

**PRACA POGLĄDOWA/REVIEW PAPER**

# Immunoterapia – przyczyny nieoptymalnej skuteczności w alergiach wziewnych

## Immunotherapy – the causes of sub-optimal efficacy in inhaled allergies

Marita Nittner-Marszalska

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

### STRESZCZENIE

Immunoterapia alergenowa (*allergen immunotherapy* – AIT) powoduje u większości pacjentów z IgE-zależnymi alergiami wziewnymi złagodzenie objawów, a po zakończeniu leczenia także długotrwałą ich remisję, co umożliwia zmniejszenie intensywności farmakoterapii i poprawia jakość życia. Pomimo potwierdzonej badaniami wysokiej skuteczności immunoterapii część pacjentów nie reaguje na ten typ leczenia (*non-responders*) albo jego efekty nie spełniają pokładanych w nim oczekiwań (*poor responders*). Jakie są przyczyny braku lub nieoptymalnych efektów leczenia? Czy pomocne są w tym procesie biomarkery? Jak wyróżnić pacjentów nierokujących poprawy po zastosowaniu AIT? W artykule przedstawiono przyczyny niepowodzenia AIT: nieprawidłową diagnozę wynikającą z niecharakterystycznych objawów obu chorób i podobieństwa różnych ich endotypów, wybór nieistotnego klinicznie alergenu, brak uczulenia na alergeny główne i nieprawidłową technikę AIT. Omówiono wpływ heterogenności uczuleń oraz uczuleń na molekule o istotnej roli klinicznej, takie jak Der p 23, na efekty AIT.

### SŁOWA KLUCZOWE

immunoterapia alergenowa, biomarkery, skuteczność, profil uczuleń, diagnostyka molekularna, Der p 23.

### ABSTRACT

Allergen immunotherapy (AIT) has proven efficacy in IgE-dependent respiratory diseases. When AIT is conducted continuously for 3 years, it confers long-term clinical benefits after cessation of treatment. While multiple studies confirm high efficacy of AIT, there are some patients who do not respond to this therapy (“non-responders”) or find its results non-satisfactory (“poor-responders”). What factors may be responsible for lack of a therapeutic success of AIT or the therapy’s not fully optimal result? How to predict AIT treatment failures? Can biomarkers facilitate the prediction? How to identify patients who may turn out to be treatment failures? The article sets forth causes of AIT failures: wrong diagnosis of the underlying allergic disease, selection of a clinically non-important allergen for AIT, lack of sensitization to the major allergen and badly performed AIT. In regard to AIT success or failure, additionally addressed is the issue of heterogeneity of molecular profiles and the sensitization to clinically important molecules like Der p 23.

### KEY WORDS

allergen immunotherapy, biomarkers, efficacy, sensitisation heterogeneity, component resolved diagnosis, Der p 23.

**ADRES DO KORESPONDENCJI:**

dr hab. med. Marita Nittner-Marszalska, prof. nadzw., Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Marii Skłodowskiej-Curie 66, 50-369 Wrocław, tel.: +48 71 784 22 32, e-mail: marita.nittner-marszalska@umed.wroc.pl

**WSTĘP**

Immunoterapia alergenowa (*allergen immunotherapy* – AIT) w obu jej stosowanych obecnie formach, podskórnej i podjęzykowej, już w trakcie pierwszych miesięcy powoduje u większości pacjentów z IgE-zależnymi alergiami wziewnymi złagodzenie objawów, a po zakończeniu leczenia także długotrwałą ich remisję, co umożliwia zmniejszenie intensywności farmakoterapii i poprawia jakość życia [1, 2]. Leczenie wywołuje też potencjalny efekt profilaktyczny, hamując występowanie kolejnych uczuleń [3].

**MECHANIZMY IMMUNOLOGICZNE LEŻĄCE U PODŁOŻA SKUTECZNOŚCI IMMUNOTERAPII ALERGENOWEJ**

Skuteczność kliniczna immunoterapii wynika z przywrócenia tolerancji na swoisty alergen przez uruchomienie mechanizmów hamujących zarówno wczesną (*early allergic response* – EAR), jak i późną odpowiedź immunologiczną (*late allergic response* – LAR). Markerami supresji EAR są m.in. zmniejszone stężenia mediatorów mastocytów w wydzielinie z nosa, histaminy i tryptazy. Zahamowanie LAR cechuje zmniejszenie napływu do tkanek komórek efektorowych i cytokin Th2: IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, oraz redukcja liczby mastocytów CD117+, bazofilów i eozynofików w nacieku komórkowym w błonie śluzowej nosa [3–5].

Mechanizmy procesu przywrócenia tolerancji na alergen przez AIT są złożone i wieloetapowe, tak jak złożony jest mechanizm zapalenia alergicznego. Są one sekwencją zdarzeń występujących z różną dynamiką w kolejnych fazach immunoterapii: fazie indukcji, podtrzymującej i w okresie po zakończeniu AIT. Skuteczność AIT to wynik znanych fragmentarycznie interakcji różnych subpopulacji komórek i uwalnianych przez nie czynników. Od kilkunastu lat wiadomo, że główną rolę w zjawisku nabywania tolerancji wobec alergenu podczas AIT odgrywają specyficzne alergenowo limfocyty T regulatorowe (T reg), które poprzez szereg czynników supresorowych, takich jak IL-10/IL-10R, TGF- $\beta$ /TGF- $\beta$ R, IL-35, CTLA 4 (antygen 4 cytotoksycznych limfocytów T), PD1 (receptor programowanej śmierci 1), HR2 (receptor histaminowy typu 2), kontrolują mikrośrodowisko tkankowe [6]. Źródłem immunosupresyjnych cytokin (IL-10, TGF- $\beta$ , IL-35) są również limfocyty B regulatorowe (B reg), subpopulacja komórek B generowana podczas AIT, wspierająca

