

## INMUNOTERAPIA ALERGENICA

### BASES INMUNOLOGICAS Y EFECTIVIDAD TERAPEUTICA

F. MONTOYA

#### INTRODUCCION

Desde 1966 se reconoce a la inmunoglobulina E (IgE) como la inmunoglobulina primariamente responsable de la *hipersensibilidad inmediata* (1, 2) o tipo I de la clasificación Gell y Coombes (3). Este anticuerpo se produce en los individuos alérgicos frente a una vasta gama de alergenicos. La IgE tiene una marcada citofilia por basófilos y mastocitos tisulares, a los cuales se une a través de su fragmento cristalizante (Fc) (4, 5). Estas células así sensibilizadas, al reaccionar con antígenos (alergenicos) bi o polivalentes se degranulan liberando diversos mediadores químicos, tales como la histamina, sustancia de reacción lenta de la anafilaxia (SRL-A), el factor agregante plaquetario (FAP), el factor quimiotáctico para eosinófilos de la anafilaxia (FQE-A), etc. (4, 6, 7). Estos factores son los responsables directos de la sintomatología característica de las alergias inmediatas (asma, rinitis, urticaria, etc), al interactuar con las células blanco. De ahí que una de las formas terapéuticas ensayadas en estas enfermedades consista en la administración de una variedad de sustancias que inhiban la liberación de estos mediadores o que bloqueen sus efectos farmacológicos (8). Claro está, que esta modalidad terapéutica es únicamente paliativa, ya que trata las manifestaciones de la enfermedad y no la enfermedad en sí misma. Un tratamiento alternativo es la *Inmunoterapia alérgica*, con o sin el uso simultáneo de drogas antialérgicas, que consiste en la ad-

ministración lenta y progresiva de aeroalergenicos específicos durante un período de meses o años, lográndose un incremento en la tolerancia a los mismos y una disminución en los síntomas y en la cantidad de drogas utilizadas (9).

El término *Hiposensibilización* lo consideramos sinónimo de inmunoterapia alérgica y no utilizaremos la palabra *Desensibilización*, ya que ésta implica la administración rápida y en suficiente cantidad del alergenico específico, para neutralizar la IgE correspondiente; este es el caso en pacientes con alergias a sueros equinos (antitetánico, antiofidico y antidiftérico), hormonas (insulina) o antibióticos (penicilina G).

#### HISTORIA

La inmunoterapia ha transcurrido por tres períodos de desarrollo.

**Dj a Y D f c X "** De mediados de 1800 a principios de 1900. Los trabajos de Wyman en 1835 y Blackley en 1873 establecieron que el polen era el responsable de la rinitis estacional. Dumbarton en 1903, pensando que los síntomas de la rinitis eran debidos a una toxina del polen, produjo antisueros para pólenes de gramíneas en equinos; estos antisueros se aplicaron sobre la mucosa nasal de enfermos; sin embargo, los resultados de esta *inmunización pasiva* fueron desalentadores. En 1909 Noon en Inglaterra, continuando las investigaciones de Dumbarton, inició un programa de *inmunización activa* para tratar rinitis inducida por pólenes de gramíneas. En 1911, Noon y Freeman demostraron los excelentes resultados de esta terapia y postularon que sus efectos se debían a una producción de antitoxinas. Este último concepto rápidamente fue modificado por los trabajos

---

Dr. Fernando Montoya Maya, Profesor Asociado, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

Solicitud de separatas al Dr. Montoya.

de Von Pircket, Portier, Richet y Vesredka, que finalmente propusieron que el proceso hiposensibilizante lentamente depletaba o neutralizaba los anticuerpos de la alergia (Reaginas o anticuerpos anafilácticos) (9).

**Segundo Período.** De principios a mitad del siglo veinte. Cuatro aspectos son de resaltar durante este período: 1. Mediante estudios clínicos se establece la efectividad y las dosis terapéuticas útiles, así como las enfermedades que responden a la inmunoterapia; 2. Se estandarizan los extractos alérgicos; 3. Se introduce la enseñanza universitaria de la alergia y se fundan centros para su investigación. Precisamente Praunitz y Kustner en 1921 demuestran el carácter transferible de la alergia y describen las características de ese *factor transferible*, que muchos años después denominaríamos inmunoglobulina E (IgE). 4. Se aclaran algunos de los cambios inmunológicos que se presentan durante el transcurso de esta terapia.

