

# Szczepionki alergenowe – możliwości poprawy bezpieczeństwa

## Allergy vaccines – chances to improve safety

RYSZARD RUTKOWSKI<sup>1/</sup>, KRZYSZTOF RUTKOWSKI<sup>2/</sup>, ŁUKASZ STACHURSKI<sup>3/</sup>

<sup>1/</sup> Samodzielna Pracownia Diagnostyki Oddechowej i Bronchoskopii AM, Białystok

<sup>2/</sup> Queen Mary's Sidcup NHS Trust, United Kingdom

<sup>3/</sup> Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny, Białystok

### Streszczenie

Bezpieczeństwo immunoterapii swoistej ciągle budzi kontrowersje i rodzi zastrzeżenia. Ryzyko wystąpienia w trakcie odczulania potencjalnych objawów ubocznych można istotnie ograniczyć poprzez: właściwą standaryzację alergenów terapeutycznych, uzyskanie „alergoidów”, wprowadzenie nowych adiuwantów, alergenów rekombinowanych, syntetycznych peptydów zawierających główne epitopy danych alergenów oraz tworzenie nowych dróg immunoterapii.

Stosowanie różnorodnych jednostek arbitralnych lub jednostek wewnętrznych producentów może być mylące, utrudnia ocenę właściwości szczepionek, może być też źródłem rozbieżności uzyskiwanych wyników badań klinicznych, kontrowersji naukowych i trudności terapeutycznych w przebiegu odczulania. W celu uniknięcia wspomnianych problemów międzynarodowe towarzystwa alergologiczne zalecają, aby wszystkie szczepionki alergenowe były standaryzowane.

Wprowadzenie do alergologii metod biologii molekularnej pozwoliło dokładnie poznać strukturę licznych alergenów i dokonać dalszej poprawy jakości preparatów terapeutycznych. Zmiana struktury trzeciorzędowej alergenu lub częściowe usunięcie epitopów B – komórkowych pozwoliła na zsyntetyzowanie alergoidów, czyli chemicznie zmodyfikowanych alergenów.

Dalszy postęp stanowi możliwość uzyskania alergenów rekombinowanych, które łączą wszystkie zalety alergoidów, a równocześnie są podstawą do ściśle zdefiniowanych chemicznie modyfikacji.

Kolejna możliwość prowadzenia bezpiecznej immunoterapii wiąże się z wykorzystaniem do wytwarzania szczepionek alergenowych nowych, ulepszonych adiuwantów. Adiuwanty wzmacniają siłę immunogenną szczepionek, bez jednoczesnego zwiększania zdolności indukowania reakcji IgE-zależnych. Nadzieją immunoterapii są syntetyczne oligonukleotydy ODN CpG w połączeniu z białkami alergenowymi.

**Słowa kluczowe:** szczepionki alergenowe, standaryzacja, alergoidy, alergeny rekombinowane, adiuwanty

### Summary

The safety aspects of specific immunotherapy (SIT) are still controversial and the procedure has some limitations. The probability of SIT side effects can be significantly reduced by appropriate standardisation of therapeutic allergens, introduction of specific allergoids, new adjuvants, recombinant allergens, synthetic peptides with main epitopes of major allergens, and developing new methods of immunotherapy.

The application of varying arbitrary units or producers' own units may be confusing, render vaccines assessment difficult, lead to ambiguous results of clinical studies, scientific controversies and therapeutic problems during immunotherapy. All allergology societies recommend allergy vaccine standardisation to avoid the above mentioned pitfalls.

The implementation of molecular biology allows us to understand the structure of many allergens and improve the quality of therapeutic preparations. Changing the tertiary structure of allergens or partial deletion of B-cell epitopes allows for the synthesis of allergoids, or chemically modified allergens. The recombinant allergens, which retain all the features of allergoids, may constitute the basis for strictly defined chemical modifications.

The production of allergen vaccines based on new and improved adjuvants is another option for safe SIT. Adjuvants strengthen vaccine immunogenicity without enhancing IgE-mediated reactions. Oligonucleotids (ODN CpG) bound to allergen proteins are the future of immunotherapy.

**Key words:** allergen vaccines, standardisation, allergoids, recombinant allergens, adjuvants

© Alergia Astma Immunologia, 2007, 12(2): 73-80

www.mediton.pl/aai

Nadesłano: 20.09.2006

Zakwalifikowano do druku: 12.12.2006

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Ryszard Rutkowski

15-073 Białystok, ul. Starobojarska 20 m 6

tel. (85) 746 82 44, 745 05 81, fax (85) 746 82 44

e-mail: rutkowski@csk.pl

Immunoterapia swoista (*Specific immunotherapy* – SIT) polega na podawaniu wzrastających dawek wyciągu alergenowego uczulonemu pacjentowi w celu złagodzenia objawów wywoływanych przez ekspozycję na dany alergen [1,2,3,4]. Bezpieczeństwo immunoterapii, pomi-

mo że jest to znana i powszechnie uznawana metoda terapeutyczna w alergologii – ciągle budzi kontrowersje i rodzi zastrzeżenia [5,6,7,8,9]. Ryzyko wystąpienia w trakcie odczulania potencjalnych objawów ubocznych można istotnie ograniczyć poprzez [1,4,10,11,12]: właściwą

standaryzację alergenów terapeutycznych, uzyskanie „alergoidów” zachowujących duży stopień immunogenności, jednocześnie pozbawionych działania uczulającego, wprowadzenie nowych adiuwantów, wprowadzenie alergenów rekombinowanych, wprowadzenie syntetycznych peptydów zawierających główne epitopy danych alergenów, tworzenie nowych dróg immunoterapii.

