

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**  
**Departamento de Medicina**



**TESIS DOCTORAL**

**Caracterización fenotípica y bases moleculares de los pacientes con eosinofilia esofágica respondedora a fármacos inhibidores de la bomba de protones**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Javier Molina Infante**

Directores

**Rafael Bañares Cañizares**  
**José Zamorano Quirantes**

**Madrid, 2016**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE  
FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE MEDINA**



**CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y BASES  
MOLECULARES DE LOS PACIENTES CON  
EOSINOFILIA ESOFÁGICA RESPONDEDORA A  
FÁRMACOS INHIBIDORES DE LA  
BOMBA DE PROTONES**

**TESIS DOCTORAL**

**JAVIER MOLINA INFANTE**

**2015**

**DIRECTORES**

**Rafael Bañares Cañizares**

**José Zamorano Quirantes**

**Rafael Bañares Cañizares**, Especialista en Medicina del Aparato Digestivo, Doctor en Medicina, Jefe de Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Universitario Gregorio Marañón y Director del Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Profesor Titular de la Universidad Complutense de Madrid

**José Zamorano Quirantes**, Especialista en Inmunología, Doctor en Biología Funcional, Coordinador de la Unidad de Investigación de Hospital San Pedro de Alcántara, Cáceres

**Certifican** que la Tesis Doctoral

**CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y BASES MOLECULARES DE  
LOS PACIENTES CON EOSINOFILIA ESOFÁGICA  
RESPONDEDORA A FÁRMACOS INHIBIDORES DE LA  
BOMBA DE PROTONES**

presentada por **Javier Molina Infante** para optar al grado de Doctor en Medicina ha sido realizado bajo nuestra dirección y cumple todos los requisitos necesarios para ser defendida ante el Tribunal de evaluación correspondiente

Dr. Rafael Bañares Cañizares

Dr. José Zamorano Quirantes

*Vinieras y te fueras dulcemente,  
de otro camino  
a otro camino. Verte,  
y ya otra vez no verte.  
Pasar por un puente a otro puente.  
—El pie breve,  
la luz vencida alegre—.  
Muchacho que sería yo mirando  
aguas abajo la corriente,  
y en el espejo tu pasaje  
fluir, desvanecerse.*

*Vicente Aleixandre, *Ámbito**

*Nunca traces tu frontera,  
ni cuides de tu perfil;  
todo eso es cosa de fuera*

*Antonio Machado, *Proverbios y Cantares**

*Suelo. Nada más.  
Suelo. Nada menos.  
Y que te baste con eso.  
Porque en el suelo los pies hincados,  
en el torso la testa firme,  
y allá, el socaire de la frente,  
la idea pura y en la idea pura  
el mañana, la llave  
- mañana- de lo eterno.  
Suelo. Ni más ni menos.  
Y que te baste con eso.*

*Pedro Salinas, *Presagios**

## **AGRADECIMIENTOS**

A María, mi apoyo incondicional, madre de Candela y Román. Nada sería sin ellos tres. A mi madre, a quién todo debo.

A Rafael Bañares, director de esta tesis, mi tutor durante la residencia y maestro de muchos. Una buena persona y enorme clínico e investigador que no ha parado de crecer desde que le conocí hace más de una década.

A José Zamorano, codirector de esta tesis, por sus lecciones de inmunología y respaldo firme en todas las aventuras que le he propuesto.

A Cristina Ripoll, compañera de residencia, personaje único y amiga de corazón, que me enseñó a conocer y amar la investigación.

A Javier Pérez Gisbert, mi generoso y sabio mentor en el mundo de la investigación.

A Pilar Robledo, mi jefa de servicio, por cuidar como sólo ella sabe mi carrera investigadora.

A todos aquellos que han tenido un papel fundamental en mi formación humana durante mi vida universitaria y profesional: Leyre García Benzaquén, la gran damnificada por mi amor inicial a la medicina; los compañeros de universidad y ulterior estudio del MIR en el San Juan Evangelista (Juan Torres, Juan Alday y Borja Ibáñez); Miguel Uriol, un amigo ejemplar durante la carrera universitaria; los residentes del Gregorio Marañón que convirtieron la época MIR en algo inolvidable (Nieves Fernández, Javi Garcia Sancho, Cristina Mauleón, Patricia Duque, Alicia Sen, Dani Llorente, Julio Ruiz); Magdalena Salcedo y Maria José Soria, las dos médicos de Digestivo que mayor impronta clínica y humana me han dejado; y todas las buenas gentes, especialmente Aniceto Lucena, con las que me he cruzado durante mi periplo laboral por Pontevedra, Getafe, Toledo, Sevilla y Plasencia.

A todo el personal auxiliar, de enfermería, de laboratorio y médicos del Servicio de Aparato Digestivo y de la Unidad de Investigación del Hospital San Pedro de Alcántara, por su desinteresada colaboración en todos los estudios y trabajos que hemos realizado y en todos los que nos quedan.

Mi labor investigadora es impensable sin la altruista conjunción de todo el grupo humano reseñado anteriormente.

# ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>Página 6</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>Página 11</b>
<b>LISTADO DE ABREVIATURAS UTILIZADAS .....</b>	<b>Página 15</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>Página 16</b>
1.1. ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA.....	Página 17
1.2. EOSINOFILIA ESOFÁGICA RESPONDEDORA A INHIBIDORES DE LA BOMBA DE PROTONES (IBP).....	Página 20
1.3. ENFERMEDAD POR REFLUJO GASTROESOFÁGICO.....	Página 23
1.4. ¿ES LA EOSINOFILIA ESOFÁGICA RESPONDEDORA A IBP EQUIVALENTE A LA ENFERMEDAD POR REFLUJO GASTROESOFÁGICO?.....	Página 24
1.5. LOS FÁRMACOS INHIBIDORES DE LA BOMBA DE PROTONES.....	Página 26
1.6. ¿ES CONCEBIBLE PENSAR QUE LOS IBP PUEDAN TENER EFECTOS ANTIINFLAMATORIOS INDEPENDIENTES DE LA SUPRESIÓN ÁCIDA GÁSTRICA?.....	Página 28
<b>2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</b>	<b>Página 31</b>
<b>3. COPIA DE LOS ESTUDIOS ORIGINALES.....</b>	<b>Página 38</b>
<b>4. METODOLOGÍA Y DISCUSIÓN RESUMIDA DE LOS RESULTADOS</b>	
Estudio 1.....	Página 40
Estudio 2.....	Página 51
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>Página 61</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>Página 64</b>
<b>7. MENCIONES Y PREMIOS RECIBIDOS POR LOS TRABAJOS DE ESTA TESIS.....</b>	<b>Página 71</b>

# RESUMEN

## INTRODUCCIÓN E HIPÓTESIS

La esofagitis eosinofílica (EEO) es una enfermedad esofágica alérgica de creciente incidencia. Afecta a niños y adultos jóvenes, principalmente hombres (razón 3:1), encontrándose enfermedades atópicas subyacentes (asma y/o rinoconjuntivitis estacional, dermatitis atópica, alergia alimentaria) en el 80%-90% de los casos.

Los **primeros criterios diagnósticos para la EEO**, publicados en el año 2007, se basaban en la conjunción de tres criterios mayores: **datos clínicos** (síntomas de disfunción esofágica), **datos histológicos** (infiltración epitelial esofágica por eosinófilos > 15 eos/cga) y **ausencia de respuesta a inhibidores de la bomba de protones (IBP) o pHmetría esofágica normal**. Sin embargo, la gran mayoría de los pacientes con síntomas de disfunción esofágica e inflamación esofágica eosinofílica eran diagnosticados de EEO sin confirmación de la respuesta a IBP o realización de pHmetría. Por tanto, existía un riesgo evidente de infraestimación de la respuesta a IBP en estos pacientes. Este incumplimiento de las premisas diagnósticas de consenso no sólo impedía cuantificar el porcentaje de pacientes que eran respondedores a IBP, sino que hacía que pacientes potencialmente respondedores a IBP recibieran otros tratamientos específicos para la EEO (corticoides tópicos, dietas de eliminación), los cuales, comparados con los IBP, provocan mayor cantidad de efectos adversos o podían limitar notablemente la calidad de vida de los pacientes. Inmediatamente después de la publicación de las primeras recomendaciones diagnósticas en el año 2007, se comunicaron pequeñas series retrospectivas de pacientes pediátricos con eosinofilia esofágica sintomática que alcanzaron remisión completa con IBP, tanto con pHmetría normal como patológica. Por tanto, estas series iniciales comenzaron cuestionar el papel diagnóstico de la pHmetría y su capacidad para predecir la respuesta a IBP.

Atendiendo a las premisas diagnósticas anteriormente reseñadas, tanto la respuesta a IBP como una pHmetría patológica en pacientes con eosinofilia esofágica sintomática descartaban la EEO y estos pacientes

debían ser diagnosticados de enfermedad por reflujo gastroesofágico, que era el principal diagnóstico diferencial de la EEO. Esta recomendación se basaba en la creencia de que el único efecto que producen los IBP es la reducción de la secreción ácida gástrica, por lo que una mejoría de la enfermedad con IBP sólo podía estar condicionada por la presencia de ácido en el esófago, que era eliminado por el IBP. En el año 2006, sólo unos meses antes de la publicación de las primeras recomendaciones diagnósticas de consenso, se publicó la primera serie retrospectiva de tres pacientes con características clínicas, endoscópicas e histológicas características de la EEO, pero que alcanzaron la remisión completa (clínica, endoscópica e histológica) tras tratamiento con IBP. Los propios autores del artículo argumentaban en la discusión que "**pese a que todos los hallazgos clínicos, endoscópicos e histológicos de los pacientes sugieren un origen alérgico de la enfermedad, la remisión completa de la misma tras tratamiento con IBP hace que su origen más probable sea la enfermedad por reflujo gastroesofágico**". Lejos de la argumentación original de los autores, estos primeros pacientes respondedores a IBP, sin características clínicas o endoscópicas de enfermedad por reflujo, hacían pensar que pudiera ser que la enfermedad no tuviera una relación clara con el reflujo y que los IBP puede que ejercieran un efecto distinto a la mera supresión de la producción ácida gástrica.

## OBJETIVOS

Los objetivos del **primer estudio** de esta tesis fueron cuantificar el porcentaje de pacientes con eosinofilia esofágica sintomática que alcanzaban la remisión tras tratamiento con IBP, evaluar la capacidad de la pHmetría esofágica para predecir la respuesta a IBP en estos pacientes, así como estudiar la existencia de características diferenciales entre los pacientes respondedores y no respondedores a IBP.

Los objetivos del **segundo estudio** de esta tesis fueron la caracterización de la inflamación esofágica a nivel molecular en condiciones basales en pacientes con eosinofilia esofágica sintomática, tanto respondedores y no respondedores a IBP. De igual manera, se evaluó el impacto de los IBP en la expresión molecular asociada a la

inflamación alérgica en pacientes respondedores a IBP y se comparó con el efecto de los corticoides tópicos en pacientes no respondedores a IBP.

## RESULTADOS

En el **primer estudio** de esta tesis, realizado de manera prospectiva en 35 pacientes adultos con eosinofilia esofágica sintomática sugestiva de EEO, se observó una **remisión completa** (clínica e histológica) en el **75%** de los pacientes incluidos tras tratamiento con IBP. Esta respuesta fue del **50%** en pacientes con características clínicas (disfagia/impactación alimentaria), endoscópicas (exudados, anillos, fisuras) e histológicas (> 15 eos/cga) de EEO. De igual manera, se documentó una **pobre correlación entre la respuesta a IBP y la exposición ácida del esófago en la pHmetría**. La remisión completa tras tratamiento con IBP ocurrió en el 80% de pacientes con pHmetría patológica y en el 33% de aquellos con pHmetría negativa. En los pacientes con datos endoscópicos de reflujo (esofagitis por reflujo, esófago de Barrett, estenosis péptica), la remisión con IBP aconteció en el 85% de los casos. Tras una evaluación fenotípica exhaustiva, **no se pudieron observar características diferenciales entre pacientes con eosinofilia esofágica respondedores y no respondedores a IBP**, en términos de variables demográficas, síntomas, hallazgos endoscópicos e histológicos.

En el **segundo estudio** de esta tesis, realizado de manera prospectiva en 53 pacientes adultos con eosinofilia esofágica sintomática sugestiva de EEO, se confirmó de nuevo el elevado porcentaje de remisión tras tratamiento con IBP (43%). La **expresión de marcadores de inflamación alérgica Th2 (eotaxina 3, IL-5, IL-13)**, analizada en condiciones basales en el esófago distal y proximal, fue **superponible en pacientes respondedores y no respondedores a IBP**. En los pacientes respondedores a IBP, **el tratamiento con IBP produjo a nivel molecular una reducción significativa de la expresión de todos los marcadores de inflamación alérgica Th2, efecto similar al producido por los corticoides tópicos en los pacientes no respondedores a IBP (eotaxina 3, IL-5, IL-13)**.

Finalmente, los IBP también condicionaron una mejoría sintomática y una reducción significativa de la eosinofilia esofágica distal, en pacientes no respondedores a IBP.

## **CONCLUSIONES**

**1) Un porcentaje superior al 50 % de los pacientes con infiltración eosinofílica esofágica sintomática presenta remisión clínica e histológica tras tratamiento con IBP.**

**2) Los resultados de la pHmetría esofágica muestran una pobre correlación con la respuesta a IBP, dado que la respuesta a IBP se pudo observar tanto en pacientes con pHmetría normal como patológica.**

**3) No se pudieron documentar diferencias fenotípicas en condiciones basales (demográficas, clínicas, endoscópicas, histológicas) entre los pacientes con eosinofilia esofágica sintomática respondedores y no respondedores a IBP.**

**Estos hallazgos contribuyeron a modificar los criterios diagnósticos de la enfermedad en la revisión actualizada del 2011, en la que se excluyó la pHmetría como criterio diagnóstico y la enfermedad por reflujo como principal diagnóstico diferencial de la EEO. Se acuñó oficialmente por primera vez el fenotipo "eosinofilia esofágica respondedora a IBP", para referirse a los pacientes con un fenotipo EEO que alcanzaban la remisión completa tras tratamiento con IBP.**

**4) No se evidenciaron diferencias en la expresión molecular de inflamación alérgica Th2 en las biopsias esofágicas basales entre pacientes con eosinofilia esofágica sintomática respondedores y no respondedores a IBP, sugiriendo una base alérgica común en ambas entidades.**

**5) En los pacientes respondedores a IBP, éstos fueron capaces de reducir significativamente la sobreexpresión de marcadores de inflamación alérgica, efecto similar al obtenido en pacientes no respondedores a IBP tras tratamiento con corticoides tópicos. Por tanto, dos tratamientos diferentes (IBP, corticoides) pueden tener efectos antiinflamatorios similares en pacientes con infiltración eosinofílica esofágica sintomática.**

**6) De manera adicional, los IBP produjeron una mejoría sintomática y de la inflamación esofágica a nivel distal en pacientes que no alcanzaban la remisión completa con IBP, efecto que pudiera estar relacionado con la supresión de la secreción ácida gástrica.**

**7) Globalmente, los resultados de esta tesis sugieren que la eosinofilia esofágica respondedora a IBP y la EEO debieran ser consideradas dentro del espectro de la misma enfermedad y no como entidades separadas.**

# SUMMARY

## INTRODUCTION AND HYPOTHESIS

Eosinophilic esophagitis (EoE) is an emerging chronic immune/antigen-mediated esophageal disease, affecting children and young adults, predominantly with male gender (ratio 3:1) and atopic comorbidities (allergic rhinitis or rhinoconjunctivitis asthma, food allergy, atopic dermatitis) in 80%-90% of patients.

The first consensus guidelines report on EoE was published in 2007. Diagnostic criteria proposed for EoE included 1) symptoms of esophageal dysfunction, mainly dysphagia/food impaction, 2) esophageal eosinophilic infiltration ( $> 15$  eos/HPF) and 3) either absence of response to proton pump inhibitor (PPI) therapy or demonstration of normal esophageal acid exposure on pH monitoring. Nevertheless, the majority of patients were given a diagnosis of EoE according to their clinico-pathological profile, but without a PPI trial or a pH monitoring. Therefore, responsiveness to PPI therapy was clearly underestimated. Unfulfilment of consensus diagnostic criteria did not only hamper to estimate the rate of patients responsive to PPIs, but also led to potential responders to PPIs undertaking treatments (e.g., elimination diets, topical steroids) with a worse safety profile and higher impact on the quality of life, as compared to PPI therapy. Soon after launching 2007 EoE guidelines, small retrospective series or case reports in children and adults highlighted the existence of symptomatic patients who met clinical, endoscopic and histological criteria for EoE with complete clinicopathologic remission on PPI therapy, either with a normal or pathological pH monitoring. These studies laid the foundation stone for questioning the validity of the first consensus guidelines on EoE, specifically pH monitoring as a diagnostic tool that could accurately predict response to PPI therapy.

According to the aforementioned diagnostic criteria, it was suggested that either a response to PPI therapy or increased acid exposure on pH monitoring in patients with symptomatic esophageal eosinophilia were consistent with gastroesophageal reflux disease (GERD). The premise underlying this recommendation was that only GERD, as an acid peptic disorder, could respond to the acid suppressing ability of PPI treatment. A

few months before 2007 guidelines, the first case reports of what now is recognized as PPI-responsive esophageal eosinophilia (PPI-REE) was published. Two children and an adult with clinical, endoscopic and histological data suggestive of EoE demonstrated complete resolution of esophageal eosinophilia in response to PPI therapy. Interestingly, the authors concluded in the discussion that *"while these patients' presentation was highly suggestive of allergic esophagitis, their symptoms, and the gross and histologic esophageal abnormalities normalized following treatment with a PPI, implicating acid reflux as the underlying cause"*. Beyond the authors' arguments, these very patients conversely suggested GERD might not play role in PPI-REE and PPI therapy may exert additional effects apart from inhibiting gastric acid output.

