

“Alergia: Evolución, Remodelado y Biomarcadores asociados”.

Domingo Barber, María M. Escribese, Alma Villaseñor, Marina Pérez-Gordo, Cristina Gómez-Casado, Tomás Chivato.

Facultad de Medicina, Universidad San Pablo CEU, Campus Monteprincipe, Boadilla del Monte, 28668 Madrid, Spain.

E-mail: domingo.barberhernandez@ceu.es

Resumen

Para avanzar en nuevas estrategias de diagnóstico y tratamiento de las enfermedades alérgicas, es esencial profundizar en los mecanismos subyacentes, correlacionándolos con las observaciones clínicas. La medicina de precisión, basada en la utilización de técnicas de alta capacidad (ómicas), permite obtener una visión general de la enfermedad y lo que es más importante, posibilita el descubrimiento de nuevos biomarcadores y abre el camino a estrategias de intervención más eficaces. El manejo etiológico de la patología alérgica es la pieza esencial sobre la que debe bascular la estrategia de intervención en alergia. La estratificación clínica de los pacientes alérgicos en base a su gravedad es esencial para entender la evolución de la enfermedad y el diseño de algoritmos de intervención adecuados donde cada herramienta terapéutica maximice su valor en el tratamiento de esta patología.

Introducción

Cada vez es más evidente que los procesos biológicos subyacentes asociados a la progresión de la enfermedad alérgica implican múltiples sistemas como el endotelio, las barreras epiteliales, el microbioma, las plaquetas y las respuestas inmunes innatas y adquiridas¹⁻⁵. Esta red está profundamente influenciada por los polimorfismos genéticos y la adaptación epigenética a los cambios ambientales (Figura 1). La naturaleza de la sensibilización específica, la vía de exposición, la intensidad y la duración desempeñan un papel importante en la adquisición de diferentes fenotipos alérgicos y, por consiguiente, para

fijar diferentes estrategias de intervención. En España, en los últimos años, se ha realizado una extensa investigación en la identificación de fenotipos graves asociados al polen (olivo y gramíneas), ácaros o sensibilización mediada por LTPs (Proteínas de transferencia de lípidos)⁶⁻⁸. Estos pacientes graves constituyen un modelo relevante para entender la progresión de la enfermedad. Existe un panel limitado de biomarcadores que pueden usarse de manera fiable en la práctica clínica diaria⁹, por lo que se necesita buscar nuevos biomarcadores y diseñar las mejores estrategias de intervención para los diferentes fenotipos alérgicos. La inmunoterapia específica, cuando se usa correctamente, ofrece una posibilidad única de modificar la enfermedad a largo plazo y de evitar la progresión a una patología más grave¹⁰. Por otro lado, hay un aumento de opciones de nuevos fármacos biológicos (Anticuerpos monoclonales) que se dirigen a diferentes dianas Th2 como la IgE, IL4, IL13 o IL5¹¹. Este hecho, hace que sea vital diseñar estrategias globales que sitúen el enfoque etiológico como centro del manejo del paciente alérgico (Figura 2). Nuevas metodologías, denominadas ómicas¹² han surgido en los últimos años para estudiar los procesos biológicos. Las estrategias ómicas se pueden aplicar para el análisis de genomas, metabolomas, transcriptomas, proteomas o epigenomas en muestras biológicas que incluyen, suero, células, biopsias o secreciones. Más importante aún, los análisis ómicos están orientados a la enfermedad y pueden usarse para monitorizar y comparar diferentes estrategias de intervención, comparando el inicio del efecto, la intensidad, la duración y la persistencia después de la interrupción, para integrarlos en nuevos algoritmos de intervención, donde el enfoque etiológico debe ocupar un lugar central. Nuestro objetivo es revisar aquí los diferentes sistemas involucrados en la progresión de la enfermedad alérgica, el posible efecto sobre ellos de la intervención farmacológica y los biomarcadores asociados a la inflamación alérgica y el asma.