### Standaryzacja szczepionek

Swoista diagnostyka i leczenie przyczynowe schorzeń alergicznych IgE-zależnych opiera się tradycyjnie na wykorzystaniu wodnych wyciągów z różnych źródeł alergenów. Większość tych ekstraktów stanowi złożone mieszaniny białek, z których tylko niektóre mają właściwości alergiczne. Czynione są próby zdefiniowania względnej wartości alergenów pod kątem częstości wywoływania uczulenia w populacji alergicznych pacjentów. W centrum uwagi znajdują się tzw. alergeny główne, czyli te białka, na które jest uczulonych ponad 50% osób reagujących na określony wyciąg alergenów. Jakość wyciągu alergennego zależy w dużym stopniu od naturalnego materiału wyjściowego do ekstrakcji, dlatego stałość składu pomiędzy seriami musi być ściśle kontrolowana i określana w porównywalnych jednostkach [13,14,15,16,17]. Stosowanie różnorodnych jednostek arbitralnych lub jednostek wewnętrznych producentów może być mylące, utrudnia ocenę właściwości szczepionek wytwarzanych w USA ze szczepionkami powstającymi w Europie, może być też źródłem rozbieżności uzyskiwanych wyników badań klinicznych. kontrowersji naukowych i trudności terapeutycznych w przebiegu odczulania [8,9,18]. W celu uniknięcia wspomnianych problemów europejskie oraz amerykańskie towarzystwa alergologiczne zalecają, aby wszystkie szczepionki alergiczne były standaryzowane. Szczegółowe wytyczne dotyczące standaryzacji alergenów zawarto w Stanowisku Europejskiej Akademii Alergologii i Immunologii Klinicznej EAACI w sprawie Standaryzacji Alergenów i Testów Skórnych i zaleceniach Amerykańskiego Towarzystwa Alergologii i Immunologii Klinicznej AAACI [19,20,21,22]. W krajach europejskich dominuje system standaryzacji biologicznej według procedur Komitetu Nordyckiego, podczas gdy w USA standaryzację przeprowadza się zgodnie z zaleceniami *Food and Drug Administration* (FDA) [8,18,23,24]. Standaryzacja szczepionek alergicznych pozwala uzyskać preparaty diagnostyczne i terapeutyczne o określonym, stałym składzie białkowym i porównywalnej sile alergennej oraz zapewnia, że uzyskany preparat w każdej serii zawiera wszystkie alergeny i utrzymuje pożądaną proporcję głównych antygenów. Niewątpliwą, praktyczną korzyścią wynikającą ze standaryzacji jest również:

- większa stabilność, skuteczność i niższy koszt terapii,
- dokładny i prosty schemat dawkowania, łatwiejsze określanie właściwych dawek, mniejsza różnica aktywności pomiędzy poszczególnymi szczepionkami,

- możliwość bezpiecznej zmiany lekarza w trakcie leczenia np. ze względu na zmianę miejsca zamieszkania [24,25].

Dokładna wiedza o sile alergennej, aktywności biologicznej oraz zawartości alergenu głównego w jednostce masy stosowanej szczepionki umożliwia precyzyjną kontrolę podawanej i skutecznej dawki podtrzymującej, a także w praktyce pozwala zdecydowanie ograniczyć ryzyko wystąpienia powikłań podczas immunoterapii [8,18,26].

Ocenę całkowitej siły alergennej szczepionek alergicznych umożliwiają testy skórne, które pozwalają na ich zdefiniowanie w jednostkach biologicznych. Istnieją także nowe technologie, które umożliwiają przygotowanie charakterystyki szczepionki zawierającej dane o ilości głównych alergenów wyrażone w nano- lub mikrogramach na dawkę. Obecnie do określenia całkowitej siły alergennej szczepionki wykorzystuje się m.in.:

- jednostki międzynarodowe (IU – *International Units*),
- jednostki alergii (AU – *Allergy Units*),
- biologiczne jednostki alergii (BAU – *Biological Allergy Units*),
- jednostki biologiczne (BU – *Biological Units*),
- jednostki terapeutyczne (TU – *Therapeutic Units*).

Niekiedy oznacza się tzw. wskaźnik reaktywności (IR/ml – *Index of reactivity*), który określa stężenie szczepionki wywołujące u osoby uczulonej rumień o średnicy powyżej 7 milimetrów (tab. I).

Szczepionki niestandardyzowane oznaczane są w jednostkach określających stosunek wagi do objętości (w/v – *weight-to-volume units*) lub jednostkach azotowo-białkowych (PNU – *protein nitrogen units*), które jednak nie korelują wystarczająco z aktywnością biologiczną ekstraktu [1,3,8,9,18,20,25,27]. Szczepionki wyprodukowane na bazie ekstraktów wykazują brak odpowiednio wysokiego stężenia alergenów, wysoką niestabilność oraz mogą wywoływać nowe uczulenia na zanieczyszczające je białka alergiczne [15,16]. Z powyższych względów WHO zaleca stosowanie szczepionek alergicznych, których standaryzacja uwzględnia:

- alergenowość i immunogenność preparatu,
- aktywność biologiczną i zawartość głównych alergenów w przeliczeniu na jednostkę masy oraz gwarantuje zbliżone stężenie alergenu w kolejnych seriach szczepionki [28,29].

### Alergoidy i alergeny rekombinowane

Wprowadzenie do alergologii metod biologii molekularnej pozwoliło dokładnie poznać strukturę licznych alergenów i dokonać dalszej poprawy jakości preparatów terapeutycznych do immunoterapii swoistej. Zbadanie struktury alergenu umożliwiło wyodrębnienie regionów odpowiedzialnych za wiązanie swoistych IgE oraz oddziałujących na limfocyty T helper, tzn. epitopów B- i T-komórkowych. Zmiana struktury trzeciorzędowej alergenu lub

Tabela 1. Jednostki stosowane do standaryzacji preparatów diagnostycznych i szczepionek alergologicznych [1,3,8,17,18,20,23,24,25,67,68]

