

Mechanizmy immunoterapii swoistej

The mechanisms of specific immunotherapy

MAREK JUTEL, JÓZEF MAŁOLEPSZY

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Alergologii Akademii Medycznej, ul. Traugutta 57, 50-417 Wrocław

W ostatnich latach dokonał się znaczny postęp w wyjaśnieniu mechanizmów swoistej immunoterapii. Stwierdzono, że może ona wpływać na swoistą odpowiedź immunologiczną u osób uczulonych w sposób, który przywraca jej prawidłowe funkcjonowanie. Podstawową rolę w wytwarzaniu klinicznej tolerancji alergenów odgrywa modulacja funkcji swoistych alergenowo limfocytów T. Zmiana funkcjonalnego fenotypu swoistych limfocytów T, z dominującego typu Th2 w kierunku Th1, następuje poprzez indukowaną IL-10 anergię komórek z następującą reaktywacją pod wpływem cytokin obecnych w mikrośrodowisku komórkowym. Ponadto stosowane wysokie dawki alergenu mogą prowadzić do supresji swoistych limfocytów Th2 i dominacji komórek typu Th1. Ponieważ wydzielane przez poszczególne populacje limfocytów cytokiny odgrywają podstawową rolę w regulacji syntezy immunoglobulin oraz aktywacji komórek efektorowych, immunoterapia może na tej drodze hamować zarówno humoralny, jak i komórkowy komponent zapalenia alergicznego.

Alergia Astma Immunologia, 2001, 6(1), 7-11

Słowa kluczowe: immunoterapia swoista, mechanizmy, limfocyty Th1 i Th2, cytokiny, immunoglobuliny, skuteczność kliniczna

The mechanism of specific immunotherapy has been a subject of intense research and remarkable progress in recent years. It was found that immunotherapy may modify the specific immune response to restore its normal function in allergic patients. Functional modulation of allergen specific lymphocytes T is of essential role in evoking the clinical tolerance to allergens. The shift of specific cell T phenotype, from the dominant Th2 into Th1 type, is induced by IL-10 that brings about to cell anergy and subsequently, cell reactivation elicited by other cytokines. Moreover, large doses of an allergen may suppress specific Th2 lymphocytes and, therefore, favor Th1 dominance. Regarding that cytokines, released by respective lymphocyte populations, play essential role in the regulation of immunoglobulin synthesis and the activation of target cells, immunotherapy may decrease both humoral and cellular components of allergic inflammation.

Alergia Astma Immunologia, 2001, 6(1), 7-11

Key words: specific immunotherapy, lymphocytes Th1 and Th2, cytokines, immunoglobulins, clinical effectiveness

Liczne badania ostatnich lat wskazują, że SIT wpływa na swoistą odpowiedź immunologiczną w sposób, który przywraca jej prawidłowe funkcjonowanie, a w konsekwencji homeostazę organizmu. Obecnie wiadomo, że pojawienie się tolerancji alergenów podczas immunoterapii jest procesem złożonym, związanym z jednoczesnym lub sekwencyjnym uruchomieniem kilku mechanizmów.

Poznanie mechanizmów swoistej immunoterapii alergenowej (SIT) przyczynia się w znacznym stopniu do poprawy skuteczności tej formy leczenia dzięki lepszemu ustaleniu wskazań, udoskonaleniu schematów SIT oraz wprowadzeniu nowych szczepionek. Skuteczność swoistej immunoterapii w leczeniu alergicznego nieżytu nosa, astmy oskrzelowej oraz alergii na jad owadów żądających została dobrze udokumentowana [1-10]. Poznanie mechanizmów swoistej immunoterapii jest bardzo ważne z kilku powodów. Po pierwsze SIT stanowi bardzo dobry model do badania mechanizmów alergii. Ponadto, dotychczas ustalone wskazania do prowadzenia SIT, stosowane szczepionki oraz schematy ich podawania zostały wprowadzo-

ne w oparciu o przesłanki pragmatyczne. Wyjaśnienie, w jaki sposób SIT wywiera wpływ na układ immunologiczny pozwala na optymalizację tej formy leczenia, opracowanie nowych rodzajów szczepionek, oraz prowadzenie monitorowania skuteczności SIT. Monitorowanie SIT jest jednym z głównych i jak dotąd nierozwiązanych w zadowalającym stopniu problemów. Jest on szczególnie istotny podczas immunoterapii u osób uczulonych na jad owadów, u których kolejne uządlenie może stworzyć zagrożenie dla życia pacjenta. Ponadto potwierdzenie wpływu SIT na odpowiedź immunologiczną dostarcza ważnych dowodów na skuteczność i celowość stosowania tej formy leczenia.