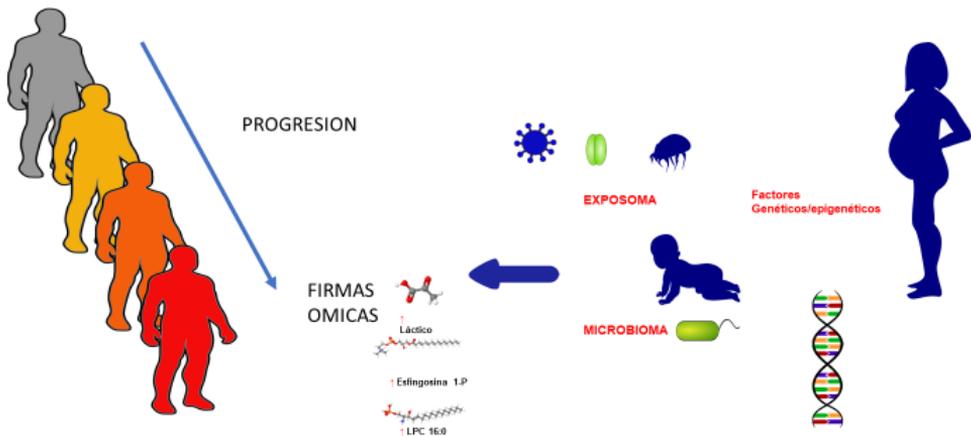


Figura 1: La enfermedad alérgica y su progresión está determinada por múltiples factores interconectados. Es preciso diseñar estrategias para entender la influencia de los mismos en el fenotipo clínico del paciente y así, diseñar mejores estrategias de intervención

Pros y contras de los tratamientos disponibles

La inmunoterapia específica con alérgenos (AIT), cuando se usa correctamente, tiene el potencial de modificar el curso de la enfermedad alérgica. En una publicación reciente que analiza la secuencia de los mecanismos inmunológicos involucrados¹³, se ha demostrado que la fase inicial de la IT sublingual a dosis altas se rige por mecanismos de desensibilización, por interacción inmunológica directa en la mucosa oral¹⁴. El efecto sostenido está conectado a un tiempo de administración más largo (al menos tres años) y está directamente vinculado a la adquisición del fenotipo amTreg¹⁰. Curiosamente, durante el primer año de terapia no hay una mejora periférica perceptible a nivel celular. Estos datos están respaldados por las nuevas evidencias clínicas proporcionadas por el estudio Grazax Asthma Prevention (GAP)¹⁵ donde no se observan mejorías en los síntomas del asma invernal en niños alérgicos a polen de gramíneas hasta el tercer invierno del tratamiento. Asimismo, en un ensayo clínico reciente se demuestra que la inmunoterapia alérgeno específica a dosis alta, bien sea subcutánea o sublingual es incapaz de proporcionar un efecto sostenido si solo se administra durante un período de dos años. De hecho, numerosos ensayos clínicos que utilizan enfoques dirigidos a células T (dosis baja, péptidos, fragmentos o alérgenos modificados genéticamente) administrados durante menos de un año han demostrado ser ineficaces^{16, 17}, lo que apoya la relevancia de la desensibilización para el efecto a corto plazo. Teniendo esto en cuenta, encontrar biomarcadores sistémicos durante la primera fase de IT (1-2 años) podrían no ser un objetivo fácil, y la búsqueda debería centrarse más en biomarcadores de predicción antes de la intervención o para demostrar el efecto en el tercer año de intervención y / o después de la interrupción. Podría esperarse un comportamiento inverso de la intervención con productos biológicos, que deberían demostrar un efecto sistémico temprano, que desaparecería progresivamente después del cese de la terapia. Obeso et al, 2018¹⁸, han demostrado que los pacientes con inflamación alérgica mediada por la exposición al polen de las gramíneas y estratificados clínicamente por la respuesta de provocación oral de profilina, presentan firmas metabólicas y transcriptómicas diferenciales relacionadas con el metabolismo energético y de lípidos o la función plaquetaria. En este estudio, el fenotipo más grave no responde o no tolera la IT alérgeno específica y podría ser candidato a la intervención con productos biológicos, y después de la estabilización o reversión del fenotipo inflamatorio, podría tratarse con vacunas específicas.