Jednostka	Unit	Definicja	Uwagi
Jednostki alergiczne AU	Allergy Units	Wyciąg zawiera 100 000 AU/ml, jeżeli wywołuje rumień, którego suma wymiarów poziomego i pionowego wynosi 50mm u osób z nasiloną alergią	Jednostka stosowana w USA, zalecana przez FDA (U.S. Food of Drug Administration )
Biologiczne jednostki alergii BAU	Biological Allergy Units/Bioequivalent Allergy Unit		Jednostka stosowana w USA, wprowadzona w 1991 r. przez FDA w miejsce jednostek alergicznych AU
Jednostki biologiczne	Biologic Units	1BU = ok.1 ng alergenu wziewnego pospolitych alergenów wziewnych	Jednostki powszechnie stosowane w Europie, zalecane przez Wytyczne Nordyckie (Nordic Committee on Allergen Standardization) ALK – Abello A/S, Dania
BU/ml BE/ml HEP/ml	Histamine Equivalent Potency	1 HEP = BUH <sub>10</sub> = 10 000BU/ml oznacza takie stężenie szczepionki alergenowej, które w testach skórnych powoduje powstanie bąbla tej samej wielkości jak po roztworze histaminy o stężeniu 10 mg/ml (H <sub>10</sub> )	
Jednostki diagnostyczne DU/ml Jednostki międzynarodowe IU/ml	Diagnostic Units International Units	Optymalne stężenie diagnostyczne 10 000 DU/ml to stężenie, które pozwala na odróżnienie osób uczulonych od zdrowych Jednostki arbitralne	Pozwala określić optymalną wrażliwość i swoistość szczepionki przez badanie różnych stężeń osób z alergią i bez alergii WHO
Jednostki Noona	Noon units	Ilość alergenu wyekstrahowanego z 1 mikrograma materiału 2 jednostki Noona = 1PNU	1 gram materiału wyjściowego ekstrahowany z 100 ml roztworu daje 10 <sup>6</sup> jednostek Noona; 1 ml ekstraktu zawiera 10 000 jednostek Noona
Jednostki azotu białkowego PNU	Protein Nitrogen Units	Ścisłe określona ilość białka alergenowego mierzona zawartością azotu białkowego 1 PNU = 0,01mcg azotu białkowego 1 PNU = 2 TNU = 2 jednostki Noona	Wytwórnia Surowic i Szczepionek "Biomed" S.A. Kraków - Catalet, Perosall, Allergy Therapeutics Ltd., Anglia – Pollinex
Jednostki standaryzacji jakościowej SQ-U	Standard Quality Units	Jednostka standaryzacji określająca bezpieczeństwo i skuteczność immunoterapii 100000 SQ-U oznacza dawkę z optymalną relacją między efektami terapeutycznymi, a skutkami ubocznymi w przeciętnej populacji pacjentów	Firma ALK-Abello A/S, Dania – Alutard SQ, Aquagen Pharnalgen, Pangramin SLIT
Jednostki standardowe SU	Standard Units	Jednostka standaryzacji oparta o ocenę immunogenności	Allergy Therapeutics – Pollinex + Rye, Pollinex Tree
Jednostki całkowitego azotu TNU	Total Nitrogen Units	Określają zawartość całkowitego azotu w ml rozpuszczalnika	1 TNU = 0,00001 mg azotu/ ml 1 PNU = 2 TNU
Jednostki terapeutyczne TU	Therapeutic Units	Ścisłe określona ilość białka posiadająca aktywność alergenową określona wg testu hamowania RAST	Allergopharma Joachim Ganzer KG, Niemcy Allergovit, Novo-Helisen Depot, Novo-Helisen Oral
Jednostki wagowo-objętościowe wt/vol	Weight by volume Units	Rozcieńczenie 1:100 oznacza, że 1 gram substancji czynnej występuje w 100 ml rozpuszczalnika	
Standaryzowane jednostki biologiczne SBE	Standardisierte Biologische Einheiten	1000 SBE/ml = 1000 BU/ml	Firma Allergopharma Joachim Ganzer KG, Niemcy
Wskaźnik reaktywności IR	Index of Reactivity	Wyciąg alergenowy posiada aktywność równą 100IR/ml, jeśli w teście skórny Prick'a przy użyciu igły do nakłuwania u 30 uczulonych chorych powoduje powstanie rumienia o średnicy 7 mm	Wskaźnik reaktywności dla alergenów standaryzowanych firmy Stallergens, Francja Phostal, Staloral
Wskaźnik stężenia IC	Index of Concentration	Wyciąg alergenowy posiada aktywność równą 100 IC/ml, gdy jego stężenie odpowiada stężeniu 100 IR referencyjnego, wystandaryzowanego alergenu należącego do tej samej grupy	Wskaźnik reaktywności dla alergenów niestandardowych firmy Stallergenes, Francja, Phostal, Staloral

częściowe usunięcie epitopów B-komórkowych pozwoliła na zsyntetyzowanie alergoidów, czyli chemicznie zmodyfikowanych alergenów [4,30,31,32]. Alergoidy zostały stworzone dla poprawy bezpieczeństwa i skuteczności alergeno swoistej immunoterapii. W efekcie oddziaływania cyjanku potasu, formaldehydu, aldehydu glutarowego, formaliny lub ciepła, jako czynnika fizycznego dochodzi do zmniejszenia zdolności wiązania alergenu ze specyficznymi IgE przy zachowaniu zdolności wzbudzania odpowiedzi immunologicznej. Prowadzi to do wyraźnego zmniejszenia ryzyka reakcji anafilaktycznej w trakcie odczulania [10,33,34,35,36]. Alergoidy mogą być wykorzystywane do immunoterapii doustnej lub podjęzykowej ze względu na ich oporność na degradację enzymatyczną w przewodzie pokarmowym [37,38,39,40].

Możliwość uzyskania alergenów rekombinowanych (ryc. 1), które łączą wszystkie zalety alergoidów, a równocześnie są podstawą do ściśle zdefiniowanych chemicznie modyfikacji, stanowi dalszy postęp w drodze do poprawy jakości preparatów terapeutycznych do immunoterapii swoistej [10,13,14,32,41].