Modulacja funkcji limfocytów T

Synteza przeciwciał IgE oraz eozynofilia są uzależnione od czynników uwalnianych przez aktywowane limfocyty pomocnicze typu Th2. Komórki te wydzielają interleukinę (IL)-4, która jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za regulację syntezy przeciwciał IgE oraz

Tabela I. Wpływ immunoterapii na syntezę cytokin

Alergen	Schemat SIT	Badane komórki	IL-4	IFN- γ	Autor	
jad pszczoły	rush	linie limf. T	↓	↑	Jutel i wsp.	[13]
jad pszczoły	rush	PBMC	↓	↑	Akoum i wsp.	[20]
jad pszczoły i osy	rush	PBMC	↓	↑	Bellinghausen i wsp.	[59]
jad pszczoły	rush	linie limf. T	↓		Akdis i wsp.	[23]
jad pszczoły	klasyczny	PBMC	↓	↑	McHugh i wsp.	[17]
jad pszczoły	klasyczny	linie limf. T	↓	↑	Kammerer i wsp.	[14]
roztocze i pyłki traw	klasyczny	linie limf. T	↓	bez zmiany	Secrist i wsp.	[15]
pyłki traw	klasyczny	PBMC	↓	↓ ns	Giannarini i wsp.	[60]
pyłki traw	klasyczny	klony limf. T	↓	bez zmiany	Ebner i wsp.	[25]
roztocze	klasyczny	PBMC	↓	↓	O'Brien i wsp.	[18]
roztocze i pyłki traw	klasyczny	linie limf. T	↓	↑	Benjaponpitak i wsp.	[26]

Tabela II. Ekspresja cytokin w narządach docelowych podczas swoistej immunoterapii

Varney, Hamid i wsp. [22]		Fireman i wsp. [58]		Lack i wsp. [16]
Th1	Th2	Th1	Th2	Th1
IFN- γ ↑	IL-4 ⇔	IFN- γ ↑	IL-4 ⇔	IFN- γ ↑
IL-2 ↑	IL-5 ⇔	IL-2 ↑	IL-1 ⇔	
IL-12 ↑			IL-6 ⇔	

IL-5, od której zależy dojrzewanie i aktywacja eozynofili [11,12]. Znaczna liczba prac pokazuje, że podczas SIT dochodzi do reorientacji typu aktywności swoistych limfocytów T od dominacji Th2 w kierunku Th1 [13-26]. Limfocyty Th1 odróżniają się od komórek typu Th2 zdolnością do wydzielania dużych ilości interferonu (IFN)- γ . Ponieważ synteza przeciwciał IgG4 przez limfocyty B jest zależna od stężenia IFN- γ , który także hamuje syntezę przeciwciał IgE, opisująca modulacja funkcji limfocytów T może stanowić podstawowy mechanizm, który prowadzi do przywrócenia prawidłowej odpowiedzi na alergeny u osób uczulonych. Jakkolwiek koncepcja ta znajduje obecnie po-

parcie w licznych pracach (tabela I,II), nie ma jasności na jakiej drodze dochodzi do zmiany typu aktywności swoistych limfocytów. Pod uwagę brane są różne możliwości, takie jak bezpośrednia zmiana funkcjonalnego fenotypu limfocytów lub klonalna delecja swoistych limfocytów typu Th2. W badaniach *in vitro* wykazano wzrost syntezy IFN- γ i supresję IL-4 przez swoiste alergenowo klony limfocytów T wraz ze wzrostem stężenia alergenu [27,28]. Efekt ten ma związek z nasileniem sygnału zależnego od TCR wraz ze wzrostem stężenia alergenu w mikrośrodowisku komórkowym.

Jednak najbardziej prawdopodobna wydaje się zmiana funkcjonalnego fenotypu limfocytów w dwóch etapach, które obejmują anergię swoistych limfocytów z następującą reaktywacją komórek o zmienionym funkcjonalnie fenotypie.

