МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО АЛЕРГОЛОГИЯ

ПЛАМЕНА ИВАНОВА НОВАКОВА-ТРАЯНОВА

„ КЛИНИЧНА И ИМУНОЛОГИЧНА ОЦЕНКА НА ДЪЛГОСРОЧЕН ЕФЕКТ ОТ АЛЕРГЕН СПЕЦИФИЧНА ИМУНОТЕРАПИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ С АЛЕРГИЧЕН РИНИТ”

ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД
за присъждане на научна и образователна степен **”ДОКТОР”**
В ОБЛАСТ НА ВИСШЕ ОБРАЗОВАНИЕ 7. ЗДРАВЕОПАЗВАНЕ И СПОРТ,
ПРОФЕСИОНАЛНО НАПРАВЛЕНИЕ 7.1. МЕДИЦИНА
НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ „ИМУНОПАТОЛОГИЯ И АЛЕРГОЛОГИЯ”

Научен ръководител:
проф. д-р Мария Тончева Стаевска, дм

София
2023 год.

Съдържание: **стр.**

Увод 4
Литературен обзор..... 6
I. Алергичен ринит – същност на проблема..... 8
II. Механизъм на алергичен ринит..... 10
III. Алергичен ринит и мястото на алергенната имунотерапия..... 16
IV. Механизъм на алергенна имунотерапия 19
V. Дългосрочен клиничен ефект от алергенна имунотерапия при алергичен ринит..... 24
VI. Клинични изходи за оценка на алергенна имунотерапия..... 28
VII. Имунологични биомаркери за оценка и проследяване клиничната ефикасност на алергенната имунотерапия..... 32
VIII. Връзка между хуморални биомаркери и клиничен изход от алергенна имунотерапия..... 37
IX. Основни изводи от литературния обзор..... 42
Цел..... 44
Задачи..... 44
Материал и методи..... 45
Резултати и обсъждане..... 58
I. Валидиране на въпросник за оценка на удовлетвореност от алергенна имунотерапия..... 59
II Оценка на дългосрочен ефект от алергенна имунотерапия при алергичен ринит чрез стандартизирани клинични показатели..... 67
1. Тежест на алергичен ринит – оценка..... 68
2. Оценка на качество на живот..... 92
3. Оценка на контрол на алергичен ринит..... 104
4. Удовлетвореност от алергенна имунотерапия..... 111
III. Оценка на имунологични биомаркери за мониториране на дългосрочна клинична ефикасност на алергенна имунотерапия..... 124
1. Оценка на серумни нива на s IgG4..... 125
2. Оценка на серумни нива на общи и специфични IgE..... 133
3. Съотношение sIgG4/sIgE..... 140
IV Установяване и анализиране на връзка между имунологични биомаркери и клинични изходи от алергенна имунотрапия..... 146
Генерални изводи и препоръки 163

Приноси на дисертационния труд 165
Заключение..... 167
Приложения 169
Литературни източници..... 174

УВОД

Алергичният ринит- Ig-E медиирано възпаление на носната лигавица, което възниква при контакт с алерген и е най-честото алергично заболяване. Засяга до 40% от общата популация. Ринитът е съществен здравен проблем, но не само заради големия брой пациенти, които страдат от него. Значимостта на ринита се определя и от сериозното неблагоприятно въздействие, което той оказва както върху здравето на пациентите, така и върху качеството им на живот. Алергичният ринит е свързан със значителни директни разходи и има висока здравна и социална цена. Той е и значим рисков фактор за развитие на бронхиална астма. Всичко това обяснява големия интерес в разкриването на подлежащите механизми на алергичния ринит и възможностите за лечение. Сериозно място в това лечение заема алергенната имунотерапия, която е един от стълбовете в терапевтичния подход към пациенти с IgE-медиирана алергия.

Проведена субкутанно или сублингвално, алергенната имунотерапията е доказано ефикасно лечение на алергичния ринит. Тя води до сигнификантно намаляване на симптомите, на нуждите от фармакотерапия, както и до значително подобряване на качеството на живот. До момента това е и единствената модифицираща заболяването стратегия, която може да индуцира имунологичен толеранс и да осигурява дълготраен ефект и след приключване на лечението. Съществуващите сложните взаимодействия между имунна система, алергени, симптоми и алергенни ваксини обаче, обуславят разликите в терапевтичния отговор при различните пациенти, провеждащи имунотерапия. Това определя и нуждата от биологични маркери, които да са предиктивни за успешен

терапевтичен отговор и да служат за проследяване на клиничен ефект на алергенна имунотерапия.

В тази връзка Европейската Академия по Алергология и Клинична Имунология препоръча клинични изходи и имунологични биомаркери за отчитане на ефект от алергенна имунотерапия при алергичен ринит. При целенасоченото търсене в медицинската литература обаче бяха установени сравнително малко публикации, свързани с дългосрочна клинична оценка на ефекта от алергенна имунотерапия при алергичен ринит. Още по-ограничени на брой се оказаха проучванията, оценяващи корелация между клинични и имунологични показатели. В световната литература все още няма и достатъчно публикувани данни върху комплексната дългосрочна оценка на клиничните показатели и корелацията им с имунологичните биомаркери. Недостатъчни са и проучванията тип „реален живот" върху дългосрочен ефект на алергенната имунотерапия при пациенти с алергичен ринит. За България такива изследвания не са публикувани.

Поради тези причини беше взето решение, чрез проучване под формата на дисертационен труд, да оценим дългосрочния ефект на алергенната имунотерапия при пациенти с алергичен ринит като използваме препоръчани от Европейската Академия клинични и имунологични показатели и като изследваме корелационната зависимост между тях. Такъв тип проучване се провежда за пръв път в нашата страна, а за някои от анализираните корелации до момента няма намерени публикации в достъпната медицинска литература. Считаме, че с резултатите от дисертационния труд значително ще се обогатят наличните към момента данни върху ефекта на имунотерапията и нейните дългосрочни ползи при алергичен ринит. Желанието ни е и да бъде насърчено по-широкото прилагане на такъв вид терапия за повлияване на алергичните заболявания.

ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

I. Алергичен ринит – същност на проблема

Алергичният ринит (АР) е хронично възпалително заболяване на назалната лигавица в резултат на IgE–медииран имунен отговор към инхалаторни алергени при сенсибилизирани индивиди [1]. АР е и най-честото алергично заболяване, което засяга до 40% от общата популация. Само в Европа боледуват около 100 милиона души. Проучване за нашата страна от 8 големи и 8 малки града от 2000 година установява честота 18.2% [2]. Наблюдава се и нарастваща честота през последните 20 години при деца, подрастващи и възрастни [3].

АР се асоциира със сигнификантно влошаване на качеството на живот. Доказано е нарушение на съня като са засегнати всички негови компоненти- трудно заспиване, неспокоен сън, преждевременно събуждане, събуждане без чувство за отпочиналост, хъркане, безсъние [4.5].

Симптомите на АР се асоциират с намалена дневна активност и влошена работоспособност. При 36-59% от пациентите с АР е отчетена намалена продуктивност (презантиизъм), а 20% съобщават за отсъствие от работа поради симптоми (абсантиизъм). В същото време 42% от децата изпитват затруднения в училище и имат намалена успеваемост [6]. Отчетени са и значими социални ограничения и емоционални проблеми. Заболяването е свързано със сериозни директни и индиректни разходи [7]. Това превръща АР в икономическо бреме и глобален здравен проблем [8].
Между назалната и бронхиална лигавици има значима анатомична и функционална връзка, което дава основание да се говори за единен дихателен път. Епидемиологични проучвания доказват, че АР и астмата са често съпътстващи заболявания, а АР е рисков фактор за астма. До 85% от

пациентите с астма страдат от АР докато 20%-30% от пациентите с ринит имат астма. Това още повече повишава значимостта на АР като здравен проблем [9].

Симптомите на заболяването включват ринорея (60%-90%), кихане (60-93%), назална конгестия (34%-84%), сърбеж в носа (35%-78%). До 79% от случаите се асоциира и с очни симптоми. Тогава се говори за алергичен риноконюктивит. Тези оплаквания продължават два или повече последователни дни за повече от един час през повечето дни [1].

В зависимост от мястото си на разпространение, инхалаторните алергени, с които се свързва АР, се делят на алергени на закрито (indoor алергени) и алергени на открито (outdoor). Най-честите алергени, причиняващи АР в Европа вкл. и у нас са микрокърлежите домашния прах (*Dermatophagoides pteronyssinus* и *Dermatophagoides farinae*) и тревния полен. В тази връзка и според времето за проява, АР се класифицира като „сезонен”- с периодични симптоми, провокирани от алергени на открито, напр. тревен, дървесен полен, плевели и „целогодишен”- индуциран от indoor алергени – микрокърлежи, домашни любимци, плесени. Тази класификация се използва от агенцията по храни и лекарства (FDA) при регистрация на медикаменти за лечение на АР.

Класифицирането само на базата на причиняващите алергени крие риск от неточности, свързани с различия в начина на експозиция в различни географски райони, напр. сезонни алергени могат да действат целогодишно. Това дава основание да бъде предложена нова класификация, отразена в консенсуса ARIA (Allergic Rhinitis and Impact on Asthma) [1,10]. Според продължителността на симптомите А се класифицира като „интермитентен”- със симптоми до четири дни седмично или до четири последователни седмици годишно и „персистиращ”– симптоми четири или повече дни седмично и четири или повече последователни седмици годишно. Според ефекта на симптомите

върху съня, дневната активност, работоспособността и изявите в училище, ARIA класифицира АР като лек и умерено тежък/тежък.

II. Механизъм на алергичен ринит

1. Сенсибилизация

Началото на алергичното възпаление е свързано с взаимодействие между епителните и дендритните клетки, което отключва ранната и късната фаза на имунен отговор. Първоначално инхалаторни алергени преминават през епителните клетки на назалната лигавица. Веднъж активирани, тези клетки освобождават цитокини, които засилват рекрутирането на незрели дендритни клетки [11].

Наличие на дисфункция на назалния епител допринася към патофизиологията на AP. Засилена активност на хистон-деацетилаза компрометира епителния интегритет посредством нарушаване на функцията на tight junction протеини, което облекчава пенетрацията на алергени [12]. При своето увреждане епителните клетки започват да освобождават IL-33, TSLP и IL-25, които заедно стимулират развитието на проалргенни дендритни клетки тип 2. В същото време тези цитокини (алармини) подпомагат развитието на тип 2 наивни лимфоидни клетки (ILC2), които заедно с дендритните клетки тип 2 засилват локално Т2 алергично възпаление. Gueguen C, Bouley J, Moussu H, et al. Changes in markers associated with dendritic cells driving the differentiation of either TH2 cells or regulatory T cells correlate with clinical benefit during allergen immunotherapy. J Allergy Clin Immunol. 2016;137(2):545–58 TSLP и IL-33 могат и самостоятелно директно да активират Th2 клетки. Наскоро беше доказана и допълнителна роля на IL-33 в дегранулацията на мастоцити, което засилва имунния отговор в ранната му фаза [13].

След навлизане на аероалерген дендритните клетки, като антиген-представящи клетки, мигрират към локалните лимфни възли. Там се активират наивните CD4+ Т лимфоцити. От герминативния център на лимфните възли произлизат още един подвид CD4+ лимфоцити– Т

фоликуларни хелперни клетки (Tfh), Те имат решаващо значение за формиране на В клетъчни фолокули и взаимодействието между Т и В лимфоцити. Освен в лимфните възли, Tfh могат да навлизат в циркулацията и да мигрират до назалната мукоза, където добиват характеристиките на Th2 лимфоцити и индуцират локална продукция на IgE. Тип 2 Tfh експресират транскрипционен фактор GATA-3 и секретират Th2 цитокини IL-4 и IL-21, които промотират изотипното превключване на тежките вериги на имуноглобулините и образуване на IgE от В-клетките [14]. Така секретираните IL-4, IL-13 и IL-21, заедно с онези, секретирани от Th2 лимфоцити промоцират транскрипцията на В клетки. Феноменът „сенсибилизация" към алерген означава IgE+ плазматични клетки, продуциращи специфични IgE, да се свържат към рецептори за IgE с висок афинитет (FcεRI) върху повърхността на мастоцити и базофили. При последваща експозиция, съответният алерген кръстосано свързва съседни IgE молекули и индуцира дегранулация на ефекторните клетки (базофили, мастоцити). Това води до ранната фаза на алергичен отговор.

2. Ранна фаза на алергичен отговор

Ранната фаза на алергичен отговор се развива до 60 минути след назална алергенна провокация. В рамките на 5 минути след назална провокация нивото на триптаза се повишава. Това клинично се изявява с ринорея, кихане, сърбеж и назална обструкция.

Основен механизъм в ранната фаза на алергичен отговор е IgE–зависима дегранулация на мастоцити и базофили [15]. IgE рецептори с висок афинитет (FcεRI), които се експесират върху базофили, мастоцити и дендритни клетки, се свързват със свободни IgE молекули. Независимо от алергенния статус, IgE първоначално се свързват по-скоро с рецепторите върху базофилите, а не толкова върху дендритните клетки. Експресията на FcεRI може да се увеличи в отговор на повишено ниво на IgE в серум.

След кръстосаното свързване на алерген със съответните специфични IgE молекули следва освобождаване на медиатори от интра-цитоплазмени гранули на ефекторните клетки, ръководено от фосфодиестеаза 3. Такива медиатори са хистамин, триптаза, цистеинил левкотриени и простагландин D2.

Стимулирането на хистаминовите рецептори H1 и H2, разположени върху сензорните нервни окончания предизвиква кихане и сърбеж, докато стимулирането на същите рецептори върху епителните клетки потиска функцията на tight junctions и с това засилва съдовия пермеабилитет. Установено е, че локално продуцираният хистамиин в назалния секрет на пациенти с алергичен ринит е достатъчен, за да наруши епителния интегритет in vitro. Това, заедно с действието на цистеиниллевкотриени и простагландин D2, повишава навлизането на имунни клетки в назалната мукоза.

3. Късна фаза на алергичен отговор

Късната фаза на алергичния отговор се развива от 4 до 12 часа след алергенна провокация и се характеризира с навлизане в тъканите на еозинофили, Th2 клетки и ILC2 [6]. С това се свързва и основната клинична изява на късната фаза, а именно назална обструкция.

Посоченият по-горе патогенетичен механизъм е под регулацията на Th2 клетки. До 8 часа след алергенна провокация се установява сигнификантно повишаване в нивата на назален еотаксин, еозинофилен катионен протеин, както и на Th2 цитокините IL-4, IL-5, IL-9, IL-13. Наличието им е свързано с множество имунни реакции.

IL-4 е ключов цитокин за Th2 диференциацията. Освен това IL-4, подобно на хистамина, може да предизвика бариерна дисфункция посредством потискане на tight junctions. Това е доказано при експериментални модели със сенсибилизация към микрокърлежи [15]. IL-4

и IL-13 акривират адхезионни молекули като ICAM-1 и VCAM-1, което благоприятства миграция в назална мукоза на ефекторни клетки. IL-4 и IL-13 стимулират прозводството на ε-генни транскрипти от В-клетките, което е и първата стъпка в генното пренареждане на тежките вериги за продукция на IgE. IL-4 и IL-13 регулират експресията на съдово-клетъчния адхезионен протеин върху съдовия ендотел. Това от своя страна промотира адхезията на т.нар. a4b1 интегрин (още very late antigen 4 VLA-4), който има ключова роля в клетъчната адхезия. IL-5 е отговорен за крайната диференциация и освобождаването на еозинофили от костния мозък. Този цитокин удължава преживяемостта на еозинофилите чрез инхибиране на тъканната еозинофилна апоптоза. Локално рекрутираните еозинофили секретират токсични медиатори, които увреждат назалния епител [16]. Освободеният от Th2 IL-9 пък е ключов цитокин в диференцияцията и матурацията на мастоцити.

Th2 експресират CRTH2, рецептор за простагландин D2, секретиран през ранната фаза на алергичен отговор. Експресията на този рецептор върху Th2 клетки, доказана до 6 часа след назална алергенна провокация, се регулира от тирозинкиназа. Това е и върховото време за миграция на Th2 лимфоцити.

За разлика от сенсибилизирани асимптомни, при пациенти с АР, е идентифициран подвид Th2 клетки, който експресира ST2, рецептор за IL-33. Именно появата на този подвид може да се окаже онази имунологична пренастройка, необходима за преход от сенсибилизация към клинична изява на алергичен ринит [17]. Доказан е и един сравнително нов подвид алерген-специфични Th2 клетки (Th2A), които липсват при неатопици и които се считат за ключови в промотиране на алергичен отговор [18].

Алтернативен източник на Th2 цитокини в носната лигавица са ILC2s. Те продуцират най-вече IL-5 и IL-13. Освен това при пациентите с АР се доказват повишени нива на IL-17, произхождащи от Th17. Този

цитокин потенциално може да допринася за механизма на заболяването чрез повишаване на синтеза на sIgE от В клетките.

4. Развитие на имунологичен толеранс

В този процес ключова е ролята на Т- и В- регулаторните клетки. Т-регулаторните клетки предотвратяват и потискат алергичното възпаление чрез инхибиране на алерген-зависимата дегранулация на мастоцити и базофили, както и чрез потискане клетъчните функции на еозинофили, дендритни клетки, Т-и В-лимфоцити. Тези супресивни ефекти се медиират от: регулаторни цитокини- IL-10, TGF-β, IL-35; мембрано-свързаният цитотоксичен Т-лимфоцитен антиген 4 (CTLA-4), който инхибира активацията на дендритните клетки; индуциране на подклас толерогенни дендритни клетки. T-regs потискат експресията на FcεRI рецептори на мастоцити, намаляват синтезата на алерген-специфични IgE и промотират В-клетъчната продуция на антиинфламаторни IgG4 антитела.

В-регулаторните клетки също имат място в индуциране на имунологичен толеранс. Те синтезират IgG4 блокиращи антитела, потискат активацията и пролиферацията на ефекторни Т-лимфоцити, потискат Th-2 зависимото възпаление. Те подпомагат и синтеза на Т-регулаторни клетки най-вече чрез експресия на Foxp3. Всички тези ефекти на В-регулатроните клетки са медиирани от инхибиторни цитокини: IL- 10 и TGF-β, както и TGF-β-активиращ протеин [19]

5. Орофарингеалната лигавица като толерогенен орган

Устната кухина е естествено толерогенен орган и остава незасегната въпреки повтарящата се експозиция на множество чужди протеини. Основен принос за този толеранс имат Лангерхансовите клетки и моноцитите, които продуцират IL-10 и TGF-β [20]. Т-клетки, изолирани от човешка букална лигавица, за разлика от кожни, екпресират TGF-β1, IL-10

(най-вече в областта на vesibulum oris), interferon-γ и IL-17, както и toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. Доказано е, че оралните Лангерхансови клетки могат бързо да поемат Phl p 5 антигена (в рамките на 5 минути), което води до намаляване на тяхната матурация и засилване продукцията на инхибиторни цитокни. Тонзилите и прилежаващата лимфоидна тъкан са локализирани на входа на хранителната и дихателната система и могат да имат важно значение за локалното индуциране на толеранс към алергени. Установено е по-високо количество CD3+ FOXP3+ и CD25+ FOXP3+ Т клетки в сублингвалната мукоза на пациенти, провеждащи лечение с високи дози сублингвална имунотерапия с тревен полен, в сравнение с плацебо. Доказана е експресия от Т-клетките на IL-10, което е показател за индуциране на локални Т-регулаторни клетки и успех от лечението [21].

III. Алергичен ринит и мястото на алергенната имунотерапия

Принципите за поведение при АР са посочени в консенсуса ARIA и включват контрол върху средата, фармакотерапия и алергенна имунотерапия [1].

Логично е да се допусне, че при избягване на алергена и при взимане на мерки за намаляване на алергенния товар в средата ще настъпи клинично подобрение на заболяването. Повечето интервенции в тази насока обаче са неуспешни или трудно приложими [22, 23].

Настоящият фармакотерапевтичен подход включва антихистамини и интраназални кортикостероиди. Изборът на фармакотерапия зависи от няколко фактора– възраст на пациента, доминиращи симптоми, тежест, контрол, предпочитания и цена. Според продължителността и тежестта на симптомите се препоръчва стъпаловиден подход [10]. Фармакотерапията обаче осигурява временно облекчаване на симптоми. Същевременно тя не успява да постигне овладяване на симптоми при 30% -60% от пациентите с АР [24].

Терапевтична стратегия за пациенти, които не постигат контрол с правилно избрана и провеждана фармакотерапия е алергенна имунотерапия (АИТ). През своята 110 годишна история, АИТ става един от стълбовете в терапевтичния подход към пациенти с алергия. Множество проучвания доказват нейната ефикасност. До момента това е единствената модифицираща заболяването стратегия. АР (сенна хрема) е първото заболяване, при което тя е приложена [25].

В основата на АИТ е индуцирането на имунологичен толеранс- т.е. адаптация на имунната система, която се характеризира със специфична невъзпалителна реактивност към определен алерген, който в други обстоятелства би довел до клетъчно-медииран или хуморален отговор и последващите тъканно възпаление и/или продукция на IgE антитела.

Индиуцирането на постоянен толеранс към даден алерген е главният имунологичен механизъм на АИТ [26].

АИТ е показана при умерено-тежък/тежък интермитентен и всички форми на персистиращ АР [27]. Терапията е показана и при леки симптоми с цел продължителна полза и потенциален модифицираш заболяването ефект и превенция на астма [28].

АИТ за лечение на АР се провежда по два начина: субкутанна имунотерапия (СКИТ) и сублингвална (СЛИТ). СКИТ, първата имунотерапия, въведена преди повече от един век, се състои в прилагане на покачващи дози алерген за 8-12 седмици до достигане на максимална, след което продължава с приложение на поддържаща доза. СЛИТ, одобрена от Световната здравна организация през 1998 година, се състои от сублингвално приложение на висока доза алергенен екстракт под формата на капки или таблетки (табл. 1) [29].

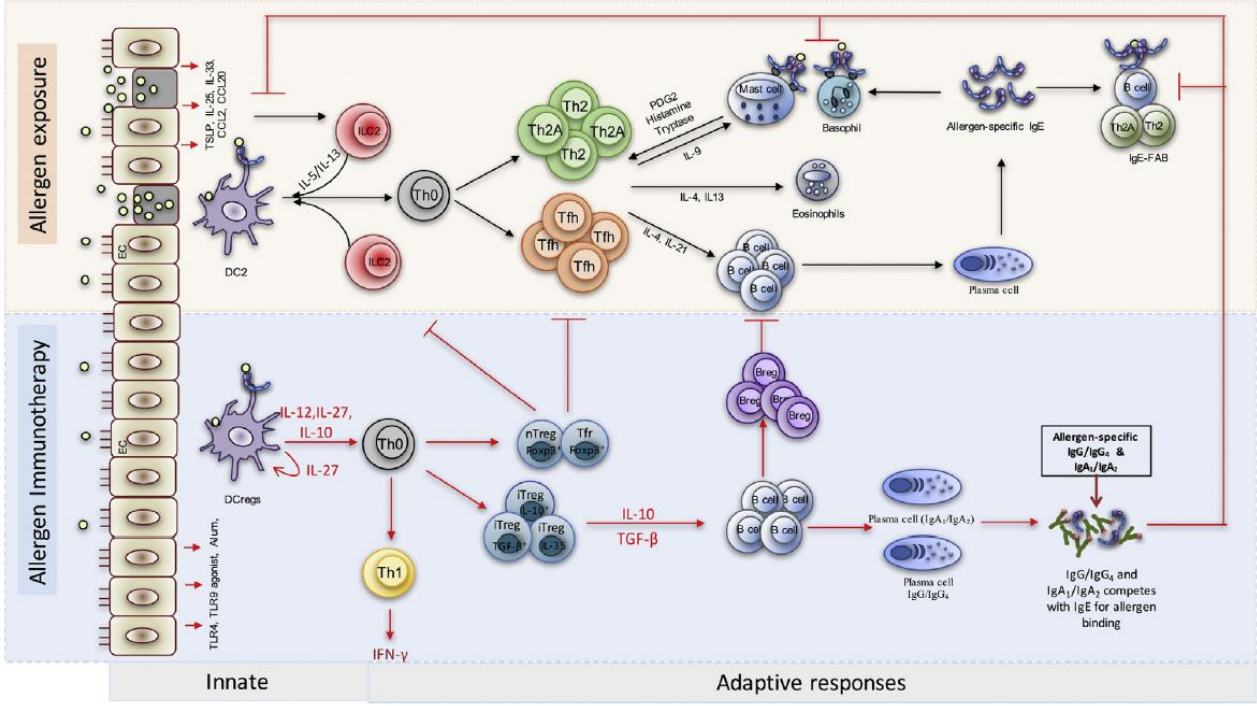
Предимства и недостатъци на субкутанна и сублингвална имунотерапия НЛР – нежелана лекарствена реакция [адапт. по Roberts G. et al. (28)]. **Таблица 1.**

Вид имунотерапия	**Предимства**	**Недостатъци**
Субкутанна	Ефективна в краткосрочен и дългосрочен план в лечението на персистиращ и интермитентен алергичен ринит	1. Нужда от инжекции 2. Необходимост от проследяване на пациента поне 30 мин след инжекция в клинична среда 3. 1:2000 шанс от

		умерено тежи/тежки системни алвргични реакции 4. Чести локални НЛР
Сублингвална	1. Ефективна в краткосрочен и дългосрочен план в лечението на персистиращ и интермитентен алергичен ринит 2. Няма инжекции 3. Възможност за приложение в домашна обстановка	1. Нужда от самоконтрол от страна на пациента 2. Нужда от наблюдение в клинична обстановка при първи прием 3. Редки умерен-тежки/тежки НЛР (<1:500) 4. Чести локални НЛР, които са самоограничаващи се

IV. Механизъм на алергенна имунотерапия

Имунният толеранс, индуциран от АИТ с инхалаторни алергени зависи от потискането на функциите на алерген-специфичните Т- и В-паметови клетки, от модулирането на алерген-специфичните IgE- и IgG-медииран отговор, както и от инхибирането на мастоцитната и базофилната дегранулация. АИТ редуцира еозинофилната инфилтрация в дихателните пътща и намалява нивата на еозинофилния катионен протеин- маркер за еозинофилната активация. (Фиг.1) / [30].



Фигура 1. Механизъм на АИТ [по Shamji at al (30)].

1. IgE, IgA, IgG отговор при АИТ

В ранните им етапи, и при СКИТ, и при СЛИТ, се наблюдава асимптомно преходно повишаване на нивата на алерген-специфичните IgE антитела в серума. Това повишаване се последва от потискане на

обичайните сезонни пикове на IgE при контакт с алергена. Счита се, че ранната Th2 поларизация в резултат на експозиция на алергена има важно значение за успеха на АИТ. С напредване във времето на АИТ се наблюдава спад на алерген-специфичните IgE, което може се свързва с изграждането на дългосрочен имунен толеранс [20].

Ключова роля в модулацията на имунния отговор при АИТ имат IgG4 антителата. Алерген-специфичните IgG4 се сръзват със същите епитопи, които се разпознават и от IgE, като по този начин предотвратяват взаимодействието между алергените и мембрано-свързаните IgE. Така че IgG4 се съревновават с IgE за алергена и по този начин блокират образуването на IgE-алерген комплекси. Тази имунологична блокада води до потискане на мастоцитна и базофилна дегранулация и последващото освобождаване на медиатори. IgG4 блокират и връзката между алерген-IgE комплексите с нискоафинитетните рецептори (FcgRIIb) на B-клетките. По този начин се потиска и представянето на антигена на Т-клетките и алерген-специфичния Th2 отговор [19].

Различни проучвания демонстрират инхибиторния капацитет на IgG4. Проучване на James и колектив установява, че въпреки намаляване нивата на имунореактивните IgG/IgG4 с 80% до 90% 1 година след спиране на АИТ, IgG-асоцииранатa серумна IgE-инхибиторна активност се запазва за няколко години и се свързва с дългосрочна клинична ефикасност. Тези резултати показват, че въпреки по-ниските им нива, IgG антителата, които персистират след края на АИТ са високоафинитетни или с висок авидитет. Обсъжда се възможността за наличие на индуцирани от лечението паметови B-клетки с дълъг живот, които допринасят за дългосрочния толеранс [31].

Нивата на серумните специфични IgG4 нарастват в дозо- и време-зависим начин в хода на имунотерапията с тревен полен. IgG антитела се наблюдават както в периферия, така и в носен секрет. Специфичните IgG4

и асоциирана инхибиторна активност за IgE (IgE-FAB) са завишени в носен секрет на пациенти, получаващи СЛИТ, в сравнение с пациенти без това лечение. Wachholz и колектив доказват мощността на локалните IgG антитела, като демонстират, че степента на IgE супресия е много по-висока в носа в сравнение със серума при пациенти, провеждащи имунотерапия с тревен полен [31].

Проучване върху пациенти на висока доза СЛИТ с тревен полен, демонстрира повишаване на алерген-специфичните IgA2, IgG и IgG4, както и на сублингвалните FOXP3+ Tregs [32]. Дългосрочните клинични ползи от АИТ поне 2 години след спирането ѝ се асоциират с постоянно завишаване на алерген-спецфичните IgG4 и IgE-FAB [33, 34].

2. АИТ и ефекторните клетки- еозинофили, мастоцити и базофили

Успешната АИТ е съпроводена с редуциране на ранната и късната реакция както в кожата, така и в назална и борнхиалната лигавица. Механизмъм на ранната фаза на алергичното възпаление включва рекрутиране, активиране и инфилрация на еозинофили и активирани Т-клетки на местата на експозиция на алергена. В резултат на АИТ тези процеси са премахнати. Повишава се прагът на алергенна концентрация, необходима да индуцира реакция в таргетните органи. Редуцирана е и тежестта на имунния отговор в резултат на алерген неспецифична стимулация. АИТ намалява и бронхиалната, назалната и конюктивалната неспецифична хиперреактивност и корелира с клинично подобрение [26].

В резултат на АИТ с брезов полен например, се установяват намалени нива на еозинофилен катионен протеин, маркер за еозинофилна активация, редуцирана адхезия и хемотактични фактори за еозинофили и неутрофили. Всичко това корелира с намалена бронхиална хиперреактивност и клинично подобрение [35].

АИТ модулира прага на активация на мастоцити и базофили и по този начин се намалява IgE-медиираното освобождаване на хистамин [36]. Двойно сляпо плацебо контролирано прочване установява, че СКИТ с тревен полен води до намаляване броя на изходните нива на локалните ефекторните клетки в назална мукоза- CD1171 (c-kit1) мастоцити, базофили еозинофили в назалната мукоза в сравнение с плацебо. Тези наблюдавани промени се свързват и с подобрение на сезонните оплаквания и намалена нужда от медикаменти за спешно лечение [37]. Наблюдавана е директна корелация между редуциране нивата на IL-5 и броя еозинофили в назалната мукоза и между еозинофилния брой и тежест на сезонните симптоми. АИТ с микрокърлежи потиска експресията на мукозни съдови интрацелуларни адхезионни молкули 1 и редуцира локалната еозинофилия [38]. Всички тези данни показват, че както СКИТ, така и СЛИТ, намаляват рекрутиране и/или активация на ефекторните клетки в таргетните органи.

3. АИТ и Т- и В-лимфоцитен отговор

АИТ потиска Th2 лимфоцитите и стимулура образуване и активиране на Foxp3+ Treg клетки. Това води до увеличена продукция на цитокини IL-10 и TGF-β. Тези инхибиторни цитокини потискат проинфламаторните ефекти на мастоцитите, еозинофилите, Th2 клетките, макрогафите и дендритните клетки. IL-10 и TGF-β редуцират матурацията на инфламаторните клетки. Особенно е важна ролята на IL-10 в изотипното превключване на В-клетките и стимулиране продукцията на IgA и IgG4 [39].

АИТ увеличава броя на В регулаторните клетки, като напр. Br1клетки, които екпресират IL-10. Тези клетки имат способността на инхибират синтезата на IgE и да потискат Т лимфоцитите и проинфламаторните дендритни клетки. АИТ води до поларизация на

имунния отговор от Th2 на Th1 и по този начин се променя и цитокиновия профил. Още повече, чрез имунната девиация, както и чрез индуциране на Breg клетъчна пролиферация, АИТ успешно потиска продукцията на алерген-специфични IgE и се стимулира синтезът на IgG4 антитела- т.е сигнификантно редуциране има на IgE/IgG4 съотношението. Всички тези имунологичн ефекти на АИТ се медиират основно от IL-10 и се свързват с клинично подобрение на оплакванията [40]. Така например е установено, че завишените нива на локални FOXP3+ CD25+ T клетки в назалната лигавица след АИТ корелира с потискане на сезонните оплаквания и с клинична ефикасност.

4. АИТ и дендритни и ILC2 клетки

Lao-Araya и колектив установяват, че СКИТ с тревен полен потиска увеличените нива на ILC2s по време на поленовия сезон, което корелира с тежестта на съобщените от пациентите симптоми. Особено сигнификатни са тези резултати на фона на сезонното завишаване на клетките при контролни групи без АИТ и сезонен алергичен ринит [41].

Изучено е влиянието на АИТ върху подтиповете дендртини клетки в циркулацията. PCR на периферни кръвни проби, взети преди и 4 месеца след започване на АИТ с треви, установява значимо увеличаване на DCreg фенотип и то само сред респондери. Тези резултати корелират и със сигнификтно редуциране на риноконюктивитната симптоматика [42]. Едногодишна СЛИТ с микрокърлежи води до поява на периферни дендритни клетки с незрял фенотип и увеличен капацитет за производство на IL-10 и намалени нива на IL-12 [43].

V. Дългосрочен клиничен ефект от алергенна имунотерапия при алергичен ринит

Установено е, че АИТ (субкутанна или сублингвална) не просто намалява тежестта на симптомите и нуждата от симптоматично лечение по време на провеждане, но има и дългосрочен ефект поне 2 години след спирането ѝ. Именно този ефект представлява особен интерес за клиничната практика и отличава АИТ от симптоматичната терапия с антихистамини или кортикостероиди.

Няколко проучвания изучават дългосрочен клиничен ефект от АИТ при пациенти с алергичен ринит. Рандомизирано двойно-сляпо плацебо-контролирано проучване под ръководството на Durham и съавт. има за цел да оцени ефикасността на 3-годишен курс с тревен полен една година след спиране на терапията. Включени са пациенти с умерено тежък и тежък алергичен риноконюктивит, индуциран от тревен полен. Оценени са симптомен и медикаментозен скор, както и брой дни без оплаквания. Проучването установява, че 1 година след спиране на АИТ се наблюдава редуциране на назалните и очните симптоми с 26% в сравнение с плацебо, както и с 29% намаляване на медикаментозния скор. Прави се оценка и на качеството на живот на пациентите както по време на имунотерапията, така и след спирането ѝ. Установява се значимо повишаване на качеството на живот и на броя дни без симптоми и без нужда от лечение [44].

Клиничните ползи на АИТ се доказват и в още едно двойно-сляпо плацебо контролирано проучване, в което е оценена ефикасност на СЛИТ с тревен полен в 2 последователни години след 3 годишно лечение Установено е сигнификантно редуциране на оплакванията и нуждата от симптоматично лечение с 36% и 46% в активната група. Наблюдава се и статистически значима разлика в общия назален симптомен скор в полза на групата, получаваща имунотерапия. Проучването прави оценка и на

броя дни без симптоми, както и на броя дни без нужда от симптоматично лечение. Доказана е статистически значима разлика между двете групи пациенти по отношение брой дни без симптоми и брой дни без оплаквания- 46% в активната спрямо 32% при плацебо. В проучването е установено сигнификантно подобрение в качеството на живот след проведената СЛИТ. Значимостта на резултатите се засилва и от факта, че концентрацията на тревния полен в двете години на проучването е била една и съща [45].

Сред проучванията при възрастни пациенти с АР, за които е изследван дългосрочен ефект от АИТ, сред най–дългите периоди на оценка след спиране на терапия е това на Mosbech и Osterballe. В него, на базата на ограничен брой пациенти, е изследван симптомен и медкаментозен скор шест години след приключване на АИТ с тревен полен на 38 пациента. Установена е персистираща клинична полза по този показател [46]. Дългосрочният благоприятен ефект на АИТ е демонстриран и в проучването GAP (GRAZAX Asthma Prevention Study), което е фокусирано върху превенцията на астма при деца с алергия към тревен полен. Резултатите от проучването установяват, че ефектът върху симптомите се задържа поне две години след спиране на лечението [47].

В едно от малкото проучвания тип „доказателства от реалния живот", чрез ретроспективен анализ, е оценена дългосрочна ефективност на СЛИТ с тревен полен до две години след спиране на терапия Включват се 2851 пациента, провеждали СЛИТ и 71 275 контроли само на симптоматично лечение. Крайни точки на проучването са промяна във времето на броя симптоматични медикаменти за АР, както и поява на бронхиална астма. Резултатите от проучването установяват, че при пациентите, провеждали имунотерапия се наблюдава намаляване употребата на симптоматично лечение за АР с 18,8% в сравнение с контролната група. Доказва се и по-

нисък риск от развитие и по-дълго време до поява на бронхиална астма при пациентите, които са получавали имунотерапия [48].

В наскоро публикувано ретроспективно проучване Jutel и съавт. анализират ефективност на СКИТ с микрокърлежи шест години след приключване на терапия. Авторите установяват 59,7% по-малко нужди от симптоматични, облекчаващи медикаменти спрямо контролна група [49].
Според данните на най–обширното проучване на АИТ от реалния живот, публикувано до момента, до 7 години след приключване АИТ, както СЛИТ, така и СКИТ, сигнификантно намаляват изписаните облекчаващи медикаменти [50].

Още един подход за оценка на дългосрочна клинична полза от АИТ при пациенти с АР в медицинската литература е оценка на качеството на живот. Dedier и колектив потвърждават предходни резултати за по-високо качество на живот през първи сезон след 3-годишен курс на СЛИТ с тревен полен спрямо плацебо [51]. Еднопосочен е и изводът от публикувано наскоро проучване, в което е оценено и качество на живот след СКИТ с тревен полен [52]. Продължителна ефикасност на СЛИТ с тревен полен, оценена вкл. и чрез оценка на качество на живот, е установена и две години след 3-годишен курс на лечение в първото 5 годишно рандомизирано плацебо-контролирано проучване, публикувано от Durham и кол. [34].

АИТ е лечение с доказани дългосрочни ползи за пациените. Достъпната медицинска литература предоставя данни, основно от рандомизирани клинични проучвания, че проведена поне 3 години АИТ води до сигнификантно подобрение в качеството на живот и редуциране на симптомите при значителна част от пациентите с алергичен риноконюктивит в сравнение с плацебо. Този ефект се задържа минимум две години след спиране на лечението. Въпреки че не е обект на изследване в дисертационния труд, към клиничната полза от тригодишен курс АИТ трябва да се добавят и категоричните данни, свързани с

редуциране на риска от поява на бронхиална астма при пациенти с алергичен риноконюктивит. Изследвана е ползата и въпреки все още ниската степен на доказателство, резултати от независими проучвания демонстрират, че АИТ предотвратява появата на нови сенсибилизации [53].

VI. Клинични изходи за оценка на алергенна имунотерапия

Работната група по имунотерапия към EAACI разработи становище с препоръки за стандартизирани и глобално хармонизирани изходи за оценка и анализ на клинична полза при прилагане на АИТ в рандомизирани клинични проучвания [54]. Тази работна група разглежда и коментира клинични параметри в общо 9 домейна.

1. Тотален симптомен скор

Симптомният скор е начин за оценка тежестта на АР и представлява записване на интензивността на всеки отделен симптом: сърбеж, кихане, течащ нос, запушен нос, симптоми от страна на очите, чрез степенна скала. Резултатът от такова оценяване се получава като общ симптомен скор: назален симптомен скор (NSS) и тотален симптомен скор (TSS). Най-често използван за оценка тежестта на симптомите е осредненият тотален риноконюктивитен симптомен скор (RCSS) за определен период от време, свързан с експозицията на алерген (напр. цял поленов сезон при АИТ с тревен полен). Средният тотален RCSS се изготвя на базата на дневна оценка на шест до осем индивудиални ринитни и конюктивитни симптми. Използването на скор 0-3 е приет както от Европейската агенция по лекарствата (EMA), така и от FDA като лесен за приложение и достъпен метод [55,56].

2. Медикаментозен скор

АИТ намалява оплакванията и нуждата от симптоматична терапия при алергичните пациенти. Тъй като използването на медикаменти при нужда оказва влияние върху тежестта на симптомите и симптомния скор, то трябва да бъде отразявано ежедневно като медикаментозен скор [57]. Медикаментозният скор е индикатор за ефикасността на АИТ. Този

показател може да се използва и за оценка на фармакоикономичното влияние на заболяването.

3. Комбиниран симптомен и медикаментозен скор

Комбинираният симптомен и медикаментозен скор (CSMS), е лесен за приложение анализ на тежестта на заболяването и е препоръчан от FDA и EMA като параметър за изход от АИТ. Този показател отразява и тежестта на симтомите, и приема на медикаменти при нужда. Показателят се получава като се сумират дневният симптомен (0-3) и дневният медикаментозен (0-3) скор- резулатът е 0 до 6. CSMS при пациенти с алергичен риноконюктивит корелира и успешно отразява ефекта от АИТ [58]. Използването на CSMS позволява директно сравнение между различни клинични проучвания и е предложен като първична крайна точка при рандомизирани клични проучвания върху АИТ при алергичен риноконюкивит.

4. Визуално-аналогова скала

Визуално-аналоговата скала (ВАС) е психометрична скала, която представлява хоризонтална линия с дължина 10 сантиметра. Пациентите по нея могат да оценяват както общия дискомфорт на АР, така и всеки симптом поотделно като поставят вертикална линия по дължината на скалата. ВАС е предложена от работна група на ARIA като лесен начин за оценка тежестта на симптомите при алергичен ринит. Резултатите от ВАС сигнификантно корелират с оценката за качество на живот. ВАС е чувствтвителна на фармакотерапетичния отговор при възрастни пациенти [59].

5. Свързано със здравето качество на живот (HRQL)

HRQL има съществено значение при алергичните заболявания и съществуват два вида инструменти за обективизирането на този показател: генерични и специфични въпросници за качество на живот. Генеричните въросници измерват физикални, психологически и социални домейни, независимо от подлежащото заболяване, Поради факта, че позволяват да се сравнява между различни състояния и лечения, генеричните въпросници могат да се използват както за определяне влиянието на дадено заболяване върху групи пациенти, така и за сравнение на различни терапевтични подходи. Генеричните въпросници обаче не се приложими към малки промени в свързаното със здравето качество на живот, които обаче са съществени за пациента. Те не са удобни за измерване на индивидуални клинични постижения.