En Estados Unidos Cooke y col. en 1935 y más adelante Hardley, descubren los *anticuerpos bloqueadores*, que se encuentran en altas concentraciones en el suero de los pacientes tratados mediante hiposensibilización. Sherman y colaboradores en 1941 demostraron que en pacientes con periodos largos de inmunoterapia, presentaban una disminución significativa de los niveles de reaginas (IgE) (9).

**Tercer Período.** De 1949 a nuestros días. Se inicia con la publicación por Brunn en 1949, del primer estudio controlado sobre la eficacia de la inmunoterapia en asma. Se desarrollan diversas técnicas *in vitro* para la objetivación de los fenómenos inmunológicos, como las técnicas de degranulación de basófilos, el descubrimiento y la caracterización de la IgE, su cuantificación y la determinación de IgE específicas (9).

#### CAMBIOS INMUNOLOGICOS DERIVADOS DE LA INMUNOTERAPIA ALERGENICA

Son varios los cambios inmunológicos que ocurren durante la inmunoterapia. Sin em-

bargo, desconocemos cuál o cuáles son los responsables directos de su efectividad. Se describen cambios en los niveles séricos de IgE total e IgE específica (10, 11). En el primer año de hiposensibilización generalmente estos niveles aumentan, para luego disminuir paulatinamente con el transcurso de los años. Hay reportes sin embargo, donde no se demuestran cambios significativos en seguimiento de hasta tres años. La disminución en los niveles de IgE específica obedecerían a un fenómeno de inmunotolerancia por la destrucción o inhibición de clonas celulares específicas, o quizás a la generación de células supresoras específicas para el alérgeno que se está administrando. Este último fenómeno no se ha logrado demostrar hasta el presente en el humano. Se describen cambios en la reactividad cutánea luego de la inmunoterapia a diferentes alérgenos, que quizás impliquen la disminución de IgE específica cutánea sensibilizante de células cebadas de la dermis (II). Durante el curso de un año de terapia hiposensibilizante para pólenes se ha observado una importante disminución de la sensibilidad cutánea en un grupo de pacientes sensibles (40%), mientras que prácticamente no fue observada en los alérgicos al polvo (6.8%) y en escaso porcentaje en los sensibles a hongos ambientales (17%). Este hecho no parece tener relación con el beneficio clínico derivado del tratamiento. Un cambio humoral que casi invariablemente se presenta es el incremento en los niveles séricos de IgG específica para el alérgeno administrado. Para el primer año de tratamiento hay aumentos significativos que se hacen mayores en los años subsiguientes de terapia. Esta inmunoglobulina constituye los denominados *Anticuerpos bloqueadores*, que se han aceptado como el principal mecanismo de acción de la inmunoterapia alérgica, pero que no siempre están presentes a pesar de que se demuestre mejoría clínica (9,12).

Al parecer cambios humorales también ocurrirían a nivel de las mucosas o tejidos afectados, consistentes en la disminución de la IgE específica e incrementos en la respectiva IgA secretoria, luego de la llegada a estos sitios de alérgenos que no fueron secuestrados

a nivel de los ganglios regionales o a nivel esplénico. Estas modificaciones locales se lograrían más adecuadamente luego de la administración tópica de los alérgenos específicos (*inmunoterapia local*) (13). Además de los cambios humorales señalados se observan cambios celulares. Los índices de *Linfoblastotransformación* alérgeno específico disminuyen en el transcurso del primer año de tratamiento, así como los índices de reactividad basofílica (disminución en la liberación de mediadores químicos) (14, 15).