Wiele danych wskazuje na to, że SIT wywołuje anergię swoistych limfocytów T. Świadczy o tym zmniejszenie proliferacji limfocytów pod wpływem stymulacji swoistym alergenem (tabela III). Efekt ten nie jest związany z klonalną delecją swoistych limfocytów, ponieważ możliwe jest reaktywowanie limfocytów poprzez dodanie cytokin (IL-2, IL-15) [23]. Ostatnio wykazano także, że

Tabela III. Wpływ immunoterapii na proliferację limfocytów

Alergen	Schemat SIT	Badane komórki	Proliferacja	Autor	
jad pszczoły	rush	PBMC	↓	Jutel i wsp.	[13]
jad pszczoły	rush	PBMC	↓	Akoum i wsp.	[20]
jad pszczoły i osy	rush	PBMC	↓	Bellinghausen i wsp.	[59]
jad pszczoły	rush	linie limf. T	↓	Akdis i wsp.	[23]
jad pszczoły	standard	PBMC	↓	McHugh i wsp.	[17]
jad pszczoły	standard	linie limf. T	↓	Kammerer i wsp.	[14]
roztocze i pyłki traw	standard	linie limf. T	↓	Secrist i wsp.	[15]
pyłki traw	standard	PBMC	↓	Giannarini i wsp.	[60]
pyłki traw	standard	Klony limf. T	↓	Ebner i wsp.	[25]

prawdopodobny mechanizm tego zjawiska jest związany ze zwiększoną syntezą IL-10 przez swoiste limfocyty T, a w dalszym etapie także przez limfocyty B i monocyty [24,31]. Z eksperymentów *in vitro* wiadomo, że limfocyty CD4+ pod wpływem dużych dawek immunogennych peptydów, będących fragmentami cząstek alergenów, tracą zdolność do proliferacji i stymulacji limfocytów B [29]. Komórki te pod wpływem stymulacji nie wydzielają IL-2, IL-4 i IL-5, natomiast zachowują zdolność do syntezy IFN- γ . Stwierdzono także, że immunoterapia z zastosowaniem peptydów, będących immunogennymi fragmentami fosfolipazy A2, głównego alergenu jadu pszczoły powodowała supresję proliferacji limfocytów T oraz syntezy cytokin przez te komórki [28]. Ponadto potwierdzono skuteczność kliniczną tej formy leczenia. W drugim etapie, prowadzącym do zmiany funkcjonalnego fenotypu komórki zachodzi ich reaktywacja. W zależności od stężenia poszczególnych cytokin w mikrośrodowisku, komórki uzyskują albo fenotyp Th1 albo Th2. Wykazano, że w obecności IL-2 i IL-15 komórki uzyskują fenotyp Th1 natomiast IL-4 promuje fenotyp Th2 [23]. Sukces immunoterapii jest zatem uzależniony od syntezy IL-10 i indukcji przez nią anergii swoistych limfocytów T, a następnie stężenia poszczególnych cytokin w mikrośrodowisku komórkowym. Stąd skuteczność immunoterapii u osób uczulonych na wiele alergenów jest bardzo mała.

Wydzielana przez swoiste limfocyty T i B oraz monocyty IL-10 może również hamować syntezę IgE i nasilać syntezę IgG4 przez limfocyty B, a także hamować dojrzewanie i aktywność eozynofiliów, bazofilów i komórek tucznych.

Reaktywność narządów efektorowych

Stwierdzono, że skuteczna immunoterapia powoduje zwiększoną tolerancję na naturalną ekspozycję na swoiste alergeny aeropochodne. [32,33]. Ponadto wykazano, że SIT zmniejsza odczyny skórne, skurcz oskrzeli, objawy za strony błony śluzowej nosa i oczu po prowokacji alergenowej [4-8,33,34,53,54,56,57]. Całoroczna immunoterapia powoduje złagodzenie zarówno wczesnych, jak i późnych reakcji alergicznych po ekspozycji na alergen. Obecnie wiadomo, że opisywane efekty SIT są związane z jej wpływem na poszczególne poziomy odpowiedzi immunologicznej, a w szczególności na funkcje limfocytów T, syntezę immunoglobulin i reaktywność komórek efektorowych tj. bazofilów, komórek tucznych i eozynofiliów.