różnicowanie limfocytów T reg, stymulująca produkcję przeciwciał IgG4 zmniejszających odpowiedź na alergen mediowaną przez receptor Fc $\epsilon$ RI i Fc $\epsilon$ RII (CD23) [7]. W przebiegu immunoterapii osłabieniu ulega funkcja specyficznych alergenowo limfocytów Th2 (i produkcja ich cytokin: IL-4, IL-13, IL-9, IL-17, eotaksyny, TNF- $\alpha$ ) przy wzroście odpowiedzi na alergen limfocytów Th1 (i ich cytokin: IFN- $\gamma$ , IL-12) [4–10]. W procesie przywracania tolerancji biorą udział także komórki limfoidalne typu 2 (ILC2), których rola w immunoterapii nie jest jeszcze dostatecznie poznana. Obserwuje się jednak istotną redukcję ilości ILC2 u pacjentów poddanych AIT w stosunku do osób nieotrzymujących immunoterapii oraz zahamowanie obwodowych ILC2 podczas sezonowej ekspozycji na alergen u osób poddanych AIT [11, 12]. Kolejną populacją komórkową odgrywającą ważną rolę w AIT są komórki dendrytyczne (DC). Komórki DC jamy ustnej o fenotypie CD 103(-)11b (+) uczestniczą w transporcie do podżuchwowych węzłów chłonnych alergenu podawanego podjęzykowo podczas SLIT i indukcji specyficznych alergenowo T reg [13].

Gdyby przyjrzeć się zjawiskom immunologicznym zachodzącym w poszczególnych etapach immunoterapii pod kątem potencjalnych czynników do monitorowania przebiegu i skuteczności leczenia, należałoby zwrócić uwagę na następujące elementy i ich sekwencje. W fazie wczesnej AIT – fazie indukcji, budowania dawki szczepionki – występuje desensytyzacja mastocytów i bazofilów, czego wynikiem jest stopniowe osłabienie ich reaktywności w odpowiedzi na alergen. We wczesnej fazie AIT stwierdza się również przejściowy wzrost sIgE w surowicy, który jednak nie wiąże się z nasileniem objawów klinicznych alergii ani objawami ubocznymi AIT, co może wskazywać, że wczesny *priming* komórek Th2 wysokimi dawkami alergenu ma znaczenie dla skuteczności AIT [14, 15]. W kolejnych etapach dochodzi do zahamowania wzrostu sIgE pod wpływem naturalnej sezonowej ekspozycji na alergen oraz stopniowego spadku miana tych przeciwciał. W 6.–8. tygodniu immunoterapii wzrasta także stężenie immunoreaktywnych przeciwciał sIgG4, IgG1 oraz IgA (progresywnie, w zależności od dawki szczepionki) [16–19]. Przeciwciała IgG4 mogą blokować kompetencyjnie formowanie kompleksu IgE-alergen, co zapobiega aktywacji receptora Fc $\epsilon$ RI na bazofilach i mastocytach, ale także receptora Fc $\gamma$ RIIb na limfocytach B, hamując prezentację alergenu limfocytom T oraz odpowiedź na alergen limfocytów Th2 [20, 21]. Ilościową ocenę antagonistycznej

aktywności IgG4 wobec IgE umożliwia metoda oparta na cytometrii przepływowej (IgE-FAB, ELIFAB). Inhibicja sIgE przez surowicze sIgG4 jest zjawiskiem, które koreluje ze skutecznością AIT od ok. 8. miesiąca jej stosowania, ale utrzymuje się także po zakończeniu kursu immunoterapii, gdy stężenie sIgG4 jest już niskie [22]. Świadczy to o wysokim powinowactwie lub wysokiej awidności sIgG4 produkowanych pod wpływem immunoterapii. Sugeruje to również, że długo żyjące komórki pamięci B generowane podczas AIT mogą przetrwać po zakończeniu immunoterapii i mieć udział w długoterminowej tolerancji. Taką rolę mogą odgrywać specyficzne alergenowo IgG+ komórki pamięci B [23]. IgE-FAB stwierdza się w surowicy, a w większym stopniu w wydzielinie z nosa, co wskazuje na lokalne działanie ochronne IgG4 przed ekspozycją na alergen. Badania eksperymentalne wskazują, że od 2.–4. tygodnia immunoterapii następuje wzrost produkcji IL-10 ściśle korelujący z supresją LAR. Pojawienie się komórek T reg produkujących IL-10 (choć nie tylko one są źródłem IL-10) w trakcie immunoterapii i po jej zakończeniu jest zwiastunem wytworzenia tolerancji wobec alergenu. T reg odpowiadają m.in. za supresję komórek efektorowych, indukując syntezę sIgG4, a ich gromadzenie się w błonie śluzowej nosa koreluje z poprawą kliniczną w przebiegu AIT.

#### IMPLIKACJE DLA LEKARZA PRAKTYKA

Pomimo danych o zaangażowaniu wielu elementów układu immunologicznego w mechanizm immunoterapii monitorowanie jej przebiegu opiera się nadal głównie na obserwacji klinicznej. Rolę biomarkerów w kwalifikacji i monitorowaniu skuteczności AIT dostępnych w praktyce mogą spełniać:

- próba prowokacyjna z alergenem – przydatna w procesie kwalifikacji przy niejednoznacznym wywiadzie oraz do oceny efektów AIT; rozstrzygająca w przypadkach alergii lokalnej układu oddechowego, np. miejscowym nieżycie nosa (obecnie nadal brak wskazań do AIT); jej wadami są ograniczona dostępność oraz możliwość otrzymania fałszywie dodatnich wyników w stosunku do niespecyficznych reakcji na glicerol lub chlorek benzalkonium;
- ocena stężenia sIgE – złoty standard w kwalifikacji do AIT; brak zależności pomiędzy stężeniem sIgE a nasileniem objawów alergii; brak potwierdzonej wartości prognostycznej w monitorowaniu efektów AIT;
- ocena stężenia sIgG4 – może odzwierciedlać *compliance*, ale nie wykazuje związku z efektami klinicznymi AIT;
- test aktywacji bazofilów – wynik może być czynnikiem predykcyjnym skuteczności AIT już we wczesnym etapie leczenia; wyniki po 3 miesiącach terapii

korelują z długoterminowymi efektami AIT; wadą metody jest jej mała dostępność, ograniczona do wysokospecjalistycznych laboratoriów.

#### PRAWIDŁOWOŚĆ ROZPOZNANIA KLINICZNEGO A SUKCES IMMUNOTERAPII ALERGENOWEJ

Pomimo potwierdzonej badaniami wysokiej skuteczności immunoterapii, niektórzy pacjenci nie reagują na ten typ leczenia (*non-responders*) albo jego efekty nie spełniają pokładanych w nim oczekiwań (*poor responders*). Jakże są przyczyny braku lub nieoptymalnych efektów leczenia? Jak wyróżnić pacjentów nierokujących poprawy podczas AIT?