Aunque como consecuencia del tratamiento hiposensibilizante se presentan los cambios inmunológicos descritos no existe una hipótesis absolutamente congruente con todos los fenómenos observados, que explique la esencia del mecanismo de la inmunoterapia. Este no debe ser necesariamente único y la situación clínica subsiguiente al tratamiento podría deberse a factores diversos. Por regla general, no se ha observado paralelismo entre las variaciones inmunológicas ocurridas y el grado de beneficio clínico obtenido. Este es el mayor argumento a favor de la intervención de mecanismos diversos en la consecución del resultado terapéutico.

#### ESTUDIOS DE EFECTIVIDAD CLÍNICA

Después de muchos años de uso empírico, la eficacia de la inmunoterapia ha sido cuestionada y la necesidad de una evaluación científica sólida está indicada. Varios estudios controlados sobre la eficacia de la inmunoterapia han sido realizados; sin embargo, son numerosas las dificultades con que se tropiezan estos estudios, no sólo por la cronicidad de las enfermedades sino por el sinnúmero de variables puestas en juego, tales como geográficas, climatéricas, situacionales e individuales.

Hasta 1981 se lograron recopilar 45 estudios controlados (doble ciego) sobre efectividad de la inmunoterapia alérgica, realizados en Estados Unidos o Europa y sin que ningún trabajo se hubiera realizado en los países del tercer mundo y los pacientes, incluidos en las diferentes series, no han su-

perado en general la cifra de 200 individuos entre casos y controles.

**Asma extrínseca del adulto** (Tabla 1). Se han realizado 7 estudios doble ciego; en 5 de ellos se demostró efectividad terapéutica. No existen estudios controlados sobre efectividad contra ambrosia, hongos anemófilos e insectos caseros (emanaciones) en asma del adulto (9, 16-21).

**Asma extrínseca infantil** (Tabla 2). Se han realizado 7 estudios controlados, con efectividad clínica en 6 de ellos (22-28).

**Rinitis alérgica del adulto estacional o perenne** (Tabla 3). Se han publicado 21 estudios controlados, en 17 de ellos se evaluó efectividad a la ambrosia; en 12 de éstos se demostró eficacia. Los 4 estudios restantes evaluaron la efectividad a diversos alérgenos (polen de cedro, extractos acuosos o precipitados de mezclas de gramíneas y alérgenos múltiples) con resultados exitosos; sin embargo, en el caso de alérgenos múltiples, el éxito solo se obtuvo luego de tres años de hiposen-

Tabla 1. Estudios controlados sobre inmunoterapia alérgica en asma extrínseca del adulto

Estudios realizados	Años de publicación	Alérgenos usados	Años seguimiento	Efectividad Clínica	
				SI	NO
7	1949 A	Polvo Gramíneas Dermatophagoides Gato	1-3	1	1
				1	
	2			1	
	1				
TOTAL 7				5	2

Tabla 2. Estudios controlados sobre inmunoterapia alérgica en asma extrínseca infantil

Estudios realizados	Años de publicación	Alérgenos usados	Años de seguimiento	Efectividad Clínica	
				SI	NO
7	1957 A	Ambrosia Múltiples Polvo Dermatophagoides	1-14	1	
				3	
	1				
	1			1	
TOTAL 7				6	1

sibilización. No existen estudios controlados sobre efectividad del polvo y/o dermatophagoides, insectos caseros, epitelios de animales u hongos anemófilos en la rinitis alérgica del adulto.

Tabla 3. Estudios controlados sobre inmunoterapia alérgica en rinitis alérgica del adulto

Estudios realizados	Años de publicación	Alergenos usados	Años seguimiento	Efectividad Clínica	
				SI	NO
17	1960-1978	Ambrosia	1-6	12	5
4	1954-1976	Gramíneas Polen de cedro Mezclas varias	1-3	2 1 1	—
TOTAL 21				16	5

Tabla 4. Estudios controlados sobre inmunoterapia alérgica en rinitis alérgica infantil

Estudios Realizados	Años de Publicación	Alergenos usados	Años seguimiento	Efectividad Clínica	
				SI	NO
3	1957 A 1969	Ambrosia	1-5	2	1
TOTAL 3				2	1

Tabla 5. Estudios controlados sobre inmunoterapia parenteral alérgica en diferentes enfermedades alérgicas

