

Immunterapins historia

SAMMANFATTNING

I över hundra år har immunterapi med allergener använts kliniskt. Först de senaste decennierna har en snabb utveckling skett från okontrollerade extrakt, över standardiserade extrakt, till försök med molekylärt designade produkter.

Allergenspecifik immunterapi skall utföras med väl definierade extrakt/preparationer. Behandlingen är immunmodulerande, d.v.s. förändrar kroppens svar på allergenkontakt. Det är den enda behandling av allergiska sjukdomar som varaktigt minskar patientens allergi.

Immunterapi med allergener är speciesspecifik (epitopspecifik). Detta innebär att det är viktigt att värdera vilket/vilka allergen som har störst betydelse för patientens besvär. Bedömning av effekten bör göras med metoder som mäter patientens känslighet för allergen. Symtomen på sjukdomar som astma och hönsnuva är naturligtvis viktigast för patienten. Men tyvärr antingen subjektiva eller inte mätbara med precision.

Allergen kan administreras, subkutan eller sublingualt. Eventuellt också på annat sätt (oralt, epikutant, intrakutan, intralymfatiskt). Målet är att nå immunkompetenta celler.

Modifierade allergen kan förlänga frisättningen av allergen och minska risken för generella reaktioner. Dos, doseringsintervall och många andra faktorer påverkar graden av positiv effekt och också risken för biverkningar.

Nya behandlingsmetoder med användning av hypoallergena, rekombinanta allergen, injektion i lymfkörtlar och användning av peptider med T-cellsepitoper är några av de aktuella utvecklingslinjerna.

STEN DREBORG¹

Immunologisk påverkan på människan prövades först av Jenner som införde smittkoppsvaccinationen (1). Med detta var inte kurativ utan profylaktisk behandling.

Den första formen för kurativ immunterapi¹ var den som använde allergener för behandling av hönsnuva. År 1900 rapporterade Curtis i New York de första experimenten med injektion av pollenallergen (2), men först 1911 gjorde Noon och Feeman (3, 4) de första försöken som visade att successivt ökande subkutana doser av pollenallergen minskade känsligheten för det injicerade gräspollenextraktet. De använde konjunktivalprovokation för att påvisa effekten. «Hyposensibilisering» spred sig över Europa och USA de närmaste årtiondena.

Den första kontrollerade studien av allergenspecifik subkutan immunterapi, ASSCIT, gjordes av dansken Egon Bruun (5, 6) i slutet av 1940-talet, men oftast tillskrivs den första immunterapistudien William Frankland (7) som 1954 publicerade en dubbelblindstudie som visade symtomeffekt vid immunterapi av gräspollenhönsnuva.

Innan selektiva β_2 -agonister och icke sederande antihistaminer introducerades kring 1970 och sedan inhalationssteroiderna under 1970- och 80-talen var behandlingsmöjligheterna av svår allergisk rinit och

astma mycket begränsade. Därför var immunterapi en vanlig metod trots dålig dokumentation av effekten och med många allergiska biverkningar.

Immunterapi med ett allergen har effekt på känslighet för det allergen som använts för immunterapi men inte känsligheten för andra allergen (8) (FIGUR 1). Därför bör den benämnas allergenspecifik immunterapi, ASIT. Sekundärt kan immunterapi påverka graden av hönsnuva och delvis astma men graden av allergi mot allergenet i fråga är den enda relevanta effektparametern (9). Detta även om naturligtvis påverkan på sjukdomen är både doktors och patientens önskan. Men svår rinit och astma påverkas inte bara av graden allergi utan också av luftföroreningar, ansträngning, infektioner osv.

Efter upptäckten av IgE 1967 och utvecklingen av *in vitro* IgE tester (RAST) och sedan IgE-inhibition (RAST-inhibition), kunde Tony Foucard och Gunnar Johansson i Uppsala visa att satser av kattextrakt från en och samma tillverkare kunde variera ca 1000 gånger i styrka mellan två satser (10). Detta medförde att fokus sattes på standardisering av extrakten som ännu inte betraktades som läkemedel.

Under det senaste halvsekle har olika varianter av immunterapi dokumenterats. Variationen gäller vilket material som används, hur det

¹ Med. Dr., Professor emeritus Barn- och Ungdomsallergologi. Affilierad till Kvinnors Och Barns Hälsa, Uppsala Universitet

KONTAKTADRESS:
Sten Dreborg
Kvinnors Och Barns Hälsa
Uppsala Universitet
S:t Olofsgatan 28A
SE-753 32 Uppsala
Sten.dreborg@Kbh.uu.se

¹ Här används termen immunterapi trots att WHO 1998 föreslog att den skulle bytas mot Allergivaccination [Bousquet J, Lockey R, H-J, J Allergy Clin Immunol, 1998, vol. 102 (4), s 558-62].

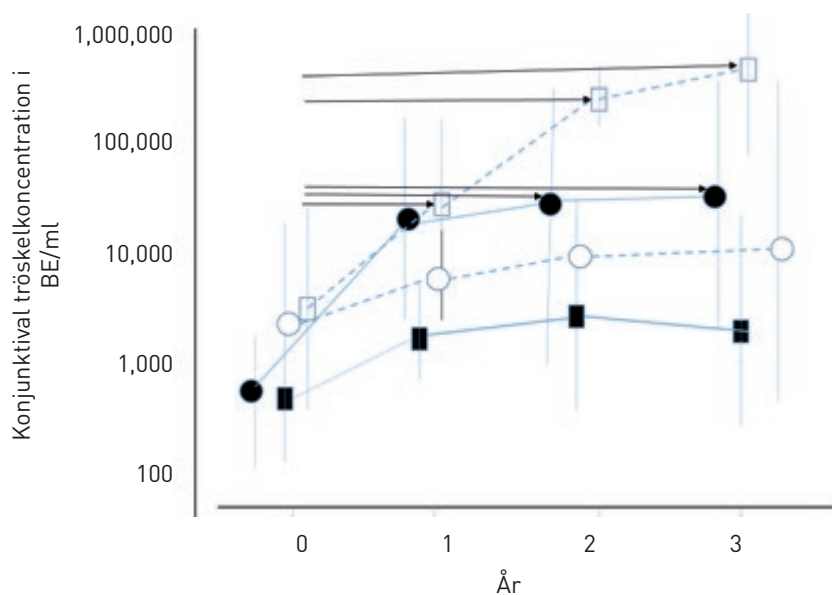


I slutet av 1970-talet startade samarbete om de då tre nordiska allergentillverkarna ALK i Köpenhamn, NYCO i Oslo och Pharmacia Diagnostics i Uppsala program för att framställa standardiserade extrakt med samma styrka och komposition, något som revolutionerade immunterapi. Foton visar modern tillverkning av allergenextrakt. FOTO: ALK.NET

FIGUR 1. Tjugo vuxna med kvalster- och gräsrinokonjunktivit behandlades under tre år med antingen kvalster- eller timotejallergenextrakt (8). Alla registrerade symtom under säsongerna och genomgick konjunktivalprovokation varje år på hösten. Sju patienter i vardera gruppen genomförde tre års behandling. Symtompoäng visade inga skillnader mellan grupperna.

- Behandling med timotejextrakt, öppen fyrkant; placebo - kvalsterextraktbehandlade - fylld fyrkant.
- Behandling med kvalsterextrakt, fylld cirkel; placebo - timotejbehandlade - öppen cirkel
- Timotejbehandlade ofyllda figurer, kvalsterbehandlade fyllda figurer.
- Timotejutvärderingsgruppen fyrkanter, kvalsterutvärderingsgruppen cirklar.
- Skillnad mellan aktiv och placebo, Kolmogorov-Smirnov, $p < 0.05$.

(FRÅN 8)



tillförs kroppen, hur mycket som tillförs, hur ofta tillförseln sker, o.s.v.

Dessa faktorer och hur de utvecklats över tid skall diskuteras i det följande, med tyngdpunkt på skandinaviska framsteg.

Allergenextrakt

Inhalationsallergen - allergenkällor

Inhalationsallergenkällor d.v.s. pollen, stöv från djur, mögel, kvalster och liknande orsakar framför allt rinokonjunktivit och astma. Varje allergenkälla innehåller 10-20 eller fler allergiframkallande proteiner, allergen. Enstaka allergen är specifika för en allergenkälla. De flesta tillhör «proteinfamiljer». I björkpollen finns t.ex. två proteiner, Bet v 1 som är ett PR-10-protein och Bet v 2, Profilin. Björk, al och hassel, en del andra pollen och bl.a. vissa stenfrukter innehåller PR-10-proteiner. Allergenet ger upphov till klåda, svullnad mm i munhålan, välkänt sedan 1930-talet då de beskrevs av Carl Juhlin-Dannfelt i Nordisk Medicin och i Acta Medica (11). lakttagelser som nu kan förklaras på molekylär nivå. ▶



År 1911 kom de första försöken som visade att successivt ökande subkutana doser av pollenallergen minskade känsligheten för det injicerade gräs-pollenextraktet (3, 4). FOTO: STEN DREBORG

Ända till 1980-talet användes vattenlösliga extrakt. Subkutant injicerat vattenlösligt allergen frigörs och distribueras snabbt i hela kroppen. Särskilt om allergiska reaktioner som astma eller urtikaria pågår i kroppen reagerar lungor respektive hud mycket lätt med svåra anafylaxier som följd. I själva verket

en provokation av symptomatisk patient.

