

Abordaje integral del paciente con asma por alergia al polen del olivo

Manuel Alcántara Villar (Coord.)





CAPÍTULO 13

Inmunoterapia con Polen de Olivo: Mecanismo de acción y manejo práctico

José Fernando Florido López

Unidad de Alergología.
Hospital Universitario San Cecilio. Granada.

1. Introducción

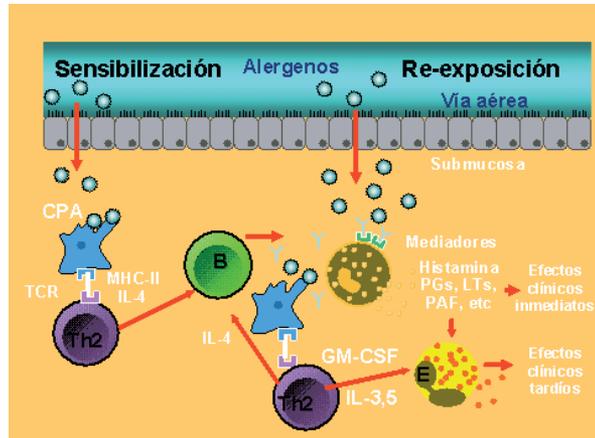
La inmunoterapia alérgica (ITA) consiste en la administración gradual de cantidades crecientes de alérgeno al cual el paciente está sensibilizado, con el objetivo de modular la respuesta inmune adversa a dicho alérgeno y la desaparición o al menos el alivio de los síntomas alérgicos. No excluye otros tratamientos de las enfermedades alérgicas, como la evitación alérgica y el tratamiento farmacológico, aunque la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha señalado que la Inmunoterapia con alérgenos es el único tratamiento que puede modificar el curso natural de las enfermedades alérgicas. La ITA se viene utilizando desde hace más de 100 años. La primera referencia acerca de un tratamiento con inmunoterapia data de 1911, cuando Leonard Noon publicó un breve artículo titulado “Prophylactic inoculation against hay fever” en la revista *Lancet*.

2. Alergia y asma

En la actualidad, la opinión mayoritaria es que los mecanismos alérgicos desempeñan un papel decisivo en la patogenia de la mayor parte de formas de asma, y los modelos animales que se emplean para investigar los mecanismos que intervienen en la enfermedad se basan en gran parte en este supuesto. De hecho, se sabe desde hace tiempo que el asma se asocia a un aumento de los valores séricos de inmunoglobulina E (IgE), una clase específica de anticuerpos que, además de estar involucrados en las respuestas inmunitarias de los mamíferos frente a los parásitos, desempeñan también un importante papel en la hipersensibilidad alérgica.

Las reacciones alérgicas o reacciones de hipersensibilidad inmediatas comprenden las fases de sensibilización y reacción la cual a su vez se va a presentar de forma bifásica (inmediata y tardía) (Figura 1). Tras tener un primer contacto con el alérgeno (por ejemplo, el polen), se produce una captación de éste por parte de unas células llamadas células presentadoras de antígeno, que lo procesan en su interior y lo presentan a los linfocitos T, que a su vez interaccionan con los linfocitos B, los cuales producen IgE específica frente a ese polen concreto. Esta IgE se unirá a los mastocitos y los basófilos, células que contienen receptores para la IgE en su superficie. Este proceso puede durar varios días, meses o años y se denomina sensibilización (el individuo se hace sensible a ese alérgeno). Éste es el punto de inflexión a partir del cual el individuo se ha hecho alérgico. Es algo muy importante, ya que aunque se nazca con predisposición genética para hacerse alérgico, la enfermedad no se desarrollará si no se ha estado durante un cierto tiempo en contacto con el alérgeno responsable. Esto determina algo fundamental que será la regla en todas las enfermedades de causa alérgica: la imposibilidad de presentar síntomas en una primera exposición o contacto.

Figura 1



En una exposición posterior, los pólenes que vuelven a ponerse en contacto con el sistema inmunitario son dirigidos directamente hacia los anticuerpos IgE específicos que ya habían sido secretados, y que se encuentran unidos a la superficie de los mastocitos y basófilos. Es entonces, al contactar el alérgeno (polen) y el anticuerpo (IgE específica frente al polen), cuando se produce la degranulación del mastocito o basófilo liberando sus mediadores: histamina y otras sustancias con potente actividad inflamatoria, prostaglandina D2, cininas, cisteinileucotrienos (LTC₄, D4 y E4), citocinas y quimiocinas. Esto ocurre a los 15-20 minutos de inhalar el polen, al cual el individuo está sensibilizado y empezará a notar los síntomas típicos de la alergia nasooftálmica y bronquial. (Fase inmediata de la Reacción alérgica).