## **OBJECTIVES**

The first study of the present thesis aimed to evaluate the proportion of patients with symptomatic esophageal eosinophilia achieving clinical and histological remission on PPI therapy, to estimate the accuracy of esophageal pH monitoring to predict responsiveness to PPI therapy and to determine the existence of distinguishing features between responders and nonresponders to PPI therapy

The second study of the present thesis aimed to characterize the molecular basis of baseline esophageal inflammation in patients with symptomatic esophageal eosinophilia, either in responders and nonresponders to PPI therapy. Likewise, the molecular effect of PPIs in patients responders to PPI therapy was compared to than observed in patients unresponsive to PPI therapy. Finally, clinical, histological and molecular impact of PPI therapy on nonresponders to PPIs was assessed

## **RESULTS**

The first study of the present thesis, prospectively conducted in 35 consecutive adult patients with symptomatic esophageal eosinophilia, demonstrated that clinical and histological remission was accomplished in up to 75% of patients with PPI therapy. This response rate slightly diminished to 50% in patients with clinical (dysphagia/food impaction),

endoscopic (rings, furrows, exudates) and histological (> 15 eos/HPF) features suggestive of EoE. Esophageal pH monitoring showed a poor accuracy to predict responsiveness to PPI therapy in these patients. Complete remission with PPIs was achieved in 80% and 33% of patients with pathological and normal pH monitoring, respectively. In patients with endoscopic features of GERD (reflux esophagitis, Barrett esophagus, peptic stricture), complete remission was documented in up to 85% of patients. After undertaking a thorough phenotypic evaluation between responders and nonresponders to PPI therapy, no distinguishing clinical, endoscopic, pH monitoring or histological features were observed between groups.

The second study of the present thesis, prospectively conducted in 53 consecutive adult patients with symptomatic esophageal eosinophilia, reconfirmed a high proportion of patients (43%) achieving complete remission of PPI therapy. Baseline eotaxin-3 and Th2 cytokine gene expression (IL-5, IL-13) was indistinguishable between patients responders and nonresponders to PPI therapy. PPI monotherapy significantly downregulated oesophageal eotaxin-3/Th2-cytokine gene expression in PPI-REE, similarly to that seen in steroid-responsive EoE. A subset of patients not achieving complete remission of PPI therapy showed partial clinical and histological improvement on PPI therapy, although without an impact on cytokine gene expression.

## **CONCLUSIONS**

**1) Up to 50% of patients with symptomatic esophageal eosinophilia achieve clinical and histological remission on PPI therapy.**

**2) Esophageal pH monitoring poorly predicts responsiveness to PPI therapy in patients with symptomatic esophageal eosinophilia. Response to PPI therapy was documented with either pathological or normal pH monitoring.**

**3) No baseline distinguishing features (demographic, clinic, endoscopic, histological) could be demonstrated between responders and nonresponders to PPI therapy.**

**These findings were a major contribution to 2011 updated guidelines for EoE. Esophageal pH monitoring (as a diagnostic tool to predict response to PPI therapy) and GERD (as the main differential diagnosis for EoE) were excluded from the updated diagnostic criteria. Furthermore, the term "PPI-responsive esophageal eosinophilia" was first officially coined, referring to patients with clinical, endoscopic and histological data compatible with Eoe who achieve complete remission on PPI therapy.**

**4) Baseline eotaxin-3 and Th2 cytokine gene expression in esophageal biopsies was indistinguishable between patients responders and nonresponders to PPIs. These findings suggest a common allergic pathogenesis for both entities.**

**5) PPI monotherapy downregulated allergic gene expression in esophageal biopsies in patients responsive to PPI therapy. This effect was similar to that observed in nonresponders to PPIs after topical steroid therapy. Thus, two different treatments (PPIs and topical corticosteroids) achieved a similar anti-inflammatory effects on patients with symptomatic esophageal eosinophilia.**

**6) In addition, PPI therapy led to partial clinical and histological remission (in distal esophagus) in patients not achieving complete remission on PPI. This effect did not impact on the molecular profile of esophageal biopsies and is likely related to acid suppression.**

**7) Collectively, the studies of the present thesis suggest PPI responsive esophageal eosinophilia and EoE should be considered within the spectrum of a same disease and not as separate entities.**

## Abreviaturas utilizadas

**EEO**: Esofagitis EOsinofílica

**eos/cga**: EOSinófilos por Campo de Gran Aumento

**ERGE**: Enfermedad por Reflujo GastroEsofágico

**IBP**: Inhibidores de la Bomba de Protones

**IL**: InterLeucina

**OR**: Odds Ratio

**STAT6**: Signal Transducer and Activator of the Transcription 6

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA

La esofagitis eosinofílica (**EEo**) es una enfermedad crónica esofágica inmunoalérgica desencadenada primordialmente por alérgenos alimentarios, caracterizada clínicamente por síntomas de disfunción esofágica (habitualmente disfagia e impactación del bolo alimentario) e histológicamente por infiltración epitelial esofágica por leucocitos eosinófilos<sup>1</sup>.

La primera descripción clínica de la EEo, tal y como la conocemos hoy en día, fue realizada hace 20 años en Estados Unidos y Suiza<sup>2,3</sup>. Desde entonces, se ha convertido en una enfermedad emergente, con un incremento exponencial de la incidencia (6-8 casos por cada 100.000 habitantes y año) y de la prevalencia (43 casos por 100.000 habitantes) en nuestro medio<sup>4</sup>, así como en los Estados Unidos y otros países europeos (entre 36 y 54 casos por 100.000 habitantes y año)<sup>5</sup>, en un rango similar al descrito para la enfermedad inflamatoria intestinal. De hecho, la EEo es actualmente la segunda causa de inflamación esofágica, únicamente por detrás de la enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE), y es la primera causa de disfagia e impactación alimentaria en niños y adultos jóvenes<sup>6</sup>.

En la actualidad, se conoce parcialmente la patogénesis de la EEo, que incluye una respuesta inmunológica aberrante tras la exposición a alérgenos ambientales en individuos genéticamente predispuestos<sup>7</sup>. Así pues, la exposición a alérgenos alimentarios o aéreos provoca una respuesta de la inmunidad adaptativa mediada por células Th2, principalmente las interleucinas (IL) IL-4, IL-5 e IL-13, que estimulan la secreción local esofágica de eotaxina-3 a través de STAT6 (signal transducer and activator of the transcription 6)<sup>8</sup>. La eotaxina-3 es una potente quimiocina que atrae de manera específica eosinófilos al epitelio esofágico, los cuales una vez activados provocan por una parte, daño tisular local y a su vez facilitan el reclutamiento de otras células efectoras, como los mastocitos y los fibroblastos, que juegan un papel trascendental en la remodelación fibrosa del esófago a largo plazo (**ver Figura 1**)<sup>8,9</sup>.



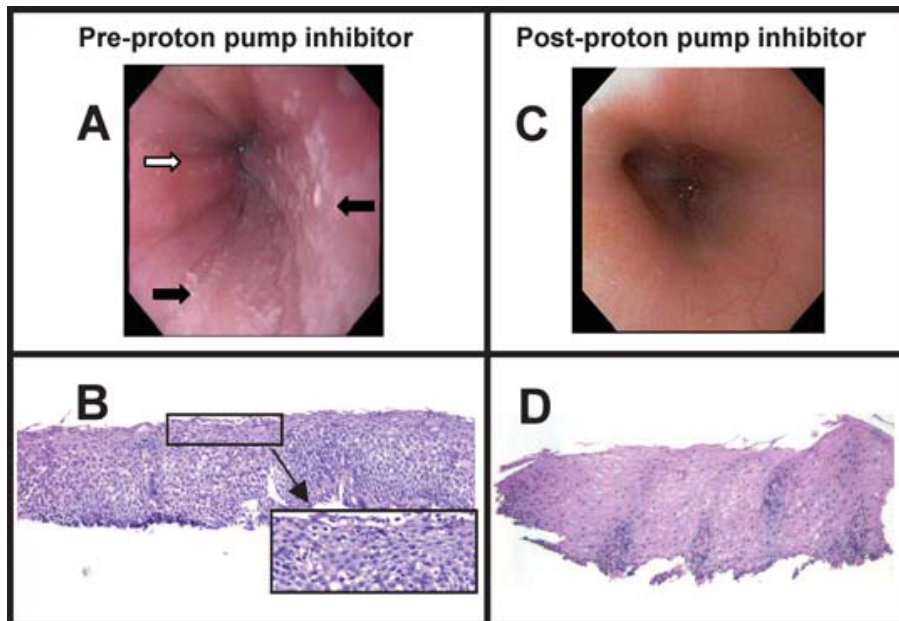
<b>Criterio clínico:</b> Síntomas de disfunción esofágica
<b>Criterio histológico:</b> detección de > 15 eosinófilos por campo de gran aumento en las biopsias esofágicas
<b>Diagnóstico diferencial:</b> ausencia de respuesta a IBP (hasta 2 mg/kg/día) o pHmetría esofágica normal

**Tabla 1.** Criterios diagnósticos de la EEO según las guías diagnósticas de consenso publicadas en el año 2007<sup>7</sup>

En estas guías clínicas del 2007 se afirmaba que el principal diagnóstico diferencial de la EEO era la enfermedad por reflujo gastroesofágico (**ERGE**), aunque era la norma considerar que la ERGE producía eosinofilia esofágica de bajo rango (< 7 eos/cga) y limitada al esófago distal<sup>12</sup>. Por tanto, las guías clínicas del 2007 establecían una separación dicotómica en pacientes con síntomas de disfunción esofágica y eosinofilia esofágica > 15 eos/cga: si no respondían a IBP o la pHmetría esofágica era negativa, eran pacientes con EEO; mientras que si respondían a IBP o la pHmetría mostraba exposición ácida patológica, deberían categorizarse como pacientes con ERGE. Pese a lo previamente descrito, la inmensa mayoría de los estudios publicados anterior y posteriormente a las guías diagnósticas del 2007 establecían el diagnóstico de la EEO en base a la presencia de síntomas y eosinofilia esofágica de alto rango (> 15 eos/cga), sin atender a la tercer premisa diagnóstica consignada en la Tabla 1 (ausencia de respuesta a IBP o pHmetría negativa)<sup>13-18</sup>. Por tanto, existía un riesgo evidente de infraestimación del porcentaje de pacientes con eosinofilia esofágica sintomática cuyos síntomas e inflamación podían revertir tras tratamiento sistemático con IBP.

## 1.2. EOSINOFILIA ESOFÁGICA RESPONDEDORA A IBP

La primera serie descrita de pacientes con *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* fue comunicada en el año 2006<sup>19</sup>. En ella se presentaban 3 pacientes de sexo masculino, 2 pediátricos y uno adulto, con datos clínicos, endoscópicos e histológicos característicos de EEO, que alcanzaron la remisión clínica e histológica tras tratamiento con IBP durante 2 meses. Los autores de esta primera serie concluyeron que *"mientras que la presentación de estos pacientes era altamente sugestiva de una esofagitis de origen alérgico, tanto los síntomas como las alteraciones histológicas y su normalización conjunta tras tratamiento con IBP implicaba al reflujo ácido como causa subyacente de la inflamación"*<sup>19</sup>. La base racional que sostenía esta caracterización diagnóstica era que únicamente la ERGE, como enfermedad producida por el ácido gástrico, era capaz de responder a un fármaco supresor de la secreción ácida gástrica, como los IBP<sup>20</sup>. Adhiriéndose de igual manera a esta premisa *a priori* asumida en la serie de pacientes con *eosinofilia esofágica respondedora a IBP*, las guías diagnósticas de 2007 consideraron que todo paciente con eosinofilia esofágica sintomática que se normalizara tras tratamiento con IBP o que presentara una exposición ácida no patológica en la pHmetría esofágica, debía ser considerado como paciente con ERGE<sup>12</sup>.



**Figura 2.** Se trata de uno de los 3 pacientes presentados en la primera serie de pacientes con eosinofilia esofágica respondedora a IBP, publicada en el 2006<sup>19</sup>. La endoscopia inicial mostraba fisuras longitudinales, exudados blanquecinos y edema mucoso, mientras que la histología demostraba un infiltrado eosinofílico > 15 eos/cga. Todos los síntomas y alteraciones endoscópicas e histológicas desaparecieron tras tratamiento con omeprazol 20 mg cada 12 horas.

En el año 2009 se publicó una serie retrospectiva de 36 niños con fenotipo sugerente de EEO (disfagia e infiltración eosinofílica > 15 eos/cga), en los cuales se había realizado pHmetría esofágica y que habían sido tratados con dosis altas de IBP y reevaluados endoscópicamente<sup>21</sup>. El 39% de los pacientes con un fenotipo de EEO presentaban remisión de los síntomas y de los hallazgos histológicos durante el tratamiento con dosis altas de IBP. Cabe destacar que se documentó la remisión completa con IBP en el 41% de pacientes con pHmetría patológica, pero también en el 45% de pacientes con pHmetría normal<sup>21</sup>. Por tanto, este trabajo expuso por primera vez la posibilidad de que un porcentaje elevado de los pacientes con fenotipo sugerente de EEO fueran respondedores a IBP y cuestionó la validez de la pHmetría dentro de los criterios diagnósticos preconizados en las guías clínicas de 2007<sup>12</sup>.

De igual manera, en el año 2010 se publicó el primer ensayo clínico en el que 30 pacientes con fenotipo EEO fueron aleatorizados a recibir fluticasona en aerosol deglutida (440 mcg/12 h) o IBP (esomeprazol 40 mg/día) durante 8 semanas con reevaluación endoscópica e histológica posterior<sup>22</sup>. No se registraron diferencias significativas en la tasa de

remisión clínica (25% vs. 50%,  $p= 0.4$ ) e histológica entre grupos (15% vs. 33%,  $p= 0.7$ ). Si bien se trataba de un ensayo clínico con un tamaño muestral muy pequeño y sujeto, por tanto, a un error estadístico tipo II, se evidenciaba nuevamente la existencia de una proporción importante de pacientes (33%) con fenotipo EEO que alcanzaban la remisión clínica e histológica con IBP. Dentro de los pacientes evaluados, se documentó una pHmetría patológica en la mitad de los pacientes por grupo. Sin embargo, no se realizó un subanálisis del porcentaje de pHmetrías esofágicas patológicas y normales entre respondedores a fluticasona e IBP, lo cual hubiera sido de gran utilidad para valorar la rentabilidad diagnóstica de la pHmetría.

### **1.3. ENFERMEDAD POR REFLUJO GASTROESOFÁGICO**

Tal y como se ha expuesto anteriormente, es bien conocido que la patogénesis de la EEO radica en el desencadenamiento aberrante de una potente respuesta alérgica Th2 tras el contacto con alérgenos alimentarios o ambientales. El aumento de los niveles de citocinas proinflamatorias Th2 (IL-4, IL-5, IL-13) promueve la producción esofágica de quimocinas (eotaxina-3) que reclutan de manera específica leucocitos eosinófilos dentro del epitelio esofágico<sup>7,8</sup>.

Por otra parte, la ERGE se caracteriza por la existencia de paso retrógrado de contenido ácido gástrico suficiente para producir síntomas o lesiones<sup>23</sup>. Pese a que se trata de una enfermedad multifactorial, la causa más importante en su patogénesis es la debilidad del esfínter esofágico inferior, debida a un número patológicamente elevado de relajaciones transitorias<sup>24</sup>. El material refluido puede romper la integridad de barrera epitelial esofágica distal y permite el contacto del ácido con los nociceptores del espacio intracelular, lo que desencadena los síntomas<sup>25</sup>. Es sobradamente conocido que la ERGE puede causar infiltración eosinofílica, aunque ésta ha sido considerada históricamente de bajo rango (< 7 eo/cga) y confinada a los segmentos distales, tal y como se postuló en las guías clínicas de EEO en 2007<sup>12</sup>. A nivel celular y molecular, la ERGE suele inducir un reclutamiento intraepitelial esofágico de leucocitos polimorfonucleares y, en menor medida, de eosinófilos, que se asocia a la presencia local de citocinas proinflamatorias Th 1 (IL-8, RANTES, MCP-1) y NF-κB<sup>25-27</sup>.

## **1.4. ¿ES LA EOSINOFILIA ESOFÁGICA RESPONDEDORA A IBP EQUIVALENTE A LA ENFERMEDAD POR REFLUJO GASTROESOFÁGICO?**

La eosinofilia esofágica esofágico no es una lesión histológica específica de la EEO y puede acontecer también en la ERGE, si bien se ha aceptado de manera arbitraria que la infiltración intraepitelial esofágica en la EEO es difusa y de alto rango (> 15 eos/cga), mientras que en la ERGE es de bajo rango (< 7 eos/cga) y confinada a los tramos distales del esófago<sup>12</sup>. Asimismo, ambas entidades pueden solaparse con cierta frecuencia, lo cual puede añadir dificultades diagnósticas para diferenciarlas. La ERGE es la enfermedad del tubo digestivo alto más frecuente y afecta al 15-30% de la población adulta occidental, habitualmente hombres entre la 2ª y 5ª década de la vida, coincidiendo por tanto en género y franja etaria de aparición con la EEO<sup>7,12,24</sup>. En este sentido, se ha descrito recientemente una elevada prevalencia de ERGE (definida mediante la presencia de una pHmetría patológica) en la EEO, de hasta el 38% y 56%<sup>22,28</sup>.

Pese a la posibilidad de solapamiento de ambas entidades (ERGE y EEO), las primeras guías clínicas de diagnóstico y tratamiento de la EEO sugirieron una distinción dual diagnóstica basada en la respuesta al tratamiento, en la creencia de que la única enfermedad esofágica que podía responder a IBP era la ERGE. Sin embargo, los síntomas (disfagia, impactación alimentaria), los hallazgos endoscópicos (anillos, fisuras, exudados) e histológicos (eosinofilia > 15 eos/cga) de los pacientes con *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* eran distintos de los conocidos hasta ese momento en la ERGE. Por tanto, cabía la posibilidad de que la *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* fuera una entidad clínica no del todo equivalente a la ERGE, sino más bien parecida a la EEO o, como mínimo, derivada de la interacción entre la ERGE y la EEO.