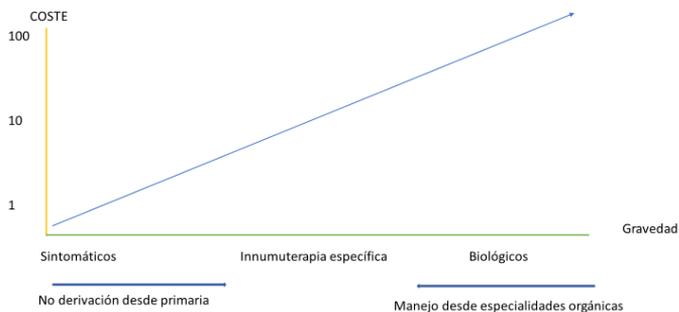


Figura 2: El manejo etiológico de la alergia es una opción presionada por aproximaciones terapéuticas orientadas al control de síntomas. Necesitamos biomarcadores que permitan demostrar el valor único de la aproximación etiológica, y situarla como centro del control del paciente alérgico

Está claro que un mejor manejo de las enfermedades alérgicas requiere un conocimiento profundo de la heterogeneidad de la enfermedad y los mecanismos subyacentes. Las enfermedades alérgicas y respiratorias crónicas tienen un importante impacto socioeconómico. La medicina de precisión podría representar un nuevo enfoque capaz de resolver, o al menos reducir, este impacto. Las nuevas estrategias terapéuticas con biológicos apuntan a mediadores específicos de la respuesta de tipo 2. Tanto el anti-IgE (omalizumab) como el anti-IL5 (mepolizumab, reslizumab) son terapias dirigidas a vías inmunológicas implicadas en la evolución de la respuesta inmune de tipo 2¹¹. La anti-IgE (omalizumab) fue el primer tratamiento biológico utilizado con éxito en pacientes con asma alérgica grave mediada por IgE. Ejerce su acción impidiendo la desgranulación de mastocitos y basófilos y bloquea la unión IgE-FcεRI¹⁹. Se ha demostrado que puede mejorar los síntomas, reducir la tasa de exacerbaciones y permitir una reducción en el tratamiento de los corticosteroides orales en pacientes con asma alérgica grave²⁰. Sin embargo, los datos clínicos muestran que no todos los pacientes tratados responden por igual, y en la actualidad no hay biomarcadores para predecir qué pacientes son los más adecuados para este tratamiento y en los que será más eficaz. De hecho, estudios recientes demuestran que el tratamiento anti-IgE también es eficaz en pacientes asmáticos sin niveles detectables de IgE a los alérgenos comunes. A pesar de la experiencia con este tratamiento en la práctica clínica, no se conocen los mecanismos precisos de acción, ni la duración óptima o las consecuencias de un tratamiento de larga duración. En este sentido, hay evidencias que sugieren que 5 años de tratamiento reducen las exacerbaciones, aunque algunos estudios muestran que una vez que se retira el tratamiento, los pacientes pierden el efecto terapéutico²¹.

Otro fármaco biológico comercializado para el tratamiento de los fenotipos alérgicos graves y el asma es el anti-IL5 (Mepolizumab). La IL-5 media la diferenciación, proliferación y activación de los eosinófilos. El tratamiento con anti-IL5, promueve la apoptosis de los eosinófilos eliminándolos de la circulación sistémica y de los tejidos. Estudios recientes muestran que este tratamiento es eficaz en el caso de asma eosinofílica grave, especialmente en pacientes que también tienen poliposis nasal²². Los datos indican una reducción significativa de las exacerbaciones, siendo más efectivos cuanto mayor es el recuento eosinofílico y el número de exacerbaciones. Como ocurre con la anti-IgE, no se conoce el período óptimo de tratamiento, pero hay estudios clínicos que muestran que después de 6 meses de tratamiento, su interrupción provoca un aumento significativo de la eosinofilia en sangre y exacerbaciones similares a las presentadas al inicio del tratamiento^{21, 23}. El uso de medicamentos biológicos ha supuesto una mejora en la calidad de vida de los pacientes con fenotipos graves. Sin embargo, hasta hoy hay muchas incógnitas sobre este tipo de tratamientos. No hay biomarcadores que identifiquen a los pacientes más apropiados para este tratamiento, ni el tiempo requerido para la administración ni se conocen las consecuencias de un tratamiento prolongado. La posibilidad de utilizar estos fármacos biológicos como estabilizadores de la respuesta inmunitaria previa a la administración posterior de otros tratamientos capaces de modificar definitivamente la respuesta inmunitaria del paciente (inmunoterapia) constituye una aproximación novedosa de gran impacto clínico.