Białko rekombinowane jest syntetyzowane przez obcy organizm, wykorzystujący wprowadzoną z zewnątrz informację genetyczną. Z materiału źródłowego alergenu izoluje się kodujące go fragmenty DNA. Można również posłużyć się fragmentami RNA, które „tłumaczy się” na DNA przy pomocy enzymu odwrotnej transkryptazy. Następnie przygotowane w ten sposób geny wprowadza się do komórki, np. bakterii *E. coli*. Wykorzystuje się również komórki drożdży, owadów, linie komórkowe ssaków. W najbardziej wydajnych hodowlach komórkowych białko rekombinowane może stanowić ponad 50% białka syntetyzowanego przez wykorzystywany organizm. Opisana technika pozwala na uzyskiwanie praktycznie nieograniczonej ilości czystej substancji, której produkcję narzucono wybranym komórkom [42,43]. Poznanie – dzięki inżynierii genetycznej – struktury molekularnej większości istotnych klinicznie alergenów umożliwiło wytwarzanie ich w dużej ilości [10,13,14,43]. W chwili obecnej koszt wytworzenia szczepionki rekombinowanej jest niski i porównywalny z kosztem wytworzenia szczepionki przeciwko WZW typu B [42]. Badania nad alergenami rekombinowanymi pozwalają na dokładne poznanie struktury alergenów, określenie poszczególnych składników uczulających w szczepionce oraz na indywidualizację szczepionek i immunoterapii (*compartment resolved immunotherapy* – CRIT) [44]. Szczególnie przydatne do celów diagnostycznych, ale też możliwe do wykorzystania w trakcie immunoterapii, są tzw. „dzikie” alergeny rekombinowane, dokładnie naśladujące alergeny naturalne. Mają one obniżoną zdolność indukowania reakcji anafilaktycznej, zachowując jednocześnie – porównywalną do alergenów natywnych – reaktywność z limfocytami T. Zastosowanie alergenów rekombinowanych i ich pochodnych pozwala [10,13,27,44,41]:

- wyeliminować białka niealergenowe,
- zmniejszyć ryzyko wprowadzenia alergenów z innych źródeł,
- zmniejszyć ryzyko wprowadzenia materiału infekcyjnego z materiału wyjściowego do ekstrakcji,
- zapewnić wiarygodną standaryzację szczepionek,
- zwiększyć bezpieczeństwo leczenia odczulającego.

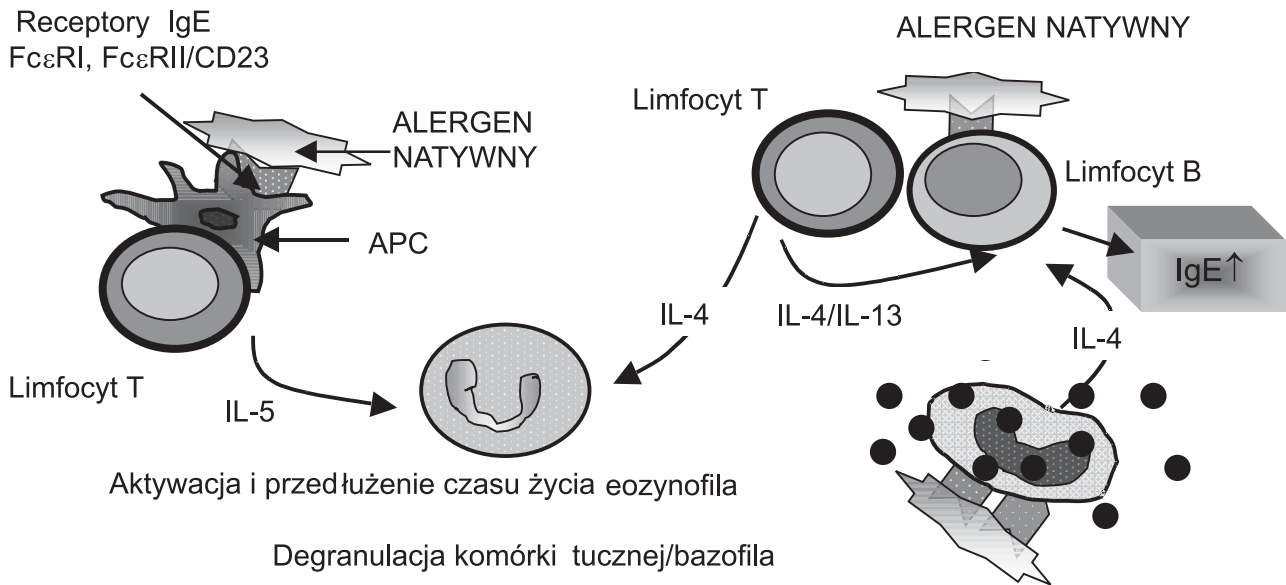
### Nowe adjuwanty

Wprowadzenie szczepionek typu depot, w których antygen związany jest z nośnikiem (np. wodorotlenkiem glinu, tyrozyną) pozwalającym na jego powolne uwalnianie po wstrzyknięciu, pozwoliło z kolei zmniejszyć liczbę iniekcji podczas odczulania metodą klasyczną, co obniżyło ryzyko wystąpienia działań niepożądanych [27,36,42]. Kolejną możliwością prowadzenia bezpiecznej immunoterapii wiąże się z wykorzystaniem do wytwarzania szczepionek alergenowych nowych, ulepszonych adiuwantów. Adiuwanty wzmacniają siłę immunogenną szczepionek, bez jednoczesnego zwiększania zdolności indukowania reakcji IgE-zależnych [27,42]. Zadaniem adiuwantów polega na przedstawieniu antygeny właściwym komórkom prezentującym, co prowadzi do zwiększonego wytwarzania przeciwciał blokujących, wzrostu syntezy IL-1, IL-4, IL-10, IL-12, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , GM-CSF, hamowania aktywności limfocytów Th2 i eozynofiliów [30,36,45,46,47]. Obecnie w charakterze adiuwantów próbuje wykorzystywać się [46,47,48,49,50,51]:

