

# HYPOSENSIBILISATIE BIJ POLLINOSIS,

veroorzaakt door stuifmeel van gras



# **HYPOSENSIBILISATIE BIJ POLLINOSIS,**

**veroorzaakt door stuifmeel van gras**

## **PROEFSCHRIFT**

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN DE  
GENEESKUNDE  
AAN DE ERASMUS UNIVERSITEIT ROTTERDAM  
OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS  
PROF. DR. J. SPERNA WEILAND  
EN VOLGENS BESLUIT VAN HET COLLEGE VAN DEKANEN.  
DE OPENBARE VERDEDIGING ZAL PLAATSVINDEN OP  
WOENSDAG 18 MEI 1983 DES NAMIDDAGS  
TE 3.45 UUR

DOOR

**Paul Hendrik DIEGES**

geboren te Hengelo (O.)



krips repro meppel

1983

PROMOTOREN : Prof. Dr. H. G. van EIJK  
Prof. Dr. N. MASUREL

CO-REFERENTEN : Prof. Dr. K. de VRIES  
Prof. R. van STRIK

Aan Reggy, Doménique en Rogier



INHOUDSOPGAVE	pag.
WOORD VOORAF	9
INLEIDING	11
I ALLERGIE	13
II POLLINOSIS	23
III EIGEN ONDERZOEKINGEN	45
IV RESULTATEN VAN HET ONDERZOEK NAAR DE REPRODUCEER- BAARHEID VAN HUIDTESTS MET GRASPOLLENEXTRACT (DIREKTE REACTIES)	67
V RESULTATEN VAN DE ONDERZOEKINGEN MET HYPOSENSIBILI- SATIE MET GRASPOLLENEXTRACT	79
- Onderzoek 379-12-1	79
- Onderzoek 379-12-3	87
- Onderzoek 379-12-5	99
- Onderzoek 379-12-7	129
- Onderzoek 379-12-10	149
Samenvatting van de onderzoeken	174
VI DISKUSSIE EN CONCLUSIE	177
SAMENVATTING	189
SUMMARY	195
LITERATUURLIJST	199
BIJLAGEN	223
CURRICULUM VITAE	231





## WOORD VOORAF

Bij de totstandkoming van dit proefschrift hebben velen in de loop der jaren op verschillende wijze hun bijdrage geleverd. Hen allen ben ik zeer erkentelijk. Zonder anderen daarmee te kort te willen doen, zou ik enkelen met name willen noemen:

Mijn promotoren Prof.Dr. H.G. van Eijk en Prof.Dr. N. Masurel hebben met veel toewijding de totstandkoming van dit proefschrift begeleid en verleenden tevens gastvrijheid aan de analisten Mevrouw M. Mekes en de Heer W.H. van Eijk (beiden aangesteld op een z.g. pool-plaats) en Mevrouw G.C.T.M. Kuypers-van Dooremalen. Prof. R. van Strik heeft de statistische bewerking van de vele gegevens zorgvuldig begeleid. Prof.Dr. K. de Vries (afdeling Allergologie van het Academisch Ziekenhuis Groningen) heeft eveneens mede vorm gegeven aan de uiteindelijke versie van dit proefschrift.

Door Dr. R.C. Aalberse en medewerkers van het Centraal Laboratorium van de Bloedtransfusiedienst van het Nederlandse Rode Kruis te Amsterdam werd veel laboratoriumwerk verricht. Prof.Dr. J. Noordhoek en medewerkers (vroeger Instituut Farmacologie - hoofd: Prof.Dr. I.L. Bonta - Erasmus Universiteit Rotterdam) hebben de bepalingen met de "histamine-release-test" uitgevoerd. Prof.Dr. E. Bleumink van de afdeling Dermatologie, Academisch Ziekenhuis Groningen, was behulpzaam bij de opzet van de indirecte haemagglutinatie-test. Dr. F.Th.M. Spieksma (destijds van de afdeling Allergologie - hoofd: Prof.Dr. R. Voorhorst - van het Academisch Ziekenhuis Leiden) stelde de pollen-tellingen van zomer 1975 ter beschikking.

Achtereenvolgens hebben Mevrouw. F. Hoogerwerf-van der Veen en Mevrouw A. van der Kooi-de Ruiters en vooral Mevrouw G. Schut-Merkus de huidtesten en de huidreactie-remmingstesten verricht. Het vele typewerk werd in de loop der jaren verricht door Mevrouw M.J.P.G. van Ravesteyn-Dings, Mevrouw. W. Lotze-Ruizendaal en Mevrouw L.M. Senduk. Mevrouw E. van der Schee-van Driel heeft de definitieve versie van dit proefschrift "drukklaar" getypt.

Het vele tekenwerk en de fotografie werd uitgevoerd door diverse medewerkers van de Audio Visuele Dienst, Erasmus Universiteit.

Ondersteuning bij de onderzoeken van het proefschrift werd ondervonden van Laboratorium Diephuis te Groningen, Pharmacia (destijds via Gist-Brocades Farmaca) en Essex Nederland. Publicatie van het proefschrift is mede mogelijk gemaakt door het Nederlands Astma Fonds.

De onderzoeken, in dit proefschrift beschreven, vormen een onderdeel van het projekt Hyposensibilisatie van de vakgroep Keel-, Neus- en Oorheelkunde van de Faculteit der Geneeskunde, Erasmus Universiteit Rotterdam. De schrijver van dit proefschrift is als wetenschappelijk hoofdmedewerker, verbonden aan het Instituut Keel-, Neus- en Oorheelkunde (hoofd achtereenvolgens: Prof.Dr. W.H. Struben, Prof.Dr. E.H. Huizing, Prof.Dr. C.D.A. Verwoerd), van dezelfde universiteit.

Dit proefschrift werd aanvankelijk bewerkt in de Polikliniek Allergologie van de afdeling Keel-, Neus- en Oorheelkunde (destijds hoofd: Prof.Dr. W.H. Struben) en vanaf september 1975 in de afdeling Allergologie (hoofd: P.H. Dieges, allergoloog) van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam.

Laboratorium-faciliteiten werden verleend door Prof.Dr. H.G. van Eijk (Instituut Chemische Pathologie, hoofd: Prof.Dr. B. Leijnse) en door Prof.Dr. N. Masurel (hoofd Instituut Virologie) van de Faculteit der Geneeskunde, Erasmus Universiteit Rotterdam.

Statistische bewerking van de resultaten van het onderzoek werd verricht in overleg met Prof. R. van Strik (hoofd Instituut Biostatistica, Faculteit der Geneeskunde, Erasmus Universiteit Rotterdam).