Nuevos mecanismos asociados a la progresión alérgica: remodelado de la mucosa, microbiota y agotamiento plaquetario

Recientemente se han sugerido nuevos enfoques con respecto a los mecanismos involucrados en la inflamación alérgica que podrían explicar la adquisición de un fenotipo grave. Entre ellos, se encuentra el remodelado de la mucosa, la alteración del microbioma y el agotamiento de las plaquetas durante la inflamación alérgica. La mucosa es la primera línea defensiva en mamíferos. Recubre las partes internas del cuerpo expuestas a antígenos y está constituida por una barrera epitelial y un tejido conectivo altamente vascularizado, llamado lámina propia. La barrera epitelial se somete a un proceso de remodelado debido a condiciones inflamatorias mantenidas, como se ha demostrado en la alergia a los alimentos inducida por polen de gramíneas¹⁴ o en el asma persistente²⁴. Además de ser una barrera física, las mucosas contienen células inmunes que ayudan a mantener su homeostasis. La homeostasis de la mucosa es crucial para el desarrollo de tolerancia a los antígenos y para prevenir la entrada de patógenos. En este sentido la comunicación entre el huésped y su microbiota es importante para lograr y mantener la homeostasis. Cuando se pierde este equilibrio (disbiosis), es más probable que se desarrollen patologías²⁵. Las alteraciones en la composición y diversidad de las bacterias presentes en el intestino grueso, pueden romper la tolerancia inmunológica de la mucosa y provocar la aparición de alergia alimentaria²⁶ e incluso de asma²⁷. Además, la microbiota intestinal puede producir metabolitos, como ácidos grasos de cadena corta (SCFA), o alterar la disponibilidad de micronutrientes y moléculas de señalización, como los esfingolípidos, que pueden actuar de manera distal y modificar el crecimiento de patógenos en otros órganos y su inmunidad.

Los esfingolípidos (SL) modulan una variedad de vías de señalización eucarióticas implicadas en la proliferación, apoptosis, diferenciación y migración. Se han identificado como dianas terapéuticas prometedoras para controlar las patologías inflamatorias^{28, 29}. Aunque los SL son ubicuos entre los eucariotas, pocas bacterias los producen. Se ha descrito que algunas especies de *Bacteroides*, que a menudo comprenden más del 50% de la comunidad intestinal, son capaces de producir SL. De hecho, del 40% al 70% de los fosfolípidos de membrana de estas bacterias son SLs³⁰. Los metabolitos de esfingolípidos, como la esfingosina-1-fosfato (S1P), producidos por la fosforilación de la esfingosina por las esfingosina quinasas (SphKs) se asocian con procesos fisiológicos en el huésped, como la angiogénesis y las respuestas inmunitarias³¹. De hecho, es un importante regulador de la función inmune, implicado en el desarrollo de células inmunes, la diferenciación, el tráfico de linfocitos y el reclutamiento de células efectoras durante la inflamación aguda y crónica^{32, 33}. Además, se describió una asociación inversa de SLs derivadas de microbios intestinales con el inicio de alergias alimentarias infantiles. Dado que se ha descrito que los *Bacteroides* se reducen en pacientes alérgicos^{34, 35}, podemos suponer que esta reducción podría deberse al estrés de la esfingosina en el huésped. Sin embargo, la capacidad de los lípidos bacterianos para actuar como moléculas de señalización que median el metabolismo del huésped debe estudiarse más a fondo. Nuestro grupo ha descrito recientemente alteraciones en el metabolismo de los esfingolípidos en pacientes de fenotipo grave¹⁸.

Otro mecanismo potencialmente importante en la progresión de la inflamación alérgica es el agotamiento de las plaquetas. Las anomalías plaquetarias en pacientes con asma alérgica han sido descritas en la literatura hace de 40 años^{36, 37}. Además, los datos metabólicos y transcriptómicos sugieren que los pacientes con fenotipo alérgico grave presentan un comportamiento alterado de las respuestas plaquetarias que reflejaría las características del agotamiento funcional¹⁸. Un estudio reciente ha revelado que las plaquetas se liberan en el pulmón de progenitores residentes. Si los pulmones son un reservorio para los megacariocitos³⁸, surgen las preguntas sobre su función en el pulmón y su papel en la defensa del huésped, ya que los megacariocitos y las plaquetas son una fuente rica de mediadores de señalización que potencialmente modulan las enfermedades inflamatorias o fibróticas en los pulmones. Un mediador descrito como constitutivamente expresado por plaquetas y megacariocitos en un modelo murino de eosinofilia de la vía aérea es la proteína IL-33³⁹. La IL-33 es una citoquina de la familia IL-1, crítica en el desarrollo de enfermedades alérgicas debido a su capacidad para inducir respuestas inmunes de tipo 2 en diversas células inflamatorias, incluidas las células linfoides innatas del grupo 2 (ILC2), células Th2, eosinófilos, basófilos, células dendríticas y mastocitos. La IL-33 se expresa de forma constitutiva en células epiteliales y endoteliales, y es liberada por las células necróticas después de la lesión tisular³⁹. Por tanto, se considera una molécula de señalización de daño tisular (DAMP) y causa inflamación local. Takeda et al demostraron la localización citoplásmica de la proteína IL-33 en megacariocitos. Estas observaciones tienen sentido porque las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos de megacariocitos. También encontraron que la proteína IL-33 se expresaba predominantemente en plaquetas humanas como su forma de longitud completa (31 kDa), y que las plaquetas activadas pueden liberar la proteína IL-33 activa, lo que sugiere que las plaquetas podrían ser una diana terapéutica útil en asma.