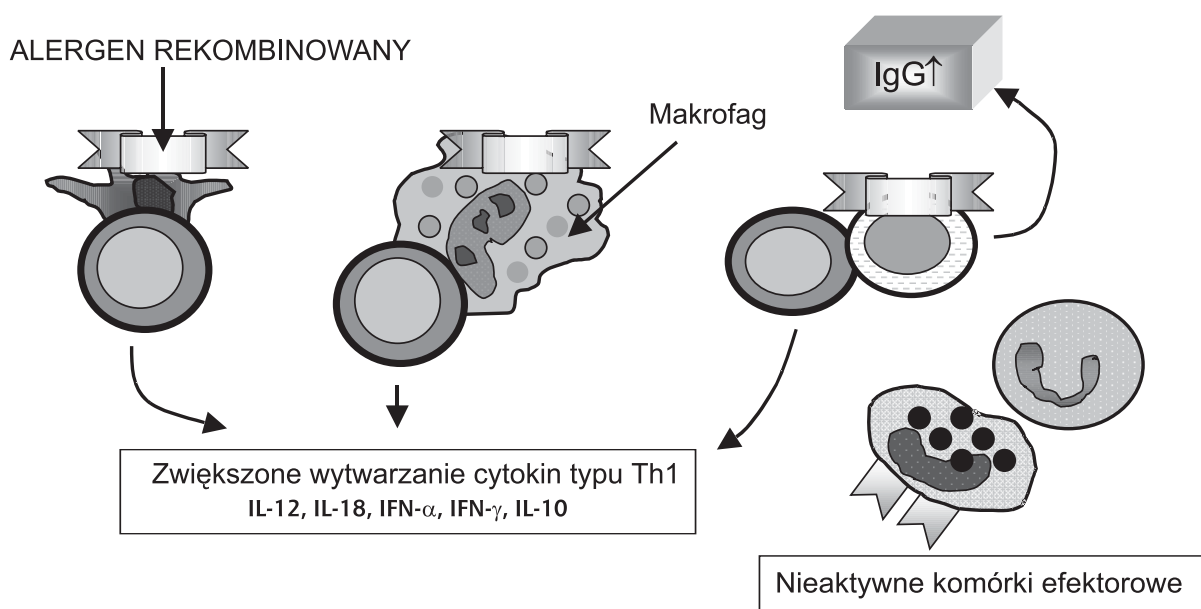
- monofosforylowany lipid A (*MPL-A Monophosphoryllipid A*),
- interleukinę-12,
- interleukinę-18,
- immunostymulujące oligonukleotydy (ISS ODN) z niemetylowanymi sekwencjami dinukleotydów cytosyny – guaniny (CpG-DNA – *deoxynucleotides with cytosine – phosphate-guanosine motifs*),
- zabite przez ogrzewanie bakterie *Listeria monocytogenes*,
- zabite przez ogrzewanie bakterie *Lactobacillus plantarum*.

Monofosfolipid A jest uzyskiwany z lipopolisacharydów *Salmonella minnesota* R595. Jako adiuwant silnie wzmacnia odpowiedź immunologiczną Th1-zależną. Podobne działanie wykazuje IL-12 połączona wiązaniami dwusiarczkowymi z białkami alergenowymi czy białko fuzyjne złożone z IL-18 i określonego alergenu [11,17,47,49,52]. Niestety, obie interleukiny nie tylko osłabiają reakcje Th2-zależne, ale mogą też nasilać procesy zapalne związane z aktywnością limfocytów Th1, co zdecydowanie ogranicza możliwości ich wykorzystanie w immunoterapii alergenowej [53,54,55,56,57].

Nadzieją immunoterapii są syntetyczne oligonukleotydy ODN CpG w połączeniu z białkami alergenowymi. Konjugaty zawierające niemetylowane motywy CpG oraz



- a. Minimalne dawki alergenów połączone z IgE poprzez receptory swoiste dla IgE obecne na komórkach prezentujących antygen (APC – *Antigen Presenting Cells* – komórki dendrytyczne, limfocyty B) stymulują limfocyty CD4<sup>+</sup>T do wytwarzania cytokin typu Th2 (IL-4, IL-5, IL-13). Prowadzi to do pobudzenia eozynofili i wydłużenia czasu ich życia. Jednocześnie dochodzi do zwiększenia produkcji IgE przez limfocyty B oraz wydzielania mediatorów zapalnych z komórek tucznych i bazofilów



- b. Alergeny rekombinowane nie są wiązane przez IgE i nie degranulują komórek efektorowych. Aktywują one komórki dendrytyczne, makrofagi i limfocyty B na drodze pinocytozy i fagocytozy. Limfocyty CD4<sup>+</sup>T wytwarzają więcej cytokin typu Th1, co prowadzi do zmniejszonego wytwarzania IgE i wzrostu produkcji IgG [wg 30,74 w modyfikacji własnej]

Ryc. 1. Mechanizm działania alergenów natywnych (a) i rekombinowanych (b) [wg 30,69 w modyfikacji własnej]

tw. sekwencje immunostymulujące – poprzez występujące na makrofach i komórkach dendrytycznych specyficzne receptory TLR-9 (*Toll-like receptor-9*) – istotnie zwiększają wytwarzanie IL-12, IL-18, IFN-α i IFN-γ (ryc. 2).