Gwarancją skuteczności jest stosowanie AIT u pacjentów z objawami schorzenia, w przypadku którego została ona już dobrze udokumentowana. Udowodniono, że pozytywne efekty kliniczne AIT można oczekiwać u pacjentów z IgE-zależną alergią wziewną objawiającą się alergicznym nieżytem nosa (ANN), astmą oraz przy współistnieniu obu tych schorzeń [3, 24]. Najliczniejsze są badania dowodzące skuteczności AIT w ANN zarówno wywołanym uczuleniem na alergeny pyłków roślin, jak i roztoczy kurzu domowego. Mniej liczna i mniej doskonała metodologicznie jest grupa badań dowodzących skuteczności immunoterapii w ANN z uczuleniem na sierść kota, psa i pleśnie [25]. Większość danych dotyczących skuteczności AIT w astmie pochodzi z analizy wyników podgrup pacjentów z astmą współistniejącą z ANN, kwalifikowanych do badań klinicznych z randomizacją (DBPC) lub badań *real life* poświęconych immunoterapii w ANN. Jedno z takich badań, oceniające skuteczność SLIT w astmie z towarzyszącym ANN i uczuleniem na roztocza, jest podstawą rekomendacji tej metody w astmie przez ekspertów GINA [26]. Inną kategorią to badania *real life* dotyczące skuteczności immunoterapii w astmie wywołanej uczuleniem na alergeny pyłków traw i brzozy, jak „Breath”, lub w astmie z uczuleniem na roztocze, jak badanie Jutela i wsp. [27, 28].

Podstawą powodzenia AIT jest prawidłowe rozpoznanie. Ze względu na niespecyficzny charakter głównych objawów ANN i astmy (katar, kaszel i duszności), częsty brak zmian w badaniu przedmiotowym i prawidłowe wyniki badań dodatkowych w astmie, poza okresami zaostrzeń, rozpoznanie może wymagać przeprowadzenia diagnostyki różnicowej. Idąc w ślad za sugestiami zawartymi w dokumentach ARIA i GINA, należy brać pod uwagę genetyczne, infekcyjne, autoimmunologiczne, rozrostowe i jatrogenne przyczyny objawów sugerujących rozpoznanie ANN lub astmy [29, 30]. Uwagę powinien zwracać fakt, że nadrozpoznowalność astmy nie jest rzadką. W badaniu Aarona i wsp. po wieloetapowej i wielo-

miesięcznej analizie 613 pacjentów z rozpoznaniem astmy wykluczono ją u 33% badanych [31]. W przypadku rozpoznania alergicznego tła nieżyty nosa przeciwnie – zwraca się uwagę na jego niedoszacowanie [32].

Powodem nieoptymalnych efektów immunoterapii może być błąd w kwalifikacji wynikający z podobieństwa klinicznego różnych endotypów ANN i astmy. Jedną z analiz klasterowych przewlekłego nieżyty nosa pozwala na wyróżnienie 6 jego postaci o bardzo zbliżonej symptomatologii [33]. Dwie z nich: alergiczny nieżyt nosa i nie-IgE-zależny, niealergiczny eozynofilowy nieżyt nosa (NARES), dodatkowo charakteryzują te same biomarkery (eozynofilia, LTC<sub>4</sub>, ECP). W ten sposób pacjent z NARES, u którego współistnieje nieistotne klinicznie uczulenie (*bystender*), może być zakwalifikowany do immunoterapii, z której nie odniesie korzyści. Podobna sytuacja może wystąpić w astmie. Teoretycznie niepowodzenie immunoterapii może być spowodowane również plastycznością i zmiennością w czasie poszczególnych fenotypów choroby, co dotyczy zarówno ANN, jak i astmy [34–36].

#### IMPLIKACJE DLA LEKARZA PRAKTYKA

- Diagnostyka różnicowa astmy powinna obejmować: przewlekłą obturacyjną chorobę płuc (POCHP), chorobę refluksową, nadreaktywność oskrzeli po przebytej infekcji wirusowej, zaburzenie funkcjonowania strun głosowych, choroby śródmiąższowe płuc, choroby górnych dróg oddechowych, choroby układu krążenia, zatorowość płucną, sarkoidozę.
- W diagnostyce różnicowej przewlekłego nieżyty nosa należy uwzględnić m.in.: infekcyjny, polekowy, idiopatyczny lub hormonalny nieżyt nosa, mukowiscydozę, pierwotną dyskinezę rzęsek.
- W diagnostyce różnicowej objawów ze strony układu oddechowego przebiegających z eozynofilią tkankową lub obwodową obok astmy i ANN powinno się brać pod uwagę: eozynofilowe zapalenie oskrzeli, ziarniniaka Wegenera, eozynofilową ziarniniakowatość z zapaleniem naczyń, alergiczną aspergilozę oskrzelowo-płucną, NARES, zespoły nadwrażliwości na niesteroidowe leki przeciwzapalne (N-ERD), zawodowy nieżyt nosa z eozynofilią.
- Przy współistnieniu alergicznego i niealergicznego nieżyty nosa (nawet ponad 30% przypadków przewlekłego nieżyty nosa) AIT może być nieskuteczna z powodu występowania drugiego, niezależnego czynnika etiologicznego.
- Przy nakładaniu się fenotypu astmy alergicznej IgE-zależnej i astmy eozynofilowej niezależnej od IgE AIT może być nieskuteczna wobec dominującego zapalenia eozynofilowego niezależnego od IgE.

Przy współistnieniu alergii zawodowej objawiającej się nieżytem nosa i uczuleniem na alergen całoroczny AIT może być nieskuteczna.

#### WSKAZANIE WŁAŚCIWEGO ALERGENU A SUKCES IMMUNOTERAPII ALERGENOWEJ

Obok prawidłowego rozpoznania schorzenia będącego podstawą kwalifikacji do AIT konieczne jest wykazanie udziału sIgE, tj. uczulenia na czynnik potencjalnie odpowiedzialny za objawy alergii. Wytypowanie niewłaściwego alergenu, który nie odgrywa istotnej roli w etiologii objawów alergii, skutkuje niepowodzeniem AIT.