De cuatro a seis horas se produce otra reagudización, sin necesidad de una nueva exposición al polen (Fase tardía de la reacción alérgica). Los responsables son algunos de los mediadores liberados en la fase inmediata cuya función consiste en el reclutamiento celular (eosinófilos, neutrófilos y linfocitos) con formación de un infiltrado inflamatorio que perpetúa y cronifica los síntomas de conjuntivitis, rinitis y/o asma bronquial.

Un 60-70% de los linfocitos T son del tipo T helper (CD4). La diferenciación preferente de los mismos en Th2 en detrimento de los Th1 y la secreción de su patrón de citocinas, será crucial para el desarrollo y mantenimiento de la enfermedad alérgica, actuando a su vez sobre otros tipos celulares (linfocitos B, mastocitos, eosinófilos y basófilos).

En los últimos años ha alcanzado gran importancia otro subtipo de células Th como son las células T reguladoras (CD4+CD25+), tanto naturales como inducidas, las cuales junto a los nuevos subtipos Th3 y Tr1 jugarán un papel fundamental.

En el fenotipo Asmático (Figura 2), se distinguen 3 componentes: inflamación bronquial, obstrucción e hiperrespuesta bronquial, causante de los síntomas. No obstante, la relación entre estos fenómenos no está bien establecida. Al igual que sucede con la relación entre la intensidad de la inflamación y la gravedad del asma, el proceso inflamatorio es bastante consistente en todos los fenotipos de asma, aunque puede existir distinto patrón entre pacientes y en distintos momentos evolutivos de la enfermedad. El patrón de inflamación del asma es similar al de otras enfermedades alérgicas, con activación de mastocitos, aumento del número de eosinófilos activados, linfocitos T cooperadores con perfil de citocinas de predominio Th2 y células naturalkiller. Sobre estos tres componentes actúan unos factores de riesgo responsables del desarrollo de la enfermedad y sus exacerbaciones. Los alérgenos son sin duda uno de los factores riesgo mejor conocidos.

Figura 2

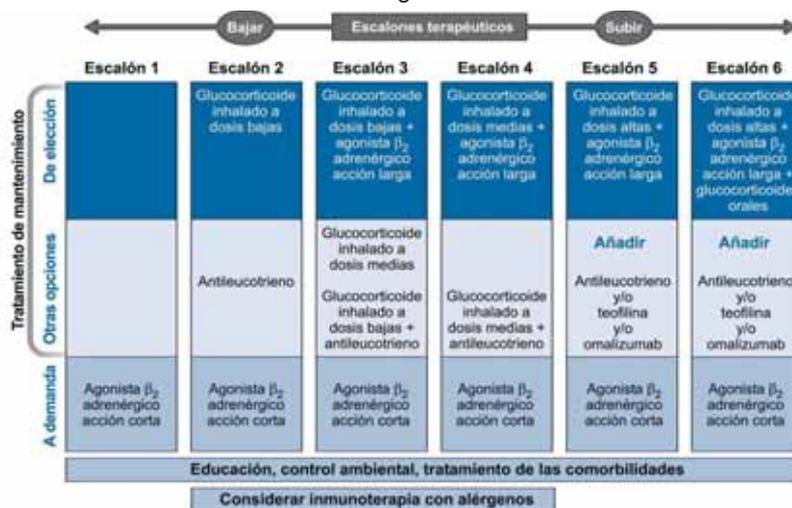


3. La inmunoterapia alérgica en la GEMA

Según la Guía Española para el Manejo del Asma (GEMA), en el asma alérgica se deben considerar recomendaciones específicas una vez que se hayan confirmado las sensibilizaciones a los distintos alérgenos en cada paciente. Las medidas más eficaces son aquéllas que permiten disminuir drásticamente los niveles de exposición, como las que se pueden aplicar en muchos casos de asma laboral (cambio de puesto de trabajo) o asma por mascotas (retirar los animales del domicilio).