Además, se ha descrito la contribución de las plaquetas en la poliposis nasal, una patología inflamatoria frecuente de etiología desconocida pero que comparte características histológicas y bioquímicas con la inflamación alérgica. El infiltrado eosinofílico es el rasgo más característico de los pólipos nasales, particularmente en pacientes con asma sensible a la aspirina (AAS). El factor activador de plaquetas (PAF) es un potente activador de los eosinófilos humanos. Varios estudios han señalado niveles alterados de PAF en pólipos nasales de pacientes con sinusitis crónica y pacientes con AAS^{40, 41}.

Aunque los mecanismos precisos de cómo las plaquetas regulan la inflamación alérgica aún no se conocen, estos hallazgos abren nuevas líneas de investigación para avanzar en nuestra comprensión y enfoque para tratar las enfermedades alérgicas.

Análisis multi-ómicos en el estudio de la inflamación alérgica grave

En las últimas décadas, el estudio de sistemas biológicos mediante ciencias ómicas como la genómica, transcriptómica, epigenética, proteómica y metabolómica ha tenido un gran impacto en la comprensión de la fisiopatología en las enfermedades alérgicas. Estas ciencias se han utilizado para medir genes, subtipos de ARN, modificaciones de ADN, proteínas y metabolitos, respectivamente. Las ciencias ómicas han abierto la oportunidad de tener una imagen global de los procesos biológicos que se ven afectados en una patología. La aplicación de esta aproximación al estudio de la inflamación alérgica, requiere un fenotipado preciso de los pacientes, lo cual ha limitado su uso ya que la identificación de fenotipos graves es difícil de definir.

Un ejemplo de la importancia de incluir el fenotipo grave es el “modelo de gravedad” para la alergia a los alimentos en pacientes con alergia respiratoria por polen de gramíneas¹⁸. En un primer estudio, se descubrió que más de la mitad de los pacientes alérgicos al polen de las gramíneas que viven en zonas geográficas de alta exposición al alérgeno también estaban sensibilizados a la profilina, un alérgeno alimentario. Sobre todo, algunos de estos pacientes alérgicos a la profilina mostraron reacciones sistémicas graves después de la prueba de provocación oral⁴². Este tipo de reacciones a la profilina apenas se observa en otras áreas de exposición al polen de gramíneas. En este contexto, el estudio de este modelo fue crítico para comprender los mecanismos moleculares que podrían explicar por qué estos pacientes que han tolerado la ingesta de profilina, de repente comenzaban a estar sensibilizados y desarrollan alergia alimentaria posteriormente, identificando el remodelado progresivo de la mucosa oral como factor clave en dichas reacciones.

Con respecto a la aplicación de ómicas, después del análisis de plasma por metabolómica utilizando diferentes técnicas analíticas, se obtuvieron 844 señales químicas por muestra y se midieron hasta 48,000 transcritos de ARN de las células sanguíneas (PB-MCs), lo que llevó a una caracterización completa de la muestra de sangre. Siguiendo este enfoque, se obtuvo una vista más completa del fenotipo del paciente¹⁸. En este estudio, se incluyeron sujetos no alérgicos y pacientes alérgicos al polen de gramíneas con diferentes tipos de reacciones clínicas a una prueba de provocación oral a profilina utilizando concentraciones crecientes hasta simular la cantidad contenida en una ración de melón. El éxito del estudio se basó en el desarrollo de un modelo predictivo multivariante (OPLSDA) que utiliza sujetos no alérgicos y aquellos pacientes alérgicos con una clara respuesta grave a la profilina. El OPLSDA presentó un buen valor predictivo ($Q^2 = 75\%$) de los pacientes alérgicos intermedios, en los que la prueba de provocación oral no era concluyente. El resultado permitió estratificar los pacientes en “no alérgicos”, “pacientes con alergia leve”, “pacientes con alergia moderada” y “pacientes con alergia grave”. Curiosamente, los datos clínicos, la metabolómica y el perfil transcriptómico se correlacionaron y confirmaron esta estratificación. Se determinó que los sujetos alérgicos graves presentaban perfiles metabólicos y transcriptómicos específicos. Se observó una alteración del metabolismo de los esfingolípidos, mostrando por un lado una disminución de los niveles de esfingolípidos derivados del intestino, tales como (esfinganina C17 y su análogo) y en por otro lado,

