

Como avaliar a eficácia da imunoterapia específica?

How to assess efficacy of specific immunotherapy ?

Rev Port Imunoalergologia 2007; 15 (2): 135-149

Manuel Branco Ferreira

Assistente Hospitalar de Imunoalergologia. Professor Convidado da Faculdade de Medicina de Lisboa. Serviço de Imunoalergologia – Hospital de Santa Maria – Faculdade de Medicina de Lisboa

RESUMO

Fundamentos: À imunoterapia específica (ITE) é reconhecida eficácia no tratamento da doença alérgica respiratória. No entanto, não há consenso sobre quais os parâmetros, clínicos ou imunológicos, que deverão ser utilizados para a avaliação dessa eficácia. **Objectivo:** Comparar a avaliação de eficácia da ITE através de avaliação de vários parâmetros isolados e através da avaliação de scores multiparamétricos. **Material e métodos:** Setenta e cinco doentes com rinite alérgica monossensibilizados a ácaros do género *Dermatophagoides*, dos quais 50 efectuaram ITE com extracto de *D. pteronyssinus*. Estes 50 doentes foram adicionalmente divididos em dois grupos: um que recebeu doses mais baixas do extracto alergénico (grupo 1) e outro que recebeu doses elevadas (grupo 2). Todos os doentes efectuaram, antes do início da ITE e após um ano, avaliação de sintomas na semana precedente, avaliação subjectiva global através de escala visual analógica, testes cutâneos em picada, provocação nasal específica, doseamentos de IgE e IgG específicas séricas para *D. pteronyssinus*, doseamentos séricos de sICAM-1 e sVCAM-1. Baseado na variação destes 8 parâmetros singulares, elaboraram-se dois scores compostos: um clínico (SCC) englobando os primeiros quatro parâmetros e um score composto laboratorial (SCL) com os últimos quatro parâmetros. Considerou-se ainda um score adicional, designado score clínico combinado simplificado (SCCS), considerando apenas as variações dos três primeiros parâmetros, já que se considerou que a provocação nasal, embora seja um parâmetro muito informativo, não é de fácil implementação numa rotina clínica. **Resultados:** No grupo-controlo não se verificaram quaisquer diferenças significativas em nenhum dos oito parâmetros analisados. Nos dois grupos sob imunoterapia verificaram-se em todos os oito parâmetros diferenças significativas ($p < 0,05$) na comparação entre os valores iniciais e finais dentro de cada grupo. No entanto, essas diferenças foram quase sempre mais acentuadas no grupo 2, embora sem atingirem diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo 1. Na comparação entre os valores, no final do estudo, do grupo controlo e dos grupos sob imunoterapia, observaram-

-se diferenças significativas em sete parâmetros do grupo 2 mas só em 4 parâmetros do grupo 1. Nos 3 grupos, embora em maior número no grupo controlo, existem doentes que apresentam evoluções favoráveis nuns parâmetros e desfavoráveis noutros dos parâmetros analisados, mesmo considerando 30% como mínimo para que uma variação pudesse ser considerada como favorável ou desfavorável. A utilização de scores multiparamétricos permitiu integrar estas evoluções contraditórias e ordenar os doentes consoante o seu grau de melhoria global, demonstrando-se diferenças estatisticamente significativas na distribuição das pontuações do SCC e do SCCS nos 2 grupos sob imunoterapia. O SCL não revelou significativa capacidade discriminativa entre estes dois grupos. **Conclusões:** Como a ITE actua em várias vertentes da doença alérgica, a avaliação da sua eficácia deve incluir vários parâmetros. A utilização de scores multiparamétricos permite a integração de resultados parcelares contraditórios, tendo ainda a vantagem de permitir fácil comparação de eficácia entre protocolos diferentes de imunoterapia e entre diferentes grupos de investigação, algo que é hoje em dia virtualmente impossível.

Palavras-chave: Ácaros, imunoterapia, rinite.

ABSTRACT

Background: Specific immunotherapy (SIT) has a recognized therapeutic efficacy in respiratory allergy treatment. However there is no consensus on which parameters, clinical or immunologic, should be used to assess SIT efficacy. **Objective:** Compare SIT efficacy assessment through evaluation of several isolated parameters and through evaluation of multiparametric scores. **Materials and methods:** 75 allergic rhinitis patients, monosensitized to house dust mites (*Dermatophagoides*) were included: 25 controls and 50 SIT-treated patients. These patients were divided into two groups: one receiving high dose of the allergenic extract (Group 2) and other receiving a lower dose (Group 1). All patients were evaluated before SIT and after one-year through a one-week symptom score, visual analog scale, skin prick tests, nasal allergen challenge, serum specific IgE and IgG to *D. pteronyssinus* and serum soluble ICAM-1 and VCAM-1 measurements. Two main multiparametric scores were considered: a combined clinical score (CCS) comprising the variation of the first four parameters and a combined laboratory score (CLS), comprising the variations observed in the last four parameters. An additional score (simplified combined clinical score – SCCS) was also considered, comprising only the variation of the first three parameters, since we considered that nasal allergen challenges, although providing a very solid and valuable information, are not yet a parameter that can be included in the routine clinical practice of SIT efficacy assessment. **Results:** In the control group there were no any significant differences in any of the eight parameters. In the two SIT groups there were significant differences in each of the eight parameters when comparing within each group initial and final values ($p < 0.05$). However, these differences were more pronounced in Group 2, although without significant differences between group 1 and group 2. When we compared final values between SIT groups and control group, we found significant differences in seven parameters in Group 2 but only in four parameters in Group 1 patients. In all groups (although a higher number in control group) there are patients showing conflicting results in different parameters (favourable evolution in some parameters and unfavourable evolution in others), even considering 30% as a minimal significant variation. Multiparametric scores allowed the integration of these conflicting evolutions and the grading of patients according to their overall improvement. There were statistical significant differences between Group 1 and Group 2 in the CCS and SCCS but not in the CLS. It is important to note that in CCS and SCCS we did not observe any significant differences between low-dose SIT group (Group 1) and control group. **Conclusions:** As SIT acts in several aspects of allergic disease, its efficacy assessment should include several parameters. Multiparametric scores can be useful since they allow the integration of partial conflicting results, with the additional advantage of allowing easy comparison between different SIT protocols, something that is quite impossible at present.

Key-words: Immunotherapy, mites, rhinitis.

INTRODUÇÃO

A utilização de extractos alergénicos no tratamento da rinite alérgica data de há mais de 90 anos, tendo sido iniciada em 1910 por Noon e Freeman^{1,2}, com eficácia demonstrada em estudos controlados e randomizados, de meta-análise e em *position papers*³⁻⁵.