Enfermedad	Estudios Realizados	Alergenos Ensayados	Efectividad %
Asma extrínseca	14	Polvo y/o Acaros del polvo	78
Rinitis alérgica	24	Pólenes (ambrosia)	75
Total	38		$\bar{X}$ : 76

Tabla 6. Estudios controlados sobre inmunoterapia local en rinitis alérgica

Estudios Realizados	Años de Publicación	Alergenos Usados	Años de Seguimiento	Efectividad Clínica	
				SI	NO
7	1972 A 1981	Gramíneas Ambrosia Ambrosia polimerizado	1	3 2 1	— — 1
Total 7				6	1

**Rinitis alérgica infantil** (Tabla 4). Los estudios realizados sobre inmunoterapia sistémica en rinitis alérgica infantil son exiguos. Únicamente se ha evaluado la ambrosia con resultados exitosos en una proporción de 2:1 (9). Se carece de estudios para los otros neumoaerógenos.

En conclusión, se han realizado 14 estudios sobre eficacia de la inmunoterapia alérgica en asma extrínseca y 24 estudios en rinitis alérgica perenne y/o estacional. En más de un 75% de los estudios informados se demostró efectividad con este tipo de terapia (Tabla 5). Es importante señalar que ninguno de los estudios ha sido realizado para demostrar curación mediante este procedimiento. Predominan los estudios de hiposensibilización polínica haciendo falta mayor número de investigaciones controladas con respecto a los demás aeroalérgenos.

**Inmunoterapia local** (Tabla 6). Se han publicado 7 estudios controlados en inmunoterapia local para rinitis alérgica (38-40). En 4 se ha evaluado ambrosia y en los tres restantes gramíneas. Los resultados han sido satisfactorios en más del 80% de los casos tratados. Se ha publicado un trabajo frente a polvo y *Dermatophagoides* con resultados alentadores, pero su diseño no fue doble ciego (41). También se han reportado trabajos no controlados en inmunoterapia bronquial de pacientes asmáticos (42).

**Inmunoterapia alérgica en enfermedades diversas.** Se han informado estudios abiertos o semicontrolados en las siguientes enfermedades: vaginitis candidiásica crónica (43), reacciones alérgicas a distancia por hongos, micides (44), prurigo escrófulo (45) y poliposis nasal (46, 47).

Se menciona la posible efectividad terapéutica de la inmunoterapia alérgica en el eczema atópico, en la urticaria o angioedema, en la conjuntivitis alérgica y en la vernal, faringitis alérgica, laringitis alérgica, migraña, otitis serosa y en la laberintitis alérgica (48 y 49). En estas situaciones los reportes existentes no dejan de ser simples observaciones anecdóticas y no existen trabajos, al

menos abiertos, de algún grado de confiabilidad y con suficiente casuística. Existe un reporte interesante sobre hiposensibilización con hojas de tabaco en pacientes alérgicos a esta sustancia (50).

**Inmunoterapia oral.** Se han publicado varios estudios no controlados de inmunoterapia alérgica oral con polvo y pólenes en niños asmáticos y riniticos con resultados alentadores (51).

**Estudios colombianos** (Tablas 7 y 8). En 1966 De Zubiría (52) publicó el único trabajo realizado en nuestro medio sobre utilidad del tratamiento hiposensibilizante en asma extrínseca; estudio no controlado realizado en 256 pacientes tanto adultos como niños.

Los mejores resultados se presentaron en los pacientes con respiración sibilante y las

Tabla 7. Resultados del tratamiento de hiposensibilización en relación con la variedad clínica del asma

Variiedad Clínica	Mejorías %	Total Casos
Respiración sibilante	95	22
Tos perruna	91	44
Bronquitis	86	22
Asma clásica	79	169
De Zubiría, E. Acta Otorrinolaringológica de Colombia 1966; 5: 51-56.		

Tabla 8. Resultados del tratamiento hiposensibilizante en relación con la duración de la enfermedad

Duración (Años)	Mejorías (%)	Total-Casos
0-1	93	46
2-5	81	102
6-10	72	40
>10	83	68
De Zubiría, E. Acta Otorrinolaringológica de Colombia 1966; 5: 51-56.		