un aumento de la esfingalina-1P derivada del ser humano, la esfingosina-1P y la esfingosina (esta última, con niveles disminuidos en el grupo grave en comparación con otros grupos alérgicos). Además, la esfingosina-1P es un metabolito producido principalmente por plaquetas activadas, que tiene la función de señalar la activación de otras plaquetas, células endoteliales, macrófagos, linfocitos T y neutrófilos para movilizar y reparar el sitio del endotelio afectado⁴⁴⁻⁴⁶. Por otro lado, la mayoría de las funciones transcriptómicas de las plaquetas, como la adhesión de las plaquetas, la activación, los receptores, la agregación de complejos, la síntesis de HETE-12 y el tromboxano A2, y tanto la inducción del cambio de forma como los procesos de secreción de gránulos se encontraban disminuidas en los pacientes de fenotipo grave. Estos hechos en conjunto sugieren que en pacientes “graves” el sistema de reparación-inflamación endotelial está comprometido, probablemente causado por un agotamiento o una autolimitación de las funciones plaquetarias. Además, se observó una alteración del metabolismo de los lisofosfolípidos (LP), donde la mayoría de los metabolitos se incrementaron en el grupo grave. En una publicación anterior en la enfermedad de las vías respiratorias alérgicas, una inyección intranasal de una mezcla de LPC marcada (16: 0), LPC (18: 0) y LPC (18: 1) en un modelo de ratón encontró un aumento estadísticamente significativo de la inflamación del tejido pulmonar y Niveles de IL-4⁴⁷. Además, los LP están implicados en distintas rutas biológicas pro inflamatorias: tales como la producción de factor de activación plaquetaria (PAF), como sustrato para la síntesis de ácido araquidónico y como fuente de palmítico para producir esfingosina, que las plaquetas capturan para producir esfingosina-1P. Finalmente, el tercer cambio metabólico fue la alteración del metabolismo energético. La disminución de azúcares y carnitina y el aumento de ácido láctico indica un cambio en el metabolismo energético conocido como “metabolismo de Warburg”. Este tipo de metabolismo en condiciones de oxígeno es característico para la activación de las células T⁴⁸. Este cambio podría explicar la fatiga y el dolor muscular en pacientes con “alergia severa”. Este enfoque muestra que la combinación de transcripciones y análisis metabólicos en modelos clínicos bien diseñados que utilizan el grupo severo de pacientes arrojó algo de luz sobre la progresión de la inflamación alérgica.

Observaciones finales

En resumen, hemos revisado los tratamientos disponibles para las enfermedades alérgicas y los pacientes con asma, con especial atención a los pacientes de fenotipo grave difíciles de tratar. La IT es el único tratamiento que modifica de forma permanente la respuesta inmune, el uso de medicamentos biológicos ha abierto la posibilidad de diseñar nuevas estrategias de intervención para utilizarlas como estabilizador antes de los tratamientos de IT (Figura 3). El principal problema para diseñar nuevas estrategias de intervención es la falta de biomarcadores útiles para estratificar y monitorizar a los pacientes previa o durante la intervención. Proponemos el uso de herramientas ómicas y el desarrollo de métodos de integración para identificar biomarcadores de gravedad y sugerimos nuevos mecanismos que expliquen la progresión de la inflamación alérgica.

Financiación:

Este trabajo fue financiado por ISCIII (Número de proyecto, PI16 / 00249 y PI18 / 01467) cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional “una forma diferente de hacer Europa” para la red temática de investigación cooperativa ARADyAL RD16 / 0006/0015. M.P.-G. Reconoce a la Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica (SEAC) por su apoyo financiero.