Cuando el control ambiental no es eficaz o difícil de realizar, como sucede en los alérgicos a pólenes, la inmunoterapia alérgica es un tratamiento eficaz para el asma alérgica bien controlada con niveles bajos o medios de tratamiento (escalones terapéuticos 2-4), siempre que se haya demostrado una sensibilización mediada por IgE frente a aeroalérgenos comunes que sea clínicamente relevante, se utilicen extractos bien caracterizados y estandarizados y se evite el uso de mezclas complejas. En los casos de asma alérgica mal controlada con dosis altas de glucocorticoide y agonista β_2 adrenérgico de acción larga con o sin corticoides orales (escalones terapéuticos 5 y 6) se puede añadir el anticuerpo monoclonal anti-IgE (omalizumab) por vía subcutánea, que mejora los síntomas diarios y disminuye las exacerbaciones, incrementando el control global de la enfermedad.

Figura 3



Es de destacar la importancia del tratamiento etiológico de la enfermedad alérgica bien con ITA o agentes biológicos como Omalizumab en cinco de los seis escalones terapéuticos que propone GEMA lo cual sin duda es fiel reflejo del posicionamiento de los autores en el abordaje integral del tratamiento del Asma intentando modificar su curso clínico hasta alcanzar su control total lo cual en un amplio grupo de pacientes debería conseguirse con este planteamiento.

4. Mecanismo de acción de la inmunoterapia

La ITA implica la administración gradual de cantidades crecientes de alérgeno con el propósito de inducir cambios inmunológicos que restablezcan la respuesta

inmunológica alterada de la enfermedad alérgica subyacente. A pesar la extensa investigación y amplios conocimientos actuales, los mecanismos responsables de la mejoría clínica que se observa en los pacientes que la reciben, no se han revelado plenamente.

Jutel et al. publicaron en *Allergy* en 2006 una revisión acerca de los efectos de la ITA sobre los parámetros clínicos e inmunológicos y que queda resumida en la tabla I. Con posterioridad este mismo autor publica otra revisión en el 2011 que viene a reafirmar en gran medida una serie conceptos, fundamentalmente inmunológicos, que nos aproximan a la forma de actuar de la ITA

Tabla 1

Mechanism
Clinical parameter
Long-term cure
Decreased clinical symptoms and drug usage
Decreased response to allergen challenge tests
Decreased stas and cellular influx in skin late phase response
Decreased skin type I hypersensitivity response
Mast cells
Reduction of tissue numbers
Decrease in mediator release
Decrease in proinflammatory cytokine production
Basophils
Decrease in mediator release
Decrease in proinflammatory cytokine production
Eosinophils
Reduction of tissue numbers
Decrease in mediator release
T cells
Decreased allergen-induced proliferation
Induction of Treg cells
Increased secretion of IL-10 and TGF-beta
Suppression of TH2 cells and cytokines
Decreased TcH1 numbers in late phase response
B cells
Decreased specific IgE production
Increased specific IgG4 production
Increased specific IgA production
Suppressed IgE-facilitated antigen presentation
Dendritic cells
Suppressed IgE-facilitated antigen presentation

Los primeros cambios inmunológicos son ya observables tras las primeras semanas de tratamiento específico. Los pacientes a los que se les realiza test de provocación nasal con el alérgeno demuestran una respuesta temprana significativamente menor, aunque la inhibición completa (ausencia total de reacción) es infrecuente. La reacción de fase tardía se inhibe aun de manera más eficaz. Cambios similares de ambas respuestas inmediatas y tardías en la prueba cutánea intradérmica o intraepidérmica (Prick-Test) puede también resultar de la inmunoterapia, y un cuidadoso ajuste de dosis, con titulación a punto final o “end-point”, puede demostrar un cambio en la sensibilidad al alérgeno. Sin embargo, estos cambios en las respuestas de las pruebas cutáneas no siempre se correlacionan con una mejoría en los síntomas de la rinitis alérgica o asma.

4.1. Cambios en inmunidad humoral

La inmunoterapia característicamente da lugar a cambios en varios tipos de anticuerpos específicos del alérgeno:

Los cambios en la IgE no dependen de simples reducciones en los niveles de IgE específica de alérgeno, y la mejoría clínica se desarrolla antes de que ocurran disminuciones en los niveles específicos de anticuerpos IgE

Los niveles de anticuerpos IgE específicos del alérgeno aumentan inicialmente en la mayoría de los pacientes y pueden seguir aumentando, incluso después de que se haya alcanzado la dosis máxima prescrita o dosis de mantenimiento. Esta tendencia se invierte con el tiempo en algunos pacientes, con niveles que disminuyen gradualmente en los meses siguientes a alcanzar la dosis de mantenimiento. En ocasiones se observan descensos de los niveles de IgE específica que pueden incluso caer por debajo de los niveles previos al tratamiento. Sin embargo, en otros pacientes no hay ninguna disminución apreciable de IgEalergeno-específica. Lo que no se conoce bien es el comportamiento de la IgE específica una vez finalizado el tratamiento. Se ha observado también que la ITA suprime el aumento de la IgE alergeno-específica que sucede tras la exposición a alérgenos estacionales en individuos no tratados. Este pico post- temporada se reduce o elimina por la ITA.

