tercio inferior se contabilizaron 338,6 eosinófilos/mm² de media (DE 207) y el tercio superior 277,5 eosinófilos/mm² de media (Tabla 4).

La densidad de eosinófilos en la lámina propia de las biopsias de los pacientes con EE resultó menor que en el espesor del epitelio. Tampoco se observaron diferencias significativas entre ambos tercios esofágicos. El tercio superior del esófago mostró una media de 71,1 eosinófilos/mm² (DS 29,4) y el tercio inferior una media de 64,5 eosinófilos/mm² (DS 49,6) (Tabla 4).

Tabla 4. Comparaciones de número de eosinófilos en epitelio, en lámina propia y fibrosis en pacientes con EE pre tratamiento, según localización en tercio esofágico.

Variable	Tercio superior	Tercio Inferior	p*
Eosinófilos	277,5 (175,0)	338,6 (207,0)	0,58
Eosinófilos Lámina Propia	71,1 (29,4)	64,5 (49,6)	0,78
Fibrosis	1,5 (0,4)	1,7 (0,4)	0,24

Resultados expresados como media (DE)

* Test de Wilcoxon

Los pacientes incluidos en ambos grupos controles mostraron tan solo un mínimo infiltrado eosinofílico en algunos casos de ERGE limitado exclusivamente al espesor del epitelio (no se observaron eosinófilos dentro de la lámina propia), con diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo de EE y ambos grupos controles tanto en relación con el número de eosinófilos epiteliales como en lámina propia ($p < 0,001$). Las diferencias entre los controles con ERGE y los controles normales no alcanzaron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 5).

Tabla 5. Comparaciones según grupo (pacientes con EE pre tratamiento, media de ambos tercios superior e inferior, ERGE y normal).

Variable	EE	ERGE	Normal	p*
Eosinófilos	308,0 (117,3)	1,5 (1,9)	0	<0,001
Eosinófilos Lámina Propia	67,8 (32,6)	0,3 (0,7)	0	<0,001
Fibrosis	1,6 (0,3)	0,2 (0,3)	0	<0,001

Resultados expresados como media (DE)

**Kruskal-Wallis*

3.2. PREPARACIONES TEÑIDAS CON TRICRÓMICO DE MASSON:

En las preparaciones teñidas con Tricrómico de Masson, se observó un aumento en el número y en el grosor de los haces de colágeno, que conferirían a las preparaciones de los pacientes con EE un aspecto significativamente más denso que el que mostraban los pacientes de ambos grupos controles, entre los cuales no se demostraron diferencias (Figura 9).

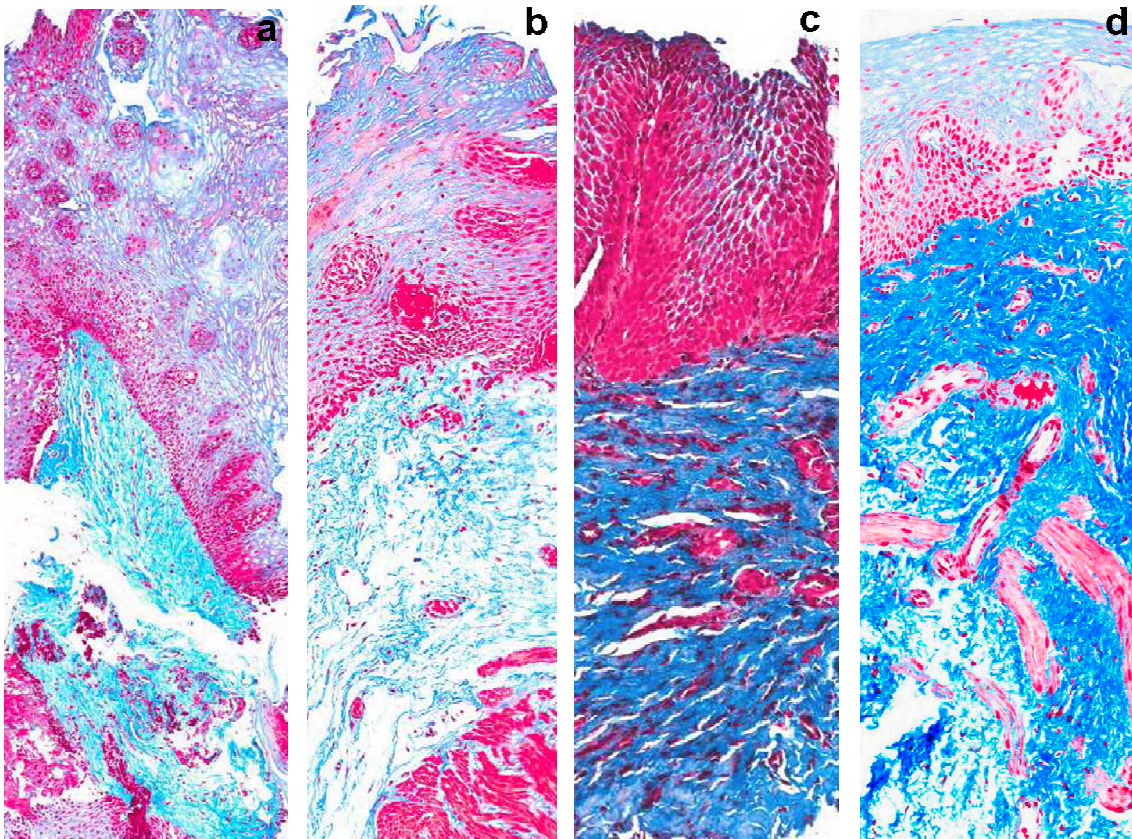


Figura 9. Preparaciones histológicas teñidas con Tricrómico de Masson (200x) de a) un paciente con esófago normal, b) un paciente con ERGE y c) un paciente con EE, antes y d) después del tratamiento con propionato de fluticasona.

En el área subepitelial de las biopsias de pacientes con EE se apreciaban áreas de baja celularidad, que se veía sustituida por una densa acumulación de fibras colágenas, llegando en algunos casos a tejido de aspecto esclerótico.

Mediante una valoración semicuantitativa del grado de fibrosis entre 0 y 3, se puntuó la intensidad del depósito de colágeno subepitelial en todos los casos y controles incluidos en este estudio. No se observaron diferencias significativas entre los tercios superior e inferior del esófago de los pacientes con EE pre tratamiento, que mostraban respectivamente un grado de 1,5 (DE 0,4) y 1,7 (DE 0,4) como se puede observar en la Tabla 4. La media de la fibrosis en pacientes con EE pre tratamiento fue 1,6 (DE 0,3). En los controles ERGE la

puntuación de fibrosis fue de 0,2 (DE 0,3) y en los controles normales de 0, habiendo sido estadísticamente significativa la diferencia entre la puntuación de fibrosis entre los pacientes con EE pre tratamiento y los controles ($p < 0,001$).

La Tabla 5 ofrece la representación de estos datos.

4. EXPRESIÓN GÉNICA DE CITOQUINAS.

4.1. IL-5:

No se demostró expresión génica de IL-5 en ninguno de los pacientes de ambos grupos de controles (Tabla 6). Sin embargo, todos los pacientes con EE mostraron una intensa expresión génica de IL-5, que con marcadas diferencias estadísticas respecto a ambos grupos de controles ($p < 0,001$).

4.2. TGF- β :

En todos los grupos de estudio se detectó expresión del gen de TGF- β , que fue notablemente mayor en el caso de los pacientes con EE (8.1 veces más que en pacientes con ERGE y 14,72 veces superior a la expresión basal en condiciones normales) (Tabla 6). Pese a estas diferencias, el valor p fue de 0,11.

4.3. CCL-18:

En condiciones normales y en la ERGE se detectó expresión génica de CCL-18. Los pacientes con EE mostraban un aumento significativo en la expresión de este gen ($p = 0,008$) sobre ambos grupos de controles. En los

pacientes con ERGE la expresión de CCL-18 fue 16,2 veces menor que en EE, y en condiciones normales fue 185 veces menor que en pacientes con EE (Tabla 6).

4.4. FGF-9:

Los pacientes con EE mostraron un significativo aumento ($p= 0,005$) de la expresión del gen de FGF-9 sobre la observada en ambos grupos de controles. En los pacientes con ERGE la expresión de TGF-9 fue 2,7 veces menor que en la EE y los pacientes normales fue 119,9 veces menor que en la EE (Tabla 6).

Tabla 6. Comparaciones de los niveles de citoquinas según grupo (pacientes con Esofagitis eosinofílica pre tratamiento, ERGE y normales)

Variable	EE	ERGE	Normal	p*
IL-5/Beta2	1,46 (3,07)	0	0	<0,001
TGF-b/Beta2	1,62 (2,48)	0,20 (0,17)	0,11 (0,17)	0,11
CCL18/Beta2	185,0 (258,6)	11,4 (21,9)	1,0 (0,9)	0,008
FGF9/Beta2	131,8 (175,0)	48,7 (56,9)	1,1 (1,6)	0,005

Resultados expresados como media (DE)

**Kruskal-Wallis*

5. CAMBIOS INDUCIDOS POR EL TRATAMIENTO ESTEROIDEO TÓPICO.

5.1. EVOLUCIÓN SINTOMÁTICA:

Durante el período de tratamiento con propionato de fluticasona ningún paciente presentó episodios de impactación alimentaria. En las sucesivas visitas a la consulta todos los pacientes refirieron encontrarse asintomáticos y sin

disfagia ni síntomas de reflujo. No se observaron candidiasis esofágica en ninguna de las endoscopias realizadas tras el período de tratamiento.

5.2. CAMBIOS EN LA DENSIDAD EOSINOFÍLICA:

Tras el tratamiento con propionato de fluticasona los pacientes con EE mostraron una reducción estadísticamente significativa en la densidad de eosinófilos intraepiteliales ($p < 0,005$) reduciéndose en casi 60 veces su densidad inicial.

La densidad de eosinófilos en la lámina propia también se redujo de manera estadísticamente significativa ($p < 0,008$). Estos datos se pueden observar en la Tabla 7 y en la Figura 10.

Tabla 7. Comparaciones en el número de eosinófilos intraepiteliales, eosinófilos en lámina propia (LP) y fibrosis antes y después del tratamiento en pacientes con Esofagitis eosinofílica (recuentos de eosinófilos como células/mm²).

Variable	Global		p	Tercio superior		p	Tercio Inferior		p
	Pre	Post		Pre	Post		Pre	Post	
Eosinófilos	308,0 (117,3)	5,4 (6,4)	0,005	277,5 (175,0)	3,5 (5,0)	0,005	338,6 (207,0)	7,4 (10,4)	0,005
Eosinófilos LP	67,8 (32,6)	7,2 (9,5)	0,008	71,8 (29,6)	1,7 (2,9)	0,005	64,5 (49,6)	12,5 (17,2)	0,008
Fibrosis	1,6 (0,3)	1,2 (0,5)	0,086	1,5 (0,4)	1,2 (0,7)	0,33	1,7 (0,4)	1,2 (0,6)	0,058

Resultados expresados como media (DE)

* Test de Wilcoxon

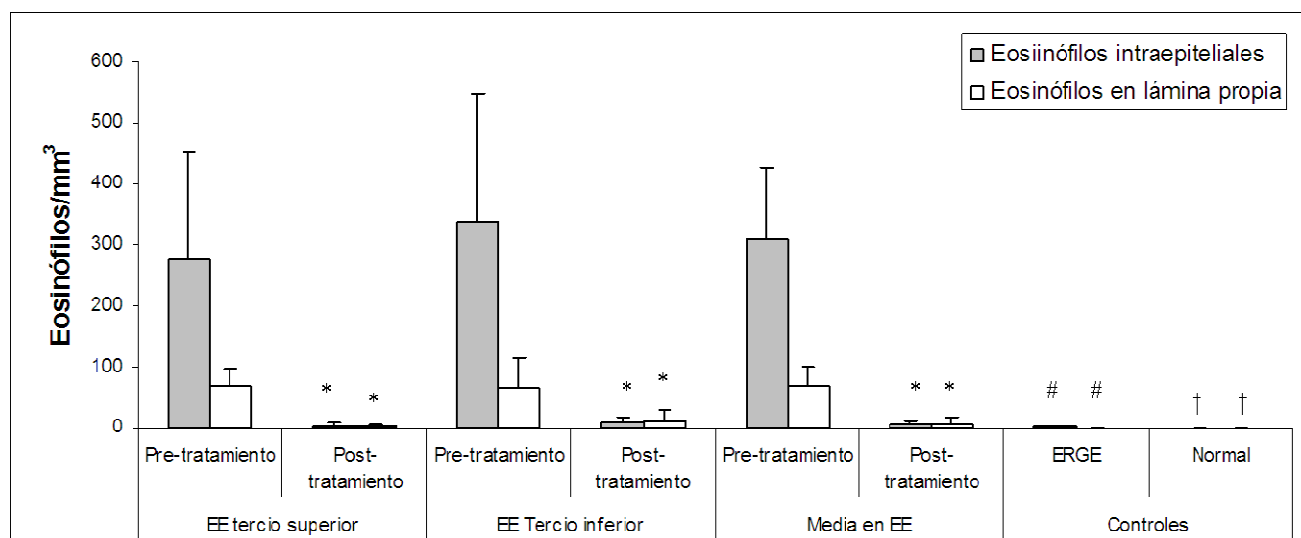


Figura 10. Densidad de eosinófilos/mm² pre y post tratamiento, en tercio superior e inferior, en lámina propia y en epitelio esofágico de pacientes con EE y en controles. “*” significa cambios estadísticamente significativos en la densidad del infiltrado eosinofílico en pacientes con EE inducidos por el tratamiento. “#” denota diferencias estadísticamente significativas entre la densidad de eosinófilos en EE y controles con ERGE. “†” denota diferencias estadísticamente significativas entre la densidad de eosinófilos en EE y sujetos normales.

5.3. CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN GÉNICA DE CITOQUINAS PROFIBROGÉNICAS:

El tratamiento prolongado con propionato de fluticasona condujo a una reducción relevante en la expresión génica de las 4 moléculas profibrogénicas estudiadas, aunque no alcanzó significación estadística ($p < 0,05$) más que para CCL-18 (Tabla 8). Sin embargo, la expresión génica de FGF-9, IL-5 y TGF- β también se redujo a menos de la mitad del nivel inicial.

En las figuras 11, 12, 13 y 14 se pueden observar la disminución de la expresión génica de estas citoquinas.

Tabla 8. Comparaciones de los niveles de citoquinas antes y después del tratamiento en pacientes con Esofagitis eosinofílica

Citocinas	Pre-tratamiento	Post-tratamiento	p*
IL-5/Beta2	1,46 (3,07)	0,47 (1,10)	0,26
TGF-b/Beta2	1,62 (2,48)	0,76 (1,01)	0,78
CCL18/Beta2	185,0 (258,6)	1,50 (2,17)	0,01
FGF9/Beta2	131,8 (175)	37,2 (66,3)	0,18

Resultados expresados como media (DE)

Test de Wilcoxon

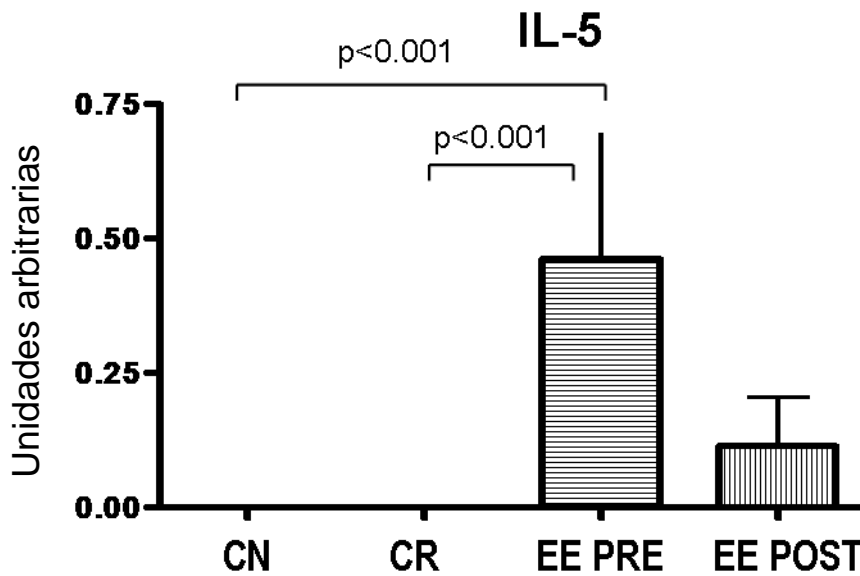


Figura 11: Expresión génica de IL-5. No se demostró expresión génica de IL-5 en ninguno de los pacientes de ambos grupos controles normales (CN) ni ERGE (CR). Los pacientes con EE mostraron un marcado aumento en la expresión génica de IL-5 pre-tratamiento. Tras el tratamiento, los pacientes con EE presentaron reducción en la expresión génica de IL-5 a un tercio de lo observado previo al tratamiento, aunque sin alcanzar significación estadística ($p = 0,26$).