U kandydata do immunoterapii, który ma objawy alergii wziewnej i uczulenie, możliwe są dwa scenariusze: 1) uczulenie jest istotne klinicznie, gdy objawy ANN lub astmy nasilają się pod wpływem ekspozycji na typowany alergen; 2) uczulenie jest nieistotne klinicznie, gdy współistnieje z ANN lub astmą, lecz nie występują objawy pod wpływem ekspozycji na typowany alergen. Instrumentami do oceny istotności klinicznej uczulenia są głównie wywiad i trudno dostępna w codziennej praktyce próba prowokacyjna.

Problem jest bardziej skomplikowany, gdy pacjent z objawami alergii wziewnej jest uczulony na ekstrakt kilku alergenów (uczulenie oligo- lub poliwalentne) potencjalnie związanych z objawami alergii. W takich przypadkach może być pomocna diagnostyka molekularna (*component resolved diagnosis* – CRD). Zastosowanie CRD, oceniającej występowanie sIgE przeciwko poszczególnym komponentom ekstraktu zamiast tradycyjnie ocenianych sIgE przeciwko ekstraktowi, nie tylko zwiększa czułość, lecz także specyficzność diagnostyki uczuleń. CRD pozwala na ustalenie, który z alergenów wywołujący dodatni wynik testów z ekstraktem jest źródłem uczulenia pierwotnego (swoistego gatunkowo), a który z wyników jest efektem reaktywności krzyżowej (np. uczulenie na panalergen). Zgodnie z przyjętym obecnie poglądem największe korzyści z immunoterapii odnosi pacjent, u którego stwierdza się obecność sIgE przeciwko głównym alergenom, np. w alergii na brzozę, trawy i roztocze odpowiednio Bet v 1, Phl p 1, 5 i Der p/f 1, 2. Argumentem przemawiającym za tym stanowiskiem jest swoistość gatunkowa tych molekuł i ich występowanie u większości pacjentów uczulonych na ten alergen (alergeny główne). O ich znaczeniu w rozwoju alergii świadczy też fakt, że są to molekuły „inicjujące” uczulenie (przeciwciała sIgE przeciwko nim pojawiają się jako pierwsze, zanim repertuar uczuleń się poszerzy). Dodatkowo standaryzowana zawartość głównych białek alergenowych w szczepionkach zapewnia zalecaną dawkę maksymalną i kumulacyjną szczepionki, mającą podstawowe znaczenie dla finalnych efektów AIT.

Nasuwa się pytanie, jak często popełniamy błąd skutkujący niepowodzeniem AIT, kwalifikując do leczenia pacjenta, u którego uczulenie na ekstrakt wynika z uczulenia na alergen reagujący krzyżowo. Stringari i wsp., analizując kwalifikacje do immunoterapii 651 włoskich dzieci z wywiadem umiarkowanej i ciężkiej alergii na pyłki roślin i dodatnim wynikiem sIgE przeciwko ekstraktom, zweryfikowali je u 37% po analizie wyników CRD i wykazaniu braku uczulenia na alergen pierwotny [37]. Przy interpretacji tego wyniku należy pamiętać, że ryzyko błędu tego typu jest większe w rejonie śródziemnomorskim niż w rejonie klimatycznym Europy Środkowej. Okres kwitnienia we Włoszech jest długi i w czasie jego trwania nakładają się okresy pylenia wielu gatunków roślin.

#### IMPLIKACJE DLA LEKARZA PRAKTYKA (PRZYKŁADY)

- U pacjenta występują objawy astmy i uczulenie na roztocze kurzu domowego: wariant 1 – astma jest IgE-zależna, alergiczna i uczulenie na roztocze jest istotnym czynnikiem indukującym jej objawy (AIT jest wskazana); wariant 2 – objawy astmy są niezależne od współistniejącego uczulenia na roztocze (AIT jest nieskuteczna). Dla powodzenia AIT konieczna jest ocena związku objawów z ekspozycją na kurz.
- U pacjenta z całorocznym ANN uczulonego na ekstrakt roztoczy i sierści kota (stała ekspozycja domowa na sierść kota) wskazane jest wykonanie CRD. Występowanie uczuleń: Der p 1 i 2 i Fel d 2 i 4 kwalifikuje do AIT szczepionką roztoczą, podczas gdy uczulenie Der p 1 i 2 oraz Fel d 1 wymaga weryfikacji próbą prowokacyjną (po potwierdzeniu istotności obu uczuleń należy podjąć AIT dwoma szczepionkami). Panel uczuleń Der p 10 i Fel d 1 wskazuje na konieczność przeprowadzenia AIT szczepionką sierści kota.
- U pacjenta z objawami ANN od wczesnej wiosny do lata, uczulonego na ekstrakt pyłków brzozy, traw i bylicę wskazane jest wykonanie CRD. W przypadku uczuleń na Bet v 2, Phl p 1, 5, 12 i Art v 4 zaleca się AIT szczepionką pyłków traw. Wykazane w SPT uczulenie na brzozę i bylicę wynika z uczulenia na panalergen (AIT pyłkami brzozy jest nieskuteczna). Gdy CRD wykazuje uczulenie na Bet v 1, Phl p 1, 5 i Art v 4, wskazana jest AIT osobnymi szczepionkami pyłków brzozy i traw.

#### HETEROGENNOŚĆ PROFILU UCZULEŃ A NIEPOWODZENIE IMMUNOTERAPII

Ostatnia dekada umożliwiła precyzyjne określanie indywidualnych profili uczuleń. Konfiguracja uczuleń na alergeny zawarte w ekstrakcie jest cechą osobniczą i zmienną w czasie. Wiele wskazuje na to, że poszerza-

nie zakresu uczuleń z monomolekularnych ku oligo- lub polimolekularnym (*molecular spreading*) zachodzi w fazie bezobjawowej klinicznie. Im liczniejsza jest grupa molekuł indukujących uczulenie, tym większe prawdopodobieństwo wystąpienia objawów klinicznych alergii [38, 39]. Niezależnie od liczby uczuleń, ich profile są bardzo różnorodne. U poszczególnych pacjentów występują sIgE wobec różnych alergenów, głównych i mniejszych. Teoretycznie w ślad za Tripodi i wsp., którzy przeanalizowali 176 profili alergicznych pacjentów uczulonych na *Phleum pratense*, można oczekiwać kilku scenariuszy: pełnej zgodności lub pełnej niezgodności profilu osobniczego uczulenia ze składem szczepionki, uczulenia na molekuły nieobecne w szczepionce lub braku uczulenia na molekuły obecne w szczepionce [40].