Por um lado, o objectivo imunológico desta terapêutica é alterar a reactividade do sistema imunitário em resposta ao contacto com os alergénios, sendo o único tratamento que pode alterar a evolução natural da doença e, inclusivamente, prevenir o aparecimento de novas sensibilizações em doentes monossensibilizados que, quando submetidos apenas a terapêutica farmacológica, as tendem a desenvolver^{6,7}. Por outro lado, o objectivo clínico da imunoterapia é reduzir a sintomatologia alérgica que os doentes apresentem e reduzir o consumo de fármacos necessários para controlar esses sintomas.

Assim, existe desde logo uma primeira questão que se refere a quais os parâmetros que se devem avaliar. Malling propõe que, em qualquer estudo de eficácia da imunoterapia específica (ITE), apenas interessa avaliar estes dois critérios clínicos, por serem os únicos aspectos relevantes para o doente⁸. No entanto, esta abordagem é redutora, não tomando em consideração os avanços no conhecimento da imunofisiopatologia da doença alérgica nem as alterações de parâmetros imunológicos que se têm vindo a objectivar em estudos com dupla ocultação e contra placebo.

Uma segunda questão prende-se com o que se deve considerar eficácia. Neste ponto é desejável que a magnitude das alterações induzidas pela ITE seja não só estatisticamente significativa mas também clínica ou imunologicamente relevante. Este é um ponto em que não pode deixar de existir marcada arbitrariedade, uma vez que não há critérios definidos ou consensualmente aceites. De facto, a magnitude necessária para se considerar uma variação como significativa é um aspecto pouco focado nos inúmeros trabalhos sobre ITE, nos quais normalmente só é analisado o significado estatístico dessas variações. Sendo absolutamente necessária a existência de diferença es-

taticamente significativa entre grupos activos e grupo-controlo, valores significativos de p não são, por si só, equivalentes a relevância clínica para o doente, principalmente em estudos com grande número de doentes⁸. Não obstante a importância deste aspecto, numa revisão da literatura mundial apenas se encontrou um artigo publicado por Malling, em 1998, discutindo com detalhe alguns limites que, na opinião deste autor, devem ser considerados⁹.

Foi objectivo deste trabalho verificar se a avaliação da eficácia da ITE através de scores multiparamétricos, construídos de forma simples a partir de variações mínimas de cada parâmetro individual, poderia apresentar vantagens face à avaliação isolada de parâmetros individuais.

MATERIAL E MÉTODOS

População

Selecionaram-se 75 doentes com rinite alérgica persistente moderada a grave, com evidência de sensibilização a ácaros do género *Dermatophagoides*, confirmada pela anamnese, testes cutâneos em picada e doseamentos de IgE específicas, com indicação para efectuarem ITE. Estes doentes, de ambos os sexos e com idades compreendidas entre 15 e 55 anos (média $23,6 \pm 8,14$ anos), seguidos na consulta de Imunoalergologia do Hospital de Santa Maria, foram distribuídos aleatoriamente por três grupos de 25 doentes cada:

- grupo 0 (G0) – grupo-controlo, sem ITE.
- grupo 1 (G1) – grupo de ITE com extracto estandardizado modificado de *Dermatophagoides pteronyssinus*, com doses mensais de 5,5 μg (total anual aproximado 62,5 μg).
- grupo 2 (G2) – um grupo de ITE com o mesmo extracto acima referido mas com doses mensais de 55 μg (total anual aproximado 625 μg).

Todos os doentes podiam efectuar terapêutica com anti-histamínicos orais e/ou corticosteróides tópicos nasais em períodos de agravamento.

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e os doentes que participaram no estudo assinaram um consentimento informado.

Imunoterapia específica (ITE)

Foi efectuada com extracto de *Dermatophagoides pteronyssinus*, despigmentado e polimerizado com gluteraldeído (DEPIGROID®, Laboratórios LETI, Espanha).

Cada doente dos grupos 1 e 2 foi submetido a uma fase de indução de vacina, com administração de 5 doses crescentes semanais, e depois a uma fase de manutenção durante o resto do período do estudo, com a administração de 11 doses mensais de concentração constante. A dose máxima administrada em cada injeção, nos doentes do grupo 1, foi de 5,5 µg do extracto modificado de *Dermatophagoides pteronyssinus*, enquanto nos doentes do grupo 2 a dose foi de 55 µg. A administração dos extractos alergénicos foi efectuada sempre na consulta de Imunoalergologia do Hospital de Santa Maria, de acordo com as normas preconizadas pela Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica¹⁰.

Os 8 parâmetros de avaliação da evolução clínica e laboratorial estão a seguir discriminados e foram efectuados, nos três grupos, no início do estudo (T0) e após um ano (T1).

Testes cutâneos

Foram efectuados testes cutâneos por picada na face anterior de ambos os antebraços, de acordo com as normas da Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica¹¹, tendo-se registado a área da pápula originada pela solução de *Dermatophagoides pteronyssinus* (100 HEP/ml) (laboratórios CBF LETI, Espanha).

Provocação nasal específica

Foi efectuada com solução alergénica de *Dermatophagoides pteronyssinus* dos laboratórios CBF LETI, Espanha. Esta solução alergénica apresenta-se liofilizada, a fim de manter a sua integral potência, sendo reconstituída com 1 ml de solução diluente adequada, cerca de 30 minutos antes da provocação. Com esta reconstituição obtém-se uma solução aler-

génica com potência de 100 Unidades HEP (*histamine equivalent potency*), a qual é sucessivamente diluída a 1:10, a fim de se obterem soluções com as concentrações de 10 HEP, 1 HEP, 0,1 HEP e 0,01 HEP. Não se utilizaram quaisquer fármacos com actividade vasoconstritora antes da provocação nasal. A provocação foi sempre efectuada pelo mesmo médico e numa mesma sala, iniciando-se com a nebulização de 0,05 ml da solução diluente como controlo negativo, seguindo-se, a intervalos de 15 minutos, as nebulizações das soluções alergénicas (0,05 ml/nebulização) com concentrações crescentes. A provocação era interrompida quando o score clínico pós-provocação, composto pela avaliação de quatro sintomas, valorizados numa escala de 0 a 3, fosse superior ou igual a 6 (num máximo de 12). A última dose alergénica administrada correspondia ao limiar de positividade.

Nas duas semanas anteriores à provocação os doentes não efectuariam qualquer corticoterapia tópica e suspenderiam anti-histamínicos nas 48 horas precedentes.

Escala visual analógica

Todos os doentes preenchem, antes da provocação, uma escala visual onde lhes era solicitado que, numa linha horizontal com 10 cm de comprimento em que o extremo esquerdo corresponde a “o pior possível” e o extremo direito a “o melhor possível”, assinalassem o ponto que lhes parecesse mais correspondente ao estado da sua rinite alérgica, no mês transacto. A distância em milímetros até ao extremo esquerdo da linha era medida e registada.

Avaliação de score de sintomas

Todos os doentes preenchem, na semana anterior à provocação, um diário sintomático em que classificavam os sintomas nasais (esternutos, prurido, rinorreia e obstrução) e oculares (prurido ocular e lacrimejo) de 0 a 3, de acordo com a escala abaixo indicada.

Escala de valorização de sintomas:

0 – ausência de sintomas

1 – presença de sintomas ligeiros, banais, não incomodativos

- 2 – presença de sintomas incomodativos mas não incapacitantes ou intoleráveis
- 3 – presença de sintomas muito incomodativos, incapacitantes ou intoleráveis

O *score* de sintomas foi obtido pela soma das classificações atribuídas a cada sintoma durante o período de sete dias analisado.

Doseamentos séricos de IgE e IgG específicas

Os doseamentos séricos de IgE e IgG específicas para *Dermatophagoides pteronyssinus* foram efectuados por método imunoenzimático UniCAP-FEIA (Pharmacia Diagnostics), sendo os resultados da IgE específica expressos em kU/L e os da IgG em mg/L.

Moléculas de adesão

O doseamento sérico de moléculas de adesão solúveis foi efectuado por método imunoenzimático (R&D Systems, EUA) em que num suporte sólido (placa) estão adsorvidos anticorpos monoclonais murinos anti-sICAM-1 ou anti-sVCAM-1. Os resultados são expressos em µg/L.

Análise estatística

Relativamente aos doseamentos de imunoglobulinas, moléculas de adesão e áreas das pápulas dos testes cutâneos, a comparação entre os três grupos foi efectuada por análise de variância (ANOVA) e, quando esta avaliação revelou diferenças estatisticamente significativas, efectuou-se uma análise subsequente, comparando dois a dois os grupos-controlo, grupo 1 e grupo 2, pelo procedimento de comparação múltipla—teste de Bonferroni (*post-hoc* Bonferroni). A comparação destes parâmetros nos mesmos doentes no início e fim do estudo foi efectuada pelo teste *t* emparelhado (*paired t-test*).

Na avaliação dos limiares de provocação nasal, *scores* de sintomas, escala visual analógica, bem como na avaliação dos *scores* multiparamétricos, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis na comparação entre os três grupos e o teste de Mann-Whitney (*Mann Whitney rank sum test*) na

análise subsequente, comparando os grupos dois a dois. A comparação destes parâmetros nos mesmos doentes no início e fim do estudo foi efectuada pelo teste de Wilcoxon (*Wilcoxon-signed-rank test*).

Scores compostos (SC)

Comparámos os valores em T0 e T1 de cada um dos quatro parâmetros clínicos (testes cutâneos, *score* de sintomas, escala visual analógica e limiares alergénicos de provocação nasal) e quatro parâmetros laboratoriais (valores séricos de IgE e IgG específicas e de sICAM-1 e sVCAM-1), pontuando a evolução de cada parâmetro de acordo com o Quadro 1, de forma a obter para cada parâmetro a classificação de -2, -1, 0, 1 ou 2, respectivamente. Os *scores* compostos individuais foram obtidos pela soma de quatro classificações: o *score* composto clínico simplificado (SCCS) pela soma das classificações dos três primeiros parâmetros clínicos (testes cutâneos, *score* de sintomas e escala visual analógica), o *score* composto clínico (SCC) pela soma das classificações dos quatro parâmetros clínicos (os três anteriores acrescidos dos limiares de provocação alérgica nasal) e o *score* composto laboratorial (SCL) pela soma das classificações dos quatro parâmetros laboratoriais.

RESULTADOS

No Quadro 2 estão indicados os valores médios e desvios-padrão de cada um dos oito parâmetros avaliados em cada um dos grupos. Em todos os parâmetros se verifica que no grupo-controlo não há quaisquer variações significativas, enquanto nos dois grupos submetidos a ITE há melhorias dos valores médios destes parâmetros, geralmente mais acentuadas no grupo 2. O parâmetro com maior variação percentual foi o limiar de provocação nasal, mas esse facto pode também estar relacionado com o ritmo de progressão das doses durante a provocação alérgica (progressão logarítmica). Três outros parâmetros tiveram uma melhoria média superior a 30% (testes cutâneos, *score* sintomático e IgG específica), dois parâmetros

Quadro 1. Critérios para a classificação da evolução de cada um dos 8 parâmetros

	-2	-1	0	1	2
Testes cutâneos (área da pápula)	Aumento >60%	Aumento >30<60%	Alteração <30%	Redução >30<60%	Redução >60%
Score de sintomas	Aumento >60%	Aumento >30<60%	Alteração <30%	Redução >30<60%	Redução >60%
Escala visual analógica	Redução >60%	Redução >30<60%	Alteração <30%	Aumento >30<60%	Aumento >60%
Provocação nasal (limiar alergénico)	Redução >100 vezes	Redução >10 vezes	Sem Alteração	Aumento >10 vezes	Aumento >100vezes
IgE específica sérica	Aumento >60%	Aumento >30<60%	Alteração <30%	Redução >30<60%	Redução >60%
IgG específica sérica	Redução >60%	Redução >30<60%	Alteração <30%	Aumento >30<60%	Aumento >60%
sICAM-1 sérica	Aumento >20%	Aumento >10<20%	Alteração <10%	Redução >10<20%	Redução >20%
sVCAM-1 sérica	Aumento >20%	Aumento >10<20%	Alteração <10%	Redução >10<20%	Redução >20%

sICAM – forma solúvel da molécula de adesão intercelular número 1

sVCAM – forma solúvel da molécula de adesão célula-vascular número 1

tiveram melhoria média entre 20 e 30% (IgE específica e escala visual) e em dois parâmetros registou-se melhoria inferior a 20% (moléculas de adesão solúveis).

No Quadro 3 estão representadas as diferenças comparando os valores de T0 (início do estudo) e T1 (12 meses) dentro de cada um dos 3 grupos e as diferenças comparando em T1 os 3 grupos, dois a dois. Neste quadro pode verificar-se que não há diferenças significativas na evolução de nenhum parâmetro no grupo-controlo, mas existem melhorias estatisticamente significativas em todos os parâmetros quando comparamos, dentro do grupo 1 ou do grupo 2, os valores de T0 e T1 (diferenças intra-grupos).

Na análise comparativa entre os três grupos, que no início do estudo não apresentavam quaisquer diferenças, verificou-se no final do estudo a existência de diferenças significativas entre o grupo-controlo e o grupo 1 em quatro parâmetros e entre o grupo-controlo e o grupo 2 em sete dos oito parâmetros avaliados. Salienta-se igualmente

que, embora seja aparente uma maior eficácia das doses de ITE do grupo 2, não se verifica que existam diferenças estatisticamente significativas em qualquer um dos oito parâmetros, quando se comparam os grupos 1 e 2 (Quadro 3), facto que pode ser explicado pelo número de doentes em cada grupo, o qual, já sendo bastante razoável, pode ser insuficiente para, do ponto de vista estatístico, permitir valorizar diferenças subtis entre os resultados dos dois grupos sob imunoterapia.