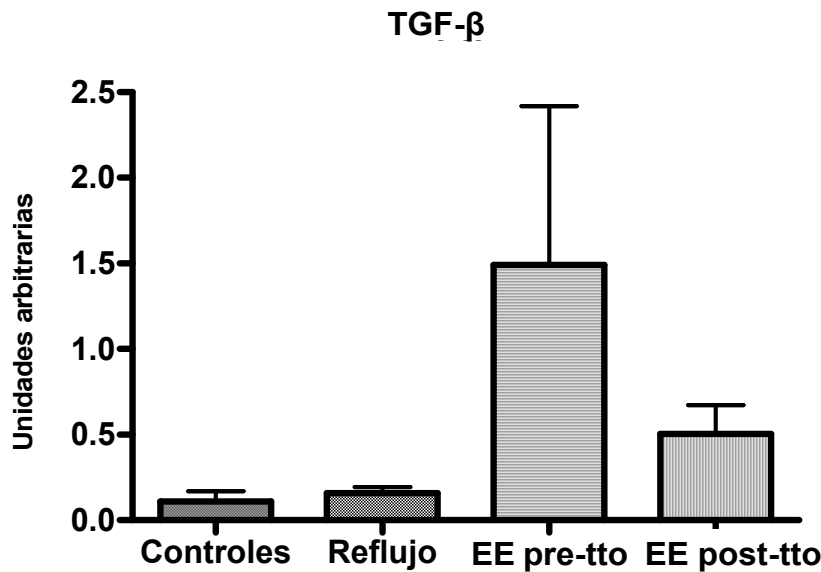


Figura 12: Expresión génica de TGF- β . El nivel basal de TGF- β en los controles normales se duplicó en el ERGE y que se multiplicó por 15 en los pacientes con EE, mostrando una sobreexpresión significativamente mayor ($p < 0,05$) que en los controles. La expresión de TGF- β también se redujo en más de la mitad tras el tratamiento, aunque no alcanzó significación estadística ($p = 0,78$).

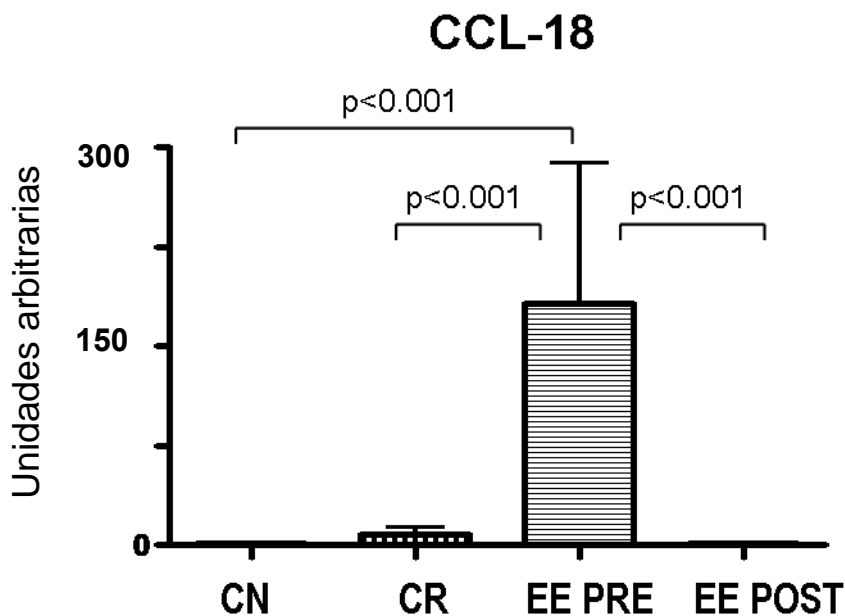


Figura 13: Expresión génica de CCL-18. Se demostró expresión génica de CCL-18 en cantidades mínimas en los pacientes de los grupos controles normales (CN) y ERGE (CR). Los pacientes con EE mostraron un marcado aumento en la expresión génica de CCL-18 pre-tratamiento, hasta 185 veces sobre el nivel de los controles normales. Tras el tratamiento, los pacientes con EE presentaron reducción estadísticamente significativa en la expresión génica de CCL-18 ($p < 0,05$).

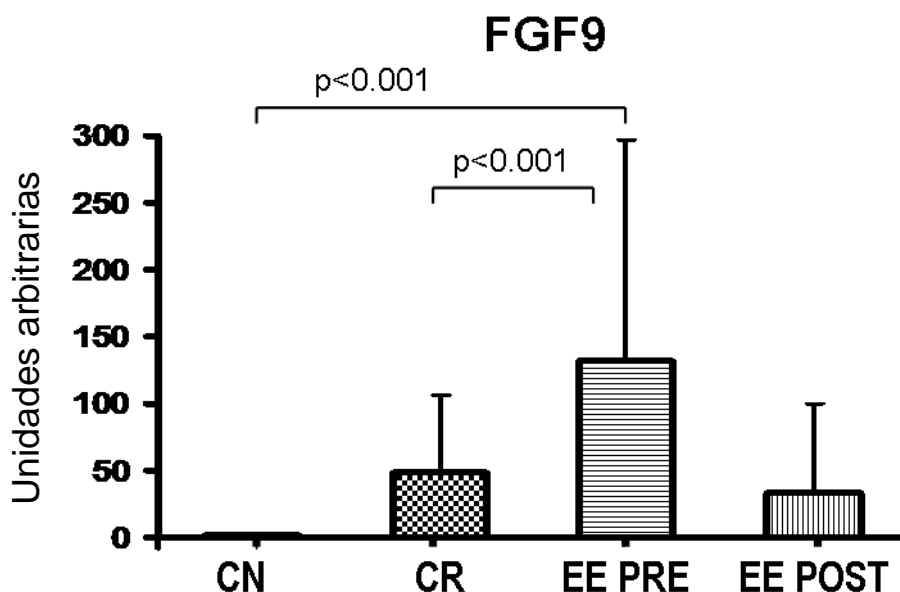


Figura 14: Expresión génica de FGF-9. Los pacientes con EE pretratamiento (PRE) mostraron un significativo aumento de la expresión del gen de FGF-9 en 120 veces sobre la expresión en controles normales (CN). Se observó una mayor expresión en el grupo de ERGE (CR) sin diferencias estadísticamente significativas respecto a los controles con esófago normal. El tratamiento disminuyó 3 veces la expresión génica de FGF-9, aunque sin diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,18$).

5.4. CAMBIOS EN EL DEPÓSITO DE COLÁGENO SUBEPITELIAL:

Pese a la resolución del infiltrado eosinofílico epitelial y en la lámina propia y a la reducción de la expresión génica de las citoquinas proinflamatorias, el tratamiento prolongado con esteroides tópicos se asoció con un discreto descenso en el depósito de colágeno subepitelial de los pacientes con EE, que no alcanzó una significación estadística, como se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Comparaciones antes y después del tratamiento en pacientes con Esofagitis eosinofílica respecto al depósito de colágeno subepitelial.

Variable	Global		p	Tercio superior		p	Tercio Inferior		P
	Pre	Post		Pre	Post		Pre	Post	
Eosinófilos	308,0 (117,3)	5,4 (6,4)	0,005	277,5 (175,0)	3,5 (5,0)	0,005	338,6 (207,0)	7,4 (10,4)	0,005
Eosinófilos LP	67,8 (32,6)	7,2 (9,5)	0,008	71,1 (29,6)	1,7 (2,9)	0,005	64,5 (49,6)	12,5 (17,2)	0,008
Fibrosis	1,6 (0,3)	1,2 (0,5)	0,086	1,5 (0,4)	1,2 (0,7)	0,33	1,7 (0,4)	1,2 (0,6)	0,058

Resultados expresados como media (DE)

* Test de Wilcoxon

5.5. CORRELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES ANALIZADAS EN PACIENTES CON EE:

Se observó una asociación positiva y significativa entre la edad de los pacientes y el grado de fibrosis subepitelial ($Rho = 0,71$; $p = 0,032$). La duración de los síntomas también se asoció de forma positiva con la fibrosis ($Rho = 0,18$ aunque sin llegar en este caso a la significación estadística ($p = 0,63$)). (Tabla 9).

Además, la edad se siguió asociando, a igual que la fibrosis inicial, de manera positiva a la fibrosis subepitelial esofágica al final del tratamiento.

Tabla 9. Matriz de correlaciones no paramétricas (Rho de Spearman) entre los niveles de citoquinas, edad, tiempo de evolución de los síntomas y grado de fibrosis en los pacientes con EE.

	Edad	Meses síntomas	IL-5/Beta2	Tgf-b/Beta2	CCL18/Beta2	FGF9/Beta2	FIB_pre	FIB_post
Edad	1							
Meses_sintomas	0,571 ,084	1						
IL-5/Beta2	-0,083 ,831	-0,333 ,381	1					
Tgf-b/Beta2	0,567 ,112	0,075 ,847	0,881** ,004	1				
CCL18/Beta2	0,333 ,381	-0,268 ,486	0,619 ,102	0,381 ,352	1			
FGF9/Beta2	0,533 ,139	0,285 ,458	0,762* ,028	0,567 ,112	0,810* ,015	1		
FIB_pre	0,711* ,032	0,185 ,634	-0,275 ,509	0,311 ,453	-0,012 ,978	-0,168 ,691	1	
FIB_post	0,414 ,235	0,251 ,485	-0,247 ,522	0,298 ,436	0,102 ,794	0,145 ,710	0,107 ,783	1

Resultado expresado como coeficiente de correlación (Rho) y significación estadística

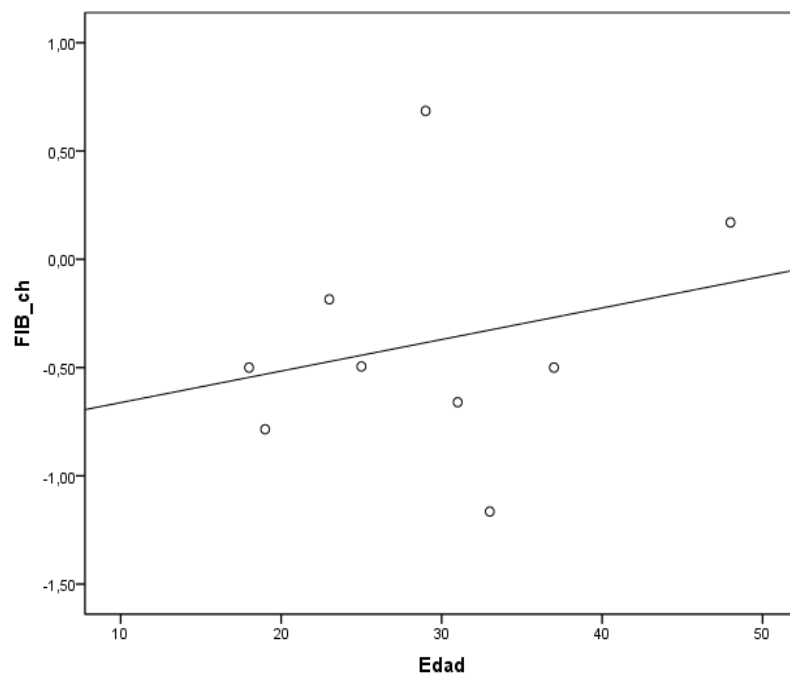


Figura 15. Diagrama de dispersión de los cambios observados en el grado de fibrosis en relación a la edad de los pacientes con esofagitis eosinofílica.

Se analizó la relación entre la densidad del infiltrado eosinofílico tisular y el grado de fibrosis: se observó una correlación positiva entre el grado de fibrosis subepitelial y la densidad de eosinófilos intrepiteliales ($r = 0,577$; $p = 0,104$) y en la lámina propia ($r = 0,117$; $p = 0,764$). La relación entre los eosinófilos de la lámina propia y la fibrosis fue mayor y significativa ($r = 0,741$; $p = 0,014$) tras el tratamiento.

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN:

En este trabajo hemos visto que la inflamación eosinofílica del esófago conduce a depósito de colágeno subepitelial que persiste pese al control de la inflamación y de la disminución de la expresión génica de las moléculas que la promueven.

Aunque se había descrito en la literatura la posibilidad de fenómenos de remodelación fibrosa esofágica como resultado de la inflamación eosinofílica crónica de este órgano^{49,175}, hasta fechas recientes no ha podido ser demostrado este depósito⁹⁸, en gran medida por carecer de las muestras histológicas adecuadas. La biopsia del epitelio esofágico realizada con los fórceps o pinzas endoscópicas de apertura frontal utilizados habitualmente para la toma de biopsias endoscópicas permiten solamente tomar muestras tangenciales a la superficie de la mucosa del esófago²⁰⁷, que incluyen tan solo epitelio. De este modo, el conocimiento de los cambios histopatológicos propios de la EE estaba restringido al estrato epitelial y no se había podido estudiar sistemáticamente la existencia de la sospechada fibrosis subepitelial

Mishra et al¹³⁹ mostraron por vez primera que el reclutamiento de eosinófilos al esófago estaba asociado con los fenómenos de remodelación tisular, al observar un importante acumulo de colágeno en el estrato subepitelial del esófago de ratones con EE inducida experimentalmente. En el mismo estudio, demostraban que IL-5 era necesaria para el acumulo de

colágeno esofágico y el engrosamiento de la capa basal inducidos por alérgenos, al menos en la EE experimental murina.

El primer trabajo que demostraba depósito del colágeno en pacientes con EE fue elaborado por S. Aveses *et al*⁹⁸, quienes analizaron todas las muestras de biopsias esofágicas registradas en el hospital pediátrico de San Diego (California, EE.UU.). Entre todas ellas se logró encontrar 7 casos de EE en niños cuyas muestras incluían representación de la lámina propia del esófago. Estas biopsias fueron comparadas con las muestras de otros 7 niños afectados por ERGE y con las de 7 niños más con esófago histológicamente normal. Los autores demostraron a través de una tinción para colágeno que el subepitelio de los pacientes con EE mostraba un depósito de colágeno significativamente mayor que el observado en ambos grupos de controles, valorado mediante estimaciones semicuantitativas. Si ya en pacientes pediátricos con EE, que presentan un curso clínico recortado, se podía intuir la fibrosis del subepitelio, la valoración de la existencia de esta fibrosis debía ser aún más importante en pacientes adultos, con mayor tiempo de evolución de la enfermedad.

Los fenómenos de remodelación fibrosa conducen a alteración de las propiedades elásticas de la pared de los órganos, y en el caso de la EE tiene importantes repercusiones a nivel clínico. Aunque no disponemos de muchos datos sobre la historia natural de la EE, se acepta que la enfermedad es crónica y la inflamación eosinofílica del órgano persiste a lo largo del tiempo, aún

cuando los síntomas son intermitentes. Los pacientes seguidos durante largos periodos⁴⁹ tienden a mostrar un empeoramiento de sus síntomas y una peor respuesta a los tratamientos en caso con el paso del tiempo, lo que representaría un efecto de la fibrosis mantenida.