En el año 2007, coincidiendo con la publicación de las guías clínicas reseñadas con anterioridad, un artículo de revisión evaluó múltiples mecanismos de interacción potenciales entre la ERGE y la EEO<sup>29</sup>, proponiendo que una diferenciación rígida entre ambas entidades basada en la respuesta al tratamiento con IBP, tal y como recomendaban las guías clínicas del 2007<sup>7</sup>, podría ser inadecuada (**Tabla 2**). De hecho, estos

autores sugirieron no asumir a priori ningún diagnóstico y reevaluar a todos los pacientes tras tratamiento sistemático con IBP, independientemente de los datos clínicos, endoscópicos e histológicos<sup>29</sup>. Es más, dada la existencia de potenciales efectos antiinflamatorios de los IBP independientes de la supresión de ácido, estos autores postulaban que no se podría descartar completamente un diagnóstico de EEO en pacientes con respuesta a IBP.

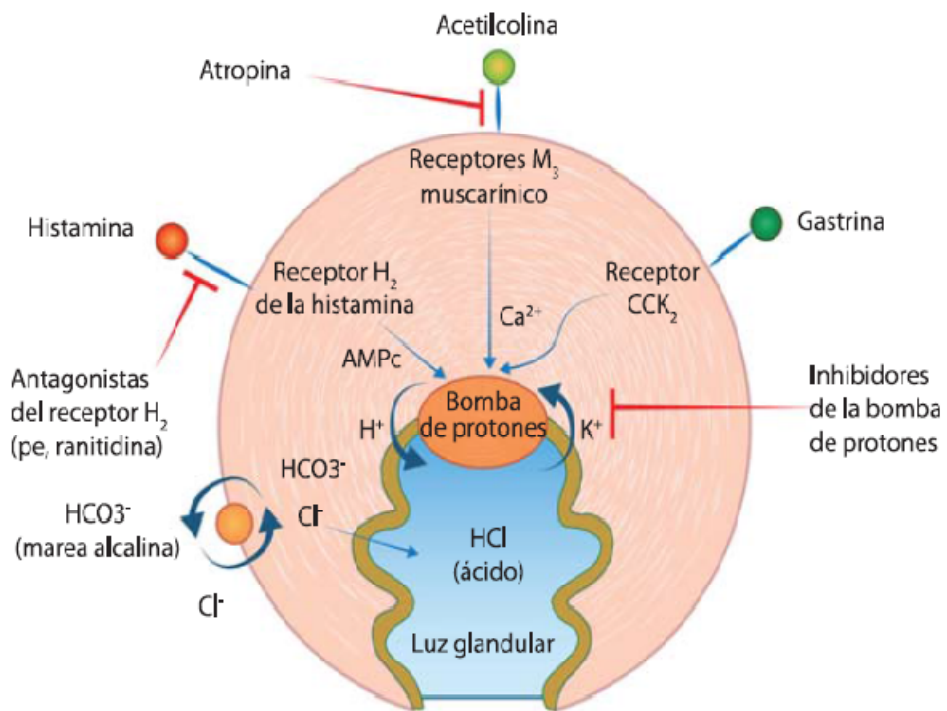
<b>La ERGE puede inducir infiltración eosinofílica inespecífica de bajo rango</b>
La exposición al ácido de las células epiteliales puede incrementar la expresión de las moléculas de adhesión reconocidas por los eosinófilos
La exposición al ácido de las células epiteliales puede estimular el flujo sanguíneo local y aumentar la producción de citocinas que atrapan eosinófilos
<b>La ERGE puede contribuir a causar EEO</b>
La lesión epitelial por el ácido puede romper la integridad de la barrera epitelial, ensanchando los espacios intercelulares y permitiendo la migración transepitelial de alérgenos alimentarios, que en condiciones normales no serían presentados a las células de capas más profundas
La lesión epitelial por el ácido puede condicionar atrapamiento de células inmunes en el epitelio esofágico
<b>La EEO puede contribuir a causar ERGE</b>
Los productos secretados por los eosinófilos pueden inducir alteraciones de la motilidad esofágica y reducir el tiempo de aclaramiento del material refluido
Los cambios estructurales producidos por la EEO (engrosamiento mural, fibrosis) pueden condicionar disfunción del músculo esofágico a nivel del cuerpo y del esfínter esofágico inferior
<b>La ERGE y la EEO pueden coexistir sin relación casual</b>

**Tabla 2.** Explicaciones potenciales para la posible interacción y asociación entre la ERGE y la EEO<sup>29</sup>, por los que se cuestionaba una diferenciación dicotómica entre ambas entidades basada en la respuesta a IBP.

## 1.5. LOS FÁRMACOS INHIBIDORES DE LA BOMBA DE PROTONES (IBP)

Los fármacos inhibidores de la bomba de protones (IBP) (omeprazol, pantoprazol, lansoprazol, rabeprazol, esomeprazol) son los fármacos más eficaces para suprimir la secreción ácida del estómago y son el tratamiento de elección en la ERGE, la enfermedad ulcerosa péptica, la erradicación de la infección por *Helicobacter pylori* y el síndrome de Zollinger-Ellison<sup>30</sup>.

Debido a su pKa 4-5, los IBP se mantienen permanentemente en su forma inactiva no protonizada al atravesar la cámara gástrica, al ser rápidamente absorbidos en el duodeno y durante su estancia en el torrente sanguíneo, donde el pH es 7,4. Una vez que el IBP alcanza su diana terapéutica (el canalículo secretor de la célula parietal gástrica), donde el pH es 1, el 99,9% del fármaco se activa y es capaz de generar enlaces covalentes con los residuos cisteína (alcalinización de los grupos cisteína) de la subunidad  $\alpha$  de la bomba de protones  $H^+K^+$ -ATPasa, inhibiendo de manera irreversible su capacidad de secretar iones  $H^+$  a la luz (intercambiados por  $K^+$ ) para su unión con el  $Cl^-$  y ulterior formación del ácido clorhídrico (HCl). Dado que la bomba de protones es el último paso en la secreción de ácido, los IBP son las moléculas con mayor eficacia antisecretora<sup>30</sup> (**Figura 3**).



**Figura 3.** Modelo ilustrativo de la producción de ácido y su regulación dentro de la célula parietal.

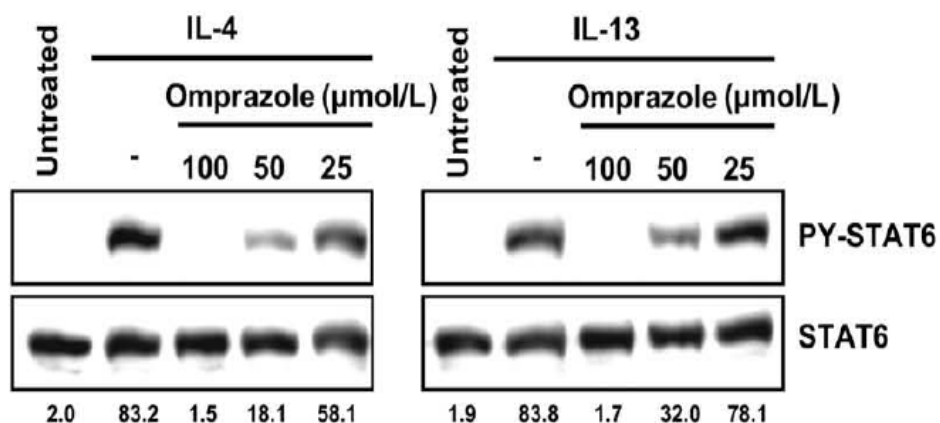
Todas las señales intracelulares estimuladoras del ácido (acetilcolina, gastrina, histamina) convergen finalmente en la activación de la bomba de protones H<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPasa, que dona H<sup>+</sup> a la luz (que al unirse al Cl<sup>-</sup> dará ácido clorhídrico) e introduce K<sup>+</sup> a la célula. Los inhibidores de la bomba de protones (IBP) actúan bloqueando dicha bomba H<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPasa, mediante la creación de enlaces covalentes con los residuos cisteína (alquilación de los grupos cisteína) de la subunidad α de la bomba de protones.

## 1.6 ¿ES CONCEBIBLE PENSAR QUE LOS IBP PUEDEN TENER EFECTOS ANTIINFLAMATORIOS INDEPENDIENTES DE LA SUPRESIÓN ÁCIDA GÁSTRICA?

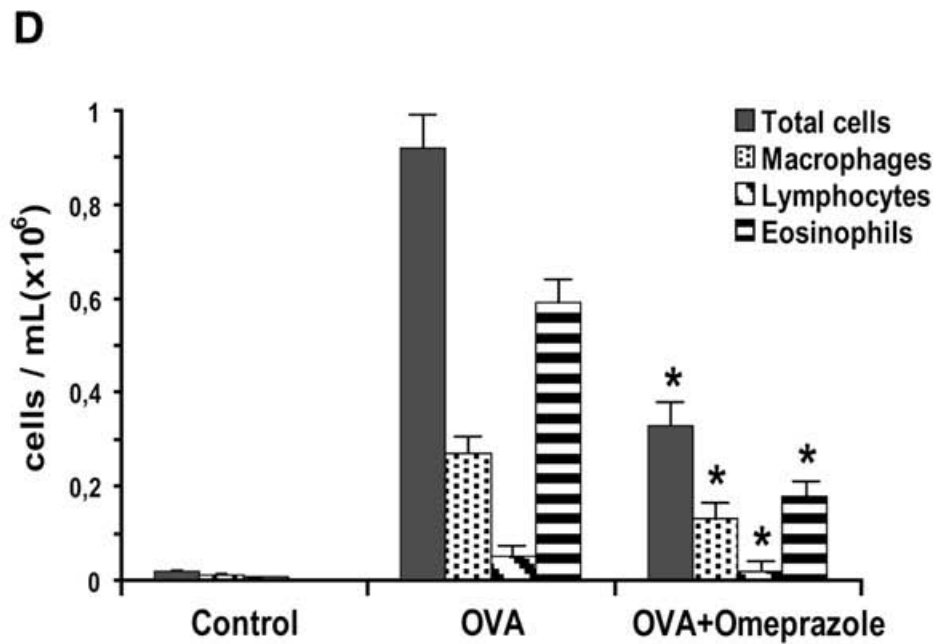
Tal y como se ha mencionado anteriormente, la mejoría de los síntomas y hallazgos histológicos esofágicos tras tratamiento con IBP han sido históricamente considerados como evidencia indefectible de ERGE, en base a la premisa de que sólo el reflujo ácido gastroesofágico puede responder al efecto supresor de la secreción ácida gástrica de los IBP<sup>12,19</sup>.

Sin embargo, se han documentado *in vitro* propiedades antioxidantes y efectos antiinflamatorios de los IBP sobre los eosinófilos, los neutrófilos y los monocitos<sup>31</sup>. Dado que estos estudios experimentales en un medio no ácido, se ha sugerido que los IBP pudieran tener efectos directos antiinflamatorios, independientes de su efecto sobre la secreción ácida gástrica. Nuestro grupo de trabajo publicó en el año 2009 la primera evidencia científica de que los IBP podrían tener efectos antiinflamatorios en un modelo experimental de asma<sup>32</sup>. El mismo grupo de investigadores había conseguido demostrar previamente un efecto novedoso de un inhibidor de la proteasa (n-alpha-tosyl-L-phenylalanine-chloromethyl ketone), consistente en su capacidad de inhibir la activación de STAT6<sup>33</sup>. Este efecto no era un efecto de clase, ya que no era compartido por otros inhibidores de la proteasas, sino que se relacionaba con su capacidad alquilante sobre los grupos cisteína (efecto similar a que realizan los IBP en la bomba de protones). Por tanto, la hipótesis del estudio era que los IBP podrían mejorar el asma [enfermedad prototípicamente alérgica con múltiples analogías con la EEO, en la que se produce una reacción sistémica con liberación de citocinas Th2 (IL-4, IL-5, IL-13) reguladas mediante STAT6], a través de una inhibición directa de STAT6. En primer lugar, se consiguió demostrar en cultivos de células que diversos tipos de IBPs (omeprazol, lansoprazol y esomeprazol) poseían la capacidad *in vitro* de inhibir la activación de STAT 6 tras estimulación con IL-4 e IL-13, de una manera dosis-dependiente (**Figura 4**)<sup>32</sup>. De manera relevante, este efecto parecía universal porque fue observado con múltiples líneas celulares de distinta estirpe (mieloide, linfoide, fibroblastos, pulmón y

colon). Posteriormente, se realizó un modelo experimental clásico de asma en ratones, consistente en presensibilización con ovoalbúmina intraperitoneal y posterior inhalación de una solución de ovoalbúmina al 1% los días 14 y 17 tras la presensibilización. Un subgrupo de animales recibió omeprazol oral (40 mg/kg/día) desde el día 15 al 20 tras la presensibilización intraperitoneal. En el día 21, se realizó un lavado broncoalveolar previa anestesia de los animales, donde se pudo objetivar una reducción significativa de todas las células inflamatorias en los animales tratados con omeprazol, incluidos los eosinófilos, macrófagos y linfocitos (**Figura 5**). Este estudio mostró por primera vez efectos antiinflamatorios específicos *in vitro* (inhibición de STAT6 inducida por citoquinas Th2) e *in vivo* (reducción de células inflamatorias en el lavado broncoalveolar de un modelo murino de asma) de los IBP sobre una enfermedad alérgica como el asma. Por tanto, se abría la posibilidad de que la mejoría de la inflamación eosinofílica en el asma con IBP estuviera mediada por mecanismos antiinflamatorios, independientes de su acción sobre la inhibición de la secreción ácida gástrica.



**Figura 4.** Efecto de los IBP sobre STAT6 en cultivos celulares, tras estimulación con IL-4 e IL-13, tal y como ocurre en las enfermedades alérgicas Th2 (asma, EEO), demostrado por nuestro grupo de trabajo en el año 2009<sup>32</sup>. La adición de omeprazol al medio de cultivo inhibía la activación de STAT6 de manera dosis-dependiente.



**Figura 5.** Efecto de los IBP sobre un modelo experimental de asma en ratones, demostrado por nuestro grupo de trabajo en el año 2009<sup>32</sup>. Se objetivó una reducción significativa de células inflamatorias (eosinófilos, macrófagos y linfocitos) en el lavado broncoalveolar de los animales tratados con omeprazol oral (40 mg/Kg/día) en los 5 días previos.

En el año 2013, se publica la primera evidencia acerca de potenciales efectos antiinflamatorios *in vitro* de los IBP en cultivos de células esofágicas provenientes de pacientes con ERGE y con EEO<sup>34</sup>. Estas células, independientemente del grupo de pacientes de origen, fueron capaces de sobreexpresar eotaxina-3 cuando se estimulaban con citocinas Th2 (IL-4 e IL-13), subrayando la pluripotencialidad innata de las células esofágicas para desarrollar inflamación alérgica. La adición de omeprazol al medio de cultivo consiguió la inhibición de la expresión de eotaxina-3, que es la quimiocina con mayor capacidad de atrapamiento de eosinófilos. Dado que estos estudios experimentales se realizaron sin ácido ni células gástricas, los autores postularon que estos hallazgos sugerían que la disminución de la eosinofilia esofágica condicionada por los IBP pudiera estar mediada por efectos antiinflamatorios independientes de la inhibición de la secreción ácida gástrica<sup>34</sup>.

## **2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

## Estudio 1

### **Esophageal eosinophilic infiltration responds to proton pump inhibition in most adults**

Javier Molina-Infante, Lucía Ferrando-Lamana, Cristina Ripoll, Moisés Hernández-Alonso, José María Mateos, Miguel Fernández-Bermejo, Carmen Dueñas, Nuria Fernández-González, Eva María Quintana, María Ángeles González-Núñez .

*Clinical Gastroenterology and Hepatology 2011;9:110-7.*

*Factor de impacto: 6,53*

*(Primer decil 7/75 Gastroenterología y Hepatología)*

## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### Hipótesis

Las primeras guías de consenso sobre el diagnóstico de la EEO, publicadas en el año 2007, establecieron una división diagnóstica dicotómica en pacientes con eosinofilia esofágica sintomática: EEO en caso de ausencia de respuesta clínica e histológica tras tratamiento con IBP o la documentación de una pHmetría negativa, o bien ERGE si respuesta clínica e histológica a tratamiento con IBP o una pHmetría patológica.

Existían datos preliminares que apuntaban a que pacientes con características clínicas, endoscópicas e histológicas sugestivas de EEO podían alcanzar la remisión completa tras tratamiento con IBP. Pese a las recomendaciones de las guías de consenso, el diagnóstico de EEO en la inmensa mayoría de estudios publicados hasta entonces se basaba en los hallazgos clínicos, endoscópicos e histológicos, sin comprobación de su resolución con IBP. Era importante categorizar el porcentaje de pacientes respondedores a IBP para evitar endoscopias y escaladas terapéuticas (dietas restrictivas, corticoides tópicos) innecesarias. De igual manera, existían pequeñas series retrospectivas que cuestionaban la pHmetría como criterio diagnóstico suficiente para el diagnóstico de EEO, sin necesidad de evaluar la respuesta al tratamiento con IBP. Ningún estudio había evaluado hasta la fecha de manera prospectiva qué proporción de pacientes con eosinofilia esofágica (> 15 eos/cga) sintomática eran respondedores a IBP y la correlación existente entre la respuesta a IBP y la pHmetría esofágica.

La hipótesis del estudio era que había en la bibliografía médica una evidente infraestimación del porcentaje de pacientes con *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* y que, en contra de las recomendaciones de las guías clínicas de consenso publicadas en el año 2007, la pHmetría esofágica podría no ser un criterio diagnóstico suficiente para predecir la respuesta a IBP en estos pacientes.

## Objetivos

- Evaluar prospectivamente el porcentaje de respuesta a tratamiento sistemático con IBP en pacientes con eosinofilia esofágica sintomática sugestiva de EEO.
- Analizar la reproducibilidad de la pHmetría esofágica como herramienta diagnóstica para discernir entre pacientes con ERGE y EEO
- Determinar las características fenotípicas diferenciadoras entre pacientes con eosinofilia esofágica sintomática, con y sin respuesta a tratamiento con IBP.