Algunos de los cambios más llamativos a nivel inmunológico en pacientes que reciben ITA implican anticuerpos IgG específicos del alérgeno (IgG total o subclases), aunque ninguno de estos cambios se correlaciona claramente con el alivio de los síntomas clínicos.

La concentración de IgG sérica específica de alérgeno a menudo está presente en niveles bajos en los pacientes alérgicos. La inmunoterapia generalmente resulta en un aumento de anticuerpos de IgG específicos de alérgeno, que se presenta semanas o meses después del aumento inicial de anticuerpos IgE. Los niveles pueden seguir aumentando durante muchos meses tras alcanzar la dosis de mantenimiento y mantenerse elevados durante muchos años después de suspender la inmunoterapia.

Los altos niveles de IgG específica de alérgeno como resultado de la ITA no se correlacionan necesariamente con el alivio de los síntomas clínicos. Sin embargo, la falta de presentación de alérgenos específicos IgG en un paciente que recibe ITA puede predecir la falta de respuesta clínica. La subclase de anticuerpos IgG4, antes conocidos como anticuerpos bloqueantes por capacidad competitiva con la IgE de unión al alérgeno aunque también se ha señalado de forma más reciente su importancia en la inhibición de la presentación del antígeno facilitada por la IgE.

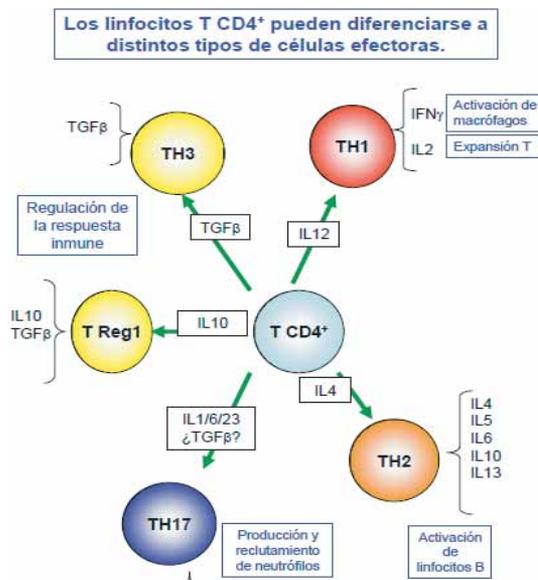
Un papel protector de la IgG4 también es sugerido por el hallazgo de que los apicultores que desarrollan inmunidad después de la picadura múltiple tienen altos niveles de IgG4 frente al veneno de abeja. En contraste, las personas que han sido picadas pocas veces suelen tener anticuerpos principalmente IgG1 al veneno. Por lo tanto, puede ser que la estimulación crónica con alérgeno induce una respuesta predominantemente de IgG4, mientras que los resultados de exposición aislada al alérgeno se traducirían en una respuesta de IgG1.

Niveles de IgA específica de alérgeno en el suero y secreciones aumentan en pacientes que reciben ITA. Su importancia clínica no está del todo clara, aunque un estudio sugirió que el isotipo IgA2 puede funcionar como anticuerpo bloqueante en la superficie de las mucosas.

4.2. Cambios en la inmunidad celular.

La IT introduce varios cambios en las respuestas de células T a alérgenos. Estos cambios pueden contribuir a la instauración de un estado de tolerancia inmunológica que surge de diferentes y superpuestos mecanismos.