Diversos estudios han utilizando esteroides tópicos como la fluticasona y budesonida para tratar a los pacientes con EE. En el caso de los niños con EE, los esteroides tópicos han demostrado ser capaces de alcanzar la resolución total en la inflamación epitelial, con mejoría de los síntomas en un 50-80% de los casos¹¹⁴. Estos datos son de menor eficacia a los comunicados en pacientes adultos, probablemente por la mala adaptación de los niños a los dispositivos de inhalación en los que se comercializan estos fármacos. Además de resolver el infiltrado inflamatorio epitelial esofágico, tanto en niños como en adultos, el propionato de fluticasona ha resultado eficaz para reducir la expresión de citoquinas proinflamatorias responsables de la EE en muestras epiteliales respecto a la situación basal^{45,95,129,130}.

Normalmente, los estudios realizados hasta ahora en EE utilizan la resolución del infiltrado inflamatorio eosinofílico epitelial tanto para el diagnóstico como para valorar la respuesta terapéutica, sin tener en cuenta la resolución o no de la remodelación y del número de eosinófilos en las capas más profundas del órgano, con toda seguridad debido a las limitaciones

técnicas en obtener el material adecuado en las muestras de biopsia endoscópica, como se ha comentado previamente.

Aceves *et al* publicaron en 2009 un trabajo donde se plantea por primera vez la posibilidad de que la remodelación subepitelial en la EE pudiera ser reversible tras la administración de corticoides tópicos orales, y si este hecho se correlacionaría con el descenso del número de eosinófilos intraepiteliales¹¹⁴. Hipotetizaban que los sujetos con EE que demostraron una resolución de la eosinofilia epitelial tras tratamiento con corticoides tópicos podrían, con más probabilidad, tener resolución de la remodelación de la lámina propia que aquellos otros que no demostraron resolución de la inflamación epitelial eosinofílica. La limitación de este estudio radica en el hecho de que representación de la lámina propia no pudo ser obtenida en todas las muestras de biopsias, una condición que habría sido muy importante para determinar qué cambios en el epitelio conducirán a la resolución de la fibrosis y la inflamación en lámina propia.

Estos autores cuantificaron el grado de remodelación en la lámina propia del esófago y la expresión de TGF- β 1 en biopsias obtenidas antes y después del tratamiento durante por lo menos 1 mes con budesonida 1 mg/día en 16 pacientes pediátricos con EE. Estratificaron a los pacientes en grupos de respondedores o no respondedores según la reducción en el número de eosinófilos epiteliales/HPF tras el tratamiento. Como resultado encontraron

que el tratamiento con budesonida tópica deglutida disminuyó la severidad de la remodelación esofágica (fibrosis de la lámina propia y activación vascular, clasificadas según el mismo *score* de fibrosis utilizado en su estudio previo) y de mediadores profibróticos (TGF- β 1 y pSmad2/3, la molécula a través de la que TGF- β ejerce sus efectos biológicos) en pacientes pediátricos con EE que demostraron resolución de eosinofilia epitelial. Sin embargo, aquellos pacientes sin respuesta epitelial a la terapia con corticoides no mostraron cambios en la remodelación de la lámina propia. Además, observaron que los eosinófilos subepiteliales en la lámina propia mostraban una respuesta similar al patrón de los eosinófilos epiteliales: en los respondedores tenían un descenso significativo que no se observó en los no respondedores¹¹⁴.

Cabe destacar que en este estudio, igual que en el anterior de este mismo grupo de 2007⁹⁸, las muestras de los pacientes con EE fueron obtenidas de manera retrospectiva, considerando aquellas biopsias de EE (pre y post tratamiento) que incluían lámina propia y que consideraron adecuadas para su análisis. Además, tras el tratamiento con corticoides tópicos, en no todos los pacientes disminuyó la inflamación, persistiendo la fibrosis en casos en los que no persistía la eosinofilia epitelial. Esto sugiere la idea de la existencia de otras posibles vías relacionadas con el mantenimiento de la fibrosis que no han sido hasta ahora exploradas.

Por otra parte, los trabajos del grupo de Aceves descritos hasta ahora se desarrollan en series de pacientes pediátricos con EE, en los que probablemente el menor tiempo de evolución de la enfermedad tenga un menor efecto sobre la fibrosis que el presumible en adultos, los cuales presentan habitualmente síntomas por periodos más prolongados (más de 5 años de media en nuestro estudio), con los que los fenómenos profibrogénicos podrían actuar durante varios años antes de que se llegue al diagnóstico de la EE.

En series pediátricas, el tiempo de evolución de los síntomas no parece influir en los marcadores de remodelación esofágica⁹⁸ y no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la duración de los síntomas antes del diagnóstico y la respuesta al tratamiento¹¹⁴. En cambio, en nuestro estudio hemos podido observar claramente que la edad sí se correlaciona de forma positiva y significativa con un mayor grado de fibrosis; igualmente, la duración de los síntomas también se asoció positivamente con el grado de fibrosis, sin bien en este caso no se encontró una asociación estadísticamente significativa ($p = 0,63$), posiblemente por la limitación del tamaño muestral.

Se dispone de muy pocos datos sobre la historia natural de la EE, para la que se acepta un curso crónico, en el que lo común es la persistencia del infiltrado inflamatorio con síntomas constantes o intermitentes. Sin embargo, en la literatura se han descrito casos pediátricos sensibilizados a inhalantes estacionales que evolucionaban de manera independiente a cualquier

intervención terapéutica realizada, pudiendo la enfermedad resolverse espontáneamente, al menos durante un tiempo limitado. Se ha descrito también la recidiva de la inflamación tras la resolución temporal de la inflamación⁵¹. Konikoff *et al* realizaron un estudio doble ciego en el que una serie de niños con EE fueron aleatorizados para recibir tratamiento con propionato de fluticasona o con placebo, observando que estos últimos podían presentar remisión histológica espontánea y mejoría clínica durante los 3 meses que duró el estudio⁵¹.

Otro estudio sobre remodelación fibrosa en EE ha sido recientemente publicado¹⁷⁴: Los autores analizaron de manera retrospectiva muestras de biopsia esofágica de 17 pacientes pediátricos con diagnóstico de EE que contenían una porción de lámina propia, antes y después de tratamiento, 17 de pacientes con ERGE y 19 muestras de esófago considerado normal. Se evalúan el número de eosinófilos epiteliales y la presencia de fibrosis subepitelial en muestras teñidas con HE y tricómico de Masson. Se encontró un número significativamente mayor de eosinófilos y de fibrosis en los pacientes con EE respecto a los con ERGE y normales ($p = 0,0001$). Además, en los pacientes con EE, tras el tratamiento con corticoides orales y dieta, se observó un descenso tanto en el número de eosinófilos ($p < 0,05$) como en el grado de fibrosis ($p < 0,05$), además de mejoría clínica. Pese a estos resultados, el estudio posee diversas limitaciones, entre las que destacan: 1) la dudosa calidad de las muestras observadas retrospectivamente, 2) la ausencia de control histológico

tras tratamiento en 3 de los 17 pacientes diagnosticados de EE, pues sólo en 14 se realizó endoscopia post tratamiento, 3) el amplio rango en el tiempo de tratamiento entre los pacientes (duración entre 18,5 +/- 13,9 semanas) y 4) el tratamiento heterogéneo, donde 11/14 de los pacientes con EE recibieron tratamiento con fluticasona tópica a dosis variables entre 44 a 220 µg/puff, 2/14 fueron tratados con eliminación antigénica en la dieta y 1/14 con IBP. Las conclusiones del estudio afirman que tanto el tratamiento con corticoides como la dieta de eliminación conducen a la reducción del número de eosinófilos y de la fibrosis, pero sólo uno de los casos no tratados con corticoides muestra reducción de la fibrosis, un hecho que pone en cuestión las conclusiones de este trabajo.

Nuestro estudio es el primero que valora la fibrosis en pacientes adultos con EE. Además es el primero realizado de manera prospectiva y posee como ventaja el hecho de realizar la recogida de biopsias esofágicas con una pinza de apertura lateral que garantiza la obtención de material histológico en mayor cantidad y calidad, con la presencia tanto de epitelio y lámina propia, como otros tejidos subepiteliales (muscular de la mucosa). Por este motivo, consideramos que es perfectamente apropiado para el análisis de la remodelación. La fibrosis se cuantificó en las muestras previa tinción con tricrómico de Masson.

Hemos desarrollado una escala de fibrosis donde se clasifica su grado en base, no únicamente en la presencia o no de colágeno, como en estudios previos¹⁰⁴ sino también a otros hallazgos, que valoramos mediante una escala semicuantitativa con valores entre 0 y 3, atendiendo a los siguientes aspectos: la presencia en las áreas subepiteliales de haces gruesos de colágeno, la compactación de dichos haces y la pérdida de celularidad en las áreas fibrosas (esclerosis).

La valoración de los mecanismos moleculares inherentes a la remodelación fibrosa se realizó determinando los cambios de la expresión génica de TGF- β , CCL-18, FGF-9 e IL-5, aportando esta información al estudio previo de Aceves *et al*⁹⁸ quienes sólo valoraron mediante inmunohistoquímica la expresión de un único mediador promotor de la fibrosis. Aunque la expresión de TGF- β y de IL-5 se habían relacionado previamente con la remodelación en la EE, otras moléculas implicadas en fenómenos de remodelación fibrosa no habían sido estudiadas directamente hasta la fecha, como son CCL-18 y FGF-9, que incluimos en nuestro estudio y podemos confirmar su participación en los procesos fibrosos que acontecen en esta enfermedad.

En concordancia con estudios previos^{41,58}, hemos encontrado que nuestros pacientes son predominantemente varones (9 hombres y una mujer), con edades comprendidas entre los 18 y 48 años (media de 29,9). El 90% de los

pacientes mostraban historia personal de atopia. El tiempo medio de evolución de los síntomas hasta la obtención de la primera muestra con histología compatible con EE fue de 5,2 años (rango de 5 meses a 20 años), con curso intermitente en todos los casos, similar a lo descrito por Straumann *et al* en su serie de casos en 1994, donde observaron un tiempo medio de 4,3 años (rango de 1 a 13 años) de retraso hasta llegar al diagnóstico³⁵.

Hemos tratado nuestros pacientes con propionato de fluticasona en solución líquida de forma deglutida, a dosis de 400 µg dos veces al día, durante un periodo mínimo de 11 meses, con una media de 12 meses (rango 11 a 14 meses), un tiempo ampliamente superior a los de los estudios previos, por lo que la diferencia encontrada en los resultados de la fibrosis mantenida post tratamiento difícilmente se explicarían por un tiempo de tratamiento insuficiente. De este modo, hemos tratado de garantizar que existía tiempo suficiente para que los cambios inflamatorios producidos por el tratamiento tuvieran efecto sobre la remodelación fibrosa del esófago, garantizando al mismo tiempo, que si este depósito de colágeno fuera reversible, a lo largo de un año se podría haber observado su remisión. Todos los pacientes de nuestra serie presentaron mejoría clínica tras el tratamiento con esteroides tópicos, y se pudo observar un descenso no significativo en la remodelación fibrosa subepitelial, por lo que, a partir de nuestros resultados, no podemos admitir la reversibilidad de los cambios subepiteliales en la EE, como estudios previos han sugerido. Al contrario, resulta llamativa la persistencia de fibrosis en los

pacientes con EE tras el tratamiento prolongado, en grado significativamente mayor al existente en condiciones normales, confirmando que estos fenómenos de remodelado en el esófago consecuencia de la inflamación eosinofílica crónica se comportan de modo análogo a como han mostrado diversos estudios ocurren en la inflamación crónica eosinofílica propia del asma bronquial.

Todos los pacientes de nuestra serie presentaron mejoría clínica tras el tratamiento con esteroides tópicos.

Respecto a los hallazgos endoscópicos de nuestros pacientes, antes del tratamiento el 90% presentaban al menos una alteración endoscópica, aunque cabe destacar que nueve de nuestros pacientes presentaban esófago de calibre normal, apareciendo ligeramente reducido de calibre el caso restante. No se observaron estenosis que impidieran el avance del endoscopio en ninguno de nuestros pacientes. Las estenosis esofágicas son una complicación frecuente en tanto en niños como en adultos con EE, llegando a estar presente en más de la mitad de los pacientes en algunas series²⁰⁷. En algunos casos las estenosis revierten tras el tratamiento, por lo que podrían tratarse de verdaderas contracturas de la musculatura lisa esofágica (aquella que constituye los dos tercios distales del órgano), que revierten tras el control de la inflamación^{48,90}. Sin embargo, también aunque se han observados casos refractarios²⁰⁵, sin predilección por ningún tercio esofágico. Se ha especulado que el riesgo de estenosis puede ser mucho menor en niños que en adultos, habiéndose

observado en tan solo el 6% de los pacientes en algunas series³⁹, lo que contrasta con los hallazgos encontrados por Aceves *et al* en su serie pediátrica⁹⁸, donde 5 de los 7 niños evaluados presentaban estenosis esofágica. Estos datos cuestionan la teoría propugnada por algunos autores según la cual la mayor severidad inflamatoria condicionaría peor evolución clínica, pues ésta no se asocia únicamente con el tiempo de evolución de la enfermedad sino que comprendería también la implicación de múltiples fenómenos tanto individuales como ambientales⁴⁹.

En el análisis histológico de los pacientes con adultos con EE hemos observado un aumento del número de eosinófilos intraepiteliales y en lámina propia esofágica, hallazgos ya descritos en niños con esta enfermedad⁹⁸. En algunos casos de ERGE mostraron un mínimo infiltrado eosinofílico limitado exclusivamente al espesor del epitelio mientras que no se observaron eosinófilos dentro de la lámina propia en ningunos de los controles, lo que nos hace pensar que el hallazgo de eosinófilos en la lámina propia esofágica podría ser un hallazgo específico de la EE.

Hemos observado en nuestro estudio, por primera vez, que los pacientes adultos con EE presentaban un depósito de colágeno en la lámina propia del esófago significativamente mayor al encontrado en condiciones normales y en los pacientes con ERGE, hallazgos similares a los descritos en niños con EE^{98,114} y en modelos murinos experimentales de EE¹³⁹.

En la sección de introducción ha quedado expuesto como IL-5 actúa integralmente regulando la biología del eosinófilo, y además promoviendo la fibrosis, por lo que puede ser considerada una citoquina profibrogénica. Los únicos trabajos que habían explorado esta última función de IL-5 se habían limitado a un modelo murino experimental de EE¹³⁹, pero no habían sido valorados en humanos hasta la fecha en relación con la fibrosis. En nuestro estudio hemos encontrado que todos los pacientes con EE de nuestra serie previo al tratamiento, mostraron un marcado aumento en la expresión génica de IL-5 en comparación con los controles ($p < 0,001$), 1,46 veces superior al nivel de expresión del gen constitutivo de la $\beta 2$ -microglobulina, con una amplia variabilidad interindividual, no habiéndose demostrado expresión génica de IL-5 en ninguno de los sujetos de ambos grupos controles.