Tabla 9. Extractos de alergenios no modificados que se utilizan en la inmunoterapia actual

Acuosos = hidro-alcohólicos
Emulsionados en aceite mineral
Precipitados en aluminio
Extraídos con piridina y precipitados en aluminio
Absorbidos en L. tirosina
Alergenios purificados (Ag. E)

posibilidades de mejoría fueron disminuyendo a medida que la enfermedad progresaba.

#### EXTRACTOS ALERGENICOS

Los extractos alérgicos clásicos utilizados en la terapia hiposensibilizante han sido extractos acuosos o hidroalcohólicos (Tabla 9). Su velocidad de absorción se ha modificado mediante la emulsificación con aceites, la precipitación en aluminio y la absorción en L-tirosina (extractos depot o retard) (9). Los extractos en aceite mineral actualmente no se utilizan por el riesgo neoplásico. Los precipitados en aluminio son muy utilizados por la comodidad de su administración (*Central*). Con los absorbidos en L-tirosina hay amplia experiencia en Europa, muy especialmente con *D. pteronnisinus* adsorbido (Migen) (20).

Fragmentos lipídicos de innegable valor alérgico, imposibles de obtener con extracción acuosa, se han separado con solventes orgánicos como la piridina. Sin embargo, a pesar de esta ventaja evidente, la piridina inactiva alergenios de reconocida importancia, como el antígeno E de la ambrosia. La presentación comercial de estos alergenios incluye no solo el extracto piridínico, sino también la mezcla de éste con el acuoso y la precipitación de ambos con sales de aluminio, convirtiéndolo en un extracto retard, (Alpyral-Dome, Pangramin Depot-Abello, extracto Leti-Retard) (9). Los extractos alérgicos existentes representan una completa mezcla antigénica y así, por ejemplo, ha sido posible purificar varios de los componentes de un mismo polen. El antígeno E representa el determinante antigénico más importante de la ambrosia y el antígeno B constituye el principal antígeno de la gramínea *timoteo*. Estos antígenos purificados pueden utilizarse en la *inmunoterapia*, lográndose una mayor potencia inmunogénica, pero a expensas de un mayor costo (antígeno E. Dome-Hollister-Stier) (9).

Se han realizado diversos intentos de modificar la capacidad alérgica de los extractos terapéuticos preservando o no su poder inmunogénico (9, 53-55). Es el caso de la modificación mediante tratamiento con formaldehído, glutaraldehído, urea y fo-

toinactivación por luz ultravioleta, y la modificación de éstos mediante conjugación o globulina isóloga, alcohol polivinílico, polietilenglicol y a copolímeros de ácido-D-glutámico-D-lisina (Tabla 10).

Los alérgenos tratados con formaldehído constituyen los denominados *Alergoïdes*, que no están disponibles a nivel comercial, pero con los cuales se han realizado varios ensayos en humanos. Los *alergoïdes* se caracterizan por su baja alérgenicidad (baja producción de IgE) y gran inmunogenicidad (gran producción de IgG bloqueadora). El tratamiento con glutaraldehído de los alérgenos permite su polimerización (alérgenos polimerizados), que conllevan a un resultado similar al obtenido con los *alergoïdes*. Se pueden presentar como extractos acuosos o adsorbidos en L-tirosina. Existen varios ensayos terapéuticos donde se demuestra su seguridad y efectividad, pero no están disponibles a nivel comercial, con excepción de un extracto polínico polimerizado y adsorbido en L-tirosina, denominado *Pollinex*, en algunos países de Europa.

La luz ultravioleta permite la fotooxidación de los extractos alérgénicos, disminuyendo su potencial alérgénico. No están disponibles a nivel comercial y se han rea-

lizado algunos ensayos terapéuticos. El tratamiento con urea de los alérgenos los modifica en tal forma que pierden sus características alérgénicas e inmunogénicas y actúan como inductores de células T supresoras específicas de IgE. Existen ensayos clínicos donde se obtienen algunos resultados benéficos, pero no están disponibles a nivel comercial.