Figura 4



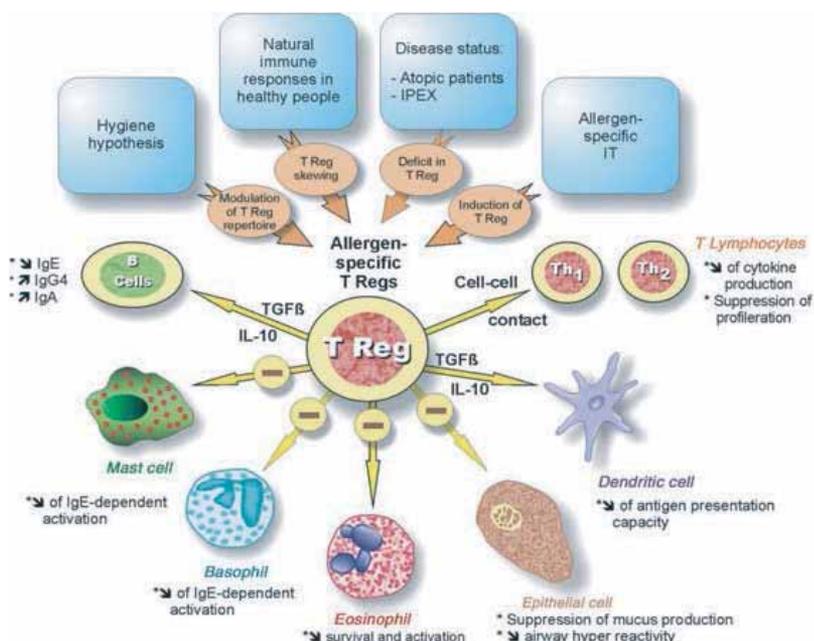
Tras ITA se asiste a un cambio del patrón de linfocitos Th con aumento Th1 y disminución de Th2 junto a su patrón de secreción de citocinas, disminuyendo los

niveles de IL-4 y aumentando los de IFN gamma. El aumento de la producción de IL-12, un potente inductor de la respuesta TH1, contribuye a este cambio.

En los últimos años se ha relacionado el éxito de la ITA con el aumento de las poblaciones de células T reguladoras (es decir CD4 + CD25 + Tcell en linfocitos que producen IL - 10, TGF-beta, o ambos) lo cual se ha observado en células de pacientes que recibían inmunoterapia con veneno de himenópteros, extractos de pólenes y ácaros del polvo doméstico. IL - 10 reduce el número de células B productoras de IgE específica de alérgeno y aumenta los niveles de IgG4; reduce la liberación de citoquinas proinflamatorias de mastocitos, eosinófilos y células T. Dos tipos fundamentales de Treg podrían participar en la inducción de tolerancia, las Tr1 que formando parte de las Treg inducidas, aumentarían con la ITA, normalmente aumentan hasta el tercer o cuarto mes de tratamiento y disminuyen alrededor del año por lo que se piensa que juegan un papel importante en la fase inicial de la ITA. De forma colateral, la disminución de la ratio IgE/ IgG4 podría explicarse por un cambio de TH2 a Treg específicas para el alérgeno.

En la figura 5 se recogen las diferentes acciones de la cels Treg asociadas a la acción de la ITA en pacientes alérgicos.

Figura 5



4.3. Cambios en el órgano diana

Los cambios que clínicamente podemos observar mediante la re exposición al alérgeno de forma natural o en el laboratorio “in vivo” serían la consecuencia de una disminución en la respuesta inmuno-alérgica. La inmunoterapia con alérgenos disminuye el reclutamiento de mastocitos, basófilos y eosinófilos en la piel, la nariz, los ojos y la mucosa bronquial. Efecto anti-inflamatorio, con inhibición de la liberación local de mediadores. Incremento de la tolerancia a la exposición al alérgeno, medida mediante pruebas de provocación organoespecíficas y disminución de la sintomatología.

5. Eficacia de la ITA en la alergia al polen de olivo

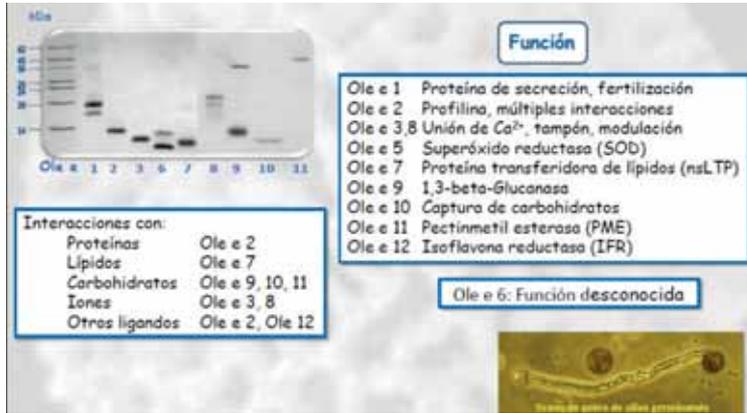
El cultivo del olivo en España se extiende por todas las regiones a excepción de la zona norte, pero a pesar de su extensión, el olivo se concentra mayoritariamente en Andalucía con casi el 60% del total de hectáreas cultivadas, sobre todo en las provincias de Jaén, Córdoba, Granada y Sevilla.