Специфични въпросници за качество на живот оценяват определено заболяване или специфичен проблем. Най-често използваният специфичен въпросник за възрастни пациенти е въпросника за качество на живот при риноконюнктивит - The Rhinoconjuctivitis Quality of Life Questionnaire (RQLQ), разработен и във варианти според възрастта на пациентите [60].

6. „Добри дни”/ “Тежки дни”

Предложени като вторични крайни изходи. EMA определя „дните с контролирани симптоми“ като „дни без прием на медикаменти при нужда и симптомен скор под предварително определен и клинично доказан праг“. Предложена е дефиниция и за „лоши дни“- „симптомен скор 3 за някой от шестте риноконюктивитни симптома“ [34].

7. Контрол на АР

Оценката на контрола насочва вниманието от тежестта на симптомите към адекватното им повлияване [61]. Създадени са и

валидирани няколко въпросника за оценка на контрол на АР: The Control of Allergic Rhinits and Asthma Test (CARAT), Allergic Rhinitis Control Test (ARCT), Rhinitis Control Assessment Test (RCAT). От всички тях единствено RCAT е преведен и официално валидиран на български език [62].

8. Цялостна оценка и оценка на удовлетвореност на пациентите

Удовлетвореността е широко използвана в проучвания за изследване на перцепцията на пациента за ефективност от лечение и е свързана със неговите здравни решения и поведение [63]. Оценката може да бъде извършена посредством ВАС. Първият официално валидиран и болест-специфичен въпросник за оценка удовлетвореността от АИТ е ESPIA (Escala de Satisfaccion de Pacientes que reciben Inmunoterapia con Alergenos, или: „скала за оценка удовлетвореността на пациентите, които получават алергенна имунотерапия) [64]. Именно въпросникът ESPIA е предложеният в консенсус на EAACI инструмент за оценка на удовлетвореност [54]. Като належаща нужда и препоръка обаче е изтъкната необходимостта от мултиезиково валидиране на вупросника и приложението му в проспецтивни клинични проучвания.

9. Алергенни провокационни проби

Работната група на EAACI посочва алергенните провокационни проби като възможен клиничен параметър за измерване на изход от АИТ. Използват се кожни, конюктивални и назални провокации, както и провокационни камери, които обаче не могат да заменят проучването тип “реален живот”.

VII. Имунологични биомаркери за оценка и проследяване клиничната ефикасност на алергенната имунотерапия

Според Международната Конференция по Хармонизация, биомаркерите са „измерими индикатори на нормални биологични и патологични процеси и/или отговор на терапевтични или други интервенции“- т.е. те дават възможност да се измери всеки аспект на здравето и на болестта [65]. В персонализираната медицина вече се споменава не само за различни ендотипи (всяка наблюдавана характеристика на заболяването) и фенотипи (определен патофизиологичен механизъм), а и за тератип. Терапипите са варианти в зависимост от терапевтичния отговор. Пациенти с едни и същи фено- и ендотипи не отговарят еднакво на едно и също лечение, поради различния си терапип. В контекста на персонализираната медицина, биомаркерите могат да служат за подобор на пациенти, отдентифициране на респондерите и изключване на онези пациенти, които са с малък шанс за отговор на лечението. Те са свързващото звено между ендо- и фенотипа. Биомаркерите имат и голямо значение за развитието на нови ваксини и за оптимизиране на вече съществуващи терапеврични подходи. През 2008 год. ЕМА публикува препоръки за включване на имунологични биомаркери (напр. промени в нивата на алерген-специфични IgG, Т-клетъчни отговори, продуция на цитокини) и/или провокационни тестове с цел демонстриране на ефект от АИТ в различни проучвания [66].. Оттогава досега науката разполага и с други имунологични маркери, които биха могли да се използват като предиктор за успех и отговор на АИТ.

През 2017 година работна група на EAACI под ръководството на Shamji и колектив, разработва консенсус, който цели: от една страна обобщение и оценка на имунологични и клинични маркери и ефект на АИТ при пациенти с алергичен ринит с/без астма; и от друга страна да

даде препоръки за мониториране на АИТ и използване на тези биомаркери както в клиничните поручвания, така и в ежедневната практика [67].

Работната група на EAACI обобщава всички кандидати за предиктивни биомаркери, използвани в клинични проучвания при пациенти с АР с/без астма (табл. 2). Биомаркерите са групирани в 7 основни категории:

1. IgE: общи IgE (tIgE), специфични IgE (sIgE), съотношение sIgE/tIgE
2.Специфични IgG (sIgG): sIgG1, sIgG4, съотношение sIgG4/eIgE
3. Серумна инхибиторна активност за IgE (IgE-FAB и IgE-BF)
4. Базофилна активация
5. Цитокини и хемокини
6. Клетъчни маркери (Т- и В-регулаторни клетки и дендритни клетки)
7. In vivo биомаркери (напр. провокационни проби)

Биомаркери за монитуриране на клинична ефикасност от аИТ - предимства и недостатъци (адапт. По Shamji et al.) **Таблица 2.**

Биомаркер	**Предимства**	**Недостатъци**
1. IgE (tIgE; sIgE; sIgE/tIgE)	- Серумен биомаркер - Златен стандарт за селекция на пациенти за АИТ - Може да отразява алергенна експозиция - sIgE/tIgE е потенциален позитивен предиктивен маркер за АИТ	- sIgE/tIgE не е валидиран - само едно проучване демонстрира евивалентност между tIgE и sIgE единици
2. IgG (sIgG1; sIgG4;	- Серумен биомаркер - Надеждни и логични	- Все още няма категорично доказана

sIgG4:sIgE)	резултати от проучвания - Индикатор за алергенна експозиция - Наличие на данни за локални антителни нива	връзка между sIgG4 и клинична ефикасност
3. Серумна инхибиторна активност за IgE (IgE-FAB; IgE-BF)	- Асоциация между симптомен, медикаментозен скор и IgE-BF - IgE-FAB е серумен маркер - Връзка между IgE-FAB, симптомен и медикаментозен скор в някои проучвания	- Не е налична апаратура за изследване на IgE-BF - Липса на публикувани данни за IgE-FAB при респондери и нонреспондери - Ограничена информация за връзка между IgE-FAB и клиничен отговор на АИТ
4. Базофилна активация (CD63, CD 203c, BHR; DAO)	- Серумен маркер - Ex-vivo базофилната акивация с алергена влияе на Fcε-RI-медииран in vivo отговор	- Ограничен брой проучваия - Технически трудно изпълнение - При 5%-10% от популацията липсва базофилен отговор на IgE кръстосване
5. Цитокини и хемокини	- Възможност да се разкрие и изучи механизмът на АИТ	- Няма идентифицирани потенциално

		предиктивни цитокини и хемокини - Недостатъчни резултати от проучвания
6. Клетъчни биомаркери (DCs, Bregs; Tregs)	- Tregs могат да имат ключово значение в поляризацията на имунния отговор - Промяна в алерген-специфичните В-клетки към В-регулаторни може да е основно за хода на АИТ - Идентифицирани са серумни маркери за поляризация на дендритните клетки: това може да служи като ранен индикатор във вродения имунен отговор за ориентиране към придобит имунен отговор - Дендритните клетки като серумен биомаркер за преминаване от Th2 към T-regs при АИТ	- Липсва специфичен маркер за Tregs - Tregs са с ограничена предиктивна стойност - Трудно техническо изпълнение - Не са приложими в рутинната клинична практика
7. In vivo биомаркери (кожни проби,	- Провокационните тестове показват промяна в отговора към алергена в хода на АИТ	- Липсва стандартизация - Липса на

провокационни тестове, експозиционни камери)	- Възможност за разкриване механизма на АИТ - Възможност за откриване на локални и периферни биомаркери	одобрение във всички страни - Висока цена на експозиционните камери - Интрадермалните тестове не е задължително да корелират с подобрение на симптомите

VIII. Връзка между хуморални биомаркери и клиничен изход от алергенна имунотерапия

1. IgE – общи, специфични, съотношение sIgE/tIgE

Завишените нива на специфични IgE в комбинация с наличието на симптоми при експозиция на алергена са златен стандарт за поставяне на диагноза АР и включващ критерий за стартиране на АИТ. Няколко проучвания върху АИТ с полени установяват преходно асимптомно завишаване на специфичните IgE (sIgE) в хода на имунотерапията, което е последвано от понижаване на нивата на антитялото. Наблюдаваните промени в този маркер са без функционална и клинична значимост. Дългосрочни проучвания върху АИТ установяват спад в нивата на sIgE във времето. Клиничната полза обаче е противоречива [68].

Значителна хетерогенност се наблюдава в общия IgE отговор в хода на АИТ. По време на терапията, също както при sIgE, се наблюдава краткотрайно увеличаване на общите IgE. Според проведения от работната група на EAACI обзор на наличната литература, повечето проучвания установяват, че няма промяна в нивата на общи IgE в хода на АИТ, докато според други- се наблюдава тенденция към повишаване или намаляването им. Тази хетерогенност в резултатите най-вероятно се дължи на разлики в продължителността на проучването или във времето на взимане на материал [67].

Съотношението sIgE/tIgE като предиктивен биомаркер е изследвано от Di Lorenzo и колектив сред 279 пациенти, преминали 4 годишен курс АИТ с тревен полен или микрокърлежи на домашния прах. Включени са пациенти както на СЛИТ, така и на СКИТ. Прави се оценка на серумни sIgE, tIgE, sIgE/tIgE и еозинофили в серум и се търси корелация с клиничния отговор на АИТ чрез визуално-аналогови скали. Установява се, че 145 от всички пациенти имат ефект от имунотерапията със

сигнификантна връзка между серумното съотношение sIgE/tIgE и клиничния отговор на лечението. Доказва се, че високо съотношение, т.е. >16,2% се асоциира с добър отговор от АИТ с чувствителност 97.2% и 88,1% специфичност [69]. До сходен извод достигат Li и колектив, които в ретроспективно проучване установяват, че фамилната анамнеза за атопия, ранната експозиция на цигарен дим, серумни нива на общи IgE ≥ 965 kU/l и съотношение sIgE/tIgE ≤ 6%, се свързват с неефективен клиничен отговор на АИТ. Серумните общи IgE са с по-висока предиктивна стойност от sIgE/tIgE и sIgE по отношение клиничен отговор на АИТ. Стойност на общи IgE <965 kU/l корелира с клиничен ефект на АИТ с чувствителност 90,7% и специфичност 54.9% [70]. Рандомизирано клинично проучване с неголям брой пациенти обаче не потвърждават тези резултати.

Според работната група на EAACI са необходими още проучвания в насока установяване връзката между sIgE/tIgE и клиничния отговор при пациентите. Високото съотношение sIgE/tIgE се посочва като потенциален надежден биомаркер за предсказване на успех от имунотерапията, но все още не е валидиран. За тази цел са необходими повече рандимизирани двойно-сляпо контролирани проучвания.

2. IgG субкласове (sIgG1, sIgG4 вкл. sIgE:sIgG4)

АИТ се характеризира с нарастване нивата на алерген- специфични IgG1, IgG4, вкл и IgA антитела. Анализ на IgG субкласовете по време на имунотерапия демонстрира 10-до 100-кратно нарастване на концентрациите на IgG1 и на специфични IgG4 (sIgG4). Серумните sIgG4 нарастват по време и дозо-зависим начин в хода на АИТ. Счита се, че sIgG4 се конкурират със sIgE за свързването с алергена на повърхността на мастоцити и базофили, т.е. имат функция на блокиращи антитела, които предотвратяват активацията и дегранулацията на ефекторните клетки [71].

Промените в антителните нива по време на АИТ са изследвани в няколко проучвания. Dahl и колектив оценяват ефикасността и безопасността на сублингвалната имунотерапия с тревен полен в рамките на 2 последователни поленови сезона и паралелно с това изследват промени в антителата. Анализ на 351 възрастни пациенти с алергичен риноконюктивит установява значима редукция на риноконюктивитния симптомен скор с 36% и значително подобрение качеството на живот с 33% в сравнение с плацебо. Наред с клиничното подобрение, се наблюдава и сигнификантна промяна в алерген-специфичните антитела. СЛИТ с тревен полен води до дълготрайни промени в IgE, IgG4, и IgE-блокиращите антитела. Dahl и колектив установяват 23 пъти увеличение спрямо базовото ниво на специфични IgG4 [45]. В достъпната литература има публикувани данни и за още по-високо нарастване на IgG4 при провеждане на СКИТ със същата продължителност– 100-кратно. Клиничните ефекти от двата типа имунотерапия са сходни. И въпреки че връзката между имунологичните промени и клиничната ефикасност не е напълно изяснена, се счита, че ефектът на АИТ не зависи от степента на нарастване на имунореактивните IgG4 антитела.

В 5-годишно двойно-сляпо пацебо-контролирано проучване, Durham и колектив изследват ефикасността и възможността на АИТ да промени хода на заболяването. Проследяват се 238 възрастни пациенти с умерено-тежък/тежък алергичен риноконюктивит с/без астма, две години след като са преминали 3-годишен курс СЛИТ с тревен полен. Крайни точки на проучването са симптомен и медикаменозен скор, качество на живот, брой дни с тежки симптоми и имунологични промени. Установява се редуциране на дневния симптомен скор с 25% до 36% в активната група (P <.004), както и намален медикаментозен скор с 20% до 45% в сравнение с плацебо (P<.022 за сезони 1-4; P 5.114 за 5-ти сезон). Процентът дни с тежки симптоми по време на експозиция с тревен полен е била по-ниска в

активната група в сравнение с плацебо, със значима разлика от 49% до 63% ((P <0001). Наблюдаваната клинична ефикасност на АИТ се асоциира и с увеличаване на серумните алерген-специфични IgG4 антитела, нарастване на IgE-блокиращия фактор и на серумна инхибиторна активност за свързване на комплексите алерген-IgE с В-клетките. Тези имунологични промени се запазват 2 години след спиране на терапията, което подкрепя твърдението, че АИТ променя хода на алергичното заболяване [34].

До сходен извод достигат и James и колектив, които в 4-годишно двойно сляпо плацебо-контролирано проучване изследват участието на IgG-асоциирани инхибиторни антитела в дългосрочния имунологичен толеранс. Проследени са пациенти с АР към тревен полен и 2 години СКИТ, последвани от две години плацебо или активно лечение. Установява се, че клиничното подобрение се запазва 2 години след спиране на лечението и е в асоциация с непроменени в хода на проследяването повишени нива на IgE инхибиторни алерген-специфични IgG4, което най-вероятно има значение за дългосрочния толеранс [72].

За разлика от СЛИТ обаче, при СКИТ нивата на алерген-специфичните IgG1 и IgG4 спадат с близо 80% след спиране на лечението. Тази съществена разлика в двата пътя на провеждане на АИТ предполага участие на локални регулаторни механизми в СЛИТ, включващи участие на Т- и В-клетъчни взаимодействия и образуване на повече IgG4 с висок авидитет и способност за съревноваване с IgE за алергена. При СКИТ, алергенът е въведен в организма на отдалечено от таргетния орган място, което вероятно стимулира В-клетките да образуват IgG4 с нисък авидитет, а само IgG4 с висок “функционален“ авидитет са с дълъг живот [73].

Изследвани са нивата както на периферни, така и на локални sIgG при пациенти с АР и провеждащи АИТ. Platts-Mills и колектив установяват завишени нива на sIgG в назален лаваж на пациенти с АР в сравнение със

здрави контроли [74]. Reisigner и колектив доказват, че алерген-специфични назални IgG антитела, индуцирани от ваксинация на генетично модифицирани деривати на основния брезов алерген-Betv1, се асоциират с намалена назална чувствителност към съответния алерген за разлика от плацебо [75].

По препоръка на работната група на EAACI sIgG4 е основният надежден биомаркер за комплайанс. Той е показателен за алергенна експозиция и има голяма информативна стойност при комбиниране с функционални тестове. Все още не са достатъчно данните по отношение връзката между този биомаркер и клинична ефикасност, симптомен и медикаментозен скор.

IX. Основни изводи от литературния обзор

От извършения и представен по-горе литературен обзор могат да се направят няколко обобщаващи извода, свързани с алергенната имунотерапия и перспективите за пациенти с алергичен ринит. а именно:

1. Алергичният ринит е заболяване с нарастваща през последните години честота при деца, подрастващи и възрастни, което се превръща в глобален здравен проблем и икономическо бреме.

2. Алергенната имунотерапия е единственото лечение, което има потенциал да модифицира алергичния ринит и, за което има данни за клинична ефикасност при голяма част от пациентите, но остават и такива, които не отговарят на лечението.

3. Налице е значителен напредък в разкриването на подлежащите механизми на алергенната имунотерапия, което направи възможно търсенето на биомаркери за успешен изход от лечение.

4. Налице е нужда от идентифициране на обективни биомаркери за оценка на отговор на алергенна имунотерапия.

5. Необходими се проучвания за установяване и потвърждаване на корелация между биомаркери и клиничен отговор към алергенна имунотерапия, а настоящите данни са противоречиви.

6. EAACI препоръчва клинични показатели за ефективността от алергенна имунотерапия, използването на които изискват достъп до специфични инструменти за оценка.

7. Все още не са достатъчно данните от реалния живот по отношение дългосрочния ефект на алергенната имунотерапия, оценен чрез препоръчани от EAACI клинични изходи, а някои дори липсват.

8. В България няма проучвания относно корелация между имунологични и клинични показатели за дългосрочен ефект от алергенната имунотерапия, а и в световната литература данните са ограничени.

Представените по-горе обобщаващи изводи дават отговор на въпроса защо беше взето решение за реализиране на обстойно научно проучване под формата на дисертационен труд върху проблема „алергичен ринит и оценка на дългосрочен ефект от алергенна имунотерапия.

ЦЕЛ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Целта на дисертационния труд е оценка на дългосрочен ефект от алергенна имунотерапия при пациенти с алергичен ринит чрез клинични и имунологични показатели.

ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

За постигане на целта на дисертационния труд, бяха поставени следните за решаване задачи:

1. Валидиране на въпросник за оценка на удовлетвореност от алергенна имунотерапия.
2. Оценка на дългосрочен ефект от алергенна имунотерапия при алергичен ринит чрез стандартизирани клинични показатели.
3. Оценка на имунологични биомаркери за мониториране на дългосрочна клинична ефикасност на алергенна имунотерапия.
4. Установяване и анализиране на връзка между имунологични биомаркери и клинични изходи от алергенна имунотерапия.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

I. Обект на наблюдение.

Група пациенти с диагностициран алергичен ринит (риноконюнктивит) с/без астма и проведена алергенна имунотерапия (АИТ). Пациентите са подбрани по метода на случайния подбор.

За обособяване на обекта на наблюдение бяха използвани следните включващи и изключващи критерии:

1. Включващи критерии:

1.1. Пациенти ≥18 години, мъже и жени;

1.2. Пациенти с алергичен ринит, които са провеждали поне три годишен курс на АИТ.

Според типа на имунотерапия, пациентите бяха обособени в следните групи:

1.2.1. Пациенти, провели субкутанна имунотерапия (СКИТ)

1.2.2. Пациенти, провели сублингвална имунотерапия (СЛИТ)

Според вида на АИТ пациентите бяха обособени в следните групи:

1.2.3. Проведена АИТ с тревен полен

1.2.4. Проведена АИТ с микрокърлежи.

1.3. Пациенти с алергичен ринит, приключили АИТ преди две или повече години.

Допълнително, според срока от приключване на имунотерапията, пациентите бяха разделени на три групи:

1.3.1. Пациенти, приключили до 4 години,

1.3.2. Пациенти, приключили от 5 до 7 години,

1.3.3. Пациенти, приключили преди 8 или повече години

1.4. Подписано от участниците информирано съгласие

За реализиране на имунологичната част от дисертационния труд беше обособена подгрупа от 85 пациента, дали съгласие за изследване на имунологични биомаркери за оценка на АИТ.

2. Изключващ критерии:

2.1. Пациенти с алергичен ринит, които са провеждали имунотерапия по-малко от три години.

2.2. Пациенти с алергичен ринит, приключили АИТ в срок под две години.

2.1. Алергенна имунотерапия с алергени, различни от посочените по-горе.

В реализацията на настоящия дисертационен труд бяха включени 153 пациента с алергичен ринит, които отговаряха на включващите и нямаха изключващи критерии.

Възрастовата и полова характеристика на пациентите е представени в **табл. 3.** От тях 70 (45,75%) са били с диагностицирана съпътстваща бронхиална астма преди началото на алергенна имунотерапия.

Пациенти: възрастово-полова характеристика. **Таблица 3.**

		възраст (в години)		
пол	брой (%)	интервал	средна	Std. dev
мъже	101 (66,01 %)	18 - 62	34,08	11,67
жени	52 (39,99 %)	19 - 58	33,54	11,09
	total: 153			

Std. dev. – стандартно отклонение

Както беше посочено по-горе, според срока на приключване на имунотерапия бяха обособени три групи пациенти. Разпределение на пациентите според този обективен фактор е представено в табл. 4.

Пациенти: разпределение според срока на приключване	**Таблица 4.**
Срок (в години):	брой
до 4-ри	37
5 - 7	60
≥ 8	56
	Общо: 153

Втори обективен фактор, по който беше направено разпределение на пациентите, е вида на алергенната имунотерапия – микрокърлежи и тревен полен. Разпределение на пациентите според този критерий е представено в табл. 5. При 89 пациента е провеждана имунотерапия с тревен полен, а при останалите 64 тя е била с микрокърлежи.

Всяка от двете групи, беше допълнително разделена според типа на прилаганата имунотерапия: СЛИТ или СКИТ. СЛИТ е била прилагана при 117 от пациентите, а при останалите 36 - СКИТ. Разпределението е представено на таблица 3.

Пациенти с алергичен ринит: вид и тип на проведена имунотерапия			**Таблица 5.**
вид имунотерапия	брой (%)	тип имунотерапия	
		СЛИТ	СКИТ
микрокърлежи	64 (41,83 %)	36 (56.25 %)	28 (43,75 %)
тревен полен	89 (58,17 %)	81 (91,30 %)	8 (8,7 %)
	общо: 153	117 (76,47 %)	36 (23,53 %)

II. Единици на наблюдение:

1. База за провеждане (Техническа единица):

1.1. Клиника по Клинична Алергология, УМБАЛ „Александровска“, гр. София

1.2. Национална референтна лаборатория по имунология.- Национален център по заразни и паразитни болести, гр. София

2. Логическа единица:

Пациенти с алергичен ринит и проведена АИТ, преминали през техническата единица

III. Признаци на наблюдение:

1. Факториални признаци:

1.1. Пол;

1.2. Възраст;

1.3. Коморбидна астма преди начало на АИТ;

1.4. Вид на провеждана АИТ;

1.5. Тип на провеждане на АИТ;

1.6. Време от приключване на АИТ;

2. Резултативни признаци

2.1. Комбиниран симптомен и медикаментозен скор;

2.2. Тежест на алергичен ринит;

2.3. Качество на живот;

2.4. Контрол на алергичен ринит;

2.5. Удовлетвореност на пациентите от проведена АИТ;

2.6. Серумни нива на специфични IgG4 (sIgG4); общи IgE (tIgE) и специфични IgE (sIgE0, както и на съотношението sIgE/tIgE и sIgG4/sIgE;

2.7. Асоциация между клинични и имунологични показатели за оценка на ефект от АИТ.

IV. Време на наблюдение:

Януари 2019 - Февруари 2022

МЕТОДИ.

I. Клиничен метод:

1. Метод за установяване на здравословното състояние на пациентите

1.1. Анамнеза

1.2. Физикален преглед

2. Метод за валидиране на въпросник Satisfaction Scale for Patients Receiving Allergen Immunotherapy (ESPIA) за оценка на удовлетвореност от АИТ

Бяха спазени всички задължителни стъпки за лингвистично валидиране:

2.1. Контакт и разрешение от автора

2.2. Лингвистично валидиране :

2.2.1. Превод от испански на български език (forward) и оценка от комисия

2.2.2. Превод от български на английски език (backward)

2.2.3. Когнитивен дебрифинг

2.2.4. Хармонизация

2.3. Контакт с авторите на оргиналния въпросник и получено разрешение за ползване.

3. Методи за оценка на тежест на алергичен ринит

3.1. Оценка на комбиниран симптомен и медикаментозен скор

Оценката на комбинирания симптомен и медикаментозен скор (CSMS) в дисертационния труд е извършена според препоръките на Европейската академия по алергология и клинична имунология (EAACI). Тази стандартизирана оценка е извършена посредством отчитане на тежест на симптоми (симптомен скор) и прием на облекчаващи медикаменти (медикаментозен скор). Всички включени пациенти бяха снабдени с дневник, в който да нанасят своята оценка. При пациенти, провеждали АИТ с тревен полен, тази оценка е провеждана през месеците май и юни. При пациенти, приключили АИТ с микрокърлежи оценката е извършвана целогодишно. Дневникът е представен в приложение 1.

3.1.1. Измерване на дневен симптомен скор (dSS). Този докладван от пациента клиничен изход се базира на ежедневна оценка на четири назални и два очни симптома чрез четири-точкова скала (табл 6. и табл. 7).

Точкова скала за оценка на симптоми		**Таблица 6.**
Оценка от пациента	Дефиниция на оценката	Цифров израз на оценка
Без симптоми	Липсват симптоми	0
Леки симптоми	Налични симптоми, несъздаващи затруднения, лесно поносими	1
Умерени симптоми	Симптоми, създаващи затруднения, но поносими	2
Тежки симптоми	Симптоми, трудно поносими, засягащи дневната активност и/или съня	3

Симптоми за оценка на дневен симптомен скор (dSS). **Таблица 7.**	
Симптоми	Симптомен скор
1. Назални симптоми	
течащ нос	0-3
запушен нос	0-3
2. Кихане	0-3
3. Сърбеж на носа	0-3
4. Очни симптоми	
5. Зачервяване/сърбеж на очи	0-3
6. Сълзене	0-3
7. Общ дневен симптомен скор	0-3 (максимален скор 3; общ максимален сбор 18, разделен на 6 симптома)

Риноконюнктивалният симптомен скор се оценява като сбор от ежедневната оценка на всеки отделен симптом, разделен на броя на симптомите.

3.2.1. Измерване на дневен медикаментозен скор

По аналогия на оценка на симптоми е извършена оценка на използвани облекчаващи медикаменти. Приложен е приетият от EAACI начин за измерване на дневен медикаментозен скор (dMS). Използва се ежедневна оценка на стъпаловидно прилагана спасителна терапия, оценявана по следната скала::

1= орални и/или локални неседативни H1-антихистамини

2= интраназални кортикостероиди с/без H1-антихистамини

3= орални кортикостероиди с/без интраназални кортикостероиди, с/без H1-антихистамини

Така оценен, минималният дневен медикаментозен скор е 0 (не е използвана облекчаваща терапия), а максималният дневен медикаментозен скор е 3.

Комбинираният симптомен и медикаментозен скор е изчисляван като сбор от дневен симптомен и дневен медикаментозен скор:
CSMS = dSS (0–3) + dMS (0–3).

Стойността на CSMS може да варира от 0 до 6. Получените стойности за всеки оценен ден се сумират и разделят на броя на дните.

3.2. Самооценка на пациента за тежестта на ринит по визуално – аналогова скала (ВАС)

Използван е класическият модел на ВАС като психометрична оценка на дискомфорт. Скалата представлява хоризонтална линия с дължина 10 см. без включване на вертикални линии и допълнителна информация. Върху нея пациентите маркират с вертикална линия своята оценка на тежестта на алергичния ринит ретроспективно за последния месец от „0” – без симптоми до „10’ – най – тежки симптоми. Алергичен ринит, оценен със стойност по психометричната скала < 5 см. се приема за „лек”, а ≥ 5 см. - за „умерено тежък/тежък”.

4. Метод за оценка на качеството на живот на пациентите с алергичен ринит

За оценка на качеството на живот на пациентите с алергичен ринит беше използван въпросникът за качество на живот при риноконюнктивит - Quality of Life Questionnaire (RQLQ®) на Elizabeth Juniper.

За нуждите на дисертационния труд беше избрана версията, прилагана от интервюиращ, валидирана на български език през месец юли

2004г. след получено лично съгласие от автора. Използваната валидирана версия е представена в приложение 2.

Въпросникът е специфичен за пациенти с алергичен риноконюктивит, предназначен за лица ≥18 год. възраст и служи за измерване на функционални (физикални, емоционални и социални) проблеми, които засягат пациентите с риноконюктивит. Прави се оценка на общо седем домейна:

- дейности – три дейности, които пациентът избира от списък с изброени общо 28;
- сън – три въпроса
- симптоми, несвързани с носа и очите – седем въпроса
- практически проблеми – три въпроса
- симптоми, свързани с носа – четири въпроса
- симптоми, свързани с очите – четири въпроса
- емоции – четири въпроса

Пациентите оценяват първите шест домейна в стойности от „0” до „6” съответно като:

0 – незатруднен

1 - малко затруднен

2 – донякъде затруднен

3 – умерено затруднен

4 – доста затруднен

5 – много затруднен

6– изключително затруднен.

Домейнът „емоции” се оценява от „0” до „6” както следва:

0 – въобще не

1 - много рядко

2 – през малка част от времето

3 – през част от времето

4 – през голяма част от времето

5 – през по – голяма част от времето

6 – през цялото време

Промяна от 0,5 за всеки отделен домейн, както и за общата оценка за качество на живот, която е средно аритметично от резултати на седемте домейна, се приема за минимална клинично значима разлика.

5. Метод за оценка на контрол на алергичен ринит

Оценката на контрола на алергичния ринит беше проведена с помощта на официално валидирания на български език тест за оценка на контрола на ринит - Rhinitis Control Assessment Test (RCAT).

Въпросникът е предназначен за пациенти ≥12 години. Създаден е за оценка на контрол на алергичен и неалергичен ринит. Провежда се посредством самостоятелно попълване от пациента.

Оценката се прави на базата на отговори на шест въпроса, за които е преценено, че са с най – висока предикторна за контрола стойност – назална конгестия, кихане, сълзене на очите, ефект върху съня, способност за справяне със симптоми, нужда от налагане на ограничения поради симптоми. За всеки един от въпросите пациентът избира отговор от пет-пунктова скала, от 1 до 5. Крайният резултат се формира като сбор от точките на всеки един въпрос. Така минималният възможен скор е 6, а максималният – 30.

Скор ≤ 21 е индикатор за неконтролиран алергичен и неалергичен ринит. Минимална клинично значима разлика за съответен пациент е промяна с три пункта от предходната оценка. Официално валидираната версия на български език е представена в приложение 3.

6. Методи за оценка на удовлетвореност на пациентите от алергенната имунотерапия

6.1. Оценка, извършена посредством въпросника ESPIA - болест-специфичен въпросник за оценка на удовлетвореността от алергенна имунотерапия както субкутанна, така и сублингвална.

Предназначен е за пациенти ≥18 год, провеждащи както субкутанна, така и сублингвална имунотерапия. Използвана беше версия на български език, валидирана при разработване на дисертационния труд (приложение 4)

Въпросникът е съставен от 16 въпроса, разделени в четири категории Въпросите са групирани по такъв начин, че да позволяват определяне на удовлетвореността от влиянието на АИТ върху различни аспекти от живота на пациентите.

- Въпроси 1, 2, 3, 4 се отнасят до оценка на ефикасност;
- Въпроси 5, 6, 7, 8, 9, 10 оценяват дневна активност;
- Въпроси 12, 13, 14 оценяват съотношението цена/полза;
- Въпроси 11, 15, 16 оценяват цялостната удовлетвореност

Оценката се прави по пет - пунктова скала от 1 до 5, на която съответстват отговори както следва: „винаги”, „много често”, „в половината от времето”, „понякога”, „никога“. Отговорите от скалата се сумират в краен скор – максимален 80.

За целите на практиката и с оглед по-лесното му интерпретиране, скорът се преравнява към 100 (така се получава резултат от 0 до 100). Колкото по-висок е резултатът, толкова по-голяма е удовлетвореността на пациента.

6.2. Самооценка на пациента за удовлетвореност от алергенна имунотерапия по визуално – аналогова скала.

Използван е класическият модел на ВАС като психометрична оценка на удовлетвореност. Скалата представлява хоризонтална линия с дължина 10 см. без включване на вертикални линии и допълнителна информация. Върху нея пациентите маркират с вертикална линия своята глобална оценка на удовлетвореност от „0" – неудовлетворен до „10' – максимално удовлетворен.

II. Имунологичен метод:

За постигане на поставените задачи в дисертационния труд бяха изследвани следните имунологични биомаркери в серум:

- специфични IgG4 (в mgA/L) към тревен полен
- специфични IgG4 (в mgA/L) към микрокърлежи на домашния прах
- специфични IgE (в kUA/L) към тревен полен
- специфични IgE (в kUA/L) към микрокърлежи на домашния прах
- общи IgE (в kU/L).

Бяха използвани реактиви на фирма Phadia. Изследването на изброените биомаркери беше осъществено с апарат ImmunoCAP 100 посредством fluorimetric enzyme-linked immunoassay метод.

След получаване на апаратните резултати бяха калкулирани следните съотношения:

- специфични (s) към обши (t) IgE. Съотношението беше изчислено както следва: sIgE / tIgE X100,
- sIgG4/sIgE. Преди изчисляване на това съотношение, стойностите както на sIgG4, така и на sIgE бяха конвертирани в μg/L Конвертирането на IgE беше изчислено като 1 kU/L= 2.42 μg/L.

III. Социологичен метод:

1. Стандартно интервю
2. Самооценка на тежест
3. Самооценка на качество на живот
4. Самооценка на контрол;
5. Самооценка на удовлетвореност.

III. Статистически метод

1. Вариационен анализ;
2. Алтернативен анализ;
3. Дисперсионен анализ;
4. Корелационен анализ.

Статистическата обработка на данните в дисертационния труд е осъществена чрез компютърните програми Microsoft Office Excel и IBM SPSS Statistics 20.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

ЗАДАЧА I

ВАЛИДИРАНЕ НА ВЪПРОСНИК ЗА ОЦЕНКА НА УДОВЛЕТВОРЕНОСТ ОТ АЛЕРГЕННА ИМУНОТЕРАПИЯ

I. ПРОЦЕС НА ВАЛИДИРАНЕ НА ВЪПРОСНИК ЗА ОЦЕНКА НА УДОВЛЕТВОРЕНОСТ ОТ АЛЕРГЕННА ИМУНОТЕРАПИЯ

За да стане възможна цялостна оценка на АИТ според препоръките на EAACI беше необходимо да разполагаме със стандартизирани и валидирани инструменти за оценка, което би позволило сравнение на резултати с други проучвания и формулиране на изводи. По тази причина беше взето решение за извършване на превод и лингвистично валидиране на въпросник за оценка на удовлетвореност от АИТ - Sataction Scale for Patients Receiving Allergen Immunotherapy (ESPIA), предложен в консенсус на EAACI като специфичен инструмент за оценка на този показател [9].

За реализиране на тази задача, беше осъществен контакт с водещия автор на колектива, създал оригиналния въпросник- Justicia JL. След комуникация и обсъждане на целите, беше получено разрешение за започване на процедурата.

Реализацията на настоящата задача премина през няколко етапа и процедури.

1. Лингвистично валидиране

1.1. Превод от испански на български език (forward – прав превод)

Беше изпълнено изискването преводите да се извършват от поне двама независими преводачи, които превеждат на майчин език – български за правия (forward) превод. Успоредно беше извършен превод на публикувания от авторите на въпросника вариант на английски език.

1.2. Анализ от комисия за оценка

Задачата на комисията беше да оцени направените преводи, сравнени с първичните източници. За точното изпълнение на задачата в състава на

комисията бяха включени медицински психолог, медицински специалисти с владеене на английски и испански език, лингвист и графичен дизайнер.

Според протоколите за лингвистично валидиране целта на комисията е да избере окончателен вариант, който трябва точно да предаде смисъла на оргиналния текст по достъпен и разбираем за таргетната група пациенти в дадена страна, в случая България, начин. От комисията беше предложена окончателна версия на превод.

1.3. Превод от български на испански език (backward)

Преводът беше извършен от преводач с майчин език испански.

1.4. Когнитивен дебрифинг

Когнитивният дебрифинг беше следваща важна и задължителна процедурата по лингвистично валидиране. Тя имаше за цел да установи дали предложеният от комисията по оценка вариант е разбираем и ясен за групата пациенти, за които е предназначен и дали съвпада с идеята на авторите на оргинала.

За провеждането на тази оценка въпросникът беше предоставен на пациенти ≥ 18 годишна възраст, които са провеждали или провеждат АИТ, за да го попълнят. След това беше осъществен разговор с цел анализ и оценка на начина на формулиране на въпроси и отговори, затруднения в разбиране на смисъла им. След всеки отговор бяха задавани въпроси като: „Как разбирате този въпрос/отговор?”, „ Кое Ви затрудни във въпроса?” и др. Всеки отговор беше записван и в последствие анализиран.

1.5. Хармонизация.

Процедурата завърши с изработване на окончателна българска версия на въпросника ESPIA.

2. Контакт с авторите на оригиналния въпросник.

2.1. Протоколът от цялата процедура, анализът от когнитивния дебрифинг, обратният превод и окончателната българска версия бяха предоставени на авторския колектив.

2.2. Екипът, извършил лингвистичното валидиране на въпросника, получи разрешение от авторите за неговото прилагане и съответно публикуване на резултати.

Оригиналният въпросник, и българският му вариант са представени в приложения 4 и 5.

II. АНАЛИЗ И ОБСЪЖДАНЕ НА СОБСТВЕНИ РЕЗУЛТАТИ ПО ПРОЦЕСА НА ВАЛИДИРАНЕ НА ВЪПРОСНИК ЗА ОЦЕНКА НА УДОВЛЕТВОРЕНОСТ ОТ АЛЕРГЕННА ИМУНОТЕРАПИЯ.

Оценката на удовлетвореност от имунотерапия е един от т.нар. докладвани от пациента изходи при провеждане на проучвания в областта на алергичните заболявания [76]. Докладван от пациента изход е всяка една информация, която той дава за своето здравословно състояние и лечение, за разлика от получената от други източници информация (клинични и инструментални тестове, медицинска документация). Това са данни, които идват от самия пациенти и дават цялостна оценка на състоянието му и ефекта от една терапия. Според препоръките на GA2LEN за тези оценки трябва да бъдат използвани валидирани инструменти. Когато са налични специфични такива, те се предпочитат пред генеричните. Всеки инструмент за оценка трябва да бъде използван за точната популация, за която е създаден и валидиран.

До момента на реализиране на настоящия дисертационен труд, в България не разполагахме със специфичен инструмент за оценка на удовлетвореност на пациентите от алергенната имунотерапия, въпреки че такъв вече беше създаден и приет от EAACI - Satisfacion Scale for Patients Receiving Allergen Immunotherapy (ESPIA). Поради тази причина беше взето решение за превод и валидиране на въпросника на български език след официалното разрешение от авторите му.

Гаранция за качеството на превода беше поканата в него да участват квалифицирани лингвисти, включително такива, които да превеждат на майчин език– испански и български. Беше спазена препоръката преводът да бъде извършен от поне двама независими преводачи. Препоръката за такъв подход се основава на разбирането, че качеството на превода се повишава, ако е направен в екип, а не като индивидуална работа, за да

бъдат избегнат лични интерпретации. Успоредно с основния превод, за по-добра оценка, участваха и лингвисти, владеещи испански и английски език едновременно. Този подход беше избран, защото комуникацията с авторите на въпросника беше осъществявана на този език, а и на него е основната публикация, която представя въпросника за първи път [64].

Повечето въпросници за оценката на докладвани от пациента изходи са публикувани на английски език и това ги прави достъпни за пациенти с този майчин език. За останалите, макар и ползващи английски език, прилагането им може да създаде затруднения в начина на изказ, касаеш здравния статус. Затова се обръща особено внимание на междуезиковото адаптиране. Използването на въпросници в държави, различни от онези, в които са създадени се нуждаят от езиково адаптиране, преди да бъдат използвани от население с друга култура. Степента на тази адаптация зависи от сходството в езиковата култура. По тази причина междуезиковите адаптационни преводи съдържат два компонента. Първият е самият литературен превод на съдържанието с превод на думи и изречения от един език на друг. Вторият компонент е адаптация с оглед употреба на идиоми, приет изказ или подтекст. В хода на лингвистичното валидиране комисията за оценка направи анализи, като участието на медицински психолог предполагаше по-добата адаптация на превода към психо-емоционалната характеристика на българските пациенти.

Публикуваният през 2013 година въпросник ESPIA е специфичен въпросник за оценка на удовлетвореност от АИТ. Създаден е за самостоятелно попълване от възрастни пациенти. Затова в процедурата по когнитивен дебрифинг, въпросникът беше предоставен на пациенти на средна възраст 33,67 години (в диапазон 18 – 53 години). Както посочват авторите на въпросника, той е приложим за оценка както на субкутанна, така и на сублингвална имунотерапия. По тази причина в лингвистичното

валидиране и когнитивния дебрифинг участваха пациенти, провеждали както СЛИТ (19 пациента), така и СКИТ (11 пациента).

Bauchau и съавт. установяват, че полените, основно тревен полен, както и микрокърлежите са най – честите причинители на алергичен ринит в Европа [77]. От генерираната начална версия на ESPIA до изготвянето на крайния вариант са анализирани пациенти с поленова алергия и алергия към микрокърлежи. Придържайки се към същия профил на пациенти, в процеса на валидиране бяха поканени такива, които провеждат АИТ с полени, главно тревен и микрокърлежи. Изборът на тези пациенти дава възможност да бъде събрана информация от онези, които най–често биха имали нужда от приложение на алергенна имунотерапия и нейната оценка.

Анализирайки получените резултати, Justicia и колектив установяват, че 84,4% от пациентите са оценили въпросника като лесен/много лесен за попълване със средно време за това <7 минути, без влияние върху това на ниво на образование или възраст. Близо 94% от пациентите са отговорили на всички въпроси. Тези данни бяха потвърдени и от нашите собствени наблюдения, натрупани по време на когнитивния дебрифинг в хода на лингвистичното валидиране, в който 50% от пациентите, взели участие бяха със средно, а останалите, с висше образование. На въпроса дали са срещнали затруднения в попълването на отделните въпроси в предложения въпросник 100% от тях не съобщиха за такива.