## INLEIDING

Pollinosis of "hooikoorts" is een ziektebeeld, dat bepaald wordt door een allergie (nauwkeuriger: atopie) voor het stuifmeel of pollen van windbestuivende planten. In Nederland komt hooikoorts door pollen van gras het meest voor. Het ziektebeeld is uiteraard gebonden aan de bloeiperiode van de betreffende plant, in het geval van gras in Nederland voornamelijk van mei tot augustus. Door deze begrenzing is het ziektebeeld zowel voor de patient als voor de arts meestal goed herkenbaar. Daardoor vormen patienten met een dergelijk ziektebeeld een goed "model", waaraan het effect van een behandeling als hyposensibilisatie kan worden afgemeten.

Hyposensibilisatie is een vorm van behandeling, waarbij een patient langdurig wordt ingespoten met een extract van de stof, waarvoor bij de patient een atopie bestaat. De bedoeling is om de ernst van de klachten, die door die atopie bepaald worden, te laten verminderen.

Aanleiding tot de onderzoekingen, die in dit proefschrift beschreven zijn, is de omstandigheid dat er twijfels bestaan over het nut van hyposensibilisatie bij pollinosis. Deze twijfels hebben aanleiding gegeven tot de vraagstellingen van het proefschrift:

- wat is de klinische effectiviteit van hyposensibilisatie bij pollinosis?
- in hoeverre worden door de behandeling (immunologische) veranderingen teweeggebracht en in hoeverre kunnen deze veranderingen verantwoordelijk worden gesteld voor de eventuele vermindering van klachten?
- welke plaats neemt de hyposensibilisatie in bij de therapie van hooikoortspatienten?

De meeste onderzoekingen, die in dit proefschrift beschreven zijn, betreffen het verloop tijdens hyposensibilisatie van

direkte en late reacties bij huidtests met graspollenextract en van de titers van verschillende antistoffen, die met de atopische allergie te maken hebben. Bij één van de onderzoeken wordt het effect van hyposensibilisatie met een z.g. depot-extract van graspollen op het klachtenpatroon nagegaan. Daarbij wordt gebruik gemaakt van een door Norman ontwikkelde en op zijn waarde getoetste methode om de klachten en het gestandaardiseerde gebruik van medicamenten zoveel mogelijk in maat en getal vast te leggen. De opzet en de resultaten van dit onderzoek zijn vergelijkbaar met die van een dergelijk onderzoek van Norman met depot-extract van ragweed-pollen.

De resultaten van de onderzoeken zullen besproken worden in het kader van de vraagstellingen, zoals deze hierboven omschreven zijn.

# I ALLERGIE

## I.1 Het begrip allergie

Het begrip allergie werd in 1906 door Von Pirquet ingevoerd. Uit het betreffende artikel kan afgeleid worden, dat met allergie het "veranderde reactievermogen" wordt bedoeld ongeacht het klinische resultaat van "overgevoeligheid" of van "immunitet". Al lang wordt in de dagelijkse medische praktijk het begrip allergie gebruikt voor "overgevoeligheid" in de zin van Von Pirquet. Hernieuwde invoering van de term allergie zoals door Von Pirquet werd aangegeven, wordt door Coombs en Gell (1975) bepleit, doch dit wordt in de literatuur weinig nagevolgd en lijkt uit praktische overweging niet aangewezen.

In dit proefschrift wordt onder allergie verstaan: een in kwalitatieve zin veranderde gevoeligheid voor een stof op basis van een immunologisch proces en wel voor een stof die van buiten het menselijk lichaam afkomstig is (Voorhorst, 1962; Sherman, 1968; Middleton et al, 1978; Bellanti, 1978). Als uitgangspunt bij de veranderingen worden normergie of normale anergie aangehouden. Het immunologische proces is door voorafgaand contact van het lichaam met de stof in gang gezet. Een dergelijk antigeen, dat de oorzaak van het immunologische proces én van de allergische reactie is, wordt allergeen genoemd.

Bij allergie worden de fysiologische en histologische veranderingen, die aan het klinische beeld ten grondslag liggen, veroorzaakt door tussenprodukten of mediators, die bij de immunologische reactie vrijkomen.

Schematisch:   allergeen  
                  ↓  
                  immunologische reactie  
                  ↓  
                  mediators  
                  ↓  
                  verschijnselen en klachten

## I.2 Immunologische processen

Een immunogeen is een stof met het vermogen een specifiek immunologisch proces op te roepen. Een antigeen is een stof die met het produkt van een specifiek immunologisch proces kan reageren. Immunogene stoffen zijn altijd antigeen, doch antigene stoffen hoeven niet altijd immunogeen te zijn. Zo kunnen haptenen wel met antistoffen reageren, doch deze zelf niet opwekken.

Men onderscheidt "humorale" en "cellulaire" immunologische processen.

In het "humorale" immunologische systeem functioneren z.g. bursa-afhankelijke lymfocyten (B-lymfocyten) en plasmacellen als producenten van antistoffen, specifiek gerichte immunglobulines (Ig). Er bestaan vijf klassen immunglobulines (Tabel I-I). De immunglobulines hebben alle dezelfde grondstructuur bestaande uit twee klasse-specifieke zware ketens en twee lichte ketens, waarvan de twee varianten bij elke immunglobulineklasse kunnen voorkomen.

De immunglobulines G kunnen in vier subklassen worden onderverdeeld, waarvan in dit proefschrift de subklassen IgG<sub>1</sub> en IgG<sub>4</sub> ter sprake komen.

Van het immunglobuline A bestaat een speciale vorm in het sereet van respiratoire slijmvliezen: het secretorisch IgA, dat uit twee moleculen IgA en twee verbindingsstukken ("J-chain" en "Secretory piece") bestaat.

De antistoffen die verantwoordelijk zijn voor hooikoorts als ziekte op basis van de allergievorm "atopie", behoren tot de immunglobulineklasse E.

Immuunglobulines kunnen door papaine in twee fragmenten gesplitst worden: een antigeenbindend fragment F(ab)<sub>2</sub> en een "crystalliseerbaar" fragment Fc (Figuur I-1).

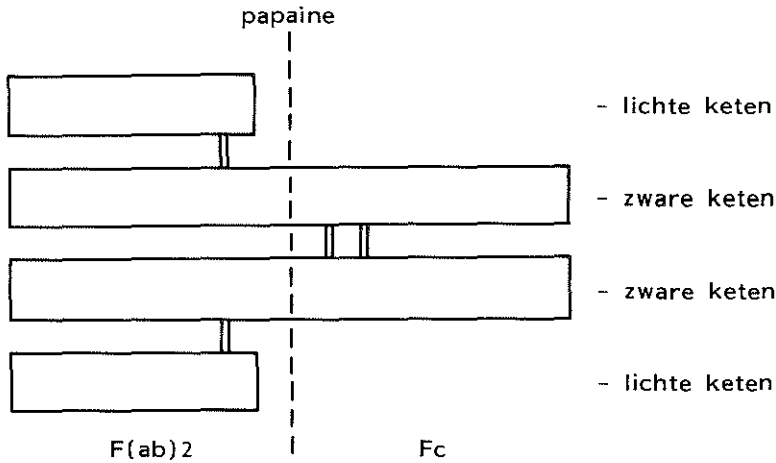
Het immunglobuline-E kan zich met het Fc-fragment binden aan mestcellen en basofiele leucocyten. Antistoffen bij dieren tegen menselijk IgE opgewekt, binden zich met het Fc-fragment.