## **Estudio 2**

### **Proton pump inhibitor-responsive oesophageal eosinophilia correlates with downregulation of eotaxin-3 and Th2 cytokines overexpression**

**Javier Molina-Infante, María Dolores Rivas, Moisés Hernandez-Alonso, Gema Vinagre-Rodriguez, José María Mateos-Rodríguez, Carmen Dueñas, Belén Pérez-Gallardo, Lucía Ferrando-Lamana, Nuria Fernández-González, Rafael Bañares, José Zamorano.**

***Alimentary Pharmacology & Therapeutics 2014;40:955-65.***

***Factor de impacto: 5,47***

***(Primer decil 8/75 Gastroenterología y Hepatología)***

## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **Hipótesis**

Las guías actualizadas de consenso sobre el diagnóstico de la EEO, publicadas en el año 2011, establecieron como uno de los avances más significativos de la investigación en la enfermedad la descripción de un nuevo fenotipo, la *eosinofilia esofágica respondedora a IBP*, destacándose especialmente el primer artículo de esta tesis doctoral. La *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* se definió como una entidad nosológica con hallazgos clínicos, endoscópicos e histológicos sugerentes de EEO, que se resolvían de manera completa tras el tratamiento con IBP.

La EEO se definió en las guías actualizadas del 2011 (aún vigentes) como una enfermedad inmunoalérgica crónica mediada por una respuesta inflamatoria alérgica Th2 (IL-4, IL-5, IL-13) desencadenada por alergenios alimentarios o ambientales. Sin embargo, se desconocía si *la eosinofilia esofágica respondedora a IBP (que se parecía la EEO, pero que respondía al tratamiento con IBP, como la ERGE)* era simplemente una variante de la ERGE, una variante de la EEO o una enfermedad distinta. Respecto a los efectos de los IBP, algunos estudios preliminares habían mostrado pacientes con sospecha de EEO que presentan remisión sintomática tras tratamiento con IBP, pese a la ausencia de curación histológica<sup>21,35,39</sup>. Estudios experimentales recientes habían demostrado potenciales efectos anti-inflamatorios *in vitro* de los IBP. Por tanto, se encontraban pendiente de definición las bases moleculares y el efecto de los IBP *in vivo* a nivel clínico, histológico y molecular en pacientes con *eosinofilia esofágica respondedora a IBP*.

## Objetivos

- Valorar la correlación entre la respuesta clínica e histológica tras tratamiento con IBP en pacientes con sospecha clínica, endoscópica e histológica de EEO.
- Evaluar y comparar en condiciones basales la expresión de inflamación alérgica Th2 (eotaxina-3 y citoquinas Th2) en pacientes con *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* y EEO.
- Analizar el efecto de los IBP sobre la expresión génica inflamatoria Th2 en pacientes con *eosinofilia esofágica respondedora a IBP*, comparándolo con el efecto de los corticoides tópicos en pacientes con EEO.
- Investigar el efecto de los IBP sobre la sintomatología de los pacientes con EEO (sin remisión histológica tras tratamiento con IBP).

# **3. COPIA DE LOS ESTUDIOS ORIGINALES**

# ORIGINAL ARTICLES—ALIMENTARY TRACT

## Esophageal Eosinophilic Infiltration Responds to Proton Pump Inhibition in Most Adults

JAVIER MOLINA-INFANTE,\* LUCIA FERRANDO-LAMANA,† CRISTINA RIPOLL,§ MOISES HERNANDEZ-ALONSO,\* JOSE M. MATEOS,\* MIGUEL FERNANDEZ-BERMEJO,\* CARMEN DUEÑAS,\* NURIA FERNANDEZ-GONZALEZ,† EVA M. QUINTANA,† and MARIA ANGELES GONZALEZ-NUÑEZ‡

Departments of \*Gastroenterology and †Pathology, Hospital San Pedro de Alcantara, Caceres; and ‡Department of Digestive Diseases, Hospital Gregorio Marañón, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD), Madrid, Spain

See Editorial on page 99.

**BACKGROUND & AIMS:** Despite consensus recommendations, eosinophilic esophagitis (EoE) is commonly diagnosed upon esophageal eosinophilic infiltration (EEI; based on  $\geq 15$  eosinophils per high power field; eo/HPF). We evaluated the prevalence of EEI before and after proton pump inhibitor (PPI) therapy and assessed the accuracy of EEI and pH monitoring analyses. **METHODS:** Biopsies were taken from the upper-middle esophagus of 712 adults with upper gastrointestinal symptoms who were referred for endoscopy due to upper gastrointestinal symptoms. Patients with EEI were treated with rabeprazole (20 mg, twice daily) for 2 months. EoE was defined by persistent symptoms and  $>15$  eo/HPF following PPI therapy. **RESULTS:** Thirty-five patients (4.9%) had EEI, of whom 55% had a history of allergies, and 70% had food impaction or dysphagia as their primary complaint. Twenty-six EEI patients (75%) achieved clinicopathological remission with PPI therapy; of these, 17 had GERD-like profile (EEI  $<35$  eo/HPF and objective evidence of reflux, based on endoscopy or pH monitoring), and 9 had EoE-like profile (EEI 35–165 eo/HPF, typical EoE symptoms and endoscopic findings). The PPI response was 50% in the EoE-like profile patients. The PPI-response was 50% in EoE-like profile patients. Likewise, PPI-responsive EEI occurred with normal (33%) and pathologic (80%) pH monitoring. Higher histologic cut-off values improved specificity and positive predictive for EoE (35%–35% for  $>20$  eo/HPF; 46%–39% for  $>24$  eo/HPF; 65%–50% for 35 eo/HPF). **CONCLUSIONS:** In adults with EEI, 75% of unselected patients and 50% with an EoE phenotype respond to PPI therapy; pH monitoring is poorly predictive of response. Patients with PPI-responsive EEI  $>35$  eo/HPF are phenotypically undistinguishable from EoE patients. EoE might be overestimated without clinical and pathologic follow-up of patient response to PPI.

**Keywords:** Allergy; Eosinophil; Eosinophilic Esophagitis; Esophageal pH Monitoring; Gastroesophageal Reflux Disease; Proton Pump Inhibitors; Sensitivity; Specificity.

Eosinophilic esophagitis (EoE) is an emerging inflammatory esophageal disorder in adults which usually presents in young allergic males with dysphagia and food impaction. Current

standard for diagnosis remains esophageal biopsies revealing esophageal eosinophilic infiltration (EEI) with a peak count over 15 eosinophils per high power field (eo/HPF), correlated with a compatible clinical context.<sup>1</sup> Gastroesophageal reflux disease (GERD) constitutes its main differential diagnosis, although eosinophilic infiltration in this condition is believed to be minor ( $\leq 7$  eo/HPF) and confined to the distal esophagus.<sup>2,3</sup> According to the current consensus statement,<sup>1</sup> histological suspicion of EoE should always be confirmed by unresponsiveness to high dose proton pump inhibitor (PPI) therapy or a normal pH esophageal monitoring. Nonetheless, the vast majority of studies concerning EoE have based the diagnosis exclusively on EEI,<sup>4</sup> including the largest series recently reported.<sup>3,5</sup> Indeed, few prospective studies have systematically ruled out GERD in EEI patients, using either a pH monitoring or a PPI trial.<sup>2,6,7</sup> On the other hand, recent small series or case reports in children and adults have concurrently highlighted the existence of symptomatic patients who met clinical, endoscopic, and histological criteria for EoE with complete clinicopathologic remission on PPI therapy.<sup>8–12</sup> Additionally, no differences in therapeutic response have been recently observed when comparing esomeprazole to topical steroids in adults with a diagnosis of EoE based on EEI.<sup>13</sup>

Therefore, the major aims of this study were: (1) to determine the prevalence of EEI, before and after PPI therapy, both in the overall sample and in high risk subpopulations; (2) to evaluate the operating characteristics of current diagnostic parameters for EoE, comparing the accuracy of histology and pH esophageal monitoring to a systematic therapeutic trial of a PPI; and (3) to examine the distinguishing features among EEI responsive and nonresponsive to PPI therapy.

**Abbreviations used in this paper:** CI, confidence interval; EEI, esophageal eosinophilic infiltration; eo/HPF, eosinophils per high power field; EoE, eosinophilic esophagitis; GERD, gastroesophageal reflux disease; GI, gastrointestinal; HPF, high power field; IgE, immunoglobulin E; IL, interleukin; OR, odds ratio; PPI, proton pump inhibitor; PPI-R, PPI responsive.

© 2011 by the AGA Institute  
1542-3565/\$36.00  
doi:10.1016/j.cgh.2010.09.019

# Proton pump inhibitor-responsive oesophageal eosinophilia correlates with downregulation of eotaxin-3 and Th2 cytokines overexpression

J. Molina-Infante\*, M. D. Rivas†, M. Hernandez-Alonso\*, G. Vinagre-Rodríguez\*, J. M. Mateos-Rodríguez\*, C. Dueñas-Sadornil\*, B. Perez-Gallardo\*, L. Ferrando-Lamana‡, N. Fernandez-Gonzalez‡, R. Bañares§ & J. Zamorano†

\*Department of Gastroenterology, Hospital San Pedro de Alcantara, Caceres, Spain.

†Research Unit and Molecular Biology Laboratory, Hospital San Pedro de Alcantara, Caceres, Spain.

‡Department of Pathology, Hospital San Pedro de Alcantara, Caceres, Spain.

§Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, CIBEREHD, Madrid, Spain.

## Correspondence to:

Dr J. Molina-Infante, Department of Gastroenterology, Hospital San Pedro de Alcantara, C/ Pablo Naranjo s/n 10003, Cáceres, Spain.  
E-mail: xavi\_molina@hotmail.com

## Publication data

Submitted 20 June 2014  
First decision 9 July 2014  
Resubmitted 22 July 2014  
Accepted 22 July 2014

*This article was accepted for publication after full peer-review.*

## SUMMARY

### Background

The molecular basis and effects of proton pump inhibitor (PPI) therapy on PPI-responsive oesophageal eosinophilia (PPI-REE) and eosinophilic oesophagitis (EoE) remain unknown.

### Aim

To compare symptom-histological and cytokine gene expression in PPI-REE and EoE patients, at baseline and after specific treatment.

### Methods

In consecutive adult patients with an EoE phenotype (dysphagia/food impaction, typical endoscopic findings and  $> 15$  eos/HPF), gene expression of eotaxin-3, IL-13, and IL-5 were determined in distal and proximal oesophagus, at baseline and after omeprazole 40 mg b.d. for 8 weeks. PPI-REE was defined by clinicohistological response. PPI nonresponders (EoE) were offered treatment with topical steroids.

### Results

Fifty three patients were re-evaluated on PPI therapy. 23 patients (43%) had PPI-REE and 30 patients (57%) had EoE. At baseline, eotaxin-3/IL-13/IL-5 gene expression was indistinguishable between EoE and PPI-REE, excepting increased IL-5 expression in proximal oesophagus (12.54 vs. 57,  $P = 0.029$ ). PPI therapy significantly decreased eotaxin-3/IL-13 in PPI-REE, at both oesophageal sites ( $P \leq 0.008$ ), and IL-5 in distal ( $P = 0.016$ ), but not in proximal oesophagus. Patients with steroid-responsive EoE also showed a significant decrease in eotaxin-3/IL-5 expression at both oesophageal sites. In EoE patients, initial PPI trial significantly decreased distal oesophageal eosinophilia (63.78 to 41.79 eos/HPF,  $P = 0.025$ ) and led to symptom remission in 16%, but did not influence Th2 markers.

### Conclusions

Baseline cytokine gene expression in PPI-REE was nearly indistinguishable from EoE. PPI therapy significantly downregulated oesophageal eotaxin-3/Th2-cytokine gene expression in PPI-REE, similarly to that seen in steroid-responsive EoE. A subset of EoE patients showed clinicohistological improvement on PPI therapy.

# **4. METODOLOGÍA Y DISCUSIÓN RESUMIDA DE LOS RESULTADOS**

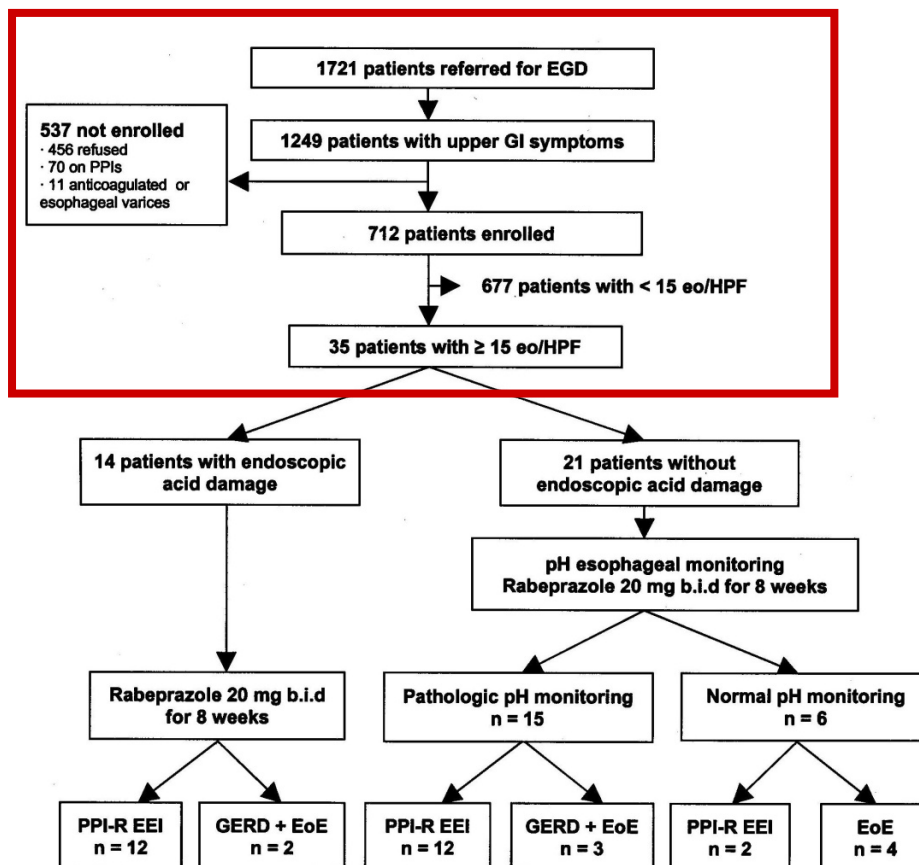
## Estudio 1

### Esophageal eosinophilic infiltration responds to proton pump inhibition in most adults

El **primer trabajo** de esta tesis evaluó por primera vez de manera prospectiva el porcentaje de respuesta a IBP en pacientes con eosinofilia esofágica ( $> 15$  eos/cga) sintomática, la correlación existente entre la pHmetría esofágica y la respuesta a IBP y la validez de los hallazgos histológicos como criterios diagnósticos de EEO.

Para dicha evaluación, se realizaron, independientemente de los hallazgos endoscópicos, al menos cuatro biopsias de esófago medio en 712 pacientes consecutivos no seleccionados, remitidos para la realización de una endoscopia digestiva por síntomas digestivos altos (pirosis, regurgitación, disfagia, epigastralgia, náuseas/vómitos, hinchazón) entre Enero y Septiembre del 2008 en el Hospital San Pedro de Alcántara en Cáceres. Fueron excluidos los pacientes asintomáticos que se realizaban la endoscopia por otros motivos (pe, anemia, déficit vitB12, toma de biopsias intestinales). Ningún paciente había recibido tratamiento con IBP en el mes previo a la endoscopia. No se realizó ninguna asunción diagnóstica a priori en los pacientes con eosinofilia esofágica  $> 15$  eos/cga y a todos, independientemente de los síntomas, hallazgos endoscópicos o histológicos, se les pautó tratamiento con IBP (rabeprazol 20 mg antes de desayuno y cena) durante 2 meses. Todos los pacientes fueron reevaluados clínica, endoscópica e histológicamente tras el tratamiento con IBP. La **remisión clínica** fue definida por la desaparición de los síntomas y la **remisión histológica** por la presencia de  $< 5$  eos/cga en las biopsias de control bajo tratamiento con IBP. **El diagnóstico de eosinofilia esofágica respondedora a IBP se realizó cuando se combinaban una respuesta clínica e histológica** tras tratamiento con IBP. Posteriormente, se realizó pHmetría esofágica en todos los pacientes, excepto en aquellos con hallazgos endoscópicos de ERGE (definidos por esofagitis por reflujo según la clasificación de Los Ángeles, estenosis esofágica distal, esófago de Barrett), en los que se asumió la existencia de exposición ácida patológica en la pHmetría.

Se evaluaron 1249 pacientes consecutivos remitidos para endoscopia digestiva alta por síntomas digestivos altos, de los cuales 712 aceptaron participar. Se **encontró eosinofilia esofágica (> 15 eos/cga) en 35 (4.9%) de los 712 pacientes evaluados** (*ver diagrama de flujo de los pacientes en la Figura 1 del artículo original*).