Synteza immunoglobulin

Obecność swoistych przeciwciał IgE w surowicy oraz na komórkach efektorowych w tkankach jest podstawową cechą atopii. Podczas SIT najczęściej obserwuje się

w początkowej fazie przejściowy wzrost stężenia swoistych przeciwciał IgE w surowicy, a następnie stopniowe obniżenie ich poziomu na przestrzeni miesięcy i lat [35-45].

Ponadto, u osób uczulonych na pyłki roślin wykazano, że SIT zapobiega wzrostowi poziomu przeciwciał IgE podczas sezonu pylenia [42,44]. Należy jednak podkreślić, że supresja syntezy przeciwciał IgE nie jest głównym mechanizmem tolerancji wytwarzanej podczas SIT, ponieważ pojawia się ona stosunkowo późno, w wielu przypadkach jest nieznaczna, a ponadto słabo koreluje z efektem klinicznym SIT [48].

W licznych pracach starano się udowodnić hipotezę, zakładającą, że synteza tzw. „przeciwciał blokujących” jest głównym mechanizmem SIT [39,40,42,45-48]. Badano syntezę subclassy przeciwciał IgG4, które miałyby wiązać alergen zanim ten zostanie rozpoznany przez przeciwciała IgE na powierzchni komórek efektorowych.

Obecnie wiadomo, że podczas SIT występuje zmiana w zakresie syntezy subclass przeciwciał IgG z IgG1 na IgG4. Jednak u większości osób poddanych SIT występuje słaba korelacja pomiędzy syntezą swoistych przeciwciał IgG a efektem klinicznym. Dotyczy to zwłaszcza SIT z alergenami aeropochodnymi. Nieco lepsze dane pochodzą od osób uczulonych na jad owadów, u których występuje dość dobra korelacja pomiędzy wzrostem syntezy przeciwciał IgG4 i tolerancją alergenu, zwłaszcza w początkowej fazie SIT [45,48].

Reaktywność komórek efektorowych

Wykazano, że SIT powoduje zmniejszenie aktywności komórek zapalnych oraz ich napływu do miejsc toczącego się zapalenia. Np. podczas SIT z alergenami pyłku brzozy stwierdzano obniżenie poziomów białka kationowego eozynofiliów (ECP) oraz czynników chemotaktycznych dla eozynofiliów i neutrofilów [49,50]. Stwierdzono także, że immunoterapia zapobiega sezonowemu wzrostowi aktywności eozynofiliów i wykazano korelację pomiędzy tym zjawiskiem a kliniczną poprawą stanu pacjentów [51]. Podczas immunoterapii zmniejsza się także uwalnianie mediatorów anafilaksji, takich jak histamina i sulfidoleukotrieny [57]. U dzieci z astmą poddanych immunoterapii ekstraktem roztoczy obserwowano obniżenie stężenia endotheliny-1, czynnika o właściwościach prozapalnych i wywołującego skurcz oskrzeli [52]. W badaniach biopsyjnych obserwowano także zmniejszenie liczby komórek tucznych i bazofilów w błonie śluzowej nosa i oskrzeli [56]. Na tej drodze immunoterapia przyczynia się do ograniczenia zapalenia alergicznego. W kilku pracach obserwowano także zmniejszenie uwalniania histaminy i sulfidoleukotrienów z bazofilów u osób poddanych immunoterapii jadem owadów żądających [53,55].

Podsumowanie

Jakkolwiek mechanizmy SIT nie zostały dotychczas całkowicie wyjaśnione dysponujemy obecnie wystarczającymi danymi uzasadniającymi stwierdzenie, że SIT wywiera istotny wpływ na funkcjonowanie układu immunologicznego. W szczególności modulacja funkcji swoistych limfocytów T odgrywa decydującą rolę w skutecznej SIT. Zmiana funkcjonalnego fenotypu swoistych limfocytów

T z dominującego typu Th2 w kierunku Th1 może zachodzić bezpośrednio lub poprzez etap pośredni w postaci anergii komórek i następującej po niej reaktywacji. W konsekwencji funkcjonalna modulacja limfocytów T prowadzi do zmian w syntezie immunoglobulin i obniżonej aktywności komórek efektorowych. Ostatecznym efektem tych zjawisk jest ograniczenie zapalenia alergicznego i kliniczna poprawa stanu pacjentów.