TABEL I-I Overzicht immuunglobulines

afkorting	zware keten	lichte keten	samenstelling	molecuul-massa
IgG	$\gamma$	$\kappa, \lambda$	$\gamma_2\kappa_2, \gamma_2\lambda_2$	150.000
IgA	$\alpha$	$\kappa, \lambda$	$\alpha_2\kappa_2, \alpha_2\lambda_2$	160.000
secre.IgA	$\alpha$	$\kappa, \lambda$	$(\alpha_2\kappa_2)_2^{SC-J}, (\alpha_2\lambda_2)^{SC-J}$	370.000
IgM	$\mu$	$\kappa, \lambda$	$(\mu_2\kappa_2)_5^J, (\mu_2\lambda_2)_5^J$	900.000
IgD	$\delta$	$\kappa, \lambda$	$\delta_2\kappa_2, \delta_2\lambda_2$	160.000
IgE	$\epsilon$	$\kappa, \lambda$	$\epsilon_2\kappa_2, \epsilon_2\lambda_2$	197.000

J = "J-chain"

SC = "Secretory piece"



Figuur I-1. Structuur immuunglobuline

Bij het "cellulaire" immunologische systeem worden thymus-afhankelijke lymfocyten (T-lymfocyten) als effektor-cellen gevormd. Bepaalde T-lymfocyten kunnen als T-helper-cellen en als T-suppressor-cellen regulerend bij antistof-vorming door het "humorale" immunologische systeem optreden. Voor overzicht van immunologische processen en mediators, zie: Roitt (1977); Bellanti (1978); Middleton et al (1978); Gupta et al (1979); Lewis et al (1981) en Newball et al (1981).

### I.3 Atopie

Door Coca et al (1923) worden allergische reacties ingedeeld in atopie, anafylaxie en infectie-overgevoeligheid. Met atopie wordt door deze auteur bedoeld: het erfelijk-constitutioneel voorkomen bij mensen van eczeem, hooikoorts, astma en urticaria, meestal "spontaan" vanaf jonge leeftijd, waarbij vaak, doch lang niet altijd, z.g. reagents konden worden aangetoond. Al meer dan tien jaar is bekend, dat reagents specifieke IgE-antistoffen zijn (Ishizaka et al, 1968; Ishizaka et al, 1971; Ishizaka et al, 1979; Johansson et al, 1978).

Het atopie-begrip van Coca blijkt in de praktijk niet goed hanteerbaar, omdat verschillende ziektebeelden niet alle dezelfde IgE-bepaalde pathogenese hebben (Voorhorst, 1962, 1971; Middleton et al, 1978). In ons land heeft Voorhorst (1962, 1971) het begrip atopie als volgt beperkt: "atopische allergie is de waarschijnlijk meestal erfelijke eigenschap van bepaalde personen "atopische" reagents te vormen, welke na contact met het bijbehorende allergeen de oorzaak zijn van een aantal aandoeningen, die sterke gelijkenis vertonen met reacties op histamine". Hier zal atopie ook in deze zin gebruikt worden. In deze definitie van Voorhorst kan "reagents" vervangen worden door "specifieke IgE-antistoffen". Men wordt niet "spontaan" atopisch, zoals Coca dacht; meestal zijn één of meer jaren van contact met het allergeen nodig ("sensibilisatie") om zoveel specifieke IgE-antistoffen te vormen, dat klachten bij contact optreden.



Atopieën tegen inhalatie-allergenen als huisstofmijten, pollen of stuifmeel en huidschilfers van harige dieren (zich uitend in rhinitis, al dan niet met conjunctivitis en/of astma bronchiale) komen duidelijk meer voor dan atopieën tegen voedings- en geneesmiddelen en giften van bijen en wespen (zich uitend als urticaria, angioedeem, bloeddrukdaling, eventueel shock en soms astma bronchiale) (Voorhorst, 1971). Door Voorhorst worden ziektebeelden, die samenhangen met de erfelijk bepaalde constitutie, maar waarschijnlijk niet op een atopie als zodanig berusten (bijvoorbeeld constitutioneel eczeem), te zamen met de atopische ziektebeelden omschreven als het atopie-syndroom.

Naast specifieke IgE-antistoffen, bestaan er bij atopie ook specifieke IgG- en specifieke IgA-antistoffen (Van der Giessen et al, 1976; Platts-Mills et al, 1978-1; Platts-Mills, 1979).

Door Sventivanyi (1979) wordt een verband gelegd tussen IgE-bepaalde mechanismen bij atopie met een dysbalans van het autonome zenuwstelsel (verminderde functie van het  $\beta$ -adrenerge effectorsysteem) en hyperreactiviteit voor farmacologisch actieve stoffen als histamine en acetylcholine (zie ook Kaliner, 1982).

#### I.4 Vormen van allergie

Er bestaan verschillende vormen van allergie. Indelingen zijn gemaakt door Voorhorst (1962) en Sherman (1968) met aansluiting op die van Coca et al (1923) en door Coombs en Gell (1975). Dergelijke indelingen zijn schematisch. Bij bepaalde ziektebeelden kunnen meer vormen van allergie tegelijkertijd voorkomen. Klinisch is van belang, dat ook andere dan allergische factoren "allergische" ziektebeelden mede kunnen bepalen. Vooral de laatste jaren is duidelijk geworden, dat de immunologische pathogenese van veel allergische ziekten ingewikkelder is dan aanvankelijk werd verondersteld.

In Tabel I-II wordt een overzicht van de allergievormen naar Sherman en Voorhorst gegeven. Er wordt onderscheid gemaakt tussen die vormen van allergie, die door antistoffen worden bepaald

en die vorm die van T-lymfocyten afhankelijk is. Bij de door antistoffen bepaalde vormen wordt onderscheid gemaakt tussen atopie (specifieke IgE-antistoffen) en anafylaxie (andere dan specifieke IgE-, meestal IgG-antistoffen). Dit onderscheid is zinvol, omdat waarschijnlijk een erfelijk bepaalde constitutie nodig is om de specifieke IgE-antistoffen gemakkelijk en langdurig te maken (Marsh et al, 1982). Voorts zijn specifieke IgE-antistoffen in zeer lage concentraties werkzaam en wel speciaal door hun langdurige hechting (Ishizaka et al, 1971; Platts-Mills, 1978-2) aan mestcellen en basofiele leucocyten, "voor-raadschuren" van een grote reeks mediators. Tenslotte is de hoeveelheid allergeen die nodig is om een atopische reactie op te wekken in het algemeen een faktor duizend kleiner dan voor een anafylactische reactie (Stanworth, 1973). Dat het klinisch bij de atopie om geringe hoeveelheden allergeen gaat, blijkt uit de totale expositie aan hoofdallergeen van ragweed-pollen gedurende het bloeiseizoen, namelijk 1 µgram (Marsh, 1975).