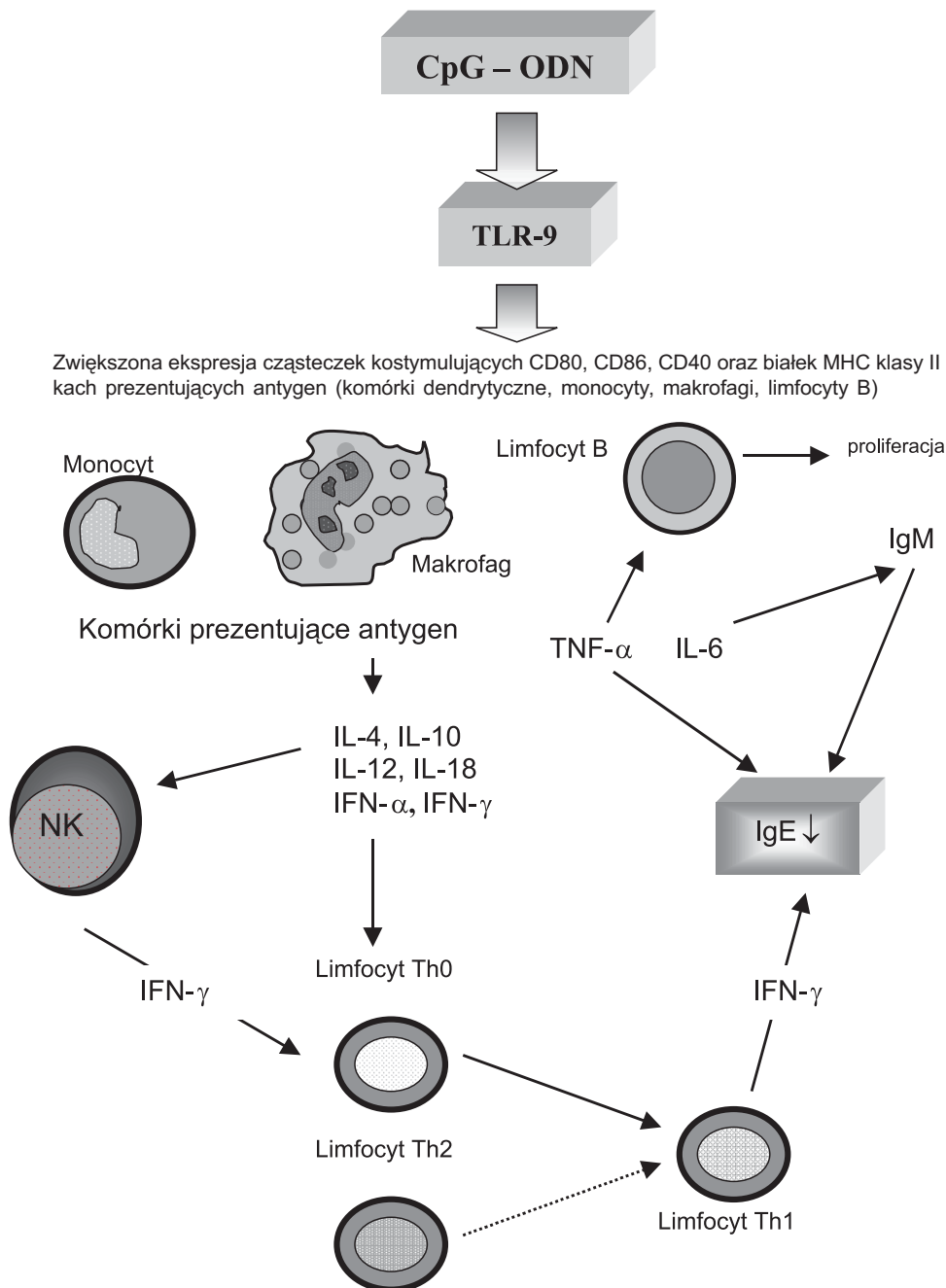
W następstwie tych procesów immunologicznych dochodzi do silnego zmniejszenia produkcji IgE i ograniczenia natężenia reakcji alergicznej [10,42,48,53,58]. Brana jest także pod uwagę możliwość aktywacji limfocytów regulatorowych (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, Th3, Treg), oddziaływania na komórki dendrytyczne oraz stymulacji limfocytów Th1 (IL-10, T-bet, GATA-3).

### Inne szczepionki przyszłości

Jako potencjalne szczepionki przyszłości, skutecznie zwalczające alergiczny proces zapalny wymienia się również [42,44,47,59,60,61]:

- białka naśladujące naturalne epitopy IgE (mimotyipy),
- rekombinowane, hipoalergiczne peptydy alergenowe,
- plazmidy DNA,
- humanizowane przeciwciała anti-IgE,
- przeciwciała monoklonalne anti-IL-4/13,
- rekombinowane, rozpuszczane receptory dla IL-4 (sIL-4 R, *Nouvance*),
- anti-IL-5 podawane samodzielnie lub razem z alergenem w celu zwiększenia skuteczności i bezpieczeństwa immunoterapii.

Komfort leczenia odczulającego w przyszłości może poprawić wprowadzenie do immunoterapii żywności modyfikowanej genetycznie. W Japonii podjęto próbę uzyskania ziaren ryżu zawierających dużą ilość dominujących epitopów T komórkowych alergenów cedru japońskiego Cry j1 oraz Cry j2. Codzienne spożywanie ziarna przez immunizowane myszy B7.10S nie tylko hamowało proliferację limfocytów T, ale także istotnie obniżyło stężenie IgE w surowicy tych zwierząt, co sugeruje – w przewidywalnej przyszłości – potencjalną możliwość skutecznej immunoterapii osób uczulonych na pyłki cedru japońskiego drogą pokarmową [62].



Ryc. 2. Mechanizm działania CpG ODN [wg 53,69 w modyfikacji własnej]

Wszystkie omówione rodzaje szczepionek, jak dotąd, nie znajdują powszechnej akceptacji i zastosowania terapeutycznego. W dalszym ciągu leczenie odczuwające najczęściej prowadzone jest metodą klasyczną, opierającą się na podawaniu wzrastających stężeń alergenu/-ów drogą podskórną. Mimo że jest to metoda sprawdzona i skuteczna jej wadą jest możliwość wystąpienia śmiertelnych objawów ubocznych, konieczność składania wielokrotnych wizyt w gabinecie specjalistycznym, dyskomfort

wynikający z częstych, bolesnych iniekcji podskórnych oraz brak możliwości opuszczenia miejsca zamieszkania przez dłuższe okresy czasowe.

W związku z podanymi wyżej ograniczeniami, a szczególnie ze względu na ryzyko wystąpienia zagrażającego życiu wstrząsu anafilaktycznego obserwuje się coraz bardziej rosnące zainteresowanie alternatywnymi drogami podawania antygeny [58,63,64,65,66].