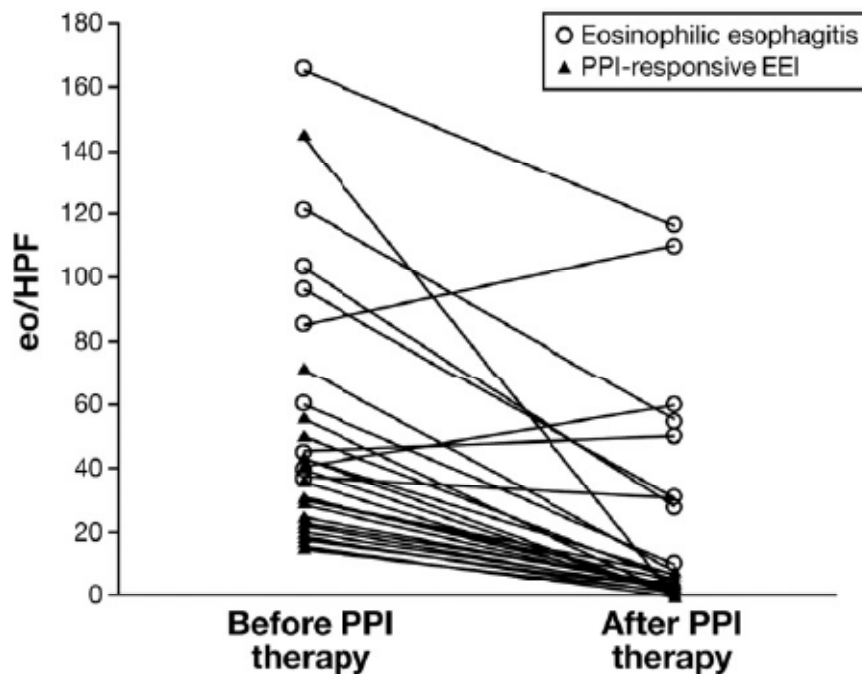
**Figura 1.** Diagrama de flujo de los pacientes incluidos en el estudio

En el análisis univariante, la presencia de eosinofilia esofágica > 15 eos/cga se relacionó con el sexo masculino, la edad inferior a 50 años, la eosinofilia periférica patológica, los antecedentes personales de enfermedades alérgicas, la presencia de disfagia o impactación alimentaria, los hallazgos endoscópicos característicos de la EEO y todos los hallazgos histológicos mayores y menores característicos de la EEO (*ver Tabla 1 del artículo original*).

	Total	< 15 eo/HPF	≥ 15 eo/HPF	p
<b>No. of patients</b>	712	677	35	
<b>Demographics</b>				
<b>Male/Female</b>	<b>366/346 (51%/49%)</b>	<b>287/296 (42%/58%)</b>	<b>25/10 (71%/29%)</b>	<b>0.02</b>
<b>Age, yrs</b>	<b>52 (18-93)</b>	<b>53 (18-93)</b>	<b>35 (18-67)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
Body mass index (BMI)	26,4 (5,1)	26,4 (4,12)	26,3 (3,88)	0.530
<b>Peripheral eosinophilia (%)</b>	<b>2,29 (1,8)</b>	<b>2,18 (1,75)</b>	<b>5,49 (2,39)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
<b>Allergic history</b>	<b>76 (10,7%)</b>	<b>57 (8,4%)</b>	<b>19 (54,3%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
<b>Rhinoconjunctivitis</b>	<b>28 (4%)</b>	<b>19 (2,8%)</b>	<b>9 (25%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
<b>Asthma</b>	<b>35 (5%)</b>	<b>25 (3,6%)</b>	<b>10 (28,5%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
<b>Aeroallergen sensitization</b>	<b>55 (7,7%)</b>	<b>41 (6%)</b>	<b>14 (40%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
<b>Emergency endoscopy due to food bolus obstruction</b>	<b>71 (10%)</b>	<b>56 (8,2%)</b>	<b>15 (43%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
Heartburn history	428 (60%)	404 (59%)	24 (68%)	0.300
Prior PPI intake	462 (65%)	448 (66%)	14 (40%)	0.060
<b>Indication for endoscopy, n (%)</b>				
<b>Dysphagia</b>	<b>100 (14%)</b>	<b>89 (13,1%)</b>	<b>11 (28,5%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
<b>Food impaction</b>	<b>81 (11,4%)</b>	<b>67 (9,9%)</b>	<b>14 (40%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
Heartburn	198 (27,8%)	191 (28,2%)	7 (14,2%)	0.290
Dyspepsia/abdominal pain	291 (40,9%)	289 (42,7%)	2 (7,40%)	< 0.01
Chest pain	6 (0,8%)	5 (0,7%)	1 (2,8%)	0.180
Nausea/vomiting	30 (4,2%)	30 (4,4%)	0	0.200
<b>Endoscopic findings, n (%)</b>				
Normal endoscopy	347 (48,7%)	341 (50,3%)	6 (17,1%)	< 0.01
<b>Endoscopic pattern of EoE</b>	<b>30 (4,2%)</b>	<b>28 (4%)</b>	<b>21 (60%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
Reflux distal injury	161 (22,6%)	147 (21,71%)	14 (40%)	0.110
Hiatal hernia / Schatzki ring	163 (22,8%)	159 (23,4%)	4 (11,4%)	0.090
<b>Histopathologic findings, n (%)</b>				
<b>Eosinophil superficial distribution</b>	<b>20 (2,8%)</b>	<b>4 (0,5%)</b>	<b>16 (45,7%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
<b>Degranulating eosinophils</b>	<b>34 (4,7%)</b>	<b>8 (1,1%)</b>	<b>26 (74,3%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
<b>Eosinophils microabscesses</b>	<b>10 (1,4%)</b>	<b>0</b>	<b>10 (28,5%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
<b>Basal cell hyperplasia</b>	<b>123 (17,2%)</b>	<b>94 (13,9%)</b>	<b>29 (82,9%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
<b>Papillae elongation</b>	<b>90 (12,6%)</b>	<b>64 (9,4%)</b>	<b>26 (74,3%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
<b>Intercellular edema</b>	<b>176 (14,6%)</b>	<b>145 (22,74%)</b>	<b>31 (88,5%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
<b>Lamina propria fibrosis</b>	<b>25 (6,8%)</b>	<b>8 (2,3%)</b>	<b>17 (85%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>
<b>&gt; 5 eo in lamina propria</b>	<b>16 (4,4%)</b>	<b>3 (0,8%)</b>	<b>13 (65%)</b>	<b>&lt; 0.01</b>

**Tabla 1.** Características diferenciales de los pacientes incluidos en el estudio, en función de la presencia o ausencia de eosinofilia esofágica > 15 eos/cga.

El estudio demostró por primera vez de manera prospectiva **la elevada proporción de respuesta clínica a histológica tras tratamiento con IBP en los pacientes con eosinofilia esofágica sintomática**. Se documentó una respuesta del 75% en pacientes no seleccionados y, de manera relevante, **un 50% de los pacientes con sospecha de EEO** (eosinofilia esofágica > 15 eos/cga, disfagia/impactación alimentaria y esófago multianillado) **presentaron remisión completa tras IBP** (ver *Figura 2 y Tabla 2 del artículo original*).

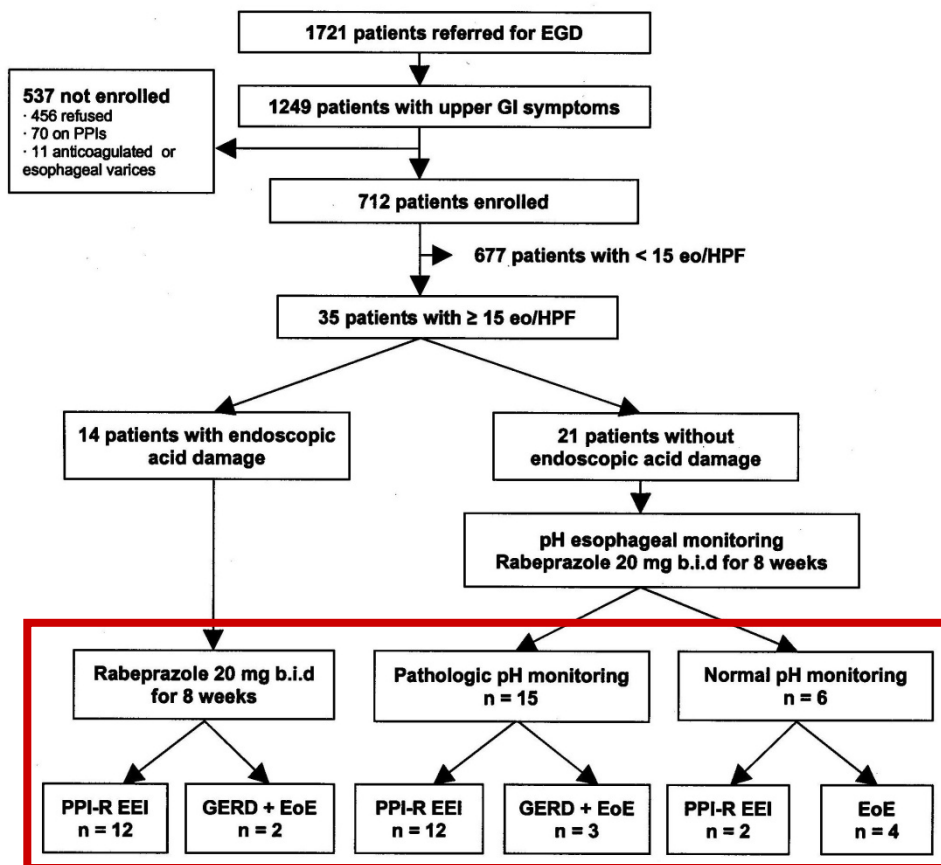


**Figura 2.** Evolución de la eosinofilia esofágica en los 35 pacientes incluidos tras tratamiento con IBP (rabeprazol 20 mg/12 h) durante 8 semanas.

	n	Prevalence of EEI before PPI therapy	Prevalence of EEI after PPI therapy
Total cohort (upper GI symptoms), n (%)	712 (100%)	35/712 (4,9%)	9/712 (1,2%)
Food bolus obstruction < 50 yrs, n (%)	38 (5.3%)	19/38 (50 %)	7/38 (18%)
Dysphagia < 50 yrs, n (%)	57 (8%)	21/57 (36%)	7/57 (12%)
Allergic history, n (%)	76 (10.7%)	19/76 (25%)	7/76 (9%)
Endoscopic signs of EoE, n (%)	49 (6.8%)	21/49 (43%)	6/49 (12%)
Dysphagia/food impaction and endoscopic signs of EoE, n (%)	35 (4.9%)	15/35 (43%)	6/35 (17%)
Dysphagia/food impaction, allergic history and endoscopic signs of EoE, n (%)	14 (1.9%)	10/14 (71%)	5/14 (35%)

**Tabla 2.** Prevalencia de eosinofilia esofágica en distintos subgrupos de pacientes del estudio, antes y después del tratamiento con IBP.

De igual manera, los resultados obtenidos en la pHmetría esofágica evidenciaron una **pobre correlación entre la respuesta a IBP y la exposición ácida del esófago** (*ver Figura 1 del artículo original*). Se observó una remisión completa de la eosinofilia esofágica en el 80% de pacientes con pHmetría patológica y en el 33% de aquellos con pHmetría negativa. De igual manera, se alcanzó la remisión histológica de la eosinofilia esofágica en el 85% de los pacientes con datos endoscópicos de reflujo (esofagitis por reflujo, estenosis, esófago de Barrett).



**Figura 1.** Diagrama de flujo de los pacientes en el estudio, donde se puede observar el porcentaje de pacientes respondedores a IBP, según la existencia de datos endoscópicos de reflujo o los resultados de la pHmetría esofágica

	PPI-R EEI 15-35 eo/HPF	PPI R EEI > 35 eo/HPF	EoE
<b>No. of patients</b>	17	9	9
<b>Demographics, n (%)</b>			
Male/Female	12/5	7 /2	6 /3
Age, yrs	40 (18-67)	39 (21 61)	39 (24 57)
Body mass index (BMI)	26,87±4,05	25,45±4,67	25,9±2,7
Peripheral eosinophilia %	5,04±2,37	5,35±2,91	7,28±1,22
<b>T</b> Allergic history	5 (29%)	7 (77%)	7 (77%)
<b>a</b> Rhinconjunctivitis	3 (17%)	2 (22%)	4 (44%)
<b>b</b> Asthma	2 (11%)	4 (44%)	4 (44%)
<b>i</b> Aeroallergen sensitization	3 (17%)	4 (44%)	7 (77%)
<b>a</b> Emergency endoscopy due to food bolus obstruction	6 (35%)	7 (77%)	4 (44%)
<b>i</b> <b>Indication for endoscopy, n (%)</b>			
<b>.</b> Dysphagia	3 (17%)	4 (44%)	4 (44%)
Food impaction	6 (35%)	4 (44%)	4 (44%)
<b>C</b> Heartburn	6 (35%)	0	1 (11%)
<b>a</b> Dyspepsia/abdominal pain	1 (0,05%)	1 (11%)	0
<b>r</b> Chest pain	1 (0,05%)	0	0
<b>E</b> <b>Endoscopic findings, n (%)</b>			
<b>c</b> Normal endoscopy	3 (17%)	1	0
<b>t</b> Endoscopic pattern of EoE	2 (11%)	5 (55%)	5 (55%)
<b>e</b> Reflux distal injury	10 (58%)	2 (22%)	2 (22%)
<b>r</b> Hiatal hernia / Schatzski's ring	1	1	2
<b>pH</b> <b>monitoring</b>			
<b>S</b> Normal/Pathologic	0/7	2/5	4/3
<b>H</b> <b>Histopathologic findings, n (%)</b>			
<b>i</b> Superficial distribution	5 (29%)	6 (66%)	5 (55%)
<b>c</b> Degranulating eosinophils	12 (70%)	7 (77%)	7 (77%)
<b>a</b> Eosinophils microabscesses	2 (11%)	3 (33%)	5 (55%)
<b>s</b> Basal cell hyperplasia	12 (70%)	9 (100%)	8 (88%)
Papillae elongation	12 (70%)	7 (77%)	7 (77%)
<b>d</b> Intercellular edema	15 (88%)	8 (88%)	8 (88%)
<b>i</b> Presence of lamina propia	9 (52%)	4 (44%)	7 (77%)
<b>f</b> Lamina propia fibrosis	6 (35%)	4 (44%)	7 (77%)
> 5 eo in lamina propia	3 (17%)	3 (33%)	6 (66%)

**Tabla 3.** Características diferenciales de los pacientes con eosinofilia esofágica > 15 eos/cga respondedora a IBP (subclasificados según el grado eosinofilia basal 15-35 eos/cga y > 35 eos/cga) y no respondedora a IBP en el estudio.

Tras una evaluación fenotípica exhaustiva, **cabe destacar que no se pudieron documentar características diferenciales entre pacientes con eosinofilia esofágica sintomática, respondedores y norespondedores a IBP** (*ver Tabla 4 del artículo original*). Ambas poblaciones fueron idénticas en **características demográficas** (sexo, edad, índice de masa corporal, eosinofilia periférica, historia de enfermedades alérgicas), **síntomas** (disfagia, impactación alimentaria, pirosis, dolor torácico, dispepsia), **hallazgos endoscópicos** (normalidad, esofagitis por reflujo, hallazgos característicos de EEO), **e histológicos** (pico máximo de eosinofilia, distribución epitelial superficial, degranulación eosinofílica, microabscesos eosinofílicos, fibrosis de la lámina propia, hiperplasia de las células basales, elongación de las papilas y edema intercelular).

Respecto al hallazgo histológico de eosinofilia esofágica > 15 eos/cga, se realizó un subanálisis para determinar **el nivel de eosinofilia esofágica característica de la EEO** (*ver Tabla 3 del artículo original*). Ningún de los dinteles evaluados (> 15 eos/cga, > 20 eos/cga, > 24 eos/cga, > 35 eos/cga, > 50 eos/cga) obtuvo una adecuada fiabilidad diagnóstica para discernir entre respondedores y no respondedores a IBP, si bien se detectó una tendencia a menor respuesta a IBP a medida que la infiltración eosinofílica esofágica era más densa (100% respuesta a IBP entre 15 y 35 eos/cga, 63% entre 35 y 72 eos/cga y 13% por encima de 72 eos/cga).

**Las primeras guías de consenso sobre el diagnóstico de la EEO**, publicadas en el año 2007<sup>12</sup>, establecieron una división diagnóstica dicotómica en pacientes con eosinofilia esofágica (> 15 eos/cga) sintomática: EEO en caso de ausencia de respuesta clínica e histológica tras tratamiento con IBP o la documentación de una pHmetría negativa, o bien ERGE si existía respuesta clínica e histológica al tratamiento con IBP o una pHmetría patológica. Sin embargo, la gran mayoría de los casos publicados hasta entonces se basaban en los hallazgos histológicos obtenidos en pacientes sin tratamiento previo con IBP<sup>13-18</sup>. Por tanto, se desconocía el porcentaje de pacientes respondedores a IBP. Por otra parte, había datos preliminares que cuestionaban el papel diagnóstico de la pHmetría<sup>21,22</sup>. El primer estudio de esta tesis **demostró prospectivamente la existencia de un elevado porcentaje de pacientes (50%) con sospecha de EEO que presentaban una remisión completa tras tratamiento con IBP, fenotipo que oficialmente se describió por primera vez en las guías clínicas actualizadas del 2011**. Estos resultados fueron clave para la caracterización del diagnóstico diferencial de la EEO en las 2011<sup>1</sup>, **donde se retiró la ERGE como principal diagnóstico diferencial de la EEO (ver Página 73 de esta tesis)**. De hecho, las conclusiones de este artículo resultaron claves para la confección de las guías clínicas, en las que se incluyó el fenotipo *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* como el principal diagnóstico diferencial de la EEO **y se excluyó a la pHmetría como criterio diagnóstico de la EEO (ver Página 73 de esta tesis)**.

**Los resultados de este primer estudio han sido ampliamente reproducidos en diferentes series posteriores y sus conclusiones implementadas en todas las guías clínicas desde el 2011<sup>1,40,41</sup>**. El porcentaje de respuesta a IBP de este primer estudio ha sido posteriormente reproducido en diversas series prospectivas provenientes de Estados Unidos (36%<sup>42</sup>, 35%<sup>43</sup>) y España (43% en el segundo artículo de esta tesis<sup>44</sup>). **Desde un punto vista clínico**, la descripción de este nuevo y prevalente fenotipo ha sido fundamental para evitar actuaciones terapéuticas (dietas de eliminación, corticoides tópicos) que se venían llevando a cabo en pacientes con sospecha de EEO, en los que no se realizaba tratamiento previo con IBP<sup>13-18</sup>. **Actualmente, la ausencia de respuesta a tratamiento con IBP a dosis altas es un requisito formal**

**indispensable para el diagnóstico de la EEO**, tal y como se ha resaltado en las guías clínicas del 2011<sup>1</sup>, las guías del Colegio Americano de Gastroenterología de 2013<sup>40</sup> y las primeras guías clínicas para niños promovidas desde la Sociedad Europea para el Estudio de la Gastroenterología, Pediatría y Nutrición en Pediatría de 2014<sup>41</sup>. De igual manera, **la ausencia de características fenotípicas diferenciadoras** entre pacientes con eosinofilia esofágica > 15 eos/cga, respondedores y no respondedores a IBP, ha sido corroborada en 4 estudios adicionales<sup>42,43,45,46</sup>. Con respecto al **valor diagnóstico de la pHmetría esofágica**, es importante reseñar que la pHmetría fue retirada de los criterios diagnósticos de la EEO en las guías del 2011<sup>1</sup> (*ver Página 73 de esta tesis*), dado que el primer artículo de esta tesis sirvió para cuestionar de manera definitiva la capacidad de la pHmetría para predecir la respuesta a IBP. Dos ensayos clínicos posteriores han mostrado igualmente la elevada tasa de respuesta a IBP en pacientes con eosinofilia esofágica sintomática y ERGE documentado (61%<sup>38</sup> y 100%<sup>47</sup>), si bien de nuevo se evidenció respuesta a IBP en pacientes con pHmetría normal (18%)<sup>47</sup>.