TABEL I-II Vormen van allergie volgens Sherman en Voorhorst

<u>"Immediate type"</u>	- antistoffen
atopie	- IgE
anafylaxie	- meestal IgG (in elk geval non-IgE)
direct	
Arthus-reactie	
serumziekte	
<u>"Delayed type"</u>	- T-lymfocyten

De indeling van allergievormen volgens Coombs en Gell (1975) bestaat uit vier typen I t/m IV (Tabel I-III). Door Roitt (1977) wordt nog een type V ("stimulatory hypersensitivity") onderscheiden, dat door Coombs en Gell bij type II wordt ondergebracht.

TABEL I-III Vormen van allergie volgens indeling Coombs en Gell

type I	- "anafylactische" type (wellicht beter: "directe" type) meestal IgE (atopie)
type II	- cytotoxische type
type III	- type van "toxische" immunocomplexen
type IV	- vertraagd type

Type I wordt door Coombs en Gell anafylactisch genoemd, waarbij de betekenis anders is dan bij Sherman en Voorhorst. Om misverstanden te voorkomen, zou wellicht beter van directe type gesproken kunnen worden. Bij type I bevinden antistoffen zich aan mastcellen en basofiele leucocyten. Komt het allergeen daarbij, dan volgt vrijmaking van een grote reeks mediators, zoals thans bij door specifieke IgE-bepaalde, atopische reacties is beschreven (Plaut et al, 1978; Ho et al, 1979; Lewis et al, 1981; Newball et al, 1981). Voor de volledigheid wordt hier vermeld, dat de term anafylaxie door sommige auteurs alleen gebruikt wordt voor elke directe algemene allergische reactie.

Tenslotte kan voor de plaatsbepaling van allergie in het kader van de immunopathologie de volgende indeling (zie Bellanti, 1978) gebruikt worden:

- proliferatieve aandoeningen van het immunologische apparaat (gammopathieën, lymfoproliferatieve ziekten);
- immuundeficiëntie-ziekten;
- ziekten waarbij het produkt van het immunologisch apparaat ziekmakend is ("immunologically mediated diseases"), en wel in reactie met:
  - autoloog (uit het eigen lichaam afkomstig) antigeen (auto-immuun ziekten);

- homoloog (uit andermans lichaam afkomstig) antigeen (afstoting van transplantaten, transfusiereacties);
- exogeen (van buiten het menselijk lichaam afkomstig) antigeen: allergie.

### I.5 Overgevoeligheid

De term "overgevoeligheid" is onduidelijk, omdat daarmee niet kan worden aangegeven of dit in kwalitatieve of in kwantitatieve zin is bedoeld en omdat met deze term geen omschreven pathogenetisch mechanisme wordt aangegeven.

Overgevoeligheid in kwantitatieve zin wordt hyperreactiviteit of hyperergie genoemd. Bij de meeste patienten met atopische rhinitus en astma bronchiale zijn de luchtwegen al of niet tijdelijk in wisselende mate hyperreactief, waarmee overprikkelbaarheid voor specifieke prikkels als bepaalde geuren, dampen en temperatuursovergang wordt bedoeld. Een dergelijke hyperreactiviteit gaat vaak samen met een hyperreactiviteit voor histamine, acetylcholine en propranolol (De Vries, 1971; Gökemeijer, 1976; Sventivanyi, 1979; Boushey et al, 1980; Hargreave et al, 1981; Koëter et al, 1982).

Onder bepaalde omstandigheden kan niet-immunologische vrijmaking van mediators plaatsvinden. Zo lijken de meeste overgevoelighedsreacties op röntgen-contrastmiddelen op een dergelijk mechanisme te berusten (Gerovic et al, 1979), hoewel in enkele gevallen ook ernstige atopische reacties kunnen voorkomen (Wakkers-Garritsen et al, 1975).

Stoffen kunnen ook op allergie gelijkende reacties geven als deze stoffen mediators bevatten, bijvoorbeeld histamine in oude kaas (Doeglas et al, 1967) en in makreel (Coutinho et al, 1979).

Ook enzymdeficiënties kunnen op allergie lijkende ziektebeelden veroorzaken. Zo wordt melk slecht verdragen bij lactase-deficiëntie. Een combinatie van enzymdeficiëntie en niet-immunolo-

gische vrijmaking van mediators is aanwezig bij het erfelijke angioedeem. Dit berust op het ontbreken van (funktioneel) c'esteraseremmer, een enzym dat regulerend werkt in het complement- en het kinine-systeem (Kaplan, 1978).

Tenslotte komen "intoleranties" voor, waarvan het pathogenetisch mechanisme niet voldoende vaststaat of onduidelijk is. Bij oudere astma-patienten met neuspoliepen en soms sinusitis (meestal zonder atopie) kan het voorkomen, dat zij na inname van kleine hoeveelheden acetosal en vaak ook andere ontstekingsremmende middelen en bepaalde kleurstoffen, heftig kortademig worden (Harnett et al, 1978; Snider et al, 1978; Lewis et al, 1981).



## II POLLINOSIS

### II.1 Definitie en klinisch beeld

Pollinosis of hooikoorts kan omschreven worden als een ziektebeeld, dat bepaald wordt door een atopie voor pollen (= stuifmeel) van windbestuivende planten (Sherman, 1968; Voorhorst, 1971; Patterson, 1972). In Nederland komt hooikoorts, veroorzaakt door graspollen het meeste voor (Voorhorst, 1971; Van den Assem, 1972); dit wordt de typische of klassieke hooikoorts genoemd. In dit proefschrift wordt voortaan met hooikoorts het ziektebeeld van de typische hooikoorts bedoeld: is er sprake van pollinosis door andere dan graspollen, dan wordt dit als zodanig aangegeven. De klachten door expositie aan pollen komen alleen voor in de perioden dat het gras bloeit; in Nederland vooral van half mei tot half juli (Landwehr, 1977). Bij droog en zonnig weer zijn er meer pollen in de lucht dan in natte, regenachtige perioden. In het open veld hebben hooikoorts-patienten meer last dan binnenshuis. Sinds enkele jaren wordt in de zomermaanden door de radio dagelijks een bericht voor hooikoortspatienten uitgezonden, dat een voorspelling van klachten op de volgende dag behelst (Spieksma, 1980). De stuifmeelkorrels van gras zijn groter dan 20  $\mu\text{m}$  zodat zij niet of in geringe mate de bronchiaalboom bereiken (Wilson et al, 1973; Charpin et al, 1978).

Pollinosis wordt gekenmerkt door:

- neusklachten zoals jeuk, niezen, waterige secretie en al of niet verminderde doorgankelijkheid;
- oogklachten zoals jeuk, branderigheid en tranen;
- nogal eens longklachten zoals kortademigheid en piepen ("astma").