Los *alérgenos conjugados* sólo se han ensayado en animales, no existen estudios en humanos, no están disponibles a nivel comercial y su mecanismo sería el de inductores de células supresoras, análogamente a los alérgenos modificados por urea. En estos alérgenos están centradas muchas de las esperanzas del tratamiento futuro de las enfermedades alérgicas.

Se incluye un listado de las principales casas productoras de extractos alérgénicos de uso diagnóstico y/o terapéutico (Tabla 11).

BIBLIOGRAFIA

- 1.— ISHIZAKA K, ISHIZAKA T, and HORN BROOK M. Physicochemical properties of human reaginic antibody. IV. Presence of a unique immunoglobulin as a carrier of reaginic activity. *J Immunol* 1966; 97 : 75-85.
- 2.— ISHIZAKA K, ISHIZAKA T, and HORN BROOK M. Physicochemical properties of human reaginic antibody. V. Correlation of reaginic activity with Y E globulin antibody. *J Immunol* 1966; 97: 840-853.
- 3.— GELL P. and COOMBES R. *Clinical aspects of immunology*, ed 2 Philadelphia, FA Davis Co., 1968.
- 4.— ISHIZAKA K, and ISHIZAKA T. Immunology of IgE-mediated hypersensitivity. MIDDLETON E, REED CH, and ELLIS E, *Allergy principles and practice*. Vol. II Chapt 5 pp 52-78. The CV Mosby Co. Saint Louis, 1978.
- 5.— BENNICH H, and JOHANSSON S. Structure and function of human immunoglobulin E *Adv Immunol* 1971; 13: 1-19.
- 6.— BACH M, and BRASHLER J. On the nature of the presumed receptor for IgE on mast cells. II Demonstration of the specific binding of IgE to cell-free particulate preparations from rat peritoneal mast cells. *J Immunol* 1973; III: 324-330.
- 7.— ORANGE R, AUSTEM W. and AUSTEM; K. Immunological release of histamine and slow reacting substance of anaphylaxis from human lung. I Modulation by agents influencing cellular level of cyclic 3',y 5' adenosine monophosphate. *J Exp Med* 1971; 134-136S-142S.
- 8.— SPRENKLE A, et al. New class of anti-allergic compounds effective in man. *J Allergy Clin Immunol* 1975; 55:118.
- 9.— PATTERSON R, et al. Immunotherapy en: MIDDLETON E, REED CH, and ELIS E, *Allergy principles and practice* Vol. II Chapt 49 pp 877-898, The CV Mosby Company Saint Louis, 1978.
- 10.— SHERMAN W, STULL A and COOKE R. Serologic changes in hayfever cases treated over a period of years. *J Allergy* 1940; 11: 225-230.
- 11.— BASOMBA A.GARCIA I. y PELAEZ A. La hiposensibilización específica mediante extractos piridínicos precipitados con alumbre. II Valoración de algunos cambios inmunológicos durante el tratamiento hiposensibilizante. *Allergol et Immunopathol* 1974; 2: 241-248.
- 12.— LICHTENSTEIN L, NORMAN P, and WINKENWERDER W. Clinical and in vitro studies on the role of immunotherapy in ragweed hayfever. *Am J Med* 1968; 44: 514-518.

Tabla 10. Extractos de alérgenos modificados que se utilizan en la inmunoterapia experimental

Con formaldehído (alergoïdes) Con glutaraldehído (alérgenos polimerizados) Foto inactivados Por urea Conjugados a:	Globulina isóloga Alcohol polivinílico Polietilenglicol Copolímeros de ácido-D-Glutámico -D- lisina
--	--

Tabla 11. Casas comerciales productoras de extractos alérgénicos

ALLPYRAL DOME (E.E.U.U.): Terapéuticos únicamente ALO (E.E.U.U.): Terapéuticos y diagnósticos CENTER (E.E.U.U.): Terapéuticos y diagnósticos DOME - HOLLISTER - STIER (E.E.U.U.): Terapéuticos y diagnósticos PHARMACIA (Suecia): Diagnósticos <i>In vitro</i> PROBIOL (Colombia): Extracto polvo habitación SHARP AND SHARP (E.E.U.U.): Alérgenos desecados como materia prima OTRAS: ESPAÑA - SUIZA - DINAMARCA - FRANCIA - ALEMANIA - NORUEGA - JAPON.
--