W zakresie heterogenności uczuleń oczywiste jest pytanie o ich związek ze skutecznością immunoterapii. Czy immunoterapia będzie równie skuteczna u pacjentów z uczuleniem „wąskim”, np. Phl p 1, 5, jak i „szerokim”, np. Phl p 1, 5, 7, 12? Odpowiedzi na to pytanie szukali Horak i wsp., autorzy badania DBPC, w którym u 82 pacjentów z alergią na pyłki traw poddanych SLIT oceniano efekty leczenia przez prowokację w komorach alergicznych (*allergen challenge chamber* – ACC), przeprowadzoną przed SLIT, w trakcie i po terapii pyłkami traw [41]. Stwierdzono brak różnic w skuteczności SLIT pomiędzy grupami pacjentów z wąskim i szerokim panelem uczuleń. Ponadto nie wykazano uczuleń *de novo*, tj. poszerzenia profilu uczuleń osobniczych w przebiegu AIT. Potwierdzenie tych wyników przyniosło badanie Baron-Bodo i wsp., którzy stwierdzili, że efekty kliniczne SLIT pyłkami traw są niezależne od liczby cząsteczek powodujących uczulenie [42]. Skuteczność SLIT nie różniła się pomiędzy grupami uczulonych na 1–3 alergenów ( $n = 24$ ), 4–5 alergenów ( $n = 32$ ) i 6–8 alergenów ( $n = 26$ ). Ze względu na wyniki tych badań, bardzo wysoką skuteczność immunoterapii w alergii na pyłki traw i rzadkość profilu ograniczonego do Phl p 1 i/lub Phl p 5 korzyści z immunoterapii muszą odnosić też pacjenci uczuleni na pozostałe molekuły.

Innym modelem do dyskusji nad związkiem pomiędzy mnogością uczuleń przeciwko poszczególnym molekułom alergicznym a skutecznością AIT jest alergia na roztocza. Wyciąg roztoczy zawiera ponad 30 białek alergicznych, które dodatkowo mają właściwości proteolityczne i immunomodulacyjne. Profile uczulenia na roztocze są zwykle poliwalentne, a głównymi alergenami w wyciągu roztoczy o udowodnionym związku z manifestacjami oddechowymi alergii na roztocza są Der p 1, 2 i 23. Znaczenie kliniczne przypisuje się jednak również molekułom Der p 5, 7 i 21. U ok. 95% pacjentów z istotną klinicznie alergią wziewną na roztocze występuje uczulenie na Der p 1, Der p 2 lub obie molekuły, ale w większości przypadków towarzyszy im uczulenie na pozostałe molekuły. Częstość występowania

nia sIgE u osób z alergią na roztocze wynosi według różnych badań: dla Der p 23 60–80%, dla Der p 5 12–60%, dla Der p 7 41–44% i dla Der p 21 29–45% [43–46].

Dotychczas tylko w kilku pracach badano związek pomiędzy skutecznością AIT a profilem uczuleń molekularnych na roztocze. W dwóch retrospektywnych badaniach *post-hoc* wyniki analizy tego problemu były sprzeczne. Arrobarren i wsp. nie wykazali wpływu profilu uczuleń na skuteczność 3-letniego kursu AIT i efekty po 2 latach po jego zakończeniu na podstawie analizy wyników CRD (D p 1, 2, 10, 23) u 84 pacjentów [43]. Przeciwnie Chen i wsp. w badaniu z udziałem 28 pacjentów wykazali skuteczność SCIT tylko u uczulonych na Der p 1 i/lub 2 [44], natomiast u pacjentów uczulonych dodatkowo na co najmniej jedną molekułę (Der p 5, 7, 21 lub 23) nie stwierdzono skuteczności leczenia. W jedynym prospektywnym badaniu Rodrigeza-Domingueza i wsp. pacjenci z uczuleniem na Der p 1 i 2 osiągnęli lepsze wyniki SCIT niż pacjenci uczuleni dodatkowo na inne molekuly [45]. W tym ostatnim badaniu reaktywność immunologiczną, tj. odpowiedź sIgG (sIgG1, sIgG2, sIgG4), wykazano przeciwko molekułom Der p 1, 2 i 23 (w mniejszym stopniu), ale nie Der p 5, 7 i 21. Podsumowując – nie wiadomo, czy szeroki zakres uczuleń wpływa na wyniki AIT szczepionką roztoczą. Zagadnienie to wymaga większej liczby kontrolowanych badań w liczniejszych populacjach pacjentów.

#### IMPLIKACJE DLA LEKARZA PRAKTYKA

- Brakuje jednoznacznych danych o różnicach skuteczności AIT u pacjentów z „wąskimi”, „pośrednimi” oraz „szerokimi” profilami uczuleń molekularnych na roztocze.
- Dotychczasowe badania DBPC (SCIT, SLIT), których wyniki wykazały skuteczność szczepionek roztoczowych i były podstawą do ich rekomendacji w immunoterapii u pacjentów z ANN lub astmą, były przeprowadzane w nioselekcjonowanych grupach pacjentów. Uwzględniając dominację w tej grupie uczuleń oligo- i poliwalentnych na alergeny roztoczy, można sądzić, że skuteczność szczepionek dotyczy pacjentów z heterogennymi profilami molekularnymi.
- W świetle dostępnych obecnie danych przydatność oceny szerokiego profilu uczuleń molekularnych przed kwalifikacją do immunoterapii na roztocze jest ograniczona.

#### CZY WYSTĘPOWANIE SIGE PRZECIWKO DER P 23 ROKUJE NIEPOWODZENIE IMMUNOTERAPII?

W populacji polskich pacjentów z alergią na roztocze częstość uczulenia na Der p 23 jest zbliżona do często-

ści uczulenia na Der p 1 i Der p 2 (odpowiednio 70,9%, 72,1% i 81,7%), zależy od wieku oraz od manifestacji klinicznej alergii. Kowal i wsp. wykazali, że uczulenie na Der p 23 występuje częściej u pacjentów z astmą niż ANN (odpowiednio 82,4% i 60,7%) [46]. U pacjentów z astmą stwierdzono związek uczulenia na Der p 23 z intensywnością zapalenia alergicznego i wynikami spirometrii (odwrotnie proporcjonalny do wartości FEV<sub>1</sub>) [46]. Dane te świadczą, że uczulenie na Der p 23 jest bardzo częste i istotne klinicznie u pacjentów z alergią na roztocze, szczególnie z astmą.