Patienten klagen ook wel over jeuk achter in de keel of "diep in de oren". Bij hooikoorts komt frekwenter een gestoorde longfunctie voor dan op grond van het klinisch beeld verwacht wordt;

vooral bij duidelijk aanwezige bronchiale hyperreactiviteit is er sprake van astma (Rosenthal, 1979-1; Townley et al, 1979; Spector et al, 1979; Fish et al, 1979; Boushey et al, 1980). Hyperreactiviteit voor histamine en metacholine is echter geen conditio sine qua non voor bronchusobstructie door verstoven pollen extract (Hargreave et al, 1981).

Typische hooikoorts begint voornamelijk tussen het vijfde en vijfendertigste levensjaar. De duur bedraagt meestal minstens tien jaar, doch dikwijls veel langer en tot op hoge leeftijd.

Het ziektebeeld bij hooikoorts wordt mede bepaald door enkele andere factoren. De reactiviteit van de bovenste en onderste luchtwegen wordt sterker naarmate het seizoen vordert: hyperreactiviteit en/of "priming effect" (zie II.3). Vooral virale luchtweginfecties tijdens het seizoen kunnen de klachten sterk verergeren; dikwijls komt dan ook kortademigheid in duidelijke mate voor. Vooral na een droge, warme zomer kunnen de klachten langer blijven bestaan dan de eigenlijke bloeiperiode van gras. Dit wordt geweten aan specifieke prikkeling op basis van hyperreactiviteit en/of het "priming effect".

Bij tweederde van de hooikoortspatienten bestaat tevens een duidelijke atopie voor andere inhalatie-allergenen zoals huisstofmijten en huidschilfers van harige dieren als kat, cavia e.d.. Bij deze patienten komt meer astma voor dan bij hooikoorts "sec". Er is veelal een duidelijke hyperreactiviteit van de onderste luchtwegen aanwezig, zodat bij deze patienten pollenastma ook meer lijkt voor te komen. Ook bij patienten met huisstofmijten-atopie en atopie voor huidschilfers van kat bestaat er bij aanwezigheid van astma een duidelijke hyperreactiviteit voor histamine en acetylcholine van de onderste luchtwegen (Gökemeijer, 1976; Neijens, 1981). Tenslotte zijn er hooikoortspatienten met chronische klachten van bovenste en onderste luchtwegen, die als enige atopie een graspollenatopie hebben.

Het ziektebeeld van hooikoorts is, zoals hiervoor reeds vermeld, aan de bloeiperiode van gras gebonden. Voor alle patienten in



dezelfde regio is de in de tijd wisselende expositie aan pollen van dezelfde orde van grootte. De hooikoortspatient is derhalve een uitstekend model, wanneer men de invloed van de expositie aan het allergeen op het ziektebeeld en het effect van behandeling als hyposensibilisatie wil onderzoeken.

Naast pollinosis door graspollen in West-Europa komt in Noord-Amerika frekwent pollinosis door ragweedpollen en in de Scandinavische landen door berkenpollen voor.

## II.2 Pathogenese

Wanneer een individu erfelijk daartoe is voorbestemd (Marsh et al, 1982), leidt de opname van pollenallergenen in respiratoire slijmvliezen tot de vorming van specifieke IgE-antistoffen (Ishizaka et al, 1968; Ishizaka et al, 1971; Ishizaka et al, 1979; Johansson et al, 1978). Na vorming ter plaatse in het slijmvlies binden specifieke IgE-antistoffen zich aan mestcellen. Daarnaast komen specifieke IgE-antistoffen in de bloedbaan, alwaar zij in serum aantoonbaar zijn en zich tevens aan basofiele leucocyten hechten. Elders in het lichaam verdwijnen deze IgE-antistoffen gedeeltelijk uit de bloedbaan en hechten zich langdurig aan mestcellen in andere weefsels, voornamelijk (andere) slijmvliezen en de huid. De halfwaardetijd van IgE-antistoffen in de huid is ongeveer een maand (Platts-Mills, 1978-2). Veel mestcellen bevinden zich in het weefsel van de bovenste en onderste luchtwegen en van de huid. In het slijmvlies komen deze cellen ook in het epitheel en in het lumen voor (Ts'ao et al, 1977). Tijdens de expositie aan het allergeen is er een toename van het aantal mestcellen in het epitheel van neusslijmvlies en worden in het nussecreet naast mestcellen ook basofiele leucocyten gevonden (Hastie et al, 1979).

De IgE-belading van basofiele leucocyten, van mestcellen in de huid, adenoid, tonsillen en bronchiaalweefsel en het totaal IgE-gehalte in het serum is aan elkaar gecorreleerd (Feltkamp-Vroom et al, 1975; Stallman, 1977). Daarbij is de IgE-belading van basofiele leucocyten en mestcellen ten opzichte van het totaal

IgE-gehalte van het serum hoger bij atopische patienten dan bij normalen, al konden anderen daarentegen geen verschil vinden tussen de basofiele leucocyten van hooikoortspatienten en van normale proefpersonen (Conroy et al, 1977; Malveaux et al, 1978). Bij pollinosis is de verhouding tussen specifiek en totaal IgE in het serum bijna steeds dezelfde als op de basofiele leucocyten (Van Toorenenbergen, 1982). Gezien de vrij grote overeenkomst tussen basofiele leucocyten en mestcellen (Vervloet et al, 1980) is aan te nemen dat dit ook voor mestcellen in de weefsels geldt.

Specifieke IgE-antistoffen tegen graspollen worden het gehele jaar door in wisselende mate gevormd. De specifieke IgE-titer in het serum heeft kort voor het pollenseizoen de laagste waarde en is het hoogst aan het eind en direkt na het pollenseizoen; ongeveer een maand later begint een daling (Aalberse, 1974; Berg et al, 1971; Henderson et al, 1975).

In het neussecreet van hooikoortspatienten kunnen specifieke IgE-antistoffen worden aangetoond (Deutschl, 1976; Platts-Mills et al, 1978-1). Zowel in neussecreet als in serum worden bij hooikoortspatienten naast specifieke IgE- ook specifieke IgA- en specifieke IgG-antistoffen gevonden (Platts-Mills et al, 1978-1; Platts-Mills, 1979).

Specifieke IgG-antistoffen in het serum bevinden zich voornamelijk in de IgG<sub>1</sub>- en IgG<sub>4</sub>-klasse (Van der Giessen et al, 1976; Devey et al, 1976). Bij gezonde personen kunnen in het serum en het neussecreet specifieke IgG- en/of specifieke IgA-antistoffen voorkomen, doch geen specifieke IgE-antistoffen (Platts-Mills, 1979).