- 13.— SWINEFORD O, et al. Treatment of pollen hayfever and asthma with aerosols of pollen extracts. *J Allergy Clin Immunol* 1955; 26: 305-319.
- 14.— HIRATANI M, et al. Lymphocyte responsiveness to *Dermatophagoides farinae* extract in mite-sensitive patients: Effect of immunotherapy on cellular proliferative response and specific immunoglobulin E antibody (rast score). *J Allergy Clin Immunol* 1982; 68: 205-211.
- 15.— PRUZANSKY J, and PATTERSON R. Histamine release from leukocytes of hypersensitive patients. II Reduced sensitivity of leukocytes after injection therapy *J Allergy* 1967; 39: 44-50.
- 16.— FRANKLAND A, and AUGUSTIN R. Prophylaxis of summer hayfever and asthma. *Lancet* 1954; 266: 1055-1057.
- 17.— FORGACS P, and SWAN A. Treatment of house dust allergy. A report from the research committee of the British Tuberculosis Association *Br Med J* 1968; 3: 774-777.
- 18.— SMITH A. Hyposensitization with *Dermatophagoides pteronyssinus* antigen. Trial in asthma induced by house dust *Br Med J* 1971; 4: 204-206.
- 19.— D'SOUZA M, et al. Hiposensitization with *Dermatophagoides pteronyssinus* in house dust allergy a controlled study of clinical and immunological effects. *Clinical allergy* 1973; 3: 177-183.
- 20.— MARQUES R and AVILA R. Results of a clinical trial with *Dermatophagoides pteronyssinus* tyrosine adsorbed vaccine. *Allergol et Immunopathol* 1978; 6: 231-235.
- 21.— TAYLOR W, OHMAN J, and LOWELL F. Immunotherapy in cat induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1978; 61: 283-287.
- 22.— JOHNSTONE D. Study of the role of antigen dose in the treatment of pollenosis and pollen asthma. *J Dis Child* 1957; 94: 1-9.
- 23.— JOHNSTONE D, and CRUMP S. Value of hyposensitization therapy of perennial bronchial asthma in children. *Pediatrics* 1961; 27: 39-44.
- 24.— JOHNSTONE D, and DUTTON A. The value of hyposensitization therapy for bronchial asthma in children - a 14-year-old study. *Pediatrics* 1968; 42: 793-802.
- 25.— AAS K. Hyposensitization in house dust allergy asthma. *Acta Paediat Scand* 1971; 60:264-268.
- 26.— TUCHINDA M, and CHAI H. Effect of immunotherapy in chronic asthmatic children. *J Allergy Clin Immunol* 1973; 51: 131-138.
- 27.— BOTTEY J, et al. Estudio doble ciego de hiposensibilización a *Dermatophagoides Farinae* y *D. pteronyssinus* en un grupo de niños asmáticos. Universidad Autónoma de Barcelona. Clínica Infantil de la seguridad social. Valle de Hebron. Servicio de Alergia e Inmunología Clínica.
- 28.— WARNER J, et al. Hyposensitization in house dust mite sensitive childhood asthmatics. *Allergol et immunopathol* 1977; 5:416.
- 29.— MILLER A. A statistical review of double-blind studies on ragweed hayfever injection therapy. *Ann Allergy* 1968; 26: 339-347.
- 30.— WINKENWERDER W, and NORMAN P. A comparison of antigen E of ragweed. Allpyral, coca's extracts of ragweed and placebos in the treatment of hayfever. *J Allergy* 1965; 36:214.
- 31.— LICHTENSTEIN L, et al. In vitro studies of human ragweed allergy: changes in cellular and humoral activity associated with specific desensitization. *J Clin Invest* 1966; 45: 1126-1136.
- 32.— CONNELL J, and SHERMAN W. Hayfever symptoms related to immunological findings. *Ann Allergy* 1967; 25: 239-250.
- 33.— LICHTENSTEIN L, NORMAN P. and WINKENWERDER W. Clinical and *in vitro* studies on the role of immunotherapy in ragweed hayfever. *Am J Med* 1968; 44: 514-524.