El epitelio esofágico de los niños con EE presenta expresión de TGF- β junto con MBP como signo de activación eosinofílica, demostrada mediante inmunofluorescencia⁹⁸. La única citoquina estudiada hasta ahora como promotora de remodelación fibrosa en humanos ha sido TGF- β , cuya expresión se demuestra en la EE pediátrica junto con Smad 2/3, la molécula mediante la que ejerce sus efectos biológicos. Los niños con EE muestran expresión de estas moléculas significativamente mayor que los controles. TGF- β promueve la migración y proliferación de los fibroblastos, el incremento de la síntesis de colágeno y la disminución de la degradación de la matriz extracelular, y ha sido

en diversas enfermedades fibrosantes crónicas²⁷. Un trabajo reciente¹⁷³ ha demostrado una reducción significativa de la expresión de células positivas para TGF- β y Smad2/3 tras 3 meses de tratamiento con budesonida deglutida en pacientes pediátricos con EE, aunque se valoraban células positivas para TGF- β y no la fibrosis real observada histológicamente con tinción tricrómico de Masson, tal como hemos comentado previamente. En nuestro estudio, hemos podido demostrar que los pacientes con EE expresan TGF- β en mayor grado que la encontrada en los controles (8,1 veces más que en pacientes con ERGE y 14,72 veces superior a los pacientes normales). Sin embargo, estas variaciones en la expresión génica de esta citoquina no alcanzaron significación estadística, un hecho que se podría explicar tanto por el pequeño tamaño muestral, como también por la amplia variabilidad interindividual observada en los niveles de expresión génica de los pacientes de nuestra muestra. En todo caso, resulta llamativa la importancia conferida a TGF- β en el origen de la remodelación fibrosa de la EE, pues los estudios pediátricos previos^{98,114,174} con un tamaño muestral similar o inferior al de nuestro trabajo, que valoraban la expresión de TGF- β mediante tinciones de inmunohistoquímica, han mostrado diferencias marcadas entre los niños con EE, ERGE y normales. Creemos que son necesarios más estudios, en especial centrados en las modificaciones posttransduccionales en la expresión del gen de TGF- β , para aclarar estas curiosas diferencias. Este énfasis en el potencial efectos de TGF- β contrasta con el poco interés por explorar el efecto de otras citoquinas profibrogénicas en la fisiopatología de la remodelación fibrosa asociada a la EE. Así, en nuestro

estudio hemos analizado también la expresión génica y los cambios de dos citoquinas hasta ahora no estudiadas en la EE: FGF-9, una molécula principalmente implicada en fenómenos de reparación tisular en respuesta al daño y regulada por MBP derivada de los eosinófilos, y CCL-18, una molécula de descripción reciente, con efectos crecientemente reconocidos en la fibrosis asociada a la inflamación bronquial.

La CCL-18 es una quimiocina que se ha relacionado con la dermatitis atópica²⁰⁹ y con el estímulo de la síntesis de colágeno por los fibroblastos pulmonares, estando implicado en el acumulo de este colágeno y en la fibrosis pulmonar a través de un mecanismo dependiente de TGF- β 1¹⁵⁵. Aunque la CCL-18 se ha relacionado además con otras enfermedades fibrosantes como la esclerodermia, se desconoce cual podría ser su papel en las enfermedades esofágicas. En nuestro estudio, hemos encontrado que esta citoquina se expresaba tanto en pacientes con EE, como en ambos grupos controles (en estos con un nivel muy reducido); así, en las pacientes con EE la expresión génica de CCL-18 estaba incrementada 185 veces respecto a lo encontrado en condiciones normales y 16 veces respecto a lo encontrado en la ERGE, con una diferencia estadísticamente significativa respecto a los controles ($p < 0,008$).

El factor de crecimiento de fibroblastos-9 (FGF-9) es una citocina profibrogénica cuyo papel en la lámina propia del esófago y en la patogénesis de la EE no había sido analizada anteriormente en otros trabajos publicados. Hemos encontrado que los pacientes con EE mostraron un aumento

significativo de la expresión del gen de FGF-9 ($p < 0,005$) en 120 veces por encima la expresión en los grupos controles normales y 2,7 veces la expresión en los ERGE. Además se observó una mayor expresión de este gen en el grupo de ERGE respecto a los controles normales, aunque sin diferencias estadísticamente significativas respecto a este, lo que nos plantea la posibilidad de que este gen pudiera estar sobreexpresado en la inflamación y reparación tisular crónica que ocurre en la ERGE, hecho que también podría ocurrir con la expresión del TGF- β (dos veces más expresado en el ERGE que en los controles normales) y con e CCL-18 (10 veces más expresado en el ERGE que en normales), aunque haría falta posiblemente muestra de mayor tamaño para avalar esta teoría. En todo caso, observamos como los fenómenos de remodelación esofágica que describimos en la EE responderían a los mecanismos moleculares que regulan la inflamación y posterior reparación tisular, donde distintas moléculas interactuarían sobre los fibroblastos para la reparación de las lesiones producidas por la respuesta inflamatoria en los tejidos. Estos mecanismos son complejos y pueden mostrar diferencias en relación con el tipo de tejido, con la cronicidad del infiltrado inflamatorio de base y con el tipo de respuesta celular que específicamente participa en esta inflamación.

Aún con patrones de expresión similares, hemos observado que nuestros pacientes presentan amplias variaciones interindividuales en los niveles de expresión de citoquinas proinflamatorias, y podríamos aventurar que

también lo harán en las citoquinas antiinflamatorias, dando lugar a resultados variables en el grado de fibrosis. Aún está por determinar si la EE es una única enfermedad homogénea, o si más bien es el resultado heterogéneo de distintas formas de activación de la respuesta inflamatoria. Distintos datos, como las amplias variaciones clínicas, de respuesta a los tratamientos o de expresión de citoquinas que presentan los pacientes sugieren que podrían existir distintas formas de EE, que también podrían expresarse con diferentes mecanismos de remodelación tisular. Estas teorías deberán ser exploradas en distintos estudios.

Tras recibir tratamiento con propionato de fluticasona se observó una reducción en la expresión génica de las 4 moléculas profibrogénicas estudiadas que alcanzó significación estadística ($p= 0,01$) en el caso de la CCL-18. La expresión de TGF- β , FGF-9 y de IL-5 también se redujo aunque no alcanzaron significación estadística, probablemente por el pequeño tamaño muestral. Sin embargo, no podemos descartar otras causas, como la presencia de otros factores que influirían en la expresión génica de estas citoquinas que limitarían la respuesta a esteroides, variables mecanismos moleculares aún no explorados, o variabilidad en la respuesta interindividual. Serían necesarios nuevos estudios, como se ha expresado antes, con poblaciones amplias para dilucidar estas cuestiones.

En nuestro estudio, el tratamiento con esteroides tópicos fue eficaz para reducir la densidad de eosinófilos en el esófago de pacientes con EE a niveles cercanos a los observados en los controles.

El tratamiento con esteroides tópicos fue eficaz para reducir la densidad de eosinófilos en el esófago de pacientes con EE a niveles cercanos a los observados en los controles. Sin embargo, pese a la resolución del infiltrado eosinofílico epitelial y en la lámina propia, y a la reducción en la expresión génica de las citoquinas proinflamatorias, el tratamiento prolongado con esteroides tópicos no se asoció a cambios significativos en el depósito de colágeno subepitelial de los pacientes con EE. Nuestros resultados son similares a algunos realizados en pacientes con asma bronquial tratados con corticoides^{147, 168} y contrastan con el obtenido en los dos estudios previos realizados en pacientes pediátricos con EE^{114,174}, donde sus autores sí hallaron una disminución en la fibrosis subepitelial tras tratamiento corticoideo, que a su vez son similares a otros estudios en el asma donde sí el tratamiento corticoideo inhibe la remodelación de la vía aérea^{165,167}.

Los corticoides son fármacos muy efectivos para reducir la inflamación, incluyendo la infiltración eosinofílica y han demostrado su eficacia en inducir tanto la mejoría clínica como la mejoría histológica epitelial en varios estudios previos en EE y en el asma bronquial. La dificultad técnica en ambas enfermedades para valorar capas más profundas (en el asma por la dificultad

de adquirir muestras profundas de los bronquios más distales y en la EE por las limitaciones en la profundidad de las biopsias hasta ahora) probablemente se relacione con los resultados contradictorios y los limitados conocimientos de los que disponemos. En los estudios sobre fibrosis asociada al asma bronquial, el efecto de los corticoides sobre la remodelación de la pared de la vía aérea está muy influido por el tiempo y la dosis de tratamiento; de ellos depende en gran medida el poder observar cambios en el depósito de colágeno. En nuestro estudio, hemos empleado dosis de propionato de fluticasona de 400 µg dos veces al día (similar a la empleada en los estudios desarrollados en pacientes adultos²¹⁰), con la ventaja añadida de haber empleado una solución líquida deglutida, comercialmente disponible para tratamiento de rinitis alérgicas y sinusitis. Este preparado evita las dificultades inherentes a la administración mediante sistemas para inhalación que limitaba la eficacia del tratamiento en todos los casos, garantizando una correcta cobertura de la superficie mucosa con dosis adecuadas. Hemos superado los periodos habituales de tratamiento referidos en todos los estudios desarrollados hasta ahora, y específicamente la duración del tratamiento en los 2 estudios específicos sobre fibrosis desarrollados en niños. Creemos que todos estos hechos dan solidez a nuestros resultados.

En otro orden de cosas, nuestro estudio ha mostrado una asociación positiva entre la edad, el tiempo de evolución de los síntomas y grado de fibrosis pre y post tratamiento en los pacientes con EE. Además, los cambios

producidos con el tratamiento sobre el depósito de colágeno fueron muy limitados. Estos resultados contrastan con los de los estudios realizados en población pediátrica, en los que no se observó relación entre duración de síntomas y grado de fibrosis, y en los que se aventuraba la resolución de la fibrosis. Sin embargo, una hipótesis a considerar sería que la remodelación esofágica inicialmente podría ser reversible con el tratamiento corticoideo tópico en pacientes pediátricos con EE; con el paso de los años, en pacientes adultos con EE este depósito se podría hacer irreversible al tratamiento. La refutación de esta hipótesis exigiría estudios de seguimiento a largo plazo con muestras de biopsias apropiadas de pacientes seguidos durante periodos prolongados de tiempo.

Nuestro trabajo mostró una correlación positiva entre la densidad del infiltrado eosinofílico epitelial y en lámina propia y el grado de fibrosis subepitelial. Teniendo en cuenta que los eosinófilos constituyen la principal fuente de citoquinas con efecto profibrogénico, como TGF- β y CCL-18, estos resultados parecen verosímiles y verifican en los pacientes adultos con EE los hallazgos descritos hasta ahora en la forma infantil de la enfermedad¹¹⁴.

Una limitación de nuestro estudio podría ser el pequeño tamaño muestral, que tal vez hubiera condicionado no detectar más diferencias significativas al margen de las observadas. La amplia variabilidad en la expresión génica de citoquinas que mostraron nuestros pacientes nos hubiera

impedido alcanzar significación estadística para algunas observaciones, e incluso mostrar distintos patrones de expresión que hubieran soportado nuestra hipótesis de la existencia de diferentes tipos de EE. Haber dispuesto de estas muestras, y poder haber analizado la expresión de otras moléculas antifibrogénicas también relacionadas con la remodelación fibrosa en otras patologías, como $\text{TNF}\alpha$, $\text{IFN}\gamma$, y fibronectina, podría haber resuelto estas cuestiones.

Consideramos que nuestro trabajo aporta datos muy relevantes y hasta ahora no estudiados sobre la evolución y la biología molecular de la EE. Además, genera nuevas cuestiones y abre nuevas posibilidades de estudio en el conocimiento de las bases moleculares y la historia natural de esta interesante y novedosa enfermedad.

CONCLUSIONES

Mediante este estudio hemos dado respuesta a las cuestiones que se habían planteado entre los objetivos del estudio:

1) Cuantificar el depósito fibroso en la lámina propia del esófago de los pacientes adultos con EE y determinar el nivel de expresión génica de citoquinas profibrogénicas.

1.1. Los pacientes con EE presentan un depósito de colágeno en la lámina propia del esófago significativamente mayor al encontrado en condiciones normales y en los pacientes con ERGE.

1.2. Este depósito parece aumentar con la edad de los pacientes y el tiempo de evolución de los síntomas.

1.3. Los pacientes adultos con EE presentan unos niveles de expresión génica de citoquinas proinflamatorias significativamente más altos que los que se observaron en ambos grupos de controles.

2) Valorar los cambios inducidos por el tratamiento tópico prolongado con propionato de fluticasona sobre el depósito de colágeno en el subepitelio y sobre la expresión génica de las citoquinas profibrogénicas en los pacientes con EE.

2.1. El tratamiento antiinflamatorio prolongado con propionato de fluticasona tópica reduce de manera significativa el número de eosinófilos intraepiteliales y de eosinófilos en la lámina propia de pacientes adultos con EE.

2.2. El tratamiento antiinflamatorio prolongado con propionato de fluticasona tópica no reduce de manera significativa el depósito de colágeno subepitelial en la lámina propia de pacientes adultos con EE.

2.3. El tratamiento prolongado con propionato de fluticasona tópico redujo la expresión génica de todas las citocinas profibrogénicas estudiadas, si bien sólo la expresión de CCL18 alcanzó significación estadística.

3) Definir las posibilidades de remisión de los fenómenos de remodelación de la pared esofágica en los pacientes adultos con EE.

3.1. El tratamiento con esteroides tópicos es eficaz para reducir la densidad de eosinófilos en el esófago de pacientes adultos con EE a niveles cercanos a los observados en los controles.

3.2. El tratamiento esteroideo tópico mantenido es capaz de revertir el efecto de las citocinas profibrogénicas, conduciendo a una detención o

a una ligera mejoría en el grado de fibrosis subepitelial en pacientes adultos con EE, aunque sin resolución completa de la misma.

- 4) Contribuir al conocimiento sobre la historia natural de la EE, aportando datos sobre la posible evolución de la enfermedad a largo plazo, y sus consiguientes implicaciones clínicas y terapéuticas.**

4.1. La remodelación fibrosa del esófago parece ser un fenómeno progresivo en el tiempo; su intensidad depende del grado de inflamación eosinofílica y de la edad del paciente.

4.2. Al igual que se ha observado en el asma bronquial, el depósito de colágeno subepitelial en la EE en pacientes adultos persiste en el tiempo, a pesar de los efectos del tratamiento esteroideo sobre la expresión génica de moléculas profibrogénicas.

RESUMEN

RESUMEN

La Esofagitis Eosinofílica (EE) es un trastorno inflamatorio crónico, de reciente descripción, con naturaleza inmunoalérgica, que se caracteriza por una densa infiltración del epitelio esofágico rica en eosinófilos. Diversos factores se han asociado a la patogénesis de la EE, entre ellos una respuesta inmunológica de tipo Th2 desencadenada tras la exposición a alérgenos alimentarios o ambientales, similar a la encontrada en el asma bronquial. Esta respuesta inflamatoria resultaría en una inflamación eosinofílica con liberación de contenido citotóxico de los gránulos citoplasmáticos de estas células, entre ellos la proteína mayor básica (MBP), con un subsiguiente daño epitelial y respuesta proliferativa.

El tratamiento con corticoides tópicos orales en pacientes con EE se ha demostrado eficaz para resolver el infiltrado eosinofílico y mejorar las alteraciones histológicas epiteliales, en paralelo con la resolución de los síntomas, de manera similar a como ocurre en el asma bronquial.

El asma se caracteriza por la presencia de un aumento de células inflamatorias en la vía aérea, particularmente de eosinófilos y linfocitos Th2. Además, la vía aérea de los pacientes con asma presenta distintos niveles de cambios estructurales que dan lugar al fenómeno denominado remodelación tisular. Estos cambios estructurales incluyen fibrosis subepitelial, hipertrofia e hiperplasia de músculo liso, metaplasia de células epiteliales mucosas y

aumento de la angiogénesis. Todos estos fenómenos producirían un empeoramiento de la función respiratoria.

La remodelación subepitelial ha sido descrita recientemente en la EE, con una importante repercusión clínica debido a que esto podría asociarse con síntomas de disfagia y llevar a estenosis y alteraciones motoras esofágicas persistentes, condicionando mal pronóstico para la enfermedad.