При анализ на отделни думи беше потвърдена необходимостта попълването на въпросника от пациентите да започва с прочита от самото начало с встъпителния текст, формулиран от авторите, чрез който се въвежда понятието „алергенна ваксина”. При представяне на въпросника авторите му установяват нисък процент липсващи отговори (<1%). В хода на когнитивния дебрифинг нямаше нито един липсващ отговор. Пациентите дадоха добра оценка на цялостната визия на въпросника и неговото графично оформление. Отчетеното от нашия екип време за

попълване беше < 3 минути. Това дава основание да приемем, че предложеният от нас вариант на оригиналния въпросник ESPIA е ясен и лесно разбираем и приложението му не би създавало затруднения както за пациентите, така и за медицинските специалисти. Резултатите по отношение на приложимост и одобрение на въпросника от страна на пациентите бяха обещаващи.

Предоставянето на цялостния протокол и предложен лингвистично адаптиран въпросник на авторите, позволиха те да се запознаят с извършената дейност. Полученото от тях одобрение и съгласие за ползване и публикуване даде възможност за приложението му както за нуждите на дисертационния труд, така и за последващо приложение за научни и практически клинични цели.

Анализът на резултатите от задачата за валидиране на въпросник за оценка на удовлетвореност от АИТ ESPIA дава основание да бъдат направени следните изводи:

1. Лингвистичното валидиране на ESPIA осигурява инструмент за обективизиране и измерване на удовлетвореността според европейските стандарти.

2. Предложеният вариант на оригиналния въпросник ESPIA е ясен, разбираем и лесен за попълване.

3. Валидирането на въпросника го прави достъпен за използване и на български език.

ЗАДАЧА II

ОЦЕНКА НА ДЪЛГОСРОЧЕН ЕФЕКТ ОТ АЛЕРГЕННА ИМУНОТЕРАПИЯ ПРИ АЛЕРГИЧЕН РИНИТ ЧРЕЗ СТАНДАРТИЗИРАНИ КЛИНИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ

I. ТЕЖЕСТ НА АЛЕРГИЧЕН РИНИТ - ОЦЕНКА

1. РЕЗУЛТАТИ

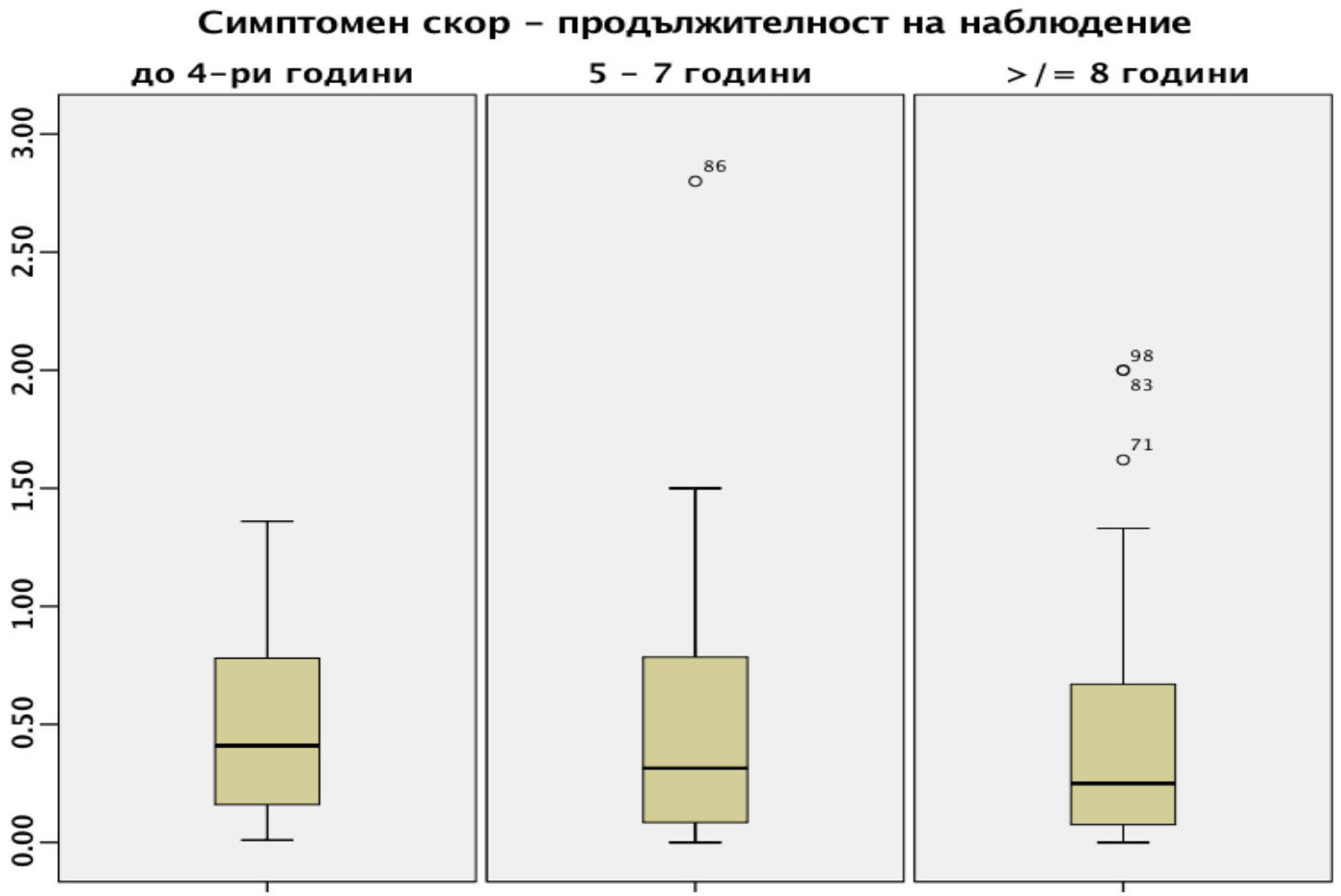
1.1. Симптомен, медикаментозен и комбиниран симптомен и медикаментозен скор

При всеки от пациентите, включени в дисертационния труд, беше определян симптомен, медикаментозен и съответно комбиниран симптомен и медикаментозен скор. Анализът на всеки един от тези три вариращи признака беше осъществен спрямо няколко определящи фактора. Първият от тези фактори беше "**срок от приключване на имунотерапия**". Средните стойности на вида скор, спрямо продължителността на периода след приключване на АИТ са представени в табл. 8, а тяхното графично изображение е демонстрирано чрез фигури 2,3,4.

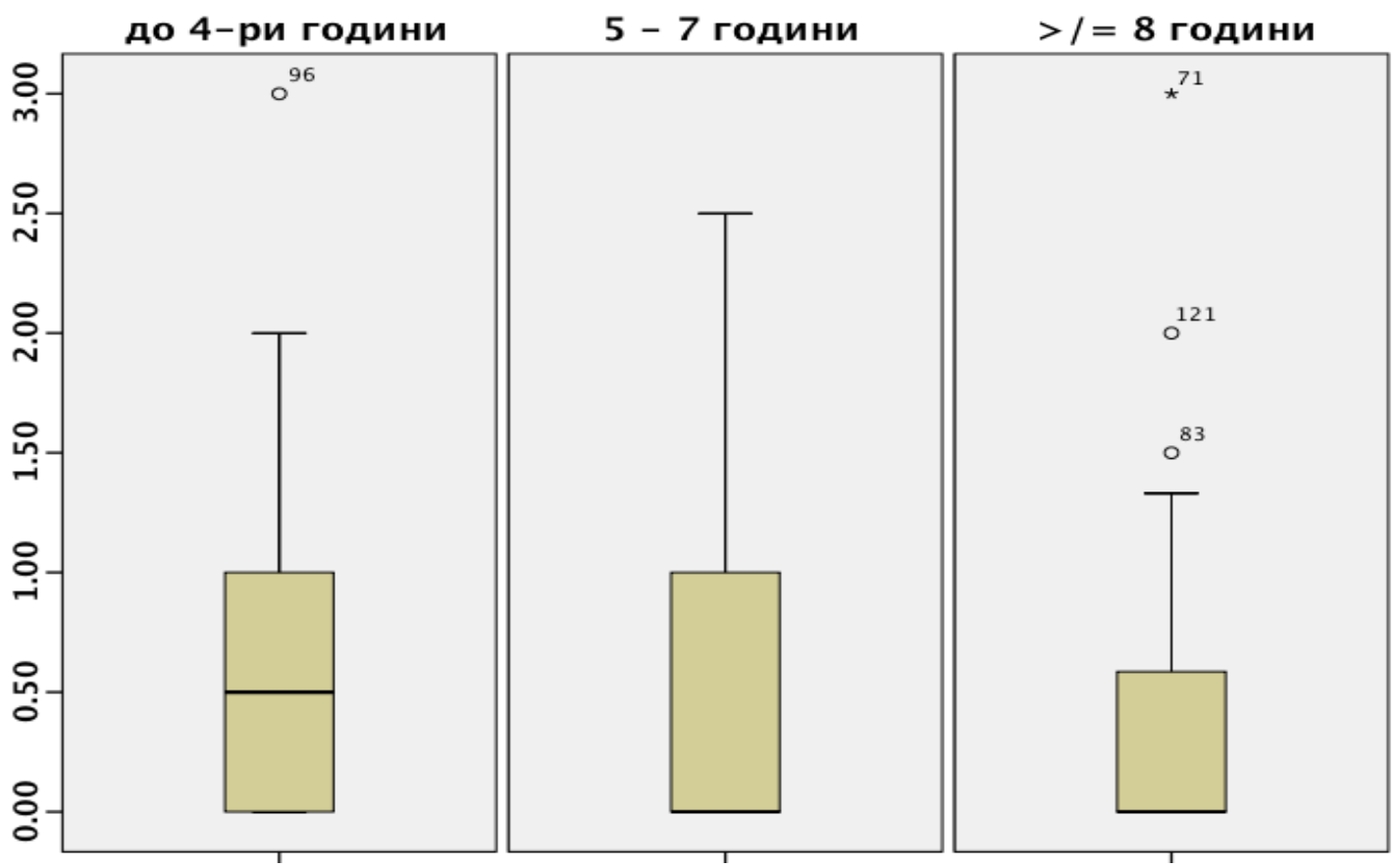
Симптомен, медикаментозен и комбиниран скор според срока от приключване на имунотерапия. **Таблица 8.**

срок от приключване на имунотерапия		симптомен скор	медикаментозен скор	комбиниран скор
до 4-ри години	средна стойност	0,49	0,63	1,12
	брой пациенти	37	37	37
	Std.Dev.	0,38	0,74	1,01

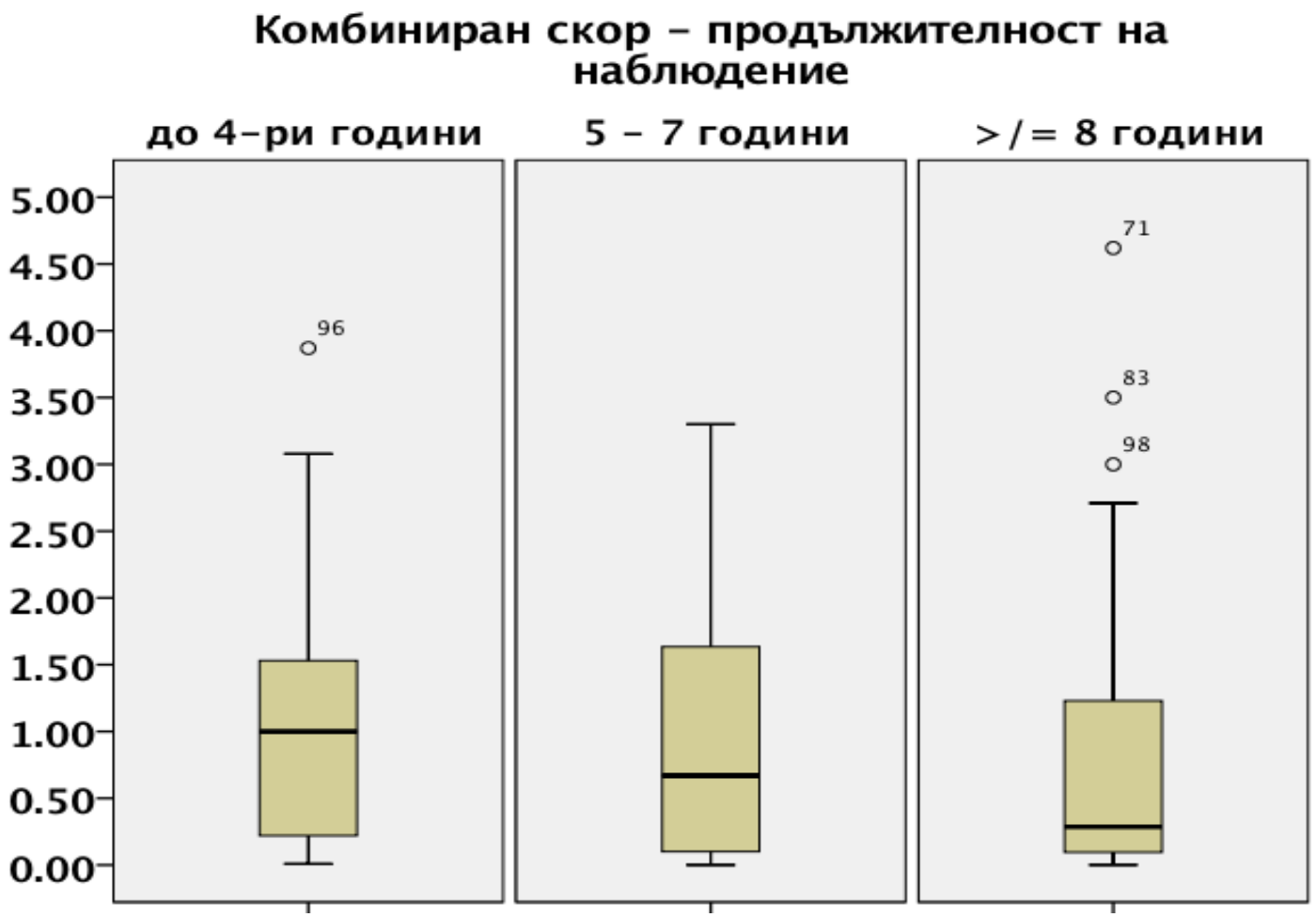
5 - 7 години	средна стойност	0,51	0,46	0,97
	брой пациенти	60	60	60
	Std.Dev.	0,55	0,65	0,98
>/= **8 години**	средна стойност	0,43	0,36	0,79
	брой пациенти	56	56	56
	Std.Dev.	0,49	0,60	1,02
общо	средна стойност	0,47	0,46	0,93
	брой пациенти	153	153	153
	Std.Dev.	0,49	0,66	1,01



Фигура 2. Симптомен скор според срок от приключване на имунотерапия.



Фигура 3. Медикаментозен **скор според срок от приключване на имунотерапия**.



Фигура 4. Комбиниран скор според срок от приключване на имунотерапия.

Вариационният анализ на симптомния скор (според срок от приключване на имунотерапия) не установи сигнификантно различие между която и да е от групите пациенти (p = 0,435) / (табл. 9).

Симптомен скор според срок от приключване на имунотерапия (Chi-Square Tests).	**Таблица 9**.			
	срок от приключване на имунотерапия			
	до 4-ри години	5 - 7 години	>/= 8 години	общо
	37	60	56	153
Pearson Chi-Square	Value	df		Asymptotic Significance (2-sided)
	129,978	128		0,435

При анализа на медикаментозния скор също не беше установено сигнификантно различие между пациентите от която и да е група (според **срок от приключване на имунотерапия**) – p = 0,724 (табл. 10).

Медикаментозен скор според срок от приключване на имунотерапия (Chi-Square Tests).	**Таблица 10.**			
	срок от приключване на имунотерапия			
	до 4-ри години	5 - 7 години	>/= 8 години	общо
	37	60	56	153
Pearson Chi-Square	Value	df		Asymptotic Significance (2-sided)
	53,094	60		0,724

Втори определящ фактор, според който бяха анализирани признаците симптомен, медикаментозен и комбиниран симптомен и медикаментозен скор беше “тип имунотерапия” (СЛИТ/СКИТ). Средните

стойности на всеки скор спрямо типа на имунотерапията са представени в табл. 12. Графично изображение беше направено само за признака “комбиниран симптомен и медикаментозен скор”, което е показано на фигура 4.

По отношение на стойностите на комбинирания симптомен и медикаментозен скор, също не бяха установени сигнификантни различия между която и да е от трите групи – p = 0,436 (табл. 11).

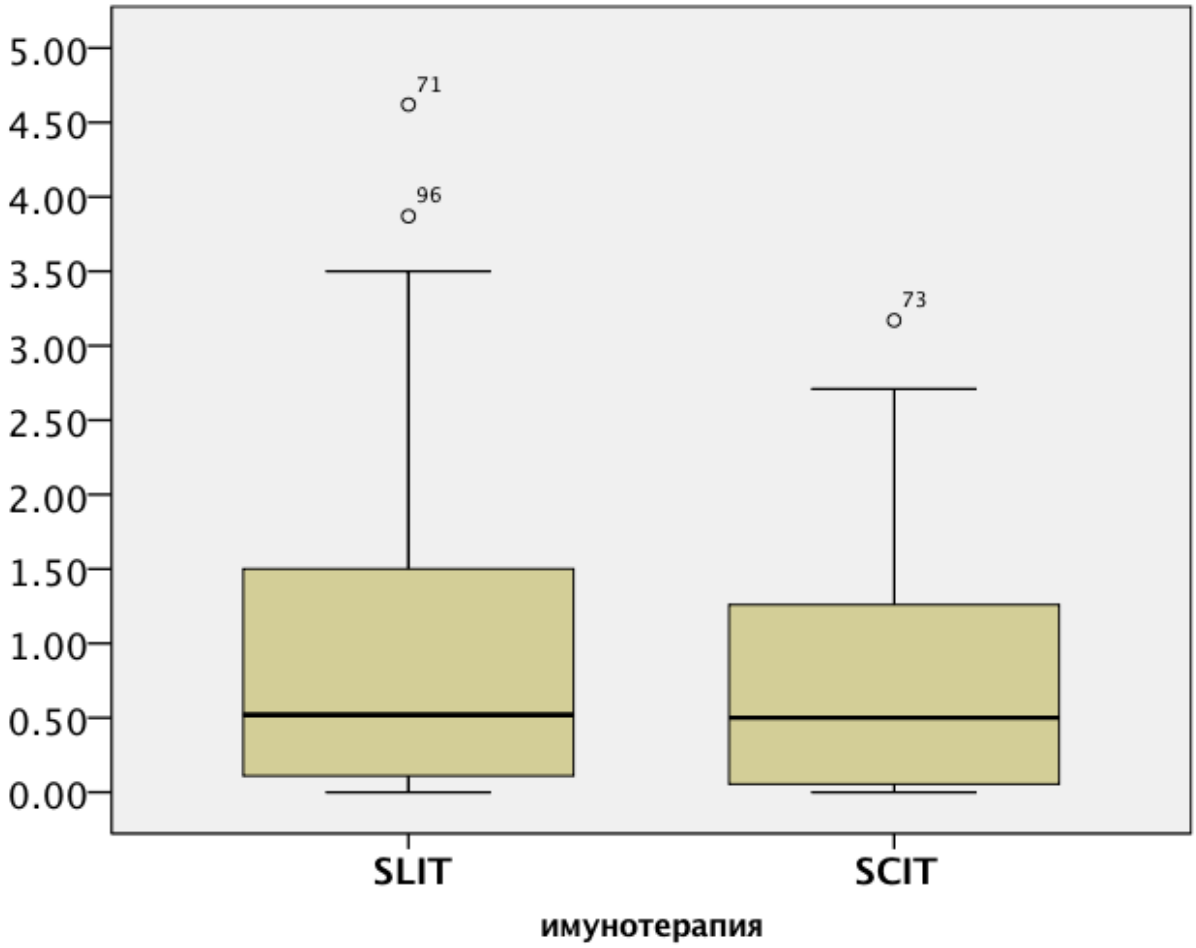
Таблица 11. Комбиниран скор според срок от приключване на имунотерапия (Chi-Square Tests).

	продължителност на наблюдение			
	до 4-ри години	5 - 7 години	>/= 8 години	общо
	37	60	56	153
Pearson Chi-Square	Value	df		Asymptotic Significance (2-sided)
	168,827	168		0,436

Таблица 12. Симптомен, медикаментозен и комбиниран скор според тип на имунотерапия.

скор	**имунотерапия**	**средно**	**Std. Error Mean**	**p**
симптомен	SLIT	0,49	0,048	**0,37**
	SCIT	0,41	0,068	
медикаментозен	SLIT	0,49	0,063	**0,38**
	SCIT	0,38	0,100	
комбиниран	SLIT	0,96	0,096	**0,35**
	SCIT	0,78	0,146	

И при трите типа скор вариационният анализ не установи сигнификантни различия в стойностите им спрямо типа на провежданата имунотерапия (**табл. 12**).



Комбиниран скор според тип на имунотерапия. **Фигура 5.**

1.2. Оценка на тежест на алергичен ринит по визуално–аналогова скала

Оценката на вариабилния признак “тежест на алергичен ринит” беше извършвана и чрез визуално - аналогова скала (ВАС). Средната стойност на ВАС за групата пациенти, включени в проучването беше 2,44 см. (SD 2,41).

При 124 (81 %) от пациентите, ринитът беше класифициран като “лек”, с оценка <5 см,

Извършен беше анализ на тежестта на заболяването по ВАС според фактора “срок от приключване на имунотерапия”. Разпределението на пациентите по този обективен фактор е представено в табл. 13 и чрез фиг. 6.

Алтернативният анализ по отношение честотата на случаите с лек (съответно умерено тежък/тежък) алергичен ринит през трите периода след приключване на АИТ показа, че няма статистическо значимо различие в разпределението на случаите лек (съответно умерено тежък/тежък) ринит между която и да е от трите групи на наблюдение - p = 0,074 (**табл. 13**).

Тежест на алергичен ринит . **Таблица 13.**

		тежест		общо
		лек	тежък	
срок на приключване на имунотерапия	до 4-ри години	34 (91,89 %)	3 (8,11 %)	37
	5 - 7 години	44 (73.33 %)	16 (26,67 %)	60
	>/= 8 години	46 (82,15 %)	10 (17,85%)	56
	Общо	124	29	153
Pearson Chi-Square test Value – 5,201 df - 2				Asymptotic Significance (2-sided) – 0,074



Фигура 6. Тежест на алергичен ринит – разпределение на пациенти според срок от приключване на имунотерапия.

Осъществен беше и анализ на тежестта на заболяването според фактора “тип на имунотерапия”. Разпределението на пациентите по този обективен фактор е представено в табл. 14 и фиг. 7. Не бяха установени сигнификантни различия в честотата на лек (съответно умерено тежък/тежък) ринит между двата типа на имунотерапия (p = 0,93).

Извършен беше корелационен анализ между показателите “комбиниран симптомен и медикаментозен скор” и “тежест на ринита”. Използван беше непараметричния показател “коефициент на Спирман”. Установено беше, че между тези два количествени признака има права, значителна корелация [коефициентът на корелация (r) = +0,61] / (фиг. 8).

Тежест на алергичен ринит според тип на имунотерапия. **Таблица 14.**

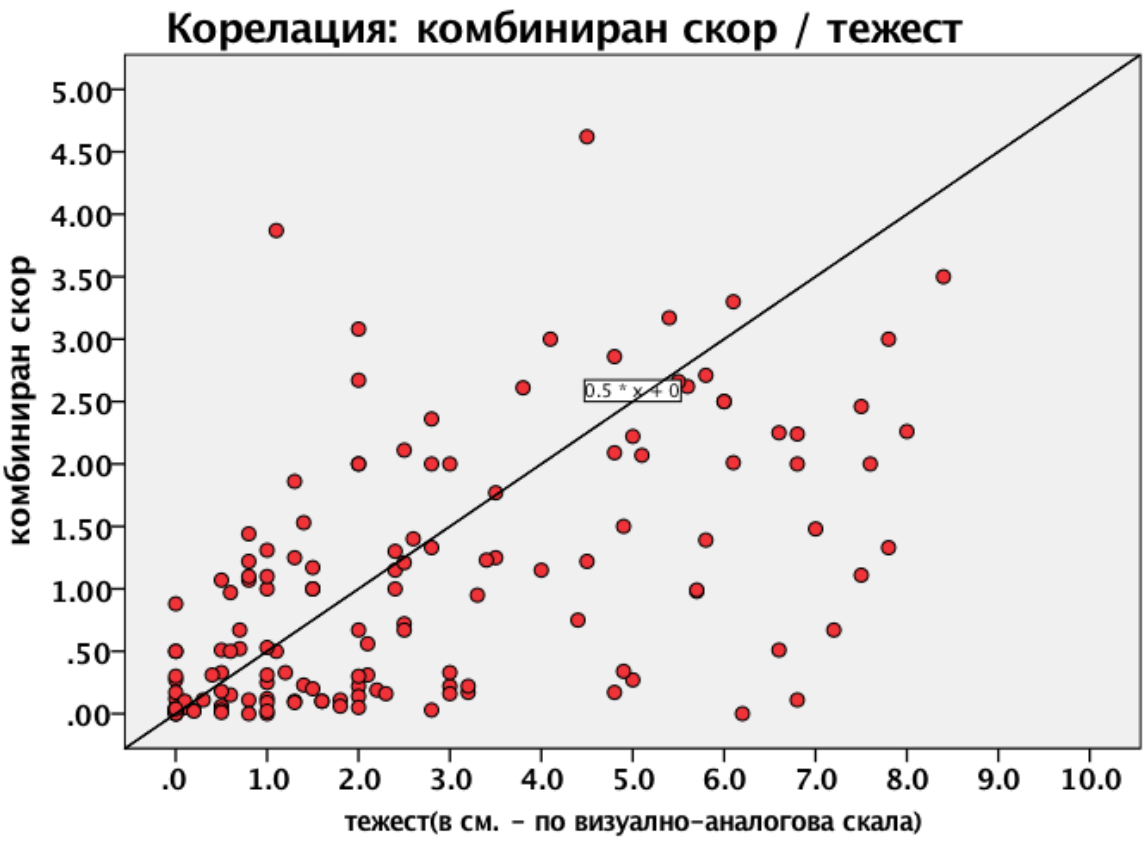
		терапия		Total
		СЛИТ	СКИТ	
тежест	лек	95 (76,61 %)	29 (23,39 %)	124
	тежък	22 (75,86 %)	7 (24,14%)	29
общо		117	36	153

Pearson Chi-Square test Value – 0,007 df - 1 Asymptotic Significance (2-sided) – 0,932



Фигура 7. Тежест на алергичен ринит – разпределение на пациенти според тип на имунотерапия

.



Фигура 8. Корелационен анализ между комбиниран скор и тежест на ринит по BAC / (r = + 0,61).

2. ОБСЪЖДАНЕ (АНАЛИЗ) НА ПОЛУЧЕНИ РЕЗУЛТАТИ ОТ ОЦЕНКА НА ТЕЖЕСТ НА АЛЕРГИЧЕН РИНИТ

За разлика от фармакотерапията, алергенната имунотерапия е единственото каузално лечение на IgE-медиираните алергични заболявания и следователно има потенциал за дългосрочна полза, продължаваща години след спирането ѝ. Това прави АИТ незаменима, вкл. в сравнение с конвенционалната фармакотерапия. Въпреки това обаче и в публикувания наскоро от EAACI системен обзор и мета-анализ на проучвания с АИТ при алергичен ринит е посочена необходимостта от по – добро стандартизиране на бъдещите клинични проучвания, а данните от дългосрочни проследявания са ограничени [78].

Налице е и нужда от натрупване на доказателства от реалния живот, допълващи резултатите от рандомизираните клинични проучвания за ползата от АИТ. В същото време до момента няма формулирани добре дефинитивни и лесно достъпни диагностични методи или биомаркери за идентифициране на онези пациенти, които отговарят на АИТ (респондери). В тази връзка експертна група на EAACI посочи и нуждата от установяване на клинично дефинирани „респондери" на АИТ [79]. Все по–често се обръща внимание на необходимостта от предоставяна на данни от реална практика и се повишава значимостта на т.нар."доказателства от реалния живот", а липсата на достатъчен брой такива данни, като недостиг, който трябва да бъде запълнен [80]. Затова при реализирането на дисертацията беше направен опит да се набавят такива данни както чрез клинична оценка, така и чрез имунологични изследвания за установяване на дългосрочна ефективност на имунотерапия при възрастни пациенти с алергичен ринит/риноконюнктивит, провели лечение в реалната практика. Въпреки дългогодишното приложение на АИТ у нас, до момента няма публикувано подобно проучване.

Според препоръките на работна група на Световната алергологична организация при провеждане на клинични проучвания за АИТ, пациентите трябва да отбелязват ежедневно своите симптоми, като може да бъде използвана и визуално – аналогова скала, която е достатъчно чувствителна на промени в тежестта на ринита [81]. Разработени са и мобилни приложения за оценка на тежест [82]. Пример за такова приложение е MASK-air® (Mobile Airways Sentinel NetworK). То позволява ежедневно да бъдат мониторирани симптомите на алергичен ринит и употребата на медикаменти [83]. Към настоящия момент приложението е достъпно на 16 езика в 23 държави, но за съжаление за сега не е разработено на български език и няма други, налични такива. Поради тази причина в дисертационния труд беше избран вариант за оценка на симптомен и медикаментозен скор посредством хартиен дневник, което има своите неудобства, ако трябва да се прилага в ежедневна клинична практика.

Анализът на тежестта на алергичен ринит беше извършен върху група пациенти, провеждали АИТ поне три години. Две ретроспективни дългосрочни проучвания изследват симптомен и медикаментозен скор при пациенти с алергичен риноконюнктивит, провеждали СЛИТ с микрокърлежи с различна продължителност. Доказва се, че клиничният ефект продължава 7-8 години след спиране на поне три годишен курс на СЛИТ и приемат 4 годишен курс като оптимален по отношение на продължителност на ефекта [84, 85}. Според препоръките на EAACI продължителността на АИТ трябва да бъде поне три години. По тази причина всички пациенти, включени в дисертационния труд бяха с такава продължителност на имунотерапия.

В проучване на Ph. Bousquet, извършено в седем европейски държави се посочва, че най-честата сенсибилизация е към микрокърлежи,с водещ *D. pteronyssinus,* последван от *D. farinae* и тревен полен [86]. Тези данни се потвърждават и в публикувани наскоро резултати, които доказват

повишаване на честотата на сенсибилизация към същите алергени сред възрастното население, заедно с повишаване на честотата на алергичен ринит [87]. Въпреки липсата на епидемиологични данни за честотата на сенсибилизация при пациенти с алергичен ринит у нас, счетохме, че може да приемем микрокърлежите и тревния полен като значими алергени и за нашата страна, водещи до алергичен ринит. В тази връзка алергенната имунотерапия с тези алергени се оказва приложима за голям брой пациенти с това заболяване и анализът на получените резултати би имал значима практическа полза. Затова бяха избрани именно пациенти, провели АИТ с микрокърлежи и с тревен полен.

В извършения литературен обзор бяха проучени публикации, оценяващи дългосрочна полза от АИТ при възрастни пациенти с алергичен риноконюнктивит. За да може да бъда направено сравнение със сходни публикации, пациентите в дисертационния труд бяха разделени в три групи според признака „срок от приключване на имунотерапия" - съответно до 4 години, 5-7 години и 8 и повече години, защото намерените публикации по темата касаят такива срокове. Значителна част от пациентите – 116 (75,82%) бяха разпределени във втора и трета група, което дава възможност за оценка на дългосрочен ефект с голяма продължителност.

Общоприет научен подход е ефективността на АИТ да бъде измервана посредством докладвани от пациента изходи. Същият подход беше приложен и в дисертационния труд, в задачата свързана с клинична оценка на дългосрочната полза от АИТ. За реализирането на тази задача беше необходимо да се изберат подходящите клинични изходи и начини за тяхното измерване и анализ. EAACI публикува препоръки за клинични изходи, които да бъдат използвани в проучвания на АИТ при алергичен риноконюнктивит. По тази причина беше решено оценката на дългосрочния ефект да бъде проведена именно посредством тези

препоръки [54]. Според тях комбинираният симптомен и медикаментозен скор (КСМС) се приема като основен клиничен изход за оценка при рандомизирани клинични проучвания на АИТ при алергичен риноконюнктивит. Това е и основна крайна точка за оценка на ефект от АИТ, приета от Европейската медицинска агенция (ЕМА) [88]. Въпреки това, в документите на ЕМА, касаещи тази тема, които са разработени през 2007–2008 година все пак се посочва, че „до момента няма валидиран симптомен и медикаментозен скор, като измерването на симптоми с 4-точковата скала просто е прието за приемливо. Същото се отнася и за медикаментозния скор, който също не е валидиран. Затова подходът за оценка на симптомен и медикаментозен скор, приложен в дисертационния труд съвпада именно с този, приет от EAACI и ЕМА подход с 4-точковата скала от 0 до 3.

В настоящия дисертационен труд беше направена оценка на симптомен скор. Целта на събиране на тези данни беше не просто да се оцени дългосрочния ефект на АИТ, но и да се набави необходимата информация за изчисляване на комбиниран симптомен и медикаментозен скор като водещ изход от АИТ според препоръките на EAACI. Периодът за оценка на този показател, както и на всички останали, беше съобразен с типа алерген за АИТ– май или юни при тревен полен и целогодишно при микрокърлежи– основно през есенно–зимните месеци, каквато е и европейската практика. Начинът на събиране на тези данни беше посредством дневник, тип календар, предоставен на пациентите за ръчно вписване. В него те отразяваха вид и тежест на симптоми, вкл. и продължителност, както и вид на използвана облекчаваща фармакотерапия. В хода на рандомизирани клинични проучвания на пациентите се предоставят електронни дневници, чрез които се извършва такава оценка. Тъй като в настоящия труд се касае за набиране на данни от реалния живот, избраният начин чрез писмен дневник може да се приема

за приемлива възможност. Получените резултати установиха нисък симптомен скор както в първата – 0,49, така и в другите две групи, обособени според признака „време на приключване на имунотерапия”- съответно 0,51 и 0,43. Въпреки, че стойностите са видимо ниски, поради това, че няма намерени такива данни, набрани от реалната практика, не може да бъда извършен сравнителен анализ. Основна част от публикациите обръщат внимание на сигнификантната разлика в симптомния скор между пациенти, провеждали АИТ и такива, които са в плацебо група. Нашите резултати обаче дават основание да се направи извода, че и при голяма продължителност на периода след приключване на АИТ, пациентите са с нисък симптомен скор.

Употребата на облекчаваща терапия оказва влияние върху тежестта на симптомите и симптомния скор. Затова в дисертационния труд част от оценката за тежест на алергичен ринит включваше и изследване на нуждата от облекчаваща терапия– медикаментозен скор, който освен като самостоятелен клиничен изход е и част от комбинирания скор.

В едно от малкото публикувани проучвания тип „доказателства от реалния живот” чрез ретроспективен анализ е оценена дългосрочна ефективност на СЛИТ с тревен полен до две години след спиране на терапията. Установено е 18,8% по-малка употреба на симптоматична терапия при пациенти, провеждали СЛИТ спрямо такива, без имунотерапия ($p<0,001$). Направен е извод, че в реалния живот СЛИТ с тревен полен има дългосрочна клинична полза поне две години след спирането ѝ [48].

Разделянето на пациентите, включени в дисертационния труд според обективния признак „срок от приключване на имунотерапия” даде възможност за сравнение с данни от други публикации. В достъпната литература дългосрочният ефект е оценен най–често за период 2-3 години. Получените данни в дисертационния труд са за пациенти, приключили

АИТ преди повече от две години, като в първата група времевия интервал е 3-5 години. В съответствие с други проучвания, които обаче са за по-кратък период, е установена ниска употребата на симптоматична терапия. Дисертационният труд предоставя и данни за много по–дълъг срок след приключване на имунотерапия спрямо други, публикувани в медицинската литература.

В наскоро публикувано ретроспективно проучване Jutel и съавт. анализират ефективност на СКИТ микрокърлежи. Авторите установяват, че шест години след приключване, провелите имунотерапия са с 59,7% (95% CL: 55.3%-63.7%, *P* <0.001) по-малко нужди от симптоматични медикаменти– антихистамини и назални кортикостероиди, спрямо контролна група [49].

Още една от малкото възможности за сравнение е публикуваното наскоро в Lancet проучване REACT (Real world effectiveness in allergy immunotherapy), най–обширното проучване на АИТ от реалния живот, което оценява дългосрочната ефективност посредством изписаните облекчаващи медикаменти. Установена е сигнификантна редукция в прескрипциите последователно през първа, четвърта и до седма година след приключване на АИТ, без значение дали се касае за СЛИТ или СЛИТ [50]. Тези данни са в съответствие със собствените ни резултати, които не установиха сигнификантна разлика в медикаментозния скор между пациентите в трите групи, обособени според признака „срок от приключване на имунотерапията” (p = 0,724). Избраният подход за оценка на дългосрочна полза в цитираното проучването, публикувано през 2022 година в списание *Lancet* (IF202,731) съвпада с избрания в дисертационния труд и приложен няколко години преди публикуването на REACT. Това подкрепя правилността на избора на работната хипотеза за установяване на дългосрочен ефект посредством медикаментозен скор. Доказваният в дисертационния труд продължителен ефект на АИТ с тревен полен и

микрокърлежи по отношение нуждата от облекчаваща терапия може да бъде приет като индикатор за дългосрочна клинична полза.

На базата на докладваните от пациентите симптомен и медикаментозен скор за всеки един обект на наблюдение беше изчислен КСМС, който е приет за главен клиничен изход в клинични проучвания на АИТ. Системен обзор и мета-анализ на EAACI доказва краткосрочна полза от АИТ, която ефикасно подобрява симптомния, медикаментозен и КСМС при пациенти с алергичен ринит по време на лечение и предоставя някои доказателства, че тази полза вероятно продължава и след спиране на терапията [78]. В рандомизирано, двойно сляпо, плацебо-контролирано проучване, посредством КСМС Duhran за първи път предоставя данни за продължителен ефект от СЛИТ с тревен полен, установен една година след 3-годишен курс на лечение [44]. Продължаващо задържане на нисък КСМС една година след АИТ е установено и в други рандомизирани проучвания. В проучване, проведено две години след приключване на 3-годишен курс СЛИТ с тревен полен, е установена сигнификантна и устойчива разлика в КСМС спрямо плацебо група [34]. Същият автор предоставя резултати от двойно – сляпо, плацебо контролирано проучване, което потвърждава дългосрочен персистиращ клиничен ефект, оценен посредством КСМС при проследяване на пациенти три години след приключване на три годишно лечение със СКИТ треви. Направен е изводът, че терапията индуцира продължителна клинична ремисия [89]. Данните от достъпната литература по отношение на ниски стойности на КСМС след АИТ, получени при рандомизирани клинични проучвания съвпадат със собствените ни резултати, събрани в условия на реална практика.

Сред проучванията при възрастни пациенти с алергичен ринит, в които е изследван дългосрочен ефект от АИТ, сред най–дългите периоди на оценка след спиране на терапия е това на Mosbech и Osterballe.

Извършен е анализ на КСМС шест години след приключване на АИТ с тревен полен на 38 пациента. Установена е персистираща клинична полза по този показател [44]. Тези резултати се потвърждават и от получените в дисертационния труд, но нашите данни са от реалния живот и на базата на значително по – голям брой пациенти, част от които са оценени 8 или повече години след приключване на АИТ. По отношение на КСМС не бяха установени сигнификантни различия между която и да е от трите групи, обособени според фактора „срок от приключване на имунотерапия" (p = 0,436), което дава основание да се приеме дългосрочна полза, надхвърляща тази, доказана в рандомизирани клинични проучвания.

Достъпната медицинска литература предоставя сравнителни данни между двата типа имунотерапия – СКИТ и СЛИТ. В един от последните мета-анализи по темата Nelson и кол. съобщават за сходна ефикасност на двата начина на приложение на АИТ, оценена посредством КСМС [90]. Може да използваме този извод за сравнение със собствените резултати. При извършен анализ на признаците симптомен, медикаментозен и КСМС, вариационният анализ не установи сигнификантни различия спрямо типа на провежданата имунотерапия – СКИТ и СЛИТ.

Според препоръките на EAACI, КСМС се прима за първична крайна точка на АИТ в хода на клинични проучвания. Въпреки своята популярност обаче, тази оценка не е нито напълно прецизна, нито възпроизводима поради зависимостта от персонални интерпретации от страна на пациента.

Тъй като настоящия дисертационен труд събира данни от реалния живот, беше приложен още един подход за оценка на тежест на алергичен ринит, широко използван за тази цел, включително в реалната практика - визуално-аналогова скала [92]. ВАС се приема за полезен и лесен начин за оценка, който дава възможност за количествено измерване от пациента на тежестта на заболяването. Тази психометрична скала позволява да се

оценява глобалният дискомфорт, причинен от алергичния риноконюнктивит. ВАС е валидиран при възрастни пациенти и корелира добре с тежестта на алергичен ринит по ARIA и се използва широко в клинични проучвания, включително такива, свързани с АИТ [59].

При направения литературен обзор беше установено, че публикуваните проучвания касаят основно оценки посредством ВАС, провеждани по време на АИТ с изследване на краткосрочна полза. Ретроспективен анализ на пациенти с алергичен ринит, провеждащи АИТ установява сигнификантно намален скор по ВАС по време на СЛИТ с микрокърлежи при моно- и полисенсибилизирани [93]. Обзервационно ретроспективно проучване на ефективност на СКИТ с микрокърлежи при пациенти с алергичен ринит също използва оценка чрез ВАС на лекари и пациенти. На деветия месец от лечението е установено клинично подобрение с 58.1% и 69,8% респективно от лекари и пациенти [94]. В проспективно проучване тип „реален живот" при възрастни пациенти с умерено тежък/тежък алергичен ринит е направена оценка на тежестта по ВАС. Установена е сигнификантна редукция на скора по ВАС от 7.52 cm при започване на 2.31 cm на третата година от лечението [95].

При извършен литературен обзор в PubMED с ключови думи „алергенна имунотерапия" и „визуално – аналогова скала" бяха открити общо 174 публикации. В нито една от тях обаче не бяха намерени проучване на дългосрочен ефект от АИТ. Всички публикувани проучвания бяха върху краткосрочна ефикасност или ефективност. По тази причина получените резултати в дисертационния труд могат да бъдат сравнени именно с резултати, докладвани по време на лечение. Установената средна стойност на ВАС за групата пациенти, включени в дисертационния труд е 2,44 см. (SD 2,41). Този резултат е сходен с резултати, докладвани в други проучвания, но установени по време или в края на лечение. От тази съпоставимост и сходство в докладвания от пациенти нисък скор по ВАС,

който очевидно се запазва години след приключване на АИТ, може да бъде направен извод, че намаляването в тежестта на алергичния ринит е дълготрайно и се задържа години след приключване на АИТ. При формулиране на този извод трябва да се отчита фактът, че 114 (74,51%) от пациентите, включени в проучването, са приключили имунотерапия преди 5 и повече години, като при 46,49% от тях това е станало преди 8 и повече години. В съответствие с този резултат в дисертационния труд е установен висок процент (81%) на пациенти, при които ринитът е оценен като "лек" т.е. с ВАС < 5 см. При извършения анализ на тежестта на заболяването по ВАС според фактора "срок на приключване на имунотерапия" не беше установено статистическо значимо различие в разпределението на случаите с лек (съответно умерено тежък/тежък) ринит между обособените три групи. (p = 0,074). Увеличаването на срока след приключване на АИТ не се отразява върху промяна в тежестта на алергичния ринит.