Entre las **limitaciones del estudio**, cabe destacar dos aspectos inherentes a su diseño. En primer lugar, el pequeño número de pacientes que presentaban más de 15 eosinófilos por campo de gran aumento, a pesar del esfuerzo realizado por obtener información de la totalidad de los pacientes con síntomas digestivos. El segundo inconveniente es que los resultados obtenidos en relación con la respuesta a IBP (75%) no son generalizables, ya que se incluyeron pacientes en función de la presencia de eosinofilia esofágica sintomática, independientemente de la indicación para la realización de la endoscopia digestiva alta, que iba más allá de las indicaciones aceptadas para el despistaje de la EEO en adultos (disfagia, impactación alimentaria, dolor torácico). Este es probablemente el motivo por el cual el 82% de los pacientes incluidos tenían hallazgos de ERGE en la endoscopia o pHmetría, datos que probablemente no sean extrapolables a una población específica de pacientes con EEO. Por tanto, una subpoblación del estudio tenía un perfil clínico más compatible con ERGE que con EEO y por tanto, no tenían indicación estricta de realización de biopsias esofágicas. Es más, la importancia clínica de la detección de eosinofilia esofágica en pacientes sin síntomas esofágicos (pe,

epigastralgia o náuseas) es igualmente cuestionable. Sin embargo, la tasa de respuesta a IBP en pacientes con síntomas esofágicos sugestivos de EEO (disfagia, impactación alimentaria) fue del 50% y resultados cercanos (35%-43%) han sido publicados posteriormente<sup>40-42</sup>. Pese a este potencial sesgo de inclusión, el resultado principal obtenido en relación con la mejor caracterización fenotípica de los pacientes es igualmente válido.

## Estudio 2

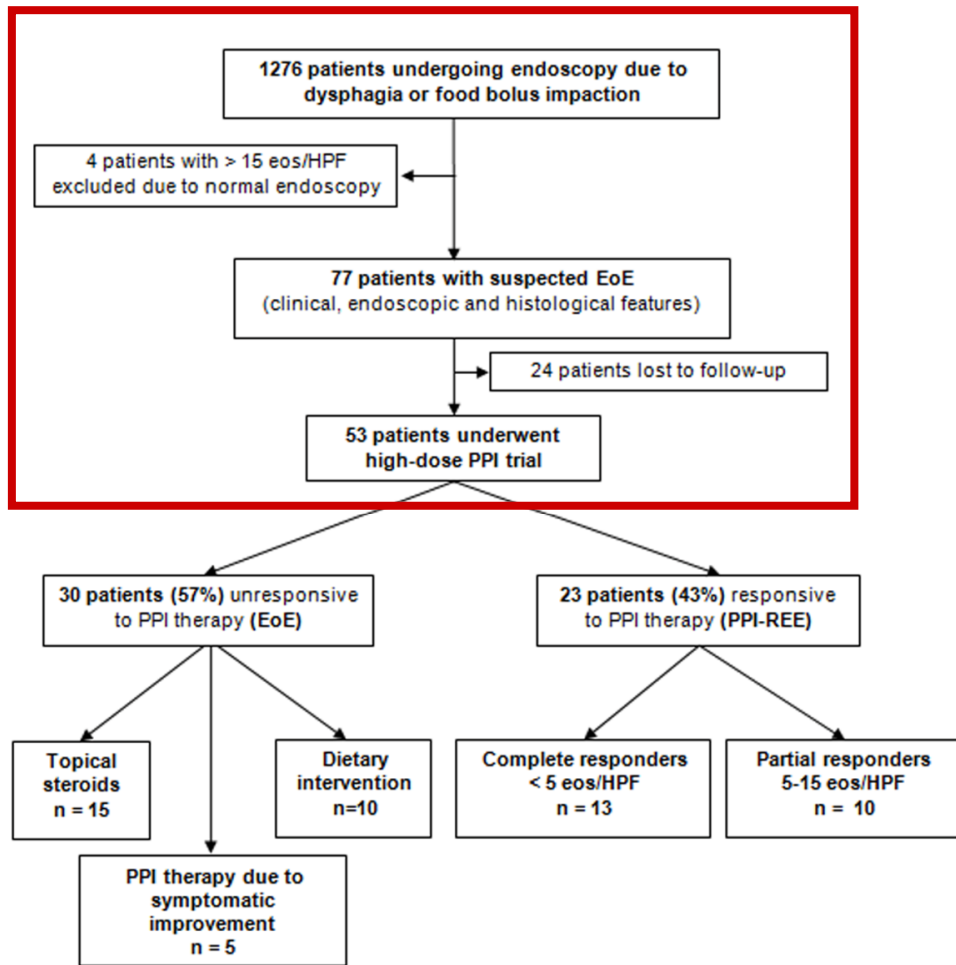
### Proton pump inhibitor-responsive oesophageal eosinophilia correlates with downregulation of eotaxin-3 and Th2 cytokines overexpression

La EEO se definió en las guías actualizadas del 2011 (aún vigentes) como una enfermedad inmunoalérgica crónica mediada por una respuesta inflamatoria Th2 (IL-4, IL-5, IL-13) desencadenada por alérgenos alimentarios o ambientales<sup>1</sup>. En estas guías clínicas se determinó que el principal diagnóstico diferencial de la EEO era la *eosinofilia esofágica respondedora a IBP*. Sin embargo, se desconocía si la *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* era simplemente una variante de la ERGE, una variante de la EEO o una enfermedad distinta y, por tanto, su historia natural y el tratamiento a largo plazo estaban aún pendientes de definición. Estudios experimentales recientes han demostrado potenciales efectos anti-inflamatorios *in vitro* de los IBP, pero se desconocen las bases moleculares y el efecto de los IBP *in vivo* en pacientes afectados de esta entidad. El **segundo trabajo** de esta tesis evaluó por primera vez a nivel molecular la existencia de inflamación alérgica Th2 en los pacientes con *eosinofilia esofágica respondedora a IBP*, así como la los efectos *in vivo* de los IBP sobre los marcadores de inflamación alérgica. De igual manera, se comparó el efecto a nivel molecular de los IBP sobre la inflamación esofágica en pacientes con *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* con el efecto de los corticoides tópicos en pacientes con EEO.

Para dicha evaluación, se tomaron al menos cuatro biopsias esofágicas del esófago distal (5 cm por encima de la línea Z) y del esófago proximal (15-20 cm por encima de la línea Z) en 53 pacientes consecutivos con hallazgos clínicos (disfagia/impactación alimentaria) y endoscópicos (esófago multianillado, fisuras, exudados, edema, esófago estrecho, fragilidad esofágica) sugestivos de EEO durante la realización de una endoscopia digestiva alta. El estudio se llevó a cabo entre Diciembre del 2010 y Abril del 2013 en el Hospital San Pedro de Alcántara, en Cáceres. Al igual que en el **primer estudio de esta tesis**, ningún paciente había recibido tratamiento con IBP en el mes previo a la realización de la endoscopia y no se realizó ninguna asunción diagnóstica a priori, en base

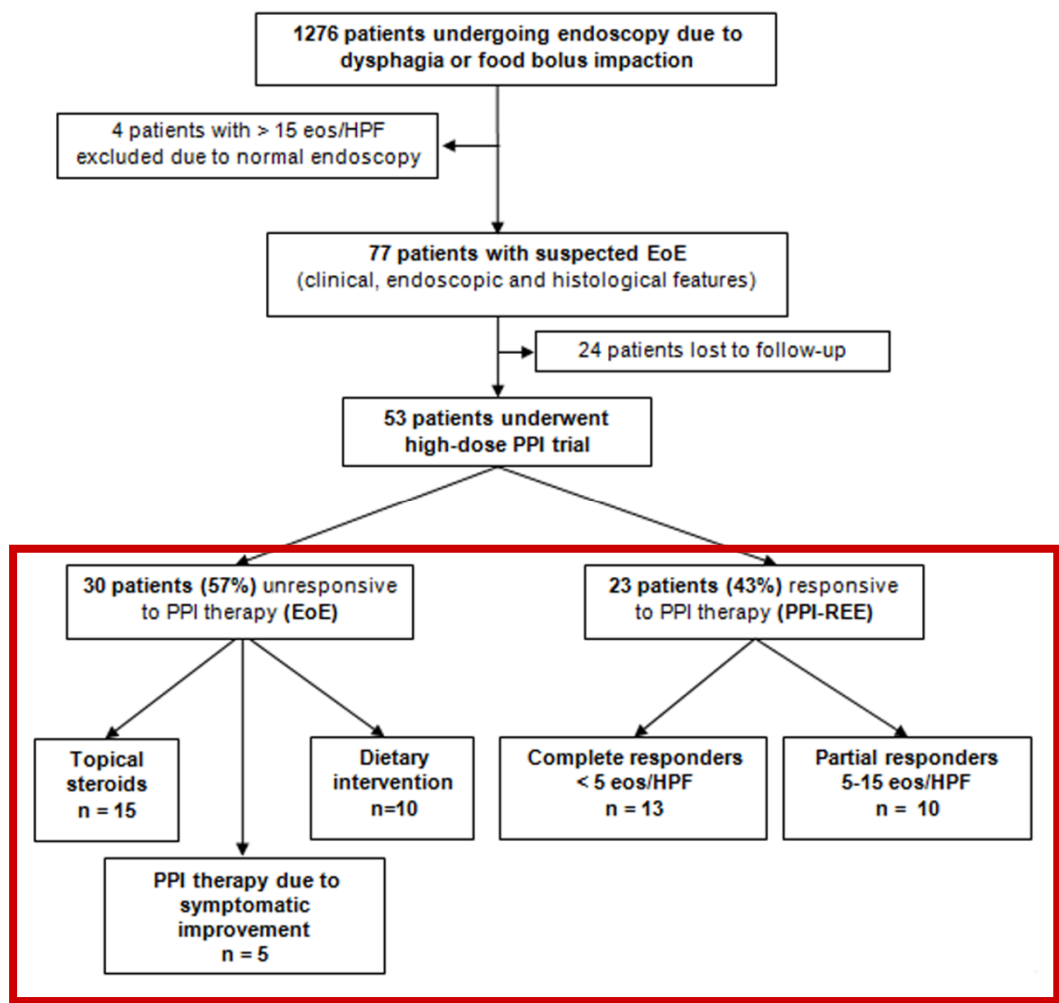
a los síntomas, hallazgos endoscópicos o histológicos. A todos los pacientes incluidos con eosinofilia esofágica > 15 eos/cga se les pautó tratamiento con IBP a dosis altas (omeprazol 40 mg antes de desayuno y cena) durante 2 meses y todos fueron reevaluados clínica, endoscópica e histológicamente tras el tratamiento con IBP. La **remisión clínica** fue definida como un descenso superior al 50% en la puntuación del **Dysphagia Symptom Score (DSS)**, una escala no validada ampliamente utilizada en otros estudios sobre EEO<sup>43-46</sup>, que asigna una puntuación de la frecuencia, la intensidad, la duración y los cambios producidos en el estilo de vida por la disfagia y/o las impactaciones alimentarias. La **remisión histológica** fue definida como **completa** si se detectaban < 5 eos/cga y **parcial** si se detectaban entre 5 y 14 eos/cga en las biopsias de control durante el tratamiento con IBP. **El diagnóstico de eosinofilia esofágica respondedora a IBP se realizó cuando se combinaban una respuesta clínica e histológica** tras tratamiento con IBP. En los pacientes no respondedores a IBP, se ofreció tratamiento con corticoides tópicos (fluticasona gotas nasales deglutidas 400 mcg cada 12 horas durante 6 semanas), con reevaluación clínica, endoscópica e histológica posterior. Además de la toma estándar de biopsias para histología previamente descrita en todas las endoscopias (en condiciones basales y tras IBP/corticoides tópicos) **se tomaron 2 biopsias de esófago proximal y distal para análisis de la expresión génica**. Las biopsias fueron inmediatamente introducidas en un medio estabilizador (ARN later) y congeladas a -80° C. Mediante amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se realizó posteriormente un análisis de la expresión cuantitativa de la expresión de eotaxina-3, IL-5 e IL-13, utilizando GAPDH como control.

De los 1276 pacientes evaluados mediante endoscopia por disfagia o impactación alimentaria, finalmente fueron reclutados **56 pacientes con datos clínicos, endoscópicos e histológicos de EEO**, de los cuales 53 fueron reevaluados tras tratamiento con IBP (*ver diagrama de flujo de los pacientes en la Figura 1 del artículo original*).

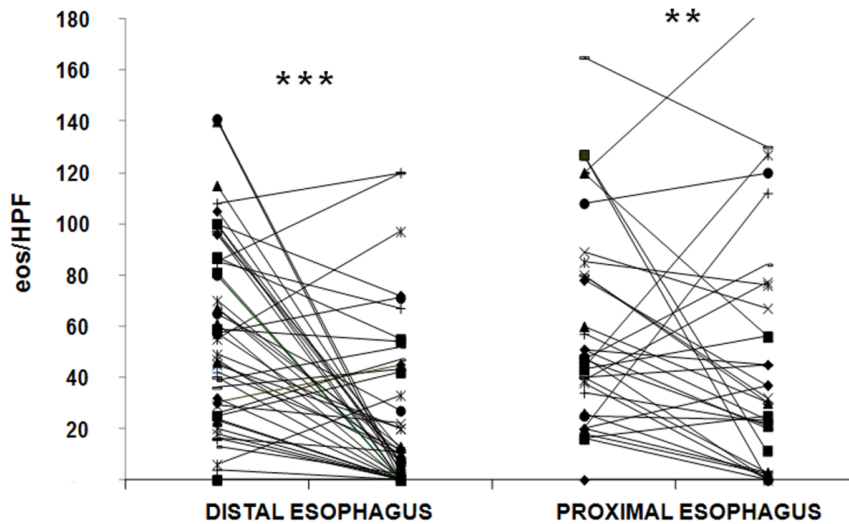


**Figura 1.** Diagrama de flujo de los pacientes incluidos en el estudio.

Después del tratamiento con IBP, **23 pacientes (43%)** fueron clasificados como *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* y **30 pacientes (57%)** como *EoE*. Dentro de los pacientes respondedores a IBP (n=23), 13 (56%) presentaron una remisión histológica completa y 10 (44%) una remisión histológica parcial. (*ver Figura 1 del artículo original*).

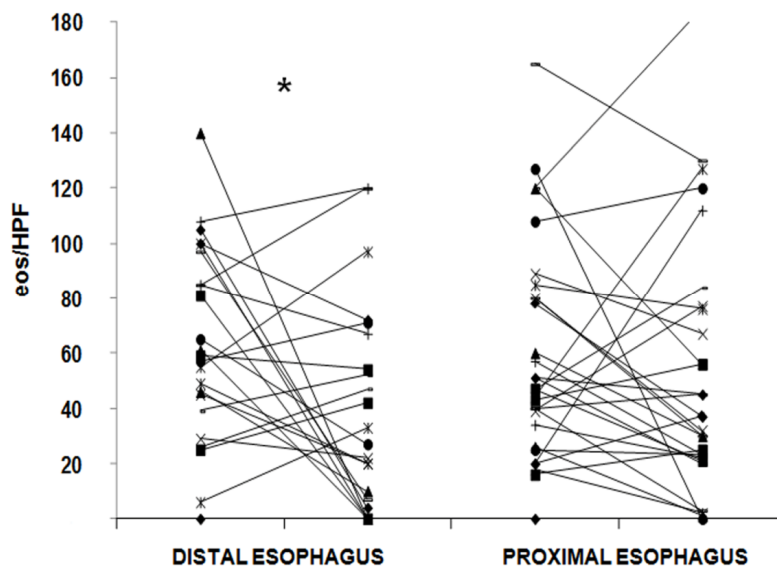


**Figura 1.** Diagrama de flujo de los pacientes incluidos en el estudio



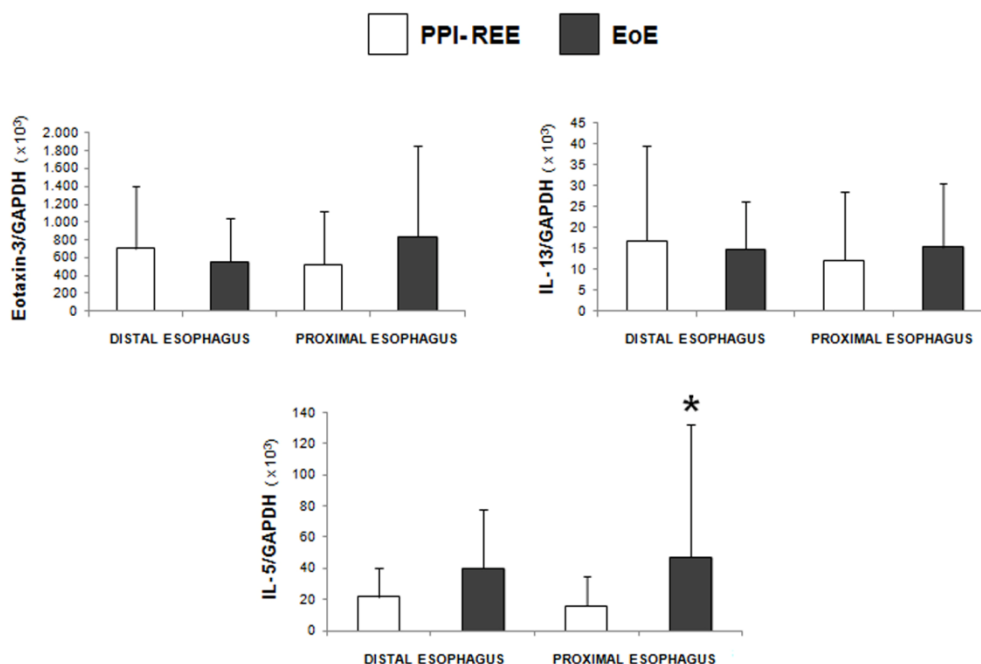
**Figura 2.** Evolución de la eosinofilia esofágica, a nivel del esófago distal y proximal, tras tratamiento con IBP en los 53 pacientes incluidos en el estudio.