Bibliografía

1. Noti, M., New perspectives on the initiation of allergic immune responses at barrier sites. *Curr Opin Immunol*, 2018. 54: p. 130-136.
2. Hajavi, J., et al., The immunomodulatory role of probiotics in allergy therapy. *J Cell Physiol*, 2019. 234(3): p. 2386-2398.
3. Martens, K., et al., Probiotics for the airways: Potential to improve epithelial and immune homeostasis. *Allergy*, 2018. 73(10): p. 1954-1963.
4. Wallrapp, A., et al., Type 2 innate lymphoid cells in the induction and resolution of tissue inflammation. *Immunol Rev*, 2018. 286(1): p. 53-73.
5. Takeda, T., et al., Recent advances in understanding the roles of blood platelets in the pathogenesis of allergic inflammation and bronchial asthma. *Allergol Int*, 2018. 67(3): p. 326-333.
6. Barber, D., et al., Understanding patient sensitization profiles in complex pollen areas: a molecular epidemiological study. *Allergy*, 2008. 63(11): p. 1550-8.
7. Matricardi, P.M., et al., EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol*, 2016. 27 Suppl 23: p. 1-250.
8. Blanco, C., et al., Anaphylaxis after ingestion of wheat flour contaminated with mites. *J Allergy Clin Immunol*, 1997. 99(3): p. 308-13.
9. Eguiluz-Gracia, I., et al., Recent developments and highlights in biomarkers in allergic diseases and asthma. *Allergy*, 2018.
10. Suarez-Fueyo, A., et al., Grass tablet sublingual immunotherapy downregulates the TH2 cytokine response followed by regulatory T-cell generation. *J Allergy Clin Immunol*, 2014. 133(1): p. 130-8 e1-2.
11. Boyman, O., et al., EAACI IG Biologicals task force paper on the use of biologic agents in allergic disorders. *Allergy*, 2015. 70(7): p. 727-54.
12. Nacher, J.C. and T. Akutsu, Minimum dominating set-based methods for analyzing biological networks. *Methods*, 2016. 102: p. 57-63.
13. Varona, R., et al., Persistent regulatory T-cell response 2 years after 3 years of grass tablet SLIT: Links to reduced eosinophil counts, sIgE levels, and clinical benefit. *Allergy*, 2018.
14. Rosace, D., et al., Profilin-mediated food-induced allergic reactions are associated with oral epithelial remodeling. *J Allergy Clin Immunol*, 2018.
15. Valovirta, E., et al., Results from the 5-year SQ grass sublingual immunotherapy tablet asthma prevention (GAP) trial in children with grass pollen allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 2017.
16. Scadding, G.W., et al., Effect of 2 Years of Treatment With Sublingual Grass Pollen Immunotherapy on Nasal Response to Allergen Challenge at 3 Years Among Patients With Moderate to Severe Seasonal Allergic Rhinitis: The GRASS Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 2017. 317(6): p. 615-625.