При извършен анализ на тежестта на заболяването по ВАС според фактора "тип на имунотерапия"също не бяха установени сигнификантни различия в честотата на лек (съответно умерено тежък/тежък) ринит (p = 0,93). Следователно очакваната дългосрочна ефективност по отношение на тежест на ринита не е фактор при избора на АИТ.

Към момента EAACI приема ВАС за вторична крайна точка при оценка на АИТ в клинични проучвания, а КСМС е дефиниран като хармонизиран стандарт за първична крайна оценка. Въпреки това обаче КСМС не е валидиран проспективно, нуждата за което е посочена от EAACI [96]. В дисертационния труд, който е на базата на проспективно проучване, беше извършен корелационен анализ между КСМС и ВАС. Установено беше, че между тези два количествени признака има права, сигнификантна корелация (r=+0,61). Съвсем наскоро Palathumpattu и съавт. публикуват проучване, в което анализират корелация между КСМС и ВАС до две години по време на провеждане на АИТ с тревен полен и

микрокърлежи. Данните за скора и ВАС са събирани по електронен път посредством мобилни приложения. Установена е права, значима корелация с коефициент на корелация, сходен с получения в дисертационния труд (r=0,585) за групата пациенти, провеждащи АИТ [97]. Това е единственото намерено в достъпната литература клинично проучване, което изследва подобна корелация и с което може да сравним резултатите от дисертационния труд. Трябва да бъде отчетено обаче, че в цитираното прочуване данните са събирани електронно, по време на лечение, а в дисертацията, писмено, години след приключване на АИТ. Следователно както по време на краткосрочна оценка, така и при оценка на дългосрочен ефект резултатите са еднозначни, корелацията, сигнификантна, а използването на писмен дневник - адекватно. Макар и дефинирана като „вторична крайна точка", ние демонстрираме, че оценката на тежест чрез ВАС, която е лесно приложима. има висока стойност за отчитане на дългосрочен ефект от АИТ. Това е сериозно основание да препоръчаме нейното използване в ежедневната клинична практика.

ИЗВОДИ:

На базата на собственото проучване върху тежестта на алергичния ринит и представеното по-горе обсъждане могат да се направят няколко обобщаващи извода, свързани с алергенната имунотерапия и перспективите за пациенти с алергичен ринит, а именно:

1. Доказваният в дисертационния труд продължителен ефект на АИТ с тревен полен и микрокърлежи по отношение тежестта на симптоми и нуждата от облекчаваща терапия може да бъде приет като индикатор за дългосрочна клинична полза.

2. Има основание да се приеме, че дългосрочната клинична полза от СКИТ и СЛИТ надхвърля тази, доказана в рандомизирани клинични проучвания.

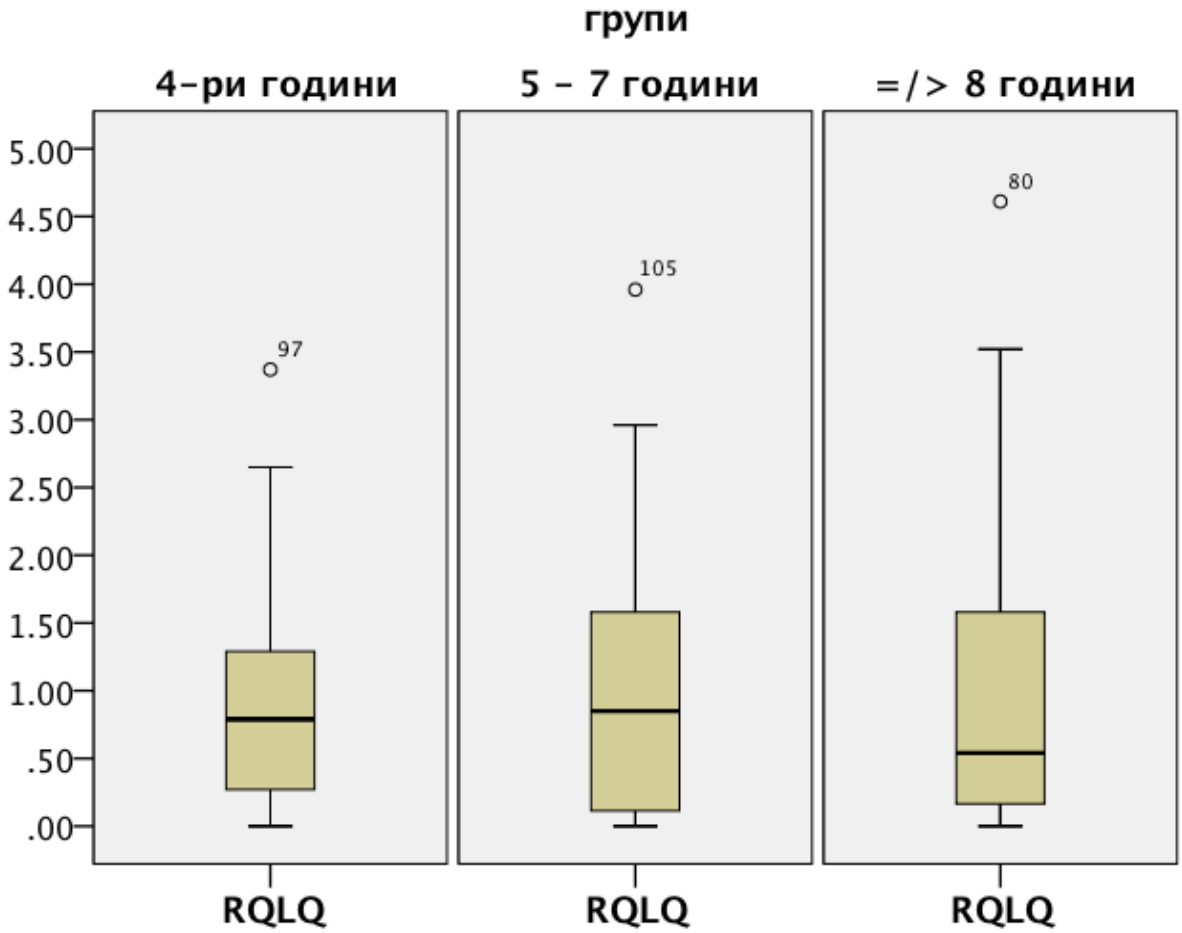
3. Дългосрочна полза по отношение на тежестта на алергичен ринит може да бъде постигната както със СКИТ, така и със СЛИТ.

4. Оценката на тежест чрез ВАС е надежна за отчитане на дългосрочен ефект от АИТ и може да се препоръча нейното използване в ежедневната клинична практика.

II. ОЦЕНКА НА КАЧЕСТВО НА ЖИВОТ

1. РЕЗУЛТАТИ

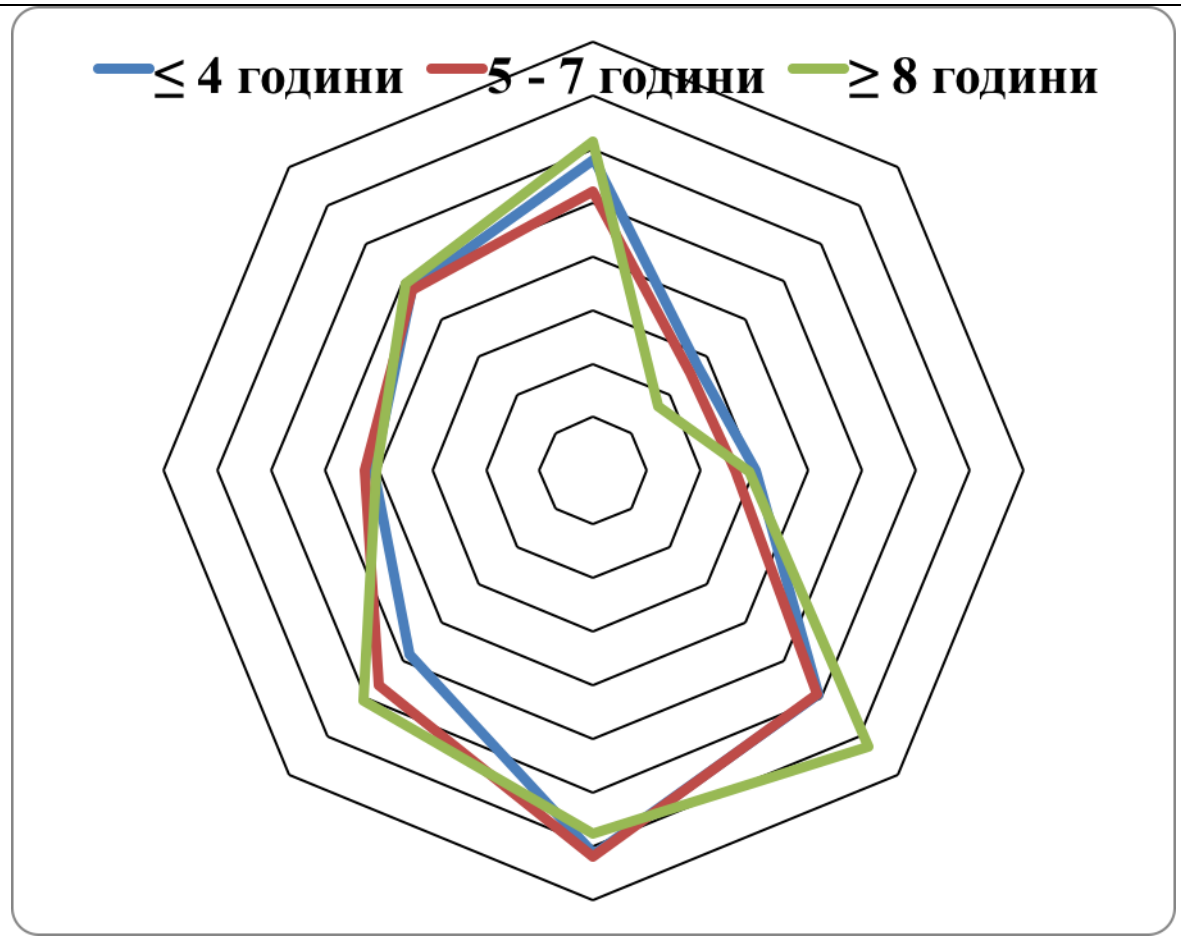
Извършена беше оценка на всеки един от седемте елемента (домейна), включени във въпросника RQLQ и определящи качеството на живот. Първият обективен фактор, според който беше анализирано качеството на живот беше срокът от приключване на имунотерапия. Резултатите от този вариационен анализ са представени в таблица 15, като общата оценка на качество на живот е демонстрирана и чрез фигура 9.



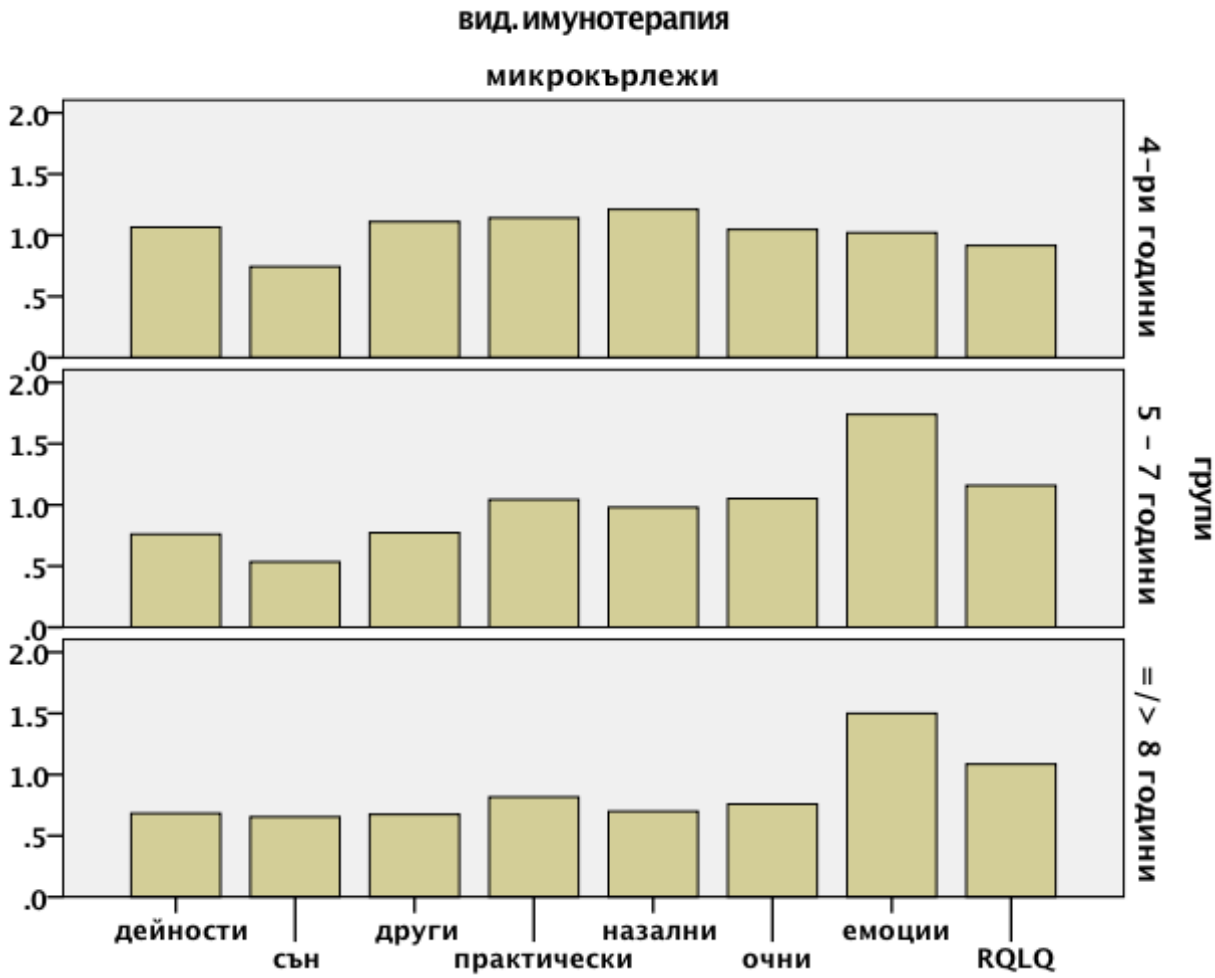
Фигура 9. Качество на живот (RQLQ) според срок от приключване на имунотерапия.

Не бяха установени сигнификантни различия в стойностите на всеки един от домейните през отделните срокове от приключването на имунотерапията (табл. 15).

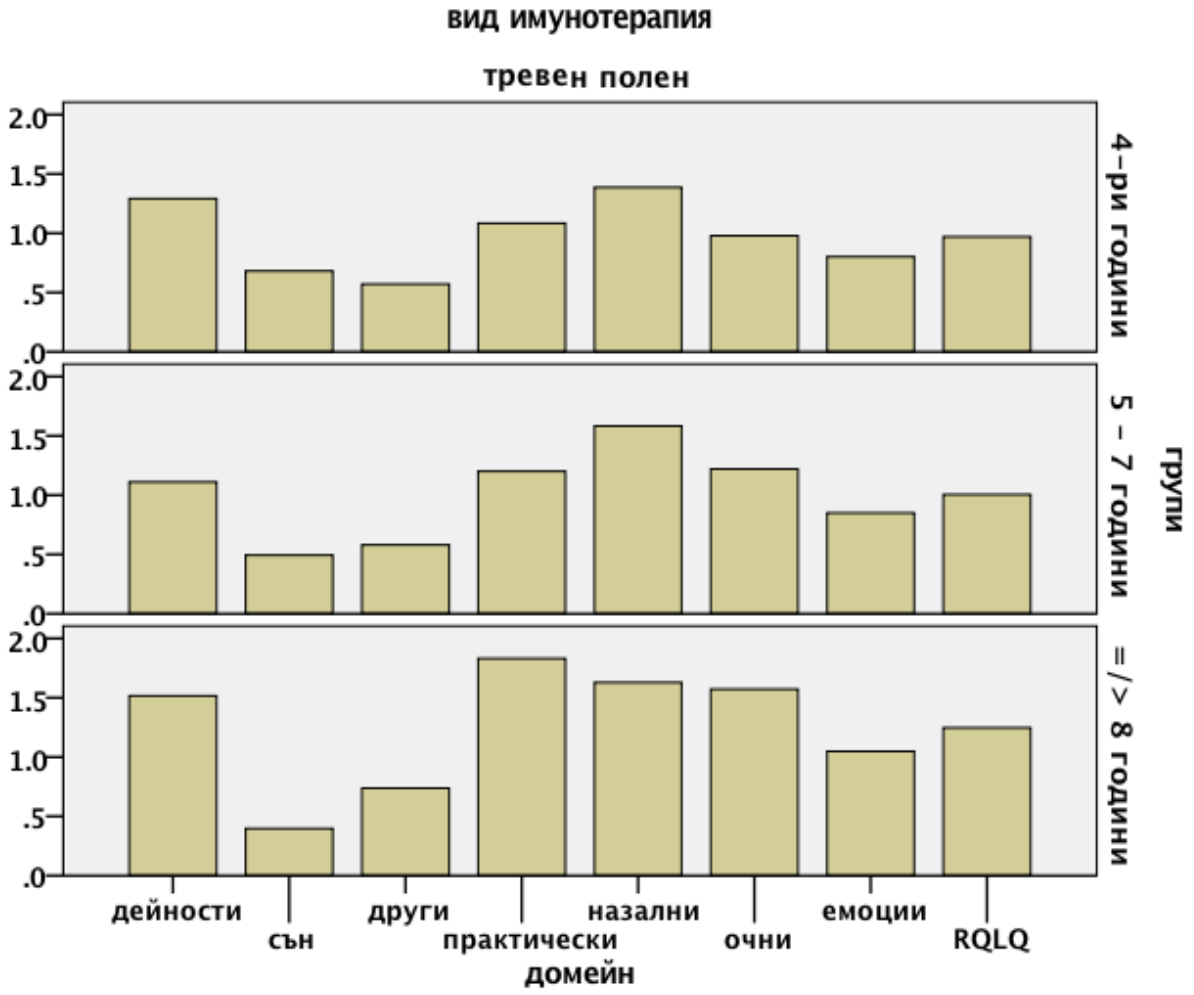
Допълнително освен по фактора "срок от приключване на имунотерапията", при анализа на резултатите относно качеството на живот към този фактор беше включен и факторът "вид имунотерапия - микрокърлежи/треви". Беше установено, че няма значими различия в стойностите на всеки един от домейните през отделните срокове на наблюдение след приключването на имунотерапията, независимо от нейния вид (**фиг. 10 - 12, табл. 16 , табл. 17**).



Фигура 10. Сравнителен анализ на елементи, определящи качество на живот според фактора "срок от приключване на имунотерапия".



Фигура 11. Качеството на живот според "срок от приключване на имунотерапия" при пациенти с АИТ с микрокърлежи.



Фигура 12. Качеството на живот според "срок от приключване на имунотерапия" при пациенти с АИТ с тревен полен.

Оценка на качество на живот според срок от приключване на имунотерапия. **Таблица 15.**

Групи		**дейности**	**сън**	**други**	**практически**	**назални**	**очни**	**емоции**	**RQLQ**
4-ри години	Средно	1.16	0.55	0.60	1.18	1.43	0.97	0.82	0.96
	Брой	37	37	37	37	37	37	37	37
	Std. Dev.	1.24	1.09	0.78	1.23	1.19	1.05	1.06	0.87
5 - 7 години	Средно	1.04	0.51	0.53	1.18	1.44	1.13	0.85	0.95
	Брой	60	60	60	60	60	60	60	60
	Std. Dev.	1.09	0.84	0.71	1.37	1.37	1.37	1.03	0.92
=/> 8 години	Средно	1.23	0.34	0.58	1.45	1.35	1.21	0.81	0.99
	Брой	56	56	56	56	56	56	56	56
	Std. Dev.	1.29	0.69	0.87	1.75	1.391	1.49	1.30	1.11
Pearson Chi-Square test		32.92	17.37	45.45	42.92	59.15	42.17	34.63	199.55
	p value	0.42	0.74	0.66	0.68	0.76	0.63	0.53	0.46

Pearson Chi-Square-test за оценка качество на живот при пациенти с АИТ микрокърлежи (според срок от приключване на имунотерапия). **Таблица 16.**

домейн	**Pearson Chi-Square test**	**p value**
дейности	43,56	0,31
сън	18,97	0,74
други	56,85	0,13
практически	33,15	0,65
назални	30,20	0,34
очни	76,33	0,46
емоции	23,68	0,17
RQLQ	65,95	0,41

Pearson Chi-Square-test за оценка качество на живот при пациенти с АИТ с тревен полен (според срок от приключване на имунотерапия). **Таблица 17.**

домейн	**Pearson Chi-Square test**	**p value**
дейности	23,46	0,61
сън	19,22	0,51
други	36,39	0,63
практически	38,87	0,34
назални	45,86	0,13
очни	38,61	0,44
емоции	26,95	0,72
RQLQ	137,97	0,44

2. ОБСЪЖДАНЕ (АНАЛИЗ) НА ПОЛУЧЕНИ РЕЗУЛТАТИ ОТ ОЦЕНКА НА КАЧЕСТВО НА ЖИВОТ

Алергичният ринит е здравен проблем, значимостта на който до голяма степен се определя от влиянието, което оказва върху качеството на живот. Степента на влошаване на качеството на живот зависи от индивидуалнто разбиране за благополучие и очакванията от провежданата терапия. Някои проучвания например показват, че интензивността на симптомите не корелира задължително с оценката за влошено или подобрено качество на живот, с което се подчертава относителността на индивидуалната преценка. По тази причина за постигане на целта на дисертационния труд, а именно клиничната оценка на дългосрочен ефект от АИТ, изследването на тежестта на заболяването беше приета като недостатъчна за задълбочени изводи относно ефективността на АИТ. Беше извършен и анализ на качеството на живот. Значимостта на този докладван от пациенти изход е приета от EMA. Ако от регулаторна гледна точка оценката на ефикасността и безопасността се считат за основни при одобрение на всеки нов продукт, промяната в свързаното със здравето качество на живот се приема за вторична крайна точка. И съгласно препоръките на EAACI качеството на живот е един от вторичните клинични изходи при оценка на АИТ [54].

За реализирането на тази част от клиничната задача беше необходимо да се избере правилният инструмент за оценка. Принципно тази оценка може да бъде извършена чрез генерични или болест-специфични въпросници. Както е посочено в литературния обзор, генеричните въпросници, напр. SF-36, SF-12 измерват физикални, психологически и социални проблеми, независимо от вида на заболяването, докато болест – специфичните въпросници оценяват проблемите, които пациентите изпитват от конкретното заболяване.

Най – често използваният специфичен въпросник за оценка на качество на живот при пациенти с алергичен ринит е Rhinoconjunctivitis Quality of Life Questionnaire (RQLQ). Въпросникът е валидиран за възрастни пациенти с алергичен ринит и корелира с контрол и тежест на заболяването [98]. Ограничения за приложението му са свързани с относително по-дългото време, необходимо за попълването му. Значимостта на въпросника е призната от EMA. Някои изследователи го предлагат за „златен стандарт", спрямо който да бъдат валидирани други докладвани от пациента изходи [99]. Той е приет и от EAACI като надежден инструмент за оценка на качество на живот при клинични проучвания на АИТ. Затова за нуждите на дисертационния труд беше избран RQLQ във варианта за попълване от изследовател. Така от една страна се придържаме към препоръките на EAACI за избор на инструмент за оценка на клинични изходи, а от друга – получаване възможност за сравняване на собствените резултати с данни от други подобни проучвания. По тази причина бяха предприети необходимите стъпки за получаване на разрешение за ползване от автора и такова беше дадено.

Значителна част от рандомизираните клинични проучвания върху АИТ включват оценка на качество на живот като вторична крайна точка, проведена посредством RQLQ. Повечето от тях са с краткосрочно наблюдение по време на имунотерапия. Calderon и съавт. докладват сигнификантно подобрение в качеството на живот в края на СКИТ при сезонен алергичен ринит в сравнение с плацебо [100]. И други мета – анализи, както и отделни рандомизирани проучвания предоставят доказателства за краткосрочната полза както от СКИТ, така и от СЛИТ за сигнификантно по – добро качеството на живот спрямо плацебо [101]..

Системен обзор и мета-анализ на EAACI върху АИТ при алергичен риноконюнктивит, включващ 17 проучвания със СКИТ и 13 със СЛИТ отчита краткосрочен ефект от терапията върху клинични изходи, вкл.

качество на живот. В повечето проучвания като инструмент за оценка е използван RQLQ. Същевременно е отчетено, че наличните дългосрочни проучвания са малко на брой и има нуждата от по – добро стандартизиране [102].

При извършване на литературния обзор беше установено, че доказателствата от реалния живот са ограничени. Едно от малкото проучвания от този тип прави извод, че три годишен курс със СЛИТ с микрокърлежи и тревен полен сигнификантно подобрява качеството на живот при пациенти с алергичен ринит [103]. Друг извод от литературния обзор беше, че данните за дългосрочен ефект на АИТ върху качество на живот са доста оскъдни, което потвърждава и значението на препоръката на EAACI за провеждане на такива проучвания. Актуалността на проблема „качество на живот при пациенти с алергичен ринит", както и липсата на достатъчно данни за дългосрочен ефект на АИТ дава основание да приемем, че включването в дисертационния труд на дългосрочна оценка на качество на живот е правилно.

Първият обективен фактор, според който беше анализирано качеството на живот беше срокът от приключване на имунотерапия. Установената цялостната оценка на качество на живот до 4 години, 5-7 години и ≥ 8 години беше както следва: 0.96, 0,95 и 0,99. В търсене на резултати, с които да бъда направено сравнение, бяха намерени проучвания, изследващи ефикасност на СЛИТ с тревен полен една до две години след приключен 3-годишен курс на лечение. Didier установява по-високо качество на живот през първи сезон след 3-годишен курс на СЛИТ с тревен полен спрямо плацебо – група [51]. В проучване със сходен дизайн и продължителност на наблюдение, Durham и кол. установява сигнификантно по-добро качество на живот една година след СЛИТ [44]. Еднопосочен е и изводът от публикувано наскоро проучване върху имунологични показатели и дългосрочен, едногодишен клиничен ефект,

включително качество на живот, след СКИТ с тревен полен [52]. Продължителна ефикасност на СЛИТ с тревен полен е установена и две години след 3-годишен курс на лечение със СЛИТ с тревен полен в първото 5- годишно рандомизирано плацебо-контролирано проучване, публикувано от Durham и кол. Докладваната в него цялостна оценка на качество на живот за третата година от лечението и първата и втората година на проследяване е както следва 1,0; 1,2; 1,1 [34].

Както в цитираните проучвания, всички пациенти, включени в дисертационния труд, са провеждали поне три години АИТ, но в условия на реална практика, а оценката е извършена години след приключването ѝ. В достъпната медицинска литература не бяха намерени проучвания тип „реален живот" с подобна продължителност на наблюдение, с които да сравним получените резултати и да оценим доколко е засегнато качеството на живот. Ciprandi и съавт. публикуват резултати от свое клинично проучване, според които скор около 3,0 по RQLQ съответства на лошо качество на живот [104]. Ако сравним тази стойност с получените резултати в дисертационния труд може да се направи извод за добро качество на живот във всяка една от групите, обособени според фактора „срок от приключване на имунотерапия". Не бяха установени сигнификантни различия в цялостната оценка на качеството на живот през отделните срокове на наблюдение след приключването на имунотерапията. За сравнение, тези данни могат да бъдат съпоставени с цитираните резултати от проучването на Duhram, установени в края на АИТ и последователно на първата и втората година на наблюдение в рандомизирано клинично проучване. Направен е извод за дългосрочен, стабилен ефект от АИТ, задържащ се две години след приключването ѝ. Получените в дисертационния труд резултати са сходни с тези на Duhram, но данните са от реалния живот, а срокът за наблюдение е многократно по-дълъг, като за някои пациенти надхвърля дори осем години. Те дават

основание да се приеме, че факторът „време” не оказва влияние върху дългосрочния ефект върху качеството на живот. С този резултат данни, получени от реалната клиничната практика потвърждават такива, установени по време на рандомизирани проучвания, но за по – дълъг период след приключване на имунотерапия.

Допълнително, освен по фактора “срок на наблюдение след приключване на имунотерапията”, при анализа на резултатите относно качеството на живот към този фактор беше включен и фактора “вид имунотерапия - микрокърлежи/треви”. Беше установено, че няма значими различия в стойностите на всеки един от домейните през отделните срокове на наблюдение след приключването на имунотерапията, вкл. в цялостната оценка на качество на живот, независимо от нейния вид – микрокърлжи или тревен полен. В консенсусен доклад на AAACI/EAACI/PRACTALL се посочва, че клиничните нужди на алергенната имунотерапия изискват провеждане на постмаркетингови проучвания тип „реален живот”, с възможност за оценка на ефективността ů [105]. Резултатите от дисертационния труд предоставят такъв тип проучване. Установеното добро качество на живот, получено и при двата вида АИТ е обнадеждаваща терапевтична възможност за пациенти с алергичен ринит.

Delgardo и съавт. установяват, че качеството на живот на нелекувани пациенти с алергия на дихателната система зависи от вида на алергена [106]. Според авторите сезонните алергени, напр полени, по–сериозно влошават качеството на живот в сравнение с целогодишните, напр. микрокърлежи. Обяснението според тях е свързано с рязкото покачване на концентрацията на полени в определени периоди на годината, в сравнение с целогодишния контакт с микрокърлежи. Алергията към микрокърлежи е свързана със симптоми през цялата година, което редуцира перцепцията за тях.

В дисертационния труд установихме липса на значими различия в стойностите на всеки един от елементите, оценяващи качеството на живот през отделните срокове на наблюдение след приключването на имунотерапията както с тревен полен, така и с микрокърлежи. Може да бъде направен извод, че в реалната практика провеждането на АИТ осигурява дългосрочна полза върху качество на живот при пациенти с алергичен ринит/риноконюнктивит.

ИЗВОДИ:

На базата на собствени резултати върху качеството на живот при пациентите с алергичен ринит и представената по-горе дискусия могат да се направят следните обобщаващи извода, свързани с алергенната имунотерапия и перспективите за пациенти с това заболяване, а именно:

1. При пациенти с алергичен ринит в реалната практика, провеждането на АИТ осигурява дългосрочна полза върху качество на живот.

2. Установеното добро качество на живот, получено както от СКИТ, така и от СЛИТ, ги прави обнадеждаващи терапевтични възможности за пациенти с алергичен ринит.

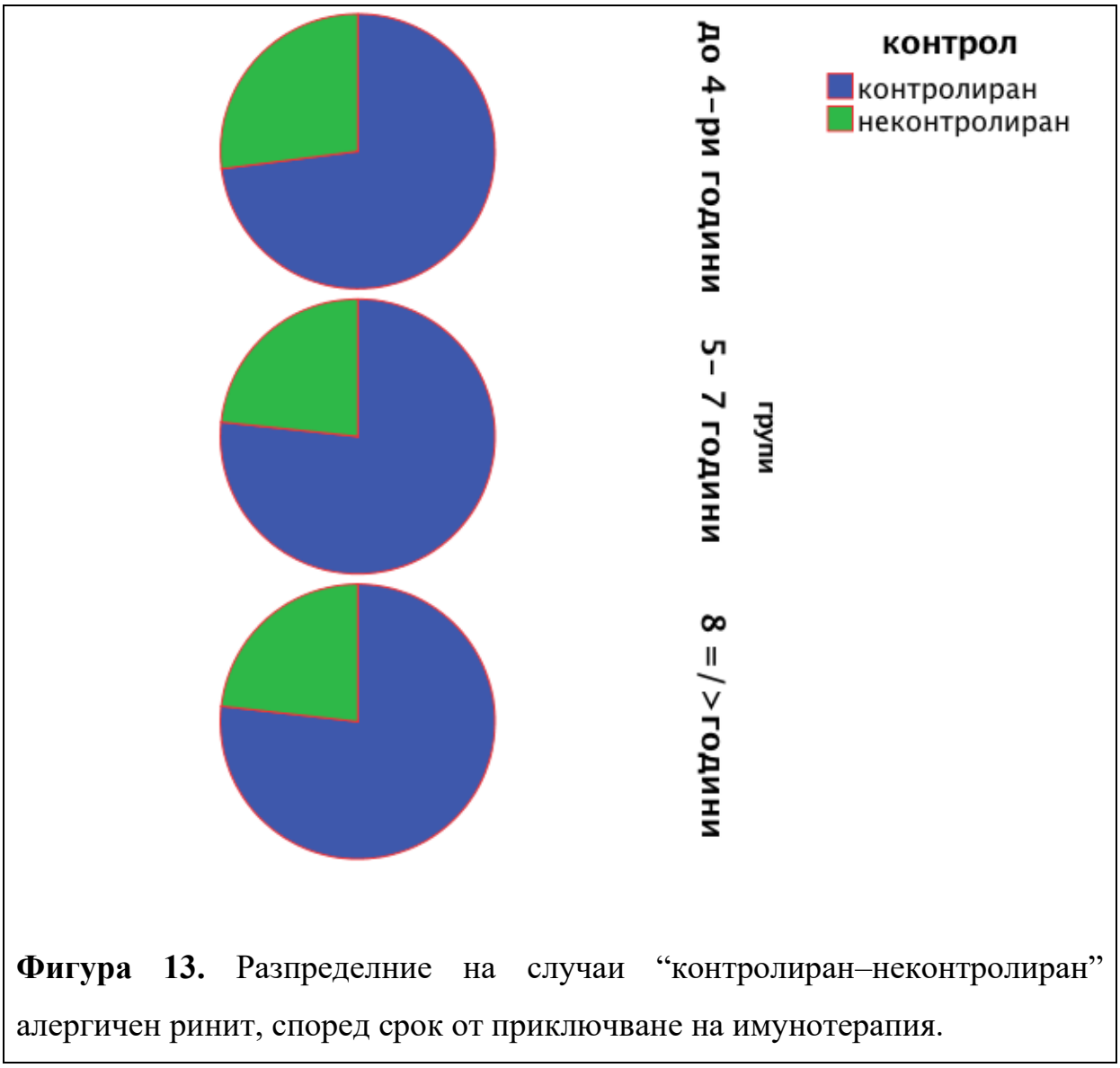
III. ОЦЕНКА НА КОНТРОЛ НА АЛЕРГИЧЕН РИНИТ

1. РЕЗУЛТАТИ

Като анализирахме този клиничен изход установихме, че при 116 (75,8 %) от пациентите след проведена алергенна имунотерапия, алергичният ринит е контролиран. Извършен беше анализ на контрола на ринита според определящия фактор “срок от приключване на имунотерапията”. Разпределението на случаите „контролиран – неконтролиран ринит” според този фактор е представено в табл. 18. Не бяха установени сигнификантни различия в разпределението “контролиран–неконтролиран ринит” между трите групи пациенти (табл. 18; фиг. 13).

Контрол на алергичен ринит, според срок от приключване на имунотерапия (резултатите са представени като брой пациенти) **Таблица 18**

Контрол	групи			общо
	до 4-ри години	5- 7 години	8 =/>години	
контролиран	27	46	43	116
неконтролиран	10	14	13	37
общо	37	60	56	153
Pearson Chi-Square test (p value = 0,89)				

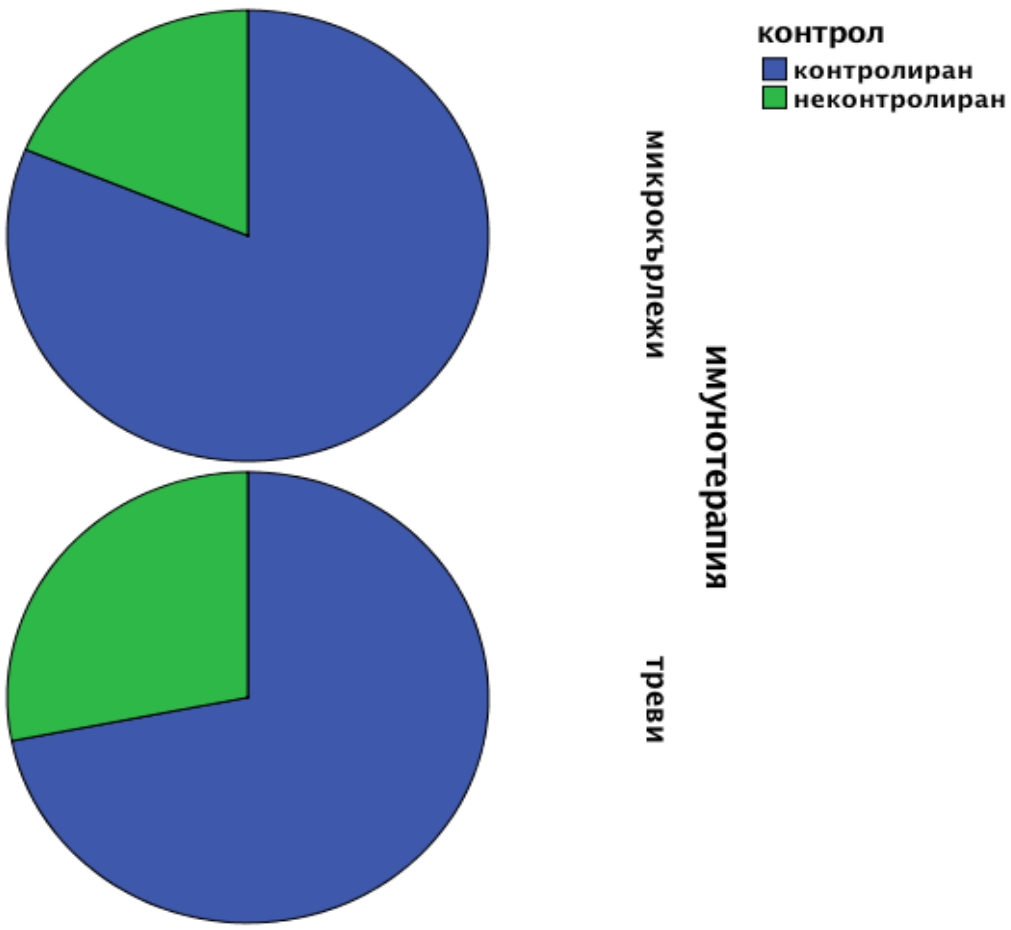


Фигура 13. Разпределние на случаи “контролиран–неконтролиран” алергичен ринит, според срок от приключване на имунотерапия.

Освен според “срок от приключване на имунотерапията”, контролът на ринита беше анализиран и според фактора “вид имунотерапия: микрокърлежи /тревен полен”. Установи се, че няма значимо статистическо различие в относителния дял “контролиран – неконтролиран” алергичен ринит между двата вида имунотерапия Разпределението на случаите контролиран – неконтролиран ринит, според този фактор е представено в табл. 19. и фиг. 14.

Контрол на алергичен ринит, според вид имунотерапия **Таблица 19** (резултатите са представени като брой пациенти).

		вид имунотерапия		
		тревен полен	микрокърлежи	общо
контрол	контролиран	64	52	116
	неконтролиран	25	12	37
общо		89	64	153
Pearson Chi-Square test (p value = 0,183)				



Фигура 14. Разпределние на случаи “контролиран–неконтролиран” алергичен ринит, според вид на имунотерапия.

2. ОБСЪЖДАНЕ (АНАЛИЗ) НА ПОЛУЧЕНИ РЕЗУЛТАТИ ОТ ОЦЕНКА НА НА КОНТРОЛ НА АЛЕРГИЧЕН РИНИТ

Настоящият дисертационен труд беше изграден изцяло върху препоръките на EAACI за използване на стандартизирани клинични изходи за оценка на АИТ при алергичен риноконюнктивит. В тази връзка, като допълнение към оценката на тежест и качество на живот, в оценката на дългосрочна клинична полза беше включен и контрол на ринита. Това е един от вторичните клинични изходи, които EAACI препоръчва за оценка на АИТ при клинични проучвания. Подобна оценка беше преценена като удачна, а извършването ѝ представлява съобразяване с експертна препоръка.

Концепцията за „контрол" е приета за всички хронични заболявания, каквото е и алергичният ринит, а постигането и поддържането на контрола, като цел на лечението. Въпреки че няма консенсусно определение за контрол, той може да бъде дефиниран като състояние на заболяването, при което няма повече симптоми или останалите симптоми не се считат за притеснителни [107].

При алергичния ринит симптомите са в резултат на алергично възпаление и контрол на заболяването се постига със средства, насочени срещу това възпаление. Алергенната имунотерапия е начинът за лечение на подлежащото алергично възпаление. По тази причина нашата работна хипотеза беше, че след проведена АИТ в препоръчителния, поне 3-годишен срок, ще установим значимо преобладаване на пациенти с контролиран алергичен ринит.

Съществен момент за извършване на оценката на контрол беше изборът на подходящ инструмент, приложим за групата пациенти, включени в проучването. В препоръките от експертната група на EAACI относно инструментите за оценка на клиничните изходи от АИТ при

алергичен риноконюнктивит са посочени няколко такива. Като недостатък обаче е изтъкнато, че те не са прилагани в рандомизирани клинични проучвания на АИТ. Дадена е и препоръка въпросниците за оценка на контрол да бъдат включени в проспективни проучвания [54].. Освен това използването на даден инструмент – въпросник изисква той да бъде лингвистично хармонизиран.

Дисертационният труд беше реализиран посредством проспективно проучване, което е в съответствие с дадената препоръка на експертната група. От приетите от EAACI въпросници за оценка на контрол на ринита, беше избран Rhinitis Control Assessment Test (RCAT). Този избор беше взет от една страна поради факта, че въпросникът е достъпен на български език. От друга стана обаче Calderón и съавт. установяват, че между инструментите за оценка на докладваните от пациента изходи RCAT е сред най – добре валидираните [99].