## Piśmiennictwo

1. Allergic rhinitis and its impact on asthma. ARIA workshop report. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 108: 147-336, www.whiar.com.
2. Kuna P. Porównanie terapii iniekcyjnej i miejscowej. *Pol Merk Lek.* 2003; 14: 659-699.
3. Li JT, Lockey RE, Bernstein i wsp. Allergen immunotherapy: a practice parameter. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003; 90: 1-40.
4. Sak I, Kurzawa R. Immunoterapia alergenowo-swoista. *Acta Pneumonol Allergol Pediatr.* 1999; 2: 33-37.
5. Amin HS, Liss GM, Bernstein DI. Evaluation of near-fatal reactions to allergen immunotherapy injections. *J Allergy Clin Immunol.* 2006; 117: 169-175.
6. Lin MS, Tanner E, Lynn J, Friday GA. Nonfatal systemic reactions induced by skin testing and immunotherapy. *Ann Allergy.* 1993; 71: 557-562.
7. Lockey RF, Nikoara-Kash GL, Theodoropoulos DS, Bukantz SC. Systemic reactions and fatalities associated with allergen immunotherapy. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2001; 87 (Suppl): S46-S55.
8. Bousquet J, Lockey R, Malling HJ. Immunoterapia alergenami: szczepionki terapeutyczne w chorobach alergicznych cz. I. Stanowisko Światowej Organizacji Zdrowia. *Alergia Astma Immunol.* 2000; 5: 7-30.
9. Passalacqua G, Pasquali M, Guerra L i wsp. Noninjection immunotherapy. *Allergy Clin Immunol Int – J World Allergy Org.* 2004; 16: 96-102.
10. Fearby S, Frew AJ. Hunting the a magic bullet in immunotherapy: new forms of old treatment of something completely different? *Clin Exp Allergy.* 2001; 31: 969-974.
11. Francis JN, Durham SR. Adjuvants for allergen immunotherapy: experimental results and clinical perspectives. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2004; 4: 543-548.
12. Rolland J, O'Heir RE. Targeting the allergen specific CD4+T cell – strategies for improved allergen immunotherapy. *ACI International.* 2001; 13: 170-177.
13. Cromwell O, Suck R, Kahlert H i wsp. Transition of recombinant allergens from bench to clinical application. *Methods.* 2004; 32: 300-312.
14. Cromwell O, Fiebig H, Suck R i wsp. Strategies for recombinant allergen vaccines and fruitful results from first clinical studies. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2006; 26: 261-281.
15. Jeong KY, Hongb CS, Yong TS. Recombinant allergens for diagnosis and immunotherapy of allergic disorders, with emphasis on cockroach allergy. *Curr Protein Pept Sci.* 2006; 7: 57-71.
16. Singh MB, Bhalla PL. Recombinant expression systems for allergen vaccines. *Inflamm Allergy Drug Targets.* 2006; 5: 53-59.
17. Rapijko P. Alergeny i preparaty alergenowe. (w) *Immunoterapia alergenowa.* Kowalski ML (red.). *Mediton* 2003: 43-66.
18. Bousquet J, Lockey R, Malling HJ. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. World Health paper, an executive summary. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1998; 81: 401-405.
19. Dreborg S, Frew A. EAACI Position paper. Allergen standardization and skin tests. *Allergy.* 1993; 48(suppl.14): 49-82.
20. American Academy of Allergy, Asthma and Immunology (AAAAI). The use of standardized allergen extracts. Position statement. *J Allergy Clin Immunol.* 1997; 99: 583-586.
21. Malling HJ, Weeke B. EAACI Position Paper on Immunotherapy. *Allergy.* 1993; 48(Suppl.14): 9-35.
22. Muller U, Mosbech H. EAACI Position Paper on Immunotherapy. *Allergy.* 1993; 48(Suppl.14): 36-46.
23. Nordic Council on Medicine. Registration of allergen preparation. (w) *Nordic Guidelines*, Uppsala: NLN publication, 1989; 23: 1-34.
24. Szymański W, Rogalewska AM, Chyrek-Borowska S i wsp. Standaryzacja biologiczna preparatów alergenowych pyłków traw. *Alergia Astma Immunol.* 1999; 4: 19-22.
25. Schoenwetter WF. Safe allergen immunotherapy. The correct allergen, the appropriate patient, the adequate dose. *Postgrad Med.* 1996; 100: 131-136.
26. Kowalski ML. Zasady prowadzenia immunoterapii alergenowej. (w) *Immunoterapia alergenowa.* Kowalski ML (red.). *Mediton* 2003: 93-106.
27. Karl S, Ring J. Pro and contras of specific hyposensibilization. *Eur J Dermatol.* 1999; 9: 325-334.
28. Lehrer SB. Compliance and acceptance problems with standardized extracts. *Arb Paul Ehrlich Inst Bundesamt Sera Impfstoffe Frankf AM* 1994; 87: 211-217.
29. Norman PS. WHO-IUIS International Standards: advantages of these extracts. *Arb Paul Ehrlich Inst Bundesamt Sera Impfstoffe Frankf AM* 1994; 87: 59-64.
30. Akdis CA, Blaser K. Bypassing IgE and targeting T cells for specific immunotherapy of allergy. *Trends Immunol.* 2001; 22: 175-178.
31. Cromwell O. Alergoidy i alerogeny rekombinowane. (w) *Immunoterapia chorób układu oddechowego.* Płusa T. (red.). *Medpress.* 2000: 191-194.
32. Linhart B, Valenta R. Molecular design of allergy vaccines. *Curr Opin Immunol.* 2005; 17: 646-655.
33. Corrigan CJ, Kettner J, Doemer C i wsp. Efficacy and safety of preseasonal-specific immunotherapy with an aluminum-adsorbed six-grass pollen allergoid. *Allergy.* 2005; 60: 801-807.
34. Lombardi C, Gargioni S, Melchiorre A i wsp. Safety of sublingual immunotherapy with monomeric allergoid in adults: multicenter post-marketing surveillance study. *Allergy.* 2001; 56: 989-992.
35. Rogala B. Miejsce immunoterapii w alergologii. *Pol Merk Lek.* 2003; 14: 705-707.