För att öka effekten av varje injektion och för att binda allergen och därmed minska risken för allmänreaktioner gjordes försök med olika adjuvants. Mary Loweless i USA introducerade på 1940-talet (12) allergiemulsioner i olja. Oljeemulsioner användes till en del också i Europa (13, 14). En annan variant var att extrahera med pyridin och adsorbera extraktet till aluminiumhydroxid, ett adjuvant som används bl.a. för att inducera «IgE-svar» (!) hos försöksdjur. Preparatet Allpyral® introducerades 1967. Vilken styrka och vilken sammansättning dessa extrakt hade visades aldrig.

Efter att Tony Foucard och Gunnar Johansson hade påvisat den ojämna kvaliteten på de svenska extrakten 1973 (10), insåg man att något borde göras. Vid denna tid kontrollerades inte allergenextrakt av myndigheterna.

Kjell Aas (NO), Alf Backman (FIN), Lars Belin (SE) och Bent Weeke (DK) publicerade 1978 idén om biologisk standardisering, dvs. att bestämma hur mycket allergen av olika typer som gav ett pricktestkvaddel av samma storlek som histamin. Men de angav ingen metod.

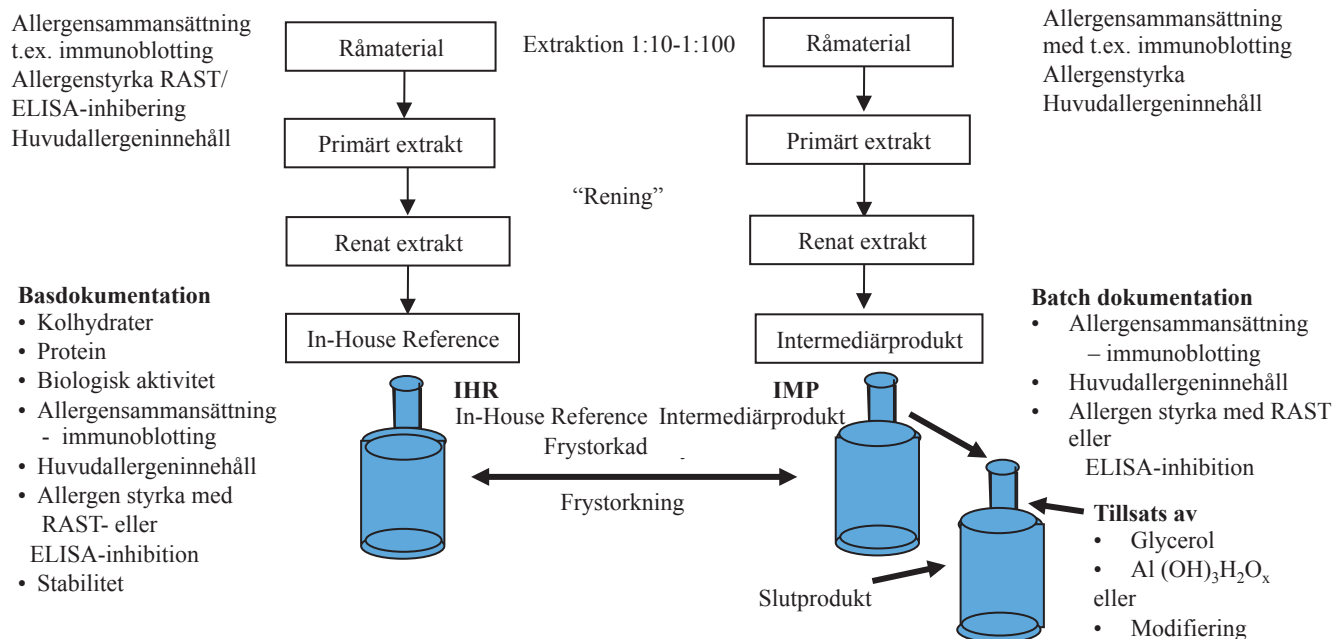
Den andra aktiviteten detta utlöste

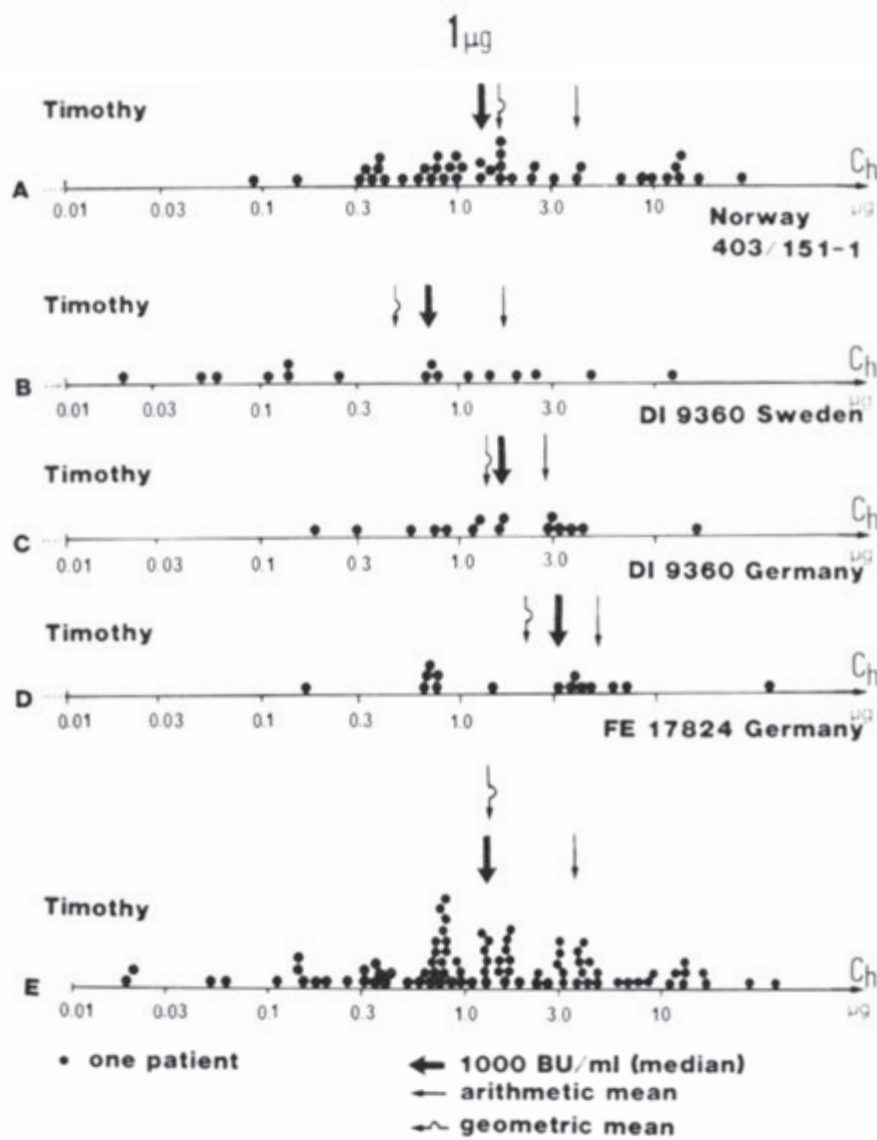
var att de nordiska myndigheterna satte samman det första regelverket för standardisering och registrering av allergenextrakt (15). Detta skedde i nära samarbete med de då tre nordiska allergentillverkarna ALK i Köpenhamn, NYCO i Oslo och Pharmacia Diagnostics i Uppsala.

I slutet av 1970-talet startade alla de tre skandinaviska allergenextrakt-tillverkarna program för att framställa standardiserade extrakt med samma styrka och komposition från sats till sats och med dokumenterad hållbarhet, något som revolutionerade immunterapin (16-18). Alla tre allergen-extrakt-tillverkarna

- karakteriserade allergena proteiner i extrakt av inhalationsallergen. Figur 2 illustrerar principen för framställningen av standardiserade allergenextrakt som fungerat sedan 1980-talet.
- upprättade interna referensextrakt, In-House Reference standard (IHR) (16-18) (FIGUR 2) jämförde den totala styrkan mellan tillverkningssatser genom in vitro IgE inhibition och vid behov korrigerade (spädde eller koncentrerade) för att få tillverkningsatser av samma styrka som den interna referensen, IHR.
- garanterade stabiliteten genom att frystorka extraktet och lösa det i glycerol för hudtester, humant

FIGUR 2. Principerna för standardisering av allergenextrakt, som de sett ut sedan 1980-talet (16-18). När tre satser med liknande karaktär har producerats väljer man en «bra» IHR. Följande satser för produktion produceras enligt samma principer och styrkan justeras i förhållande till IHR. (MODIFIERAT EFTER 16-18)