При извършената оценка на контрол в дисертационния труд посредством RCAT при 75,8% от пациентите, включени в проучването, алергичният ринит беше оценен като контролиран. При търсене на проучвания в достъпната медицинска литература, с които да бъде направено сравнение с получените резултати обаче, не беше намерено нито едно върху дългосрочен ефект на АИТ, в което да е оценен контрол на ринит. Това наблюдение е в подкрепа на констатацията, отбелязана в препоръките на EAACI, че липсва достатъчен опит в използване на въпросници за оценка на АИТ при алергичен ринит. В тази връзка дисертационният труд за първи път представя резултати относно дългосрочен ефект на АИТ по отношение на контрол на алергични ринит.

В рандомизирано, плацебо – контролирано проучване при пациенти с индуциран от тревен полен алергичен ринит е установена значителна корелация между RCAT и RQLQ скор и риноконюнктивалния тотален симптомен скор [109]. От тези резултати е изведно заключението, че

ефикасността на терапията може да бъде доказана чрез оценката за контрол, извършена посредством RCAT. На тази база, обсъждайки собствените резултати, бихме могли да направим извода, че АИТ е ефективна по отношение контрол при пациенти с алергичен риноконюнктивит.

От извършения анализ на контрола на ринита според определящия фактор "срок от приключване на имунотерапията" не бяха установени сигнификантни различия в разпределението "контролиран–неконтролиран ринит" между трите групи пациенти. Единствените намерени в достъпната литература данни, с които бихме могли да сравним тези резултати са от наше проучване тип „реален живот" за контрол на алергичен ринит, оценен посредством RCAT в началото и на третата година от СЛИТ с микрокърлежи [110]. Получените от нас резултати относно съотношението контролиран-неконтролиран ринит, оценени в съответните периоди на наблюдение са съпоставими с тези, в цитираното проучване. Работната ни хипотеза беше, че алергенната имунотерапия може да осигури дългосрочен контрол на алергичен ринит. На основата на оценения по–горе клиничен показател работната ни хипотеза беше потвърдена. Установихме, че факторът „срок от приключване на имунотерапия" не оказва влияние върху контрола на алергичния ринит.

Освен според срока на наблюдение след приключване на имунотерапията, контролът на ринита беше анализиран и според фактора "вид имунотерапия: микрокърлежи / тревен полен". Установено беше, че няма значимо статистическо различие в относителния дял "контролиран – неконтролиран" алергичен ринит между двата вида имунотерапия.

Известно е, че ползата от АИТ не е еднаква за всички алергени, отговорни за сенсибилизацията при различните алергични заболявания, вкл. алергичен ринит [111]. По отношение обаче на тревен полен и микрокърлежи са налице солидни данни за ефикасност по време на АИТ.

Проучвания установяват сходна полза от различните начини на приложение на терапия, вкл. различните форми на СЛИТ (разтвор и таблетки) [90]. Тези данни, докладвани в медицинската литература, съвпадат с установените резултати в дисертационния труд, в който не беше установена сигнификантна разлика в относителния дял на контролирани пациенти и при двата вида имунотерапия – тревен полен и микрокърлежи. Дисертационният труд включва популация пациенти с най–честото имуномедиирано заболяване с нарастваща честота. – алергичен ринит [112]. Проучванията обаче установяват, че то не рядко се приема за „тривиално" заболяване, недооценено както от пациенти, така и понякога от лекари. В публикувано изследване Gani и съавт. потвърждават, че в реалната клинична практика алергичният ринит е слабо контролиран [113]. В същото време потенциалът на АИТ е недостатъчно познат или недооценен, установено в различни европейски държави [114]. Получените в дисертационния труд резултати дават основание да се приеме, че по – доброто познаване на възможностите, които предоставя АИТ и прилагането ѝ при подходящи пациенти би подобрило контрола на алергичния ринит.

ИЗВОДИ:

На базата на получените резултати от оценка на контрол на алергичния ринит и последващия им анализ, може да се направят следните обобщаващи извода, свързани с алергенната имунотерапия , а именно:

1. Алергенната имунотерапия с микрокърлежи и тревен полен осигурява дългосрочен контрол на алергичен ринит.

2. Срокът от приключване на имунотерапия не е фактор, от който зависи контролът на заболяването.

IV. УДОВЛЕТВОРЕНОСТ НА ПАЦИЕНТА ОТ АЛЕРГЕННА ИМУНОТЕРАПИЯ

1. РЕЗУЛТАТИ

Дейностите по реализирането на последната част от настоящата задача бяха върху оценката на удовлетвореността на пациентите от проведената имунотерапия. Тези дейности бяха осъществени както чрез вече валидирания на български езика въпросник ESPIA, описан в първа задача, така и чрез ВАС.

Анализът на показателя "удовлетвореност" по посочените по-горе два метода беше извършен на основата на два обективни фактора: "срок от приключване на имунотерапия" и "вид имунотерапия".

Според фактора "срок от приключване на имунотерапия", при оценката на удовлетвореността чрез въпросника ESPIA, не бяха установени статистически значими различия както във всяка една от неговите четири категории, така и в крайната оценка. Независимо, че различията в стойностите на отделните категориите между трите периода на наблюдение не са сигнификантни, беше устанено, че най–висока оценка е дадена от групата пациенти, приключили АИТ преди 8 и повече години **(табл. 20, фиг. 15)**.

При анализа на категориите от въпросника ESPIA спрямо фактора "вид имунотерапия" беше установено сигнификантно различие при всяка една от категориите, както и в при общата оценка. (**табл. 21, фиг. 16**). По-високи стойности на отделните категории бяха установени при групата пациенти, провели имунотерапия с микрокърлежи.

Получената средна стойност за оценка на удовлетвореност по ВАС за всички пациенти, включени в проучването, беше 8.46 (SD 1,94). Анализът на удовлетвореността по ВАС установи, че според фактора "срок от приключване на имунотерапия" няма статистическо значимо различие в

стойностите между отделните периоди на наблюдение: p=0,39 (**табл. 22**). Не бяха установени сигнификантни различия в удовлетвореността, определена по ВАС и между пациентите с двата вида на имунотерапия: p=0,28 (**табл.22**)

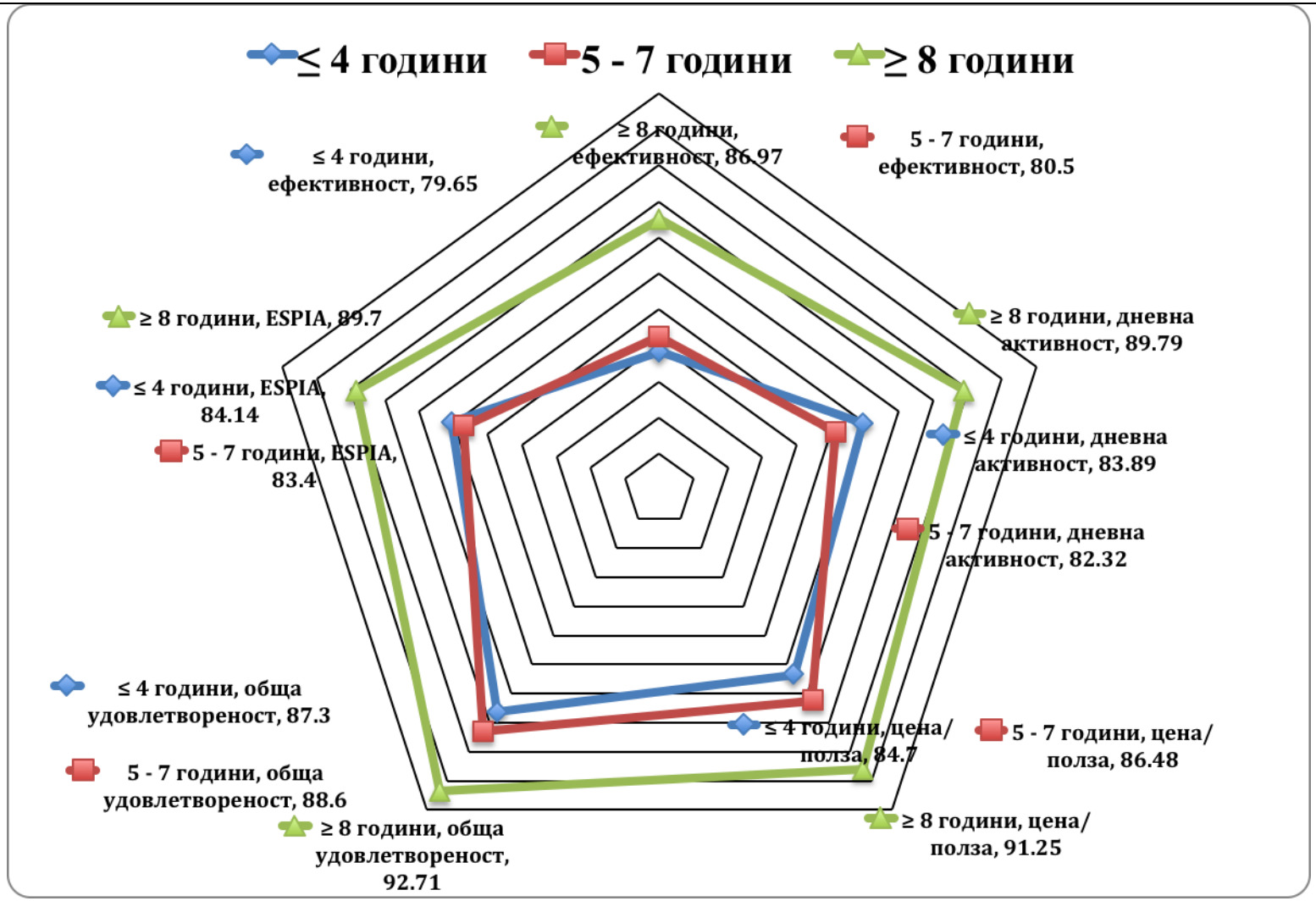
Удовлетвореност (по "ESPIA") според фактора "срок от приключване на имунотерапия".						**Таблица 20.**
категории (в %)						
групи		ефективност	дневна. активност	цена/ полза	обща удовлетвореност	ESPIA
</= 4 години	средно	79.65	83.89	84.70	87.30	84.14
	Std. dev.	20.54	16.43	18.65	16.28	15.87
5 - 7 години	средно	80.50	82.32	86.48	88.60	83.40
	Std. dev.	20.41	20.13	17.78	17.18	20.30
>/= 8 години	средно	86.79	89.79	91.25	92.71	89.70
	Std. dev.	17.38	15.64	15.79	13.51	14.79
p-value		**0.13**	**0.07**	**0.16**	**0.20**	**0.12**

Удовлетвореност (по "ESPIA") според фактора "вид имунотерапия". (Std. dev. – стандартно отклонение; Std. err. mean - средна грешка на средна аритметична).						**Таблица 21**
категории	**вид имунотерапия**	брой	Средно (%)	Std. dev.	Std. err. mean	**p value**
ефективност	тревен полен	88	78.92	19.83	2.11	0.006
	микрокърлежи	65	87.57	18.09	2.24	
	общо	153	82.59	19.52	1.57	
дневна активност	тревен полен	88	81.48	18.29	1.95	0.001
	микрокърлежи	65	90.78	16.04	1.99	
	общо	153	85.43	17.92	1.44	

цена/полза	тревен полен	88	84.19	19.38	2.06	0.003
	микрокърлежи	65	92.68	12.90	1.60	
	общо	153	87.80	17.40	1.40	
обща.удовлетвореност	тревен полен	88	87.00	16.56	1.76	0.01
	микрокърлежи	65	93.57	13.86	1.72	
	общо	153	89.79	15.76	1.27	
ESPIA	тревен полен	88	82.60	17.44	1.85	0.044
	микрокърлежи	65	90.32	16.77	2.08	
	общо	153	85.88	17.53	1.41	

Удовлетвореност по BAC според факторите "срок от приключване на имунотерапия" и "вид имунотерапия". **Таблица 22.**
(Std. dev. – стандартно отклонение; Std. err. mean - средна грешка на средна аритметична).

Фактор		брой	Средно (в см)	Std. dev.	Std. err. mean
срок от приключване на имунотерапията	</= 4 години	37	8.44	1.78	0.29
	5 - 7 години	60	8.22	1.91	0.24
	>/= 8 години	56	8.72	2.06	0.27
	общо	153	8.46	1.93	0.15
				p value	**0.39**
Вид имунотерапия					
	тревен полен	88	8.31	1.97	0.21
	микрокърлежи	65	8.66	1.88	0.23
	общо	153	8.46	1.93	0.16
				p value	**0.28**

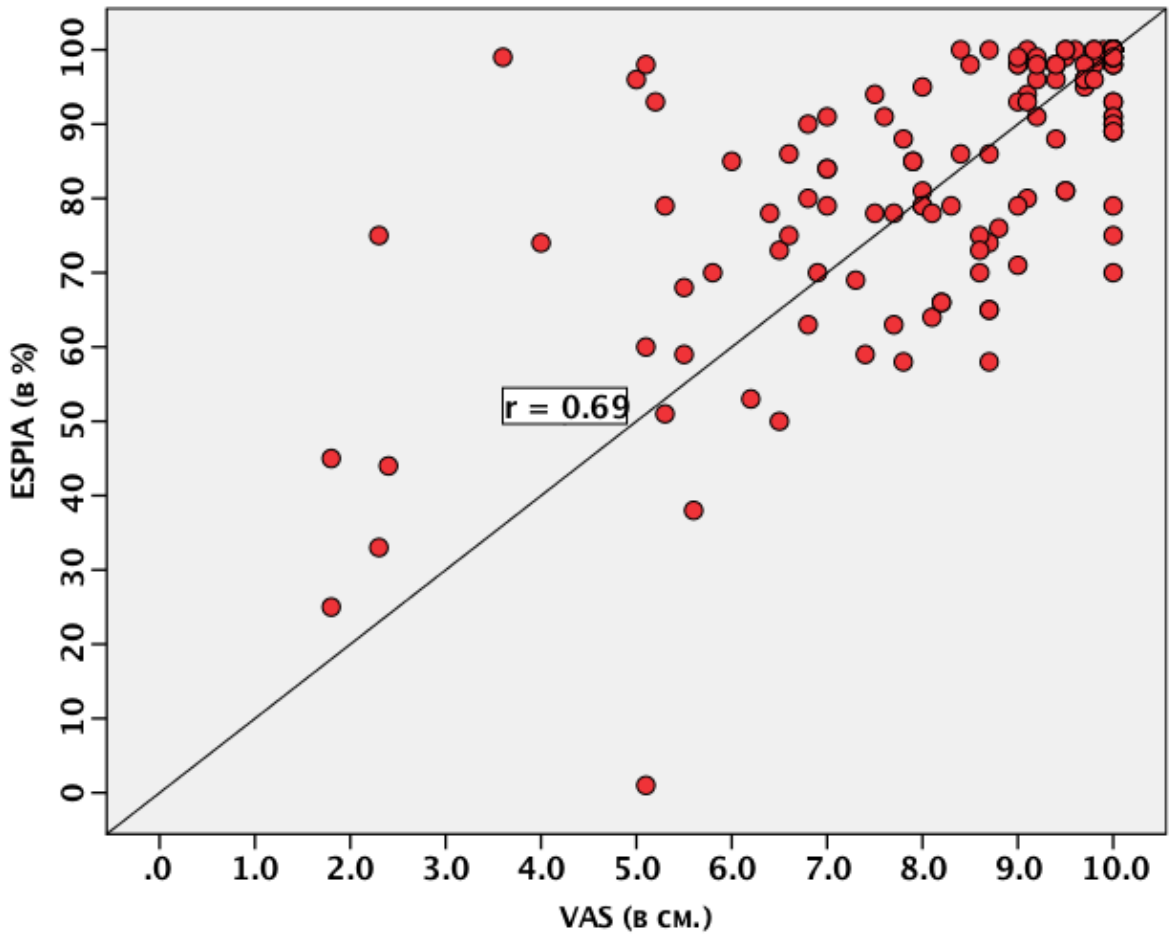


Фигура 15. Удовлетвореност (по "ESPIA") – сравнителен анализ според фактора "срок от приключване на имунотерапия"



Фигура 16. Удовлетвореност (по “ESPIA”) – сравнителен анализ според фактора “вид имунотерапия”.

Осъществен беше и непараметричен корелационен анализ (по Спирман) между показателите “обща оценка за удовлетвореност по ESPIA” и “удовлетвореност по BAC. Установено беше, че между тези два количествени признака има права, значителна корелация [коефициентът на корелация r = (+) 0,69] / (фиг. 17).



Фигура 17. Корелационен анализ между обобщените резултатите от въпросник “ESPIA” и удовлетвореността по BAC [r = (+) 0,69].

2. ОБСЪЖДАНЕ (АНАЛИЗ) НА ПОЛУЧЕНИ РЕЗУЛТАТИ ОТ ОЦЕНКА НА УДОВЛЕТВОРЕНОСТ ОТ АЛЕРГЕННА ИМУНОТЕРАПИЯ

Като част от оценката за дългосрочна клинична полза от АИТ беше включен и анализ на удовлетвореността на пациентите от това лечение. „Златен стандарт" за определяне на ефикасност на дадена терапия са рандомизираните клинични проучвания. Такива проучвания дават основание да се приеме, че АИТ е доказана терапевтична възможност за пациенти с алергичен ринит и сенсибилизация към микрокърлежи и тревен полен [27].. Основен проблем с този тип проучвания обаче е, че онези които са решили да се включат в тях може да са значимо различни от други, които отказват участие. Освен това участниците трябва да отговарят на определени критерии, като преценката в крайна сметка зависи от личното решение на изследователите. По тази причина онези, които участват може да не съвпадат изцяло с пациентите от реалната практика. Това налага провеждане и на друг тип наблюдения, които да определят дали изводите от рандомизираните проучвания са приложими при по-широк кръг пациенти от реалния живот или при тях трябва да се обсъждат и тестват други хипотези. Тук идва мястото на проучванията, тип „реален живот" (доказателства от реалния живот), които могат да проверят дали установените клинични ползи са приложими при неселектирани пациенти. Така че, проучванията тип „реален живот" имат потенциала да изследват възможността за екстраполиране на резултати от рандомизирани проучвания към различни популации пациенти, потвърждавайки или опровергавайки ефикасност на терапия [115].

Целият дисертационен труд беше изграден върху данни на пациенти, провеждали АИТ в реалната практика, отчитайки всички особености на такъв тип лечение и поведение, вкл. ролята на самия пациент и неговата

гледна точка, очаквания и удовлетвореност. Налице са разнопосочни данни от клинични проучвания тип „реален живот”, които оценяват мнението и очакванията на пациента. Baiardini и съавт. установяват високо ниво на удовлетвореност на пациенти от АИТ, което съвпада с оценката на лекарите [116].. Повечето проучвания установяват липса на информираност на алергичните пациенти за наличие на АИТ и нейните възможности [117]. Набирането и предоставянето на данни от реалната практика, каквито са в дисертационния труд, с оценка на ефективност и чрез удовлетвореността на пациента, е важно условие за повишаване на тази информираност.

Удовлетвореността от лечение е един от докладваните от пациента изходи, предложен и от експертната група на EAACI за клинична оценка на АИТ като вторичен изход. Във връзка с това, както и с изложеното по-горе, в дисертационния труд беше включена и оценка на удовлетвореност на пациента от проведена АИТ.

Удовлетвореност е широко използвана в проучвания за изследване на перцепцията на пациента за ефективност от лечение. Резултатите от тях показват, че удовлетвореността влияе върху свързаните със здравето решения на пациента и свързаното с лечение негово поведение. Това има съществено значение за крайния успех. Удовлетвореността от лечение е предиктор за правилна употреба, придържане към терапията и добър комплайънс [118]. В дисертационния труд беше извършена оценка на пациенти, вече приключили АИТ преди определен период от време. По тази причина работната ни хипотеза беше, че оценката на удовлетвореността ще позволи да се изследва перцепцията на пациентите за ефективността на АИТ.

Удовлетвореността се дефинира като познавателен продукт на сравняване между идеалния живот и реалността и затова може бъде измерена. За да стане възможно такова измерване за нуждите на

дисертационния труд трябваше да бъде избран съответният инструмент. При извършения литературен обзор беше установено, че публикациите, свързани с изследване на този вторичен клиничен изход от АИТ са изключително ограничени. Сред малкото намерени, най – често използваният начин на оценка на удовлетвореност е BAC. От друга страна обаче експертната група на EAACI изтъква възможността да бъде използван специфичен въпросник за оценка на удовлетвореността на пациентите от АИТ – Satisfaction Scale for Patients Receiving Allergen Immunotherapy (ESPIA) [64].

За да могат да бъдат анализирани резултатите, получени в дисертационния труд с тези, публикувани в достъпната медицинска литература, както и да се придържаме към приетите клинични изходи беше взето решение удовлетвореността да бъде оценявана както чрез ESPIA, така чрез BAC. За да стане възможно това, беше реализирана първата задача с лингвистично валидиране на ESPIA.

Обособените категории във въпросника ESPIA прави възможна оценка на няколко параметъра с отношение към общата удовлетвореност от терапия. Получените резултати от въпросите, даващи представа за мнението на пациентите относно ефективността на АИТ доказа висока оценката и в трите групи за наблюдение, обособени според обективния фактор „срок на наблюдение след приключване на имунотерапия” (79,65%; 80,50%; 86,79%) Установена беше висока перцепция за подобрение на дневна активност, осигурена от проведената АИТ, като срокът от приключване на АИТ се доказа, че не променя тази оценка. Това е значимо наблюдение, защото е известно, че пациентите с алергичен ринит страдат от намалена дневна активност поради симптомите и това влошава качеството на живот.

Още една категория с отношение към цялостната удовлетвореност на пациентите от АИТ, за която се набавят данни от въпросника е

перцепцията на пациента за съотношението „цена – полза”. И в трите групи пациенти, обособени според фактора „ срок от приключване на АИТ” беше установена висока оценка на това съотношение. В достъпната литература до момента няма системни анализи, които изследват здравни икономически изходи както от СКИТ, така и от СЛИТ [119]. Налични са обаче сериозни доказателства, че АИТ при пациенти с алергичен ринит е рентабилна в сравнение с фармакотерапията, прилагана самостоятелно. Величината на тази рентабилност обаче е недооценена, защото повечето проучвания отчитат разходите по време на лечение, но не и дългосрочната полза от АИТ [120]. На базата на оценката на пациентите, включени в дисертационния труд, имаме основание да се направи извод за точно такава дългосрочна полза от вложените разходи по АИТ . Това е важно наблюдение от практическа гледна точка, като се вземе под внимание фактът, че у нас здравно – осигурителната каса не реимбурсира имунотерапия при пациенти с алергичен ринит и те изцяло поемат разходите по това лечение, продължаващо поне три години. Въпреки това, получените резултати доказват висока перцепция за полза от вложените разходи. Стратегии за повишаване на информираността на пациентите за дългосрочна полза, която оправдава разходите има потенциала да повиши приложението на АИТ.

Потвърдени бяха и очакванията за висока оценка от страна на пациентите за обща удовлетвореност. Според фактора “срок от приключване на имунотерапия” при оценката на удовлетвореността чрез въпросника ESPIA не бяха установени статистически значими различия както във всяка една от неговите четири категории, така и в крайната оценка. Увеличаване на срока след приключване на имунотерапията не влияе на високата оценка за удовлетвореност Независимо, че различията в стойностите на отделните категории между трите периода на наблюдение не са сигнификантни, беше установено, че най–висока оценка е дадена от

групата пациенти, приключили АИТ преди 8 и повече години. Това може да бъде обяснено с перцепцията за ефект от терапия, който персистира. Имаме основание да приемем, че колкото повече се увеличава срокът след приключване на имунотерапия, толкова повече нараства перцепцията за полза от нея.

При оценката на удовлетвореност по ВАС получената средна стойност за всички пациенти, включени в проучването, беше 8.46/10 (SD 1,94). В достъпната литература не беше намерено проучване на удовлетвореност от АИТ, като оценка на дългосрочен ефект, както беше направено в дисертационен труд. В многоцентрово проучване тип „реален живот" Baiardini и съавт. оценяват удовлетвореност от АИТ на пациенти с алергичен ринит, провеждали поне 2,5 години СКИТ или СЛИТ [116]. Оценката, извършена по 10-сантиметрова ВАС от пациенти е била 7,4, а от лекари - 7,8. Доказана е сигнификантна корелация между тези оценки и е направен извод, че нивото на удовлетвореност както на пациенти, така и на лекари е високо. В още едно, публикувано наскоро проучване тип „реален живот", е проведена оценка на удовлетвореност чрез ВАС при завършване на 3-годишна СЛИТ с микрокърлежи и тревен полен. Оценката при пациенти, провели двата вида СЛИТ е както следва: 7.61 (SD 2,4) при микрокърлежи и 7,5 (SD 2.05) при тревен полен. Тези оценки са сравнени и се доказват сигнификантно по – високи от първоначални, оценяващи предходна фармакотерапия. Направен е извод, че повечето пациенти с алергичен ринит изглеждат удовлетворени от 3-годишния курс имунотерапия [121]. Докладваните резултати в дисертационния труд предоставят данни, сходни като стойност на цитираните краткосрочни проучвания, но получени три или повече години след приключване на АИТ. Според фактора "срок от приключване на имунотерапия" не беше установено статистическо значимо различие в стойностите между отделните периоди на наблюдение. Видимо удовлетвореността от

имунотерапията надхвърля периода на нейното провеждане. Получените резултати потвърдиха работната ни хипотеза за удовлетвореност от страна на пациенти за АИТ като перцепция за дългосрочен ефект.

При анализа на удовлетвореността от АИТ според втория обективен критерий (вид на имунотерапия), бяха установени високи нива и при двата начина на оценка – ESPIA и BAC. По BAC и при двата вида имунотерапия (микрокърлежи и тревен полен) нивото на удовлетвореност е оценено над 8 см, а според ESPIA - над 80%. Както чрез BAC, така и чрез ESPIA беше установено по-високо ниво на удовлетвореност при пациентите, провели имунотерапия с микрокърлежи, спрямо тези, с тревен полен. Различията в стойностите по ESPIA дори са сигнификантни. В този смисъл нулевата хипотеза относно удовлетвореността спрямо фактора „вид имунотерапия" не беше потвърдена. Възможно обяснението на този резултат свързваме с това, че времето за изграждане на дисертационния труд съвпада с пандемията от COVID-19 и приложените мерките за изолация. През периода за оценка и отчитане на удовлетвореността пациентите са прекарвали основна част от своето време затворени (изолирани) в домовете си. Затворените помещения се възприемат като мястото за контакта с микрокърлежи, а престоят в тях, като начин на живот, различен от естествения. Продължителното пребиваване в провокиращата среда дава добра възможност да бъде оценен ефектът от проведената имунотерапия, което повишава перцепцията за удовлетвореност на пациента.

При осъществения корелационен анализ между общата оценка за удовлетвореност по ESPIA и тази, по BAC, беше установено, че между тези два количествени признака има права, значителна корелация, което е представено и от Justica и съавт. при изграждане на въпросника. Този резултат дава основание да бъдат препоръчвани и двата начина на оценка на удовлетвореност като надеждни. BAC е лесен и бърз начин на оценка и

може да бъде прилаган в ежедневна работа. Предимство на въпросника е неговата специфичност по отношение на АИТ и възможността за детайлна оценка и анализ на отделните категории, определящи общата удовлетвореност.

ИЗВОДИ:

На основата на получените резултати от оценка на оценка на удовлетвореност от алергенна имунотерапия и последващия им анализ, може да се направят следните обобщаващи извода, а именно:

1. Резултатите от проведен три годишен курс на СКИТ и СЛИТ са свързани с дългосрочна удовлетвореност на пациенти с алергичен ринит от АИТ.

2. С увеличаване на срока след приключване на АИТ нараства перцепцията на пациента за полза от нея.

3. Повишаване на информираността на пациентите за дългосрочна полза, която оправдава разходите по провеждане и има потенциала да повиши приложението на АИТ в клиничната практика.

4. ESPIA и BAC са две възможности за клинична оценка на показателя „удовлетвореност” от АИТ. Изборът между двата метода трябва да зависи от нуждата или не за детайлна оценка на този показател.

ЗАДАЧА III
ОЦЕНКА НА ИМУНОЛОГИЧНИ БИОМАРКЕРИ ЗА МОНИТОРИРАНЕ НА ДЪЛГОСРОЧНА КЛИНИЧНА ЕФИКАСНОСТ НА АЛЕРГЕННА ИМУНОТЕРАПИЯ

I. ОЦЕНКА НА СЕРУМНИ НИВА НА SIgG4

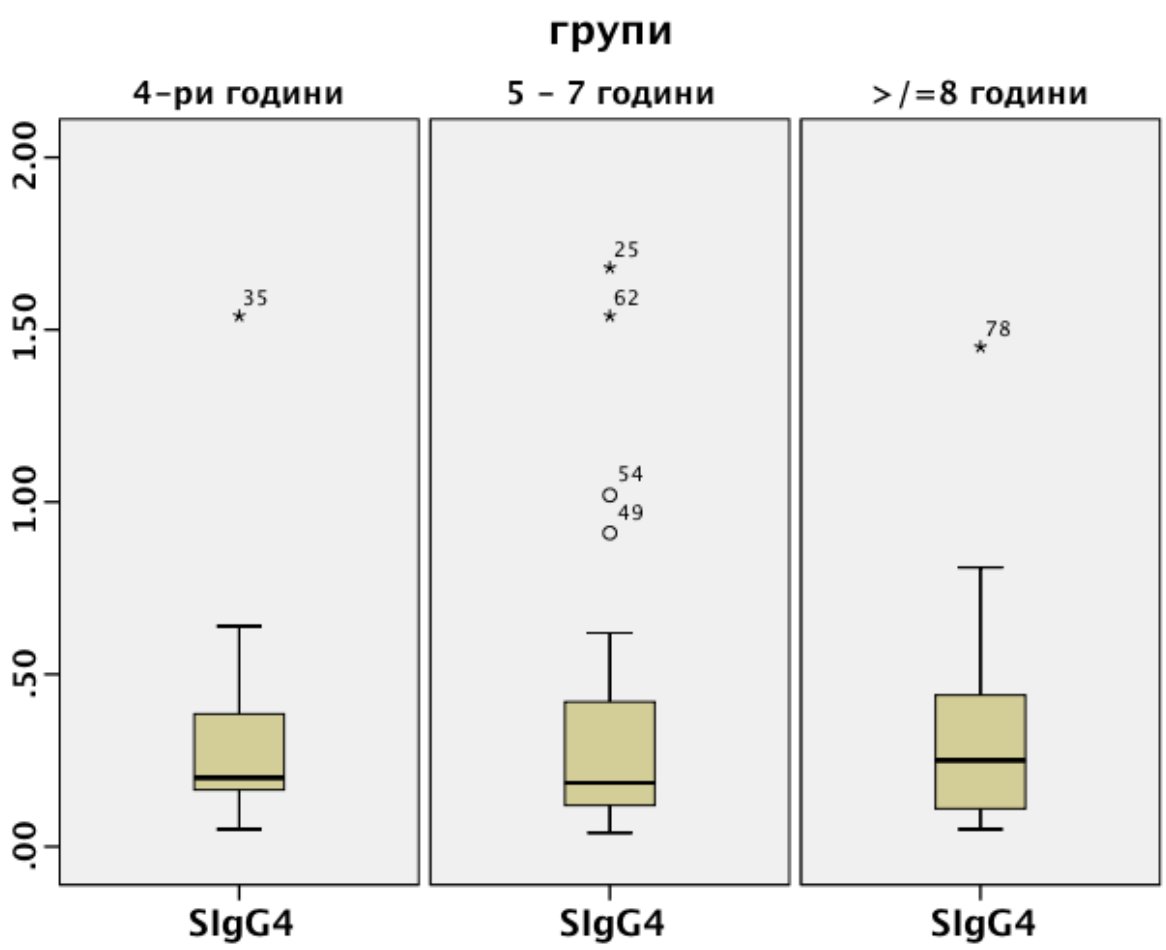
1. РЕЗУЛТАТИ

По отношение на резултатите и тяхното обсъждане по трета задача, най-напред бяха анализирани вариационните признаци „серумни нива на специфични IgG4" (sIgG4) за тревен полен и микрокърлежи. Първият обективен фактор, според който се извърши анализът на sIgG4, беше "срок от приключване на имунотерапия". Резултатите от нивата на sIgG4 за двата вида АИТ за всяка една от трите групи са представени в **табл. 23.**

Извършен беше и непараметричен анализ на Mann-Whitney, при който се потвърди нулевата хипотеза, че няма статистическо значимо различие между стойностите на sIgG4 за трите групи пациенти според "срок от приключване на имунотерапия" – p value = 0,111 **(фиг. 18)**.

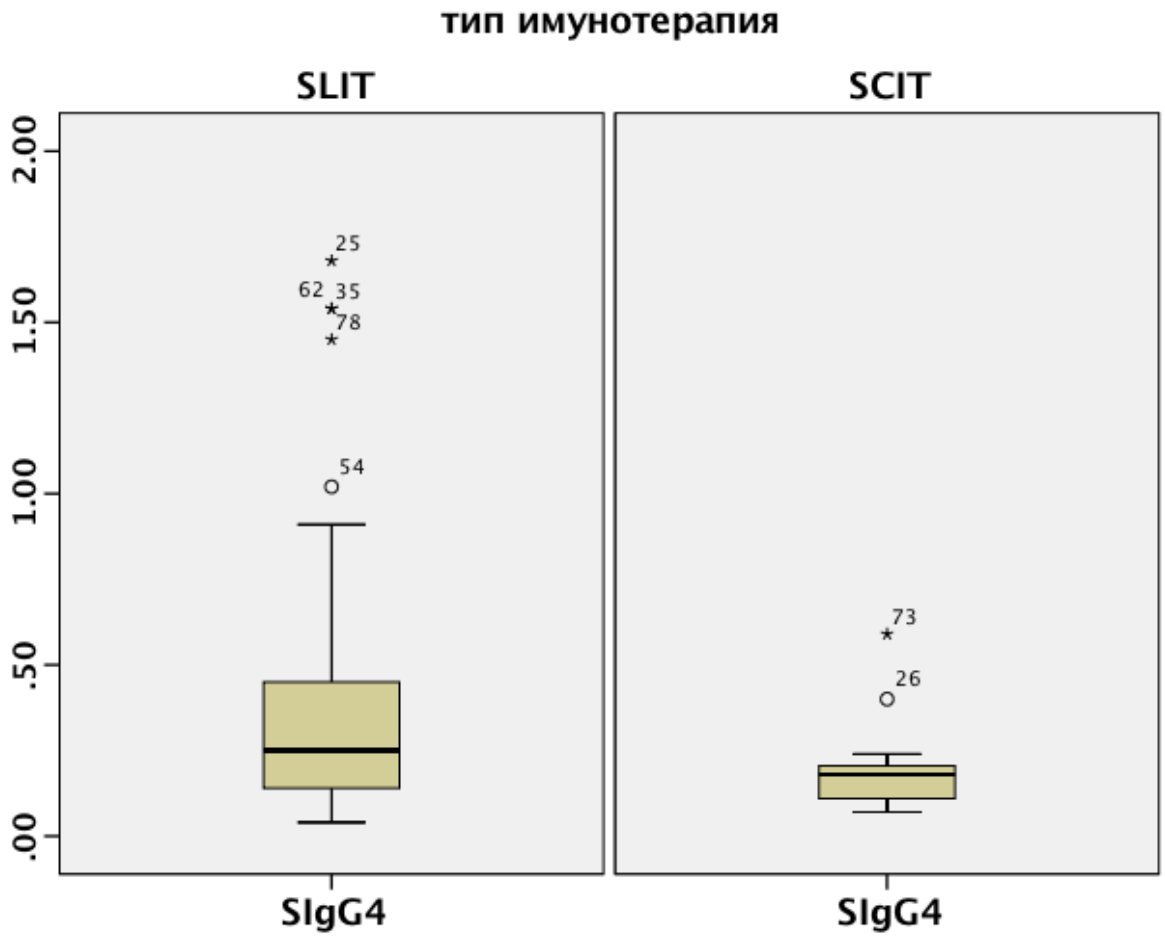
Стойности на специфични IgG4 според срок на приключване и тип на имунотерапия. **Таблица 23**

Фактор:	**Специфични IgG4** (mgA/L)		
1. срок от приключване на имунотерапия:	средно	Std. dev.	p value
4-ри години	0.37	0.42	0,111
5 - 7 години	0.34	0.38	
>/=8 години	0.35	0.31	
2. тип имунотерапия:			
СЛИТ	0.39	0.38	0.026
СКИТ	0.19	0.12	



Фигура 18. Анализ на sIgG4 според фактор "срок от приключване на имунотерапия".

Вторият обективен фактор при анализа на sIgG4, беше "тип имунотерапия: СКИТ/СЛИТ". Стойностите на sIgG4 според този фактор са представени в (**табл. 23**). И по отношение на този фактор, също беше извършен непараметричен анализ на Mann-Whitney. Непараметричният анализ отхвърли нулевата хипотеза (p value = 0,026). Потвърдена беше алтернативната хипотеза, със сигнификантно различие в стойностите на sIgG4 за двете групи пациенти – значимо по-високи при тези, провели СЛИТ **(фиг. 19).**



Фигура 19. Анализ на sIgG4 според фактор “тип имунотерапия”.

2. ОБСЪЖДАНЕ (АНАЛИЗ) НА ПОЛУЧЕНИ РЕЗУЛТАТИ

Алергенната имунотерапия цели да индуцира толеранс към алерген чрез взаимодействие с имунопатогенните механизми на алергичния отговор. Затова АИТ има потенциала да осигури дългосрочно освобождаване от симптомите на алергия, вкл. на алергичен ринит.

Стандарт за клинична полза от АИТ при алергичен ринит според препоръките на EAACI е оценката на симптоми и нуждата от медикаменти по време на естествена експозиция, които бяха анализирани в предходната

задача на дисертационния труд. АИТ може да се приема за терапевтичен модел на прецизна медицина, която цели индивидуализирано лечение, съобразено с клиничния и имунологичен профил на пациента. По тази причина се работи активно за идентифициране на имунологични маркери, които могат да отдиференцират тези пациенти, които отговарят на терапията от онези, които не получават нужната полза от нея [122].

Във връзка с изключителния интерес към тази тема, работна група на EAACI публикува свое становище с обзор на кандидат-биомаркери за мониториране на клинична ефикасност на АИТ при алергичен риноконюнктивит [67]. Предложените биомаркери са обединени в седем групи (домейна). Една от задачите на работната група е била идентифициране на сурогатни кандидат-биомаркери за мониториране на дългосрочен ефект от АИТ. Данните в достъпната медицинска литература обаче показват, че до момента няма налични валидирани биомаркери. Все пак се увеличава броят на публикации, посветени на оценка на потенциални такива. Посочва се нуждата от проучвания, които да предоставят доказателства за вече предложените биомаркери, както и да оценят и интерпретират тяхната асоциация с клиничен и имунологичен отговор както по време, така и след приключване на АИТ [123]. Същевременно, както изтъкват Shamji и Durham, водещи участници в работната група на EAACI, част от обсъжданите биомаркери са информативни за доказване на определени концепции в клинични проучвания, но са неприложими за рутинна клинична практика [124]. Съобразявайки се с препоръките на работната група, част от дисертационния труд беше свързана с анализ на някои биомаркери, които биха могли реално да бъдат използвани в ежедневната клинична практика.

В достъпната литература се посочва, че изследване на хуморални серумни биомаркери има предимството на по-лесното събиране и съхранение. За нуждите на дисертационния труд бяха анализирани именно

такива биомаркери. Основната идея за включване на тази задача беше да се осигурят имунологични данни, които да бъдат съпоставени с вече проведените във втора задача клинични оценки и изходи.

Алергенната имунотерапия се асоциира с промяна в Т-клетъчната функция, пренасочване от Th2 към Th1 фенотип и индуциране на регулаторни Т клетки. Тези промени са съпроводени с намалено рекрутиране и/или активиране на ефекторни клетки–мастоцити, еозинофили, базофили. Проучвания, свързани с имунотерапия и определяне на серумните имуноглобулини, насочени срещу алерген, посочват индуциране на алерген-специфични IgG, по-специално подклас sIgG4. Предполага се, че те по механичен път са свързани с клинична полза благодарение на конкурентно инхибиране на алергичния отговор, предизвикан от специфични IgE към същия алерген [125]..

sIgG, особено sIgG4 са едни от биомаркерите, предложени от работната група на EAACI като кандидат-биомаркер за комплайънс. В дисертационния труд беше извършено изследване на нивата на sIgG4 при пациенти, провели АИТ с микрокърлежи и с тревен полен. Според данни от няколко проучвания нивото на sIgG4 нараства от 10- до 100-кратно в хода на АИТ [126]. В публикувано наскоро проучване, Николов и съавт. установяват сигнификантно повишаване спрямо начално ниво на sIgG4 след три години СКИТ, сигнификантно за тревен полен [127]. Gomez и съавт. доказват, че АИТ може да индуцира блокиращи sIgG4 антитела от четвъртата седмица на лечение, а задържането им на първата година може да предскаже терапевтичен отговор [128]. Проучванията показват, че до втората година от лечението нивата на серумните sIgG4 продължават да нарастват и се стабилизират през третата година, като намаляват с 80% до 90% в рамките на една година след спиране на АИТ. Въпреки това обаче остават по–високи от стойности, установени преди началото на АИТ [26]. В дисертационния труд бяха изследвани пациенти, провели поне три-

годишен курс на АИТ, като оценката е проведена години след приключването ѝ. Дисертационният труд няма за цел да изследва промени и динамика в хода на имунотерапията, а последици, вкл. имунологични, от нейното провеждане. При липсващи собствени данни за нива преди начало или в края на АИТ, може да направим сравнение с такива, публикувани в достъпната медицинска литература. Получените резултати установяват по-високи нива на sIgG4 спрямо такива, установени преди започване на АИТ. Трябва да бъде отчетено обаче, че собствените резултати установяват наличие на sIgG4 години след приключване на АИТ. В тази връзка бяха определени нивата на sIgG4 според срока от приключване на АИТ. При анализ на получените резултати беше установена липса на статистическо значимо различие между стойностите на sIgG4 за трите групи пациенти, обособени според срока от приключване на имунотерапията. (p 0,111). Може да бъде направен извод, че нивата на sIgG4, достигнати на третата година от приключване на АИТ се запазват. Отчитайки изводите и от предходната задача, този резултат е в съответствие с публикувани проучвания, които доказват, че въпреки спада в нивото, останалите след АИТ циркулиращи IgG притежават достатъчен инхибиторен потенциал, което промотира дългосрочен толеранс [72].