Bij contact van allergenen met specifieke IgE-antistoffen op mestcellen en basofiele leucocyten komt een grote reeks mediators vrij, die verantwoordelijk zijn voor de verschijnselen en klachten voor zover door het allergeen bepaald (Plaut et al, 1978; Wasserman, 1979-1; Ho et al, 1979; Lewis et al, 1981; Newball et al, 1981). Een aantal van deze mediators heeft een "direkt" effect met een maximum na 15 tot 20 minuten zoals hista-

mine, andere hebben een langdurig effect zoals "slow-reacting-substance of anaphylaxis" en weer andere hebben een effect dat pas na uren aantoonbaar is zoals de eosinofielen-chemotactische faktor en de leucocyten-chemotactische faktor. Sinds kort is bekend dat de "slow-reacting-substance of anaphylaxis" en de chemotactische factoren leucotriënes zijn (Goetzl, 1980; Samuelsson, 1981; Lewis et al, 1981).

Bij het verrichten van huidtesten en provocatieproeven van neus en onderste luchtwegen met pollenextracten wordt vaak naast een direkte ook een zogenaamde late reactie gevonden, die na 5-6 uur begint en 24-48 uur kan duren (Taylor, 1973; Robertson et al, 1974; Solley et al, 1976; Hargreave et al, 1981; Gleich, 1982). Late huidreacties met pollenextracten zijn IgE-afhankelijk; het histologische beeld past niet bij dat van een Arthus-reactie (Solley et al, 1976). Ook bij inhalatie-provocatie van de onderste luchtwegen met pollenextracten komen late reacties voor. Enerzijds wordt verondersteld dat deze late reacties eigenlijk Arthus-reacties zouden zijn, zoals deze bij de allergische bronchopulmonaire aspergillose aanwezig zijn (McCarthy et al, 1971). Hiervoor pleiten het tijdsverloop en de protectie door corticosteroïden; ertegen pleiten het ontbreken van koorts en leucocytose en de vrijwel gehele afwezigheid van precipiterende antistoffen (Perelmutter et al, 1962).

Anderzijds wordt verondersteld, dat de late reacties afhankelijk zijn van mediators: vooral de neutrofielen-chemotactische faktor (Wasserman et al, 1979-2; Becker, 1980). Deze mediator zou ter plaatse een infiltraat van neutrofiele granulocyten, lymfocyten en monoccyten veroorzaken.

Uit deze cellen kunnen weer mediators vrijkomen die direct of indirect op gladspierweefsel werken; bovendien zou een dergelijk infiltraat bepalend zijn voor de reactiviteit van het weefsel.

Eosinofiele leucocyten worden bij de atopische reactie aangetrokken door de eosinofielen-chemotactische faktor uit mestcellen en basofiele leucocyten, door histamine en imidazol-azijnzuur, één

van de voornaamste afbraakprodukten. Produkten van eosinofiele leucocyten hebben een regulerende invloed op de atopische reactie (Ottesen et al, 1978; Kay, 1979).

Volgens Berrens (1974) hebben atopische allergeen-extracten in vitro een complement-inactiverend effect; graspollenextract mist deze eigenschap.

### II.3 Reactiviteit bij hooikoorts

Reactiviteit van de onderste en bovenste luchtwegen bij hooikoorts kan onderzocht worden door provocatie met pollen, pollenextracten en, om na te gaan in hoeverre er van hyperreactiviteit sprake is, door provocatie met histamine en acetylcholine of metacholine. Een dergelijke hyperreactiviteit kan ook voorkomen bij niet-atopische aandoeningen van de luchtwegen. De uiteindelijke reactie op pollen en pollenextracten wordt in kwantitatieve zin bepaald door de mate van specifieke gevoeligheid (atopsatie) en de mate van aspecifieke gevoeligheid (hyperreactiviteit).

Deze uiteindelijke reactie kan in kwalitatieve zin verschillen naar gelang van het orgaan waar de reactie plaatsvindt. Dit berust op verschil in anatomische en fysiologische eigenschappen van deze organen. Zo verschilt de neus van de onderste luchtwegen door de aanwezigheid van een uitgebreide vascularisatie van het neusslijmvlies en door de afwezigheid van gladspierweefsel. In de neus zijn voornamelijk  $\alpha$ -adrenerge receptoren en in de bronchiaalboom vooral  $\beta$ -adrenerge receptoren aanwezig; cholinerge receptoren komen zowel in het neusslijmvlies als in de onderste luchtwegen voor. Histamine-provocatie van het neusslijmvlies leidt meestal tot zwelling van het slijmvlies; acetylcholine of metacholine veroorzaakt bij provocatie meer een reactie van niezen en waterige secretie (Grobler, 1966). Het effect van allergeen-provocatie van de longen kan gemeten worden aan de mate van bronchusobstructie. Het effect van neusprovocatie kan vastgesteld worden aan de hand van het optreden van klachten als niezen en waterige secretie en van inspectie

van het neusslijmvlies en de bepaling van de neusdoorgankelijkheid. Voor deze laatste bepalingen worden verschillende methoden gebruikt, waardoor vergelijking van de resultaten bemoeilijkt wordt (Graamans, 1980). Bij provocatie met allergeen-extracten (meestal buiten het pollenseizoen) wordt gebruik gemaakt van nogal eens hoge concentraties pollenextract gedurende korte tijd, terwijl er bij de natuurlijke expositie meestal sprake is van geringe hoeveelheden allergeen gedurende een aantal weken. De situatie in de neus is ook anders buiten dan tijdens het pollen-seizoen (zie hierna).

Bij neusprovocatie met pollenextracten wordt er in het algemeen bij meer dan 70% van de hooikoortspatienten een directe reactie gevonden met wisselend voorkomen van late reacties, waarschijnlijk afhankelijk van de hoeveelheid toegediend allergeen. (Mygind, 1979; Pepys et al, 1975; Erikson, 1979; Grobler, 1966; Richerson et al, 1979). De histaminedrempelwaarde bij neusprovocatie wordt in de literatuur zowel verlaagd als niet-verlaagd opgegeven (Grobler, 1966; McLean et al, 1977).

Connell (1967, 1968-1, 1968-2, 1969-1) heeft een uitgebreid onderzoek bij ragweed-hooikoortspatienten verricht, waarbij de neus buiten het seizoen werd geprovoceerd met echte ragweedpollen. Incidentele provocatie met hoge aantallen pollen had geen resultaat, pas als dit dagelijks werd gedaan, ontstond er (na enkele dagen) een duidelijke reactie. Na 5 dagen provoceren was ongeveer 15% van het aantal pollen van de eerste dag nodig om een hooikoortsbeeld te krijgen met een duidelijke vermindering van de neusdoorgankelijkheid ("priming effect"). Bij verdere dagelijkse provocatie nam het hiervoor benodigde aantal pollen verder af. Na beëindiging van deze dagelijkse provocatie kwam de oorspronkelijke "ongevoeligheid" na verloop van enkele dagen weer terug. Dezelfde onderzoeker stelde vast dat ook tijdens de natuurlijke expositie gedurende het seizoen dit "priming effect" optrad. Na het seizoen duurde het 4 tot 8 weken voordat de oorspronkelijke "ongevoeligheid" was teruggekeerd. Het "priming effect" was lokaal en specifiek. "Priming" door ragweedpollen betekende tegelijkertijd ook "priming" voor niet-verwante pol-

len, voorzover daarvoor ook een lichte atopie bestond. Histologisch werd bij het "priming effect" fragmentatie van de basaal membraan van het neusslijmvlies gevonden en een onveranderd aantal mestcellen in het neusslijmvlies. Men kan zich afvragen in hoeverre het "priming effect" identiek is met tijdens het hooikoortsseizoen ontstane hyperreactiviteit; vergelijkende onderzoeken zijn hierover niet verricht.