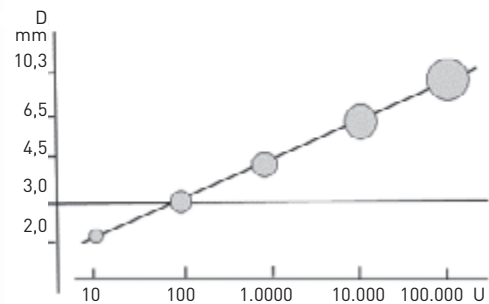
FIGUR 3. Preliminär biologisk standardisering av timotejextrakt. Fyra olika satser. Standard histamin dihydroklorid 1 mg/ml (slutlig standard 10 mg/ml). Att inkludera konsekutiva patienter i tillräckligt antal är nödvändigt för att få enhet som kan upprepas i olika regioner (21). Patienter med gräshösnuva vid fem olika allergispecialistmottagnin-gar. Varje fylld symbol representerar en patient. (FRÅN 20)

serum-albumin (HSA) buffert² (19) (angav att de saluförde biologiskt standardiserade extrakt, d.v.s. extrakt som var ekvipotenta mellan olika typer av allergen. I USA har man infört ett fåtal biologiskt standardiserade extrakt genom en procedur med intrakutantester, men resultaten har inte reproducerats. I Norden visade vår grupp (20) att genom testning av mer än 20 konsekutiva patienter med klinisk känslighet för det testade allergenet kunde resultaten upprepas i olika delar av Europa (21). Den histaminekvivalenta koncentrationen hos den medelkänslige individen definierade enheten,

10 000 BE/ml (21, 22) eller 10 HEP (22) (FIGUR 3). Metoden (21) rekommenderades senare i den andra upplagan av de nordiska riktlinjerna (22).

Patienturvalet skall vara konsekutiva patienter som söker vid sekundär- eller tertiärvårdsenhet (21, 22). Figur 3 visar ett s.k. potatisdiagram från våra första försök 1980 (20), som också visar att känsligheten sprider sig över 4 tiopotenser = 10 000 gånger (20, 21). Också finska allergologer gjorde liknande försök (23). Båda grupperna fann att allergens s.k. dos-effektkurvan var flat, dvs. en stor ökning i allergenstyrka orsakade

2 Harold Nelson, Denver, visade 1979 att allergen i buffert utan humant albumin, eller t.ex. tween, snabbt försvann ur lösningen och återfanns på allergenflaskans glasvägg. Jag fick lov att upprepa försöken eftersom det fanns tvivel om riktigheten. Med i.c.-testmetod visade vi att de svagaste lösningarna minskade i styrka till 1% på 10 minuter (SD, personligt meddelande).



FIGUR 4. Dos/effekt för allergenkvaddelein. Om allergenstyrkan ökas 10 gånger ökar kvaddeldiametern från 3 till 4,5, från 4,5 till ungefär 7 mm o.s.v. Den som får en 4.5 mm kvaddel vid pricktest är alltså 10 gånger känsligare än den som får en kvaddel med 3 mm diameter. Därför är det viktigt att kontrollera pricktesttekniken och pricktestprecisionen. Det viktiga är att inse att den som får en 3 mm kvaddel vid hustesten tål 1000 gånger högre allergenexposition i huden än den som får en kvaddel med 10 mm diameter. (GRAF: 20-23)

bara en begränsad ökning av reaktio-nen (kvaddeln) i huden³ (FIGUR 4). Dessa principer gäller alla vanliga allergen-extrakt på marknaden än i dag, t.ex. ALK-Abelló:s SQ-standardiserade extrakt för immunterapi (18).

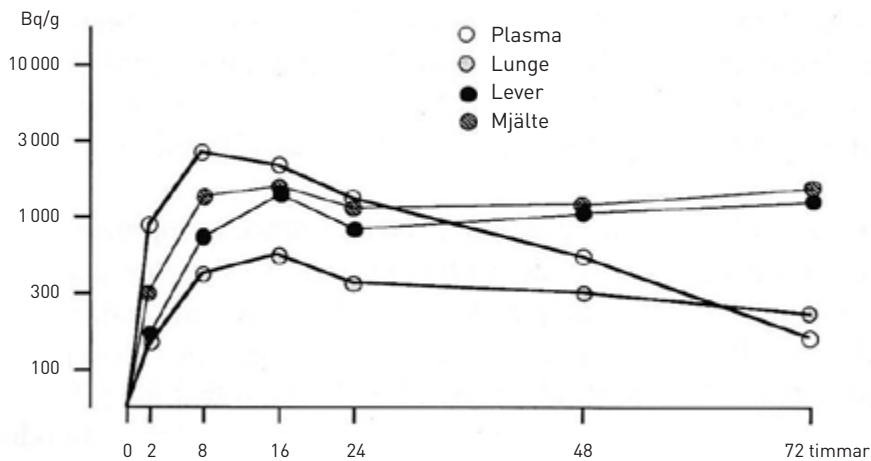
Vissa allergen, t.ex. de flesta mögelallergen, är mycket svåra att standardisera och förstörs snabbt i vatten (inom 1 vecka) och i glycerol-lösning (personlig information, Lars Aukrust). Därför har mögelextrakt litet diagnostiskt och naturligtvis också litet terapeutiskt värde.

Den nuvarande standardiserings-modellen avser egentligen bara diagnostiska extrakt och tar fasta på IgE-reaktivitet. I framtiden bör extrakt/preparationer av allergen för immunterapi fokusera på T-cells-epitopbaserade metoder.

Insektsgifter

Fram till 1980 hade man använt helkroppsextrakt av bi och geting. Under 1970-talet började man tvivla på att immunterapi med helkroppsextrakt av bi var effektiv. Med de då nya metoderna för identifiering av allergen fann man att bi- och geting-gift men inte helkroppsextrakt av

3 Dos-effektkurvan är bäst anpassad till modellen: $\log \text{ medeldiametern, } D \text{ (ytan, A)} = a \text{ [skärningen med Y-axeln, nära origo] } + b \text{ (lutningen) } * \log \text{ koncentrationen allergen. Med hjälp av regressionsanalys kan man beräkna den koncentration som ger en reaktion lika stor som histaminkvaddelein hos samma patient, } C_{ha} \text{. Medel- } C_{ha} \text{ definierar enheten 10 000 BE/ml eller 10 HEP. } C_{ha} \text{ beräknas lättast med formeln } Ch = \frac{A}{1/b}, \text{ som kan läggas in i t.ex. ett Excelark.}$



FIGUR 5. Distributionen av radioaktivitet i plasma, lunga, lever och mjälte efter subkutan injektion av 3H-mPEG lövträdsmixallergen. För varje värde anges medelvärdet från två råttanar och två råttthonor (37).

insekterna innehöll allergen av betydelse för patienter med svåra reaktioner på insektsgift. De som får astma när de inandas stöv från bikupor reagerar istället på helkroppsextrakt av bi.

Man använde först hyperimmunserum (IgG) från biodlare (24) med gott resultat, men effekten var övergående. Baltimoregruppen och Ulrich Müller, Schweiz, publicerade 1978 respektive 1979 dubbelblindstudier (25, 26), som klart visade att medan immunterapi med insektsgift skyddade mot anafylaxi i 19 fall av 20 vid insektstick på intensivvårdsavdelning, så var skyddet med helkroppsextrakt inte bättre än med placebobehandling.

Födoämnen

Immunterapi med födoämnen är inte accepterad rutinbehandling utan skall genomföras som klinisk prövning. Allergeninnehållet i de flesta vanliga födoämnen är välkänt (27). Standardiseringen av inhalationsallergen med hjälp av hudtester eller orala provokationer går inte direkt att applicera på födoämnen.

De flesta födoämnesextrakt saluförs som spädningar 1/100 eller 1/20 vikt/volymspädningar, d.v.s. med lågt allergeninnehåll och fenoler förstör bl.a. äppel- och cerealieallergen (28). Därför använder man ganska allmänt på större centra färsk råvara och prick-prickmetoden, d.v.s. prickar först frukten eller köttet osv., eller doppar lansetten i t.ex. äggvitan eller mjölken och därefter prickar

man patientens hud med samma lansett, prick-prick metoden (29). Kliniken får «standardisera» allergenkällan: ren äggvita, skummjolk, rostad jordnöt (ursprung, märke, äppelsort o.s.v.). Det finns stora skillnader i allergicitet mellan äppelsorter (30). Prick-prick-metoden har bättre diagnostiska egenskaper, fr.a. känslighet, än födoämnesallergenextrakt (31). En uppdatering och praktisk handledning finns i (30).

Modifierade allergenextrakt

Som nämnts började man tidigt att försöka att kemiskt modifiera allergener för att minska frisättnings-hastigheten från injektionsstället i underhuden på grund av snabbt stigande allergenhalter i blod. Särskilt om det finns en pågående allergisk/inflammatorisk process i något organ, t.ex. lungorna, ökar risken för generella biverkningar.

En stor svårighet med modifierade allergen är att de inte går att standardisera med vanliga metoder, som ju bygger på identifiering av IgE-reaktivitet. Den bästa metoden är nog att, som gjordes med mPEG-modifierade allergen, att bestämma aminosyre-innehållet med aminosyreanalys före och efter modifiering (32).