Piśmiennictwo

- Bousquet J, Michael EB. Specific immunotherapy in asthma: is it effective? *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94: 1-11.
- Malling HJ. Immunotherapy as an effective tool in allergy treatment. *Allergy* 1998; 53: 461-472.
- Bonifazi F, Bilo MB. Efficacy of specific immunotherapy in allergic asthma: myth or reality. *Allergy* 1997; 52: 698-710.
- Bousquet J, Demoly P. Specific immunotherapy for allergic rhinitis in children. *Allergy Clin Immunol Inter* 1996; 8: 145-150.
- Abramson MJ, Puv RM, Weiner JM. Allergen immunotherapy effective in asthma? A meta-analysis of randomised control trials. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 969-974.
- Pienkowski MM, Norman PS, Lichtenstein LM. Suppression of late-phase skin reactions by immunotherapy with ragweed extract. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76: 729-734.
- Parker WA, Whisman BA, Apaliski SJ, Reid MJ. The relationship between cutaneous responses and specific antibody responses with outcome of immunotherapy for seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84: 667-677.
- Van Bever HP, Stevens WJ. Suppression of the late asthmatic reaction by hyposensitization in asthmatic children allergic to house dust mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*). *Clin Exp Allergy* 1989; 19: 399-404.
- Nish WA, Charelesworth EN, Dawis TL, Whisman BA, Valtier S, Charlesworth MG i wsp. The effect of immunotherapy on the cutaneous late phase response to antigen. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 52: 472-482.
- Dokic A, Nethe A, Kleine-Tebbe J, Kunkel G, Baumgarten CR. Mediator release is altered in immunotherapy-treated patients: a 4-year study. *Allergy* 1996; 51: 796-803.
- Kapsenberg ML, Wierenga EA, Bos JD, Jansen HM. Functional subsets of allergen reactive human CD4+ T-cells. *Immunol Today* 1991; 12: 392-395.
- Romagnani S. Human Th1 and Th2: doubt no more. *Immunol Today* 1991; 12: 256-257.
- Jutel M, Skrbic D, Urwyler A i wsp. Bee venom immunotherapy results in decrease of IL-4 and IL-5 and increase of IFN- γ secretion in specific allergen stimulated T-cell cultures. *Immunol* 1995; 154: 4187-4194.
- Kammerer R, Chvatchko Y, Kettner A, Dufour N, Corradin G, Spertini F. Modulation of T-cell responses to phospholipase A2 and phospholipase A2-derived peptides by conventional bee venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 96-103.
- Secrist H, DeKruyff RH, Umetsu DT. Interleukin 4 production by CD4+ T cells from allergic individuals is modulated by antigen concentration and antigen-presenting cell type. *J Exp Med* 1995; 181: 1081-1089.
- Lack G, Nelson HS, Amran D, Oshiba A, Jung T, Bradley KL, Giclas PC, Gelfand EW. Rush immunotherapy results in allergen-specific alternation in lymphocyte function and interferon-gamma production in CD4+ T cells. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 530-538.
- McHugh SM, Deighton J, Steward AG, Lachman PJ, Ewan PW. Bee venom immunotherapy induces a shift in cytokine responses from Th2 to Th1 dominant pattern: comparison of rush and conventional immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 1995; 25: 828-838.
- O'Brien RM, Byron KA, Varigos GA, Thomas WR. House dust mite immunotherapy results in decrease in Der p 2-specific IFN-gamma and IL-4 expression by circulating T lymphocytes. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 46-51.
- Soderlund A, Gabrielsson S, Paulie S, Hammarstrom M-L, Rak S, Troye-Blomberg M. Allergen-induced cytokine profiles in type I allergic individuals before and after immunotherapy. *Immunol Lett* 1997; 57: 177-181.
- Akoum H, Tscicopulos A, Vorng H i wsp. Venom immunotherapy modulated interleukin-4 and interferon-gamma messenger RNA expression of peripheral T lymphocytes. *Immunology* 1996; 87: 593-598.
- Durham SR, Sun Ying, Varney VA, Jacobson MR, Sudderic RM, Mackay IS i wsp. Grass pollen immunotherapy inhibits allergen-induced infiltration of CD4+ T lymphocytes and eosinophils in the nasal mucosa and increases the number of cells expressing messenger RNA for interferon γ . *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 1356-1365.
- Varney VA, Hamid QA, Gaga M, Sun Ying, Jacobson M, Frew AJ i wsp. Influence of grass pollen immunotherapy on cellular infiltration and cytokine mRNA expression during allergen-induced late phase cutaneous responses. *J Clin Invest* 1993; 92: 644-651.
- Akdis CA, Akdis M., Blesken T, Wymann D, Alkan SS, Müller UR, Blaser K. Epitope-specific T-cell tolerance to phospholipase A2 in bee venom immunotherapy and recovery by IL-2 and IL-15 in vitro. *J Clin Invest* 1996; 98: 1676-1683.
- Akdis CA, Blesken T, Akdis M, Wuetrich B, Blaser K. Role of interleukin 10 in specific immunotherapy. *J Clin Invest* 1998; 102: 98-106.
- Ebner C, Siemann U, Bohle B, Willheim M, Wiedermann U, Schenk S. Immunological changes during specific immunotherapy of grass pollen allergy: reduced lymphoproliferative responses to allergen and shift from TH2 to TH1 in T-cell clones specific for Phl p 1, a major grass pollen allergen. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 981-985.
- Benjaponpitak S, Oro A, Maguire P, Marinkovich V, DeKruyff RH, Umetsu DT. The kinetics of change in cytokine production by CD4 T cells during conventional allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 468-475.
- Carballido JM, Faith A, Carballido-Perring, Blaser K. The intensity of T cell receptor engagement determines the cytokine pattern of human T helper cell. *Eur J Immunol* 1997; 27: 515-521.
- Secrist H, DeKruyff RH, Umetsu DT. Interleukin 4 production by CD4+ T cells from allergic individuals is modulated by antigen concentration and antigen-presenting cell type. *J Exp Med* 1995; 181: 1081-1089.