Un modelo murino de EE mostró que la fibrosis subepitelial estaba directamente relacionada con la eosinofilia inducida por Interleucina- 5 (IL-5), una citoquina de perfil Th2 cuya expresión está aumentada en la EE. La fibrosis asociada a la EE ha sido relacionada con la extensión de la activación eosinofílica esofágica, como se evidencia por la degranulación eosinofílica demostrada mediante inmunohistoquímica frente a MBP. La MBP es capaz de incrementar la expresión del factor de crecimiento fibroblástico-9 (FGF9) en las biopsias de pacientes con EE. Esta citoquina se correlaciona con la hiperplasia de células basales observada en el epitelio de los pacientes con EE. CCL-18 es una citoquina profibrótica, implicada en el asma bronquial, la fibrosis pulmonar y la esclerodermia, que podría estar implicada en la remodelación esofágica, pero todavía no se había estudiado su participación en la EE.

Trabajos realizados en niños con EE han mostrado una fibrosis subepitelial significativa en la lámina propia comparada con controles normales

o con niños con ERGE, que está determinada por expresión aumentada de TGF- β en los eosinófilos. Una investigación reciente mostró que la reducción en la densidad de eosinófilos epiteliales tras un periodo de 3 meses de tratamiento con budesonida se asociaba con reducción significativa de la remodelación esofágica, con descenso del grado de fibrosis, y de células positivas para TGF- β .

Sin embargo, la dificultad para biopsiar sistemáticamente tejido de la lámina propia del esófago de los pacientes con EE utilizando los fórceps endoscópicos estándar de apertura frontal impide valorar la remodelación esofágica adecuadamente y carecemos de datos sobre la reversibilidad de dichos fenómenos en pacientes adultos con EE, con más tiempo de exposición que los niños a la persistencia de la inflamación eosinofílica.

En este trabajo hemos analizado por primera vez los fenómenos de remodelación fibrosa en la lámina propia esofágica en pacientes adultos con EE además de los cambios inducidos por el tratamiento prolongado con el corticoide tópico propionato de fluticasona sobre la expresión de citoquinas profibrogénicas y el depósito de colágeno subepitelial.

Para ello se recopilaban de manera consecutiva 10 pacientes adultos diagnosticados de EE según los criterios recomendados por la Asociación Americana de Gastroenterología. Como grupo control, se incluyeron 20

pacientes de ambos sexos, 10 con el diagnóstico de ERGE y 10 cuyo esófago fue considerado normal.

Las endoscopias de todos los pacientes del grupo de estudio fueron realizadas bajo sedación consciente y se realizó toma de biopsias endoscópicas mediante fórceps bivalva de apertura lateral que permite la obtención de muestras profundas de la pared esofágica, que alcanzaba en todos los casos el tejido de lámina propia.

Las muestras fueron teñidas con hematoxilina y eosina para su estudio microscópico y recuento de eosinófilos intraepiteliales y en lámina propia y con tricrómico de Masson, una técnica de histoquímica específica para colágeno.

La valoración de la fibrosis subepitelial en la lámina propia se realizó en una escala semicuantitativa con valores entre 0 y 3, atendiendo a los siguientes aspectos: preferentemente en las áreas subepiteliales, presencia de haces gruesos de colágeno, compactación de los haces de colágeno y pérdida de celularidad en las áreas fibrosas.

Durante las mismas endoscopias se obtuvieron 3 muestras de mucosa del tercio medio esofágico de todos los casos estudiados de las que se extrajo el RNA de las citoquinas profibrogénicas estudiadas.

En todos los pacientes estudiados y diagnosticados de EE se instauró tratamiento tópico con propionato de fluticasona en solución líquida de forma deglutida, a dosis de 400 µg dos veces al día, durante un periodo de 12 meses, tras el cual se repitió la endoscopia digestiva alta y la toma de biopsias.

Diez pacientes con EE, 10 con ERGE y 10 considerados normales fueron incluidos en el estudio, sin observarse diferencias estadísticamente significativas entre los grupos respecto sus datos demográficos. El tiempo medio de evolución de los síntomas en los pacientes con EE fue 62,7 meses.

La densidad de eosinófilos en el epitelio esofágico y en la lámina propia de los pacientes con EE fue significativamente mayor a la encontrada en los casos de ERGE y los controles normales, sin observarse diferencias significativas en las densidades para ambos estratos entre ambos tercios del esófago. Tras el tratamiento con esteroides tópicos, la densidad de eosinófilos intraepiteliales y en la lámina propia del esófago se redujo de manera muy significativa.

Los pacientes con EE mostraron un depósito de colágeno subepitelial en ambos tercios esofágicos significativamente mayor al encontrado en ambos grupos de controles. La densidad del depósito de colágeno fue significativamente mayor a la encontrada en ambos grupos controles y no mostró diferencias significativas entre tercio superior e inferior del órgano.

La mayor edad de los pacientes se asoció a la una mayor grado de fibrosis subepitelial, así como el mayor tiempo de evolución de los síntomas.

Tras el tratamiento prolongado con fluticasona, se observó una discreta reducción del grado de fibrosis subepitelial, que globalmente no alcanzó significación estadística.

Se observó correlación entre la densidad de eosinófilos (tanto intraepiteliales como en la lámina propia) y el grado de fibrosis del esófago de los pacientes con EE. La relación entre los eosinófilos de la lámina propia y la fibrosis fue mayor y significativa ($p < 0,05$) tras el tratamiento.

Los pacientes adultos con EE presentan unos niveles de expresión génica de las citoquinas proinflamatorias CCL-18, FGF-9, IL-5 significativamente más altos que los que se observaron en ambos grupos de controles. También se observó mayor expresión de TGF- β en los pacientes con EE, aunque sin observarse diferencias estadísticamente significativas respecto a los controles. Tras el tratamiento prolongado con esteroides tópicos se observó disminución de todas estas citoquinas, aunque no de manera significativa, excepto en CCL-18.

En nuestro estudio hemos analizado por vez primera el depósito de colágeno subepitelial en el esófago de pacientes adultos con EE y los cambios en el mismo y en la expresión de citocinas profibrogénicas inducidos por el tratamiento prolongado con esteroides tópicos. Hemos observado que los pacientes con EE presentan un depósito de colágeno en la lámina propia del esófago significativamente mayor al encontrado en condiciones normales y en los pacientes con ERGE, que parece aumentar con la edad y el tiempo de evolución de los síntomas. El tratamiento antiinflamatorio prolongado con propionato de fluticasona tópica no redujo de manera significativa el depósito de colágeno subepitelial asociado a la EE.

Al igual que se ha observado en el asma bronquial, la remodelación fibrosa del esófago en los pacientes con EE parece ser un fenómeno progresivo en el tiempo, por lo que su tratamiento eficaz podría ser fundamental para evitar la progresión de los síntomas y las secuelas fibrosas de la enfermedad.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFÍA

1. Álvarez Sánchez A, Rey E, Díaz Rubio M. Anatomía y fisiología esofágica. En: Rodríguez-Téllez M, Herrerías JM, ed. Enfoque multidisciplinar de la patología esofágica y sus complicaciones. Madrid: International marketing y communication S.A., 2006: 13-19.
2. Mittal RK, Ralaban DH. The eosophagogastric junction. *N Engl J Med* 1997; 336:924.
3. Sobotta W. Histología. Madrid: Ed. Panamericana, 2008.
4. Long JD, Orlando RC. Anatomía, histología, embriología y anomalías del desarrollo esofágico. En: Feldman M. ed. Enfermedades gastrointestinales y hepáticas. Fisiopatología, diagnóstico y tratamiento. Madrid: Ed. Panamericana, 2004: 587-597.
5. Crawford JM. El tracto gastrointestinal. En: Cotran RS, ed. Patología estructural y funcional. Madrid: Mc Graw-Hill Interamericana, 1997: 837-918.
6. DeNardi FG, Riddell RH. The normal esophagus. *Am J Surg Pathol* 1991; 15: 296.
7. Meyer GW, Austin RM, Brady CE, et al. Muscle anatomy of the human esophagus. *J Clin Gastroenterol* 1986; 8:131.
8. Castell DO (ed). The esophagus. Boston: Little, Brown & Company. 1992.
9. Cunningham ET, Swachenko PE. Central neural control of esophageal motility: a review. *Dysphagia* 1990; 5: 35.
10. Lucendo AJ. Immunopathological mechanisms of eosinophilic esophagitis. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2008; 36(4):215-227.
11. Muñoz-López F. Validity of the hygiene hypothesis. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2006; 34: 129-130.
12. Weinstock JV, Elliott DE. Helminths and the IBD hygiene hypothesis. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 128-133.
13. Lucendo AJ. Eosinophilic diseases of the GI tract. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45(9): 1013-1021.
14. Furuta GT, Forbes D, Boey C, et al. Eosinophilic Gastrointestinal Diseases Working Group. Eosinophilic gastrointestinal diseases (EGIDs). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 47: 234-238.

15. Murch SH. Clinical manifestations of food allergy: the old and the new. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17(2):1287-1291.
16. De Angelis P, Markowitz JE, Torroni F, et al. Paediatric eosinophilic oesophagitis: Towards early diagnosis and best treatment. *Dig Liver Dis* 2006; 38(4): 245-251.
17. Heine RG. Pathophysiology, diagnosis and treatment of food protein-induced gastrointestinal diseases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2004; 4(3):221-229.
18. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Inmunología celular y molecular*. Segunda edición. Madrid: Interamericana-McGraw-Hill, 1995.
19. Gleich GJ, Adolphson CR. The eosinophilic leukocyte: structure and function. *Adv Immunol* 1986; 39: 177-253.
20. Weller PF, et al. Role of the eosinophil in allergic reactions. *Eur Respir J* 1996; 22: 109s-115s.
21. Butterworth AE. Cell-mediated damage to helminths. *Adv Parasitol* 1984;23: 143-235.
22. Rothenberg ME, Mishra A, Brandt EB, et al. Gastrointestinal eosinophils. *Inmunol Rev* 2001;179: 139-155.
23. Rothenberg ME. Eosinophilic gastrointestinal disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113(1):11-28.
24. Walsh RE, Gaginella TS. The eosinophil in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1991; 26(12): 1217-1224.
25. Dvorak AM. Ultrastructural evidence for release of of major basic protein-containing crystalline cores of eosinophil granules in vivo: cytotoxic potential in Cronh's disease. *J Immunol* 1980; 125: 462.
26. Sarin SK, Malhotra V, Sen Gupta S, et al. Significant of eosinophil and mast cell counts in rectal mucosa in ulcerative colitis. A prospective controled study. *Dig Dis Sci* 1978; 32: 363-367.
27. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *Inflamación y Reparación. Patología Estructural y Funcional*. Madrid: Mc Gaw-Hill Interamericana, 1997: 57-104.
28. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *Trastornos de la inmunidad. Patología Estructural y Funcional*. Madrid: Mc Graw-Hill Interamericana, 1997: 191-269.

29. Furuta GT, Liacouras CA, Collins MH, et al. Eosinophilic esophagitis in children and adults: a systematic review and consensus recommendations for diagnosis and treatment. *Gastroenterology* 2007; 133: 1342-1363.
30. Dobbins JW. Eosinophilic gastroenteritis with esophageal involvement. *Gastroenterology* 1977; 72:1312.
31. Winter HS, Madara JL, Stafford RJ, et al. Intraepithelial eosinophils: a new diagnostic criterion for reflux esophagitis. *Gastroenterology* 1982;83: 818-823.
32. Brown LF, Goldman H, Antonioli DA. Intraepithelial eosinophils in endoscopic biopsies of adults with reflux esophagitis. *Am J Surg Pathol* 1984; 8: 899-905.
33. Picus D, Frank P. Eosinophilic esophagitis. *Am J Roentgenol* 1981; 136: 1001.
34. Attwood SE, Smyrk TC, Demeester TR, et al. Esophageal eosinophilia with dysphagia. A distinct clinicopathologic syndrome. *Dig Dis Sci* 1993;38(1):109-116.
35. Straumann A, Spichtin HP, Bernoulli R, et al. Idiopathic eosinophilic esophagitis: a frequently overlooked disease with typical clinical aspects and discrete endoscopic findings. *Schweiz Med Wochenschr* 1994;124(33):1419-1429.
36. Kelly KJ, Lazenby AJ, Rowe PC, et al. Eosinophilic esophagitis attributed to gastroesophageal reflux: improvement with an amino acid-based formula. *Gastroenterology* 1995;109: 1503-1512.
37. Lucendo Villarín AJ, Carrión Alonso G, Navarro Sánchez M, et al. Eosinophilic esophagitis in adults, an emerging cause of dysphagia. Description of 9 cases. *Rev Esp Enf Dig* 2005; 97(4):229-239.
38. Cherian S, Smith NM, Forbes DA. Rapidly increasing prevalence of eosinophilic esophagitis in Western Australia. *Arc Dis Child* 2006; 91: 1000-1004.
39. Liacouras CA, Spergel JM, Ruchelli E, et al. Eosinophilic esophagitis: a 10-year experience in 381 children. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3(12):1198-1206.
40. Straumann A, Simon HU. Eosinophilic esophagitis: Escalating epidemiology? *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115(2):418-419.
41. Lucendo AJ. Esophagitis eosinofílica. *Med Clin (Barc)* 2007; 128(15):590-597.

42. Buckmeier BK, Rothenberg ME, Collins MH. The incidence and prevalence of eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121(2) Suppl 1, S-71.
43. Ronkanien J, Talley NJ, Aro P, et al. Prevalence of esophageal eosinophils and eosinophilic esophagitis in adults: The population-based Kalixandra study. *Gut* 2007; 56(5): 615-620.
44. Lucendo Villarín AJ. Eosinophilic esophagitis -- clinical manifestation, diagnosis and treatment. *Rev Esp Enf Dig* 2009; 101: 49-59.
45. Blanchard C, Rothenberg ME. Basic pathogenesis of eosinophilic esophagitis. *Gastrointestinal Endosc Clin North Am* 2008; 18(1):133-143.
46. Liacouras CA, Bonis P, Putman PE, et al. Summary of the First International Gastrointestinal Eosinophil Research Symposium. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007;45: 370-391.
47. Liacouras C. Eosinophilic esophagitis in children and adults. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 37: S23-S28.
48. Lucendo Villarín AJ, De Rezende L. Esofagitis eosinofílica: Revisión de los conceptos fisiopatológicos y clínicos actuales. *Gastroenterol Hepatol* 2007; 30(4): 234-241.
49. Straumann A, Spichtin HP, Grize L, et al. Natural history of primary eosinophilic esophagitis: a follow-up of 30 adults patients for up to 11.5 years. *Gastroenterology* 2003;125:1660-1669.
50. Remedios M, Campbell C, Jones DM, et al. Eosinophilic esophagitis in adults: clinical, endoscopic, histologic findings, and response to treatment with fluticasone propionate. *Gastrointest Endosc* 2006; 63(1):3-12.
51. Konikoff MR, Noel RJ, Blanchard C, et al. A randomized double-blind, placebo controlled trial of fluticasone propionate for pediatric eosinophilic esophagitis. *Gastroenterology* 2006; 131: 1381-1391.
52. Fogg MI, Ruchelli E, Spergel JM. Pollen and eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112(4):796-797.
53. Wang FY, Gupta SK, Fitzgerald JF. Is there a seasonal variation in the incidence or intensity of allergic eosinophilic esophagitis in new diagnosed children? *J Clin Gastroenterol* 2007; 41: 451-453.
54. Moawad FJ, Veerappan G, Lake JM, et al. The correlation between eosinophilic esophagitis and aeroallergens. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31(4): 509-515.