В дисертационния труд беше извършен анализ на нивата на sIgG4 според типа на имунотерапия – СЛИТ и СКИТ. Бяха установени сигнификантно по-високи нива при пациентите, провеждали СЛИТ. Достъпната медицинска литература предоставя последователни данни за повишени нива на sIgG4 както в проучвания със СЛИТ, така и със СКИТ. В същото време, според работната група на EAACI, публикувала препоръките за биомаркери за мониториане на клинична ефикасност, sIgG4 потенциално може да бъде приет като маркер за комплайънс. Въпреки, че поради приложението на СЛИТ самостоятелно в дома би

могло да се очаква по-ниско придържане в сравнение със СКИТ, публикувано наскоро проучване доказва сходно и сравнително високо ниво на придържане и към двата типа имунотерапия. Авторите доказват, че ако пациентите се придържат към терапията през първата година на лечение, вероятността да отпаднат от терапия, както СЛИТ, така и СКИТ, е по – малка [129]. Всички пациенти, включени в дисертационния труд, са провеждали поне три-годишен курс на АИТ. По тази причина установената сигнификантна разлика в нивата на sIgG4 не би могла да бъде обяснена с разлика в придържането. В достъпната медицинска литература не бяха открити сходни проучвания, проведени при подобни срокове от приключване на АИТ, с които да сравним собствените резултати. В едно от ранните плацебо-контролирани проучвания по темата е проведено сравнение между СКИТ и СЛИТ при 20 пациента, моносенсибилизирани към тревен полен. Установена е сигнификантна промяна в нивата на sIgG4 през първата година само в СКИТ групата [130]. В цитираното обаче проучване на Николов и съавт. при СКИТ с няколко алергена е докладвано сигнификантно повишаване в края на третата година на нивата на sIgG4 спрямо начално ниво само при СКИТ с тревен полен, но не и с микрокърлежи [127]. Като предположение, обясняващо сигнификантно по-високите нива на sIgG4 при СЛИТ, установени в дисертационния труд, могат да бъдат отчетени някои различия в двата начина на АИТ и предизвиканите от тях имунологични промени. Налице са достатъчно сериозни доказателства, че както СЛИТ, така и СКИТ индуцират производство на sIgG4. И двата начина на приложение на АИТ увеличават броя на B регулаторните клетки с експресия на IL-10, който стимулира синтеза на IgG4 антитела. Публикувано наскоро проучване доказва, че сублингвалното приложение на АИТ индуцира поява на периферни дендритни клетки с незрял фенотип и с увеличен капацитет за производство на IL-10, което стимулира допълнително синтез на sIgG4

[36]. Именно с тези резултати обясняваме сигнификантно по-високите нива на sIgG4 при пациенти, провели СЛИТ. Изказват се обаче и предположения, че въпреки по-ниските им нива, IgG4, персистиращи след спиране на АИТ могат да имат дори по – висок афинитет и IgE-блокиращ потенциал. В публикациите по тези тема се коментира, че паметови В-клетки, индуцирани от АИТ, могат да персистират в резултат на постоянен контакт с ниски нива на алергенни стимули, и това да допринася за дългосрочен толеранс. Получените резултати в дисертационният труд са в подкрепа на публикувани в научната литература становища, че самостоятелно изследване на sIgG4 не е достатъчно за формулиране на заключения относно ефективността на АИТ.

ИЗВОДИ:

На основата на получените резултати от оценка на na серумни нива на sIgG и последващия им анализ, може да се направят следните обобщаващи извода, а именно:

1. Серумните нива на sIgG4, достигнати на третата година от приключване на АИТ с тревен полен и микрокърлежи се запазват.

2. Самостоятелно изследване на серумни нива на sIgG4 след проведена АИТ не е достатъчно за формулиране на заключения относно нейната ефективност.

II. ОЦЕНКА НА СЕРУМНИ НИВА НА ОБЩИ И СПЕЦИФИЧНИ IgE

1. РЕЗУЛТАТИ

Към оценката на имунологични биомаркери за мониториране на дългосрочна клинична ефикасност на алергенна имунотерапия в дисертационния труд беше включена и такава, отнасяща се до серумни нива на IgE. Бяха оценени нивата както на общи IgE (tIgE), така и на специфични IgE (SIgE). Обобщените данни по отношение на стойностите им за цялата група пациенти с осъществен имунологичен анализ са представени в табл 24.

Серумни нива на общи и специфични IgE. **Таблица 24**.

	интервал	мин.	макс.	средно	Std.err.м.	Std.dev.
Общи IgE	1147.0	2.0	1149.0	295.5	36.7	290.98
Специфични IgE	108.19	0.0	108.19	28.26	5.02	33.71

Стойностите са представени в kUA/L. (Std.err.м. – средна грешка на средна аритметична, Std.dev – средно стандартно отклонение).

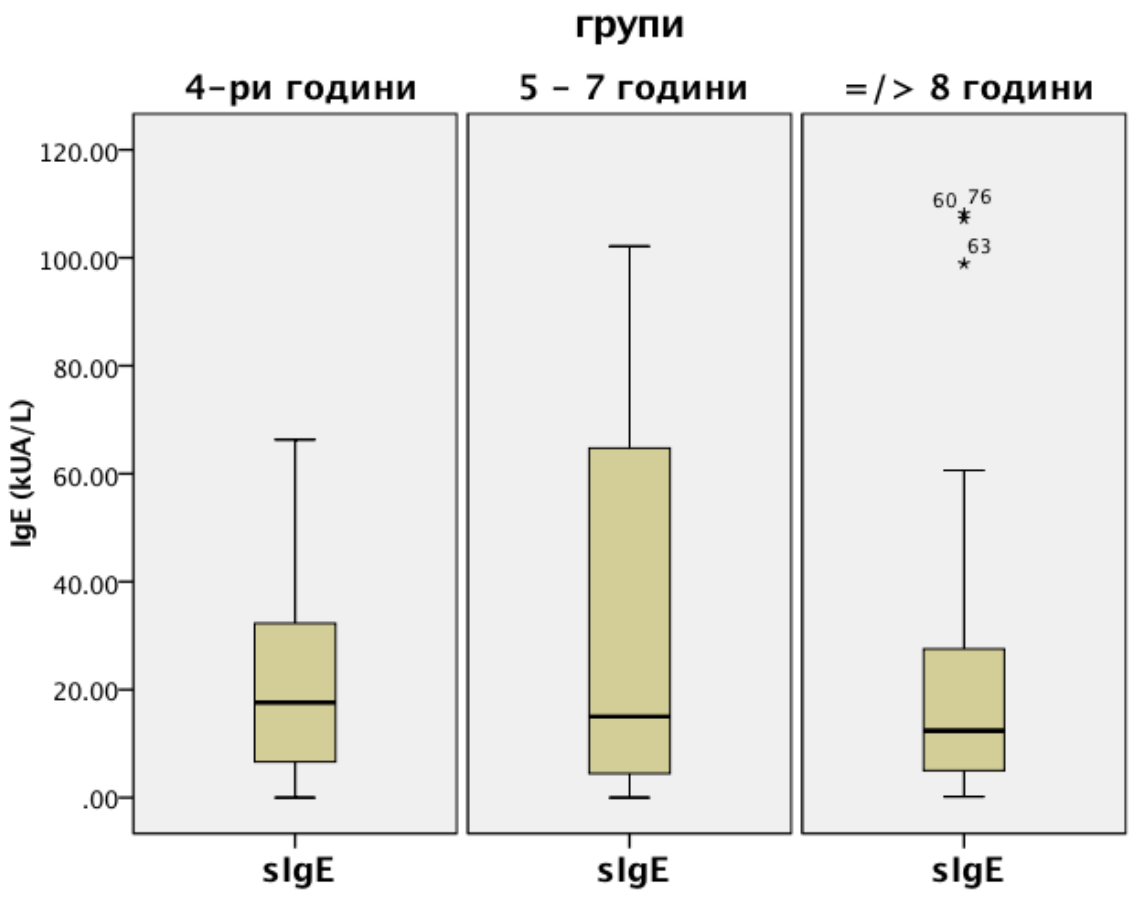
Допълнително вариационният признак “специфични IgE” беше анализиран според обективния фактор “срок от приключване на имунотерапия”. Резултатите от този анализ са представени в **табл. 25 и фиг. 20.** Непараметричният анализ чрез “Chi-square test” потвърди нулевата хипотеза: за липса на статистическо значимо различие между стойностите на sIgE за трите групи пациенти според фактора “срок от приключване на имунотерапия” (p value = 0,48).

Стойности на специфични IgE според срок от приключване на имунотерапия. **Таблица 25.**

Групи	средно	Std.dev.	минимум	максимум	интервал	Std.err.м.
4-ри години	23.11	24.41	0.0	66.30	66.30	9.23
5 - 7 години	33.87	38.06	0.0	102.14	102.14	9.83
=/> 8 години	26.153	33.96	0.16	108.19	108.03	7.09

Chi-Square test = 78.09 --- **p value = 0,48**

Стойностите са представени в kUA/L. (Std.err.м. – средна грешка на средна аритметична, Std.dev – средно стандартно отклонение).



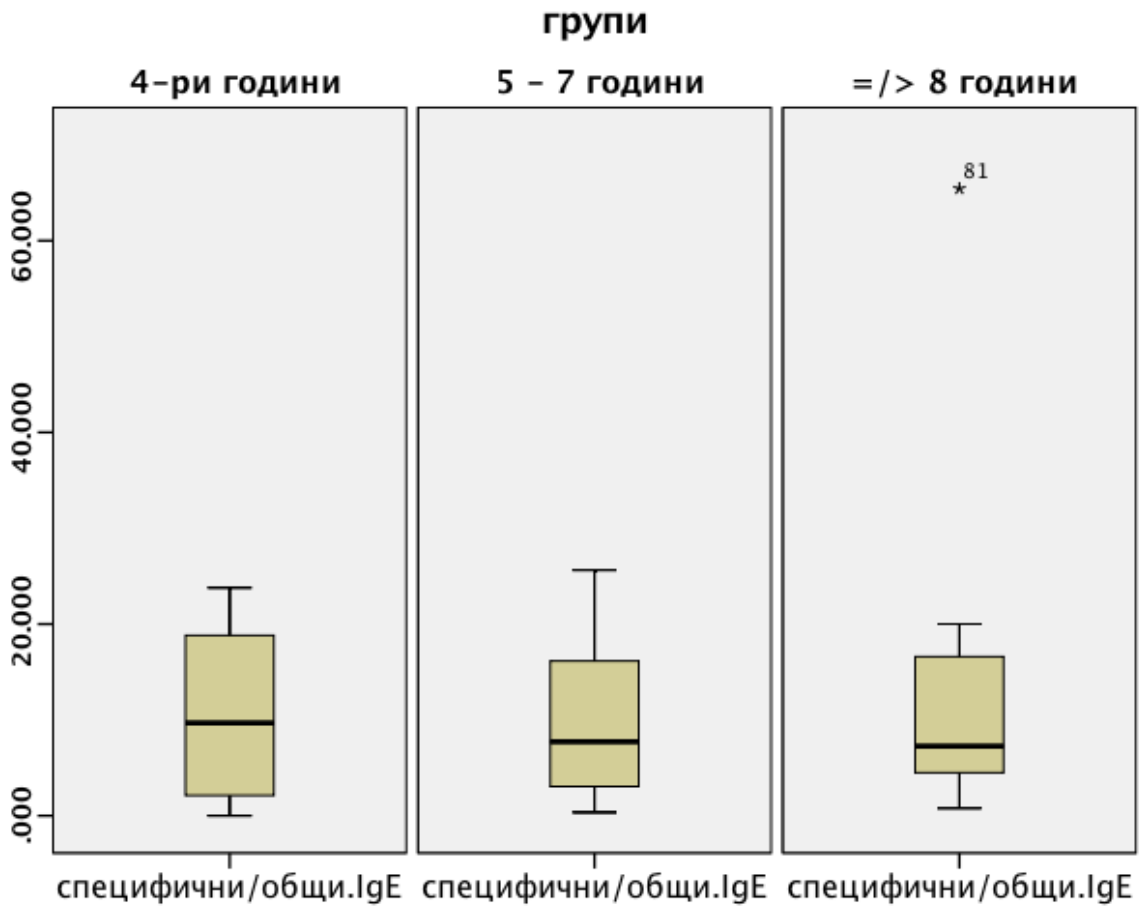
Фигура 20. Специфични IgE според срок от приключване на имунотерапия.

За всеки от пациентите от групата с осъществен имунологичен анализ беше определено и съотношението “sIgE/tIgE”. Обобщените данни по отношение на този показател са представени по-долу в **табл. 25**.

Съотношение **“sIgE / tIgE”**.					**Таблица 25.**
средно	Std.Dev.	Std.err.m.	минимум	максимум	интервал
11.11	11.57	1.81	0.00	65.43	65.43
Std.err.м. – средна грешка на средна аритметична, Std.dev. – средно стандартно отклонение					

Допълнително съотношението “sIgE/tIgE” беше анализирано според обективния фактор “срок от приключване на имунотерапия”. Резултатите от този анализ са представени в **табл. 26 и фиг. 21.** Непараметричният анализ чрез “Chi-square test” потвърди нулевата хипотеза за липса на статистическо значимо различие между стойностите на sIgE за трите групи пациенти по отношение на съотношението sIgE/tIgE според фактора “срок от приключване на имунотерапия” (p value = 0,48).

Съотношение sIgE/tIgE според фактора “срок от приключване на имунотерапия”.						**Таблица 26.**
Групи	средно	Std.dev.	Std.err.m.	минимум	максимум	интервал
4-ри години	10.76	9.81	3.71	0.00	23.79	23.79
5 - 7 години	9.77	8.15	2.04	0.30	25.64	25.29
=/> 8 години	12.42	14.79	3.49	0.79	65.43	64.64
Chi-Square test = 82.00 --- **p value = 0,42** Std.err.м. – средна грешка на средна аритметична, Std.dev. – средно стандартно отклонение						



Фигура 21. Съотношение sIgE/tIgE според фактора "срок от приключване на имунотерапия".

2. ОБСЪЖДАНЕ (АНАЛИЗ) НА ПОЛУЧЕНИ РЕЗУЛТАТИ

Като част от настоящата задача беше събиране на данни за серумните нива на специфични и общи IgE и тяхното съотношение. Провеждането на тези изследвания създаваше условия за последваща клинико-имунологична оценка на дългосрочния ефект от алергенна имунотерапия – главната цел на дисертационния труд.

Алергичният ринит, водеща диагноза при всички пациенти, включени в дисертационния труд, е хронично IgE-медиирано заболяване. Изследването на IgE е възможност за доказване на атопично заболяване,

каквото е алергичният ринит. Повишените серумни нива на специфични IgE се приемат като стандарт за атопия. При наличието на симптоми след контакт със сенсибилизиращия алерген може да се обсъжда и провежда АИТ. Подобен индивидуализиран подход дава основание алергенната имунотерапия да бъде приета като модел на прецизирана медицина за лечение на алергични заболявания, базиран на клиничния и имунологичен профил на всеки отделен пациент [28].

Множество проучвания изследват IgE отговора по време на АИТ [131]. При избора на имунологични показатели за оценка в дисертационния труд бяха взети под внимание данни от медицинската литература за изключителна хетерогенност на отговора на общи IgE към АИТ. Според някои автори в хода на имунотерапия липсва промяна в нивата на общи IgE, според други те се повишават, но има п данни за намаляването им в зависимост от продължителността на проучването и от момента на изследване. Тъй като дисертационният труд няма за цел динамично проследяване на който и да е имунологичен показател, изследването на общи IgE беше извършено еднократно само с цел изчисляване на съотношение със специфични IgE.

Друг имунологичен показател, изследван в тази задача, беше нивото на специфични IgE към микрокърлежи и тревен полен. По литературни данни нивата на специфични IgE нарастват транзиторно в началната фаза на алергенна имунотерапия, като в последствие спадат. Gliech и съавт. установяват, че при пациенти със сенна хрема имунотерапията намалява нивото на специфични IgE по време на поленовия сезон, което може да допринася за дългосрочен толеранс [132]. Според други автори обаче този спад не винаги корелира с клиничния отговор и затова не се счита за основен механизъм, определящ ползата от имунотерапията. Scadding в проучването GRASS доказва, че имунотерапия с продължителност от две години не осигурява дългосрочна клинична полза [133]. Всички пациенти,

включени в дисертационния труд бяха с проведена имунотерапия поне три години, като онези, при които тя е била с тревен полен са оценявани през поленовия сезон - месеците май и юни. Анализът на получените нива на специфични IgE установи липса на статистическо значимо различие между стойностите в трите групи пациенти според фактора "срок от приключване на имунотерапия" (p value = 0,48). В достъпната медицинска литература не бяха открити подобни данни, с които да бъдат сравнени получените резултати. Сходните нива на специфични IgE при пациенти, оценени до 4 години, до 7 и 8 и повече години след приключване на имунотерапия може да се приеме като доказателство за дългосрочен ефект по отношение на този имунологичен показател. Получените резултати дават основание да бъде направен изводът, че минимум три годишен курс алергенна имунотерапия при алергичен ринит осигурява постоянни във времето нива на специфични IgE в серум.

След като бяха получени данни за нивата на специфични и общи IgE, беше изчислено съотношението между тях за всеки един от пациентите, при които беше проведена имунологична оценка. Това съотношение е предложено за предиктивен маркер за клинична полза при започване на алергенна имунотерапия. Lorenco и съавт. оценяват това съотношение при пациенти, провеждащи СКИТ и СЛИТ с микрокърлежи и тревен полен. Клиничният изход е отчетен на четвъртата година посредством визуално–аналогова скала. Авторите приемат съотношение >16,2% като предиктор за успешен изход от имунотерапия с чувствителност 97.2% и специфичност 88.1% [134].

За определяне на предиктивността на това съотношение за дългосрочен ефект на имунотерапията, запланувано в следващата задача, то беше определяно еднократно, в определен период след приключването ѝ. Според фактора „срок от приключване на имунотерапията", както е представено в частта „резултати", не бяха

установени значими различия в съотношението специфични/общи IgE между пациентите от трите групи.

На основата на получените резултати от оценка на na серумни нива на sIgE и съотношението sIgE/tIgE и последващия анализ, може да се направи следния **обобщаващ извод:**

- Три годишен курс алергенна имунотерапия при алергичен ринит осигурява постоянни във времето нива на sIgE в серум и sIgE/tIgE .

III. СЪОТНОШЕНИЕ sIgG4/sIgE

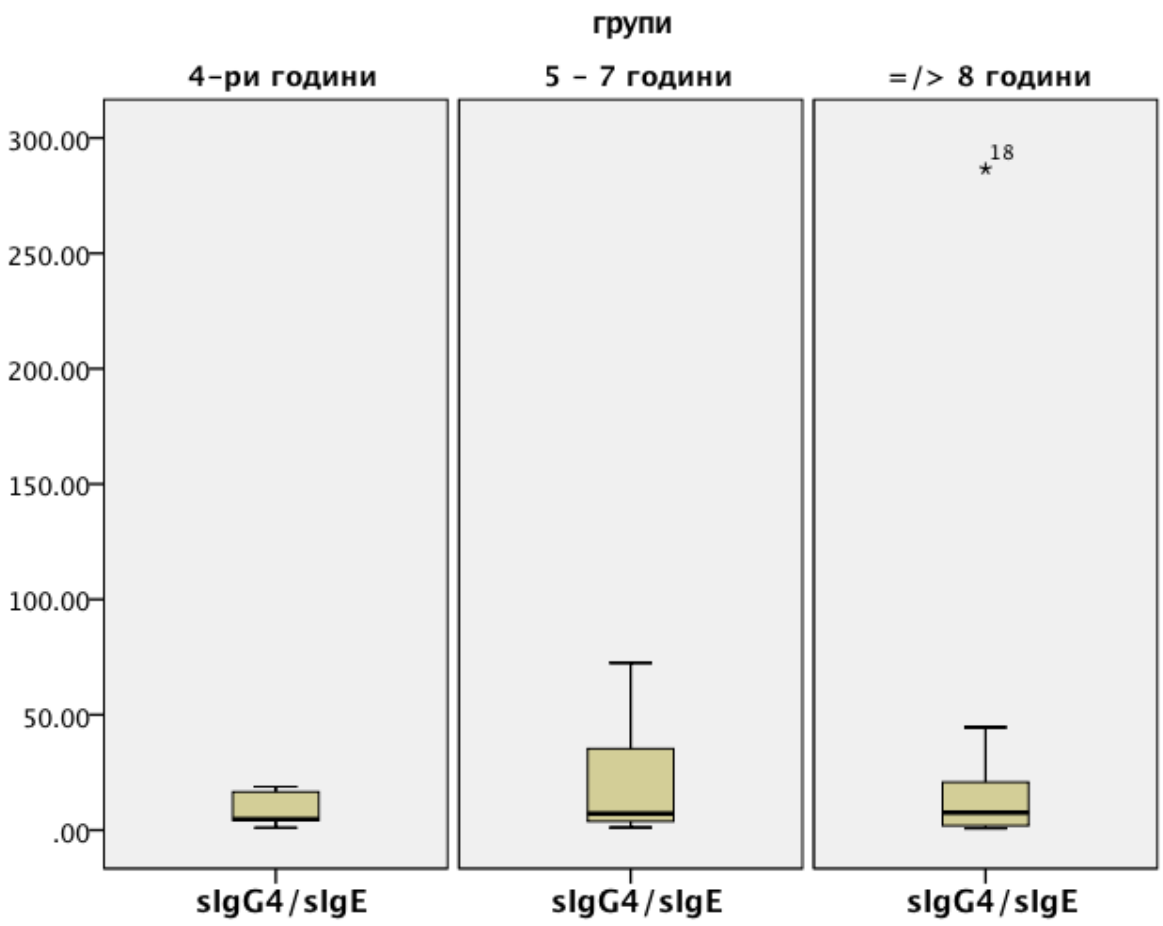
1. РЕЗУЛТАТИ

Друг имунологичен показател с потенциал за оценка спрямо клинични изходи и оценка на ефекта от алергенната имунотерапия беше съотношението между специфични IgG4 и специфични IgE (sIgG4/sIgE). Това съотношение беше определяно за всеки от пациентите, включен в групата с осъществен имунологичен анализ. Обобщените данни по отношение на този показател са представени в **табл. 27**.

Съотношение sIgG4 / sIgE					**Таблица 27.**
средно	Std.Dev.	Std.err.m.	минимум	максимум	интервал
21.78	46.64	7.47	0.75	286.67	285.92
Std.err.м. – средна грешка на средна аритметична, Std.dev. – средно стандартно отклонение					

Съотношението sIgG4/sIgE беше анализирано според два обективни фактора: срок от приключване на имунотерапия и вид на имунотерапия (**табл. 28, табл. 29; фиг. 22, фиг. 23**).

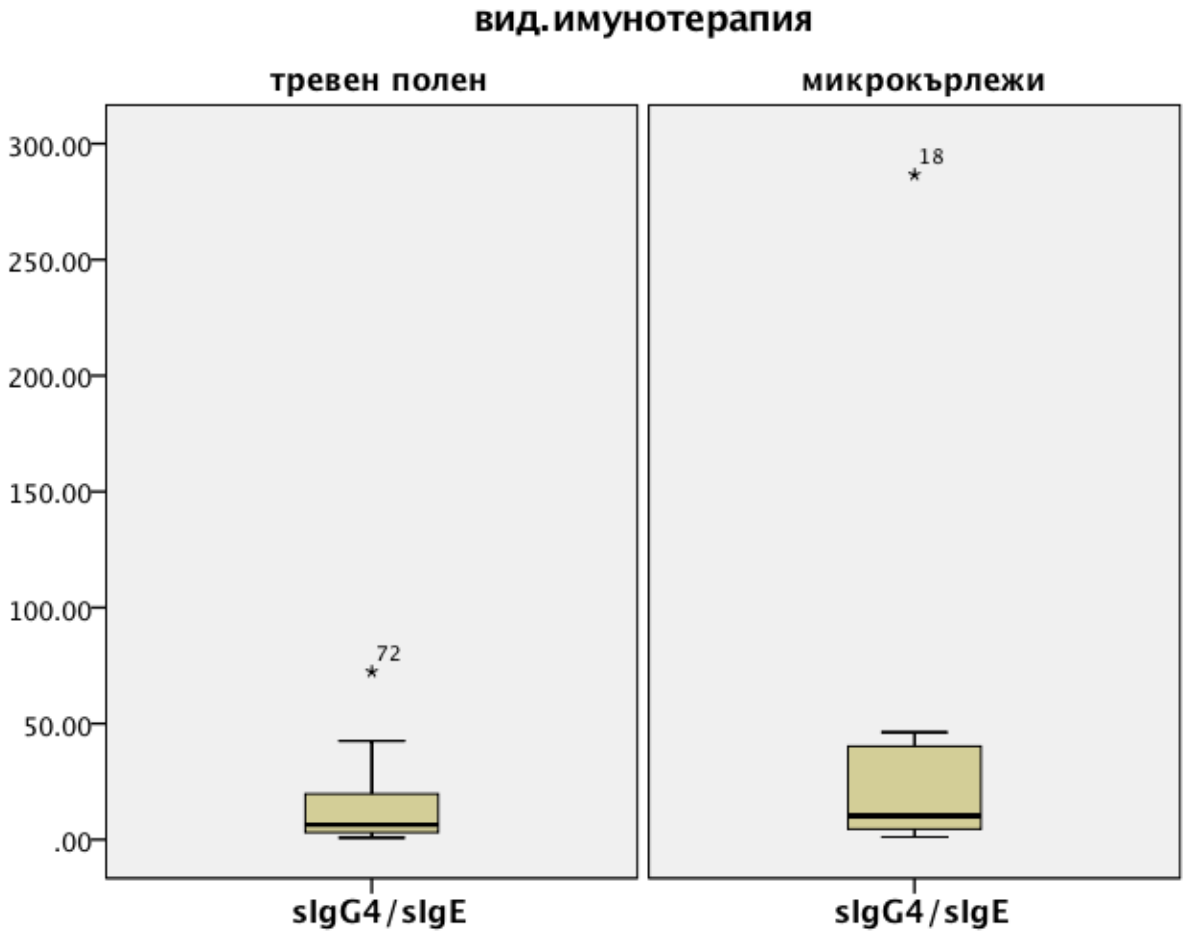
Съотношение sIgG4/sIgE според фактора "срок от приключване на имунотерапия".						**Таблица 28.**
Групи	средно	Std.dev.	Std.err.m.	минимум	максимум	интервал
4-ри години	9.06	8.04	3.59	1.06	18.78	17.72
5 - 7 години	19.27	21.29	5.69	1.12	72.44	71.32
=/> 8 години	26.70	26.88	14.06	0.75	286.67	285.92
Chi-Square test = 72.01 --- **p value = 0,52** Std.err.м. – средна грешка на средна аритметична, Std.dev. – средно стандартно отклонение						



Фигура 22. Съотношение sIgG4/sIgE според фактора "срок от приключване на имунотерапия".

Спрямо фактора "срок от приключване на имунотерапия" беше установено, че няма статистическо значимо различие за съотношението sIgG4/sIgE между трите групи пациенти (p value = 0,52). Няма статистическо значимо различие в съотношението sIgG4/sIgE и според фактора "вид на имунотерапия".

Съотношение sIgG4/sIgE според вид на имунотерапията						**Таблица 29.**
вид имунотерапия	средно	Std.Dev.	Std.err.m.	минимум	максимум	интервал
тревен полен	14.01	17.09	3.29	0.75	72.44	71.69
микрокърлежи	39.25	79.65	22.99	1.06	286.67	285.61
Mann-Whitney test = 1.04 ------ **p value = 0,32**						
Std.err.м. – средна грешка на средна аритметична, Std.dev. – средно стандартно отклонение.						



Фигура 23. Съотношение sIgG4/sIgE според фактора “вид имунотерапия”.

2. ОБСЪЖДАНЕ (АНАЛИЗ) НА ПОЛУЧЕНИ РЕЗУЛТАТИ

Хуморалният имунен отговор, оценен посредством sIgE и sIgG4 има потенциала на обещаващ биомаркер за оценка на АИТ. Поради значението на sIgG4 и sIgE за АИТ, тяхното съотношение би могло да бъде интересен кандидат-биомаркер за оценка ефективността на терапията. Въпреки това обаче, данните за приложимостта им от практическа гледна точка, особено като предиктор за дългосрочна клинична полза, са противоречиви.

От направения обзор в достъпната медицинска литература бяха намерени проучвания с изследване както на съотношението sIgE/sIgG4, така и на реципрочното съотношение sIgG4/sIgE [135]. Намерените публикации са насочени основно към проследяване на динамиката на съотношението в хода на имунотерапията. Обръща се внимание на нуждата от по–задълбочена оценка на клиничната полза. Именно такава оценка беше планувана да се извърши в последната- четвърта задача на дисертационния труд. Това определи нуждата в тази част на третата задача да се определи съотношението на двата имуноглобулина за всеки от пациентите, включен в групата с осъществен имунологичен анализ.

Николов и съавт. установяват намаляване на съотношението sIgE/sIgG4 спрямо началните нива след три годишен курс на СКИТ с тревен полен и микрокърлежи. Авторите правят заключението, че съотношението може да бъде използвано като съществен биомаркер за предсказване на имунологична ефикасност на СКИТ [127]. Налични са и други публикации, чиито автори установяват намалено съотношение на sIgE/sIgG4 след субкутанна имунотерапия. В някои от тях то се асоциира с намалена късна кожна реакция, но други не потвърждават такава връзка. Получените резултати показаха, че sIgG4 в серум, както и sIgE/tIgE и sIgG4/sIgE не могат да бъдат използвани като предиктори за дългосрочен контрол на алергичен ринит след проведена имунотерапия. Същевременно Varona и съавт. установяват вариабилност в

съотношението sIgE/sIgG4 след три годишна сублингвална имунотерапия с тревен полен с повищаване, намаляване или без промяна при пациентите [136].

При извършване на литературния обзор бяха намерени и публикации, в които авторите изследват реципрочното съотношение, а именно sIgG4/sIgE. Такова е проучването на Rendan и съавт., които при дългосрочно проследяване установяват повишаване на съотношението sIgG4/sIgE, което е главно за сметка на повишаване нивата на sIgG4 [137]. Shamji и съавт. изследват 10 пациента, провеждащи СКИТ с тревен полен, 13 със сезонен алергичен ринит без имунотерапия и 12 неатопични контроли по време на поленовия сезон и извън него. Извършено е изследване на серумни и назални нива на sIgE и sIgG4 към компоненти на Phleum pretense (Phl p) чрез Immuno Solid Allergen Chip (ISAC) с оценка на съотношение sIgG4/sIgE [139]. Авторите установяват повишени назални и серумни нива на sIgE към Phl p1 и Phl p5 при пациентите със сезонен алергичен ринит в сравнение с неатопични контроли и с пациенти, провеждащи СКИТ ($p < 0.001$). Доказано е и повишаване на нива на IgG4 в назална мукоза през поленовия сезон при провеждащите имунотерапия в сравнение с групата със сезонен алергичен ринит, спрямо нивата, извън поленовия сезон ($p < 0.001$). Авторите доказват по-високи нива на Phl p 1 и Phl p 5 sIgG4 както в назален секрет, така и в серум и по-високо съотношение Phl p 5 sIgG4/sIgE назално.

В дисертационния труд беше взето решение за изчисляване на съотношението sIgG4/sIgE, което в последствие да бъде анализирано според определени клинични изходи. Избраният от нас дизайн на проучването, позволяващо анализ на sIgG4/sIgE спрямо някои клинични показатели, стои най-близко до този, използван от Shamji и съавт. Въпреки това нашите резултати не могат да бъдат сравнени директно с цитираните. Това е така, защото в дисертационния труд нивата на sIgE и sIgG4 са

измерени посредством ImmunoCAP система, а не чрез молекулярна диагностика - ISAC, каквато използват цитираните автори. ISAC е диагностичен метод с много висока себестойност, с ограничено и трудно използване в реалната практика. Самите автори посочват като ограничение на своето проучване това, че анализите чрез ISAC осигуряват полуколичествено измерване на IgG4 в ISAC единици за разлика от общите количествени нива, които могат да бъдат измерени с помощта на ImmunoCAP, както е направено в дисертационния труд.

Нашите собствени данни установиха липса на статистически значимо различие в съотношението sIgG4/sIgE според срока от приключване на имунотерапия. Не беше установена разлика в изследваното съотношение при пациенти, провеждали АИТ както с микрокърлежи, така и с тревен полен. Получените в дисертационния труд резултати дават възможност за извършване на някои последващи корелационни анализи между имунологични и клинични показатели, което стой в основата на следващата, последна задача на настоящия дисертационен труд.

ИЗВОДИ:

На основата на получените резултати от съотношението в серумните нива на sIgG4 и sIgE (sIgG4/sIgE) може да се направят следните обобщаващи извода, а именно:

1. Получените резултати дават основание да бъде направен изводът, че минимум тригодишен курс алергенна имунотерапия с тревен полен и микрокърлежи при алергичен ринит осигурява постоянни във времето нива на sIgE, sIgG4 и sIgG4/IgE в серум.

2. Самостоятелното изследване на тези най – достъпни за количествена оценка имунологични показатели след проведена АИТ не е достатъчно за формулиране на заключения относно дългосрочна полза от терапията.

ЗАДАЧА IV

УСТАНОВЯВАНЕ И АНАЛИЗИРАНЕ НА ВРЪЗКА МЕЖДУ ИМУНОЛОГИЧНИ БИОМАРКЕРИ И КЛИНИЧНИ ИЗХОДИ ОТ АЛЕРГЕННА ИМУНОТРАПИЯ

I. ОЦЕНКА НА ИМУНОЛОГИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ КАТО ПРЕДИКТОРИ ЗА ДЪЛГОСРОЧЕН КОНТРОЛ НА АЛЕРГИЧЕН РИНИТ СЛЕД АЛЕРГЕННА ИМУНОТЕРАПИЯ - РЕЗУЛТАТИ.

На основата на собствените резултати, беше извършен анализ относно възможността за използване на имунологични показатели като предиктори за дългосрочен контрол на алергичен ринит след проведена имунотерапия.

Чрез логистична регресия (ROC – анализ) бяха анализирани три имунологични показателя: sIgG4, съотношение sIgG4/sIgE, както и съотношение sIgE/tIgE. Беше използвана оценката за контрол, направена посредством RCAT, резултатите от който са представени във втора задача.

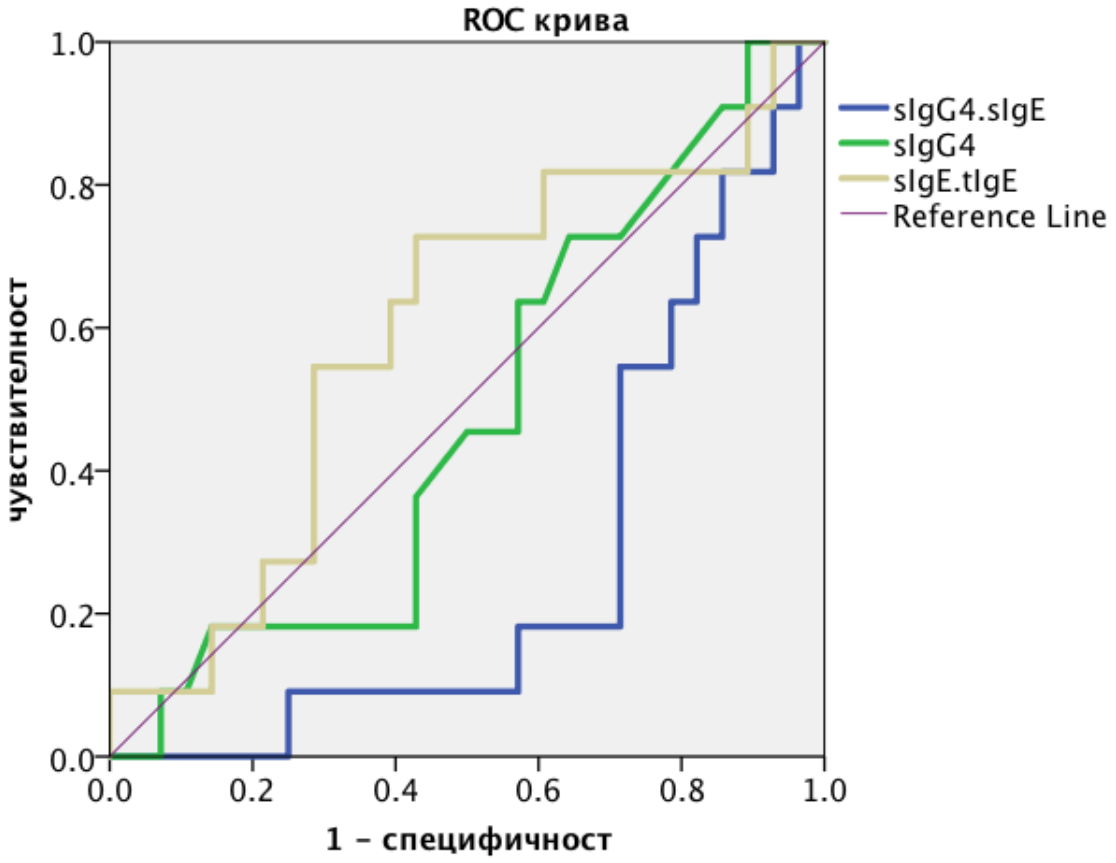
На основата на чувствителност и специфичност за всеки от имунологичните показатели е представена съответната ROC-крива - диаграма, илюстрираща истинската положителна честота (чувствителност), срещу фалшиво положителна честота (1- специфичност) / (**таблица 30, фигура 24)**.

ROC–анализ на имунологични показатели като предиктори за контрол на алергичен ринит **Таблица 30.**

показател	AUC	Std. Err.	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
sIgG4/sIgE	0.269	0.084	0.106	0.433
sIgG4	0.477	0.099	0.283	0.671
sIgE/tIgE	0.594	0.103	0.393	0.796

AUC (Area Under the Curve) = площ под кривата

Получените стойности за площта под кривата (AUC) за sIgG4 и за sIgG4/sIgE са по-малки от 0.5, което означава, че тези два имунологични показателя не могат да бъдат използвани като предиктори за контрол на АИТ **(табл. 30; фиг. 24).** Макар че стойността на площта под ROC-кривата за показателя sIgE/tIgE е по-висока (0.594), тя не е сигнификантно различна от AUC=0.5. Следователно и този имунологичен показател не можем да използваме като надежден класификатор за предсказване контрола на ринита след имунотерапия.



Фигура 24. ROC-криви за определяне прагови стойности на имунологични показатели като предиктори за контрол на ринит.

II. КОРЕЛАЦИЯ МЕЖДУ ИМУНОЛОГИЧНИ И КЛИНИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ ЗА ИЗХОД ОТ АЛЕРГЕНА ИМУНОТЕРАПИЯ - РЕЗУЛТАТИ

В тази втора част на настоящата четвърта задача беше взето решение да се определи и анализира силата и посоката на линеарната връзка между sIgG4 в серум и sIgG4/sIgE и докладваните от пациента клинични изходи, анализирани във втора задача на дисертационния труд:

- комбиниран симптомен и медикаментозен скор (КСМС)
- тежест на ринит по визуално-аналогова скала (ВАС)
- контрол на ринит, оценен чрез въпросник RCAT
- качество на живот, оценено според въпросника RQLQ.
- удовлетвореност, оценена чрез ESPIA

Това беше постигнато чрез извършване на корелационен анализ при изчисляване на коефициента на корелация на Pearson.

Корелационен анализ между специфични IgG4 и клинични изходи **Таблица 31.**

корелация - показатели	**Pearson Correlation**	
	r	**p value**
sIgG4 / ESPIA	(+) 0.039	0.723
sIgG4 / КСМС	(-) 0.034	0.723
sIgG4 / RCAT	(-) 0.108	0.331
sIgG4 / ВАС	(+) 0.060	0.591
sIgG4 / RQLQ	(+) 0.010	0.932

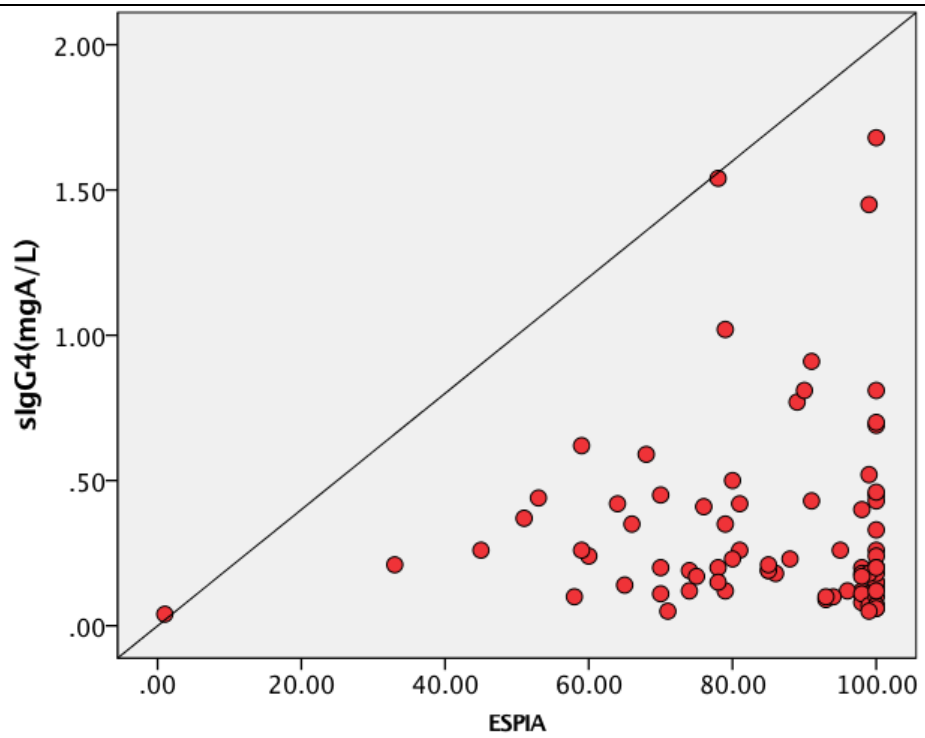
sIgG4 = специфичен IgG4; ESPIA = въпросник удовлетвореност; КСМС = комбиниран симптомен и медикаментозен скор; RCAT = тест за оценка на контрол на ринит; ВАС = визуално-аналогова скала; RQLQ = въпросник за качество на живот; r = коефициент на корелация; p value = уровен на значимост.