Bepalingen van de neusdrempelwaarde voor histamine en acetylcholine of metacholine in relatie tot het pollenseizoen zijn niet beschreven. Neusprovocatie met veratrine, een mengsel alkaloiden met cholinerg effect (Bowman et al, 1980), heeft bij hooikoortspatienten tijdens het seizoen eerder en langduriger niezen tot gevolg dan buiten het seizoen. Provocatie met deze stof buiten het seizoen laat geen verschil zien tussen patienten en controle-personen (Van Lier, 1960).

Neusslijmvlies van hooikoortspatienten is 's-zomers derhalve meer prikkelbaar dan gedurende de winter.

Bij dagelijkse longprovocatie met pollenextract is geen "priming effect" vastgesteld kunnen worden (Rosenthal et al, 1975); de allergeendrempel bleek tijdens en buiten het seizoen gelijk. Andere onderzoekers wijzen er echter op dat de gevoeligheid van de onderste luchtwegen voor pollenextracten na het seizoen hoger is dan bij het begin van het pollenseizoen (Kelly et al, 1979). Over het verloop van de hyperreactiviteit van de onderste luchtwegen tijdens en na het seizoen bestaan wisselende gegevens. Zo wordt beschreven dat de metacholinedrempel niet verschillend is tijdens en na het hooikoortsseizoen (Rosenthal et al, 1979-2). Anderzijds wordt aangegeven dat de hyperreactiviteit voor histamine tijdens het seizoen duidelijk groter wordt om na het seizoen langzamerhand weer tot de waarde van voor het seizoen te dalen (Althounyan, 1970). Bij longprovocatie met onder meer pollenextracten is vastgesteld, dat -vooral wanneer er naast een directe ook een late pollenreactie aanwezig is- de histamine-drempel tijdelijk verlaagd is (Cockcroft et al, 1977; Hargreave et al, 1981).

Nader onderzoek leert dat bronchiale hyperreactiviteit waar-

schijnlijk bepaald kan worden door meerdere mechanismen, al of niet in combinatie (De Vries et al, 1971; Gökemeijer, 1976; Hogg, 1981; Hargreave et al, 1981; Bruynzeel et al, 1982; De Vries et al, 1982; Koëter et al, 1982).

#### II.4 Diagnose

De diagnose van de typische hooikoorts (Sherman, 1968; Patterson, 1972; Middleton et al, 1978; Voorhorst, 1971) wordt gesteld aan de hand van:

- de anamnese;
- het gebruikelijke K.N.O.- en lichamelijk onderzoek;
- zo nodig aangevuld met functie-onderzoeken en röntgenonderzoek;
- aantonen van allergeen in de omgeving van de patient;
- allergologisch onderzoek: huidtesten, zo nodig serologisch onderzoek, eventueel provocatietesten,
- neusslijm- en bloedeosinofilie bij voldoende expositie aan het allergeen.

Een uitgebreide anamnese is ook bij hooikoorts onmisbaar voor de diagnose. Aan de hand hiervan kan meestal uitgemaakt worden in hoeverre bij contact met allergeen klachten ontstaan. Bij een onduidelijke anamnese of een onduidelijk verband tussen anamnese en uitslag van het allergologisch onderzoek kan bij een volgend pollenseizoen de patient opnieuw ondervraagd en onderzocht worden. De anamnese dient verder om na te gaan in wat voor mate andere allergenen, specifieke prikkels, infecties en eventueel stress-situaties het ziektebeeld mede bepalen.

Ieder jaar worden dagelijks in het seizoen de aantallen graspollen en andere pollen in de lucht bepaald in Leiden (Dr. F.Th.M. Spieksma) en in Helmond (P.J. Blaauw).

Essentieel bij de diagnostiek van een atopie is het aantonen van specifieke IgE-antistoffen bij de patient. Bevindingen bij het allergologisch onderzoek hebben alleen dan betekenis voor de patient wanneer er een relatie met de klachten bestaat. Het allergologisch onderzoek verschaft geen informatie over de mate van natuurlijke expositie aan het allergeen bij de patient.

De meest eenvoudige methode voor het aantonen van specifieke IgE-antistoffen zijn de (intracutane) huidtesten met allergeenextract. Bij verdenking op hooikoorts dient getest te worden met een verdunningsreeks van graspollenextract. De directe reactie waarvan het maximum na 15-20 minuten is bereikt, bestaat uit een kwaddel met rode hof en uitlopers. Vooral bij geconcentreerde testextracten wordt nogal eens een late huidreactie gezien, die na ongeveer 5 uur maximaal is en bestaat uit een iets verheven erytheem dat ongeveer 24 uur zichtbaar kan blijven (Robertson et al, 1974; Solley et al, 1976). Voor ragweed-hooikoorts is aangetoond, dat de huidrempelwaarde vrij redelijk correleert met de specifieke IgE-titer, met het resultaat van de histamine-release test van leucocyten-suspensies en met het klinisch beeld (Norman et al, 1973). Goede en nauwkeurige standaardisatie van allergeenextracten is een probleem. Aanmaak op gewicht-volume-basis kan biologisch wisselende resultaten opleveren. Voor standaardisatie lijkt biologische ijking door middel van huidtesten en ijking met behulp van immunologische methoden noodzakelijk (Voorhorst, 1971; Regamey et al, 1975; Löwenstein, 1978; Aas, 1980). De immunologische ijking staat nog in de kinderschoenen. De in deze studie gebruikte allergeenextracten zijn biologisch geijkt. Huidtesten zijn biologische proeven waaraan een zekere onnauwkeurigheid inherent is. Men kan bij de beoordeling van de directe reactie gebruik maken van het schema, afkomstig van Voorhorst (1971). Bij dit schema krijgt de reactie op een 10x sterker extract een plusteken meer, zodat een beoordeling volgens logaritmische schaal tot stand komt. Voor de late huidreacties bestaat er vooralsnog geen dergelijk schema in plustekens. Bij serologisch onderzoek vinden IgE-bepalingen plaats met behulp van radio-immuno-assays. Onderscheid moet gemaakt worden tussen de bepaling van het totaal IgE-gehalte en van het specifieke IgE-gehalte. Voor beide bepalingen bestaan diverse methoden (Gleich et al, 1978; Thomas et al, 1979; Adkinson, 1980; Adkinson, 1981; Merret, 1981). In dit proefschrift wordt het totaal IgE-gehalte van het serum bepaald met behulp van de radio-immuno-sorbent-test of RIST. Het specifieke IgE-gehalte van het



serum wordt bepaald met behulp van de radio-allergo-sorbent-test of RAST. Dergelijke serologische onderzoeken worden verricht als controle op de huidreacties wanneer de huid van de patient minder geschikt is voor huidtesten, zoals bij dermatografie, eczeem en bij kleine kinderen (WHO Memorandum, 1981).