17. Slovic, A., et al., Intradermal grass pollen immunotherapy increases TH2 and IgE responses and worsens respiratory allergic symptoms. *J Allergy Clin Immunol*, 2017. 139(6): p. 1830-1839 e13.
18. Obeso, D., et al., Multi-omics analysis points to altered platelet functions in severe food-associated respiratory allergy. *Allergy*, 2018. 73(11): p. 2137-2149.
19. Pelaia, G., et al., Anti-IgE therapy with omalizumab for severe asthma: current concepts and potential developments. *Curr Drug Targets*, 2015. 16(2): p. 171-8.
20. Hanania, N.A., et al., Exploring the effects of omalizumab in allergic asthma: an analysis of biomarkers in the EXTRA study. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013. 187(8): p. 804-11.
21. Godar, M., et al., Personalized medicine with biologics for severe type 2 asthma: current status and future prospects. *MAbs*, 2018. 10(1): p. 34-45.
22. Gevaert, P., et al., Omalizumab is effective in allergic and nonallergic patients with nasal polyps and asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 2013. 131(1): p. 110-6 e1.
23. Patterson, M.F., L. Borish, and J.L. Kennedy, The past, present, and future of monoclonal antibodies to IL-5 and eosinophilic asthma: a review. *J Asthma Allergy*, 2015. 8: p. 125-34.
24. Steelant, B., et al., Restoring airway epithelial barrier dysfunction: a new therapeutic challenge in allergic airway disease. *Rhinology*, 2016. 54(3): p. 195-205.
25. Hayes, C.L., et al., Commensal microbiota induces colonic barrier structure and functions that contribute to homeostasis. *Sci Rep*, 2018. 8(1): p. 14184.
26. Aitoro, R., et al., Gut Microbiota as a Target for Preventive and Therapeutic Intervention against Food Allergy. *Nutrients*, 2017. 9(7).
27. Abrahamsson, T.R., et al., Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clin Exp Allergy*, 2014. 44(6): p. 842-50.
28. Wieland Brown, L.C., et al., Production of alpha-galactosylceramide by a prominent member of the human gut microbiota. *PLoS Biol*, 2013. 11(7): p. e1001610.
29. Norris, G.H. and C.N. Blesso, Dietary and Endogenous Sphingolipid Metabolism in Chronic Inflammation. *Nutrients*, 2017. 9(11).
30. Kunsman, J.E. and D.R. Caldwell, Comparison of the sphingolipid content of rumen *Bacteroides* species. *Appl Microbiol*, 1974. 28(6): p. 1088-9.
31. Heaver, S.L., E.L. Johnson, and R.E. Ley, Sphingolipids in host-microbial interactions. *Curr Opin Microbiol*, 2018. 43: p. 92-99.
32. Proia, R.L. and T. Hla, Emerging biology of sphingosine-1-phosphate: its role in pathogenesis and therapy. *J Clin Invest*, 2015. 125(4): p. 1379-87.
33. Price, M.M., et al., A specific sphingosine kinase 1 inhibitor attenuates airway hyperresponsiveness and inflammation in a mast cell-dependent murine model of allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 2013. 131(2): p. 501-11 e1.
34. Chen, C.C., et al., Alterations in the gut microbiotas of children with food sensitization in early life. *Pediatr Allergy Immunol*, 2016. 27(3): p. 254-62.
35. Dzidic, M., et al., Aberrant IgA responses to the gut microbiota during infancy precede asthma and allergy development. *J Allergy Clin Immunol*, 2017. 139(3): p. 1017-1025 e14.
36. Pitchford, S.C., et al., Allergen induces the migration of platelets to lung tissue in allergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008. 177(6): p. 604-12.
37. Pitchford, S.C., et al., Platelet P-selectin is required for pulmonary eosinophil and lymphocyte recruitment in a murine model of allergic inflammation. *Blood*, 2005. 105(5): p. 2074-81.
38. Haas, S., et al., Inflammation-Induced Emergency Megakaryopoiesis Driven by Hematopoietic Stem Cell-like Megakaryocyte Progenitors. *Cell Stem Cell*, 2015. 17(4): p. 422-34.

39. Takeda, T., et al., Platelets constitutively express IL-33 protein and modulate eosinophilic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 2016. 138(5): p. 1395-1403 e6.
40. Furukawa, M., et al., Evidence of platelet-activating factor in nasal polyps. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 1992. 54(1): p. 29-32.
41. Furukawa, M., et al., Presence of platelet-activating factor in nasal polyps and eosinophils. *Acta Otolaryngol*, 2002. 122(8): p. 872-6.
42. Alvarado, M.I., et al., Profilin as a severe food allergen in allergic patients overexposed to grass pollen. *Allergy*, 2014. 69(12): p. 1610-6.
43. Lee-Sarwar, K., et al., Intestinal microbial-derived sphingolipids are inversely associated with childhood food allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 2018. 142(1): p. 335-338 e9.
44. Vito, C.D., et al., Platelet-derived sphingosine-1-phosphate and inflammation: from basic mechanisms to clinical implications. *Platelets*, 2016. 27(5): p. 393-401.
45. Mohammed, S. and K.B. Harikumar, Sphingosine 1-Phosphate: A Novel Target for Lung Disorders. *Front Immunol*, 2017. 8: p. 296.
46. Kulinski, J.M., R. Munoz-Cano, and A. Olivera, Sphingosine-1-phosphate and other lipid mediators generated by mast cells as critical players in allergy and mast cell function. *Eur J Pharmacol*, 2016. 778: p. 56-67.
47. Bansal, P., S.N. Gaur, and N. Arora, Lysophosphatidylcholine plays critical role in allergic airway disease manifestation. *Sci Rep*, 2016. 6: p. 27430.
48. Palmer, C.S., et al., Glucose metabolism regulates T cell activation, differentiation, and functions. *Front Immunol*, 2015. 6: p. 1.