El tratamiento con IBP en pacientes con eosinofilia esofágica respondedora a IBP indujo una remisión similar de la eosinofilia tanto en el esófago proximal (de 41,86 a 3,8 eos/cga,  $p < 0,003$ ) como distal (de 54,05 a 3,6 eos/cga,  $p < 0,001$ ). De manera destacada, **el tratamiento con IBP en pacientes con EEO (no respondedores a IBP por definición) indujo la remisión clínica completa en 5 pacientes (16%) y una reducción significativa de la eosinofilia en el esófago distal (de 63,78 a 41,79 eos/cga,  $p = 0,025$ ), pero no en el esófago proximal (de 61,24 a 52,8 eos/cga,  $p = 0,51$ ) (ver Figuras 2 y 3 del artículo original).**



**Figura 3.** Evolución de la eosinofilia esofágica, a nivel del esófago distal y proximal, en los 30 pacientes con eosinofilia esofágica no respondedora a IBP.

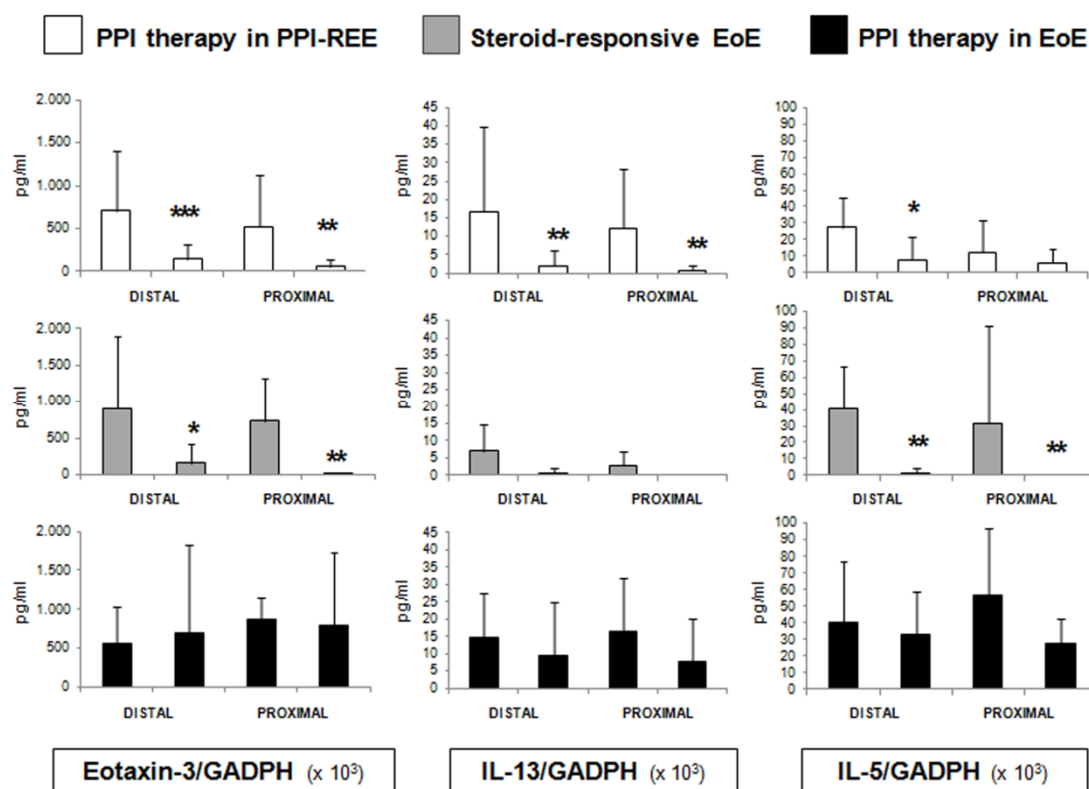
La **expresión génica de inflamación alérgica** en las biopsias esofágicas (eotaxina-3, IL-5 e IL-13) fue **indistinguible entre pacientes con eosinofilia esofágica respondedora a IBP y EEO en condiciones basales** (ver *Figura 4 del artículo original*). Dado que esta inflamación mantenida es responsable de la historia natural y de las complicaciones a largo plazo de la EEO, **es concebible pensar que la eosinofilia esofágica respondedora a IBP tenga una historia natural y un riesgo de complicaciones fibroestenóticas sin tratamiento adecuado, similar al de la EEO**. Estos hallazgos sugieren que la *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* pueda ser un subfenotipo de la EEO, ya que fenotípicamente (desde los síntomas hasta la expresión génica molecular) son *indistinguibles*.



**Figura 4.** Expresión génica de inflamación alérgica Th 2 (eotaxina-3, IL-13 e IL-5) en las biopsias de esófago distal y proximal, indistinguibles en condiciones basales entre pacientes con eosinofilia esofágica respondedora a IBP (barras blancas) y EEO (barras negras).

De hecho, un estudio publicado 4 meses después de este segundo artículo ha demostrado que, a diferencia de los pacientes con ERGE, las biopsias esofágicas de pacientes con *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* y EEO tenían el mismo nivel de sobreexpresión de genes directamente implicados en la etiopatogenia de la EEO (*EEO diagnostic panel*), incluyendo aquellos que regulan la quimiotaxis de los eosinófilos (eotaxina 3), la permeabilidad epitelial (desmogleina 1), la remodelación fibrosa (periostina) y el reclutamiento de los mastocitos (carboxypeptidase A)<sup>51</sup>.

Respecto a los efectos moleculares del tratamiento con IBP, **los IBP indujeron una reducción significativa de la expresión génica de inflamación alérgica Th2** (eotaxina 3, IL-5 e IL-13) (*ver Figura 5 del artículo original, barras blancas*) en las biopsias esofágicas de pacientes con eosinofilia esofágica respondedora a IBP. Es reseñable que este efecto fue exactamente el mismo conseguido por los corticoides tópicos en los pacientes con EEO (*ver Figura 5 del artículo original, barras grises*).



**Figura 5.** Reducción significativa de la expresión de la inflamación alérgica Th2 (eotaxina-3, IL-13 e IL-5) en las biopsias de esófago distal y proximal, en pacientes con eosinofilia esofágica respondedora a IBP tras tratamiento con IBP (barras blancas) y en pacientes no respondedores a IBP tras tratamiento con corticoides tópicos (barras grises). El tratamiento con IBP en pacientes sin remisión completa con IBP no consiguió reducir (barras negras) la expresión génica de la inflamación alérgica.

Cabe destacar que este mismo hallazgo fue descrito posteriormente en el artículo anteriormente reseñado<sup>51</sup>, donde la monoterapia con IBP consiguió una reversión casi completa de la expresión génica de la inflamación alérgica en el *EEO diagnostic panel*, compuesto de 94 transcriptomas específicos para la inflamación eosinofílica. Por tanto, el **segundo estudio de esta tesis** presentó por primera vez un efecto antiinflamatorio de los IBP, similar al descrito para los corticoides en la EEO y abrió la posibilidad de que los efectos mediante los cuales los IBP eliminan la inflamación eosinofílica esofágica *in vivo* estén dirigidos contra la inflamación alérgica Th2 y sean independientes de la supresión ácida gástrica, tal y como se había demostrado previamente *in vitro*.

En el subgrupo de pacientes con EEO (por definición, sin remisión completa tras tratamiento con IBP) que alcanzaron la remisión clínica pero con inflamación persistente, este fenómeno **no se vio acompañado de modificaciones relevantes en la expresión génica de marcadores de inflamación alérgica** en el esófago distal y proximal tras tratamiento con IBP (*ver Figura 5 del artículo original, barras negras*). Por tanto, es concebible pensar que los IBP pueden ser de utilidad en un subgrupo de pacientes con EEO (por definición no respondedores a IBP) al producir mejoría sintomática e histológica parcial (en probable relación con la reducción de la exposición ácida del esófago distal), pero dado que no actúan sobre la expresión génica de la inflamación alérgica, se deben buscar tratamientos que modifiquen específicamente estos parámetros. En consecuencia, es plausible pensar en **2 efectos terapéuticos independientes de los IBP en pacientes con eosinofilia esofágica sintomática**: por una parte, la supresión de la secreción ácida gástrica puede mejorar parcialmente los síntomas y la inflamación esofágica distal (en pacientes con EEO no respondedores a IBP) y por otra parte, los IBP pueden tener efectos antiinflamatorios directos que reviertan de manera completa la inflamación y los síntomas (en pacientes con *eosinofilia esofágica respondedores a IBP*).

En conjunto, los resultados obtenidos dan soporte conceptual a la idea de que los pacientes con *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* son realmente un subfenotipo de la EEO, ya que desde un punto de vista fenotípico y genotípico son indistinguibles en su presentación inicial. Como ha sido destacado en un reciente editorial<sup>52</sup>, **estos hallazgos serán de ayuda para posiblemente modificar la nomenclatura existente y tal vez pasaremos a hablar de esofagitis eosinofílica respondedora a IBP** en vez de *eosinofilia esofágica respondedora a IBP*. Por ejemplo, en la enfermedad inflamatoria intestinal no se habla de enfermedad inflamatoria intestinal respondedora a aminosalicilatos y cuando falla este tratamiento, se pasa a llamar enfermedad de Crohn; o de igual manera, en el asma no se habla de inflamación bronquial eosinofílica y cuando no responde a esteroides inhalados, se pasa a llamar asma bronquial. Siguiendo esta analogía, es un error conceptual considerar la *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* una entidad distinta de la EEO cuando, salvo la distinta respuesta a IBP, son indistinguibles desde un punto de vista genético,

fisiopatológico y fenotípico<sup>56</sup>. Por tanto, es probable que lo que hoy conocemos como *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* represente realmente un subgrupo de pacientes con EEO que responden a un primer paso terapéutico con IBP (por mecanismos desconocidos aún) y que el tratamiento con dieta o corticoides pase a considerarse una escalada terapéutica en pacientes con EEO (*ver Página 74 de esta tesis*). Este tipo de escalada sería similar a la que se hace en la enfermedad inflamatoria intestinal con los tratamientos biológicos o en el asma con los anticuerpos monoclonales anti-IgE.

Respecto a las **limitaciones metodológicas** del estudio, no se evaluó la exposición ácida esofágica mediante pHmetría en los pacientes, por lo que no se ha corroborado o refutado una asociación causal entre la presencia de reflujo ácido y la remisión de la expresión de la inflamación alérgica a nivel molecular tras el tratamiento con IBP. De igual manera, no se han estudiado otros marcadores Th2 potencialmente implicados en la EEO, como la IL-4, la IL-9 y los mastocitos<sup>53</sup>. Sin embargo, el marcador más claramente sobreexpresado en los pacientes con EEO es la eotaxina-3<sup>54</sup>. Las dosis utilizadas de IBP en este segundo estudio (omeprazol 40 mg/12 h) son significativamente superiores a las prescritas en el primer estudio de esta tesis (rabeprazol 20 mg/12h). Pese a no observarse diferencias relevantes en la tasa de respuesta (50% vs. 43%), la base racional para esta dosis es la elevada presencia de pacientes con genotipo metabolizador rápido (70%) del citocromo CYP2C19 entre los pacientes con eosinofilia esofágica sintomática en nuestro medio<sup>55</sup>.

## **5. CONCLUSIONES**

1. Un porcentaje elevado ( $\geq 50\%$ ) de pacientes con infiltración eosinofílica esofágica sintomática presenta remisión clínica e histológica tras tratamiento con IBP.
2. Los resultados de la pHmetría esofágica presentan una mala correlación con la respuesta a IBP en pacientes con eosinofilia esofágica sintomática, por lo que su inclusión en los criterios diagnósticos como predictor de respuesta a IBP podría ser inapropiada.
4. Un subgrupo de pacientes con *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* son fenotípicamente indistinguibles del grupo de pacientes con EEO (no respondedores a IBP), atendiendo a los hallazgos clínicos, endoscópicos, histológicos y de la pHmetría esofágica.
5. La expresión molecular de inflamación alérgica Th2 en las biopsias esofágicas basales es indistinguible entre pacientes con *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* y EEO, sugiriendo una base alérgica común.
6. El tratamiento con IBP es capaz de reducir significativamente la sobreexpresión de marcadores de inflamación alérgica en pacientes con *eosinofilia esofágica respondedora a IBP*. Este efecto terapéutico es similar al obtenido en pacientes con EEO tras tratamiento con corticoides tópicos y sugiere que ambos tratamientos (IBP, corticoides) pueden tener efectos antiinflamatorios similares en pacientes con infiltración eosinofílica esofágica sintomática.

**7. El tratamiento con IBP puede inducir adicionalmente una mejoría clínica e histológica parcial en pacientes con EEO, pero no puede modificar la expresión molecular de la inflamación alérgica.**

**8. Los hallazgos obtenidos en la presente tesis sugieren que la *eosinofilia esofágica respondedora a IBP* y la EEO pudieran ser consideradas dentro del espectro de la misma enfermedad y no como entidades separadas.**

## **6. BIBLIOGRAFÍA**

1. Liacouras CA, Furuta GT, Hirano I, Atkins D, Attwood SE, Bonis PA, et al. Eosinophilic esophagitis: updated consensus recommendations for children and adults. *J Allerg Clin Immunol* 2011;128:3-10.
2. Attwood SE, Smyrk TC, Demeester TR, Jones JB. Esophageal eosinophilia with dysphagia. A distinct clinicopathologic syndrome. *Dig Dis Sci* 1993;38:109-116.
3. Straumann A, Spichtin HP, Bernoulli R, Loosli J, Vögtlin J. Idiopathic eosinophilic esophagitis: a frequently overlooked disease with typical clinical aspects and discrete endoscopic findings [in German with English abstract]. *Schweiz Med Wochenschr* 1994;24 :1419-429.
4. Arias A, Lucendo AJ. Prevalence of eosinophilic oesophagitis in adult patients in a central region of Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2013;25:208-12..
5. Dellon ES. Epidemiology of eosinophilic esophagitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2014;43:201-18.
6. **Molina-Infante J**, Lucendo AJ. A practical approach to diagnosis and management of eosinophilic esophagitis. *Exp Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;16:1-10.
7. Rothenberg ME. Biology and treatment of eosinophilic esophagitis. *Gastroenterology* 2009;137:1238-49.
8. Merves J, Muir A, Modayur Chandramouleeswaran P, Cianferoni A, Wang ML, Spergel JM. Eosinophilic esophagitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2014;112:397-403.
9. Hirano I, Aceves SS. Clinical implications and pathogenesis of esophageal remodeling in eosinophilic esophagitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2014;43:297-316.
10. Schoepfer AM, Safroneeva E, Bussmann C, Kuchen T, Portmann S, Simon HU, et al. Delay in Diagnosis of Eosinophilic Esophagitis Increases Risk for Stricture Formation, in a Time-Dependent Manner. *Gastroenterology* 2013;145:1230-6.
11. Dellon ES, Kim HP, Sperry SL, Rybnicek DA, Woosley JT, Shaheen NJ. A phenotypic analysis shows that eosinophilic esophagitis is a progressive fibrostenotic disease. *Gastrointestinal Endosc* 2014;79:577-85.
12. Furuta GT, Liacouras CA, Collins MH, Gupta SK, Justinich C, Putnam PE, et al. Eosinophilic esophagitis in children and adults: a systematic review and consensus recommendations for diagnosis and treatment. *Gastroenterology* 2007;133:1342-63.

13. Lucendo AJ, Pascual-Turrión JM, Navarro M, Comas C, Castillo P, Letrán A, et al. Endoscopic, bioptic, and manometric findings in eosinophilic esophagitis before and after steroid therapy: a case series. *Endoscopy* 2007;39:765-71.
14. Müller S, Pühl S, Vieth M, Stolte M. Analysis of symptoms and endoscopic findings in 117 patients with histological diagnoses of eosinophilic esophagitis. *Endoscopy* 2007;39:339-44.
15. Dellon ES, Aderoju A, Woosley JT, Sandler RS, Shaheen NJ. Variability in diagnostic criteria for eosinophilic esophagitis: a systematic review. *Am J Gastroenterol* 2007;102:1-14.
16. Kapel RC, Miller JK, Torres C, Aksoy S, Lash R, Katzka DA. Eosinophilic esophagitis: a prevalent disease in the United States that affects all age groups. *Gastroenterology* 2008;134:1316-21.
17. Attwood SE, Lewis CJ, Bronder CS, Morris CD, Armstrong GR, Whittam J. Eosinophilic oesophagitis: a novel treatment using montelukast. *Gut* 2003;52:181-5.
18. Arora AS, Perrault J, Smyrk TC. Topical corticosteroid treatment of dysphagia due to eosinophilic esophagitis in adults. *Mayo Clin Proc* 2003;78:830-5.
19. Ngo P, Furuta GT, Antonioli A, Fox VL. Eosinophils in the esophagus: peptic or allergic eosinophilic esophagitis? Case series of three patients with esophageal eosinophilia. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1666-70.
20. **Molina-Infante J**, Katzka DA. Proton-pump inhibitor-responsive esophageal eosinophilia. *Curr Opin Gastroenterol* 2014;30:428-33.
21. Sayej WN, Patel R, Baker RD, Tron E, Baker SS, et al. Treatment with high-dose proton pump inhibitors helps distinguish eosinophilic esophagitis from noneosinophilic esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009;49:1-7.
22. Peterson KA, Thomas KL, Hilden K, Emerson LL, Wills JC, Fang JC. Comparison of esomeprazole to aerosolized, swallowed fluticasone for eosinophilic esophagitis. *Dig Dis Sci* 2010;55:1313-9.
23. Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R; Global Consensus Group. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1900-20.