Over de waarde van inhalatie-provocatie-testen met pollenextract van bovenste en onderste luchtwegen voor de diagnostiek bestaat verschil van mening (Voorhorst, 1971; Pepys et al, 1975; Erikson, 1979; Mygind, 1979): voor het stellen van de diagnose pollinosis is deze provocatie meestal niet nodig, indien een duidelijke anamnese en duidelijke huidreacties of RAST-scores aanwezig zijn.

## II.5 Therapie

De therapie van hooikoorts verschilt niet van de behandeling van patienten met andere atopieën voor inhalatie-allergenen (Sherman 1968; Voorhorst, 1971; Patterson, 1972; Middleton et al, 1978):

- vermijding van het allergeen;
- medicamenteuze, symptomatische therapie (gedeeltelijk met preventief karakter);
- antibiotische bestrijding van purulente infecties van bovenste en onderste luchtwegen;
- hyposensibilisatie: vermindering van de atopie.

Verder worden nog genoemd: influenza-vaccinatie bij chronisch astma en, zo nodig, begeleiding van de patient bij stress-situaties.

Hieronder zal op de voornaamste onderdelen van de behandeling worden ingegaan.

### Vermijding van het allergeen

In principe is eliminatie van het allergeen uit de omgeving van de patient de meest eenvoudige en meest doeltreffende vorm van behandeling. Stuifmeel van gras en andere windbestuivende planten kan echter moeilijk uit de weg gegaan worden. Meestal heeft de patient binnenshuis en aan zee minder last. Bij het uitkiezen

van vakantie in het buitenland dient met het plaatselijk pollen- seizoen rekening gehouden te worden (Bagni et al, 1976).

### Medicamenteuze, symptomatische therapie

Symptomatische therapie dient om de produktie van mediators en/of de effecten daarvan tegen te gaan. Hoe deze therapie zich verhoudt tot de hyposensibilisatie, wordt later besproken. Theoretisch zou symptomatische therapie, die de produktie van mediators tegengaat, eerder moeten worden voorgeschreven dan andere symptomatische therapieën. In de praktijk blijkt dit lang niet altijd het geval te zijn. Vanuit praktische overwegingen worden hieronder 3 categorieën van symptomatische therapie onderscheiden, die al of niet in combinatie toe te passen zijn. De tweede categorie heeft een preventief karakter. De volgorde van deze categorieën kan dienen als volgorde van voorschrijven naarmate de klachten ernstiger zijn of worden en wijkt af van de theoretische volgorde.

#### Categorie 1: "gewone" medicamenten voor incidenteel of continu gebruik.

Bij incidentele klachten kunnen deze middelen (zo nodig) worden ingenomen.

Bij continue toepassing van deze middelen is het beste effect te verwachten, doch dit is lang niet altijd nodig. Voordeel van orale therapie is, dat alle slijmvliezen en glad spierweefsel bereikt worden.

##### a) antihistaminica

Antihistaminica hebben meestal een redelijk effect op neus- en oogklachten en worden oraal toegediend. Door gelijktijdige toediening van een lage dosering ephedrine kan de sederende werking van antihistaminica meestal goed worden opgeheven. Vermeldenswaard is het onderzoek van Connell (1979) waarbij aan hooikoortspatienten tijdens het seizoen in het vrije veld een antihistaminicum, een  $\alpha$ -adrenerge stof en een combinatie daarvan werden toegediend onder gekontroleerde omstandigheden. Het antihistaminicum had vooral invloed op het niezen en de

neussecretie en de  $\alpha$ -adrenerge stof vooral op de neusdoorgankelijkheid.

b) anti-astmatica

$\beta_2$ -sympaticomimetica, methylxantine-derivaten en anti-cholinergica werken broncholytisch. Ook combinaties hiervan kunnen worden voorgeschreven.  $\beta_2$ -sympaticomimetica en anti-cholinergica kunnen ook per inhalatie worden toegediend.

Categorie 2: preventieve onderhoudstherapie.

De hier vermelde geneesmiddelen zijn niet effectief bij het couperen van een aanval van klachten. Deze middelen hebben een preventief karakter bij continu gebruik. Pas na een aantal dagen tot weken wordt het maximale klinische effect bereikt. Bij incidentele klachten van de patient komen deze middelen niet in aanmerking.

Aangezien deze middelen plaatselijk toegediend worden, dient te worden gezorgd voor voldoende toegankelijkheid van de organen, m.n. neus en bronchiaalboom. Dit betekent bij patienten met reeds aanwezige klachten, dat deze middelen zeker in het begin van de behandeling moeten worden gekombineerd met middelen uit categorie 1 en bij bronchiale toediening van beclomethason vaak ook met orale prednison-toediening. Op grond van klinische ervaring zou men kunnen stellen, dat de klinische effectiviteit van deze middelen veel groter is wanneer deze worden voorgeschreven, voorafgaande aan een periode met allergeenexpositie, bijvoorbeeld bij hooikoorts vanaf 15 mei of zo nodig eerder. Op deze wijze is het gelijktijdig voorschrijven van andere medicamenten niet of weinig nodig.

a) cromoglicaat

Dit middel voorkomt tot op zekere hoogte vrijmaking van mediatooren uit mestcellen en kan hyperreactiviteit van luchtwegen verminderen (Bernstein, 1981). Het is theoretisch het eerst aangewezen symptomatische geneesmiddel bij atopie (zie ook hierboven). Cromoglicaat wordt lokaal, middels inhalatie (longen), insufflatie (neus) en druppels (ogen) toegediend.

Bij bekende hooikoortspatienten wordt hiermede uiterlijk half mei begonnen; in juli of augustus kan de toediening verminderd en gestaakt worden. Hoewel cromoglicaat-oogdruppels in de dagelijkse praktijk vaak effectief blijken mits op tijd toegediend, kon het gunstig effect bij klinisch onderzoek niet duidelijk worden bevestigd (Welsh et al, 1979; Simon-Licht et al, 1982). Het effect op astma bronchiale van een aantal nieuwe orale middelen, die een met cromoglicaat vergelijkbaar effect zouden hebben, staat vooralsnog ter discussie.

b) beclomethason

Beclomethason (Mygind et al, 1980) is een corticosteroïd met een sterk lokaal effect. De wijze van werking van corticosteroïden bij atopie is onduidelijk. De dosering van beclomethason bij toediening in de neus en onderste luchtwegen is in de praktijk zo laag, dat in het algemeen geen functionele stoornis van de bijnierschors aantoonbaar is. