

# Controversias en Inmunoterapia

M. BOQUETE PARIS, F. J. CARBALLADA GONZÁLEZ

## RESUMEN

Teniendo en cuenta las controversias existentes en el tratamiento de las enfermedades alérgicas con inmunoterapia específica, los autores revisan diferentes apartados que clasifican en eficacia, seguridad e indicación.

Se hace una especial reflexión sobre la eficacia en cuanto a historia natural e inflamación. Se revisan los últimos datos sobre seguridad del procedimiento y su indicación en el curso de la enfermedad.

Los autores concluyen que la inmunoterapia (I.T.) con extractos apropiados, en condiciones de administración idóneas y con indicación precisa, es un procedimiento eficaz y seguro.

## SUMMARY

*Considering the controversial aspects of specific immunotherapy in the treatment of allergic diseases, the authors make an approach to different items about efficacy, security and specific indications.*

*An special statement about efficacy and natural history and inflammation is made. They review the last reports about security and the current indication on the course of the disease.*

*They conclude that immunotherapy (I.T.) with appropriate standardized extracts is an efficacy tool to treat the respiratory allergic diseases and the security of this form of treatment is very high, although it should be performed in appropriate conditions.*

## 1 - INTRODUCCION

La inmunoterapia (I.T.) es un procedimiento terapéutico ampliamente aceptado como tratamiento de las enfermedades alérgicas respiratorias, aunque desde sus inicios ha estado siempre envuelto en cierta controversia.

Actualmente, a pesar de los avances en la estandarización de los antígenos y su mejor utilización, siguen apareciendo motivos de discusión que poderíamos resumir en tres apartados:

- Controversias en cuanto a eficacia.
- Controversias en cuanto a seguridad.
- Controversias en cuanto a indicación.

## 2 - CONTROVERSIAS EN CUANTO A EFICACIA

En los últimos quince años, si bien se aceptaba el tratamiento inmunoterápico como de primera línea en la rinoconjuntivitis polínica, se discutía su eficacia en el asma y la rinitis perenne. A lo largo de estos años han aparecido trabajos que demuestran la eficacia de la I.T. en la rinitis perenne.<sup>1-4</sup>

La eficacia de este tratamiento en el asma ha sido también probada con los estudios publicados a lo largo de los últimos cinco años. A este respecto nos remitimos a las revisiones realizadas por el Comité de Inmunoterapia de la SEAIC.<sup>5</sup>

Esta posición se ha visto refrendada por el Consenso Internacional sobre tratamiento del Asma realizado en 1992,<sup>6</sup> que avala la eficacia de la I.T. en el tratamiento del asma producida por ácaros, polen de gramíneas, epitelio de gato y perro, y algunos hongos: alternaria y cladosporium.

En este sentido, es interesante resaltar que, en los últimos años, el Comité de Alergia e Inmunología del "Royal College of Physicians" británico admite, aunque con reservas, la efectividad de la I.T. en el asma moderado.<sup>7</sup>

Establecida la efectividad de este tratamiento de una manera global, nos centraremos en aspectos particulares que son objeto de polémica.

### 2.A - EFICACIA E HISTORIA NATURAL

No hay estudios que indiquen que el tratamiento farmacológico, por sí solo, pueda modificar la historia natural del asma.

Por el contrario, algunos estudios indican que la I.T. puede variar el curso natural del asma infantil.<sup>8-9</sup> Desgraciadamente, estos estudios fueron hechos con antígenos no estandarizados y, algunas veces, incluyendo extractos cuya utilidad no está probada.

En nuestro país, en un intento de clarificar este problema, el Grupo del Hospital La Paz realizó una encuesta retrospectiva sobre 1 500 pacientes, de los cuales respondieron 507 (Ojeda A., comunicación personal en el Symposium Internacional de Inmunoterapia, Torremolinos 1992). Estos pacientes tenían en el momento del estudio entre 19-20 años. De ellos el 43% estaba asintomático; este grupo había recibido I.T. durante un período de, aproximadamente, 6 años después de la última crisis de asma. Los otros pacientes mostraban en mayor o menor grado síntomas dependiendo del tiempo de I.T. y la gravedad de estos era inversamente proporcional a la duración de la I.T..

Un grupo significativo de los pacientes asintomáticos presentaban negatividad en la provocación inespecífica con metacolina.

Sin embargo, estudios realizados por autores australianos han revelado una mejoría espontánea de la enfermedad asmática entre los 14 y 21 años, época en que el 66% de los pacientes estaba libre de síntomas, aunque el 31% de estos reinició la sintomatología a la edad de 28 años.<sup>10-11</sup>

Por otra parte, estudios de Mosbech et al<sup>12</sup> utilizando polen de gramíneas, demostraron que la mejoría inducida por la I.T. persistía varios años después de que esta cesase. Una conclusión similar fue la obtenida por Grammer et al<sup>13</sup> usando antígenos polimerizados.

Hay que resaltar que ambos estudios están realizados en pacientes con rinoconjuntivitis polínica, y a nuestro entender, faltan estudios que corroboren estos hallazgos en el asma y sobre todo en el asma perenne.

Otro aspecto a señalar sería el efecto protector de la I.T. en la rinitis evitando su evolución hacia el asma. En el trabajo de Mosbech, antes referido, parecía existir tal efecto. Así mismo, en el "Position Paper" de la Academia Europea de Alergia<sup>14</sup> se recoge una comunicación de Bousquet sobre 500 pacientes con rinitis, seguidos durante 5 años, donde habla de un 5% de riesgo de desarrollar asma en los pacientes tratados con I.T., frente a un riesgo de 12% y 23% en los pacientes tratados con antihistamínicos y placebo, respectivamente.

En nuestra opinión este posible efecto protector de la I.T. es prometedor, aunque necesitaría más estudios.

## 2.B - EFICACIA CON RESPECTO A LA EDAD

Se acepta que la eficacia de la I.T. es mayor en pacientes jóvenes que en adultos, y así se refleja en el Consenso Internacional.<sup>6</sup> Este fenómeno, más que en relación con la edad, estaría con el proceso patogénico subyacente. Es decir, a mayor tiempo de evolución de la enfermedad mayores cambios irreversibles en el órgano de choque.

## 2.C - EFICACIA EN ASMAS GRAVES

El asmático grave ha sufrido cambios patológicos irreversibles en el árbol bronquial, consecuencia de la inflamación mantenida. Al mismo tiempo, dado el alto grado de hiperreactividad bronquial que presentan estos pacientes, el alérgeno no es un factor primordial en la presentación de los síntomas, sino que actuaría como un desencadenante más.

Estos pacientes tienen un alto riesgo de padecer reacciones sistémicas durante la I.T., por lo que para nosotros son pacientes en que este procedimiento terapéutico no debería ser iniciado, puesto que, cuanto más severo sea el asma menor es el beneficio de la I.T.. Suscribimos en este sentido las recomendaciones del Consenso Internacional,<sup>6</sup> de no iniciar I.T. si el FEV1 es inferior al 70% del teórico.

## 2.D - EFICACIA Y DURACION

Actualmente, no se conoce cual sería la duración óptima de la I.T.. De una manera empírica, aunque fundamentada en algunos trabajos realizados con pólenes,<sup>15</sup> se recomienda un período de tres a cinco años de I.T. continuada, antes de evaluar la eficacia a largo plazo sin tratamiento inmunoterápico.

El problema es más complejo cuando hablamos de I.T. con alérgenos perennes, puesto que, algunos trabajos han mostrado la reaparición de síntomas y tests cutáneos positivos, después de 18 meses de interrumpida la I.T., que se había mantenido 3 años.<sup>16</sup>

Teniendo en cuenta estos datos y los comentados en el epígrafe sobre historia natural y eficacia, quizá la duración recomendada de 3 a 5 años no puede aplicarse a todos los pacientes, ni a todos los alérgenos.

## 2.E - EFICACIA EN POLISENSIBILIZADOS

En algunos pacientes polisensibilizados es difícil definir, exactamente, cuales son los alérgenos directamente responsables de sus síntomas, por lo que la I.T. con un solo alérgeno es improbable que sea efectiva.

Además, dado que la eficacia de la I.T. está en clara relación con la dosis de mantenimiento alcanzada, intentar justificar la administración de varios alérgenos al mismo tiempo, con la misma inyección, condicionaría una pérdida de efectividad como consecuencia de las bajas dosis administradas e intentar aumentar estas dosis conduciría a una tasa de reacciones sistémicas inaceptables. Por otra parte, se ha visto que a dosis biológicas de antígeno equivalentes, los pacientes polisensibilizados responden peor.<sup>17</sup>

## 2.F - EFICACIA DE LA I.T. POR VIAS ALTERNATIVAS

Está demostrada la eficacia por vía intranasal en la rinitis polínica,<sup>18</sup> aunque faltan trabajos que comparen esta con la vía subcutánea convencional, además de los efectos de aparición de síntomas que conlleva.

La I.T. por vía oral, en cápsulas de protección, entérica ha sido utilizada con buenos resultados en alergia al polen de abedul,<sup>19</sup> si bien las dosis empleadas eran enormes (4 000 veces superiores a la I.T. convencional) condicionando diarrea en muchos de los pacientes.

Parece prometedora la vía sublingual, pero en el momento actual creemos que necesita más estudio.

## 2.G - EFICACIA Y TIPO DE EXTRACTO

La mayoría de los estudios de efectividad se han realizado con extractos acuosos, sin embargo, hay estudios que demuestran la eficacia de extractos depot o modificados químicamente, alergoides y polimerizados, aunque en estos últimos se critica el hecho de que determinados epítomos, que pudieran ser importantes desde el punto de vista de estimulación inmunológica serían modificados y consecuentemente la potencia del extracto se vería reducida. En el momento actual no es posible saber si todos los epítomos están presentes en los extractos modificados.

## 2.H - EFICACIA E INFLAMACION

En 1978 Lichtenstein<sup>20</sup> sostenía que sólo una pequeña proporción del asma se relacionaba con la exposición al antígeno, por lo que sugería una limitación en el uso de la I.T.. Los estudios con biopsias han confirmado a la enfermedad alérgica y asmática como enfermedad inflamatoria, mostrando infiltrados característicos con eosinófilos y células T activadas.<sup>21-24</sup> Este hecho unido a que únicamente la exposición al antígeno reproduce el infiltrado inflamatorio característico, lo que no ocurre con otros agentes (virus, ozono, óxido nítrico, humo tabaco),<sup>25</sup> hizo modificar la importancia relativa dada a los alérgenos, variando la opinión inicial de aquel autor, en cuanto a las perspectivas de la I.T..<sup>26</sup>

La consideración del proceso inflamatorio como hecho patogénico principal condicionó que se hayan realizado diversos estudios sobre el efecto de la I.T. en la inflamación, valorada a través de índices directos e indirectos.

La I.T. reduce la infiltración eosinofílica en la piel 24 horas después de la estimulación antigénica<sup>27</sup> y biopsias nasales y cutáneas mostraron inhibición de la infiltración de eosinófilos activados (marcados con EG-2) durante la reacción de fase tardía en pacientes alérgicos a gramíneas.<sup>28</sup> También se demuestra inhibición de la respuesta inmediata y tardía tras la provocación.<sup>29</sup>

En los últimos años se ha sugerido que las citoquinas producidas por las células T, después de la provocación antigénica, podrían favorecer la infiltración eosinofílica. Los estudios de Frew<sup>30</sup> en respuesta cutánea tardía y de Azzawi<sup>31</sup> con biopsias bronquiales sugieren la implicación de las células T en la actividad eosinofílica.

Al analizar biopsias cutáneas y nasales<sup>28</sup> se ha observado que la I.T. induce un cambio de perfil en las poblaciones linfocitarias CD4+ de TH2 para TH1, según la clasificación de Mossman.<sup>32</sup> Las células TH2, pero no las TH1, producían citoquinas responsables de la diferenciación, actividad y disponibilidad de los eosinófilos y de la producción de IgE.<sup>33</sup>

Sabina Rak et al<sup>34-35</sup> estudiaron el nivel de proteína catiónica del eosinófilo (PCE), actividad quimiotáctica del eosinófilo (ACE), eosinófilos y poblaciones linfocitarias en sangre periférica y lavado broncoalveolar (BAL), en un grupo de pacientes con asma estacional leve (sensibles a polen de abedul), la mitad tratados con I.T. y la otra mitad con  $\beta$ -2 agonistas a demanda.

El nivel de PCE, ACE y n.<sup>º</sup> de eosinófilos durante la estación polínica se elevaba en el grupo control, lo que no ocurría o se mitigaba con diferencias estadísticamente significativas, en el grupo sometido a I.T.. Estos datos fueron observados en sangre y BAL.

En relación a los linfocitos encontraron un aumento del porcentaje de CD3 y CD4 en sangre periférica en el grupo tratado, permaneciendo inalterable el porcentaje de CD8, al contrario de lo referido por otros autores.<sup>36-37</sup> En el grupo control no observaron cambios en los porcentajes, así como, en el BAL en ambos grupos.

Se han realizado numerosos estudios intentando probar el efecto de la I.T. en la hiperreactividad bronquial específica e inespecífica con resultados contradictorios.<sup>34, 38-44</sup> Posiblemente estos resultados sean achacables a problemas metodológicos: escaso número de pacientes, incluidos en los estudios, resultados estadísticamente significativos pero con diferencias poco amplias, tratamiento I.T. administrado heterogéneo (calidad y tipo de extracto, pauta de administración, dosis máxima alcanzada, duración del tratamiento), existencia e intensidad de tratamiento ambiental, tipo y dosis de tratamiento farmacológico acompañante...

## 3 - CONTROVERSIAS EN CUANTO A SEGURIDAD

En los últimos años hemos asistido a un acalorado debate sobre los posibles efectos adversos de la I.T., incidiendo especialmente sobre la posibilidad de anafilaxia y muerte.

Todo ello viene dado, a nuestro parecer, por las recomendaciones dadas por el Comité Británico de Seguridad de los Medicamentos en 1986, a raíz de algunas muertes que se habían producido directamente relacionadas con la administración de este tipo de tratamiento. El Comité recomendó que la I.T. se administrase solamente donde se pudiese realizar una reanimación cardiorespiratoria y que los pacientes se mantuvieran en observación, al menos dos horas después de la inyección.

Desde entonces, se han publicado diferentes estudios en todo el mundo que muestran que la I.T. es una terapéutica razonablemente segura, aunque no exenta de riesgos; estos riesgos se pueden minimizar, si se administra por personal cualificado, en condiciones adecuadas y supervisada por expertos.

Recientes revisiones realizadas por la Academia Americana de Alergia<sup>45</sup> y por el Comité de Inmunoterapia de la EAACI,<sup>14</sup> demuestran que el riesgo de reacción sistémica durante la I.T. es extremadamente bajo.

A mayor abundamiento, estudios prospectivos realizados en el propio Reino Unido obtienen una conclusión similar, lo cual ha hecho cambiar las recomendaciones dadas en 1986, variando el tiempo de espera a 1 hora tras la administración, si bien reconocen que las reacciones que ocurren después de los primeros 30 minutos, no son de riesgo vital y pocas veces requieren tratamiento.<sup>46</sup>

### 3.A - SEGURIDAD Y TIPO DE ALERGENO

Se ha discutido que determinados alérgenos pudieran ser más proclives a dar reacciones sistémicas. Algunos autores hablaban de que los pólenes pudieran dar más problemas que otros alérgenos.<sup>47</sup> Sin embargo, un estudio prospectivo realizado por el Grupo de Montpellier sobre 1152 pacientes alérgicos a ácaros y 176 polínicos, no revela diferencias en cuanto al patrón de reacciones sistémicas.<sup>48</sup>

La inmunoterapia con extractos de hongos parece ser más problemática en este sentido, primero por la complejidad que entraña conseguir un extracto adecuado y por otra parte, la alta tasa de reacciones sistémicas que se observan cuando se emplean extractos de alta calidad alérgica.<sup>49</sup>

### 3.B - SEGURIDAD Y TIPO DE EXTRACTO

Parece aceptado que con los extractos acuosos existen más posibilidades de reacciones sistémicas comparados con los extractos depot o modificados.<sup>50</sup> Sin embargo, revisiones recientes realizadas por otros autores<sup>4</sup> demuestran que la tasa de reacciones depende más de la pauta empleada que del tipo de preparación, haciendo una excepción con los extractos de antígenos polimerizados, que darían menos problemas.

### 3.C - SEGURIDAD Y PREMEDICACION

Aunque se ha preconizado el uso profiláctico de antihistamínicos, previa a la administración de I. T., hay estudios que muestran la escasa valía de este procedimiento que, como mucho, prevendría las reacciones locales, pero no las sistémicas,<sup>51</sup> o bien una reducción de los síntomas cutáneos pero no de los respiratorios y cardiovasculares, más graves.<sup>52</sup>

## 4 - CONTROVERSIAS EN CUANTO A INDICACION

La indicación de I.T. está regida por dos postulados fundamentales:

- Existencia de una sintomatología en clara relación con la exposición al antígeno.
- Existencia de un antígeno standarizado y de calidad suficiente.

Ante la imposibilidad de predecir los pacientes que van a responder a la I.T., su indicación debería ser considerada cuidadosamente, sopesando en cada paciente la relación beneficio-riesgo, considerando que no siempre lo que es eficaz está indicado y viceversa.

Los factores que nos predisponen a iniciar el tratamiento I.T. son: agravamiento de la enfermedad alérgica a lo largo del tiempo y la progresión de rinitis a asma.

Los motivos de controversia fundamentales radican en:

### 4.A - INDICACION EN EL TIEMPO

Hay quien defiende la idea de iniciar la I.T. después de que ha "fallado" el tratamiento farmacológico o la cantidad de tratamiento farmacológico necesario para el control de la enfermedad es cada vez mayor.<sup>6</sup> Sin embargo cada vez se leen más opiniones, a favor de iniciar este procedimiento al mismo tiempo que el tratamiento farmacológico.<sup>4</sup>

Esta última opinión es la que nosotros compartimos, si hacemos referencia a pacientes polínicos, si bien, en el caso de alérgenos perennes mantenemos una actitud de espera hasta comprobar la evolución con evitación del alérgeno y terapéutica sintomática inocua. Consideramos la I.T. cuando la evitación del alérgeno es imposible, o cuando la enfermedad no responde de forma satisfactoria a la evitación del alérgeno, incluso aunque mejore con tratamiento farmacológico.

### 4.B - INDICACION CON RESPECTO A LA EDAD

Existe un consenso a favor de no iniciar la I.T. en pacientes por debajo de 5 años, consenso del cual participamos. Podería considerarse esta forma de tratamiento en pacientes seleccionados, en los cuales

se pudiera demostrar la existencia de un antígeno relevante en la producción de sus síntomas, cuestión que resulta bastante compleja, puesto que, en este grupo etario los síntomas suelen presentarse en relación con infecciones respiratorias.<sup>53</sup> Además, deberíamos tener en cuenta la posibilidad de reacciones sistémicas, que parece ser mayor en edades inferiores a cinco años y también los factores psicológicos implicados.<sup>54</sup>

## BIBLIOGRAFIA

1. Ewan PW, Alexander MM, Snape C, Ind PW, Agreel B, Dreborg S. Effective hyposensitization in allergic rhinitis using a potent partially purified extract of house dust mite. *Clin Allergy*, 1988; 18:501-508.
2. Corrado Oj, Pastorello E, Oliver S, Cresswell L, Zanussi C, Ortolani C et al. A double-blind study of hyposensitization with an alginate conjugated extract of d. pteronyssinus (Conjuvac R) in patients with perennial rhinitis. I. Clinical aspects. *Allergy*, 1989; 44:108-115.
3. McHugh SM, Lavelle B, Kemeny DM et al. A placebo-controlled trial of immunotherapy with two extracts of *Dermatophagoides pteronyssinus* in allergic rhinitis, comparing clinical outcome with changes in antigen-specific IgE, IgG and IgG subclasses. *J Allergy Clin Immunol*, 1990; 86:521-32.
4. Alvarez Cuesta E, Beristain Urquiza. Inmunoterapia: actualización. In: *Libro del año de Alergología*, 1993. *Saned*, 1993: 152-187.
5. Alvarez Cuesta E, Boquete M, Cadahía A et al. La inmunoterapia a través de sus publicaciones: análisis de los últimos cinco años (1986-1990). *Rev Esp Alerg e Inmun Clínica*, 1992; 7:55-64.
6. International Consensus Report on Diagnosis and Management of Asthma. National Institutes of Health Publication n.º 92-3091 Bethesda, Maryland. *Allergy*, 1992; 47 (suppl):23-24.
7. Kay AB, Lessof MH. Allergy: Conventional and Alternative Concepts. A report of the Royal College of Physicians Committee on Clinical Immunology and Allergy. *Clin Exp Allergy*, 1992; 22 (suppl 3):1-44.
8. Johnstone D. A study of the natural history of bronchial asthma in children. *Am J dis Child*, 1968; 115:213-216.
9. Rackemann FM, Edwards MC. Asthma in children. A follow-up study of 688 patients after an interval of twenty years. *N Eng J Med*, 1952; 246:815-63.
10. Williams H, McNicol KN. Prevalence natural history and relationship between wheezy bronchitis and asthma in children. An epidemiological study. *Brit Med J*, 1969; 4:321-28.
11. Martin AJ, McLennan LA, Landau LI, Phelan PD. The natural history of childhood asthma to adult life. *Br Med J*, 1980; 280:1397-1400.
12. Mosbech H, Osterballe O. Does the effect of immunotherapy last after termination of treatment? Follow-up study in patients with grass pollen rhinitis. *Allergy*, 1988; 43:523-9.
13. Grammer LC, Shaughnessy MA, Suszko IM et al. Persistence of efficacy after a brief course of polymerized ragweed allergen: a controlled study. *J Allergy Clin Immunol*, 1984; 73:848-09.
14. Malling HJ, Weeke B. Immunotherapy Position Paper. *Allergy*, 1993; 14:48 (suppl).
15. Norman PS, Creticos PS, March DG et al. Two year study of clinical results after discontinuation of ragweed allergoid immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*, 1988; 80:294.
16. Bousquet J, Hejjaoui A, Michel FB. Specific immunotherapy in asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 1990; 86:292-305.
17. Bousquet J, Hejjaoui A, Becker M. Clinical and immunological reactivity of patients allergic to grass pollen and to multiple pollen species. *J Allergy Clin Immunol*, 1991; 87:737-46.
18. Welsh PW, Buttersfield JH, Yunginger JW, Agarwal MK, Gleich GJ. Allergy controlled study of intranasal immunotherapy for ragweed hay fever. *J Allergy Clin Immunol*, 1983; 71:454-60.
19. Björkstén B, Möller C, Broberger U, Ahlsteot S, Dreborg S, Johansson SGO et al. Clinical and immunological effects of oral immunotherapy with a standardized birch pollen extract. *Allergy*, 1986; 41:290-5.
20. Lichtenstein LM. An evaluation of the role of immunotherapy in asthma. *Am Rev Respir Dis*, 1978; 117:191-7.
21. Beasley R, Roche WR, Roberts JA, Holgate ST. Cellular events in the bronchi of mild asthma after bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis*, 1989; 139:806-17.
22. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barneon G, Ghavanian N, Enander I et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Eng J Med*, 1990; 323:1033-9.
23. Laitinen LA, Heino M, Laitinen A, Kava T, Haahtela T. Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am Rev Respir Dis*, 1985; 131:599-606.
24. Corrigan CJ, Kay AB. T cells and eosinophils in the pathogenesis of asthma. *Immunol Today*, 1992; 13:501-506.
25. Lemansky RF, Dick EG, Swenson CA, Busse WW. Rhinovirus upper respiratory infection increases airway reactivity in late asthmatic reactions. *J Clin Invest*, 1989; 83:1-10.
26. Lichtenstein LM, Valentine MD, Norman PS. A reevaluation of immunotherapy for asthma. *Am Rev Respir Dis*, 1984; 129:657-9.
27. Fowler JW, Lowell FC. The accumulation of eosinophils as an allergic response to allergen applied to the denuded skin surface. *J Allergy*, 1966; 37:19-28.
28. Durham SR, Varney V, Gaga M, Frew AJ, Jacobson M, Kay AB. Immunotherapy and allergic inflammation. *Clin Exp Allergy*, 1991; 21 (suppl 1):206-210.
29. Durham SR. Allergic Rhinitis: Basic mechanisms and influence of treatment. *Rev Port Imunoalergol*, 1994; 2:85-87.
30. Frew AJ, Kay AB. The relationship between infiltrating CD4+ lymphocytes, activated eosinophils and the magnitude of the allergen-induced late phase reaction in man. *J Immunol*, 1988; 141:4158-64.
31. Azzawi M, Bradley B, Jeffrey PK. Identification of activated T-lymphocytes and eosinophils in bronchial biopsies in stable atopic asthma. *Am Rev Respir Dis*, 1990; 142:1407-13.
32. Mossman TF, Cherwinski H, Bond HW. Two types of murine helper T-cell clone. Definition according of profile of lymphocyte activities and secreted proteins. *J Immunol*, 1986; 136:23-48.
33. Durham SR, Sun Ying, Varney VA, Jacobson MR, Sudderick MR, Mackay IS et al. Cytokine messenger RNA expression for IL-3, IL-4, IL-5 and granulocyte macrophage-colony-stimulating factor in the nasal mucosa after local allergen provocation relationship to tissue eosinophilic. *J Immunol*, 1992; 148:2390-4.
34. Rak S. Effects of immunotherapy on the inflammation in pollen asthma. *Allergy*, 1993; 48:125-128.
35. Rak S, Hallden G, Sorenson S, Margari V, Scheynius A. The effect of immunotherapy on T-cell subsets in peripheral blood and bronchoalveolar lavage fluid in pollen-allergic patients. *Allergy*, 1993; 48:460-465.