29. Hoyne G, Bourne T, Kirstensen N i wsp. From epitopes to peptides to immunotherapy. *Clin Immunol Immunopathol* 1996; 80: 23-30.
30. Muller UR, Akdis CA, Fricker M, Akdis M, Blesken T, Betens F, Blaser K. Successful immunotherapy with T cell epitope peptides of bee venom phospholipase A2 induces specific T cell anergy in patients allergic to bee venom. *J All Clin Immunol* 1998; 101: 747-754.
31. Jutel M, Akdis M, Malolepszy J, Casaulta C, Wrzyszczyk M, Blaser K, Akdis CA. IL-10 induced peripheral T cell tolerance during house dust mite specific immunotherapy. *Allergy* 2000; 55: 180.
32. Iliopoulos O, Proud D, Adkinson N i wsp. Effects of immunotherapy on early, late and rechallenge of nasal reaction to provocation with allergen. *J All Clin Immunol* 1991; 87: 855-866.
33. Malling HJ, Weeke B. Immunotherapy. Position papers. *Allergy* 1993; 48(suppl.): 22-24.
34. Ortolani C, Paterello EA, Incorvaia C i wsp. A double blind placebo controlled study of immunotherapy with an alginate-conjugated extract of *Parietaria judaica* in patients with *Parietaria* hay fever. *Allergy* 1994; 49: 13-21.
35. Skrbic D, Jutel M, Fishler H, Pitarch D, Müller UR. Ultrashort immunotherapy with hymenoptera venoms. *Allergologie* 1996; 19: 123-129.
36. Lichtenstein LM, Ishizaka K, Norman PS, Kagey-Sobotka A, Hill BM. IgE antibody measurements in ragweed hay fever. Relationship to clinical severity and the results of immunotherapy. *J Clin Invest* 1973; 52: 472-482.
37. Gleich GJ, Zimmerman BS, Henderson LL, Yunginger JW. Effects of immunotherapy on immunoglobulin E and immunoglobulin G antibodies to ragweed antigens: a six year prospective study. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 70: 261-271.
38. Djurup R. The subclass nature and clinical significance of the IgG antibody response in patients undergoing allergen specific immunotherapy. *Allergy* 1985; 40: 469-86.
39. Oehling A, Sanz ML, Garcia BE. Immunological Parameters in the Immunotherapy Follow-Up. *Int Arch Allergy Immunol* 1992; 99: 474-477.
40. Urbanek R, Kemeny DM, Richards D. Sub-class of IgE anti-bee venom antibody produced during bee venom immunotherapy and its relationship to long-term protection from bee stings and following termination of venom immunotherapy. *Clin Allergy* 1986; 16: 317-322.
41. Lofkvist T, Agrell B, Dreborg S, Svensson G. Effects of immunotherapy with a purified standardized allergen preparation of *Dermatophagoides farinae* in adults with perennial allergic rhinoconjunctivitis. *Allergy* 1994; 49: 100-107.
42. Devey ME, Wilson DV, Wheeler AW. The IgG subclass of antibodies to grass pollen allergen produced in hay fever patients during hyposensitization. *Clin Allergy* 1976; 6: 227-236.
43. Aalberse RC, van der Gaag R, van Leeuwen. Serologic aspects of IgG4 antibodies. 1. Prolonged immunisation results in an IgG-4 restricted responses. *J Immunol* 1983; 130: 722-726.