24. Boeckxstaens G, El-Serag HB, Smout AJ, Kahrilas PJ. Symptomatic reflux disease: the present, the past and the future. *Gut* 2014;63:1185-93.
25. Isomoto H, Wang A, Mizuta Y, Akazawa Y, Ohba K, Omagari K, et al. Elevated levels of chemokines in esophageal mucosa of patients with reflux esophagitis. *Am J Gastroenterol* 2003;98:551-6.
26. Isomoto H, Saenko VA, Kanazawa Y, Nishi Y, Ohtsuru A, Inoue K, et al. Enhanced expression of interleukin-8 and activation of nuclear factor kappa-B in endoscopy-negative gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2004;99:589-97.
27. Isomoto H, Nishi Y, Kanazawa Y, Shikuwa S, Mizuta Y, Inoue K, et al. Immune and Inflammatory Responses in GERD and Lansoprazole. *J Clin Biochem Nutr* 2007;42:84-91.
28. Remedios M, Campbell C, Jones DM, Kerlin P. Eosinophilic esophagitis in adults: clinical, endoscopic, histologic findings, and response to treatment with fluticasone propionate. *Gastrointest Endosc* 2006;63:3-12.
29. Spechler SJ, Genta RM, Souza RF. Thoughts on the complex relationship between gastroesophageal reflux disease and eosinophilic esophagitis. *Am J Gastroenterol* 2007;102:1301-6.
30. Schubert ML, Peura DA. Control of gastric acid secretion in health and disease. *Gastroenterology* 2008;134:1842-60.
31. Kedika RR, Souza RF, Spechler SJ. Potential anti-inflammatory effects of proton pump inhibitors: a review and discussion of the clinical implications. *Dig Dis Sci* 2009;54:2312-7.
32. Cortes JR, Rivas MD, **Molina-Infante J**, Gonzalez-Nuñez MA, Perez-G M, Masa JF, et al. Omeprazole inhibits IL-4 and IL-13 signaling signal transducer and activator of transcription 6 activation and reduces lung inflammation in murine asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:607-10.
33. Perez-G M, Cortes JR, Rivas MD, Masa F, Zamorano J. Treatment of cells with n-alpha-tosyl-L-phenylalanine-chloromethyl ketone induces the proteolytic loss of STAT6 transcription factor. *Mol Immunol* 2008;45:3896-901.
34. Cheng E, Zhang X, Huo X, Yu C, Zhang Q, Wang DH, et al. Omeprazole blocks eotaxin-3 expression by oesophageal squamous cells from patients with eosinophilic oesophagitis and GORD. *Gut* 2013;62:824-32.

35. Desai TK, Stecevic V, Chang CH, Goldstein NS, Badizadegan K, Furuta GT. Association of eosinophilic inflammation with esophageal food impaction in adults. *Gastrointest Endosc* 2005;61:795-801.
36. **Molina-Infante J**, Ferrando-Lamana A, Ripoll C, Hernandez-Alonso M, Mateos JM, Fernandez-Bermejo M, et al. Esophageal eosinophilic infiltration responds to proton pump inhibition in most adults. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:110-7.
37. Abe Y, Iijima K, Ohara S, Koike T, Ara N, Uno K, et al. A Japanese case series of 12 patients with esophageal eosinophilia. *J Gastroenterol* 2011;46:25-30.
38. Francis DL, Foxx-Orenstein A, Arora AS, Smyrk TC, Jensen K, Nord SL, et al. Results of ambulatory pH monitoring do not reliably predict response to therapy in patients with eosinophilic esophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2012;35:300-7.
39. Levine J, Lai J, Edelman M, Schuval SJ. Conservative long-term treatment of children with eosinophilic esophagitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2012;108:363-6.
40. Dellon ES, Gonsalves N, Hirano I, Furuta GT, Liacouras CA, Katzka DA; American College of Gastroenterology. ACG clinical guideline: Evidenced based approach to the diagnosis and management of esophageal eosinophilia and eosinophilic esophagitis (EoE). *Am J Gastroenterol* 2013;108:679-92.
41. Papadopoulou A, Koletzko S, Heuschkel R, Dias JA, Allen KJ, Murch SH, et al. Management guidelines of eosinophilic esophagitis in childhood. ESPGHAN Eosinophilic Esophagitis Working Group and the Gastroenterology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;58:107-18.
42. Vazquez-Elizondo G, Ngamruengphong S, Khrisna M, Devault KR, Talley NJ, Achem SR, et al. The outcome of patients with oesophageal eosinophilic infiltration after an eight-week trial of a proton pump inhibitor. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;38:1312-9.
43. Dellon ES, Speck O, Woodward K, Gebhart JH, Madanick RD, Levinson S, et al. Clinical and endoscopic characteristics do not reliably differentiate PPI-responsive esophageal eosinophilia and eosinophilic esophagitis in patients undergoing upper endoscopy: a prospective cohort study. *Am J Gastroenterol* 2013;108:1854-60.
44. **Molina-Infante J**, Rivas MD, Hernandez-Alonso M, Vinagre-Rodríguez G, Mateos-Rodríguez JM, Dueñas-Sadornil C, et al. Remission

in proton pump inhibitor-responsive esophageal eosinophilia correlates with downregulation of eotaxin-3 and TH2 cytokines, similarly to eosinophilic esophagitis after steroids. *Alimentary Pharmacol Ther* 2014;40: 955-65.

45. Moawad FJ, Schoepfer AM, Safroneeva E, et al. Eosinophilic oesophagitis and proton pump inhibitor-responsive oesophageal eosinophilia have similar clinical, endoscopic and histological findings. *Aliment Pharmacol Ther* 2014 ;39:603-8.

46. Dellon ES, Speck O, Woodward K, Ally MR, Chen YJ, Maydonovitch CL, et al. Markers of Eosinophilic Inflammation for Diagnosis of Eosinophilic Esophagitis and Proton Pump Inhibitor-Responsive Esophageal Eosinophilia: A Prospective Study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014;12:2015-22.

47. Moawad FJ, Veerappan GR, Dias JA, Baker TP, Maydonovitch CL, Wong RK. Randomized controlled trial comparing aerosolized swallowed fluticasone to esomeprazole for esophageal eosinophilia. *Am J Gastroenterol* 2013;108:366-72.

48. Straumman A, Spichtin HP, Grize L, Bucher KA, Beglinger C, Simon HU. Natural history of primary eosinophilic esophagitis: a follow-up of 30 adult patients for up to 11.5 years. *Gastroenterology* 2003;125:1660-9.

49. Gonsalves N, Yang GY, Doerfler B, Ritz S, Ditto AM, Hirano I. Elimination diet effectively treats eosinophilic esophagitis in adults: food reintroduction identifies causative factors. *Gastroenterology* 2012; 142:1451-9.e1.

50. **Molina-Infante J**, Arias A, Barrio J, Rodríguez-Sánchez J, Sanchez-Cazalilla M, Lucendo AJ. Four-food group elimination diet for adult eosinophilic esophagitis: A prospective multicenter study. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134:1093-1099.e1.

51. Wen T, Dellon ES, Moawad FJ, Furuta GT, Aceves SS, Rothenberg ME. Transcriptome analysis of proton pump inhibitor-responsive esophageal eosinophilia reveals proton pump inhibitor-reversible allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:187-97.

52. Katzka DA. Eosinophilic esophagitis and proton pump-responsive esophageal eosinophilia: what is in a name?. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014;12: 2013-25.

53. Wang YH, Hogan Sp, Fulkerson PC, Abonia JP, Rothenberg ME. Expanding the paradigm of eosinophilic esophagitis.: mast cells and IL-9. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:1583-65.
54. Blanchard C, Wang N, Stringer KF, Mishra A, Fulkerson PC, Abonia JP, , et al. Eotaxin-3 and a uniquely conserved gene-expression profile in eosinophilic esophagitis. *J Clin Invest* 2006;116:536-47.
55. **Molina-Infante J**, Rodriguez-Sanchez J, Martinek J, van Rhijn BD, Krajcivova Rivas MD, et al. Long-term loss of response in proton pump inhibitor-responsive esophageal eosinophilia is uncommon and influenced by CYP2C19 genotype and rhinoconjunctivitis. *Am J Gastroenterol* 2015; en prensa

**7. MENCIONES Y PREMIOS  
RECIBIDOS POR LOS  
TRABAJS  
DE ESTA TESIS**

## **Estudio 1**

**Páginas 72:** editorial publicado en *Clinical Gastroenterology and Hepatology* en Febrero del 2011, destacando los aspectos más relevantes del primer artículo de esta tesis.

**Página 73:** se exponen las menciones y referencias aparecidas en las guías clínicas del 2011<sup>1</sup> acerca de la importancia del primer artículo de esta tesis y sus resultados, que fue incluido como artículo destacado.

## **Estudios 1 y 2**

**Página 74:** editorial publicado en *Clinical Gastroenterology and Hepatology* en Diciembre del 2014 para la referencia nº 46.

**Páginas 75 y 76:** United European Gastroenterology Rising Star Award 2015. Título de la ponencia en la UEG Week 2015 en Barcelona: "PPI-responsive eosinophilic esophagitis".

# Eosinophilic Esophagitis and Gastroesophageal Reflux Disease: There and Back Again

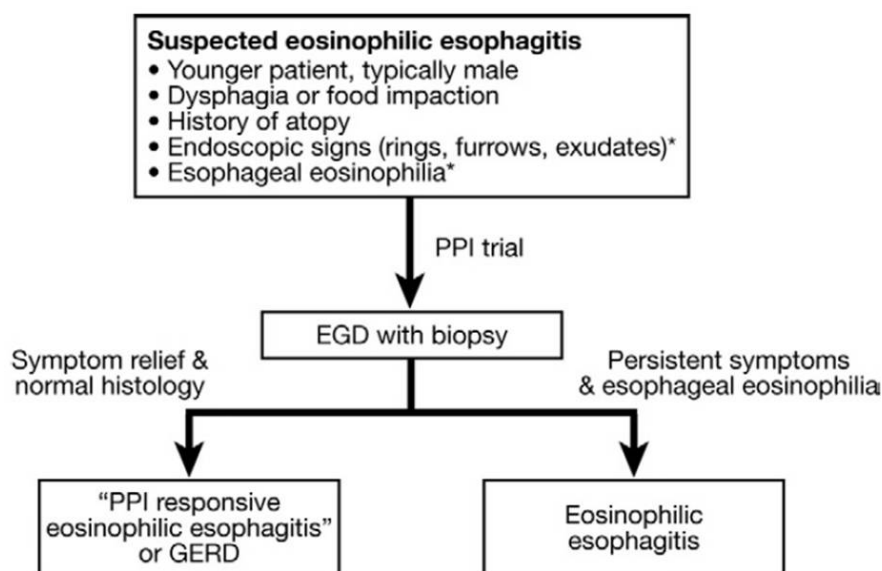


Figure 1. Suggested diagnostic approach to adult patient with EoE.

CLINICAL GASTROENTEROLOGY AND HEPATOLOGY 2011;9:99-101

The notion that EoE could be caused by GERD originated in a case series of 3 patients with symptoms, endoscopic features, and histopathology consistent with EoE who responded to PPI.<sup>16</sup> Two recent, retrospective pediatric studies involving 79 children with EoE reported a 39% response to PPI therapy, with response defined by <5 eosinophils/hpf.<sup>17,18</sup> Furthermore, a randomized controlled trial comparing esomeprazole with fluticasone in adults with dysphagia and esophageal eosinophilia found no difference in the symptom or histologic response.<sup>19</sup> In this issue of *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, Molina-Infante et al<sup>20</sup> report important data from a prospective study examining the response to PPI therapy among adults with esophageal eosinophilia. Esophageal biopsies were obtained

## Eosinophilic esophagitis: Updated consensus recommendations for children and adults

Chris A. Liacouras, MD, Glenn T. Furuta, MD, Ikuo Hirano, MD, Dan Atkins, MD, Stephen E. Attwood, MD, FRCS, FRCSI, MCh, Peter A. Bonis, MD, A. Wesley Burks, MD, Mima Chehade, MD, Margaret H. Collins, MD, Evan S. Dellon, MD, MPH, Ranjan Dohil, MD, Gary W. Falk, MD, MS, Nirmala Gonsalves, MD, Sandeep K. Gupta, MD, David A. Katzka, MD, Alfredo J. Lucendo, MD, PhD, Jonathan E. Markowitz, MD, MSCE, Richard J. Noel, MD, Robert D. Odze, MD, FRCP, Philip E. Putnam, MD, FAAP, Joel E. Richter, MD, FACP, MACG, Yvonne Romero, MD, Eduardo Ruchelli, MD, Hugh A. Sampson, MD, Alain Schoepfer, MD, Nicholas J. Shaheen, MD, MPH, Scott H. Sicherer, MD, Stuart Spechler, MD, Jonathan M. Spergel, MD, PhD, Alex Straumann, MD, Barry K. Wershil, MD, Marc E. Rothenberg, MD, PhD,\* and Seema S. Aceves, MD, PhD\* *Aurora and Denver, Colo, Milwaukee, Wis, Cincinnati, Ohio, Rochester, Minn, Philadelphia, Pa, Basel and Lausanne, Switzerland, Chapel Hill and Durham, NC, Boston, Mass, Chicago, Ill, San Diego, Calif, New York, NY, Indianapolis, Ind, Tomelloso, Spain, Greenville, SC, and North Shields, United Kingdom*

**corticosteroids, and esophageal dilation. Important additions since 2007 include genetic underpinnings that implicate EoE**

**susceptibility caused by polymorphisms in the thymic stromal lymphopoietin protein gene and the description of a new potential disease phenotype, proton pump inhibitor-responsive esophageal eosinophilia. Further advances and controversies**

**Because an emerging group of patients with PPI-responsive esophageal eosinophilia has been identified, clinical judgment, as well as information derived from therapeutic response to PPI, pH monitoring, or both, should be taken into careful consideration to distinguish esophagitis related to GERD from that caused by EoE. PPI responsiveness or diagnostic testing (pH monitoring) might not adequately distinguish GERD and EoE.**

6. Molina-Infante J, Ferrando-Lamana L, Ripoll C, Hernandez-Alonso M, Mateos JM, Fernandez-Bermejo M, et al. Esophageal eosinophilic infiltration responds to proton pump inhibition in most adults. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:110-7.
10. Molina-Infante J, Ferrando-Lamana L, Mateos-Rodriguez JM, Perez-Gallardo B, Prieto-Bermejo AB. Overlap of reflux and eosinophilic esophagitis in two patients requiring different therapies: a review of the literature. *World J Gastroenterol* 2008;14:1463-6.

# EDITORIAL

## Eosinophilic Esophagitis and Proton Pump–Responsive Esophageal Eosinophilia: What Is in a Name?



The world of eosinophilic esophagitis (EoE) was ostensibly neat and well organized until 2011 when Molina-Infante et al<sup>1</sup> published their classic article describing a cohort of patients with esophageal eosinophilia and clinical characteristics of eosinophilic esophagitis of whom 50% responded histologically to a trial of proton pump inhibitors (PPIs). Since that time, several studies have corroborated these data, suggesting that 35% to 50% of patients who present with dysphagia and esophageal eosinophilia will respond histologically to PPIs.<sup>2–6</sup> These data have led to several changes in the way we view and study esophageal eosinophilia. First, a term for proton pump–responsive esophageal eosinophilia (PPIREE) was created. Second, there was a concentration of efforts to distinguish EoE from PPIREE. Third, there was an effort to explain why, in some patients, EoE and PPIREE are not mutually exclusive but closely related or possibly synergistic.

**DAVID A. KATZKA, MD**  
Division of Gastroenterology  
Mayo Clinic  
Rochester, Minnesota

### References

1. Molina-Infante J, Ferrando-Lamana A, Ripoll C, et al. Esophageal eosinophilic infiltration responds to proton pump inhibition in most adults. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:110–117.

**Clinical Gastroenterology and Hepatology 2014;12:2023–2025**

# United European Gastroenterology Rising Star Award 2015



## Rising Star Awards

Every year the **National Societies Committee** and the **Scientific Committee** jointly select up to 10 emerging clinical scientists.

Those young researchers are awarded Rising Star status based on a track record of international-quality research and developing scientific independence. This initiative provides a durable platform for young researchers to give state-of-the-art lectures and chair scientific sessions at UEG Week.

**Application for Rising Star at UEG Week 2016 is open until September 30, 2015.**

---

### Rising Stars 2015

We'd like to congratulate this year's Rising Stars:

**Raja Atreya**, Germany  
**Niklas Björkström**, Sweden  
**Rui Castro**, Portugal  
**Trevor Graham**, United Kingdom  
**Thierry Gustot**, Belgium  
**Kalle Kurppa**, Finland  
**Javier Molina Infante**, Spain  
**Ingrid Ordas**, Spain  
**Jonas Rosendahl**, Germany

## Wednesday, October 28, 2015

### Symposium

Date: Wednesday, October 28, 2015

Time: 08.30-10.30

Room: Hall 7.1

### Management of non-obstructive dysphagia

Haruhiro Inoue, Japan

Chair

Alex Straumann, Switzerland

Chair

08.30-08.52 **The new Chicago classification of esophageal motility disorders: Is it clinically useful?**

Sabine Roman, France

Speaker

08.52-09.14 **Surgical treatment options**

Giovanni Zaninotto, United Kingdom

Speaker

09.14-09.36 **Endoscopic treatment, including peroral endoscopic myotomy (POEM)**

Guido Costamagna, Italy

Speaker

09.36-09.58 **Rising Star: PPI-responsive eosinophilic esophagitis**

Javier Molina Infante, Spain

Speaker

09.58-10.10 **Free Paper**

10.10-10.22 **Free Paper**