- 34.— NORMAN P. WINKENWERDER W, and LICHTENSTEIN L. Immunotherapy of hayfever with ragweed antigen E: comparisons with whole pollen extract and placebos. *J Allergy* 1968; 42: 93-108.
- 35.— GORDON V, et al. Correlation of type specific fluorescent antibodies to ragweed with symptomatology: double blind study. *Ann Allergy* 1972; 30:507-517.
- 36.— PERCE H, et al. Immunotherapy for mountain cedar pollinosis. *J Allergy Clin Immunol* 1976; 58: 39-50.
- 37.— NORMAN P, and LICHTENSTEIN L. The clinical and immunological specificity of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1978;61:370-377.
- 38.— NICKELSEN J, et al. Local intranasal immunotherapy for ragweed allergenic rhinitis I Clinical response. *J Allergy Clin Immunol* 1981; 68: 33-40.
- 39.— NICKELSEN J, et al. Local intranasal immunotherapy for ragweed allergic rhinitis II Immunologic response. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:41-45.
- 40.— CRIFO S, et al. Specific local immunotherapy in nasal allergy (Preliminary report) *Allergol et Immunopathol* 1980; 8: 1-6.
- 41.— CAMPOS A, et al. Hiposensibilización nasal tópica en el tratamiento de la rinitis perenne, con extractos acuosos de polvo y dermatophagoides I Estudio preliminar. *Allergol et Immunopathol* 1979; 7: 217-222.
- 42.— HERXHEIMER H. Bronchial hypersensitization and hyposensitization in man. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1951; 2: 40-50.
- 43.— ROSEDALE N, and BROWNE K. Hyposensitization in the management of recurring vaginal candidiasis *Ann Allergy* 1979; 43: 250-253.
- 44.— NAJAR H, y PRADEZ DE FARIA G. Tratamiento inmunológico de micides, con extracto alérgico de hongos precipitados en aluminio. *Alergia* 1977; 24: 63-68.
- 45.— NAJAR H. Tratamiento inmunológico del prurigo escrófulo con antígenos de insectos precipitados en aluminio. *Alergia* 1977; 24: 23-27.
- 46.— BLUMSTEIN G, and TUFT L. Allergy treatment in recurrent nasal polyposis. *Am J Med Sci* 1957; 234: 267-280.
- 47.— ALONSO A, et al. Estudio histológico e inmunológico de la poliposis endonasal reactivante en relación con la vacuoterapia. *Allergol et Immunopathol* 1976; 4: 121-130.
- 48.— TUFT L. Importance of inhalant allergens in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1949; 12: 211-219.
- 49.— MARTIN-GIL D, NEFFEN H, and OEHLING A. Frequency of sensitization to different pollen groups and results of specific immunotherapy. *Allergol et Immunopathol* 1978; 6: 325-332.
- 50.— ZUSSMAN B. Tobacco sensitivity in the allergic population: a review with results of desensitization with 10 per cent whole leaf tobacco extract. *Ann Allergy* 1980; 45: 304-309.
- 51.— WORTMANN F. Oral hyposensitization of children with pollinosis or housedust asthma. *Allergol et Immunopathol* 1977; 5:15-26.
- 52.— DE ZUBIRIA E. Etiología del asma bronquial en Colombia y resultados del tratamiento de hiposensibilización. *Acta Otorrinolaringológica de Colombia* 1966; 5:51-56.
- 53.— NORMAN P. An overview of immunotherapy: implications for the future. *J Allergy Clin Immunol* 1980; 65: 87-96.
- 54.— PATTERSON R. Allergen immunotherapy with modified allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1981; 68: 85-90.
- 55.— SEHON A, and LEE W. Suppression of immunoglobulin E antibodies with modified allergens. *J. Allergy Clin Immunol* 1979; 54: 242-250.