Aplicando os critérios explicitados no Quadro 1 à evolução dos resultados individuais de cada um dos doentes relativamente aos oito parâmetros avaliados, obtêm-se os Quadros 4, 5 e 6. Nestes quadros estão indicados, para além das classificações numéricas atribuídas à evolução de cada um dos oito parâmetros entre T0 e T1, também os scores compostos SCCS, SCC e SCL de cada um dos 25 doentes de cada um dos grupos. Estes scores tentam reflectir, de uma forma mais integrada e global, a evolução

Quadro 2. Valores médios, desvio padrão e variação percentual média de cada um dos 8 parâmetros nos 3 grupos

Parâmetros	Valores médios e desvio-padrão (Variação percentual dos valores médios entre T0 e T1)					
	Em T0			Em T1		
	G0	G1	G2	G0	G1	G2
Limiar provocação (HEP/ml)	5,2±4,3	4,5±4,6	4,3±4,7	4,9±4,6 (-6%)	11,4±18,8 (+153%)	33,3±34,3 (+674%)
Testes cutâneos (área em mm ²)	55,4±26,3	54,8±29,1	54,3±25,9	58,4±32,5 (+5%)	37,4±21,4 (-32%)	35,8±25,5 (-34%)
Score sintomático (pontos)	27,8±18,0	33,3±18,1	32,2±17,0	29,8±19,9 (+7%)	21,9±16,7 (-34%)	18,3±10,5 (-43%)
Escala visual analógica (cm)	5,7±2,1	5,7±1,5	5,6±1,3	5,9±1,7 (+3%)	6,7±1,8 (+18%)	7,0±1,2 (+25%)
IgE <i>D. pteronyssinus</i> (kU/L)	38,6±30,0	38,4±29,3	43,7±33,1	42,5±30,5 (+10%)	27,8±26,4 (-28%)	33,9±30,1 (-22%)
IgG <i>D. pteronyssinus</i> (mg/L)	22,1±19,2	17,4±8,9	20,8±11,1	19,3±9,4 (-13%)	25,5±14,5 (+47%)	31,9±16,8 (+53%)
sICAM-I sérica (mg/L)	377±60	373±61	371±61	387±58 (+3%)	324±65 (-13%)	309±43 (-17%)
sVCAM-I sérica (mg/L)	679±106	670±85	672±90	691±86 (+2%)	606±94 (-10%)	603±98 (-10%)

sICAM – forma solúvel da molécula de adesão intercelular número 1

sVCAM – forma solúvel da molécula de adesão célula-vascular número 1

Quadro 3. Avaliação estatística das diferenças intra e intergrupos em cada um dos 8 parâmetros avaliados e nos 3 scores multiparamétricos

Parâmetros	Diferenças estatisticamente significativas					
	Dentro do mesmo grupo			Entre grupos diferentes em T1		
	G0	G1	G2	G0 / G1	G0 / G2	G1 / G2
Limiar provocação	NS	0,020	<0,001	0,020	<0,001	NS
Testes cutâneos	NS	0,001	0,001	0,040	0,008	NS
Score sintomático	NS	0,015	0,003	NS	0,040	NS
Escala visual analógica	NS	0,006	<0,001	NS	0,012	NS
IgE <i>D. pteronyssinus</i>	NS	0,016	0,003	NS	NS	NS
IgG <i>D. pteronyssinus</i>	NS	0,040	0,001	NS	0,006	NS
sICAM-I sérica	NS	<0,001	<0,001	0,001	0,001	NS
sVCAM-I sérica	NS	0,010	<0,001	0,005	0,004	NS
SCCS	–	–	–	NS	<0,001	0,003
SCC	–	–	–	NS	<0,001	0,001
SCL	–	–	–	<0,001	<0,001	NS

NS – Não significativo; SCC – score composto clínico; SCCS – score composto clínico simplificado; SCL – score composto laboratorial; sICAM – forma solúvel da molécula de adesão intercelular número 1; sVCAM – forma solúvel da molécula de adesão célula-vascular número 1

Quadro 4. Grupo-controlo: Classificações individuais nos 8 parâmetros e scores compostos

Dte	EVA	SS	TC	SCCS	TPN	SCC	IgE	IgG	ICAM	VCAM	SCL
C 1	0	0	0	0	-1	-1	-2	0	2	-2	2
C 2	1	0	1	2	1	3	-1	0	0	-1	-2
C 3	-1	0	0	-1	-1	-2	2	-2	-1	0	-1
C 4	0	2	0	2	-1	1	0	0	1	1	2
C 5	0	0	0	0	0	0	0	-2	0	1	-1
C 6	0	-2	-2	-4	-1	-5	-2	-1	0	2	-1
C 7	0	-2	0	-2	0	-2	0	-1	-2	-2	-5
C 8	0	-2	0	-2	0	-2	0	2	-1	0	1
C 9	2	0	0	2	0	2	-1	1	0	0	0
C 10	2	-2	0	0	0	0	-1	0	0	0	-1
C 11	1	1	0	2	0	2	0	0	0	0	0
C 12	0	-1	1	0	0	0	0	-1	0	0	-1
C 13	2	0	-1	1	-1	0	-1	1	0	0	0
C 14	0	1	-2	-1	-1	-2	-2	0	0	0	-2
C 15	0	2	1	3	0	3	0	0	-1	0	-1
C 16	0	1	-2	-1	0	-1	-2	0	0	-2	-4
C 17	-1	0	2	1	0	1	0	0	-2	0	-2
C 18	2	1	0	3	1	4	0	0	0	-1	-1
C 19	0	1	0	1	0	1	0	1	1	-1	1
C 20	1	0	1	2	0	2	1	0	0	0	1
C 21	0	1	1	2	0	2	0	-1	-1	-1	-3
C 22	0	0	-1	-1	1	0	-2	0	-1	1	-2
C 23	0	0	-2	-2	1	-1	-1	1	-2	0	-2
C 24	0	-1	0	-1	0	-1	-1	0	-1	0	-2
C 25	0	-2	0	-2	1	-1	0	2	0	-1	1
Média	0,36	-0,08	-0,12	0,16	-0,04	0,12	-0,52	0	-0,32	-0,24	-0,92
Mediana	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-1

EVA – Escala visual analógica; SS – score de sintomas; TPN – teste de provocação nasal; TC – testes cutâneos; Ig – Imunoglobulina; SCC – score composto clínico; SCCS – score composto clínico simplificado; ICAM – doseamento níveis séricos da forma solúvel da molécula de adesão intercelular número 1; VCAM – doseamento níveis séricos da forma solúvel da molécula de adesão célula-vascular número 1; SCL – score composto laboratorial.

Quadro 5. Grupo I: Classificações individuais nos 8 parâmetros e scores compostos

Dte	EVA	SS	TC	SCCS	TPN	SCC	IgE	IgG	ICAM	VCAM	SCL
GI 1	-2	0	0	-2	0	-2	1	-1	0	0	0
GI 2	0	0	0	0	1	1	1	-1	0	0	0
GI 3	0	-2	1	-1	0	-1	-1	2	0	1	2
GI 4	1	-2	1	0	1	1	1	2	1	2	6
GI 5	0	1	0	1	1	2	1	0	0	2	3
GI 6	1	2	0	3	-2	1	2	2	2	0	6
GI 7	0	-2	-1	-3	2	-1	1	1	0	1	3
GI 8	2	-2	0	0	1	1	1	2	0	-1	2
GI 9	1	0	2	3	1	4	1	0	2	0	3
GI 10	1	-2	0	-1	1	0	0	2	0	0	2
GI 11	2	0	0	2	1	3	1	1	0	0	2
GI 12	0	1	0	1	1	2	0	0	1	0	1
GI 13	0	0	0	0	0	0	-1	2	0	0	1
GI 14	-2	-1	1	-2	1	-1	2	-1	0	0	1
GI 15	0	0	-2	-2	0	-2	-2	0	0	2	0
GI 16	1	1	2	4	1	5	2	1	2	1	6
GI 17	0	0	1	1	0	1	1	0	0	-1	0
GI 18	2	1	2	5	2	7	2	0	2	0	4
GI 19	1	0	2	3	0	3	2	2	1	0	5
GI 20	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	2
GI 21	0	0	0	0	1	1	0	1	1	2	4
GI 22	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	3
GI 23	2	0	1	3	-1	2	0	1	2	2	5
GI 24	0	-1	0	-1	0	-1	0	2	2	2	6
GI 25	0	-2	0	-2	0	-2	0	0	2	1	3
Média	0,4	-0,28	0,48	0,52	0,48	1,08	0,68	0,84	0,72	0,56	2,8
Mediana	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	3

EVA – Escala visual analógica; SS – score de sintomas; TPN – teste de provocação nasal; TC – testes cutâneos; Ig – Imunoglobulina; SCC – score composto clínico; SCCS – score composto clínico simplificado; ICAM – doseamento níveis séricos da forma solúvel da molécula de adesão intercelular número 1; VCAM – doseamento níveis séricos da forma solúvel da molécula de adesão célula-vascular número 1; SCL – score composto laboratorial.

Quadro 6. Grupo 2: Classificações individuais nos 8 parâmetros e scores compostos

Dte	EVA	SS	TC	SCCS	TPN	SCC	IgE	IgG	ICAM	VCAM	SCL
G2 1	0	0	0	0	1	1	-2	0	0	1	-1
G2 2	2	0	1	3	1	4	0	2	0	0	2
G2 3	0	0	1	1	2	3	0	0	1	0	1
G2 4	1	0	1	2	1	3	0	-1	0	0	-1
G2 5	1	2	0	3	1	4	-1	-1	2	1	1
G2 6	0	2	0	2	0	2	0	1	2	2	5
G2 7	2	0	0	2	2	4	2	1	1	0	4
G2 8	0	2	1	3	1	4	1	2	0	2	5
G2 9	1	2	1	4	0	4	1	2	2	0	5
G2 10	0	-2	1	-1	1	0	0	-1	2	1	2
G2 11	-1	0	0	-1	1	0	0	2	1	1	4
G2 12	0	1	-2	-1	0	-1	-2	0	2	0	0
G2 13	1	2	0	3	1	4	0	2	0	1	3
G2 14	0	2	2	4	2	6	0	0	-1	2	1
G2 15	2	1	1	4	2	6	0	0	0	0	0
G2 16	0	2	1	3	2	5	0	2	0	0	2
G2 17	0	2	2	4	0	4	1	2	2	0	5
G2 18	0	-1	0	-1	-1	-2	-2	0	2	0	0
G2 19	2	-1	2	3	2	5	2	2	1	0	5
G2 20	2	2	2	6	1	7	2	2	-1	0	3
G2 21	0	2	0	2	0	2	1	1	0	1	3
G2 22	1	2	1	4	1	5	0	2	1	0	3
G2 23	0	1	2	3	0	3	0	2	1	1	4
G2 24	0	2	2	4	0	4	2	2	2	1	7
G2 25	2	1	2	5	1	6	2	2	2	2	8
Média	0,64	0,96	0,84	2,44	0,88	3,32	0,28	1,04	0,88	0,64	2,84
Mediana	0	1	1	3	1	4	0	2	1	0	3

EVA – Escala visual analógica; SS – score de sintomas; TPN – teste de provocação nasal; TC – testes cutâneos; Ig – Imunoglobulina; SCC – score composto clínico; SCCS – score composto clínico simplificado; ICAM – doseamento níveis séricos da forma solúvel da molécula de adesão intercelular número 1; VCAM – doseamento níveis séricos da forma solúvel da molécula de adesão célula-vascular número 1; SCL – score composto laboratorial.

clínica e/ou laboratorial entre T0 e T1 nesses mesmos doentes.

Nestes quadros, onde também estão registados os valores das médias e medianas para cada um dos parâmetros, podem observar-se valores médios que, de uma forma geral, são máximos no grupo 2 e mínimos no grupo-controlo, registando-se frequentemente no grupo 1 valores intermédios.

Na análise estatística dos scores compostos nos diferentes grupos, verifica-se que:

- 1) nos dois scores clínicos (SCCS e SCC; Figuras 1 e 2) existem diferenças significativas entre o grupo-controlo e o grupo 2 e, inclusivamente, entre o grupo 1 e o grupo 2, não se demonstrando qualquer diferença significativa na comparação entre o grupo-controlo e o grupo 1;
- 2) no score laboratorial (SCL; Figura 3) registam-se diferenças estatisticamente significativas entre o grupo-controlo e qualquer um dos grupos 1 e 2, não havendo diferenças significativas na evolução dos doentes dos grupos 1 e 2.