55. Walsh S, Antonioli D, Goldman H, et al. Allergic esophagitis in children: a clinicopathologic entity. *Am J Surg Pathol* 1999; 23: 390-396.
56. Lucendo AJ, Pascual-Turrión JM, Navarro M, et al. Endoscopic, bioptic and manometric findings in eosinophilic esophagitis before and after steroid therapy: a case series. *Endoscopy* 2007; 39: 765-771.
57. Desai TK, Stecevic V, Chang C-H, et al. Association of eosinophilic inflammation with esophageal food impaction in adults. *Gastrointest Endosc* 2005; 61(7):795-801.
58. Fox VL, Nurko S, Furuta GT. Eosinophilic esophagitis: It's not just kid's stuff. *Gastrointest Endosc* 2002;56(2):260-270.
59. Putnam PE. Eosinophilic esophagitis in children: clinical manifestations. *Gastrointestinal Endosc Clin North Am* 2008;18(1):11-23.
60. Noel RJ, Putman PE, Rothenberg ME. Eosinophilic esophagitis. *The New England J Med* 2004; 26: 940-941.
61. Katzka DA. Demographic data and symptoms of eosinophilic esophagitis in adults. *Gastrointestinal Endosc Clin North Am* 2008; 18(1):25-32.
62. Sgouros SN, Bergele C, Mantides A. Eosinophilic esophagitis in adults: a systematic review. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18: 211-217.
63. Müller S, Pühl S, Vieth M, Stolte M. Analysis of symptoms and endoscopic findings in 117 patients with histological diagnoses of esinophilic esophagitis. *Endoscopy* 2007; 39(4):339-344.
64. Croese J, Fairley SK, Masson JW, et al.. Clinical and endoscopic features of eosinophilic esophagitis in adults. *Gastrointest Endosc* 2003; 58(4):516-522.
65. Sgouros SN, Bergele C, Mantides A. Eosinophilic esophagitis in adults: What is the clinical significance? *Endoscopy* 2006; 38(5):515-520.
66. Vasilopoulos S, Murphy P, Auerbach A, et al. The small-caliber esophagus: an unappreciated cause of dysphagia for solids in patients with eosinophilic esophagitis. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 99-106.
67. Lim JR, Gupta SK, Croffie JM, et al. White specks in the esophageal mucosa: an endoscopic manifestation of non-reflux eosinophilic esophagitis in children. *Gastrointest Endosc* 2004; 59(7):835-838.
68. Langdon DE. "Congenital" esophageal stenosis, corrugated ringed esophagus, and eosinophilic esophagitis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95(8):2123-2124.

69. Straumann A, Spichtin HP, Bucher KA, et al. Eosinophilic esophagitis: red on microscopy, white on endoscopy. *Digestion* 2004; 70(2):109-116.
70. Straumann A, Rossi L, Simon HU, et al. Fragility of the esophageal mucosa: a pathognomonic endoscopic sign of primary eosinophilic esophagitis? *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 407.
71. Straumann A, Bussmann C, Zuber M, et al. Eosinophilic Esophagitis: Analysis of Food Impaction and Perforation in 251 Adolescent and Adult Patients. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6(5): 598-600.
72. Attwood SE. Eosinophilis and gut dysmotility. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;17: 891-892.
73. Martin ST, Collins CG, Fitzgibbon J, et al. Gastric motor dysfunction: is eosinophilic mural gastritis a causative factor? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;17: 983-986.
74. Scaillon M, Cadranel S. Food allergy and constipation in childhood: how functional is it? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18(2):125-128.
75. Fox VL, Nurko S, Teitelbaum J, et al. High-resolution EUS in children with eosinophilic "allergic" esophagitis. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 30-36.
76. Fox VL, Nurko S, Teitelbaum J, et al. Abnormalities of the esophageal wall detectec by high-resolution probe endosonography in patinets with allergic esphagitis (abstract). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31, S282.
77. Mishra A, Schlotman J, Wang M, et al. Critical role for adaptative T cell immunity in experimental eosinophilic esophagitis in mice. *J Leukoc Biol* 2007; 81(4): 916-924.
78. Landres RT, Kuster GGR, Strum WB. Eosinophilic esophagitis in a patient with vigorous achalasia. *Gastroenterology* 1978; 74: 1298-1301.
79. Lucendo AJ, Castillo P, Martín-Chávarri S, et al. Manometric findings in adult eosinophilic oesophagitis: A study of 12 cases. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19(5):417-424.
80. Gómez Chiari M, Martín de Carpi J, Castejón Ponce E, et al. Esofagitis eosinofílica: una entidad en aumento. A propósito de 8 casos. *An Pediatr (Barc)* 2003; 59(3):128.
81. Orenstein SR, Shalaby TM, Di Lorenzo C, et al. The spectrum of pediatric eosinophilic esophagitis beyond infancy: a clinical series of 30 children. *Am J Gastroenterol* 2000; 95(6):1422-1430.

82. Arora AS, Perrault J, Smyrk TC. Topical corticosteroid treatment of dysphagia due to eosinophilic esophagitis. *Mayo Clin Proc* 2003;78: 830-835.
83. Vitellas KM, Bennet WF, Bova JG, et al. Idiopathic eosinophilic esophagitis. *Radiology* 1993;186: 789-793.
84. Nurko S, Rosen R, Furuta GT. Esophageal dysmotility in children with eosinophilic esophagitis: a study using prolonged esophageal manometry. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 3050- 3057.
85. Flavahan NA, Slifman NR, Gleich GJ, et al. Human eosinophil major protein causes hyperactivity of respiratory smooth muscle. *Am Rev Resp Dis* 1988; 138: 685-688.
86. White SR, Ohno S, Muñoz NM, et al. Epithelium-dependent contraction of airway smooth muscle caused by eosinophil MBP. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 1990; 259: L294-L303.
87. Lucendo AJ, Bellón T, Lucendo B. The role of mast cell in eosinophilic esophagitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2009; 20: 512-518.
88. Vanderhoff JA, Young RJ. Allergic disorders of the gastrointestinal tract. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2001; 4:553-556.
89. Lucendo AJ, Castillo P, Letrán A, et al. Manometric findings in Eosinophilic esophagitis: Dynamic patterns and response to topical steroids (abstract). *Gut* 2006; 55 (Suppl V):A279.
90. Lucendo AJ. Motor disturbances participate in the pathogenesis of eosinophilic oesophagitis, beyond the fibrous remodelling of the oesophagus. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24:1264-1267.
91. Mueller S, Aigner T, Neureiter D, et al. Eosinophil infiltration and degranulation in esophageal mucosa from adult patients with eosinophilic esophagitis (EE). A retrospective comparative pathologic biopsy study. *J Clin Pathol* 2006; 59(11): 1175-80.
92. Lucendo AJ, Navarro M, Comas C, et al. Immunophenotypic characterisation and quantification of the epithelial inflammatory infiltrate in eosinophilic esophagitis through stereology: an analysis of the disease's cellular mechanisms and the esophagus's immunological capacity. *Am J Surg Pathol* 2007; 31(4):598-606.
93. Gonsalves N, Policarpio-Nicolas M, Zhang Q, et al. Histopathologic variability and endoscopic correlates in adults with eosinophilic esophagitis. *Gastrointest Endosc* 2006; 64(3): 313-319.

94. Noel RJ, Putman PE, Collins MH, et al. Clinical and immunopathologic effects of swallowed fluticasone for eosinophilic esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2(7): 568-575.
95. Blanchard C, Wang N, Stringer KF, et al. Eotaxin-3 and a uniquely conserved gene-expression profile in eosinophilic esophagitis. *J Clin Invest* 2006; 116(2): 536-547.
96. Lucendo AJ, De Rezende L, Martín-Plaza J, et al. Esophageal granular cell tumor and eosinophilic esophagitis: two interesting entities identified in the same patient. *Case Rep Gastroenterol* 2008; 2: 33-39.
97. Cheung KM, Oliver MR, Vameron DJS, et al. Esophageal eosinophilia in children with dysphagia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 37: 498-503.
98. Aceves SS, Newbury RO, Dohil R, et al. Esophageal remodeling in paediatric eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 206-212.
99. Parfitt JR, Gregor JC, Suskin NG, et al. Eosinophilic esophagitis in adults: distinguishing features from gastroesophageal reflux disease: a study of 41 patients. *Mod Pathol* 2006; 19(1): 90-96.
100. Collins MH. Histopathologic features of eosinophilic esophagitis. *Gastrointestinal Endosc Clin North Am* 2008; 18(1): 59-71.
101. Orlando RC. Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42(5): 584-588.
102. Caviglia R, Ribolsi M, Gentile M, et al. Dilated intercellular spaces and acid reflux at the distal and proximal oesophagus in patients with non-erosive gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25(1): 629-636.
103. Farre R, van Malenstein H, de Vos R, et al. Short exposure of oesophageal mucosa to bile acids, both in acidic and weakly acidic conditions, can impair mucosal integrity and provoke dilated intercellular spaces. *Gut* 2008; 57(10): 1366-1674.
104. Chehade M, Sampson HA, Morotti RA, et al. Esophageal subepithelial fibrosis in children with eosinophilic esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007; 45: 319-328.
105. Ureles AL, Alschibaja T, Lodico D. Idiopathic eosinophilic infiltration of the the gastrointestinal tract, diffuse and circumscribed. *Am J Med* 1961; 30: 899.

106. Simon D, Marti H, Heer P, et al. Eosinophilic esophagitis is frequently associated with IgE-mediated allergic airway diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115(5): 1090-1092.
107. Liacouras CA. Eosinophilic esophagitis : treatment in 2005. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 22: 147-152.
108. Merwat SN, Spechler SJ. Might the Use of Acid-Suppressive Medications Predispose to the Development of Eosinophilic Esophagitis? *Am J Gastroenterol* 2009; 104(8): 1897-1902.
109. Bohle B. T lymphocytes and food allergy. *Mol Nutr Food Res* 2004; 48: 424-433.
110. Hong SJ, Michael JG, Fehring A, et al. Pepsin-digested peanut contains T-cell epitopes but not IgE epitopes. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 473-478.
111. Haselden BM, Kay AB, Larche M. Immunoglobulin E-independent major histocompatibility complex-restricted T cell peptide epitope-induced late asthmatic reactions. *J Exp Med* 1999; 189: 1885-1894.
112. Smith TR, Larche M. Investigating T cell activation and tolerance in vivo: peptide challenge in allergic asthmatics. *Cytokine* 2004; 28 49-54.
113. Montero Vega MT. New aspects on inflammation in allergic diseases. *Allergol et immunopathol* 2006; 34(4):156-170.
114. Aceves SS, Newbury RO, Chen D, et al. Resolution of remodeling in eosinophilic esophagitis correlates with epithelial response to topical corticosteroids. *Allergy* 2010; 65(1): 109-116.
115. Collins MH, Blanchard C, Albonia JP, et al. Clinical, Pathologic, and Molecular Characterization of Familial Eosinophilic Esophagitis Compared With Sporadic Cases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 621-629.
116. Martín-Muñoz MF, Lucendo AJ, Navarro M, et al. Food allergy and eosinophilic esophagitis: two cases studies. *Digestion* 2006; 74: 49-54.
117. Verzegnassi F, Bua J, Angelis P, et al. Eosinophilic oesophagitis and coeliac disease: is it just a casual association? *Gut* 2007; 56: 1029-1030.
118. Leslie C, Mews C, Charles A, et al. Celiac Disease and Eosinophilic Esophagitis: A True Association. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010; 50(4): 397-397.

119. Straumann A, Bauer M, Fischer B, et al. Idiopathic eosinophilic esophagitis is associated with a T(H)2-type allergic inflammatory response. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108(6): 954-961.
120. Gleich GJ, Kita H. Bronchial asthma: lessons from murine models. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 2101-2102.
121. Cieslewicz G, Tomkinson A, Adler A, et al. The late, but not early, asthmatic response is dependent on IL-5 and correlates with eosinophil infiltration. *J Clin Invest* 1999; 104(3): 301-308.
122. Gharaee-Kermani M, McGarry B, Lukacs N, et al. The role of IL-5 in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *J Leukoc Biol* 1998; 64: 657-666.
123. Phipps S, Ying S, Wangoo A, et al. The relationship between allergen-induced tissue eosinophilia and markers of repair and remodeling in human atopic skin. *J Immunol* 2001; 169: 4604-4612.
124. Mishra A, Hogan SP, Brandt EB, et al. An etiological role for aeroallergens and eosinophils in experimental esophagitis. *J Clin Invest* 2001; 107: 83-90.
125. Mishra A, Hogan SP, Brandt EB, et al. IL-5 promotes eosinophil trafficking to the esophagus. *J Immunol* 2002; 168: 2464-2469.
126. Akei HS, Mishra A, Blanchard C, et al. Epicutaneous antigen exposure primes for experimental eosinophilic esophagitis in mice. *Gastroenterology* 2005; 129: 985-994.
127. Bullock JZ, Villanueva JM, Blanchard C, et al. Interplay of adaptive Th2 immunity with eotaxin-3/C-C Chemokine receptor 3 in eosinophilic esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007; 45(1): 22-31..
128. Straumann A, Conus S, Grzonka P. Anti-interleukin-5 antibody treatment (mepolizumab) in active eosinophilic oesophagitis: a randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Gut* 2010; 59(1): 21-30.
129. Lucendo AJ, De Rezende L, Comas C, et al. Treatment with topic steroids downregulates IL-5, eotaxin-1/CCL11 and eotaxin-3/CCL26 gene expression in eosinophilic esophagitis. *Am J Gastroenterol* 2008; 103(9): 2184-2193.
130. Blanchard C, Mingler MK, Vicario M, et al. IL-13 involvement in eosinophilic esophagitis: transcriptome analysis and reversibility with glucocorticoids. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120(6): 1292-1300.
131. Barner M, Mohrs M, Brombacher F, et al. Differences between IL-4R alpha-deficient mice reveal a role for IL-13 in the regulation of Th2 responses. *Curr Biol* 1998; 8(11): 669-672.

132. Vicario M, Blanchard C, Stringer KF, et al. Local B cells and IgE production in the esophageal mucosa in Eosinophilic Esophagitis. *Gut* 2010; 59(1): 12-20.
133. Zimmermann N, Hogan SP, Mishra A, et al. Murine eotaxin-2: a constitutive eosinophil chemokine induced by allergen challenge and IL-4 overexpression. *J Immunol* 2000; 165(10): 5839-5846.
134. García-Zepeda EA, Rothenberg ME, Ownbey RT, et al. Human eotaxin is a specific chemoattractant for eosinophils cells and provides a new mechanism to explain tissue eosinophilia. *Nature Med* 1996; 2: 449-456.
135. Lamkhioued B, Renzi PM, Abi-Younes S, et al. Increased expression of eotaxin in bronchoalveolar lavage and airways of asthmatics contributes to the chemotaxis of eosinophils to the site of inflammation. *J Immunol* 1997; 159: 4593-4601.
136. Ying S, Meng Q, Zeibecoglou K, et al. Eosinophil chemotactic chemokines (eotaxin, eotaxin-2, RANTES, monocyte chemoattractant protein-3 (MCP-3) and MCP-4), and C-C chemokine receptor 3 expression in bronchial biopsies from atopic and nonatopic (intrinsic) asthmatics. *J Immunol* 1999; 163: 6321-6329.
137. Gupta SK, Fitzgerald JF, Roudratynk T, et al. Cytokine expression in normal and inflamed esophageal mucosa: a study into the pathogenesis of allergic eosinophilic esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006; 42(1): 22-26.
138. Bhattacharya B, Carlsten J, Sabo E, et al. Increased expression of eotaxin-3 distinguishes between eosinophilic esophagitis and gastroesophageal reflux disease. *Human Pathology* 2007; 38(12): 1744-53.
139. Mishra A, Wang M, Pemmaraju VR, et al. Esophageal remodeling develops as a consequence of tissue specific IL-5-induced eosinophilia. *Gastroenterology* 2008; 134(1): 204-214.
140. Bousquet J, Jeffery PK, Busse WW, et al. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1720-1745.
141. Jeffery PK, Wardlaw AJ, Nelson FC, et al. Bronchial biopsies in asthma. An ultrastructural, quantitative study and correlation with hyperreactivity. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140: 1745-1753.
142. Gross TJ, Hunninghake GW. Idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2001; 345: 517-525.