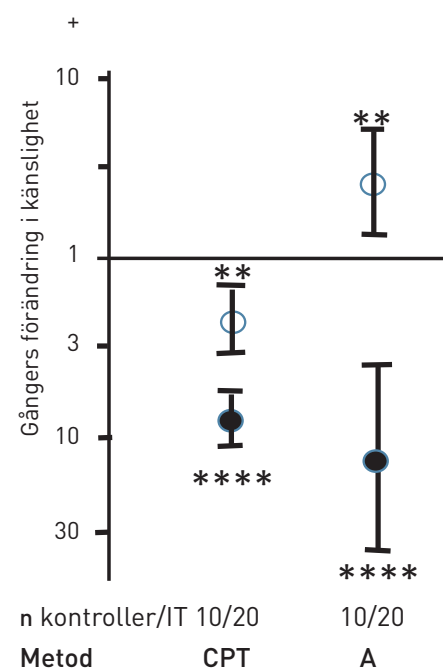
Målet för immunterapi är att långsiktigt förändra immunsvaret vid allergenexposition, immunmodulering.

Under 1970-talet polymeriserade Roy Patterson och medarbetare allergener med glutaraldehyd (33)

och i Baltimore arbetade David Marsh med modifiering av allergener med formaldehyd (34). De amerikanska myndigheterna tillät emellertid inte modifiering av allergener för humant bruk. Också europeiska företag har tagit upp glutaraldehydmodifierade, depigmenterade extrakt (35, 36).

De stora partiklarna tas upp av makrofager och proteinkomponenterna presenteras för T-celler. Samma sak gäller för mPEG-modifierade allergen (se ovan). Dessa modifierade allergen har visats stanna längre i cirkulationen än vattenlösliga allergen. I djurförsök har visats att såväl glutaraldehydmodifierade ragweed-allergen som mPEG-modifierade allergen efter s.c. injektion cirkulerar längre än vattenlösligt allergen och ansamlas i lymfkörtlar, lever, mjälte dvs. sannolikt tas upp av makrofager, vilket är förutsättningen för kraftfull påverkan på immunsystemet, (FIGUR 5) (37). Detta ger ökad stimulans av immunsystemet.

FIGUR 6. Tjugo vuxna kvalsterkänsliga patienter behandlades under ett år med standardiserat kvalsterextrakt (60 µg Der p 1/ml) och jämfördes med 10 obehandlade kvalsterkänsliga kontroller (109). Före och ett år efter immunterapi utfördes titrerad konjunktivalprovokation och hudtest med en koncentration av frystorkat kvalsterallergen rekonstituerat med HSA-diluend, samma tillverkningsatts. Den konjunktivala känsligheten minskade ca.3 gånger och hudkänsligheten ca.30 gånger. ** p < 0,01****) p < 0,00001. (MODIFIERAT FRÅN 49)



mPEG-projektet lades ned trots att man vid hösnuva och insektsgiftsallergi fick ypperliga resultat (37), medan de glutaraldehydmodifierade extrakten fortfarande dokumenteras i Spanien.

Monophosphoryl lipid A (MPL), stimulerar IFN γ -produktion *ex vivo* (38). Allergen-MPL komplex adsorberas till tyrosin. Preparatet kan förlänga frisättningen av allergen från injektionsstället, men publicerad klinisk dokumentation saknas.

Dosering och effekt

Indikationer – när skall man ge immunterapi?

Från början var indikationen bara pollenhösnuva. Med tiden har man funnit att en stor del av patienterna med pollenhösnuva också har astma under säsong, även om den oftast är lindrig. I ett stort antal studier och metaanalyser har fastställts att immunterapi ger effektiv lindring vid pollenhösnuva och pollenastma (39). Allt hänger dock på formen för immunterapi, dos, intervall mm.

För 40 år sedan var det regel att ge ett stort antal olika allergener till samma patient, något som fortfarande är regel i t.ex. USA. När de standardiserade allergenextrakten infördes, reducerades antalet allergen per patient och numera används vanligen ett eller två pollenextrakt, i mindre utsträckning katt-, hund- och kvalsterextrakt. Med tiden har indikationerna snävats in pga. biverkansrisken och användningen av effektiva symtomlindrande medikamenter. Men ingen medicin kan som immunterapi förändra känsligheten för allergen.

Dosering av injicerat allergen

Doseringen har utvecklats empiriskt. Förr använde man i Skandinavien ofta snabbhyposensibilisering med patienten inlagd på sjukhus. Injektionerna startade med låga koncentrationer, vanligen 1/100 000 w/v, och man slutade att öka dosen om patienten reagerade med allergiska «biverkningar». Då övergick man till underhållsbehandling med den senast tolererade dosen, vanligen en gång per månad. Men eftersom styrka och sammansättning av extrakt från samma allergenkälla varierade från sats till sats (10), inträffade inte sällan svåra reaktioner både vid första sprutan, under uppdoseringen och under underhållsbehandlingen.

Sedan de nordiska länderna 1980 fått myndighetsregler (15) och tillverkarna börjat standardisera sina extrakt, kunde man bättre bedöma effekten av olika sätt att dosera. Sedan dess har ambulansbehandling dominerat. I Skandinavien använder vi i allmänhet ett eller två pollenallergenextrakt. Mindre ofta katt, hund eller kvalsterextrakt, men sällan mer än tre separata allergenextrakt till varje patient. Antingen med långsam uppdosering varje till var annan vecka eller klusterbehandling (40, 41). Det senare innebär att flera doser ges med en halvtimmes mellanrum, med besök en gång i veckan. Det går fortare, 4–5 besök mot 20–30 eller mer vid den långsamma uppdoseringen. Men många anser att klusterinjektioner ger fler biverkningar. Förekomsten av biverkningar beror dock främst på graden av övervakning av ev. astma och andra allergiska symptom och exponering för kända allergen och luftföroreningar (42).

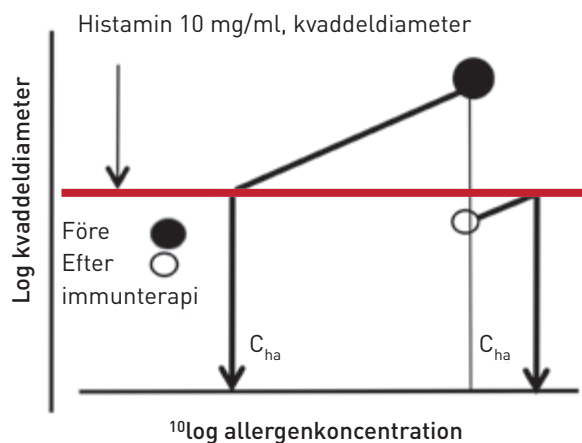
Vid allergenspecifik subkutan immunterapi (ASSCIT) ges underhållsbehandling med 4–8 veckors mellanrum (43)

Mätning av effekten av immunterapi

Immunterapi kan endast påverka individens känslighet mot de allergen som används för behandling (8). Därför är det viktigt att de extrakt och andra preparat som kommer till användning också har en sådan sammansättning att de innehåller de allergena komponenter som individen är känslig för.

Myndigheter som EMA i London, EU:s läkemedelsmyndighet, och den amerikanska läkemedelsmyndigheten, FDA, vill ha dokumenterat förbättring av sjukdomssymtomen. Därför mäts traditionellt symptomen före och efter behandling och numera också flera år efter avslutad behandling för att dokumentera att immunsystemet varaktigt har förändrats. Myndigheterna önskar också se effekter på patienter som representerar den angivna indikationen, vanligen hösnuva som inte får tillräcklig symtomlindring av mediciner. Man vill också få indikation på att behandlingen inte medför uppenbara risker för biverkningar. Därför efterfrågas stora patientgrupper. Det i sin tur innebär att man upptäcker även små skillnader i symtomlindring mellan aktiv grupp och placebobehandlad grupp. Man bör därför inte titta i första hand på signifikansen mellan grupper utan graden av förbättring.

Skall man mäta graden av förbättring är det mycket bättre att mäta graden av allergi. Allergi-komponenten i sjukdomen är det enda som immunterapi kan påverka. Både hösnuva och framför allt astma påverkas av många andra faktorer än allergi varför mätning av graden av allergi utgör den grundläggande dokumentationen av effekten av ASSCIT (8). I praxis kan konjunktivprovokation (44, 45) (FIGUR 1 OCH 6) med fördel användas före immunterapi och vid årliga uppföljningar vilket adderar en mätbar positiv effekt till patienten. Även pricktest kan användas för uppföljning av graden av allergi såvida samma standardiserade extrakt används, testaren har en god precision (46, 47), testerna utförs i minst duplikat och utvärderas enligt Dreborg (48, 49) (FIGUR 7) med beräk-



FIGUR 7. Figuren illustrerar histaminkvaddelns storlek (horisontellt rött streck). Den sätts till samma storlek före och efter immunterapi även om den vanligen minskar efter behandlingen. De svarta punkterna visar kvaddelstorleken före immunterapi och cirkelarna den efter behandlingen. Strecken på skrå visar utvärderingen av C_{ha} och de två pilarna den beräknade histamin ekvivalenta koncentrationen C_{ha} . (48, 49)

ning av C_{ha} före och efter immun-
terapi. Ett exempel visas i Figur 8 a
och 8b.