Корелационен анализ между sIgG4/sIgE и клинични показатели. **Таблица 32.**

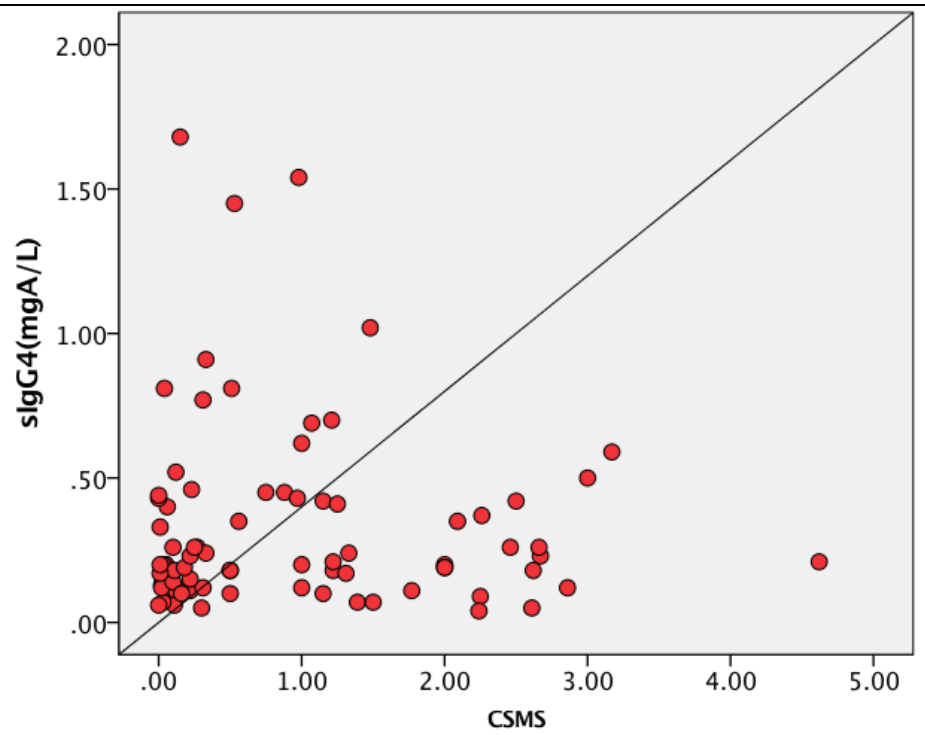
корелация - показатели	**Pearson Correlation**	
	r	**p value**
sIgG4/sIgE / ESPIA	(+) 0.118	0.476
sIgG4/sIgE / КСМС	(-) 0.214	0.191
sIgG4/sIgE / RCAT	(+) 0.252	0.121
sIgG4/sIgE / BAC	(-) 0.207	0.205
sIgG4/sIgE / RQLQ	(-) 0.220	0.178

ESPIA=въпросник удовлетвореност; КСМС=симптомен и медикаментозен скор; RCAT=въпросник контрол на ринит; BAC=визуално-аналогова скала; RQLQ=въпросник за качество на живот; r=коефициент на корелация; p value=уровен на значимост.

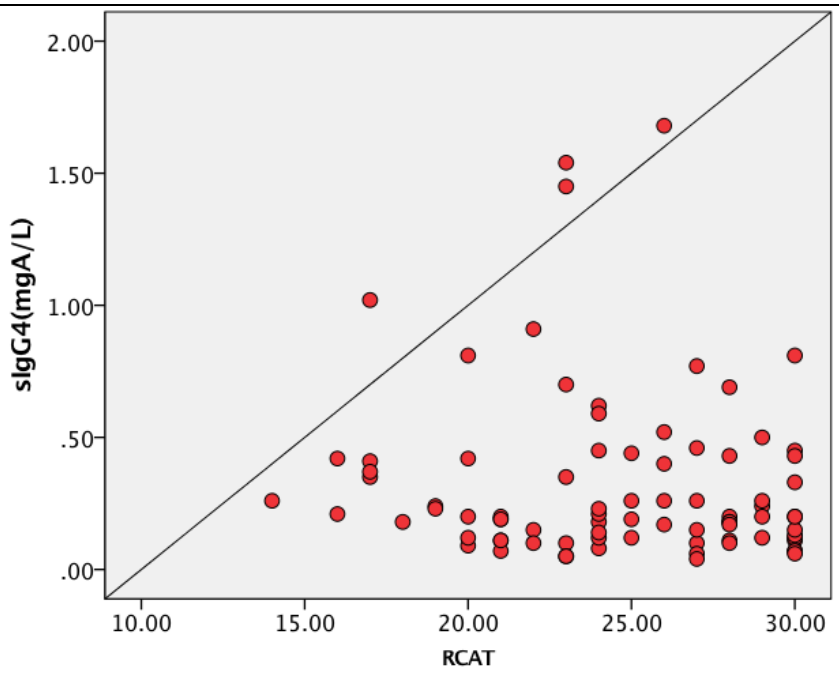
Установено беше, че няма сигнификантна корелационна зависимост между sIgG4 и sIgG4/sIgE и който и да е от петте клинични показателя. При всеки от петте анализа корелационната връзка беше слаба, съответно обратна при показателите “комбиниран симптомен и медикаментозен скор” и “контрол на ринит” и права при останалите три показателя. Резултатите от тези анализи са представени в табл. 31 и 32 и демонстрирани чрез фигури 25 -34.



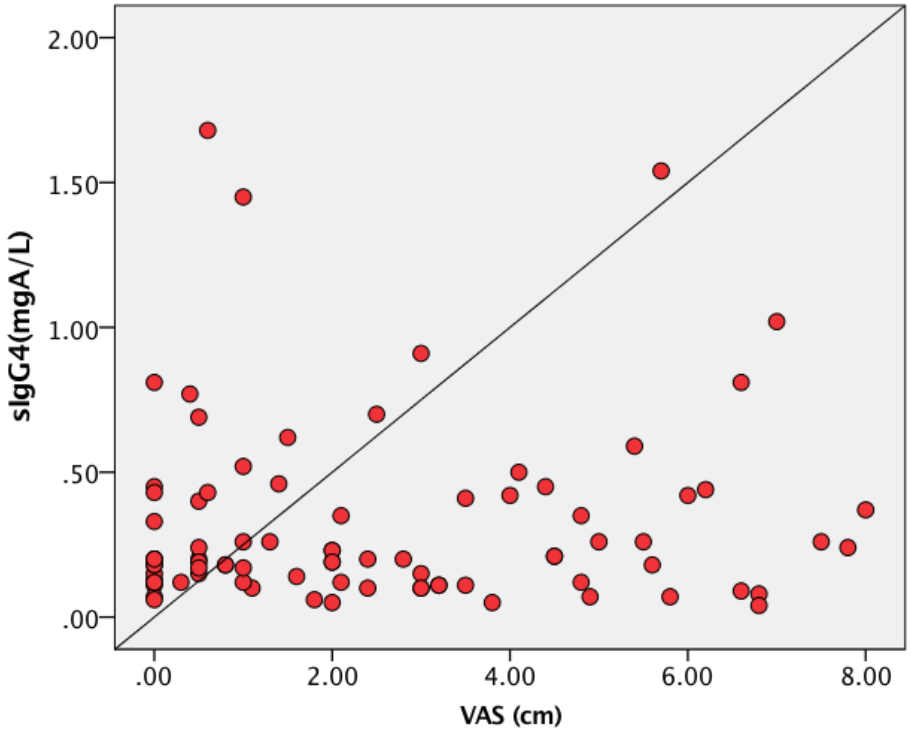
Фигура 25. Корелационен анализ IgG4/ESPIA



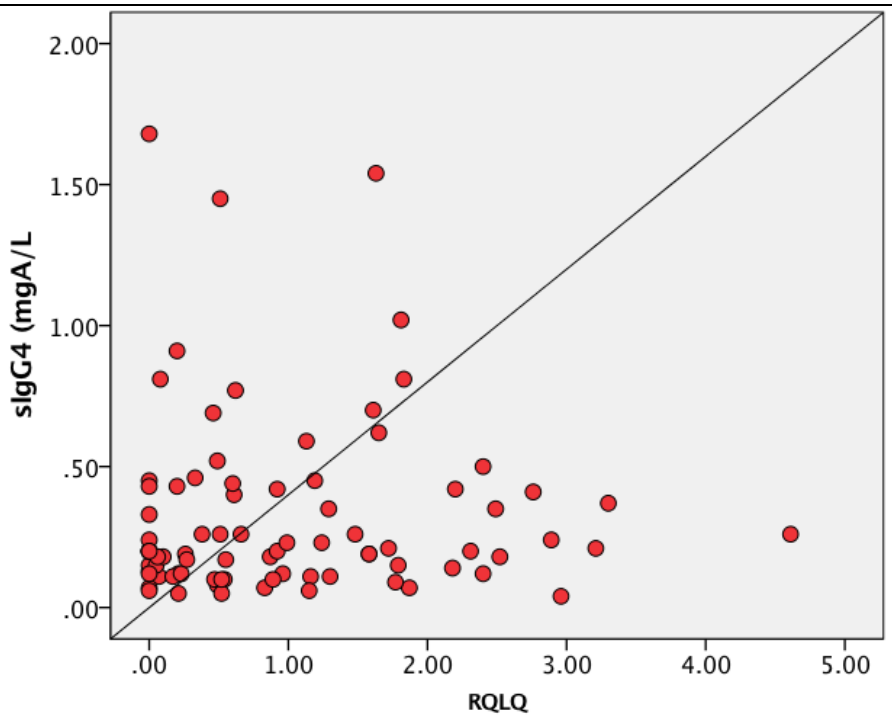
Фигура 26. Корелационен анализ IgG4/КСМС



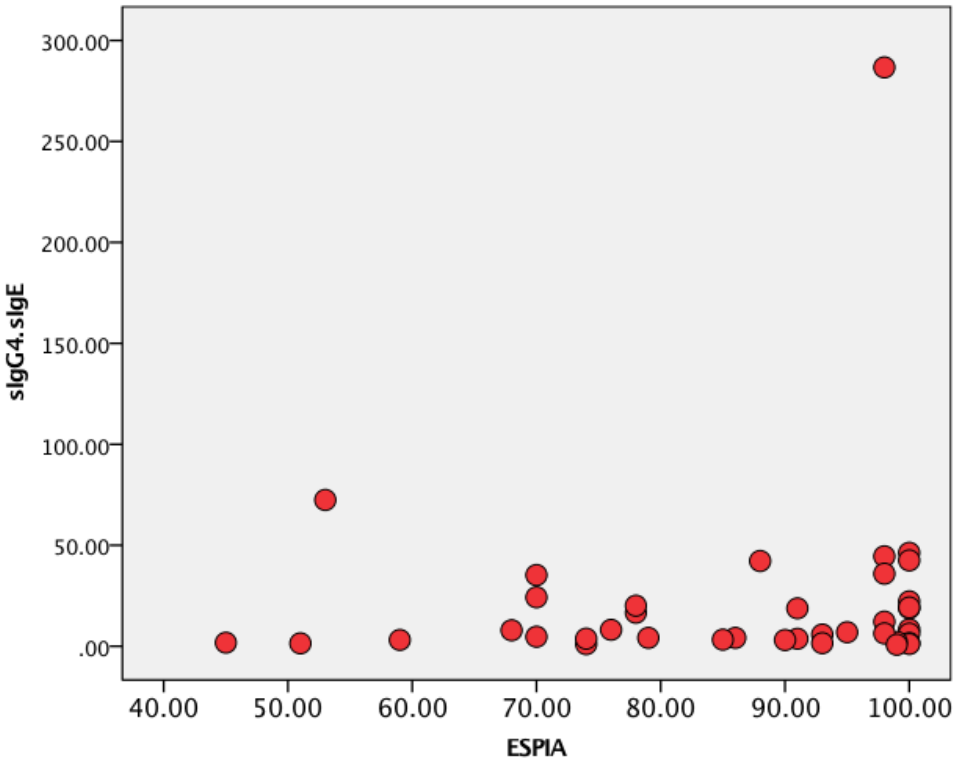
Фигура 27. Корелационен анализ IgG4 / RCAT.



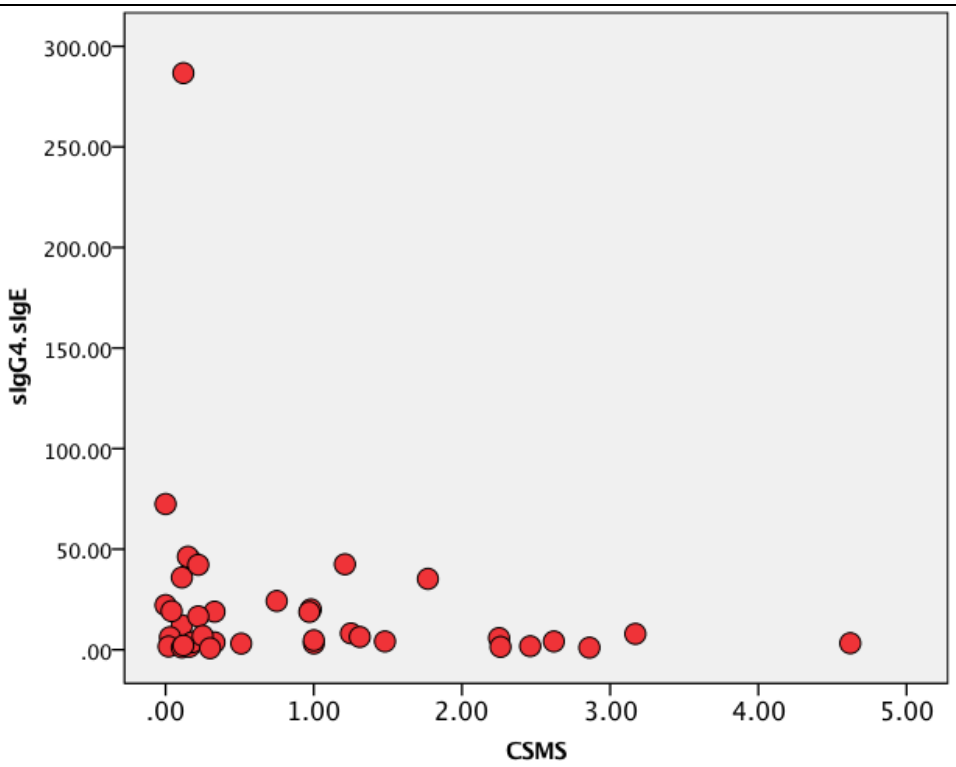
Фигура 28. Корелационен анализ IgG4 / BAC.



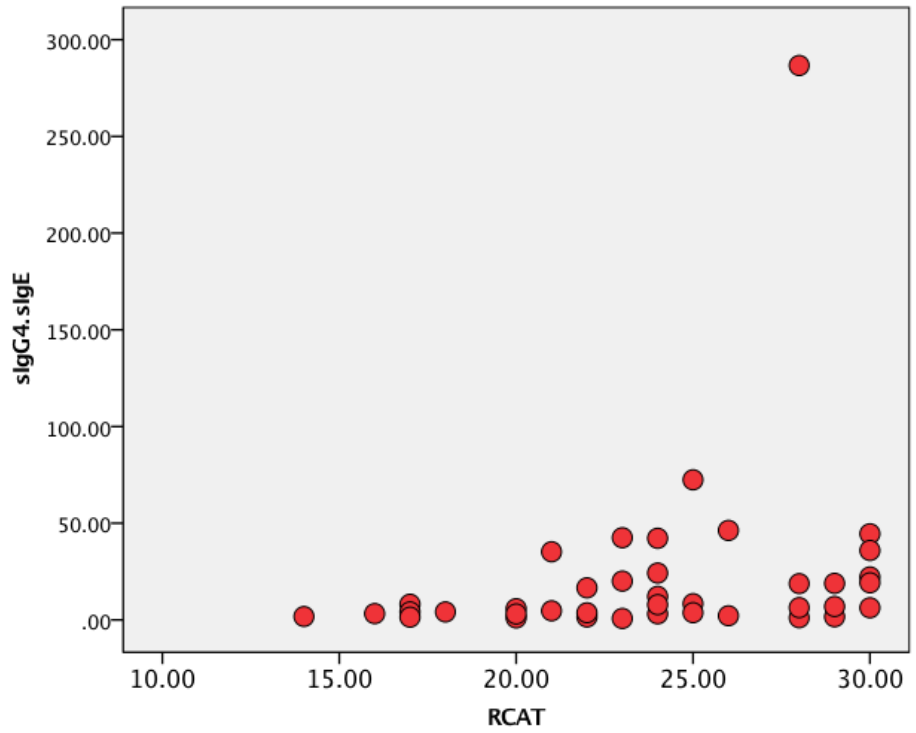
Фигура 29. Корелационен анализ IgG4 / RQLQ.



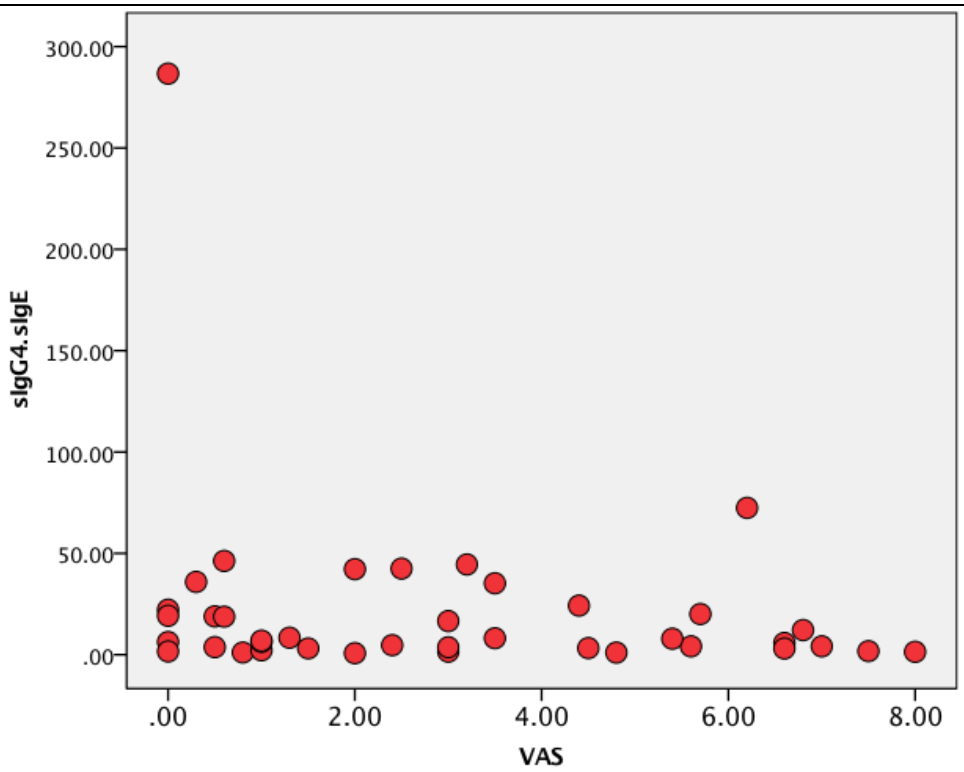
Фигура 30. Корелационен анализ sIgG4/sIgE / ESPIA.



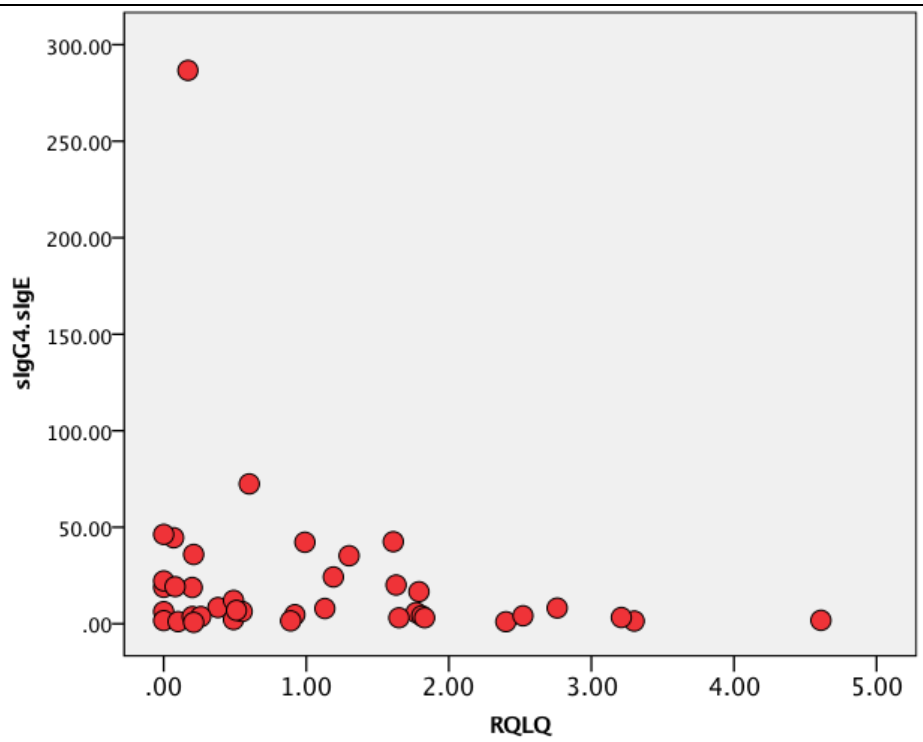
Фигура 31. Корелационен анализ sIgG4/sIgE / КСМС.



Фигура 32. Корелационен анализ sIgG4/sIgE / RCAT.



Фигура 33. Корелационен анализ sIgG4/sIgE / BAC.



Фигура 34. Корелационен анализ sIgG4/sIgE / RQLQ.

III. АНАЛИЗ (ОБСЪЖДАНЕ) НА ВРЪЗКА МЕЖДУ ИМУНОЛОГИЧНИ БИОМАРКЕРИ И КЛИНИЧНИ ИЗХОДИ ОТ АЛЕРГЕННА ИМУНОТРАПИЯ:

От направения литературен обзор беше установен нарастващ научен интерес в търсене на биомаркери за ефикасност на АИТ. Въпреки, че са предложени няколко, до момента няма биомаркер, приет за мониториране на дългосрочна клинична полза от АИТ на индивидуално ниво, който да може да бъде използван в ежедневната практика. Научните данни относно връзката между биомаркери и клиничен отговор са ограничени. Изтъква се нуждата от проучвания в тази насока, вкл. с данни тип реален живот. Анализ на точно такъв тип данни беше извършен в настоящата задача от дисертационния труд. Тя имаше за цел да установи зависимостта между някои от изследваните в трета задача имунологични фактори и показатели за оценка на дългосрочна клинична полза от АИТ.

При анализа на получените клинични резултати в дисертационния труд беше установено, че проведената алергенна имунотерапия се асоциира с дългосрочен добър контрол на симптоми и качество на живот. Данни за такава полза сме докладвали в предходни проучвания, проведени при приключване на АИТ [95, 103]. Чрез анализа на клиничните резултати, извършен във втора задача беше доказано, че значителна част от пациентите, провели поне 3 годишен курс СКИТ или СЛИТ постигат дългосрочен контрол на симптоми, качество на живот и нисък симптомен и медикаментозен скор. Въпреки това обаче при част от пациентите установихме, че не се достига или запазва такава полза. В този смисъл намирането на достъпен в ежедневна клинична практика биомаркер, който може да предскаже кои ще са пациенти с дългосрочна полза след като са приключели АИТ би било изключително полезно. Затова в дисертационния труд бяха положени усилия да се провери доколко някои

от обсъжданите в медицинската литература биомаркери корелират с дългосрочна полза, нещо за което данните до момента са изключително недостатъчни или липсващи, особено по отношение по-дълъг период след приключена АИТ, какъвто сме изследвали.

При реализирането на тази задача беше анализирана връзката на следните параметри: sIgG4, sIgE/tIgE и sIgG4/sIgE с контрола на алергичния ринит. Беше използвана кривата на работната характеристика на приемника (ROC) за определяне на специфичност и чувствителност. Предимство при използване на тези показатели като предиктори за дългосрочна клинична полза, което би облекчило тяхното прилагане в практиката е фактът, че изследването както на серумни sIgG4, така и на sIgE и tIgE е достъпно. Освен това за нивото на sIgE е известно, че съставлява около 25% от tIgE, което позволява то да бъде изчислено [139].

В достъпната медицинска литература не намерихме проучване, което да изследва този проблем и с което да може да сравним собствените резултати. Lorenzo и съавт. предлагат изчисляване на съотношението sIgE/tIgE в серум преди имунотерапия като предиктор за клиничен отговор [134]. Liu и съавт установяват корелация между съотношението sIgE/tIgE в серум с краткосрочна клинична полза [140]. Налице са обаче и проучвания, които не потвърждават предиктивността на това съотношение, защото не установяват корелация с клинична полза. Имунологичните показатели в дисертационния труд обаче са изследвани и целят оценка след вече проведена АИТ, отчитайки известния факт, че успешната имунотерапия е свързана с повишаване на серумни нива на sIgG4 и намаляване на sIgE [141-146]. Именно тези два биомаркера и тяхното съотношение бяха включвни в дисертационния труд. Въпреки промените в хода на имунотерапия обаче, изводите в достъпната медицинска литература относно клиничната полза от тези промени са противоречиви. Нашите собствени резултати не установиха корелация между клиничните изходи и

серумните нива на sIgG4. Търсенето на имунологични предиктори за дългосрочна клинична полза беше причина да анализираме съотношението sIgG4/sIgE, което според някои автори може да служи за мониториране на прогреса и изхода от АИТ без да са налице към момента достатъчни данни [147]. Получените резултати в дисертационния труд показаха, че sIgG4 в серум след проведена АИТ, както и sIgE/tIgE и sIgG4/sIgE не могат да бъдат използвани като предиктори за дългосрочен контрол на алергичен ринит.

Бяха проведени и серия от корелационни анализи между серумни нива на sIgG4 и sIgG4/sIgE и докладвани от пациента клинични изходи. Според препоръките на EAACI sIgG4 е един от биомаркерите, предложен за оценка на придържане към АИТ. Както посочва Shamji, предимство в неговото използване е, че се доказва лесно в серум и данните за повишаване на нивото му в хода на СКИТ и СЛИТ са категорични [67]. Експерти обаче изтъкват, че за този биомаркер липсват достатъчно данни за връзката между количествените му серумни нива и клиничната ефикасност, а наличните данни са противоречиви [149-151]. Именно поради липсата на достатъчно данни, в настоящия дисертационен труд беше поставена задачата да се проучи връзката между серумните нива на sIgG4 и някои показатели за клинична ефективност на алергенна имунотерапия.

Основен подход за оценка на клинична полза, използван в достъпната медицинска литература, е посредством симптомен и медикаментозен скор. Gomez и съавт. доказват, че след 1 година СКИТ с микрокърлежи 82% от лекуваните имат намаляване на симптоми (респондери) и повишаване на нивата на sIgG4 [128]. Gonzalez също установява намаляване на симптомен и медикаментозен скор след 12 месеца при същата имунотерапия и имунологични промени, вкл. сигнификантно повишаване на sIgG4 [152]. В публикувано обаче наскоро

проучване Bordas- Le Floch и съавт. също изследват корелацията между sIgG4 и комбиниран симптомен и медикаментозен скор [153]. Това проучване при пациенти, провели едногодишно лечение със СЛИТ-микрокърлежи установява липса на сигнификантна корелация между двата изследвани признака. В този смисъл цитираното по-горе проучване потвърждава слабата корелационна зависимост между серумни нива на sIgG4 и комбиниран симптомен и медикаментозен скор, установена и в дисертационния труд, но при пациенти с минимум 3-годишен курс на имунотерапия. В същото проучване авторите отчитат по–висока концентрация на sIgG2 към микрокърлежи при респондери на АИТ и приемат, че този изотип има водеща роля за имунния толеранс [154-159]. До този момент обаче IgG2 не е обсъждан като биомаркер за АИТ при риноконюнктивит от работната група на EAACI и затова не беше включен в имунологичните изследвания, проведени в дисертационния труд.

Feng и съавт. изследват връзката между клиничен изход, оценен посредством комбиниран симптомен и медикаментозен скор и sIgG4 по време на три-годишна СКИТ с D. pteronyssinus в рандомизирано клинично проучване [160]. Авторите установяват сигнификантно подобрен симптомен и медикаментозен скор спрямо плацебо-групата и сигнификантната му корелация с IgE-FAB и sIgG4, но само в поддържащата фаза (след 16-та седмица), а не и във фазата на изграждане. Авторите правят извода, че нивото на sIgG4 и IgE-FAB се асоциират с клиничната ефикасност в поддържащата фаза на СКИТ. Резултатите от проучването на Feng могат да бъдат използвани за сравнение със собствените ни резултати, защото клиничната оценка е извършена посредством един от изходите, които са използвани и в дисертационния труд, а именно комбиниран симптомен и медикаментозен скор. Отчитаме обаче и факта, че в цитираното проучване анализът е извършен в края на три годишен курс на имунотерапия, а в дисертационния труд това е

направено след определен период от приключване на лечение с такава продължителност. Резултатите в дисертационния труд не съвпадат с тези, от цитираното проучване по отношение на корелацията между нивото на sIgG4 и клинични изходи, включително комбиниран симптомен и медикаментозен скор. Както беше посочено в резултатите от предходната задача по отношение нивата на sIgG4, те се оказват без значима разлика в различните групи, обособени според срока от приключване на АИТ. В цитираното проучване на Feng имунологичната и клинична оценка са извършени до третата година от имунотерапия - период, за който е известно, че серумните нива на sIgG4 нарастват и в рамките на една година след спиране на АИТ намаляват с 80% -90% [161-165]. В тази връзка, както и от получените резултати в дисетационния труд, имаме основание да направим извода, че за оценка на дългосрочната клинична полза от АИТ, каквато е демонстрирана в предходната задача на дисертационния труд не може да бъде използвано изследването на серумните нива на sIgG4.

За разлика от всички намерени проучвания в достъпната медицинска литература, ние изследвахме връзката между sIgG4 и дългосрочната клинична полза не само посредством комбиниран симптомен и медикаментозен скор, който е водещ клиничен маркер за оценка на АИТ според EAACI, но и чрез анализ на други клинични изходи като контрол, качество на живот, визуално–аналогова скала за тежест и удовлетвореност. В нито един от извършените анализи ние не установихме сигнификантна корелация между серумните нива на sIgG4 и отделните клинични изходи. Такава корелация не беше установена и по отношение на съотношението sIgG4/sIgE.

Shamji и съавт. оценяват връзката между съотношението sIgG4/sIgE и клиничен отговор по време на СКИТ с тревен полен, измерен на базата на симптомен скор и визуално-аналогова скала [138]. Авторите установяват умерена корелация с назални симптоми (r - 0.49, p 0.028), но

не и с визуално – аналогова скала (r – 0.13, p 0.56). Същите клинични изходи, оценени след определен период от приключване от АИТ са част от онези, изследвани и в дисертационния труд. Нашите резултати обаче не потвърждават сигнификантна корелационната зависимост с който и да е от изследваните клинични изхода, включително назални симптоми. Обяснение за това несъвпадение може да бъде фактът, че оценката в цитираното проучване, с което сравняваме, е проведена в хода на имунотерапия, а тази, в дисертационния труд, едва след определен период от приключването ů. В този смисъл, собственото ни проучване е доказателство за това, че както количественото изследване на sIgG4 в серум, така и съотношението sIgG4/sIgE след проведена АИТ не могат да бъдат приети като надеждни биомаркери за дългосрочна клинична полза.

Може да изкажем предположение в подкрепа на резултати и изводи, докладвани от James и съавт, че имунотерапията индуцира sIgG антитела със значим инхибиторен потенциал спрямо IgE, оценен посредством IgE-FAB, за който те доказват, че персистира след спиране на лечението [158].

На базата на получените в дисертационния труд резултати може да предположим, че не количеството, а вероятно блокиращият потенциал на sIgG4 би могъл да бъде отговорен за дългосрочната клинична полза. Този блокиращ потенциал може да бъде оценен чрез IgE-FAB [166-173]. Към момента обаче това in vitro изследване се провежда основно по време на клинични изпитвания, но не и в ежедневна клинична практика, което прави практическото му приложение твърде ограничено.

ИЗВОДИ:

На основата на получените резултати за връзката между имунологични биомаркери и клинични изходи от алергенна имунотрапия и техният анализ, може да се направят следните обобщаващи извода, а именно:

1. sIgG4 в серум, както и sIgE/tIgE и sIgG4/sIgE, изследвани след провеждана АИТ, не могат да бъдат използвани като предиктори за дългосрочен контрол на алергичен ринит.

2. Серумните нива на sIgG4 не корелират с доказаната дългосрочна клинична полза от АИТ и затова изследването им след провеждана АИТ няма практическа стойност.

3. Количественото изследване на серумни sIgG4, както и съотношението sIgG4/sIgE след проведена АИТ не могат да бъдат приети за надеждни биомаркери за дългосрочна клинична полза.

ГЕНЕРАЛНИ ИЗВОДИ И ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Въпросникът ESPIA и във валидираната за нашата страна версия се доказа, че е надежден способ за обективизиране и измерване на удовлетвореността от алергенна имунотерапия при пациентите с алергичен ринит.

2. Изборът между двата метода за клинична оценка на удовлетвореност от алергенна имунотерапия при пациентите с алергичен ринит - въпросникът ESPIA и визуално-аналоговата скала трябва да зависи от нуждата или не за детайлна оценка на този показател.

3. Алергенната имунотерапия с микрокърлежи и тревен полен, проведена в двете си форми – субкутанна и сублингвална, осигурява дългосрочна клинична полза за пациентите с алергичен ринит, надхвърляща тази, доказана в рандомизираните клинични проучвания.

4. С увеличаване на срока след приключване на алергенна имунотерапия нараства перцепцията на пациента за ползата от нея.

5. Количеството на sIgG4 в серум, както и sIgE/tIgE и sIgG4/sIgE, изследвани след провеждана алергенна имунотерапия не могат да бъдат използвани като предиктори за дългосрочен контрол на алергичен ринит.

6. Серумните нива на sIgG4 не корелират с доказаната дългосрочна клинична полза от алергенна имунотерапия и затова изследването им след нейното провеждане няма практическа стойност.

7. Определянето на дългосрочния ефект от алергенна имунотерапия при пациентите с алергичен ринит в реалната практика става чрез клинични показатели, при все още липсващ надежден и достъпен биомаркер за тази цел.

Собствените проучвания, с представените на тази база по-горе генерални изводи на дисертационния труд позволяват да се направят и следните препоръки.

На първо място дисертационният труд доказа, че разполагаме с достатъчно надеждни, достъпни и лесни за приложение инструменти за оценка на клиничния изход от алергенната имунотерапия при пациенти с алергичен ринит. В този смисъл първата препоръка е за тяхното по-широко прилагане в реалната клинична практика.

Категорично беше доказана дългосрочната ефективностт на алергенната имунотерапия с тревен полен и микрокърлежи, приложена както субкутанно, така и сублингвално. Това дава основание да се препоръча разработване на стратегия за повишаване на информираността относно тази терапевтична възможност както на пациентите с алергичен ринит, така и на медицинските специалисти ангажирани с тяхното здраве.

ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Резултатите от собствените проучвания и техният анализ дават възможност да се формулират и приносите на настоящия дисертационен труд

I. ОРИГИНАЛНИ ПРИНОСИ

1. За първи път в България беше валидиран и приложен въпросник за оценка на удовлетвореност от алергенна имунотерапия. Това позволи удовлетвореността като клиничен изход да бъде определяна чрез стандартизиран инструмент.

2. За първи път в България беше извършена оценка на дългосрочен ефект от алергенна имунотерапия с тревен полен и микрокърлежи при пациенти с алергичен ринит.

3. Това е първото реализирано и публикувано проучване върху дългосрочен ефект от алергенна имунотерапия при пациенти с алергичен ринит оценен посредством комплекс от стандартизирани клинични изходи в корелация с някои имунологични биомаркери.

4. Това е първото проучване, което предоставя доказателства от реалната практика за дългосрочен ефект от алергенна имунотерапия върху качество на живот, контрол и удовлетвореност от алергенна имунотрапия с тревен полен и мирокърлежи

II. ПОТВЪРДИТЕЛНИ ПРИНОСИ

1. Потвърдено беше лесното приложение на въпросника ESPIA и за българската популация от пациенти с алергичен ринит, както и неговата

висока стойност в комплексната оценка на удовлетвореността от алергенна имунотерапия.

2. Потвърден беше дългосрочният положителен ефект на алергенната имунотерапия с тревен полен и микрокърлежи при пациенти с алергичен ринит, още повече, че в дисертационния труд бяха изследвани пациенти в срок от приключване на имунотерапията по-дълъг от този цитиран от други авторски колективи.

3. Потвърдено беше, че все още няма лесно достъпен имунологичен биомаркер за оценка дългосрочния ефект на алергенна имунотерапия на алергичен ринит в реалната клинична практика.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящият дисертационен труд представлява задълбочено и обстойно клинично проучване върху един актуален въпрос в съвременната алергология, а именно алергенната имунотерапия.

Алергенната имунотерапия, приложена субкутанно или сублингвално, представлява единственото налично лечение, което е насочено към подлежащите патофизиологични механизми и което може да има модифициращ алергичното заболяване ефект. Изследователският ни интерес беше насочен по-специално към изучаване на дългосрочната полза от този тип лечение при най-честото алергично заболяване – алергичния ринит. Нуждата от доказване на такова дългосрочна полза, надхвърляща сроковете на наблюдение, установени в публикуваните настоящи рандомизирани проучвания, беше продиктувана от липсата до момент на достатъчно такива данни от реалната клинична практика, както и от препоръките на EAACI в тази връзка. Това прави дисертационния труд актуален.

Дългосрочният ефект от алергенната имунотерапията при алергичен ринит беше анализиран чрез редица клинични показатели, както и чрез изследване на определени биомаркери, избрани в съответствие с препоръките на EAACI за такава оценка. В тази връзка бяха решени задачи, свързани с хармонизиране на инструментите за изследване на клиничните изходи от алергенна имунотерапия. По този начин дисертационният труд постига резултат с практическа полза, като осигурява начин за обективизиране и измерване на удовлетвореността на пациента от алергенна имунотерапия според европейските стандарти.

Дисертационният труд предоставя данни за дългосрочна клинична полза както от субкутанна, така и от сублингвална имунотерапия с тевен полен и микрокърлежи посредством параметри за оценка, за някои от

които до момента няма намерени публикувани данни. С това приемаме, целта на дисертационния труд е изпълнена.

Установената в дисертационния труд дългосрочна клинична полза при пациенти с алергичен ринит предоставя научни данни, които могат да бъдат използван за повишаване на информираността на всички специалисти, които се срещат с такива пациенти в реалната практика.

Този научен труд представлява и една сериозна основа, върху която може да се надгради последващо проучване върху дългосрочния ефект на алергенната имунотерапия при пациентите с алергичен ринит с разширяване на панела от биомаркери за нейната оценка с акцент върху тяхната връзка с клиничните изходи.

В заключение, изказвам изключителна благодарност на всеки един, помогнал да реализирам своя дисертационен труд.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Име..... Роден/а.....

Начало на лечението..... Вид..... Сезон.....

0 - липсват 1 - леки 2 - средни 3 - тежки

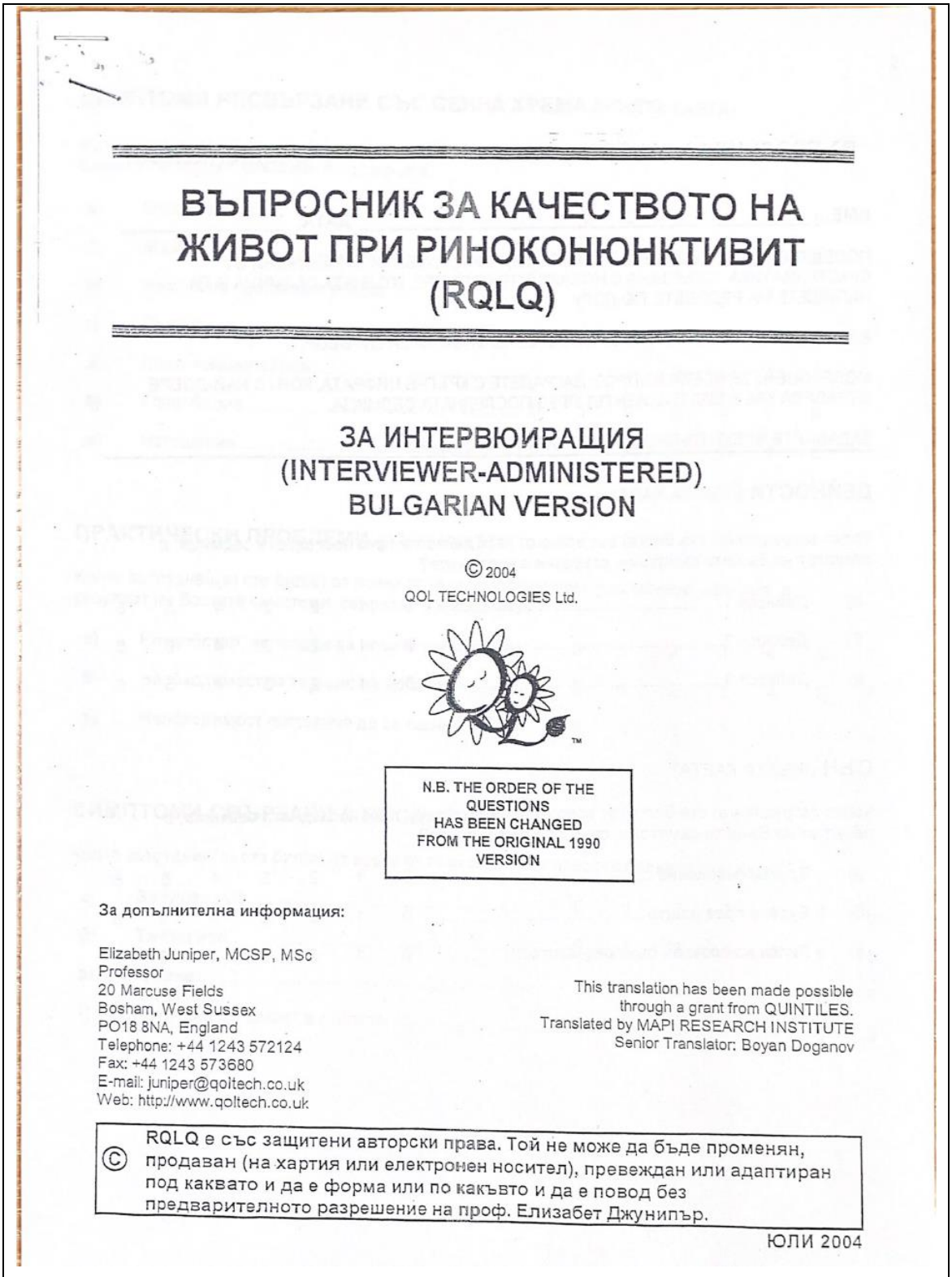
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
М А Р Т	Течащ нос																															
	Сърбеж на носа																															
	Кихане																															
	Запушен нос																															
	Сърбеж на очи																															
	Сълзене																															
	Червени очи																															
	др.-задух сърбеж																															
	Лекарства																															

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
А П Р И Л	Течащ нос																															
	Сърбеж на носа																															
	Кихане																															
	Запушен нос																															
	Сърбеж на очи																															
	Сълзене																															
	Червени очи																															
	др.-задух сърбеж																															
	Лекарства																															

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
М А Й	Течащ нос																															
	Сърбеж на носа																															
	Кихане																															
	Запушен нос																															
	Сърбеж на очи																															
	Сълзене																															
	Червени очи																															
	др.-задух сърбеж																															
	Лекарства																															

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
Ю Н И	Течащ нос																															
	Сърбеж на носа																															
	Кихане																															
	Запушен нос																															
	Сърбеж на очи																															
	Сълзене																															
	Червени очи																															
	др.-задух сърбеж																															
	Лекарства																															

Приложение 1. Дневник за оценка на симптомен и медикаментозен скор.