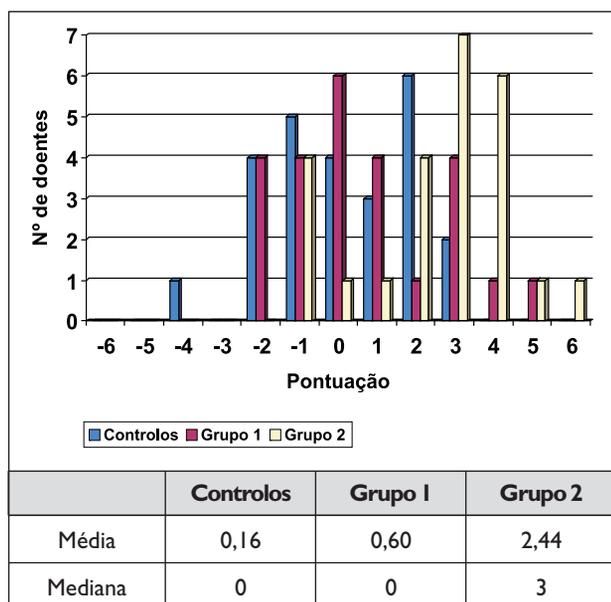


Figura 1. Distribuição dos valores do score composto clínico simplificado (SCCS) nos três grupos

Nas Figuras 1 a 3 representa-se graficamente a distribuição das diferentes pontuações em cada um dos três grupos, sendo claramente visível nos SCCS e SCS a dife-

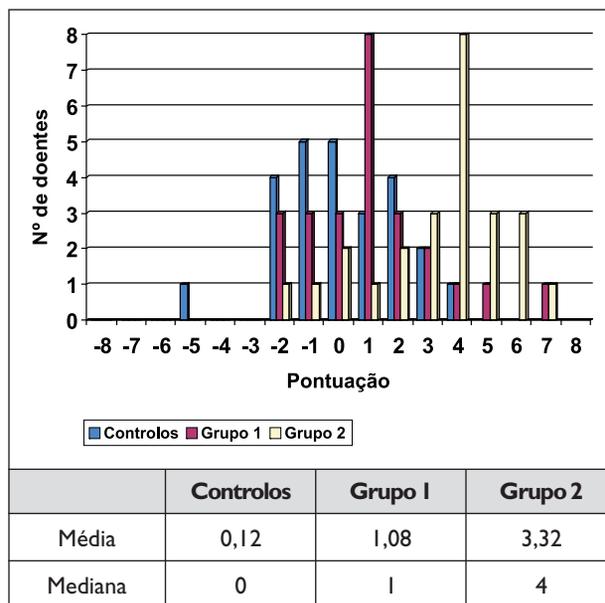


Figura 2. Distribuição dos valores do score composto clínico (SCC) nos três grupos

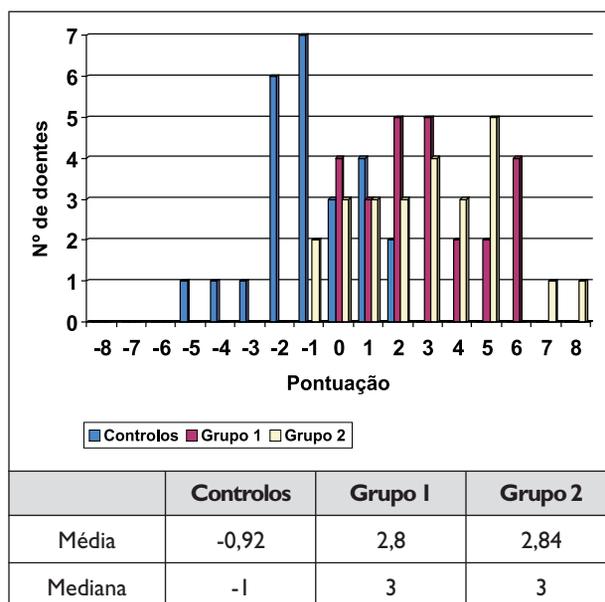


Figura 3. Distribuição dos valores do score composto laboratorial (SCL) nos três grupos

rença na distribuição das pontuações dos doentes do grupo 2 e as dos outros dois grupos, o que contrasta claramente com a supracitada inexistência de diferenças estatisticamente significativas na comparação isolada de cada um dos 8 parâmetros no final do estudo entre o grupo 1 e o grupo 2, conforme referido na Quadro 3.

DISCUSSÃO

Neste trabalho utilizaram-se duas doses diferentes do mesmo extracto alergénico: a dose de manutenção mais baixa deste extracto modificado contém aproximadamente a mesma quantidade de matéria-prima alergénica utilizada nas doses de manutenção dos extractos *depot* convencionais, enquanto a dose de manutenção mais elevada é cerca de dez vezes superior e é a recomendada pelo laboratório produtor, na lógica de que a diminuição da alergenicidade pelo processo de modificação do extracto, permite a utilização de doses mais elevadas, reforçando-se assim o potencial imunogénico deste tratamento.

No entanto, apesar de o potencial benefício encontrar tradução em variações mais intensas dos vários parâmetros analisados no grupo 2, não foram evidentes, pelo menos aos 12 meses, diferenças estatisticamente significativas em qualquer dos oito parâmetros individuais entre os dois grupos sob imunoterapia.

Perante esta situação, ou perante outras em que seria útil comparar eficácia entre diferentes extractos ou diferentes esquemas posológicos, é extremamente difícil chegar-se a conclusões fundamentadas. Inclusivamente, pode haver variações mais marcadas num parâmetro num grupo e noutra parâmetro noutra grupo, como se verificou no nosso estudo. Por exemplo, a diminuição dos valores séricos de IgE específica para *Dermatophagoides pteronyssinus* foi maior no grupo 1 do que no grupo 2, as variações dos valores médios de moléculas de adesão séricas e da área dos testes cutâneos foram praticamente iguais nos dois grupos, mas a variação dos limiares médios de provocação alergénica nasal foi muito maior no grupo 2 do que no grupo 1.

E quando se tenta transpor os resultados a nível de grupos para o nível individual ainda mais complexa se torna a avaliação, já que frequentemente o mesmo doente apresenta variações favoráveis de um parâmetro e desfavoráveis de outro. No nosso trabalho, e considerando a totalidade dos oito parâmetros, 80% dos doentes do grupo-controlo apresentaram simultaneamente evoluções positivas e negativas em diferentes parâmetros. Nos grupos sob imunoterapia, esta situação verificou-se em 60% e 36% dos doentes do grupo 1 e grupo 2, respectivamente. Nestes casos, como valorizar agravamentos e melhorias simultâneas? Como decidir qual o parâmetro mais relevante e qual a magnitude da variação que devemos considerar como relevante?

Uma das formas de contornar esta questão é avaliar poucos parâmetros, como por exemplo avaliar apenas a intensidade da sintomatologia e o consumo de fármacos⁸. No entanto, e como já referido, pensamos ser esta uma abordagem incompleta, já que não toma em consideração os aspectos da imunofisiopatologia da doença alérgica nem as alterações de parâmetros imunológicos que se têm vindo a objectivar em estudos de avaliação da imunoterapia específica com dupla ocultação e contra placebo e que têm permitido uma melhor compreensão dos vários mecanismos de acção deste tipo de terapêutica. Por outro lado, a avaliação sintomática é por natureza subjectiva, sendo difícil obter uma adequada adesão ao correcto preenchimento de diários de sintomas em períodos prolongados, bem como uma exacta contabilização do consumo de fármacos. No caso da alergia aos ácaros, em que a sintomatologia está presente durante todo o ano, é difícil obter uma boa adesão ao preenchimento de diários de sintomas em períodos prolongados. Por este motivo, no presente trabalho, e de acordo com o proposto por outros autores¹², optou-se pelo registo sintomático de uma semana completa, em diferentes épocas do ano, tendo contudo bem presente que existem muitos factores de possível interferência nestes resultados.