44. Visco V, Dolecek C, Denepoux S i wsp. Human IgG monoclonal antibodies that modulate the binding of specific IgE to birch pollen Bet v 1. *J Immunol* 1996; 157: 956-962.
45. Golden DB, Meyers DA, Kagey-Sobotka A, Valentine MD, Lichtenstein L. Clinical relevance of the venom-specific immunoglobulin G antibody level during immunotherapy. *J Allergy Clin Immunology* 1982; 69: 489-493.
46. Thurnheer U, Müller U, Stoller R, Lanner A, Hoigne R. Venom immunotherapy in Hymenoptera sting allergy. *Allergy* 1983; 38: 465-475.
47. Müller U, Helbling A, Bischof M. Predictive value of venom specific IgE, IgG and IgG subclass antibodies in patients on immunotherapy with honey bee venom. *Allergy* 1989; 44: 412-418.
48. Lichtenstein LM, Sobotka AK. Immunotherapy for insect sting allergy. *ACI News* 1989; 1/2: 39-42.
49. Rak S, Lowhagen O, Venge P. The effect of immunotherapy on bronchial hyperresponsiveness and eosinophil cationic protein in pollen-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 82: 470-480.
50. Rak S, Lowhagen O, Venge P. Immunotherapy abrogates the generation of eosinophil and neutrophil chemotactic activity during pollen season. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86: 706-713.
51. Hakansson L, Heinrich C, Rak S, Venge P. Priming of eosinophil adhesion in patients with birch pollen allergy during pollen season: effect of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 551-552.
52. Chen WY, Yu J, Wang JY. Decreased production of endothelin in asthmatic children after immunotherapy. *J Asthma* 1995; 32: 29-35.
53. Kowalski M, Jutel M. Mechanisms of specific immunotherapy of allergic diseases. *Allergy* 1998; 53: 485-492.
54. Creticos PS, Adkinson NF jr, Kagey-Sobotka A, Proud D, Meier HL, Naclerio RM i wsp. Nasal challenge with ragweed in hay fever patients: effects of immunotherapy. *J Clin Invest* 1985; 76: 2247-2253.
55. Jutel M, Müller UR, Fricker M, Rihs S, Pichler WJ, Dahinden C. Influence of bee venom immunotherapy on degranulation and leukotriene generation in human blood basophils. *Clinical and Experimental Allergy* 1996; 25: 1205-1210.
56. Furin MJ, Norman PS, Creticos PS i wsp. Immunotherapy decreases antigen-induced eosinophil cell migration into the nasal cavity. *J All Clin Immunol* 1991; 88: 27-32.
57. Iliopoulos O, Proud D, Adkinson N i wsp. Effects of immunotherapy on early, late and rechallenge of nasal reaction to provocation with allergen. *J All Clin Immunol* 1991; 87: 855-866.
58. Fireman P. Cytokines and allergic rhinitis. *Allergy Asthma Proc* 1996; 17: 175-178.
59. Bellinghausen I, Metz G, Enk AH, Christmann S, Knop J, Saloga J. Insect venom immunotherapy induces interleukin-10 production and a Th2-to-Th1 shift; and changes surface marker expression in venom-allergic subjects. *Eur J Immunol* 1997; 27: 1131-1139.
60. Giannarini L, Maggi E. Decrease of allergen-specific T cell response induced by local nasal immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 1997; 28: 404-412.