Ocena związku pomiędzy występowaniem uczulenia na Der p 23 a skutecznością immunoterapii była podejmowana we wspomnianym już badaniu Rodrigeza-Domingueza i wsp. Autorzy wykazali u pacjentów z różnymi profilami uczuleń na roztocze ( $n = 24$ ) poddanych SCIT typową odpowiedź immunologiczną na Der p 23, czyli wzrost sIgG4. Ocenili ponadto, że efekt kliniczny SCIT był w tym badaniu gorszy u uczulonych na większą liczbę molekuł, a wśród nich u uczulonych na Der p 23, niż u pacjentów uczulonych wyłącznie na Der p 1 i 2 [45]. Nie oznaczało to jednak braku skuteczności szczepień w grupie osób uczulonych na wiele molekuł, w tym Der p 23, ale mniejszą poprawę wskaźników klinicznych.

Brak związku uczulenia na Der p 23 z efektami SLIT w astmie stwierdzono w badaniu Virchova i wsp. Skuteczność SLIT w astmie oceniana jako czas do wystąpienia pierwszego zaostrzenia astmy nie różniła się w grupie pacjentów Der p 23 (+) i Der p 23 (–) [26].

#### IMPLIKACJE DLA LEKARZA PRAKTYKA

- Dotychczas nie ma jednoznacznych danych potwierdzających pogląd, że występowanie w profilu uczuleń sIgE przeciwko Der p 23 wpływa korzystnie lub niekorzystnie na rokowanie powodzenia AIT.
- Pacjenci z alergią na roztocze uczuleni obok Der p 1 i/lub Der p 2 również na Der p 23 mogą być kandydatami do AIT szczepionką roztoczą.
- Pacjenci z alergią na roztocze i uczuleniem monowalentnym na Der p 23 mogą nie odnieść korzyści z immunoterapii, gdy zawartość tego alergenu w szczepionce będzie niedostateczna. Szczepionki roztoczowe nie są rutynowo sprawdzane pod kątem zawartości Der p 23. Problem ten nie dotyczy wyłącznie Der p 23, ale każdego innego istotnego klinicznie alergenu.

#### CZAS TRWANIA IMMUNOTERAPII A JEJ SKUTECZNOŚĆ

Celem immunoterapii jest osiągnięcie wieloletniej poprawy klinicznej definiowanej jako skuteczność długoterminowa. Wprawdzie efekty kliniczne SIT obserwuje się

już po roku (lub pierwszym sezonie jak w SLIT metodą okołosezonową), a tym bardziej po 2 latach (lub sezonach) szczepień, jednak są one krótkotrwałe i nie gwarantują utrzymania się po przerwaniu AIT. Dotychczas przekonanie o słuszności tego twierdzenia było oparte na wynikach badań DBPC, które dowodziły długoterminowej skuteczności immunoterapii, gdy była nieprzerwanie kontynuowana przez 3 lata [47, 48]. Ostatnio opublikowane badanie GRASS (*Gauging Responses in Allergic Rhinitis to SCIT versus SLIT*) potwierdza słuszność tych zaleceń. Projekt badania zakładał porównanie efektów immunologicznych i klinicznych SCIT i SLIT prowadzonych równolegle w dwóch grupach pacjentów z alergią na pyłki traw [49]. Po 2 latach leczenie przerwano, gdyż stwierdzono skuteczność obu metod vs placebo. Jednak 12-miesięczna przerwa w leczeniu, założona protokołem, spowodowała utratę efektów klinicznych i nawrót objawów alergii. Poprawie klinicznej w ciągu 2 lat leczenia towarzyszyły zmniejszenie liczby specyficznych alergenowo limfocytów Th2 o fenotypie CRTH2(+)CCR4(+)/CD27(-)CD4(+) oraz redukcja w wydzielinie z nosa cytokin Th2: IL-4, IL-5, and IL-13 (po prowokacji alergenem). Po przerwaniu immunoterapii oba wskaźniki immunologiczne wzrosły w ciągu roku, czemu towarzyszyło pogorszenie objawów klinicznych. Porażkę kliniczną można odnieść do ponownego pojawienia się specyficznych antygenowo komórek Th2.

Trwająca pandemia, która w wielu przypadkach zaburzyła ciągłość procesu immunoterapii, postawiła lekarzy przed wieloma problemami, na które nie znajdujemy odpowiedzi w badaniach DBPC. Jak przerwa w immunoterapii wpływa na czas jej trwania? Wyniki badania GRASS sugerują, że przerwa w leczeniu trwająca 12 miesięcy wymaga rozpoczęcia ponownie pełnego, co najmniej 3-letniego cyklu AIT. Wydaje się też słuszne, aby w wypadku kilkumiesięcznej przerwy pomiędzy dawkami szczepionki przedłużyć 3-letni kurs AIT o czas, w którym nie prowadzono leczenia. Co jednak oznacza kilka miesięcy? Opierając się na modelu immunoterapii jadem owadów, maksymalne okresy przerwy w serii podtrzymującej, które mają się odbijać negatywnie na skuteczności kursu leczenia, wynoszą nawet 3–6 miesięcy. Aby zminimalizować straty wynikające z przerw w immunoterapii, można rozważyć zmianę drogi jej podania. Terapia drogą podjęzykową z tym samym alergenem może zapewnić ciągłość leczenia, ponieważ jej prowadzenie i monitorowanie może odbywać się zdalnie.

Przy okazji tej analizy należy zwrócić uwagę nie tylko na wspólny dla różnych typów szczepionek czas prowadzenia immunoterapii (3–5 lat lub sezonów), lecz także na konieczność stosowania jej zgodnie z zalecanym protokołem. Szczepionki alergenowe zarówno podskórne, jak i podjęzykowe różnią się dawkami oraz protokołem stosowania.

Zalecenia dotyczące dawkowania i schematu podawania szczepionek są oparte na wynikach badań klinicznych, które dowodziły ich skuteczności. Dla osiągnięcia długoterminowych efektów immunoterapii ważne jest stosowanie poszczególnych szczepionek w zalecanych dawkach i schematach, udokumentowanych dla nich jako skuteczne.