Em face dos problemas conceptuais colocados pela avaliação subjectiva de sintomas, é útil complementar-se

essa avaliação com outros parâmetros clínicos, de natureza mais objectiva, de que são exemplos as provas de provocação com alergénios (provocação de órgão-alvo ou testes cutâneos). Até porque, num doente em quem se demonstre um significativo aumento da tolerância alérgica numa provocação específica de órgão-alvo e que não tenha apresentado melhoria significativa no diário de sintomas, é lícito questionar a exactidão de tal registo sintomático¹³ ou a existência de quaisquer outros factores que o possam ter influenciado negativamente. Contudo, é óbvio que, embora a utilização de parâmetros adicionais possa fornecer mais dados objectivos, também aumenta a complexidade de uma análise de eficácia, em particular quando há dados contraditórios.

Devido a estas discrepâncias, alguns autores propuseram, para a avaliação de eficácia de imunoterapia específica em doentes com rinite alérgica a ácaros, a construção de um índice clínico composto pela magnitude da variação, do início para o fim do estudo, de cada um de 5 parâmetros: escala visual analógica, diário de sintomas e registo de consumo de fármacos durante um mês, resultados de testes cutâneos e de provas de provocação nasal¹³. Dado que nos parece correcta e útil a construção de scores compostos que permitam integrar as evoluções de diferentes variáveis, no nosso trabalho optámos por utilizar quatro destes cinco parâmetros e também quatro valores laboratoriais: os doseamentos séricos de IgE e IgG específicas (amplamente utilizados em vários trabalhos publicados sobre imunoterapia específica¹⁴⁻¹⁷) e os doseamentos de moléculas de adesão solúveis, com reduções demonstradas após imunoterapia específica em doentes com rinite perene, tanto em trabalhos do nosso grupo¹⁸ como em estudos de outros autores¹⁹.

Tais scores compostos podem reflectir melhor e de forma mais integrada os vários aspectos da evolução dos doentes, já que, não existindo nenhum parâmetro isolado que dê indicações seguras quanto à evolução da doença alérgica, a utilização simultânea de vários critérios poderá fornecer uma maior consistência à interpretação dos resultados^{12,13}. No entanto, após a escolha dos parâmetros a analisar, há

ainda que decidir qual a magnitude da variação de cada um destes parâmetros que se deve considerar relevante. Para a avaliação da eficácia da imunoterapia específica, Malling propõe que uma melhoria inferior a 30% significaria a inexistência de qualquer eficácia, uma melhoria entre 30 e 44% equivaleria a eficácia baixa, uma melhoria de 45 a 59% significaria eficácia moderada e, finalmente, uma melhoria maior ou igual a 60% equivaleria a uma eficácia elevada⁸. Ulteriormente, outros autores de estudos sobre avaliação de eficácia de imunoterapia têm também considerado o valor limiar de 30% de melhoria como valor de referência¹⁶, não obstante toda a arbitrariedade que sempre existe na definição deste ou de quaisquer outros limites. No nosso trabalho, em 5 dos oito parâmetros adoptámos os valores sugeridos por Malling, considerando que variações inferiores a 30%, quer em sentido positivo quer em sentido negativo, seriam irrelevantes, não reflectindo qualquer agravamento ou melhoria. Assim, utilizámos o valor mínimo de eficácia de 30% como limite para se considerar o doente melhorado e o valor de eficácia elevada (variação superior a 60%) como limite para considerarmos o doente muito melhorado. Relativamente às doses de provocação, pareceu relevante qualquer alteração de dose, já que se efectuaram progressões logarítmicas. Na avaliação dos níveis séricos de moléculas de adesão solúveis, tendo em conta a grande consistência dos resultados individuais, a sua pequena variabilidade e o marcado significado estatístico observado, optámos por valorizar variações mais pequenas, neste caso de 10 e 20% para considerarmos eficácia ou eficácia elevada, respectivamente.

Como é patente no Quadro I, utilizámos os mesmos valores absolutos mas com variação inversa para considerarmos o doente como piorado ou muito piorado. As variações no sentido do agravamento não são um aspecto considerado por Malling ou por outros autores, mas consideramos que só assim se poderá ter uma noção mais completa da evolução dos doentes. Particularmente em doentes do grupo-controlo, que não efectuam tratamento que altere significativamente a doença alérgica, é esperável encontrar uma distribuição aproximadamente normal entre agrava-

mento e melhoria casuais dos parâmetros de eficácia, pelo menos num período de tempo relativamente curto, como o do presente estudo, e numa doença que reconhecida-mente tem oscilações cíclicas espontâneas.

Utilizando esses critérios de valorização, podemos verificar (Quadros 4 a 6 e Figuras 1 a 3) que existem diferenças estatisticamente significativas entre *scores* compostos dos vários grupos, as quais não eram aparentes quando se comparavam apenas os valores finais de parâmetros isolados. Em particular, entre os grupos 1 e 2, embora na avaliação de parâmetros isolados (Quadro 3), as diferenças não atingissem nunca um significado estatístico, constata-se a existência de diferenças significativas nos SCCS e SCC ($p < 0,001$).

Na representação gráfica patente nas Figuras 1 e 2, é claramente visível a distribuição praticamente normal de todos os grupos, com valores das medianas de zero a um nos grupos-controlo e grupo 1 e de três a quatro no grupo 2. Esta distribuição reflecte claramente a ausência de terapêutica etiológica no grupo-controlo, no qual, embora possam existir variações num ou noutro sentido em alguns parâmetros, no cômputo geral a maioria dos doentes não apresenta variações do SCCS ou do SCC, havendo um número aproximadamente igual de doentes com agravamento ou melhoria ligeira nestes *scores*. No grupo 1 observa-se um ligeiro desvio para a direita quer do SCCS quer do SCC, o que representa o predomínio de evoluções positivas em alguns dos parâmetros, mas que no seu global não atinge diferença estatisticamente significativa relativamente ao grupo-controlo. Nomeadamente em relação ao SCCS, a evolução do grupo 1 é graficamente muito sobreponível à do grupo-controlo, como se pode ver na Figura 1.

É no grupo 2 que a distribuição das pontuações nestes dois *scores* mostra diferenças muito nítidas com os *scores* dos grupos-controlo e grupo 1, pois embora no grupo 2 também se continue a verificar uma distribuição praticamente normal, neste grupo a mediana do SCCS está nos 3 pontos e a do SCC nos 4 pontos, o que reflecte em média uma melhoria superior a 30% em cada um dos parâmetros analisados. Este aspecto traduz, de uma forma bastante clara, a mais intensa melhoria dos parâmetros clínicos ava-

liados nos doentes submetidos a imunoterapia com doses alergénicas mais elevadas.