Tidig dokumentation av effekten

I början av 1980-talet då standardise-
rade extrakt introducerades utfördes
i första hand studier som avsåg att
dokumentera effekten av immu-
neterapi vid allergi mot olika typer av
allergen: gräs (50–52), björk-lövträd
(53, 54), katt (55) och hund (56–59),

kvalster (60), mögel (Cladosporium)
(61, 62). Man ansåg inte att det var
försvarligt med placebokontrollerade
studier för att belägga effekten av
immuneterapi med träd- och gräs-
pollenextrakt. Eftersom effekten
ansågs redan dokumenterad tidigare,
utfördes studierna med pollenextrakt
som jämförelser mellan två allergen-
preparat. Østerballe jämförde
effekten av antingen två gräspollenal-
lergen med vanligt gräsextrakt (50,

63), Frostad s.k. högrenat gräsextrakt
(Spectralgen®) med vanligt extrakt
(51, 64), och Kuhn använde en tidig
variant av Pollinex® gräs som hade
ingen eller låg effekt med partiellt
renat gräsextrakt (Pharmalgen®) (52).
De standardiserade extrakten visade
sig i allt väsentligt bättre vad gäller
minskade symptom och högre
tolerans vid provokation. Vad gäller
lövträdspollen jämförde Möller (54)
immuneterapi med standardiserat
björkextrakt med en blandning av lika
delar björkallergen, alallergen och
hasselallergen, medan Wihl (53)
jämförde björk med eller utan al eller
hasselallergen. Frågeställningen var:
Skall man använda rent björkextrakt
eller björk + al + hasselpollenextrakt?
Möllers studie visade att lövträds-
mix var signifikant mer symtomlindrande,
medan Wihls studie visade motsatsen.

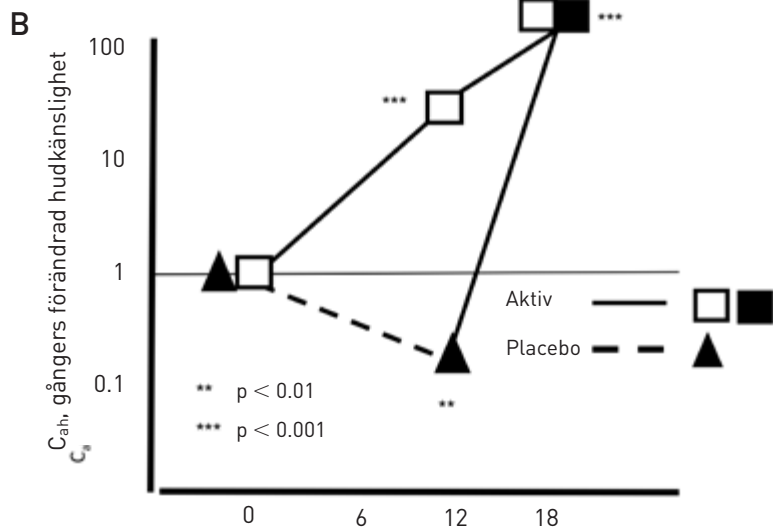
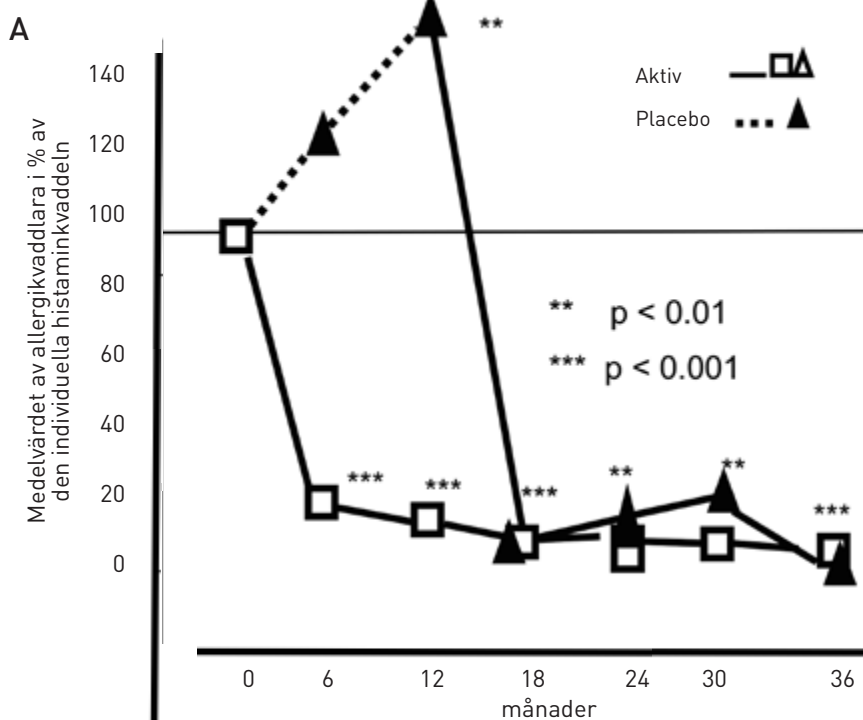
Nästa steg i utvecklingen var att
dokumentera effekten efter många
års uppföljning. Det gjordes för bl.a.
gräs (65), björk (66), katt och hund
(67) och kvalster, även om kvalster-
data aldrig publicerades (68).

Hunt et al. (25) i Baltimore och
Ulrich Müller (26) i Schweiz visade
i placebokontrollerade dubbelblind-
studier att immuneterapi med vatten-
lösligt insektsgift men inte helkropp-
extrakt eller placebo effektivt för-
hindrade anafylaxi hos höggradigt
insektsgiftkänsliga patienter. Detta
ledde till ett mycket snabbt godkän-
nande av den amerikanska myndig-
heten av insektgiftpreparat för
immuneterapi (69). Senare har en del
övergått till aluminiumhydroxid-
sorberat insektsgift (70) vilket också
är effektivt.

Dos-effekt?

Det har utförts få dos-effektstudier
med ASSCIT (71). Calderon et al.
sammanfattar att man måste komma
överens om hur allergenextrakt
standardiseras och använda precisa
metoder för att mäta effekten av
ASSCIT. Ser man på metoder som
mäter effekten på patienternas grad
av allergi och mäter förändringen med
precisa metoder t.ex. konjunktivalpro-
vokation (44, 45), istället för att mäta
symtom som är beroende av många
faktorer, så kan man uppmäta
skillnader också mellan doser (8).
Också pricktest kan användas för att

FIGUR 8. Två parallella grupper kvalsterkänsliga vuxna astmatiker behandlade
med antingen standardiserat kvalsterextrakt toppdos 60 µg av husdamms-
kvalstrets huvudallergen Der p 1 eller histamin placebo (4). Pricktest utfördes
med samma frystorkade kvalsterextrakt före och efter 6, 12, 24, 30 och 36 månaders
behandling. De placebobehandlade patienterna fick aktiv behandling efter ett år.
a. Allergenkvaldelns storlek i procent av histaminkvaldelns storlek.
b. Samma data men omräknat till histaminekvivalenta allergenkonscentrationen, C_{ha} .
(110)



bedöma effekten på patientens allergi, såvida metoden är optimerad och kontrollerad med minst dubbelprickar och med säkerhetstest (proficiency tests) (46, 47). Kan man mäta skillnader i effekt mellan andra grupper under behandling (konjunktivalprovokation (8), pricktest (49)) borde man också kunna mäta skillnader i effekt mellan doser. En refererad men tyvärr inte publicerad studie av Jan Björkander återges i figur 9.

Biverkningar

Successivt har varningar för risker uppdaterats i produktbeskrivningarna sedan standardiserade produkter avsedda för ASSCIT började marknadsföras. De flesta varningar bygger på förmodanden, inte på verifierade risker. Till exempel varnas för fysiska aktiviteter efter allergeninjektioner, som kan tänkas öka cirkulationen på injektionsstället och därmed frigöra mer allergen, som exempelvis idrott och bastubad. Det är svårt att mot-

säga sådana påståenden och också att vederlägga dem genom randomiserade studier.

Andra svårbedömda kontraindikationer har varit risken för debut eller försämring av autoimmuna sjukdomar. Det finns inga belegg för detta (72).

Kardiorespiratoriska sjukdomar som hjärtfel, koronasyukdom och starkt förhöjt blodtryck kan tänkas utgöra riskfaktorer vid ev. generell reaktion i samband med immunterapi och utgör därför relativ kontraindikation.

Allergiska reaktioner

Det är naturligt att en allergisk individ reagerar om den dos av allergen som tillförs är större än den som individen tål. För ett halvt århundrade sedan, och mycket längre i Nordamerika, utförde man före start av ASSCIT en intrakutan hudtitrering.