El Olivo (*Olea europaea*) pertenece a la familia botánica Oleaceae, la cual comprende 29 géneros de los que solo seis tienen interés económico u hortícolas: *Olea*, *Ligustrum*, *Jasminum*, *Syringa*, *Fraxinus* y *Phyllyrea*.

Es frecuente encontrar en la literatura una mayor prevalencia de sintomatología nasocular causada por el polen de *Olea europaea*, pero este polen también es capaz de inducir sintomatología bronquial moderada e incluso grave en hasta el 60% de pacientes sensibilizados en zonas muy olivareras.

La respuesta inmunológica al extracto completo de polen de olivo es muy heterogénea, observándose más de 20 bandas de diferente PM (alérgenos) algunas de las cuales se han caracterizado a lo largo de los últimos años, fundamentalmente por el grupo de la Dra. Rosalía Rodríguez de la Universidad Complutense de Madrid (Figura 6)

Figura 6



La sensibilización al polen de olivo, no necesariamente exige la producción de IgE específica a todos y cada uno de estos alérgenos. Por tanto el perfil de sensibilización a cada uno de estos alérgenos variara de forma individual de un paciente a otro, influido por múltiples factores entre los que destaca la exposición repetida a mayores o menores concentraciones polínicas, sin olvidar las importantes diferencias cuantitativas en cuanto a expresión de alérgenos en los distintos cultivares así como cualitativas de las distintas variedades (Picual, Hojiblanca, Cornicabra, Lechin, Arbequina etc...)

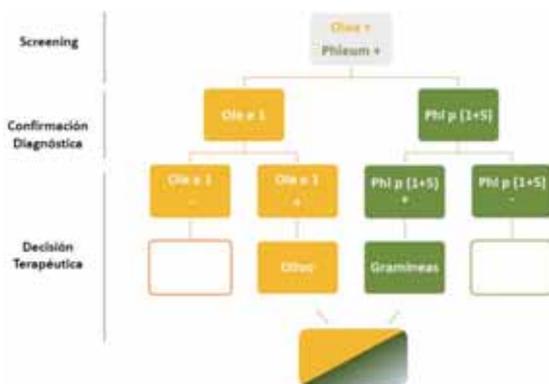
Diferentes estudios, demuestran la distinta prevalencia de sensibilización a cada alérgeno lo cual nos permite establecer distintos fenotipos con implicaciones clínicas: intensidad de la enfermedad, respuesta a ITA, comorbilidades, reactividad cruzada, etc. Por ejemplo en el estudio EXPO (Exposición al polen de olivo) se aprecia distribución geográfica de la prevalencia a diferentes alérgenos de Olea. (Figura 7)

Figura 7



De todo lo anterior, se desprende que la utilización de extractos biológicos en diagnóstico o tratamiento específico (ITA) plantea diferentes dificultades: variabilidad en la composición alérgica, presencia de moléculas a las que el paciente no está sensibilizado, reactividad cruzada entre alérgenos de diferentes fuentes biológicas aunque taxonómicamente próximas, etc. Para hacer frente a estos problemas, nuevas alternativas biotecnológicas como el diagnóstico basado en componentes (CRD) nos permiten una mejor selección del paciente candidato a recibir inmunoterapia. En este sentido, la propuesta de la Dra. Moreno Aguilar (Figura 8) diseñada como un árbol de decisión en pacientes sensibilizados a pólenes de olivo y gramíneas, representa un gran avance en la optimización del tratamiento, alcanzando por un lado mayor eficacia y por otro mayor seguridad.

Figura 8



En cuanto al tratamiento etiológico en la alergia al polen de olivo, existen publicaciones que demuestran claramente su eficacia además de aspectos prácticos de la misma como tolerancia, dosis óptima, pautas y utilización tanto de la vía de administración subcutánea la sublingual, y con extractos que contienen polen de olivo de forma exclusiva o mezclado con polen de gramíneas.