Relativamente ao SCL, embora existam diferenças estatisticamente significativas entre os *scores* do grupo-controlo e os dos grupos 1 e 2, não se evidenciam quaisquer diferenças significativas entre os dois grupos sob imunoterapia, como se pode observar na Figura 3, onde é visível uma sobreposição dos resultados nos grupos 1 e 2, ambos claramente desviados para a direita em relação à distribuição deste *score* no grupo-controlo.

Esta diferença encontrada entre o comportamento dos grupos sob imunoterapia nos *scores* clínicos e *score* laboratorial poderá traduzir uma diferente cronologia de acção em diferentes parâmetros e entre diferentes doses alergénicas de imunoterapia, tornando o SCL um *score* menos interessante para a avaliação comparativa de eficácia entre diferentes esquemas de imunoterapia, pelo menos aos 12 meses, já que não apresentou significativo poder discriminativo entre as duas diferentes doses alergénicas administradas.

Por outro lado, a documentação de diferenças em parâmetros laboratoriais na ausência de diferenças significativas em parâmetros clínicos que se objectivou no presente estudo, deve alertar-nos para a necessidade de uma cuidadosa interpretação dos resultados de quaisquer estudos de imunoterapia, cujos *end-points* consistam exclusivamente em resultados laboratoriais. Por este motivo, mais uma vez se reforça a necessidade de uma avaliação multifactorial, como a efectuada neste nosso estudo, da eficácia da imunoterapia específica.

CONCLUSÕES

A imunoterapia específica com alergénios é um tratamento com reconhecida eficácia clínica e laboratorial em vários ensaios clínicos duplamente cegos e em estudos de meta-análise. Uma vez que actualmente não existe qualquer parâmetro singular que seja reconhecido como o mais útil ou o mais informativo para se avaliar a eficácia da imunote-

rapia, é muitas vezes necessário recorrer à utilização simultânea de vários parâmetros relevantes para a avaliação da doença alérgica. No entanto, na avaliação de eficácia da imunoterapia específica nos doentes que o alergologista observa diariamente, é frequente existirem no mesmo doente resultados contraditórios em diferentes parâmetros, tornando muito difícil a comparação de eficácia entre diferentes esquemas ou diferentes tipos de vacinas.

A utilização de scores multiparamétricos que utilizámos neste trabalho, como o score composto clínico ou o score composto clínico simplificado, permitiu a valorização da evolução individual de vários parâmetros relevantes e, acima de tudo, a integração de resultados parcelares que por vezes são contraditórios. Esta avaliação evolutiva integrada permitiu ainda evidenciar diferenças estatisticamente significativas entre as duas doses de imunoterapia específica, o que não se verificava na avaliação de parâmetros isolados. Por outro lado, é muito claro que os resultados deste estudo não recomendam a utilização exclusiva de parâmetros laboratoriais para a avaliação de eficácia da imunoterapia, já que esta avaliação, pelo menos em períodos curtos (12 meses), pode fornecer dados de eficácia aparentemente favoráveis mas desfasados da realidade clínica.

O presente trabalho lança assim a proposta da criação de um ou mais scores multiparamétricos, proposta esta que se crê exequível e equilibrada e cuja implementação por diferentes grupos poderá vir a permitir comparações válidas e úteis, com o objectivo de tentar seleccionar os esquemas de imunoterapia específica com a máxima eficácia.

REFERÊNCIAS

- Noon L. Prophylactic inoculation against hay fever. *Lancet* 1911;1:1572-3
- Freeman J. Further observations on the treatment of hay fever by hypodermic inoculations of pollen vaccine. *Lancet* 1911;1:814-7
- Bousquet J, Lockey RF, Malling HJ. WHO Position Paper: Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. *Allergy* 1998;53 (Suppl 44):S1-S42
- Bousquet J, van Cauwenberg P, Khaltaev N. Allergic rhinitis and its impact on asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108(Suppl 5):S147-S334
- Wilson DR, Torres Lima M, Durham SE. Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis. *The Cochrane Database Syst Rev* 2003;2:CD002893
- Des Roches A, Paradis L, Menardo JL, Bouges S, Daures JP, Bousquet J. Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. VI. Specific immunotherapy prevents the onset of new sensitizations in children. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:450-3
- Pajno GB, Barberio G, De Luca F, Morabito L, Parmiani S. Prevention of new sensitizations in asthmatic children monosensitized to house dust mite by specific immunotherapy. A six-year follow-up study. *Clin Exp Allergy* 2001;31:1295-302
- Malling HJ. Methodology and quality of immunotherapy trials. *Allergy* 2004;59:482-4
- Malling HJ. Immunotherapy as an effective tool in allergy treatment. *Allergy* 1998;53:461-72
- Malling HJ, Weeke B. EAACI Position paper: Immunotherapy. *Allergy* 1993;48 (suppl 14): 7-35
- Malling HJ. Allergen standardisation and skin tests. Methods of skin testing. Position paper. *Allergy* 1993; 48 (suppl 14): 55-56
- Tabar AI, Muro MD, Garcia BE, et al. *Dermatophagoides pteronyssinus* cluster immunotherapy: a controlled trial of safety and clinical efficacy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1999;9:155-64
- McHugh SM, Ewan PW. A clinical index: a new method to assess efficacy of allergen immunotherapy. *Allergy* 1992;47:115-20
- Wuthrich B, Gumowski PL, Fah J, et al. Safety and efficacy of specific immunotherapy with standardized allergenic extracts absorbed on aluminium hydroxide. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2001;11:149-56
- Basomba A, Tabar AI, de Rojas DH, et al. Allergen vaccination with a liposome-encapsulated extract of *Dermatophagoides pteronyssinus*: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:943-8
- La Rosa M, Ranno C, André C, Carat F, Tosca MA, Canonica GW. Double-blind placebo-controlled evaluation of sublingual-swallow immunotherapy with standardized *Parietaria judaica* extract in children with allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:425-32
- Leynadier F, Banoun L, Dollois B, et al. Immunotherapy with a calcium phosphate adsorbed five grass pollen extract in seasonal rhinoconjunctivitis: a double blind placebo controlled study. *Clin Exp Allergy* 2001;31:988-96
- Branco Ferreira M, Pereira Santos MC, Lopes Pregal A, et al. Effect of specific immunotherapy versus loratadine on serum adhesion molecules. *Allerg Immunol (Paris)* 2001 ;33 :319-22
- Ohashi Y, Nakai Y, Tanaka A, et al. Clinical role of soluble adhesion molecules during immunotherapy for perennial allergic rhinitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998;124:41-5