#### IMPLIKACJE DLA LEKARZA PRAKTYKA

- Immunoterapia alergenowa powinna być prowadzona regularnie przez co najmniej 3 lata. Dopuszczalne odstępstwa pomiędzy kolejnymi dawkami określone w charakterystyce produktu leczniczego powinny być przestrzegane. Nie ma danych, jak długa (3–6 miesięcy?) może być przerwa pomiędzy kolejnymi dawkami fazy podtrzymującej, która nie zaburzy i nie odbije się niekorzystnie na procesach immunologicznych budowania tolerancji na alergen podawany w szczepionce.
- Przerwa w leczeniu trwająca 12 miesięcy skłania do rozpoczęcia pełnego, co najmniej 3-letniego cyklu AIT.
- Zgodnie z wytycznymi immunoterapia powinna być kontynuowana podczas pandemii, a optymalnym ze względów epidemiologicznych sposobem jej prowadzenia jest droga podjęzykowa. O ostatecznym wyborze drogi AIT decydują obok względów epidemiologicznych preferencje pacjenta.

#### AKCEPTACJA LECZENIA PRZEZ PACJENTA PODSTAWĄ POWODZENIA IMMUNOTERAPII ALERGENOWEJ

Proces leczenia wymaga współpracy. Eliminując wszystkie możliwości niepowodzenia terapii po stronie lekarza, należy wziąć pod uwagę niepowodzenie leczenia z winy pacjenta. Aby zapewnić sukces immunoterapii, wskazane jest przestrzeganie podstawowych zasad dotyczących każdego typu leczenia, przedstawionych poniżej.

- Pacjent powinien być szczegółowo poinformowany o celu, zasadach, sposobie i czasie trwania immunoterapii i zaakceptować proponowany plan leczenia.
- Należy się upewnić w efekcie edukacji, czy cel, zasady i sposób leczenia zostały właściwie zrozumiane przez pacjenta.
- W wyborze metody immunoterapii konieczne jest uwzględnienie preferencji, potrzeb i możliwości pacjenta i upewnienie się, czy wybrana strategia leczenia rzeczywiście mu odpowiada.
- Należy regularnie sprawdzać poprawność terapii.
- Trzeba podkreślić współodpowiedzialność pacjenta za efekty leczenia.

Pomimo rozwoju nauki i zdobywania nowych doświadczeń w praktyce immunoterapii wiele problemów

istotnych w codziennej praktyce lekarza alergologa nie znajduje rozwiązania. Nadal musimy poszukiwać rozstrzygnięć w wynikach badań opartych na EBM i rekomendacjach towarzystw naukowych. Tymczasem zastanówmy się nad prawidłowością własnych działań w myśl sentencji Bertolta Brechta: „Inteligencja nie polega na tym, że błędów się nie robi, lecz na tym, że szybko się je naprawia”.

## KONFLIKT INTERESÓW

Autorka nie zgłasza konfliktu interesów.

## PIŚMIENNICTWO

- Burks AW, Calderon MA, Casale T, et al. Update on allergy immunotherapy: American Academy Of Allergy, Asthma & Immunology/European Academy of Allergy and Clinical Immunology/PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131: 1288-96.
- Bousquet J, Lockey R, Malling HJ. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. A WHO position paper. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 558-62.
- Roberts G, Pfaar O, Akdis CA, et al. EAACI guidelines on allergen immunotherapy: allergic rhinoconjunctivitis. *Allergy* 2018; 73: 765-98.
- Wilson DW, Nouri-Aria KT, Walker SM, et al. Grass pollen immunotherapy: symptomatic improvement correlates with reductions in eosinophils and IL-5 mRNA expression in the nasal mucosa during the pollen season. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 971-6.
- Tulic MK, Fiset PO, Christodoulouopoulos P, et al. Amb a 1-immunostimulatory oligodeoxynucleotide conjugate immunotherapy decreases the nasal inflammatory response *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 235-41.
- Palomares O, Akdis M, Martin Fontecha M, Akdis CA. Mechanisms of immune regulation in allergic diseases: the role of regulatory T and B cells. *Immunol Rev* 2017; 278: 219-36.
- Głobińska A, Boonpiyathad T, Satitsuksano P, et al. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy: diverse mechanisms of immune tolerance to allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2018; 121: 306-12.
- Zissler UM, Jakwerth CA, Guerth FM, et al. Early IL-10 producing B-cells and coinciding Th/Tr17 shifts during three year grass-pollen AIT. *EBioMedicine* 2018; 36: 475-88.
- Mitsias DI, Xepapadaki P, Makris M, Papadopoulos NG. Immunotherapy in allergic diseases – improved understanding and innovation for enhanced effectiveness. *Curr Opin Immunol* 2020; 66: 1-8.
- Shamji MH, Durham SR. Mechanisms of allergen immunotherapy for inhaled allergens and predictive biomarkers. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 140: 1485-98.
- Fan DC, Wang XD, Wang CS, et al. Suppression of immunotherapy on group 2 innate lymphoid cells in allergic rhinitis. *Chin Med J* 2016; 129: 2824-8.
- Araya M, Steveling E, Scadding GW, et al. Seasonal increases in peripheral innate lymphoid type 2 cells are inhibited by subcutaneous grass pollen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134: 1193-5.
- Tanaka Y, Nagashima H, Bando K, et al. Oral CD103(-)CD11b(+) classical dendritic cells present sublingual antigen and induce Foxp3(+) regulatory T cells in draining lymph nodes. *Mucosal Immunol* 2017; 10: 79-90.
- Shamji MH, Francis JN, Wurtzen PA, et al. Cell-free detection of allergen-IgE cross-linking with immobilized phase CD23: inhibition by blocking antibody responses after immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132: 1003-5.
- Gleich GJ, Zimmermann EM, Henderson LL, Yunginger JW. Effect of immunotherapy on immunoglobulin E and immunoglobulin G antibodies to ragweed antigens: a six-year prospective study. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 70: 261-71.
- Scadding GW, Calderon MA, Bellido V, et al. Optimisation of grass pollen nasal allergen challenge for assessment of clinical and immunological outcomes. *J Immunol Methods* 2012; 384: 25-32.
- Francis JN, James LK, Paraskevopoulos G, et al. Grass pollen immunotherapy: IL-10 induction and suppression of late responses precedes IgG4 inhibitory antibody activity. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1120-5.
- Shamji MH, Durham SR. Mechanisms of immunotherapy to aeroallergens. *Clin Exp Allergy* 2011; 41: 1235-46.
- Shamji MH, Ljorring C, Francis JN, et al. Functional rather than immunoreactive levels of IgG4 correlate closely with clinical response to grass pollen immunotherapy. *Allergy* 2012; 67: 217-26.
- van Neerven RJ, Wikborg T, Lund G, et al. Blocking antibodies induced by specific allergy vaccination prevent the activation of CD41T cells by inhibiting serum-IgE-facilitated allergen presentation. *J Immunol* 1999; 163: 2944-52.
- Wurtzen PA, Lund G, Lund K, et al. A double-blind placebo-controlled birch allergy vaccination study II: correlation between inhibition of IgE binding, histamine release and facilitated allergen presentation. *Clin Exp Allergy* 2008; 38: 1290-301.
- James LK, Shamji MH, Walker SM, et al. Long-term tolerance after allergen immunotherapy is accompanied by selective persistence of blocking antibodies. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 509-16.
- Hoof I, Schulten V, Layhadi J, et al. Allergen-specific IgG+ memory B cells are temporally linked to IgE memory responses. *J Allergy Clin Immunol* 2020; 146: 180-91.
- Agache I, Lau S, Akdis CA, et al. EAACI Guidelines on Allergen Immunotherapy: house dust mite-driven allergic asthma. *Allergy* 2019; 74: 855-73.
- Davila I, Dominguez-Ortega J, Navarro-Pulido A, et al. Consensus document on dog and cat allergy. *Allergy* 2018; 73: 1206-22.
- Virchow JC, Backer V, Kuna P, et al. Efficacy of a house dust mite sublingual allergen immunotherapy tablet in adults with allergic asthma: a randomized clinical trial. *JAMA* 2016; 315: 1715-25.
- Wahn U, Bachert C, Heinrich J, et al. Real-world benefits of allergen immunotherapy for birch pollen-associated allergic rhinitis and asthma. *Allergy* 2019; 74: 594-604.
- Jutel M, Bruggenjurgen B, Richter H, Vogelberg C. Real-world evidence of subcutaneous allergoid immunotherapy in house dust mite-induced allergic rhinitis and asthma. *Allergy* 2020; 75: 2050-8.
- Bousquet J, Khaltayev N, Cruz AA, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy* 2008; 63: 8-160.
- <https://ginasthma.org/gina-reports/> dostęp z dnia 6.12.2020.
- Aaron SD, Vandemheen KL, FitzGerald JM, et al. Reevaluation of diagnosis in adults with physician-diagnosed asthma. *JAMA* 2017; 317: 269-79.
- Larenas-Linnemann D, Dinger H, Shah-Hosseini K, et al. Over diagnosis of persistent allergic rhinitis in perennial allergic rhinitis