143. Riccioni G, Di Ilio C, D'Orazio N. Review: Pharmacological Treatment of Airway Remodeling: Inhaled Corticosteroids or Antileukotrienes? *Annals of Clinical Laboratory Science* 2004; 2: 138-142.
144. Kobzik L., Schoen J. Pulmón. In: Cotran R.S. KVRSL, ed. *Patología estructural y Funcional*. Madrid: Mc Graw-Hill Interamericana, 1997: 743-813.
145. Elias JA, Zhu Z, Chupp G, Homer RJ. Airway remodeling in asthma. *J Clin Invest* 1999; 104: 1001-1006.
146. Homer RJ, Elias JA. Consequences of long-term inflammation. Airway remodeling. *Clin Chest Med* 2000; 21: 331-343.
147. Chakir J, Shannon J, Molet S, Fukakusa M, Elias J, Laviolette M, Boulet LP, Hamid Q. Airway remodeling-associated mediators in moderate to severe asthma: effect of steroids on TGF-beta, IL-11, IL-17, and type I and type III collagen expression. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 1293-1298.
148. Aceves SS, Broide DH. Airway fibrosis and angiogenesis due to eosinophil trafficking in chronic asthma. *Curr Mol Med* 2008; 8(5): 350-358.
149. Sumi Y, Hamid Q. Airway Remodeling in Asthma. *Allergology International* 2007; 56(4): 341-348
150. Rothenberg ME, Hogan SP. The eosinophil. *Annu Rev Immunol* 2006; 24: 147-174.
151. Puxeddu I, Ribatti D, Crivellato E, et al. Mast cells and eosinophils: a novel link between inflammation and angiogenesis in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 531-536.
152. De Nadai P, Charbonnier AS, Chenivesse C, et al. Involvement of CCL18 in allergic asthma. *J Immunol* 2006; 176: 6286-6293.
153. Luzina I, Highsmith K, Pochetuhen K, et al. PKC Mediates CCL18-Stimulated Collagen Production in Pulmonary Fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2006; 35: 298-305.
154. Pochetuhen K, Luzina I, Lockett V, et al. Complex Regulation of Pulmonary Inflammation and Fibrosis by CCL18. *Am J Pathol* 2007; 171: 428-437.
155. Luzina I, Papadimitriou J, Anderson R, et al. Induction of prolonged infiltration of T lymphocytes and transient T lymphocyte-dependent collagen deposition in mouse lungs following adenoviral gene transfer of CCL18. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2643-2655.

156. Yu C, Cantor AB, Yang H, et al. Targeted deletion of a high-affinity GATA-binding site in the GATA-1 promoter leads to selective loss of the eosinophil lineage in vivo. *J Exp Med* 2002; 195: 1387-1395.
157. Humbles AA, Lloyd CM, McMillan SJ, et al. A critical role for eosinophils in allergic airways remodeling. *Science* 2004; 305: 1726-1729.
158. Foley SC, Prefontaine D, Hamid Q. Images in allergy and immunology: role of eosinophils in airway remodeling. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 1563-1566.
159. Balzar S, Chu HW, Silkoff P, et al. Increased TGF-beta2 in severe asthma with eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 110-117.
160. Minshall EM, Leung DY, Martin RJ, et al. Eosinophil-associated TGF-beta1 mRNA expression and airways fibrosis in bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 17: 326-333.
161. Li MO, Wan YY, Sanjabi S, et al. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu Rev Immunol* 2006; 24: 99-146.
162. McMillan SJ, Xanthou G, Lloyd CM. Manipulation of allergen-induced airway remodeling by treatment with anti-TGF-beta antibody: effect on the Smad signaling pathway. *J Immunol* 2005; 174: 5774-5780.
163. Flood-Page PT, Menzies-Gow AN, Kay AB, et al. Eosinophil's role remains uncertain as anti-interleukin-5 only partially depletes numbers in asthmatic airway. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 199-204.
164. Letuve S, Ljoie-Kadoch S, Audusseau S, et al. IL-17E upregulates the expression of proinflammatory cytokines in lung fibroblasts. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 590-596.
165. Trigg CJ, Manolitsas ND, Wang J, et al. Placebo-controlled immunopathologic study of four months of inhaled corticosteroids in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994; 150: 17-22.
166. Olivieri D, Chetta A, Del Donno M, et al. Effect of short-term treatment with low-dose inhaled fluticasone propionate on airway inflammation and remodeling in mild asthma: a placebo-controlled study. *Am J Resp Crit Care Med* 1997; 155: 1864-1871.
167. Laitinen A, Altraja A, Kampe M, et al. Tenascin is increased in airway basement membrane of asthmatics and decreased by an inhaled steroid. *Am J Resp Crit Care Med* 1997; 156: 951-958.
168. Ward C, DeSoyza A, Fisher AJ, et al. Reticular basement membrane thickening in airways of lung transplant recipients is not affected by inhaled corticosteroids. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1905-1909.

169. Chetta A, Zanini A, Foresi A, et al. Vascular Component of Airway Remodeling in Asthma Is Reduced by High Dose of Fluticasone. *Am J Resp Crit Care Med* 2003; 167: 751-757.
170. Chetta A, Zanini A, Foresi A, et al. Vascular endothelial growth factor up-regulation and bronchial wall remodelling in asthma. *Clin Exp Allergy* 2005; 35: 1437-1442.
171. Lucendo AJ, De Rezende L, Comas C, et al. Treatment With Topical Steroids Downregulates IL-5, Eotaxin-1/CCL11, and Eotaxin-3/CCL26 Gene Expression in Eosinophilic Esophagitis. *American Journal of Gastroenterology* 2008; 103: 2184-2193.
172. Mulder DJ, Pacheco I, Hurlbut DJ, et al. FGF9-induced proliferative response to eosinophilic inflammation in oesophagitis. *Gut* 2009; 58: 166-173.
173. Aceves SS, Newbury RO, Chen D, et al. Resolution of remodeling in eosinophilic esophagitis correlates with epithelial response to topical corticosteroids. *Allergy* 2010; 65(1): 109-116.
174. Abu-Sultaneh SM, Durst P, Maynard V, et al. Fluticasone and Food Allergen Elimination Reverse Sub-epithelial Fibrosis in Children with Eosinophilic Esophagitis. *Dig Dis Sci* 2010. En prensa.
175. Furuta GT, Straumann A. Review article: the pathogenesis and management of eosinophilic esophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24(2): 173-182.
176. Spechler SJ, Genta RM, Souza RF. Thoughts on the complex relationship between gastroesophageal reflux disease and eosinophilic esophagitis. *Am J Gastroenterol* 2007; 102(6):1301-1306.
177. Peterson KA, Thomas KL, Hilden K, et al. Comparasion of Esomeprazole to Aerosolized, Swallowed Fluticasone for Eosinophilic Esophagitis. *Dig Dis Sci* 2010; 55(5): 1313-1319.
178. Spergel JM, Beausoleil JL, Mascarenhas M, et al. The use of skin prick tests and patch tests to identify causative foods in eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109; 363-368.
179. Spergel JM, Andrews T, Brown-Whitehorn TF, et al. Treatment of eosinophilic esophagitis with specific elimination diet directed by a combination of skin prick and patch test. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 95(4): 336-343.
180. Molina-Infante J, Ferrando-Lamana L, Mateos-Rodríguez JM, et al. Overlap of reflux and eosinophilic esophagitis in two patients requiring

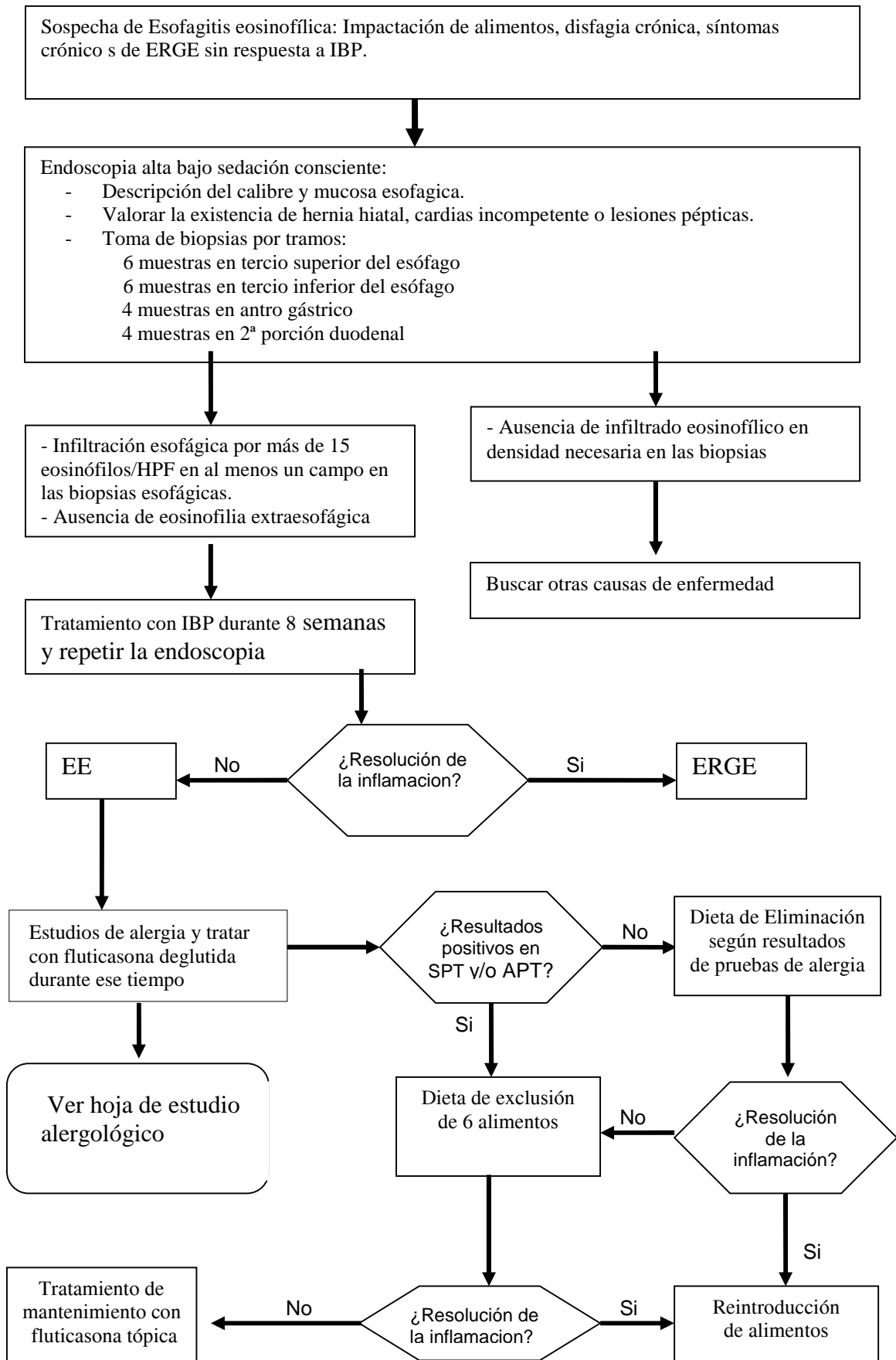
- different therapies: a review of the literature. *World J Gastroenterol* 2008; 14(9): 1463-1466.
181. Putnam PE, Rothenberg ME. Eosinophilic Esophagitis: Concepts, Controversies, and Evidence. *Curr Gastroenterol Rep* 2009; 11(3): 220-225.
 182. Ngo P, Furuta G, Antonioli D, et al. Eosinophils in the esophagus—Peptic or allergic eosinophilic esophagitis? Case series of three patients with esophageal eosinophilia. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1666-1670.
 183. Liacouras CA, Wenner WJ, Brown K, et al. Primary eosinophilic esophagitis in children: successful treatment with oral corticosteroids. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 26: 380-385.
 184. Schaefer ET, Fitzgerald JF, Molleston JP, et al. Comparison of oral prednisone and topical fluticasone in the treatment of eosinophilic esophagitis: a randomized trial in children. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6(2): 165-173.
 185. King J, Khan S. Eosinophilic Esophagitis: Perspectives of Adult and Pediatric Gastroenterologists. *Dig Dis Sci* 2010; 55(4): 973-982.
 186. Faubion WA, Perrault J, Burgart LJ, et al. Treatment of eosinophilic esophagitis with inhaled corticosteroids. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 27: 90-93.
 187. Teitelbaum J, Fox V, Twarog F, et al. Eosinophilic Esophagitis in Children: immunopathological analysis and response to fluticasone propionate. *Gastroenterology* 2002; 122: 1216-1225.
 188. Langdon DE. Fluticasone in eosinophilic corrugated ringed esophagus. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 926-927.
 189. Perrault J, Arora AS, Clawson ML, Smyrk TC. Treatment of eosinophilic esophagitis with steroid lavage in adult patients (abstract). *Am J Gastroenterol* 2001; 96(9): S31. 2001.
 190. Aceves SS, Dohil R, Newbury RO, et al. Topical viscous budesonide suspension for treatment of eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 705-706.
 191. Moots RJ, Prouse P, Gumpel JM. Near fatal eosinophilic gastroenteritis responded to oral sodium cromoglycate. *Gut* 1988; 29: 1282-1285.
 192. Attwood SE, Lewis CJ, Bronder CS, et al. Eosinophilic esophagitis: a novel treatment using Montelukast. *Gut* 2003; 52(2): 181-185.
 193. Gupta SK, Peters-Golden M, Fitzgerald JF, et al. Cysteinil leukotriene levels in esophageal mucosal biopsies of children with eosinophilic

- inflammation: are they all the same? *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1125-1128
194. Netzer P, Gschossmann JM, Straumann A, et al. Corticosteroid-dependent eosinophilic oesophagitis: azathioprine and 6-mercaptopurine can induce and maintain long-term remission. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19(10): 865-869.
 195. Prasad GA, Arora AS. Spontaneous perforation in the ringed esophagus. *Dis Esophagus* 2005; 18: 406-409.
 196. Cohen MS, Kaufman A, Dimarino AJ Jr, et al. Eosinophilic esophagitis presenting as spontaneous esophageal rupture (Boerhaave's syndrome). *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: A24.
 197. Kaplan M, Mutlu EA, Jakate S, et al. Endoscopy in eosinophilic esophagitis: 'feline' esophagus and perforation risk. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2003; 1: 433-437.
 198. Zuber-Jerger I, Ratiu N, Kullman F. Long-lasting effect of endoscopic dilation of an esophageal stenosis due to eosinophilic esophagitis. *J Gastrointest Liver Dis* 2006; 15(2): 167-170.
 199. Roberts-Thomson IC. Gastrointestinal: Eosinophilic esophagitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 29: 1299.
 200. Rajagopalan J, Triadafilopoulos G. Ring(s)-related esophageal meat bolus impaction: biopsy first, dilate later. *Dis Esophagus* 2009; 22: E-16.
 201. Eisenbach C, Merle U, Schirmacher P, et al. Perforation of the esophagus after dilation treatment for dysphagia in a patient with eosinophilic esophagitis. *Endoscopy* 2006; 38: E43-E44.
 202. Riou PJ, Nicholson AG, Pastorino U. Esophageal rupture in a patient with idiopathic eosinophilic esophagitis. *Ann Thorac Surg* 1996; 62: 1856.
 203. Liguori G, Cortale M, Cimino F, et al. Circumferential mucosal dissection and esophageal perforation in a patient with eosinophilic esophagitis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 803-804.
 204. Pasha SF, DiBaise JK, Kim HJ, et al. Patient characteristics, clinical, endoscopic, and histologic findings in adult eosinophilic esophagitis: a case series and systematic review of the medical literature. *Dis Esophagus* 2007; 20: 311-319.
 205. Schoepfer AM, Gschossmann J, Scheurer U, et al. Esophageal strictures in adult eosinophilic esophagitis: dilation is an effective and safe alternative after failure of topical corticosteroids. *Endoscopy* 2008; 40(2): 161-164.