6. Inmunoterapia subcutánea

En un ensayo clínico realizado en pacientes de Jaén, se investigó la tolerancia y eficacia de un extracto de *O. europaea* estandarizado biológicamente y con el alérgeno mayoritario Ole e1 cuantificado en Unidades de Masa. La mayoría de los pacientes alcanzaron una dosis máxima tres veces superior a la convencional con un porcentaje de reacciones adversas de solo el 2,9%. En cuanto a la eficacia destaco el test de provocación bronquial específica *O. europaea* observando un importante

descenso de la sensibilidad bronquial tras el tratamiento en el grupo activo ya que para obtener un descenso del FEV1 del 20% se necesitó una concentración de alérgeno cinco veces mayor después del tratamiento

Otro estudio randomizado usando un extracto despigmentado y polimerizado en glutaraldehido encontró similares hallazgos tras el tratamiento necesitando 5,5 veces más alérgeno de polen de olivo para obtener la misma respuesta en la broncprovocacion tras realizar tratamiento durante un año.

La utilidad de la mezcla de alérgenos de olivo y gramíneas quedo demostrada en un estudio en el que los pacientes que recibieron un extracto despigmentado y polimerizado en glutaraldehido en cuya composición a partes iguales entraban a formar parte *O. europaea* y *D. glomerata* mostraron mejoría significativa en la reducción de síntomas, necesidades de tratamiento y puntuación de los parámetros recogidos en los cuestionarios de calidad de vida.

De forma más reciente otro estudio conducido en Turquía demuestra como el tratamiento con un extracto de polen de olivo modificado químicamente con formolaldehido, es capaz de introducir con solo 7 dosis cambios inmunológicos “In Vivo”: disminución en los síntomas nasales, la provocación nasal específica y tanto la reactividad cutanea como “In Vitro”: disminución de la activación del Test de Basofilos (TAB), incremento de IgE, IgG1 e IgG4 específicas frente a olivo.

La necesidad de alcanzar, en el menor tiempo posible, la dosis de mantenimiento en el tratamiento con extractos alergénicos, supone una mayor adherencia al tratamiento, con menor número de visitas y lo que parece más importante una más rápida e intensa respuesta en cuanto al alivio y control sintomático. Habitualmente se realizan pautas rapidas (*rush*) o agrupadas (*clúster*) que en ocasiones consiguen alcanzar la dosis terapéutica en una o muy pocas sesiones. El éxito de estas pautas está documentado con extractos de *Olea europaea*, otros aerolaergenos, venenos de insectos y en alergia a alimentos con los procedimientos de inducción de tolerancia fundamentalmente con leche y huevo.

7. Inmunoterapia sublingual

En los últimos años, se ha observado un creciente interés por vías de administración de extractos alergénicos, diferentes a la subcutánea habitual. Así, se ha ensayado su administración tópica nasal, bronquial, intralinfatica o epicutanea. De todas ellas es quizás la vía sublingual la que mayores expectativas han creado debido a su aceptación por el paciente y su excelente tolerancia como lo demuestra el escaso número y gravedad de los efectos adversos observados.

La eficacia de la ITA administrada vía sublingual con polen de Olivo quedo demostrada en un ensayo clínico doble ciego controlado con placebo, con altas dosis de extracto que se administró a un grupo de 66 niños alérgicos. Tras dos años de tratamiento, los autores observaron una disminución tanto de la sintomatología bronquial (disnea), como óculo nasal durante la época de polinización aunque sin encontrar diferencias en cuanto a las necesidades de tratamiento sintomático para aliviar los síntomas.

Otro estudio de diseño prospectivo controlado con tratamiento farmacológico, en pacientes monosensibilizados al polen de olivo, a los que les administro ITA sublingual utilizando dos pautas diferentes (10 co-estacional, 11 pre-co-estacional) encontró mejoría en la intensidad de los síntomas (medida mediante una escala visual analógica) y disminución en el consumo de medicación de rescate, de forma significativa en aquellos pacientes que recibieron tratamiento según pauta co-estacional pero no así en el grupo control.

8. Bibliografía

- 1) NOON, L. (1911). «Prophylactic inoculation against hay fever», *Lancet* 2, pp. 1572–1573
- 2) CRETICOS, P.S. (1992). «Immunotherapy with allergens», *JAMA* 268, pp. 2834-2839.
- 3) BOUSQUET, J. (1998). «Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. A WHO position paper», *J Allergy Clin Immunol* 102(4 Pt 1), pp.:558-562.
- 4) Executive Committee GEMA 2009. (2010). «GEMA 2009 (Spanish guideline on the management of asthma)», *J Investig Allergol Clin Immunol* 20 (Suppl 1), pp.1-59.
- 5) ILIOPOULOS, O. (1991). «Effects of immunotherapy on the early, late, and rechallenge nasal reaction to provocation with allergen: changes in inflammatory mediators and cells», *J Allergy Clin Immunol* 87, pp. 855-866.
- 6) VAN METRE, T.E. (1990). «Immunotherapy decreases skin sensitivity to ragweed extract: demonstration by midpoint skin test titration», *J Allergy Clin Immunol* 86, pp. 587.
- 7) AALBERSE, R.C. (2009). «Immunoglobulin G4: an odd antibody», *Clin Exp Allergy* 39, pp. 469.
- 8) TILL, S.J. (2004). «Mechanisms of immunotherapy», *J Allergy Clin Immunol* 113, pp.1025.