- patients: a nationwide study in Mexico. *Am J Rhinol Allergy* 2013; 27: 495-501.
33. Meng Y, Lou H, Wang Y, et al. Endotypes of chronic rhinitis: a cluster analysis study. *Allergy* 2019; 74: 720-30.
  34. Knudsen TB, Thomsen SF, Nolte H, Backer V. A population-based clinical study of allergic and non-allergic asthma. *J Asthma* 2009; 46: 91-4.
  35. Pearce N, Pekkanen J, Beasley R. How much asthma is really attributable to atopy? *Thorax* 1999; 54: 268-72.
  36. Tran T, Zeiger R, Peters S, et al. Overlap of atopic, eosinophilic, and Th2-high asthma phenotypes in a general population with current asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2016; 116: 37-42.
  37. Stringari G, Tripodi S, Caffarelli C, et al. The effect of component-resolved diagnosis on specific immunotherapy prescription in children with hay fever. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134: 75-81.
  38. Hatzler L, Panetta V, Lau S, et al. Molecular spreading and predictive value of preclinical IgE response to *Phleum pratense* in children with hay fever. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 894-901.
  39. Ballardini N, Bergstrom A, Wahlgren C, et al. IgE antibodies in relation to prevalence and multimorbidity of eczema, asthma, and rhinitis from birth to adolescence. *Allergy* 2016; 71: 342-9.
  40. Darsow U, Brockow K, Pfab F, et al. Heterogeneity of molecular sensitization profiles in grass pollen allergy – implications for immunotherapy? *Clin Exp Allergy* 2014; 44: 778-86.
  41. Horak F, Ziegelmayer P, Ziegelmayer R, et al. Early onset of action of a 5-grass-pollen 300-IR sublingual immunotherapy tablet evaluated in an allergen challenge chamber. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124: 471-7.
  42. Baron-Bodo V, Horiot S, Lautrette A. Heterogeneity of antibody responses among clinical responders during grass pollen sublingual immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 2013; 43: 1362-73.
  43. Arroabarren E, Echechipia S, Galbete A, et al. Association between component-resolved diagnosis of house dust mite allergy and efficacy and safety of specific immunotherapy. *Investig Allergol Clin Immunol* 2019; 29: 164-7.
  44. Chen KW, Ziegelmayer P, Ziegelmayer R, et al. Selection of house dust mite-allergic patients by molecular diagnosis may enhance success of specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2019; 143: 1248-52.
  45. Rodríguez-Domínguez A, Berings M, Rohrbach A, et al. Molecular profiling of allergen-specific antibody responses may enhance success of specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2020; 146: 1097-108.
  46. Kowal K, Pampuch A, Siergiejko G, et al. Sensitization to major *Dermatophagoides pteronyssinus* allergens in house dust mite allergic patients from North Eastern Poland developing rhinitis or asthma. *Adv Med Sci* 2020; 65: 304-9.
  47. Durham SR, Walker SM, Varga EM, et al. Long-term clinical efficacy of grass-pollen immunotherapy. *N Engl J Med* 1999; 341: 468-75.
  48. Durham SR, Emminger W, Kapp A, et al. SQ-standardized sublingual grass immunotherapy: confirmation of disease modification 2 years after 3 years of treatment in a randomized trial. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 717-25.
  49. Scadding GW, Calderon MA, Shamji MH, 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: 615-25.