206. Lucendo AJ, De Rezende L. Endoscopic dilation for treatment of eosinophilic esophagitis: a strategy with a high perforation risk. *Endoscopy* 2007; 39(4): 376.
207. Straumann A. The natural history and complications of eosinophilic esophagitis. *Gastrointestinal Endosc Clin North Am* 2008; 18(1): 99-118.
208. Arora AS, Yamazaki K. Eosinophilic esophagitis: asthma of the esophagus? *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 523-530.
209. Lee HJ, Wu WH, Chang NS, Hua L et al. Increased expression of CC chemokine ligand 18 in extrinsic atopic dermatitis patients. *Exp Dermatol* 2008; 17: 24-29.
210. Lucendo AJ, González-Castillo S, Guagnozzi D et al. Eosinophilic esophagitis: Current aspects of a recently recognized disease. *Gastroenterol Research* 2010; 3: 52-64.

ANEXO 1

Protocolo de estudio y tratamiento de esofagitis eosinofílica:



Protocolo de estudio cutáneo alergológico en los pacientes con EE

Pruebas cutáneas del protocolo de E.E. (<i>Prick test</i>)			
Inhalantes	Dermatophagoides pteronyssinus Alternaria tenuis Olivo (<i>Olea europaea</i>) Arizónica (<i>Cupresis arizonica</i>) Lolium perenne Perro Gato	Alimentos	Leche Clara de huevo Merluza Lenteja Guisante Cacahuete Arroz Maiz Patata Soja Carne de ternera Carne de pollo Anisakis

Inhalantes de uso habitual en la consulta de alergia en el diagnóstico etiológico de rinoconjuntivitis y/o asma.

Pruebas cutáneas (Batería de inhalantes)			
Pólenes (Gramíneas)	Lolium perenne Cynodon dactylon Phragmites communis	Hongos	Aspergillus fumigatus Alternaria tenuis Cladosporium herbarum
Pólenes	Olivo (<i>Olea europaea</i>) Arce (<i>Acer Pseudoplatanus</i>) Plátano de sombra (<i>Platanus hibrida</i>) Arizónica (<i>Cupressus arizonica</i>) Aliso (<i>Alnus glutinosa</i>) Roble (<i>Quercus robur</i>) Rumex (<i>Rumex acetosella</i>) Quenopodium (<i>Chenopodium album</i>) Plantago (<i>Plantago lanceolata</i>) Artemisa (<i>Artemisa vulgaris</i>) Parietaria (<i>Parietaria judaica</i>)	Epitelios	Hámster Perro Gato Caballo
		Ácaros del polvo	Dermatopagoides pteronissinus Dermatopagoides faringe Lepidoglyphus destructor

Determinación de IgE específicas y pruebas cutáneas con alimentos: clasificación en familias.

Pruebas alérgicas con alimentos: Clasificación de alimentos y familias.			
Leche de vaca Leche ALA BLG BGG Caseína BSA	Moluscos bivalvos Almeja Mejillón Ostra	Solanáceas Patata Pimentón Pimiento Tomate	Rosáceas Cereza Ciruela Fresa Melocotón Manzana Níspero Pera Uva
	Cucurbitáceas Melón Sandía	Umbelíferas Apio Perejil Zanahoria Ajo Cebolla Espárrago	
Huevo Clara Yema OVA OVM	Rutáceas Limón Naranja Mandarina	Quenopodiáceas Acelga Espinaca	Leguminosas Almorta Garbanzo Guisante Haba Judía blanca Judía verde Lenteja Soja
	Dilináceas Kiwi Higo Piña	Compuestas Alcachofa Escarola Lechuga	
Pescados Bacalao Merluza Gallo Lenguado Lenguadina Rape Atún Bonito Besugo Emperador Salmonete Boquerón Sardina	Musáceas Plátano Sésamo Cacao	Crucíferas Col Coliflor Mostaza	Cereales Arroz Harina avena Harina cebada Harina centeno Harina maiz Harina trigo
	Frutos secos Almendra Avellana Cacahuete Castaña Nuez Pipa girasol Piñón Pistacho	Carnes Carne de buey Carne de caballo Carne de cerdo Carne de conejo Carne de cordero Carne de pollo Carne de ternera	
	Moluscos cefalópodos Calamar Chipirón Pulpo		

ANEXO 2

Publicaciones de la autora y del grupo de investigación relacionadas con el tema de esta Tesis Doctoral

Lucendo AJ, De Rezende L, Comas C, Caballero T, Bellón T. **Treatment with topic steroids downregulates IL-5, eotaxin-1/CCL11 and eotaxin-3/CCL16 gene expression in eosinophilic esophagitis.** American Journal of Gastroenterology 2008;103: 2184-93.

Lucendo AJ, De Rezende L. **Endoscopic dilation for treatment of eosinophilic esophagitis: a strategy with high perforation risk.** Endoscopy 2007;39 (4):376.

Lucendo AJ, De Rezende L. **Esofagitis eosinofílica: Revisión de los conceptos fisiopatológicos y clínicos actuales.** Gastroenterología y Hepatología 2007; 30(4): 234-41.

Lucendo AJ, De Rezende L, Martín-Plaza J, Larrauri J. **Esophageal Granular cell tumor and eosinophilic esophagitis: two interesting entities identified in the same patient..** Case Reports in Gastroenterology 2008;2:33-39.

De Rezende L, Lucendo A, Santamaria L. **Mast cell in adult eosinophilic esophagitis: Comparative study with normal and GERD patients and response to topical steroid treatment".** Journal of Clinical Gastroenterology 2008; 42(supp 1):S32.

Lucendo AJ, Bellón T, De Rezende L, Lucendo B. **Effect of topical steroids over epithelial gene expression of eosinophil attractant cytokines in eosinophilic esophagitis: a comparative controlled study.** Journal of Clinical Gastroenterology 2008; 42(supp 1):S32-3.

Lucendo A y De Rezende L. **Anillos esofágicos: Esofagitis eosinofílica (marzo 2007).** Publicada en el portal <http://www.patologiadigestiva.com>

Lucendo AJ, Arias A, Pérez-Martínez I, López-Vázquez A, Ontañón-Rodríguez J, González-Castillo S, De Rezende LC, Rodrigo L. **Adult patients with eosinophilic esophagitis do not show an increased frequency of HLA - DQ2/DQ8 haplotypes predisposing to celiac disease.** Digestive Diseases and Sciences 2010 (en prensa).

Comunicaciones a congresos de la autora y del grupo de investigación relacionadas con esta tesis doctoral.

De Rezende LC, Lucendo AJ, Arias A, Yagüe-Compadre JL, Mota-Huertas T, González-Castillo S, Guagnozzi D, Bellón T. **Prologed topic steroid treatment does not reduce subepithelial fibrosis in adult Eosinophilic Esophagitis, despite of downregulate profibrogenic cytokines gene expression.** (comunicación poster). OESO 10th World Conference. Boston, 28 a 31 de agosto de 2010.

Lucendo AJ, Pérez-Martínez I, López-Vázquez A, Ontañón-Rodríguez J, González-Castillo S, De Rezende LC, Guagnozzi D, Arias A, Rodrigo L. **HLA-DQ2 and DQ8 haplotypes predisposing to celiac disease are not increased in eosinophilic esophagitis, but a higher prevalence of DQ7 and DR11 alleles is observed.** OESO 10th World Conference. Boston, 28 a 31 de agosto de 2010.

Lucendo AJ, De Rezende LC, González-Castillo S, Hervías D, Yagüe-Compadre JL, Arias A. **Chromoendoscopy with Indigo-Carmine Improves the Recognition of Endoscopic Mucosal Findings in Adult Eosinophilic Esophagitis.** Digestive Diseases Week 2009. Chicago, 29 abril a 3 de junio de 2009.

Lucendo Villarín, AJ, Arias Arias A, Yagüe Compadre JL, De Rezende Borges LC, Mota Huertas MT, González Castillo S y Bellón Heredia T. **Fibrosis epitelial en la esofagitis eosinofílica en adultos: efectos del tratamiento con esteroides tópicos sobre el depósito de colágeno y la expresión de citocinas profibrogénicas. Semana de las enfermedades digestivas 2009.** Madrid, 13 a 16 de junio de 2009. Premio “Díaz Rubio” a la mejor comunicación en Gastroenterología Clínica.

AJ Lucendo, A Arias, JL Yagüe Compadre, LC De Rezende, T Mora Huertas, S González Castillo, T Bellón **Subepithelial fibrosis in adult eosinophilic esophagitis: effect of topic steroid treatment over collagen deposition and profibrogenic cytokines gene expression.** (Comunicación póster). 17 th United European Gastroenterology Week. Londres, 19 a 23 de octubre de 2009.

Lucendo Villarín AJ, De Rezende LC, Cuesta Domínguez RA, Hervías Cruz D, Arias Arias A, Legaz Huidobro M, Pérez Roldán F. **La cromosendoscopia con índigo carmín mejora la identificación de los hallazgos endoscópicos de la mucosa de pacientes con esofagitis eosinofílica.**

(comunicación oral). XXX Jornada anual de la Sociedad Española de Endoscopia Digestiva. Madrid, 28 y 29 de noviembre de 2008.

AJ Lucendo, LC De Rezende, B Lucendo, et al. **Chromoendoscopy With Indigo-Carmine Improves The Identification Of Endoscopic Mucosal Findings In Adult Eosinophilic Oesophagitis** (Comunicación oral). 16th United European Gastroenterology Week. Viena, 19 a 23 de octubre de 2008. Comunicación premiada con una beca de viaje de 1000 euros.

De Rezende L, Lucendo AJ, Santamaría L. **Mast cell in adult eosinophilic esophagitis: Comparative study with normal and GERD patients and response to topical steroid treatment** (comunicación poster). 9th World Congress of OESO. Mónaco, 6 a 9 de abril de 2008.

Lucendo AJ, De Rezende L, Bellón T, Lucendo B. **Effect of topical steroids over epithelial gene expression of eosinophil attractant cytokines in eosinophilic esophagitis: a comparative controlled study** (comunicación poster). 9th World Congress of OESO. Mónaco, 6 a 9 de abril de 2008.

Alfredo J Lucendo, Teresa Bellón, Livia de Rezende et al **Efecto del tratamiento esteroideo tópico en la expresión génica de IL-5 y Eotaxina-1 en pacientes adultos con Esofagitis Eosinofílica (EE)** (comunicación oral). X Reunión de la Asociación Española de Gastroenterología. Madrid, 29 a 31 de marzo de 2007.

Alfredo J. Lucendo, Livia de Rezende, et al **Hallazgos manométricos en la Esofagitis Eosinofílica (EE): Origen y evolución temporal de los trastornos motores** (comunicación póster). X Reunión de la Asociación Española de Gastroenterología. Madrid, 29 a 31 de marzo de 2007.

AJ Lucendo, L De Rezende, B Lucendo y T Bellón. **Efectos del tratamiento con esteroides tópicos sobre la expresión génica de citoquinas eosinofilotropas en el epitelio de pacientes con esofagitis eosinofílica. Estudio comparativo con controles** (comunicación oral). XXX Reunión anual de la ACAD. Cuenca, 20 de octubre de 2007.

Lucendo Villarín AJ, De Rezende L, Bellón Heredia T, Pascual-Turrión JM. **El tratamiento con esteroides tópicos reduce la expresión génica de Interleucina (IL)-5 y eotaxina-1/CCL11, en la esofagitis eosinofílica.**

(comunicación póster). Semana de las enfermedades Digestivas 2007. Madrid, 15 a 19 de junio de 2007.

AJ Lucendo, LC De Rezende, B Lucendo, C Comas, T Bellón. **Treatment with topic steroids downregulates IL-5, eotaxin-1/CCL11 and eotaxin 3/CCL26 gene expression in eosinophilic esophagitis** (comunicación en póster). 15th United European Gastroenterology Week, Paris, octubre de 2007.

ANEXO 3

Relación de tablas y figuras incluidas en el texto.

Relación de tablas incluidas en el texto.

Tabla 1. Las características clínicas de los pacientes diagnosticados de EE.

Tabla 2. Datos descriptivos de los pacientes incluidos en el estudio: diagnóstico, edad y sexo.

Tabla 3. Hallazgos endoscópicos en los pacientes con EE.

Tabla 4. Comparaciones de número de eosinófilos y fibrosis en pacientes con EE pre tratamiento, según localización en tercio esofágico.

Tabla 5. Comparaciones de número de eosinófilos y fibrosis según grupo (EE pre tratamiento, ERGE y normales).

Tabla 6. Comparaciones de los niveles de citoquinas según grupo (pacientes con Esofagitis eosinofílica pre tratamiento, ERGE y normales).

Tabla 7. Comparaciones antes y después del tratamiento en pacientes con Esofagitis eosinofílica.

Tabla 8. Comparaciones de los niveles de citoquinas antes y después del tratamiento en pacientes con Esofagitis eosinofílica.

Tabla 9. Matriz de correlaciones no paramétricas (Rho de Spearman) entre los niveles de citoquinas, edad, tiempo de evolución de los síntomas y grado de fibrosis en los pacientes con EE.

Relación de figuras incluidas en el texto.

Figura 1. Estructura de la pared esofágica.

Figura 2. Estructura histológica de la pared del esófago, que muestra la disposición de sus diferentes capas.

Figura 3. Varios aspectos endoscópicos de la EE.

Figura 4. Hallazgos histopatológicos típicos en la EE.

Figura 5. Pared de un bronquio en el asma.

Figura 6. Asma leve y moderada crónica con remodelación.

Figura 7. Se observa fibrosis en lámina propia pulmonar teñida con la técnica de Tricrómico de Masson.

Figura 8. Muestra de una biopsia endoscópica tomada con pinza de apertura lateral y teñida con Tricrómico de Masson de un paciente con EE. Obsérvese la profundidad del tejido que obtenido que contiene a) epitelio, b) lámina propia en su espesor completo y c) fibras musculares lisas de la *musculasis mucosae*.

Figura 9. Preparaciones histológicas teñidas con Tricrómico de Masson de a) un paciente con esófago normal, b) un paciente con ERGE y c) un paciente con EE, antes y d) después del tratamiento con propionato de fluticasona.

Figura 10. Densidad de eosinófilos/mm² pre y post tratamiento, en tercio superior e inferior, en lámina propia y en epitelio esofágicos de pacientes con EE y en controles.

Figura 11: Expresión génica de IL-5. No se demostró expresión génica de IL-5 en ninguno de los pacientes de ambos grupos controles (normales ni ERGE). Los pacientes con EE mostraron un marcado aumento en la expresión génica de IL-5 pre-tratamiento. Tras el tratamiento, los pacientes con EE presentaron reducción en más de la mitad de unidades arbitrarias en la expresión génica de la IL-5, aunque sin alcanzar niveles estadísticamente significativos ($p = 0,26$).

Figura 12: Expresión génica de TGF- β . El nivel basal de TGF- β en los controles normales se duplicó en el ERGE y que se multiplicó por 30 en los pacientes con EE, mostrando una sobreexpresión significativamente mayor ($p < 0,05$) que en los controles. La expresión de TGF- β también se redujo en más de la mitad tras el tratamiento, aunque no alcanzó significación estadística ($p = 0,78$).

Figura 13: Expresión génica de CCL-18. Se demostró expresión génica de CCL-18 en cantidades mínimas en los pacientes de los grupos controles (normales y ERGE). Los pacientes con EE mostraron un marcado aumento en la expresión génica de CCL-18 pre-tratamiento, hasta 300x las unidades arbitrarias que los controles. Tras el tratamiento, los pacientes con EE presentaron reducción estadísticamente significativa en la expresión génica de CCL-18 ($p < 0,05$).

Figura 14: Expresión génica de FGF-9. Los pacientes con EE pretratamiento (PRE) mostraron un significativo aumento de la expresión del gen de FGF-9 en 20 veces sobre la expresión de los grupos controles (CN: control normal y CR: control ERGE). Se observó una mayor expresión en el grupo de ERGE (CR) sin diferencias estadísticamente significativas respecto a los controles con esófago

normal. El tratamiento disminuyó 3 veces la expresión génica de FGF-9, aunque sin diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,1$)

Figura 15. Diagrama de dispersión de los cambios observados en el grado de fibrosis en relación a la edad de los pacientes con esofagitis eosinofílica.