Sedan flera decennier tillverkar nordiska allergentillverkare allergen i fasta, 10-faldiga koncentrationer. Den svagaste av dessa (0,001–0.01 µg



År 2006 publicerade Ronald Dahl den första studien med användning av tabletter som fick smälta under tungan. Den visade effekt på hösnuvesymtom under grässåsongen. Successivt har gräs, ragweed, kvalster och björk studerats. FOTO: ALK.NET

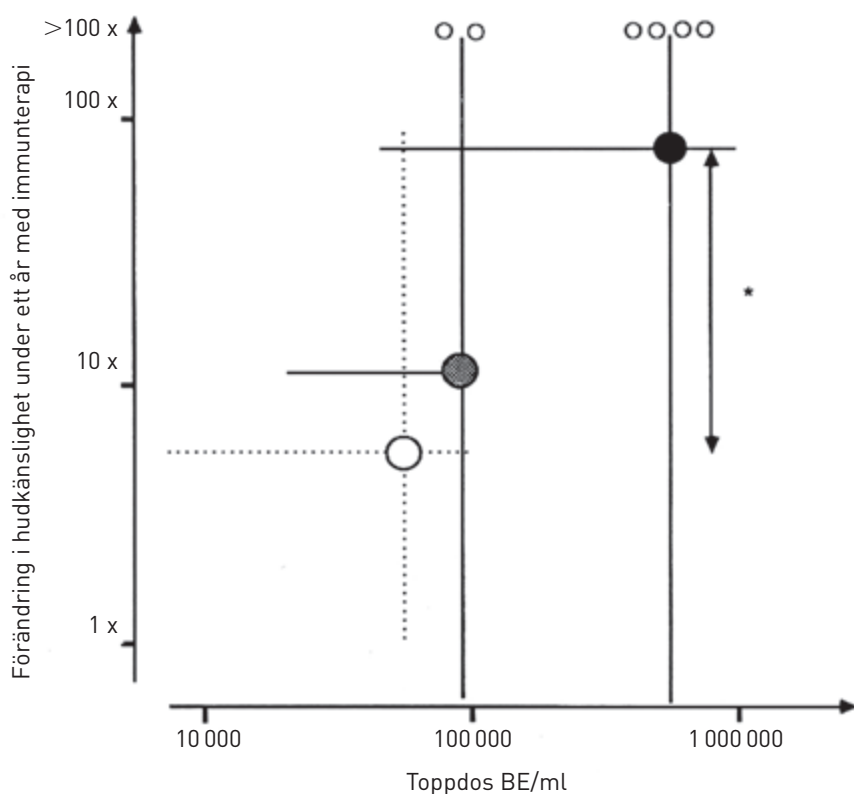
major allergen/ml) tolereras erfarenhetsmässigt, såvida patienten är symtomfri. På grund av den stora skillnaden i känslighet mellan patienter torde många tolerera betydligt högre doser initialt, men data saknas. Om patienten inte reagerar, höjs dosen antingen veckovis eller genom s.k. klusterdosering, flera doser med en halv timmes intervall samma dag. Om patienten inte reagerar, fortsätts titreringen en vecka senare.

Reaktioner kan vara omedelbara lokala i form av rodnad och svullnad som går över på någon till några timmar. Det kan också uppstå svullnad och mer diffus rodnad efter timmar till dagar, dvs. en allergisk senreaktion i huden. Vidare kan i sällsynta fall uppträda allmänreaktioner som snuva, nässel-feber, gastro-intestinala symtom, astma och i värsta fall anafylaxi (73).

De snabba lokala reaktionerna torde vara IgE-medierade. Logiskt bör de därför inte bli för stora, men deras värde för att styra immunterapi har ifrågasatts. Lokala senreaktioner, som uppträder vid mycket höga doser allergen, betraktas som tecken på att risken för allmänreaktioner är låg (personligt meddelande, Philip S Norman, icke publicerade data). Många har hävdat att risken för allmänreaktioner är störst under upp-dosering, men i många fall reagerar patienter på tidigare tolererade doser även under underhållsbehandling.

FIGUR 9. Tre grupper av vuxna gräspollenallergiker behandlades med timotejallergen. Förändringen hudkänslighet utvärderades med pricktest före respektive efter behandlingen. Grupp 1 fick standardiserat allergenextrakt, grå fyllt cirkel (toppdos 100 000 BE, ca 120 g Phl p 1); Grupp 2 fick samma mängd mPEG-modifierat timotejallergen, cirkel; Grupp 3 fick 1 000 000 BE mPEG-modifierat allergen, svart fyllt cirkel.

Den individuella toppdosen indikeras med horisontella linjer, förändringen i hudkänslighet illustreras med de vertikala linjerna, båda med 95% konfidensintervall. (37)



Några exempel

I USA, där det tidigare förekommit många dödsfall under immunterapi har man gjort upprepade genomgångar, den senaste från 2011 (74). Frekvensen dödsfall och allvarliga reaktioner har avtagit successivt under de senaste tre decennierna, men rapporterna är frivilliga och inte heltäckande.

I Australien inträffade i början av 1980-talet en serie dödsfall under immunterapi. Allmänpraktiserande läkare beställde extrakt från England på basen av hudtest eller RAST. Flera av de ansvariga läkarna var inte närvarande på mottagningen när reaktionen inträffade, patienter hade astma vid injektionstillfället, och det fanns ingen anafylaxiberedskap (Coroners Court, Wollongong).

I UK rapporterades år 1986 (75) ett stort antal dödsfall under immunterapi. Patienterna hade i de flesta fall behandlats av husläkare efter att extrakt ordinerats av allergentillverkare.

Vid samma tid inträffade flera dödsfall i Europa med extrakt från Pharmacia Diagnostics. Alla utreddes inom några dagar av en «haverikommission», de flesta fallen på kontinenten. Gemensamt för alla var bristande kunskaper hos behandlande läkare. I de flesta fall hade patienten pågående astma och/eller allergenexposition. I ett av fallen gavs injektioner i hemmet av sköterska utan anafylaxiberedskap (SD, personlig information).

För några år sedan förekom en epidemi av allmänreaktioner i Danmark. Först skyllde man på extrakten, men en utredning visade att majoriteten av reaktionerna inträffat efter tillfällig allergenexponering eller vid dåligt kontrollerad astma (42), ofta i kombination. Större delen av dessa patienter hade också behandlats av allmänpraktiker.

Kunskapen om riskfaktorer för allmänreaktioner vid ASSCIT har successivt ökat de senaste decennierna.

Före start av immunterapi är det väsentligt att genomföra en noggrann utredning av andra allergier och diagnostisera eventuell astma. Före varje injektion måste man kontrollera nylig allergenexponering och kontrollera lungfunktionen. Patientens eget bästa FEV_{1,0} eller PRF-värde är riktmärket (43).

För att öka kunskapen har EAACI utvecklat tre formulär att fylla i efter allmänreaktioner under ASSCIT (76).

Lokal immunterapi

Tidigt gjordes försök att tillföra allergen via andra organ än under huden. Inga sådana metoder ansågs ha visat positiva effekter när European Academy of Allergy and Clinical Immunology, EAACI, sammanfattade resultaten 1998 (77).

Oral immunterapi (OIT)

Redan 1902 hade Curtis publicerat försök med oral allergenadministration (2).

Under 1980-talet publicerade flera grupper oral administration av björkallergen i syraresistenta kapslar avsedda att passera magsäcken och nå tunntarmens Peyerska plaque (78, 79). Doserna var höga, på nivån mg huvudallergen per dag, dvs. kanske 1000 gånger högre doser än vid ASSCIT. Det fungerade med björkpollenallergen men inte med gräspollenallergen (80).

Senare har man prövat oral tillförsel av födoämnesallergen, men metoden är inte kliniskt användbar i nuläget, även om det finns några lovande resultat (81, 82).

Sublingual immunterapi (SLIT)

Under många år hade framför allt mellan- och sydeuropeiska allergologer, även allmänpraktiker, tillämpat sublingual applicering av allergen i droppform. Man använde oftast icke standardiserade extrakt med varierande spädning. EAACI fann den vetenskapliga dokumentationen bristfällig i sin översikt 1998 (77). De följande åren diskuterades om allergenlösningen skulle hållas under tungan och sedan sväljas, eller behållas under tungan och sedan spottas ut.

År 2006, dvs. för drygt 10 år sedan, publicerade Ronald Dahl den första studien med användning av tabletter som fick smälta under tungan (83). Den visade effekt på hösnuvsymtom under grässäsongen. Senare visade Frølund (84) att effekten kvarstod också ett år efter avslutad behandling. Tabletterna innehöll i stort sett samma mängder allergen (15–20 µg huvudallergen), som använts i kliniska studier med dokumenterad effekt med ASSCIT (toppdos 6–20 µg huvudallergen (85)). Eftersom medicineringen sker i hemmet har säkerheten ifrågasatts, men nu kan man slå fast att säkerheten är stor (86, 87). Trots detta anbefaller den amerikanska kontrollmyndigheten, FDA, att patienten har adrenalinautoinjektor till hands i samband med tablettintaget. Portnoy och Cox har nyligen ifrågasatt behovet av adrenalinpennor vid SLIT (86).

Successivt har gräs, kvalster, ragweed (*Ambrosia*) och björk studerats. De hittills publicerade studierna har visat effekt även tre år

Tredimensionell struktur av björkpollenets huvudallergen, Bet v 1 klarlagd 1996 (111).