ВЪПРОСНИК ЗА КАЧЕСТВОТО НА ЖИВОТ ПРИ РИНОКОНЮНКТИВИТ (RQLQ)

ЗА ИНТЕРВЮИРАЩИЯ (INTERVIEWER-ADMINISTERED) BULGARIAN VERSION

© 2004
QOL TECHNOLOGIES Ltd.

N.B. THE ORDER OF THE QUESTIONS HAS BEEN CHANGED FROM THE ORIGINAL 1990 VERSION

За допълнителна информация:

Elizabeth Juniper, MCSP, MSc
Professor
20 Marcuse Fields
Bosham, West Sussex
PO18 8NA, England
Telephone: +44 1243 572124
Fax: +44 1243 573680
E-mail: juniper@qoltech.co.uk
Web: http://www.qoltech.co.uk

This translation has been made possible through a grant from QUINTILES.
Translated by MAPI RESEARCH INSTITUTE
Senior Translator: Boyan Doganov

© RQLQ е със защитени авторски права. Той не може да бъде променян, продаван (на хартия или електронен носител), превеждан или адаптиран под каквато и да е форма или по какъвто и да е повод без предварителното разрешение на проф. Елизабет Джунипър.

ЮЛИ 2004

Приложение 2. Официално валидираната версия на български език на въпросникът за качество на живот при риноконюнктивит - Quality of Life Questionnaire (RQLQ®) на Elizabeth Juniper.

Тест за оценка контрола на ринит (RCAT)

Този въпросник се отнася до Вашите оплаквания от носа и други алергични прояви (напр. зачервяване, сърбеж на очите), които не са свързани с настинка и грип и до каква степен се справяте с тях. За всеки въпрос, моля изберете отговора, който най – добре описва Вашите оплаквания от носа и други алергични прояви.

1. **През последната седмица колко често Ви се запушваше носът?**

Никога	Рядко	Понякога	Често	Много често
☐5	☐4	☐3	☐2	☐1

2. **През последната седмица колко често кихахте?**

Никога	Рядко	Понякога	Често	Много често
☐5	☐4	☐3	☐2	☐1

3. **През последната седмица колко често Ви сълзяха очите?**

Никога	Рядко	Понякога	Често	Много често
☐5	☐4	☐3	☐2	☐1

Приложение 3. Официално валидираната версия на български език на тест за оценка на контрола на ринит - Rhinitis Control Assessment Test (RCAT).

Въпросник за оценка на удовлетвореността от алерген-специфична имунотерапия (ESPIA)

Име:

Оценете следните ситуации, като мислите за своята имунотерапия (която се провежда чрез т. нар. „алергенна ваксина”). През последните два месеца колко често следните твърдения са се отнасяли за Вас?					
	Винаги	**Много често**	**В половината от времето**	**Понякога**	**Никога**
1.Откакто се лекувам с алергенната ваксина, имам по-малко симптоми.	5	4	3	2	1
2. Алергенната ми ваксина действа.	5	4	3	2	1
3. Благодарение на алергенната ми ваксина все по-рядко ми се налага да нося със себе си други лекарства за алергията ми (таблетки, инхалатори и др.).	5	4	3	2	1
4. Алергенната ми ваксина действа по-бързо отколкото очаквах.	5	4	3	2	1
5. Благодарение на алергенната ми ваксина, вече не избягвам неща или места, които преди провокираха алергията ми.	5	4	3	2	1
6. Алергенната ваксина ми помага да извършвам ежедневните ми дейности.	5	4	3	2	1
7. Откакто се лекувам с алергенната ваксина, мога да отида навсякъде със семейството и приятелите ми.	5	4	3	2	1
8. Благодарение на алергенната ваксина мога да работя или уча по-добре.	5	4	3	2	1
9. Откакто се лекувам с алергенната ваксина, се наслаждавам повече на дейностите на открито.	5	4	3	2	1
10. Откакто се лекувам с алергенната ваксина не изпадам в неудобни или притеснителни ситуации, причинени от моята алергия.	5	4	3	2	1
11. Откакто се лекувам с алергенната ваксина, качеството ми на живот се подобри.	5	4	3	2	1
12. Доброто действие на алергенната ваксина компенсира всички усилия, които трябва да положа, за да я получа (посещения при лекар, изписване на рецепти, протоколи и др.).	5	4	3	2	1
13. Доброто действие на алергенната ваксина компенсира свързаната с нея финансова тежест.	5	4	3	2	1
14. Доброто действие на алергенната ваксина компенсира целия дискомфорт, който може да ми се създаде.	5	4	3	2	1
15. Като цяло съм доволен/на/ от алергенната ми ваксина.	5	4	3	2	1
16. Като цяло бих препоръчал/а/ това лечение и на други хора.	5	4	3	2	1

Приложение 4. Официално валидираната версия на български език на специфичен въпросник **ESPIA** за оценка на удовлетвореността от алергенна имунотерапия.

	Siempre	Muchas veces	La mitad del tiempo	De vez en cuando	Nunca
1. Desde que me vacuno para la alergia, tengo menos síntomas.	5	4	3	2	1
2. Mi vacuna funciona.	5	4	3	2	1
3. Gracias a la vacuna estoy menos pendiente de llevar encima otros fármacos (pastillas, inhaladores, etc).	5	4	3	2	1
4. Mi vacuna funciona más rápido de lo que esperaba.	5	4	3	2	1
5. Gracias a la vacuna ya no evito cosas ni lugares que antes me causaban alergia.	5	4	3	2	1
6. Mi vacuna me ayuda a realizar mis actividades diarias.	5	4	3	2	1
7. Desde que me vacuno puedo ir a cualquier sitio con mi familia o amigos.	5	4	3	2	1
8. Gracias a la vacuna puedo trabajar o estudiar mejor.	5	4	3	2	1
9. Desde que me vacuno disfruto más de las actividades al aire libre.	5	4	3	2	1
10. Desde que me vacuno no me encuentro en situaciones incómodas o comprometidas causadas por la alergia.	5	4	3	2	1
11. Desde que me vacuno he ganado calidad de vida.	5	4	3	2	1
12. El buen funcionamiento de la vacuna me compensa todas las gestiones que tengo que hacer para conseguirla (visitas, recetas, permisos, etc).	5	4	3	2	1
13. El buen funcionamiento de la vacuna compensa el esfuerzo económico que me supone.	5	4	3	2	1
14. El buen funcionamiento de la vacuna compensa las molestias que pueda ocasionarme.	5	4	3	2	1
15. En general, estoy satisfecho con mi vacuna para la alergia.	5	4	3	2	1
16. En general, recomendaría el tratamiento con vacuna a otras personas.	5	4	3	2	1

Приложение 5. Оригиналеният въпросник **ESPIA** за оценка на удовлетвореността от алергенна имунотерапия.

ЛИТЕРАТУРНИ ИЗТОЧНИЦИ

1. Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) 2008. Allergy. 2008;63:8–160.

2. Милева Ж, Димитров В, Попов Т. и кол. Епидемиологично проучване върху честотата на алергичен ринит и астма в България. Алергия и Астма. 2000;1:1-32

3. Mortz C, Andersen K, Poulsen L et al. ,Atopic diseases and type I sensitization from adolescence to adulthood in an unselected population (TOACS) with focus on predictors for allergic rhinitis. Allergy. 2019;74(2):308–17.

4. Blaiss M, Hammerby E, Robinson S, et al. The burden of allergic rhinitis and allergic rhinoconjunctivitis on adolescents: A literature review Ann Allergy Asthma Immunol 2018; 121: 43–52

5. Новакова С. Цигаровски Г. Ефект на алергичен ринит върху основни дейности. Ефект на алергичен ринит върху основни дейности. Национална научна конференция за студенти, докторанти и млади учени. 2015;33-39.

6. Drazdauskaitė G, Layhadi J, Shamji M. Mechanisms of Allergen Immunotherapy in Allergic Rhinitis. Current Allergy and Asthma Reports 2021; 21: 2

7. Boudewijn J. Dierick T, Molen T. Burden and socioeconomics of asthma, allergic rhinitis, atopic dermatitis and food allergy. Expert Review of Pharmacoeconomics & Outcomes Research. 2020;20(5):437-453.

8. Greiner A, Hellings P, Rotiroti G, et al. Allergic rhinitis. Lancet. 2011;378(9809):2112–22

9. Togias A. Rhinitis and asthma: evidence for respiratory system integration. J Allergy Clin Immunol. 2003;111:1171-1183.

10. Brożek J, Bousquet J, Agache I, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines—2016 revision. J Allergy Clin Immunol 2017;140(4):950–8

11. Post S, Rozeveld D, Jonker M, et al. ADAM10 mediates the house dust mite-induced release of chemokine ligand CCL20 by airway epithelium. Allergy. 2015;70(12):1545–52

12. Steelant B, Wawrzyniak P, Martens K, et al. Blocking histone deacetylase activity as a novel target for epithelial barrier defects in patients with allergic rhinitis. J Allergy Clin Immunol. 2019;144(5):1242–53

13. Nian J, Zeng M, Zheng J, et al.Epithelial cells expressed IL-33 to promote degranulation ofmast cells through inhibition on ST2/PI3K/mTOR-mediated autophagy in allergic rhinitis. Cell Cycle. 2020;19(10):1132–42

14. Yao Y, Chen C, Wang N, et al. Correlation of allergen-specific T follicular helper cell counts with specific IgE levels and efficacy of allergen immunotherapy. J Allergy Clin Immunol. 2018;142(1):321–324

15. Watts A, CrippsA,West N, et al.. Modulation of allergic inflammation in the nasal mucosa of allergic rhinitis sufferers with topical pharmaceutical agents. Front Pharmacol. 2019;10.

16. Stark J, Tibbitt C, Coquet J. Themetabolic requirements of Th2 cell differentiation. Front Immunol. 2019;10.

17. Iinuma T, Okamoto Y, Morimoto Y, et al. Pathogenicity of memory Th2 cells is linked to stage of allergic rhinitis. Allergy. 2018;73(2):479–89

18. Wambre E, Bajzik V, Delong et al. A phenotypically and functionally distinct human T H 2 cell subpopulation is associated with allergic disorders. Sci Transl Med. 2017;9(401):

19. James L, Durham S. Update on mechanisms of allergen injection immunotherapy. Clinical and Experimental Allergy 2017, 38, 1074–1088

20. Boonpiyathad T, Lao-Araya M, Chiewchalermsri C, et al. Allergic Rhinitis: What Do We Know About Allergen-Specific Immunotherapy? Front. Allergy 2021; 2:732

21. Sahiner U, Giovannini M. Escribese M, et al. Mechanisms of Allergen Immunotherapy and Potential Biomarkers for Clinical Evaluation. J. Pers. Med. 2023, 13, 845.
22. Le Cann P, Paulus H, Glorennec P, et al. Home environmental interventions for the prevention or control of allergic and respiratory diseases: what really works. J Allergy Clin Immunol Pract. 2017;5:66-79.
23. Dror A, Eisenbach N, Marshak T. et al. Reduction of allergic rhinitis symptoms with face mask usage during the COVID-19 pandemic. J Allerg Clin Immunol Practice. 2020;8(10):3590-3593
24. White S, Baker D, Frew. Symptom control in patients with hay fever in UK general practice: how well are we doing and is there a need for allergen immunotherapy? Clin Exp Allergy. 1998;28(3): 266–70
25. Pfaar O, Bousquet J, Durham S, et al. One hundred and ten years of Allergen Immunotherapy: A journey from empiric observation to evidence Allergy. 2022;77:454–468
26. Kappen J, Durham S, Veen H, et al, Applications and mechanisms of immunotherapy in allergic rhinitis and asthma. Ther Adv Respir Dis. 2017 Jan;11(1):73-86.
27. Bousquet J, Pfaar O, Togias A, et al. 2019 ARIA Care pathways for allergen immunotherapy Allergy. 2019;74:2087–2102.
28. Roberts G, Pfaar O, Akdis C, et al. EAACI Guidelines on Allergen Immunotherapy: Allergic Rhinoconjunctivitis. Allergy. 2018;73:765–773
29. López J, Imam M, Pattraporn I et al, Mechanisms and biomarkers of successful allergen-specific immunotherapy Asia Pac Allergy. 2022 Oct;12(4):e45
30. Shamji M, Durham S. Mechanisms of allergen immunotherapy for inhaled allergens and predictive biomarkers. J Allergy Clin Immunol. 2017 Dec;140(6):1485-1498.

31. Wachholz P, Soni N, Till S, et al. Inhibition of allergen-IgE binding to B cells by IgG antibodies after grass pollen immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 2003;112:915-22.
32. Scadding G, Shamji M, Jacobson M. et al. Sublingual grass pollen immunotherapy is associated with increases in sublingual Foxp3-expressing cells and elevated allergen-specific immunoglobulin G4, immunoglobulin A and serum inhibitory activity for immunoglobulin E-facilitated allergen binding to B cells. Clin Exp Allergy 2010, 40:598–606.
33. Didier A, Worm M, Horak F, et al. Sustained 3-year efficacy of pre- and coseasonal 5-grasspollen sublingual immunotherapy tablets in patients with grass polleninduced rhinoconjunctivitis. J Allergy Clin Immunol 2011, 128:559–566.
34. Durham S, Emminger W, Kapp A. et al. SQ-standardized sublingual grass immunotherapy: confirmation of disease modification 2 years after 3 years of treatment in a randomized trial. J Allergy Clin Immunol 2012, 129:717–725
35. Hakansson L et al. Priming of eosinophil adhesion in patients with birch pollen allergy during pollen season: effect of immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 1997;99:551–562.;
36. Durham S, Shamji M. Allergen immunotherapy: past, present and future. Nat Rev Immunol. 2023 May;23(5):317-328
37. Nouri-Aria K, Pilette C, Jacobson M, et al. IL-9 and c-kit1 mast cells in allergic rhinitis during seasonal allergen exposure: effect of immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 2005;116:73-9.
38. Wilson D, Nouri-Aria K, Walker S, et al. Grass pollen immunotherapy: symptomatic improvement correlates with reductions in eosinophils and IL-5 mRNA expression in the nasal mucosa during the pollen season. J Allergy Clin Immunol 2001;107:971-6.

39. Lou H, Huang Y, Ouyang, Chu X, et al. Artemisia annua-sublingual immunotherapy for seasonal allergic rhinitis: A randomized controlled trial. Allergy. 2020;all.14218.

40. Pelaia C, Vatrella A, Lombardo N, et al.Biological mechanisms underlying the clinical effects of allergen-specific immunotherapy in asthmatic children, Expert Opinion on Biological Therapy, DOI: 10.1080/14712598.2018.1402003

41. Lao-Araya M, Steveling E, Scadding G, et al. Seasonal increases in peripheral innate lymphoid type 2 cells are inhibited by subcutaneous grass pollen immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 2014;134: 1193-5.

42. Zimmer A, Bouley J, Le Mignon M, Pliquet E, Horiot S, Turfkruyer M, et al. A regulatory dendritic cell signature correlates with the clinical efficacy of allergen-specific sublingual immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 2012;129: 1020-30

43. Morita H, Kubo T, Rückert B, et al. Induction of human regulatory innate lymphoid cells from group 2 innate lymphoid cells by retinoic acid. J Allergy Clin Immunol. 2019;143(6):2190–2201.

44. Durham S, Emminger W, Kapp A, et al. Long-term clinical efficacy in grass pollen-induced rhinoconjunctivitis after treatment with SQ-standardized grass allergy immunotherapy tablet. J Allergy Clin Immunol. 2010 Jan;125(1):131-8.

45. Dahl R, Kapp A, Colombo G, et al. Sublingual grass allergen tablet immunotherapy provides sustained clinical benefit with progressive immunologic changes over 2 years. J Allergy Clin Immunol 2008;121:512-8.

46. 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, 43:523-529

47. Valovirta E, Petersen T, Piotrowska T, et al. Results from the 5-year SQ grass sublingual immunotherapy tablet asthma prevention (GAP) trial in children with grass pollen allergy J Allergy Clin Immunol . 2018 Feb;141(2):529-538

48. Zielen S, Devillier P, Heinrich J, et al. Sublingual immunotherapy provides long-term relief in allergic rhinitis and reduces the risk of asthma: A retrospective, real-world database analysis. Allergy.2018 Jan;73(1):165-177

49. Jutel M, Brüggenjürgen B, Richter H, et al. Real-world evidence of subcutaneous allergoid immunotherapy in house dust mite-induced allergic rhinitis and asthma. Allergy. 2020;75(8):2046-2054.

50. Fritzsching B, Contoli M, Porsbjerg C, et al. Long-term real-world effectiveness of llergy immunotherapy in patients with allergic rhinitis and asthma: results from the REACT study, a retrospective cohort study. Lancet Reg Health Eur. 2022;13:

51. Didier A, Malling HJ, Worm M, et al. Post-treatment efficacy of discontinuous treatment with 300IR 5-grass pollen sublingual tablet in adults with grass pollen-induced allergic rhino conjunctivitis. Clin Exp Allergy. 2013; 43: 568-577.

52. Schmid J, Würtzen P, Siddhuraj P, et al. Basophil sensitivity reflects long - term clinical outcome of subcutaneous immunotherapy in grass pollen-allergic patients. Allergy. 2021; 76: 1528-1538

53. Wahn U. Preventing new sensitization and asthma onset by allergen immunotherapy: the current evidence. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2017 Dec;17(6):443-446.

54. Pfaar O,.Demoly P, Gerth van Wijk R et al. Recommendations for the standardization of clinical outcomes used in allergen immunotherapy trials for allergic rhinoconjunctivitis: an EAACI Position Paper. Allergy 2014; 69: 854–867.

55. U.S. Department of Health and Human Serviced, FDA Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry. Allergic Rhinitis: Clinical Development Programs for Drug Products. Draft Guidance. 2000..

56. European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on the Clinical Development of Products for Specific Immunotherapy for the Treatment of Allergic Diseases. 2008.

57. Canonica G, Baena-Cagnani C, Bousquet J, et al. Recommendations for standardization of clinical trials with Allergen Specific Immunotherapy for respiratory allergy. A statement of a World Allergy Organization (WAO) taskforce. Allergy 2007;62:317–324.

58. Clark J, Schall R. Assessment of combined symptom and medication scores for rhinoconjunctivitis immunotherapy clinical trials. Allergy 2007;62:1023–1028.

59. Bousquet P, Combescure C. Neulrich F. et al. Visual analogue scales can assess the severity of rhinitis graded according to ARIA guidelines. Allergy 2007; 62;367 – 372

60. Juniper E, Guyatt G, Dolovich J.Assessment of quality of life in adolescentswith allergic rhinoconjunctivitis: develop-ment and testing of a questionnaire for clin-ical trials.J Allergy Clin Immunol1994;93:413–423

61. Bousquet J, Bachert K, Canonica W. et al. Unmet needs in chronic upper airway disease (SCUAD). J Allergy Clin Immunol 2009;134;3;428-433

62. Новакова С, Димитрова Д. Масалджиева Р. и съавт. Валидиране на въпросник за оценка на контрола на алергичен ринит на български. Торакална медицина. 2014;1:43-49\

63. Braido F, Bosquet P, Brzoza Z et al. Specific recommendations for PROs and HRQoL assessment in allergic rhinitis and/ot asthma: a GA2LEN taskforce position paper. Allergy 2010; 65; 959-968

64. Justicia J, Cardona V, Guardia P, et al. Validation of the first treatment – specific questionnaire for the assessment of patient satisfaction with allergen – specific immunotherapy in allergic patients: the ESPIA questionnaire. J Allergy Clin Immunol 2013; 131: 1539 – 1546

65. Food, Drug Administration HHS. International Conference on harmonisation; guidance on E15 pharmacogenomics definitions and sample coding; availability. Notice. Fed Regist 2008;73:19074-19076.

66. CHMP EMA Guideline on the Clinical Development of Products for Specific Immunotherapy for the Treatment of Allergic Diseases. 2008. No separate publisher

67. Shamji M, Kappen J, Akdis C, et al. Biomarkers for monitoring clinical efficacy of allergen immunotherapy for allergic rhinoconjunctivitis and allergic asthma: an EAACI position paper. Allergy 2017; 72: 1156–1173.

68. Breiteneder H, Peng Y, Agache J Biomarkers for diagnosis and prediction of therapy responses in allergic diseases and asthma Allergy. 2020;75:3039–3068

69. Di Lorenzo G, Mansueto P, Pacor ML et al. Evaluation of serum s-IgE/total IgE ratio in predicting clinical response to allergen-specific immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 2009; 123: 1103–1110.

70. Li Q Li M, Yue W, et al. Predictive Factors for Clinical Response to Allergy Immunotherapy in Children with Asthma and Rhinitis. Int Arch Allergy Immunol 2014;164:210–217

71. lo JR, Kitzmüller C, Aglas L, ej al.. IgE-cross-blocking antibodies to Fagales following sublingual immunotherapy with recombinant Bet v 1. Allergy 2021;76:2555-64.

72. James L, Shamji M, Walker S, et al. Long-term tolerance after allergen immunotherapy is accompanied by selective persistence of blocking antibodies. J Allergy Clin Immunol 2011;127: 509-16.

73. Xie S, Jiang S, Zhang H, et al. Prediction of sublingual immunotherapy efficacy in allergic rhinitis by serum metabolomics analysis. Int Immunopharmacol 2021;90:107211

74. Platts-Mills T, von Maur R, Ishizaka K, et al. IgA and IgG anti-ragweed antibodies in nasal secretions. Quantitative measurements of antibodies and correlation with inhibition of histamine release. J Clin Invest 1976;57:1041-1050.

75. Reisinger J, Horak F, Pauli G, van Hage M, Cromwell O, Konig F et al. Allergenspecific nasal IgG antibodies induced by vaccination with genetically

modified allergens are associated with reduced nasal allergen sensitivity. J Allergy Clin Immunol 2005;116:347-354.
76. Baiardini I, Bousquet PJ, Brzoza Recommendations for assessing Patient-Reported Outcomes and Health-Related quality of life in clinical trials on allergy: a GA2LEN taskforce position paper.Allergy2010;65: 290–295
77. Bauchau V, Durham S.Prevalence and rate of diagnosis of allergic rhinitis in Europe. Eur Respir J 2004; 24: 758–764.
78. Dhabi S, Normative U, Aras S, et al. Allergen immunotherapy for allergic rhino conjunctivitis: a systematic review and meta-analysis. Allergy. 2017;72:1597-1631
79. Pfaar O, Alvaro M, Cardona V, et al. Clinical trials in allergen immunotherapy: current concepts and future needs Allergy. 2018;73:1775–1783
80. Pfaar O, Bousquet J, Durham S, et al. One hundred and ten years of Allergen Immunotherapy: A journey from empiric observation to evidence Allergy. 2022;77:454–468.
81. Canonica G, Baena-Cagnani C, et al. Recommendations for standardization of clinical trials with Allergen Specific Immunotherapy for respiratory allergy. A statement of a World Allergy Organization (WAO) taskforce. Allergy. 2007;62(3):317-324.
82. Caimmi D, Baiz N, Tanno L, et al. Validation of the MASK-rhinitis visual analogue scale on smartphone screens to assess allergic rhinitis control. Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin munol.2017;47(12):1526-1533
83. Bousquet J, Schünemann H, Togias A, et al. Next-generation ARIA care pathways for rhinitis and asthma: a model for multimorbid chronic diseases. Clin Transl Allergy. 2019;9:44.
84. Marogna, M.; Bruno, M.; Massolo, A. et al. Long-Lasting Effects of Sublingual Immunotherapy for House Dust Mites in Allergic Rhinitis with Bronchial Hyperreactivity: A Long-Term (13-Year) Retrospective Study in Real Life. Int. Arch. Allergy Immunol. 2006, 142, 70–78

85. Marogna, M.; Spadolini, I.; Massolo, A.; et al.. Long-lasting effects of sublingual immunotherapy according to its duration: A 15-year prospective study. J. Allergy Clin. Immunol. 2010, 126, 969–975.

86. Bousquet P, Cinn S, Janson C et al. Geographical variation in the prevalence of positive skin tests to environmental aeroallergens in the European Community Respiratory Health Survey I. Allergy 2007: 62: 301–309.

87. Leth-Møller K, Skaaby T. Allergic rhinitis and allergic sensitisation are still increasing among Danish adults. Allergy . 2020 Mar;75(3):660-668

88. Committee for Medicinal Products for Human Use: Guideline on the Clinical Development of Products for Specific Immunotherapy for the Treatment of Allergic Diseases. European Medicines Agency 2008 [http:// ww.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/ WC500003605.pdf.

89. Durham S, Walker S, Varga E, et al. Long-term clinical efficacy of grass-pollen immunotherapy. N Engl J Med 1999, 341:468-475.

90. Nelson, H, Cartier S, Allen-Ramey F, et al. Network Meta-analysis Shows Commercialized Subcutaneous and Sublingual Grass Products Have Comparable Efficacy. J. Allergy Clin. Immunol. Pract. 2015, 3, 256–266

91. Ciprandi G, Silvestri M, Tosca M. A combination visual analog scale as an integrated outcome for assessing the perception of allergen immunotherapy effectiveness in clinical practice..Ann Allergy Asthma Immunol. 2018 Oct;121(4):504-506

92. Klimek L, Bergmann K, Biedermann T et al. Visual analogue scales (VAS): Measuring instruments for the documentation of symptoms and therapy monitoring in cases of allergic rhinitis in everyday health care. Allergo J Int (2017) 26:16–24 .

93. Ma X, Zhang Y, Gu X, Wu G A Retrospective Cohort Study of Sublingual Immunotherapy with Standardized Dermatophagoides farinae Drops for Allergic Rhinitis. Adv Ther 2021 May;38(5):2315-2322

94. El-Qutob D, Moreno F, Subtil-Rodríguez A Specific immunotherapy for rhinitis and asthma with a subcutaneous hypoallergenic high-dose house dust mite extract: results of a 9-month therapy. Immunotherapy. 2016 Jul;8(8):867-76

95.Novakova S, Novakova P, Yakovliev P, et al. A Three-Year Course of House Dust Mite Sublingual Immunotherapy Appears Effective in Controlling the Symptoms of Allergic Rhinitis. Am J Rhinol Allergy. 2018 May;32(3):147-152

96. Pfaar O, Agache I, Blay F, et al. Perspectives in allergen immunotherapy:2019 and beyond. Allergy. 2019;74(Suppl 108):3-25.

97. Palathumpattu B, Pieper-Furst U, Acikel C, et al. Correlation of the combined symptom and medication score with quality of life, symptom severity and symptom control in allergic rhino conjunctivitis. Clin Transl Allergy. 2022 Oct 5;12(10)

98. Demoly P, Aubier M, de Blay F, et al. Evaluation of patients'expectations and benefits in the treatment of allergic rhinitis with a new tool: the patient benefit index - the benefica study. Allergy Asthma Clin Immunol. 2015;11(1):8.

99. Calderón M, Casale T. Validation of Patient-Reported Outcomes for Clinical Trials in Allergic Rhinitis: A Systematic Review. J Al 101lergy Clin Immunol Pract . 2019 May-Jun;7(5):1450-1461

100. Calderon MA, Alves B, Jacobson M, et al. Allergen injection immunotherapy for seasonal allergic rhinitis. Cochrane Database Syst. Rev. 2007;24(1)

101. Radulovic S, Wilson D, Calderon M, et al. Systematic reviews of sublingual immunotherapy (SLIT). Allergy. 2011;66(6):740–52

102. Normative U, Aras S, et al. Allergen immunotherapy for allergic rhino conjunctivitis: a systematic review and meta-analysis. Allergy. 2017;72:1597-1631

103. Novakova S, Staevska M, Novakova P, et al. Quality of life improvement after a three-year course of sublingual immunotherapy in patients with house

dust mite and grass pollen induced allergic rhinitis: results from real-life. Health Qual Life Outcomes. 2017; 15: 189

104. Ciprandi G, Klersy C, Cirillo I et al. Quality of life in allergic rhinitis: relationship with clinical, immunological, and functional aspects. Clin Exp Allergy 2007; 37:1528-1535.

105. Burks AW, Calderon M, Casale Th. et al Update on allergy immunotherapy: American Academy of Allregy, Asthma & Immunology/ European academt of Allergy and Clinical Immunology/ PRACTAL consensuss. J Allergy Clin Immunol 2013; 131: 1288 – 96.

106. Delgado J, Davila I, Dominguez-Ortega J. et al. Quality of life in patients with respiratory allergy is influenced by the causative allergen. J Allergy Clin Immunol 2013 23(5): 309-314.

107. Demoly P, Bossé I, Maigret P. Perception and control of allergic rhinitis in primary care. NPJ Prim Care Respir Med 2020 Aug 20;30(1):37

108. Новакова С. Контрол на алергичния ринит - значение и възможности за оценка. Алергии, хиперсензитивност, астма, 12, 2015, 1, 22-31

109. Liedtke JP, Mandl A, Kother J, et al. RCAT reflects symptom control and quality of life in allergic rhino conjunctivitis patients. Allergy. 2018;73(5):1101-9.

110. Novakova S, Novakova P, Yakovliev P A Three-Year Course of House Dust Mite Sublingual Immunotherapy Appears Effective in Controlling the Symptoms of Allergic Rhinitis. Am J Rhinol Allergy. 2018 May;32(3):147-152

111. Pavón-Romero G, Parra-Vargas M. Ramírez-Jiménez, et al. Allergen Immunotherapy: Current and Future Trends. Cells 2022, 11, 212.

112. Price D, Scadding G, Ryan D, et al. The hidden burden of adult allergic rhinitis: UK healthcare resource utilization survey. Clin Trans. Allergy. 2015;5:39.

113. Gani F, Lombardi C, Barrocu L, et al. The control of allergic rhinitis in real life:a multicenter cross-sectional Italian study Gani et al. Clin Mol Allergy 2018; 16:4

114. Canonica GW, Baena-Cagnani CE, Compalati E, et al. 100 years of immunotherapy: the monaco charter. Int Arch Allergy Immunol. 2013;160:346–9

115. Roche N, Anzueto A, Bosnic Anticevich S, et al.; The importance of real-life research in respiratory medicine: manifesto of the Respiratory Effectiveness Group: Endorsed by the International Primary Care Respiratory Group and the World Allergy Organization. Eur Respir J. 2019;54(3):190151

116. Baiardini I, Puggioni F, Menoni S, et al. Patient knowledge, perceptions,expectations and satisfaction on allergen-specific immunotherapy: a survey. Respir Med. 2013;107(3):361-367

117. Skoner D, Blaiss M, Dykewicz M, et al. The Allergies, Immunotherapy, and RhinoconjunctivitiS (AIRS) survey: patients' experience with allergen immunotherapy. Allergy Asthma Proc. 2014;35(3):219-226.

118. Albrecht G, Hoogstraten J, Satisfaction as a determinant of compliance. Community Dent Oral Epidemiol. 1998;26: 139 – 46

119 Normative U, Dhabi S, Aras S, et al. Allergen immunotherapy for allergic rhino conjunctivitis: a systematic overview of systematic reviews. Clin Transl Allergy 2017; 7:24 9.

120. Cox L, Murphey A , Hankin C, et al The Cost-Effectiveness of Allergen Immunotherapy Compared with therapy for Treatment of Allergic Rhinitis and AsthmaImmunol Allergy Clin North Am. 2020 Feb;40(1):69-85

121. Novakova S. Determinants and factors of satisfaction with sublingual immunotherapy in patients with allergic rhinitis. Folia Med 2020;62(2):385-90.

122. Zissler UM, Schmidt-Weber CB. Predicting success of allergenspecific immunotherapy. Front Immunol. (2020) 11:1826.doi: 10.3389/fimmu.2020.01826

123. Licari A, Castagnoli R, Brambilla I, et al. Biomarkers of immunotherapy response in patients with allergic rhinitis, Expert Review of Clinical Immunology 2018, DOI: 10.1080/1744666X.2018.1504679
124. Shamji M, Durham S. Mechanisms of allergen immunotherapy for inhaled allergens and predictive biomarkers. J Allergy Clin Immunol 2017;140:1485-98
125. Dodev T, Bowen H, Shamji M, et al. Inhibition of allergen-dependent IgE activity by antibodies of the same specificity but different class. Allergy. 2015; 70(6):720–4
126. Chen, J.; Zhou, Y.; Wang, Y. et al. Specific immunoglobulin E and immunoglobulin G4 toward major allergens of house-dust mite during allergen-specific immunotherapy. Am. J. Rhinol. Allergy 2017, 31, 156–160.
127. Nikolov, G. Todordova, Y. Emilova, R.; et al. Allergen-Specific IgE and IgG4 as Biomarkers for Immunologic Changes during Subcutaneous Allergen Immunotherapy. Antibodies 2021, 10, 49
128. Gómez E, Fernández TD, Doña I, et al. Initial immunological changes as predictors for house dust mite immunotherapy response. Clin Exp Allergy. 2015;45(10): 1542–53.
129. Borg M, Lokke A, Hilberg O. Compliance in subcutaneous and sublingual allergen immunotherapy: a nationwide study. Respir Med. 2020; 170:106039. doi: 10.101
130. Quirino T, Iemoli E, Siciliani E, et al. Sublingual versus injective immunotherapy in grass pollen allergic patients: a double blind (double dummy) study. Clin Exp Allergy. 1996 26:1253–61
131. Drazdauskaitė G, Layhadi J, Shamji M. Mechanisms of Allergen Immunotherapy in Allergic Rhinitis Mechanisms of Allergen Immunotherapy in Allergic Rhinitis Curr Allergy Asthma Rep. 2021; 21(1): 2
132. Gleich G, Zimmermann E, Henderson L, et al. Effect of immunotherapy on immunoglobulin E and immunoglobulin G antibodies to ragweed antigens: a six-year prospective study. J Allergy Clin Immunol 1982; 70:261-71.

133. Scadding G, Calderon M, Shamji M, et al. Effect of 2 years of treatment with sublingual grass pollen immunotherapy on nasal response to allergen challenge at 3 years among patients with moderate to severe seasonal allergic rhinitis: the GRASS randomized clinical trial. JAMA 2017;317:615-25.

134. Di Lorenzo G, Mansueto P, Pacor M, et al. Evaluation of serum s-IgE/total IgE ratio in predicting clinical response to allergenspecific immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 2009;123:1103-1110.

135. Heeringa J, McKenzie C, Varese N, et al. Induction of IgG2 and IgG4 B-cell memory following sublingual immunotherapy for ryegrass pollen allergy. Allergy 2020;75:1121-32

136. Varona R, Ramos T, Escribese M. Persistent regulatory T-cell response 2 years after 3 years of grass tablet SLIT: Links to reduced eosinophil counts, sIgE levels, and clinical benefit Allergy. 2019;74:349–360.

137. Renand A, Shamji M, Harris K, et al. Synchronous Immune Alterations Mirror Clinical Respons IgG4 след During Allergen Immunotherapy J Allergy Clin Immunol. 2018; 141(5): 1750–1760.

138. Shamji M, Kappen L, Abubakar-Waziri H, et al. Nasal allergen-neutralizing IgG4 antibodies block IgE-mediated responses: Novel biomarker of subcutaneous grass pollen immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 2019;143:1067-76.

139. Jackola D, Blumenthal M, Rosenberg A, ет ал. Evidence for two independent distributions of serum immunoglobulin E in atopic families: cognate and non-cognate IgE. Hum Immunol 2004;65:20-30.

140. Liu W, Zeng Q, Luo R, et al. Predictors for short-term efficacy of allergen-specific sublingual immunotherapy in children with allergic rhinitis. Mediators Inflamm 2020;2020:184706

141. Shamji M, Larson D, Eifan A, et al. Differential induction of allergen-specific IgA responses following timothy grass subcutaneous and sublingual immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 2021;148:1061-71

142. van de Veen W, Akdis M. Role of IgG4 in IgE-mediated allergic responses. J Allergy Clin Immunol 2016;138:1434-5

143. Chang X, Zha L, Wallimann A, et al. Low-affinity but high-avidity interactions may offer an explanation for IgE-mediated allergen cross-reactivity. Allergy 2021;76:2565-74.

144. Grilo J, Kitzmüller C, Aglas L, et al. IgE-cross-blocking antibodies to Fagales following sublingual immunotherapy with recombinant Bet v 1. Allergy 2021;76:2555-64.

145. Matsuoka T, Shamji M, Durham S. Allergen immunotherapy and tolerance. Allergol Int 2013;62:403-13.

146. Jansen K, Cevhertas L, Ma S, et al. Regulatory B cells, A to Z. Allergy 2021;76:2699-715.

147. Shamji M, Sharif H, Layhadi J, et al. Diverse immune mechanisms of allergen immunotherapy for allergic rhinitis with and without asthma. J Allergy Clin Immunol 2022;149:791-801

148. Karakoc-Aydiner E, Eifan A, Baris S, et al. Long-term effect of sublingual and subcutaneous immunotherapy in dust mite-allergic children with asthma/rhinitis: a 3-year prospective randomized controlled trial. J Investig Allergol Clin Immunol 2015;25:334-42.

149. lim E, Poulsen L, Stadler B, et al. A long-term follow-up study of hyposensitization with immunoblotting. J Allergy Clin Immunol 1990;85:996-1004.\

150. Lupinek C, Wollman E, Valenta R. Monitoring allergen immunotherapy effects by microarray. Curr Treat Options Allergy 2016;3:189-203.

151. Schmid J, Wurtzen P, Dahl R, et al. Pretreatment IgE sensitization patterns determine the molecular profile of the IgG4 response during updosing of subcutaneous immunotherapy with timothy grass pollen extract. J Allergy Clin Immunol 2016;137:562-570

151. Aalberse R, Schuurman J. IgG4 breaking the rules. Immunology 2002;105:9-19

152. Gonzalez M, Doña I, Palomares F, et al. Dermatophagoides pteronyssinus immunotherapy changes the T-regulatory cell activity. Sci Rep. 2017;7(1):11949

153. Bordas-Le Floch V, Berjont N, Batard T, et al. Coordinated IgG2 and IgE responses as a marker of allergen immunotherapy efficacy. Allergy 2022;77:1263-73.

154. Pfaar O, Agache I, de Blay F, et al. Perspectives in allergen immunotherapy: 2019 and beyond. Allergy 2019; 74(Suppl 108): 3-25

155. Komlosi Z, Kovacs N, Sokolowska M, et al. Mechanisms of Subcutaneous and Sublingual Aeroallergen Immunotherapy: What is new? Immunol Allergy Clin North Am 2020; 40: 1-14

156. Baron-Bodo V, Horiot S, Lautrette A, et al. Heterogeneity of antibody responses among clinical responders during grass pollen sub- lingual immunotherapy. Clin Exp Allergy 2013;43:1362-73

157. Wachholz P, Soni N, Till S, et al. Inhibition of allergen-IgE binding to B cells by IgG antibodies after grass pollen immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 2003;112:915-22

158. James L, Shamji M, Walker M, et al. Long-term tolerance after allergen immunotherapy is accompanied by selective persistence of blocking antibodies. J Allergy Clin Immunol 2011;127:509-16

159. Heeringa J, McKenzie C, Varese N, et al. Induction of IgG2 and IgG4 B-cell memory following sublingual immunotherapy for ryegrass pollen allergy. Allergy 2020; 75: 1121-1132

160. Feng M, Su Q, Lie X, et al. Functional and Immunoreactive Levels of IgG4 Correlate with Clinical Responses during the Maintenance Phase of House Dust Mite Immunotherapy The Journal of Immunology, 2018, 200: 3897–3904

161.Akdis C, Akdis M. Advances in allergen immunotherapy: aiming for complete tolerance to allergens. Sci Transl Med 2015;7:280 ps6

162. Shamji M, Ljorring C, Wurtzen P. Predictive biomarkers of clinical efficacy of allergen-specific immunotherapy: how to proceed. Immunotherapy 2013;5: 203-6.
163. . Akdis M, Akdis C. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy: multiple suppressor factors at work in immune tolerance to allergens. J Allergy Clin Immunol 2014;133:621-31.
164. Shamji M, Wilcock L, Wachholz P, et al. The IgE-facilitated allergen binding (FAB) assay: validation of a novel flow-cytometric based method for the detection of inhibitory antibody responses. J Immunol Methods 2006;317:71-79.
165. Shamji M, Francis J, Wurtzen P, et al. Cell-free detection of allergen-IgE cross-linking with immobilized phase CD23: inhibition by blocking antibody responses after immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 2013;132:1003-1005.
166. Subbarayal B, Schiller D, Mobs C, et al. Kinetics, cross-reactivity, and specificity of Bet v 1- specific IgG4 antibodies induced by immunotherapy with birch pollen. Allergy 2013;68:1377-1386.
167. Shamji M, Walker S, Wilson D, et al. Long-term tolerance after allergen immunotherapy is accompanied by selective persistence of blocking antibodies. J Allergy Clin Immunol 2011;127:509-516.
168. Pilette C, Nouri-Aria K, Jacobson M, et al. Grass pollen immunotherapy induces an allergen-specific IgA2 antibody responseassociated with mucosal TGF-beta expression. J Immunol 2007;178:4658-66.
169. Shamji M, Valenta R, Jardetzky T, et al. The role of allergen-specific IgE, IgG and IgA in allergic disease. Allergy 2021;76:3627-41.
170. Akdis C, Blesken T, Akdis M, et al. Role of interleukin 10 in specific immunotherapy. J Clin Invest 1998;102:98-106.
171. Penagos M, Durham S. Duration of allergen immunotherapy for inhalant allergy. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2019;19:594-605.

172. Jacobsen L, Niggemann B, Dreborg S, et al. Specific immunotherapy has long-term preventive effect of seasonal and perennial asthma: 10-year follow-up on the PAT study. Allergy 2007;62:943-8.
173. Penagos M, Durham S. Allergen immunotherapy for long-term tolerance and prevention. J Allergy Clin Immunol 2022;149:802-11.