- 9) WAMBRE, E. (2012). «Differentiation stage determines pathologic and protective allergen-specific CD4+ T-cell outcomes during specific immunotherapy», *J Allergy Clin Immunol* 129, pp.544.
- 10) BLASER, K. (2004). «Interleukin-10, T regulatory cells and specific allergy treatment», *Clin Exp Allergy* 34, pp.328.
- 11) FRANCIS, J.N. (2003). «Induction of IL-10+CD4+CD25+ T cells by grass pollen immunotherapy», *J Allergy Clin Immunol* 111, pp.1255.
- 12) WILSON, D.R. (2001). «Grass pollen immunotherapy inhibits seasonal increases in basophils and eosinophils in the nasal epithelium», *Clin Exp Allergy* 31, pp. 1705.
- 13) DURHAM, S.R. (1999). «Grass pollen immunotherapy decreases the number of mast cells in the skin», *Clin Exp Allergy* 29, pp.1490.
- 14) DURHAM, S.R. (1996). «Grass pollen immunotherapy inhibits allergen-induced infiltration of CD4 + T lymphocytes and eosinophils in the nasal mucosa and increases the number of cells expressing messenger RNA for interferon-gamma», *J Allergy Clin Immunol* 97, pp.1356-1365
- 15) JUTEL, M. (2006). «Mechanisms of allergen specific immunotherapy-T-cell tolerance and more», *Allergy* 61(7), pp.796-807.
- 16) JUTEL, M. (2011). «Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy», *Allergy* 66, pp. 725-732.
- 17) MOINGEON, P. (2006). «Immune mechanisms of allergen-specific sublingual immunotherapy», *Allergy* 61, pp.151-165
- 18) MOINGEON, P. (2006). «Immune mechanisms of allergen-specific sublingual immunotherapy», *Allergy* 61(2), pp. 151-165.
- 19) FLORIDO, J.F. (1999). «High levels of Oleaeuropaea pollen and relation with clinical findings», *Int Arch Allergy Immunol* 119(2), pp.133-137.
- 20) RODRIGUEZ, R. (2001). «The spectrum of olive pollen allergens», *Int Arch Allergy Immunol* 125(3), pp.185-195.
- 21) BARBER, D. (2008). «Understanding patient sensitization profiles in complex pollen areas: a molecular epidemiological study», *Allergy* 63(11), pp.1550-1558.
- 22) GONZALEZ, E.M. (2000). «Allergenic cross-reactivity of olive pollen», *Allergy* 55(7). Pp. 658-663.
- 23) QUIRALTE, J. (2002). «Olive allergen-specific IgE responses in patients with Olea europea polinosis», *Allergy* 57 Suppl 71, pp.47-52.
- 24) QUIRALTE, J. (2007). «Modelling diseases: the allergens of Olea europea pollen», *J Investig Allergol Clin Immunol* 17 Suppl 1, pp. 24-30.
- 25) GONZÁLEZ, P. (2002). «Immunotherapy with an extract of Olea europea quantified in mass units. Evaluation of the safety and efficacy after one year of treatment», *J Investig Allergol Clin Immunol* 12(4), pp. 263-271.

- 26) SERRANO DELGADO, P. (2007). Sensibilización a alérgenos minoritarios de *Olea europaea* como causa de reacciones sistémicas por inmunoterapia alérgeno-específica [doctoral thesis]. Cordoba (Spain): University of Cordoba.
- 27) GOKMEN, N.M. (2012). «Desensitization effect of preseasonal seven-injection allergoid immunotherapy with olive pollen on basophil activation: the efficacy of olive pollen-specific preseasonal allergoid immunotherapy on basophils». *Int Arch Allergy Immunol* 159(1), pp.75-82.
- 28) LEONARDI, S. (2010). «*Olea* sublingual allergoid immunotherapy administered with two different treatment regimens», *Allergy Asthma Proc* 31(2), p.p 25-9.