FOTO: ÅKKNET



efter avslutad behandling, dvs. ASSCIT har en sjukdomsmodifierande behandlingseffekt. Det finns både metaanalyser (88) och nyligen en bred genomgång av SLIT (87, 89–93). Konklusionen är att SLIT är effektivt, men graden av effekt i jämförelse med SCIT är osäker. Det är få generella biverkningar rapporterade utom vid första dos och första veckan (91), varför den i USA hittills påbjudna beredskapen med adrenalinautoinjektorer ifrågasätts (87, 91).

Doserna ges varje till var tredje dag, antingen under säsongen eller från åtta veckor före säsongstart till efter säsongens slut.

Effekten av SLIT i förhållande till den man får med ASSCIT har inte prövats (94), varför «proof of concept»-studier med parallella grupper snarast måste genomföras.

Intralymfatisk immunterapi

Senti och Kündig (95) har utfört intralymfatisk immunterapi med bigift, gräs- och björkextrakt med injektioner i inguinala lymfkörtlar. Dosen som varit låg har upprepats tre gånger med 4 veckors intervall. Cardells grupp på Karolinska sjukhuset har (96) använt 1000 SQ-E björk- och timotejextrakt, motsvarande ca 130 ng Bet v 1 respektive 200 ng Phl p 5. Toppdosen vid ASSCIT är 100 000 SQ-E motsvarande 13 000 ng respektive 20 000 ng, dvs. ca 100 gånger högre dos än vid intralymfatisk injektion. Kortare intervall verkar inte ge lika bra resultat (95).

Nya modeller för immunterapi

Rekombinanta allergen

Rekombinanta allergen har framställts i mer än ett decennium. Den första studien av immunterapi med rekombinant allergen utfördes med Bet v 1, huvudallergen hos björkpollen (97). För diagnostiska ändamål måste rekombinanta allergen ha rätt sterisk konfiguration för att i diagnostiska test reagera med allergenspecifikt IgE. Vid immunterapi som är beroende av icke steriska T-cellseptoper är detta inte nödvändigt. Rekombinanta allergen kan framställas i stora mängder till låg kostnad, men måste uppfylla stränga krav på renhet etc. innan de kan användas i människa.

Rekombinanta allergen med nedsatt IgE-bindande förmåga

Rudolf Valentas grupp i Wien var först med att föreslå produktion av rekombinanta allergen med nedsatt IgE-bindande förmåga (*hypoallergent* «allergen») (98). Sedan dess har ett flertal hypoallergen framställts.

I en «proof-of-concept» prövning jämförde Klimek et al. (99) hypoallergent Bet v 1 med standardextrakt av björk. De kunde ge högre doser av det rekombinanta hypoallergena «allergen» utan biverkningar, men fann ingen skillnad i symtomminskning.

T-cellsbaserade vacciner

Fosfolipas A2 från bigift (100) och katt Fel d 1 t och T-cellseptoper (101) har använts för försök att framställa peptider för ASIT.

Det har också gjorts prekliniska försök med fyra hundallergen (lipokaliner, Can f 1, Can f 2, Can f 4, Can f 6), som kombinerats i en molekyl tänkt för immunterapi och som prövats i djurförsök, ett «syntetiskt» hundallergen (102). Också «kombinationsmolekyler» av epitoper från flera inomhus-allergen har framställts för inledande försök.

Modifierande substanser kopplade till allergen

Bakterieproteiner, cellkomponenter, *Mycobacterium vaccae*, och viruspeptider är olika former av adjuvans under utvärdering. Ett sådant exempel är Hepatit B kopplat till peptider från kattens huvudallergen Fel d 1 (103).

Anti-IgE och anticytokiner

För att minska risken för allergiska reaktioner har anti-IgE och anti-cytokiner använts. Endast anti-IgE har använts i rapporterade studier. Effekten på symtom visade förbättring, men i vad mån anti-IgE eller immunterapi svarar för skillnaden mot placebo framgår inte (104).

DNA-vaccination mm

Djurförsök pågår för att undersöka möjligheten att inplantera DNA som kodar för de allergen patienten är känslig för (105). Det verkar heroiskt och svårt att styra. Man har också föreslagit att transplantera genetiskt modifierade stamceller (106).

Uppföljning av immunterapi

Under många år har immunterapi genomförts utan individuell systematisk uppföljning av resultatet vad gäller symtom och grad av allergi. Ingen behandling, inte heller immunterapi, bör ges utan produktionskontroll. Under senare år har framhållits möjligheten att följa upp årligen med symtomgradering, med t.ex. VAS-skala, efter ev. säsong. Det finns också en rad internationellt använda skoringssystem av astma och hösnuvesymtom. Som sagts är påverkan på patientens allergi det man i första hand kan och bör följa upp med objektiva metoder. Årligen efter säsong rekommenderas därför utvärdering med titrerad konjunktivalprovokation (ev. nasalprovokation) med det aktuella allergenet (FIGUR 1 OCH 6). Hudtester med beräkning av histaminekvivalenta allergenkonzentrationen, Cha (48, 49, 107) (FIGUR 8). Förändring i hudkänsligheten korrelerar till förändring i konjunktival känslighet (44, 45).

Det finns en uppsjö av s.k. «position papers» och enskilda kollegors rekommendationer. I Skandinavien räcker det gott med den svenska (SFFA) (108) och den norska allergiföreningens (NFAI) (43) rekommendationer.

Summering

Allergenspecifik immunterapi utförd med väl definierade extrakt/preparationer är immun-modulerande och den enda behandling av allergiska sjukdomar som varaktigt kan minska patientens allergi. Immunterapi med allergener är speciesspecifik (epitopspecifik). Allergen kan administreras subkutant, sublingvalt, eller på annat sätt (oralt, epikutant, intrakutant, intralymfatiskt), så att det når immunokompetenta celler. Modifierade allergen kan i vissa fall förlänga frisättningen av allergen och minska risken för generella reaktioner. Dos, doseringsintervall och många andra faktorer påverkar graden av positiv effekt och minskar biverkningar. Nya behandlingsmetoder med användning av hypoallergena rekombinanta allergen, injektion i lymfkörtlar och peptider med T-cellseptoper är några av de aktuella utvecklingslinjerna.