36. **Dominguez MA, Sanz ML, Lobera T, Oehling A.** T helper and T-suppressor subpopulations in pollinosis. Effect of specific immunotherapy. *Allergol Immunopathol*, 1983; 11:415-20.
37. **Tamir R, Castrocane JM, Rocklin RE.** Generation of suppressor cells in atopic patients during immunotherapy that modulate IgE syntheses. *J Allergy Clin Immunol*, 1987; 79:591-8.
38. **Lilja G, Lundin B, Graff-Lonnevig V et al.** Immunotherapy with cat and dog dander extracts. Effects of 2 years of treatment. *J Allergy Clin Immunol*, 1989; 83:37-44.
39. **Bousquet J, Calvarirac P, Guering B, Hewit B, Hejjaoui A, Dhivert H, Michel FB.** Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. *In vivo* and *in vitro* parameters after a short course of treatment. *J Allergy Clin Immunol*, 1985; 76:734-44.
40. **Bousquet J, Clanzel AM, Hejjaoui A et al.** Non specific bronchial hyperreactivity in asthmatic subjects after immunotherapy with a standardized mite extract. *Am Rev Respir Dis*, 1987; 135:A315.
41. **Machiels JJ, Lebrun PM, Jacquemin MG, Saint-Remy JM.** Significant reduction of non-specific bronchial reactivity in patients with *Dermatophagoides pteronyssinus*-sensitive allergic asthma under therapy with allergen-antibody complexes. *Am Rev Respir Dis*, 1993; 147:1407-12.
42. **Mosbech H, Dreborg S, Frolund I.** Hyposensitization in asthmatic with mPEG modified and unmodified house dust mite extract. *Allergy*, 1989; 44:499-509.
43. **Van Beber HP, Stevens WJ.** Effect of hyposensitization upon the immediate and late asthmatic reaction and upon histamine reactivity in patients allergic to house dust mite (*D. pteronyssinus*). *Eur Respir J*, 1992; 5:318-22.
44. **Murray AB, Ferguson AC, Morrinson B.** Non-allergic bronchial hyperreactivity in asthmatic children decreases with age and increases with mite immunotherapy. *Ann Allergy*, 1985; 2:59-67.
45. **Stewart GE, Lockey RF.** Systemic reactions from allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*, 1992; 90:567-78.
46. **Kay AB, Holgate ST.** BSACI Position Paper on allergen immunotherapy. *Clin and Exp Allergy*, 1993; 23 (suppl 3).
47. **Vervloet D, Krairallah E, Arnaud A, Charpin J.** A prospective national study of the safety of immunotherapy. *Clin Allergy*, 1980; 10:59-64.
48. **Hejjaoui A, Dhivert H, Michel FB, Bousquet J.** Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. *J Allergy Clin Immunol*, 1990; 85:473-479.
49. **Malling JH, Dreborg S, Weeke B.** Diagnosis and immunotherapy of mould allergy: Clinical efficacy and side effects of immunotherapy with *Cladosporium herbarum*. *Allergy*, 1986; 41:507-19.
50. **Ewan PW, Lavelle BM, Snape C et al.** An analysis of reactions to three house dust mite desensitization regimes. *Allergy*, 1988; 43 (suppl 7).
51. **Quirce S, Rico P, Puyana J, Cuesta J, Alvarez Cuesta E.** Safety of rush immunotherapy with grass pollen: Evaluation of premedication. *Clin Exp Allergy*, 1990; 205:107.
52. **Berchtold E, Maibach R, Müller V.** Reduction of side effects from rush-immunotherapy with honey-bee venom by pretreatment with terfenadine. *Clin Exp Allergy*, 1992; 22:59-65.
53. **Boquete Paris M.** Disnea sibilante en el niño menor de 3 años. In: El enfermo alérgico en atención primaria. F Gozalo, A Nieto, R Pelta, M Boquete (Eds). *EDILESA*, 1992. León (España).
54. **Dennis R, Ownby, Allen D, Adinoff.** The appropriate use of skin testing and allergen immunotherapy in young children. *J Allergy Clin Immunol*, 1994; 4:662-65.