36. Stuck BA, Schneider-Gene S, Schafer D i wsp. Short-term preseasonal immunotherapy with birch pollen allergoid plus monophosphoryllipid A (MPL). Influence on cytokine production of peripheral T cell in patients with allergic rhinitis. *Allergy Clin Immunol Int – J World Allergy Org* 2004; 16: 60-64.
37. Bagnasco M, Passalacqua G, Villa G i wsp. Pharmacokinetics of an allergen and a monomeric allergoid for oromucosal immunotherapy in allergic volunteers. *Clin Exp Allergy*. 2001; 31: 54-60.
38. Bagnasco M, Altrinetti V, Pesce G i wsp. Pharmacokinetics of Der p 2 allergen and derived monomeric allergoid in allergic volunteers. *Int Arch Allergy Asthma Immunol*. 2005; 138: 197-202.
39. TePas EC, Hoyte EG, McIntire JJ, Umetsu DT. Clinical efficacy of microencapsulated timothy grass pollen extract in grass-allergic individuals. *Annals Allergy Asthma Immunol*. 2004; 92: 25-31.
40. van Deusen MA, Angelini BL, Cordoro KM i wsp. Efficacy and safety of oral immunotherapy with short ragweed extract. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1997; 78: 573-80.
41. Walker Ch, Zuany-Amorim C. New trends in immunotherapy to prevent atopic diseases. *Trends Pharmacol Science.s* 2001; 22: 84-90.
42. Kowalski ML, Balwierz A. Wykorzystanie alergenów rekombinowanych do immunoterapii. *Pol Merk Lek*. 2003; 14: 685-687.
43. Kruszewski J. Przyszłość immunoterapii swoistej. *Alergia Astma Immunol*. 2001; 6(Supl.1): 18-22.
44. Valenta R, Kraft D. From allergen structure to new forms of allergen – specific immunotherapy. *Curr Opin Immunol*. 2002; 14: 718-727.
45. Baldridge JR, Yorgensen Y, Ward JR, Ulrich JT. Monophosphoryl lipid A enhances mucosal and systemic immunity to vaccine antigens following intranasal administration. *Vaccine*. 2000; 18: 2416-2425.
46. Chodaczek G. Adiuwanty jako czynniki podnoszące skuteczność szczepionek. *Post Hig Med Dośw*. 2004; 58: 47-59.
47. Umetsu DT. Novel approaches for allergen immunotherapy. *Allergy Clin Immunol Int – J World Allergy Org* 2004; 16: 103-106.
48. Creticos PS, Lichtenstein LM. Immunotherapy for allergic disease: a four – decade investigation. *Clin Exp All Rev*. 2004; 4: 224-228.
49. Drachenberg KJ, Heinzkill M, Urban E, Woroniecki SR. Efficacy and tolerability of short-term specific immunotherapy with pollen allergoids adjuvanted by monophosphoryl lipid A (MPL) for children and adolescents. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2003; 31: 270-277.
50. Murosaki S, Yamamoto Y, Ito K i wsp. Heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 suppresses naturally fed antigen-specific IgE production by stimulation of IL-12 production in mice. *J Allergy Clin Immunol*. 1998; 102: 57-64.
51. Yeung VP, Gieni RS, Umetsu DT, DeKruyff RH. Heat-killed *Listeria monocytogenes* as an adjuvant converts established murine Th2-dominated immune responses into Th1-dominated responses. *J Immunol*. 1998; 161: 4146-4152.
52. Wheeler AW, Marshall JS, Ulrich JT. A Th1-inducing adjuvant, MPL, enhances antibody profiles in experimental animals suggesting it has the potential to improve the efficacy of allergy vaccines. *Int Arch Allergy Immunol*. 2001; 126: 135-139.
53. Erb KJ, Wohlleben G. Novel vaccines protecting against the development of allergic disorders: a double-edged sword? *Curr Opin Immunol*. 2002; 14: 633-643.
54. McDyer JF, Wu Ch-Y, Seder RA. The regulation of IL-12: its role in infectious, autoimmune, and allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 1998; 102: 11-15.
55. McInnes IB, Gracie JA, Leung BP i wsp. Interleukin 18: a pleiotropic participant in chronic inflammation. *Immunol Today*. 2000; 21: 312-315.
56. Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, Okamura H. Interleukin-18 regulates both Th1 and Th2 responses. *Annu Rev Immunol*. 2001; 18: 423-474.
57. Wills-Karp M. IL-12/IL-13 axis in allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2001; 107: 9-18.
58. Norman PS. Immunotherapy: 1999-2004. *Allergy Clin Immunol*. 2004; 113: 1013-1023.
59. Prescott SL, Thornton CA. An overview of immunotherapy for allergic disorders: new developments and future strategies. *Med Chem Rev*. 2004; 1: 163-177.
60. Passalacqua G, Canonica GW. Treating the allergic patients: think globally, treat globally. *Allergy*. 2002; 57: 876-883.
61. Tsalik EL. DNA-based immunotherapy to treat atopic disease. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2005; 95: 403-410.
62. Takagi H, Saito S, Yang L i wsp. Oral immunotherapy against a pollen allergy using a seed-based peptide vaccine. *Plant Biotechnol J*. 2005; 3: 521-533.
63. Canonica GW, Passalacqua G. Noninjection routes for immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 111: 437-448.
64. Passalacqua G, Guerra L, Pasquali M, Lombardi C, Canonica GW. Efficacy and safety of sublingual immunotherapy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2004; 93: 3-12.
65. Passalacqua G, Lombardi C, Canonica GW. Sublingual immunotherapy: an update. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2004; 4: 31-36.
66. Passalacqua G, Lombardi C, Guerra E i wsp. Sublingual immunotherapy: no more doubts. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2005; 37: 314-320.
67. Kowalski ML. Immunoterapia alergenowa. Załącznik "C", Kowalski ML(red.). *Mediton* 2003: 165.
68. Riechelmann H, Bachert C, Goldschmidt O i wsp. Position paper of the German Society for Allergology and Clinical Immunology (ENT Section) in cooperation with the Working Team for Clinical Immunology. *Laryngorhinotologie*. 2003; 82: 183-188.
69. Bohle B. Allergen-specific T lymphocytes as targets for specific immunotherapy: striking at the roots of type I allergy. *Arch Immunol Ther Exp*. 2002; 50: 233-241.