REFERENSER

3. Freeman J. Further observations on the treatment of hay fever by hypodermic inoculation of pollen vaccine. *Lancet* 1911; ii: 814-7.
4. Noon L. Prophylactic inoculation against hay fever. *Lancet* 1911; i: 1572-3.
7. Frankland AW, Augustin R. Prophylaxis of summer hay-fever and asthma: a controlled trial comparing crude grass-pollen extracts with the isolated main protein component. *Lancet* 1954; 266(6821): 1055-7.
8. Dreborg S, Lee T, Kay A, Durham S. Immunotherapy is allergen-specific: a double-blind trial of mite or Timothy extract in mite and grass dual-allergic patients. *Int Arch Allergy Immunol* 2012; 158(1): 63-70.
9. Dreborg S. Evaluation of allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2015; 3(2): 267-8.
18. Larsen JN, Dreborg S. Standardization of allergen extracts. In: Walker A, editor. *Methods in molecular medicine*. 1382008. p. 133-45.
21. Dreborg S, Basomba A, Belin L, Durham S, Einarsson R, Eriksson N, et al. Biological equilibration of allergen preparations: methodological aspects and reproducibility. *Clin Allergy* 1987; 17(6): 537-50.
22. Guidelines for registration and standardization of allergenic extracts. 2 ed. Uppsala: Nordic Council on Medicines; 1989. p. 1-48.
25. Hunt KJ, Valentine MD, Sobotka AK, Benton AW, Amodio FJ, Lichtenstein LM. A controlled trial of immunotherapy in insect hypersensitivity. *N Engl J Med* 1978; 299(4): 157-61.
28. Bjorksten F, Halmepuro L, Hannuksela M, Lahti A. Extraction and properties of apple allergens. *Allergy* 1980; 35(8): 671-7.
29. Dreborg S, Foucard T. Allergy to apple, carrot and potato in children with birch pollen allergy. *Allergy* 1983; 38(3): 167-72.
30. Dreborg S. Skin prick/puncture testing in food allergy. In: Abdel Rahman AM, editor. *Food Allergy- Methods of detection and clinical studies* 2017. p. In press.
31. Rance F, Juchet A, Bremond F, Dutau G. Correlations between skin prick tests using commercial extracts and fresh foods, specific IgE, and food challenges. *Allergy* 1997; 52(10):1031-5.
37. Dreborg S, Akerblom EB. Immunotherapy with monomethoxypolyethylene glycol modified allergens. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 1990; 6(4): 315-65.
39. Nelson H, Cartier S, Allen-Ramey F, Lawton S, Calderon MA. Network meta-analysis shows commercialized subcutaneous and sublingual grass products have comparable efficacy. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2015; 3(2): 256-66 e3.
43. Bolle R, Berstad A, Florvaag E, Steinsvåg S. Praktisk veileder i allergivaksinasjon. Norsk kvalitetsstyringsdokument for Hyposensibilisering – Allergenspesifikk immunterapi – Allergivaksinasjon Norsk Forening for Allergologi og Immunpatologi. 2 ed. Oslo: Den Norske Legeforening; 2011.
44. Moller C, Bjorksten B, Nilsson G, Dreborg S. The precision of the conjunctival provocation test. *Allergy* 1984; 39(1): 37-41.
46. Bernstein IL, Li JT, Bernstein DI, Hamilton R, Spector SL, Tan R, et al. Allergy diagnosis testing: an updated practice parameter. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008; 100(Suppl 3): S1-148.
47. Dreborg S. Proficiency testing: Skin prick test. AAAAI Annual Meeting 2013; 2013-02-22; San Antonio, USA. <https://aaaai.confex.com/aaaai/2013/webprogram/handouts/Session1315.html> AAAAI; 2013. p. 1-2.
48. Dreborg S, Holgersson M. Evaluation of methods for the estimation of threshold concentrations by the skin prick test. *Int Arch Allergy Immunol* 2015; 166(1): 71-6.
49. Dreborg S, Basomba A, Löfkvist T, Holgersson M, Möller C. Evaluation of Skin Reactivity during (Immuno-) Therapy. Validation of Methods for Estimation of Changes in Skin Reactivity and Correlation to Shock Organ Sensitivity. *Immunotherapy Open access*. 2016; 2: 109.
54. Möller C, Dreborg S. Cross-reactivity between deciduous trees during immunotherapy. I. In vivo results. *Clin Allergy* 1986; 16(2):135-43.
58. Valovirta E, Koivikko A, Vanto T, Viander M, Ingeman L. Immunotherapy in allergy to dog: a double-blind clinical study. *Ann Allergy* 1984; 53(1): 85-8.
59. Sundin B, Lilja G, Graff-Lonnevig V, Hedlin G, Heilborn H, Norrlind K, et al. Immunotherapy with partially purified and standardized animal dander extracts. I. Clinical results from a double-blind study on patients with animal dander asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 77(3): 478-87.
60. Haugaard L, Dahl R, Jacobsen L. A controlled dose-response study of immunotherapy with standardized, partially purified extract of house dust mite: clinical efficacy and side effects. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 91(3): 709-22.
61. Dreborg S, Agrell B, Foucard T, Kjellman NI, Koivikko A, Nilsson S. A double-blind, multicenter immunotherapy trial in children, using a purified and standardized *Cladosporium* herbarum preparation. I. Clinical results. *Allergy* 1986; 41(2):131-40.
62. Malling HJ, Dreborg S, Weeke B. Diagnosis and immunotherapy of mould allergy. V. Clinical efficacy and side effects of immunotherapy with *Cladosporium herbarum*. *Allergy* 1986; 41(7): 507-19.
64. Frostad AB, Grimmer O, Sandvik L, Moxnes A, Aas K. Clinical effects of hyposensitization using a purified allergen preparation from Timothy pollen as compared to crude aqueous extracts from Timothy pollen and a four-grass pollen mixture respectively. *Clin Allergy* 1983; 13(4): 337-57.
65. Mosbech H, Osterballe O. Does the effect of immunotherapy last after termination of treatment? Follow-up study in patients with grass pollen rhinitis. *Allergy* 1988; 43(7): 523-9.
67. Hedlin G, Heilborn H, Lilja G, Norrlind K, Pegelow KO, Schou C, et al. Long-term follow-up of patients treated with a three-year course of cat or dog immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96(6 Pt 1): 879-85.
71. Calderon MA, Larenas D, Kleine-Tebbe J, Jacobsen L, Passalacqua G, Eng PA, et al. European Academy of Allergy and Clinical Immunology task force report on 'dose-response relationship in allergen-specific immunotherapy'. *Allergy* 2011; 66(10):1345-59.
72. Linneberg A, Madsen F, Skaaby T. Allergen-specific immunotherapy and risk of autoimmune disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012; 12(6): 635-9.
74. Bernstein DI, Epstein T. Systemic reactions to subcutaneous allergen immunotherapy. *Immunol Allergy Clin North Am* 2011; 31(2): 241-9, viii-ix.
75. Medicines CoSo. Desensitizing vaccines. *BMJ* 1986; 293: 948.
79. Bjorksten B, Moller G, Broberger U, Ahlstedt S, Dreborg S, Johansson SGO, et al. Clinical and Immunological Effects of Oral Immunotherapy with a Standardized Birch Pollen Extract. *Allergy* 1986; 41: 290-5.
83. Dahl R, Stender A, Rak S. Specific immunotherapy with SQ standardized grass allergen tablets in asthmatics with rhinoconjunctivitis. *Allergy* 2006; 61(2):185-90.
84. Frolund L, Durham SR, Calderon M, Emminger W, Andersen JS, Rask P, et al. Sustained effect of SQ-standardized grass allergy immunotherapy tablet on rhinoconjunctivitis quality of life. *Allergy* 2010; 65(6): 753-7.
85. Bousquet J, Lockey R, Malling HJ. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. A WHO position paper. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102(4 Pt 1): 558-62.
86. Portnoy J, Cox LS. Is the Benefit From Prescribing Epinephrine Autoinjectors for Sublingual Immunotherapy Worth the Cost? Lessons Learned From Clinical Trials. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017; 5(1): 90-1.
87. Epstein TG, Calabria C, Cox LS, Dreborg S. Current Evidence on Safety and Practical Considerations for Administration of Sublingual Allergen Immunotherapy (SLIT) in the United States. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017; 5(1): 34-40 e2.
88. Devillier P, Dreyfus JF, Demoly P, Calderon MA. A meta-analysis of sublingual allergen immunotherapy and pharmacotherapy in pollen-induced seasonal allergic rhinoconjunctivitis. *BMC Med* 2014; 12: 71.
89. Anderson HM, Wood RA, Busse WW. Dust Mite-Induced Perennial Allergic Rhinitis in Pediatric Patients and Sublingual Immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017; 5(1):46-51.
91. Nolte H, Casale TB, Lockey RF, Fogh BS, Kaur A, Lu S, et al. Epinephrine Use in Clinical Trials of Sublingual Immunotherapy Tablets. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017; 5(1): 84-9 e3.
93. Pepper AN, Calderon MA, Casale TB. Sublingual Immunotherapy for the Polyallergic Patient. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017; 5(1): 41-5.
94. Bahceciler NN, Galip N. Comparing subcutaneous and sublingual immunotherapy: what do we know? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012; 12(6): 640-7.
95. Senti G, Kundig TM. Intralymphatic immunotherapy. *World Allergy Organ J* 2015; 8(1): 9.
96. Hylander T, Larsson O, Petersson-Westin U, Eriksson M, Kumlien Georen S, Winqvist O, et al. Intralymphatic immunotherapy of pollen-induced rhinoconjunctivitis: a double-blind placebo-controlled trial. *Respir Res* 2016; 17: 10.
97. Purohit A, Niederberger V, Kronqvist M, Horak F, Gronneberg R, Suck R, et al. Clinical effects of immunotherapy with genetically modified recombinant birch pollen Bet v 1 derivatives. *Clin Exp Allergy* 2008; 38(9):1514-25.
98. Vrtala S, Hirtenlehner K, Susani M, Hufnagl P, Binder BR, Vangelista L, et al. Genetic engineering of recombinant hypoallergenic oligomers of the major birch pollen allergen, Bet v 1: candidates for specific immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 118(2-4): 218-9.
99. Klimek L, Bachert C, Lukat KF, Pfaar O, Meyer H, Narkus A. Allergy immunotherapy with a hypoallergenic recombinant birch pollen allergen rBet v 1-FV in a randomized controlled trial. *Clin Transl Allergy* 2015; 5: 28.
102. Nilsson OB, Neimert-Andersson T, Bronge M, Grundstrom J, Sarma R, Uchtenhagen H, et al. Designing a multimer allergen for diagnosis and immunotherapy of dog allergic patients. *PLoS one*. 2014; 9(10): e111041.2010; 105(5): 351-8.
104. Kuehr J, Brauburger J, Zielen S, Schauer U, Kamin W, Von Berg A, et al. Efficacy of combination treatment with anti-IgE plus specific immunotherapy in polysensitized children and adolescents with seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109(2): 274-80.
105. Valenta R, Ferreira F, Focke-Tejkl M, Linhart B, Niederberger V, Swoboda I, et al. From allergen genes to allergy vaccines. *Annu Rev Immunol* 2010; 28: 211-41.
107. Dreborg S. Evaluation of skin reactivity. The concept of histamine equivalent allergen threshold concentration. submitted. 2017.
108. Arvidsson M, Odeback P, Eriksson EM, Hammarlund A, Nilsson A, Sundler L, et al. Allergenspecifikk immunterapi. . Stockholm: Svensk Förening för Allergologi; 2009. Available from: http://www.sffa.nu/wp-content/uploads/2015/11/2010_ASIT.pdf.
111. Spangfort MD, Gajhede M, Osmark P, Poulsen FM, Ipsen H, Larsen JN, et al. Three-dimensional structure and epitopes of Bet v 1. *Int Arch Allergy Immunol*. 1997; 113(1-3): 243-5.

Fullständig referenslista under original-artikeln, www.naaf.no/allergipraksis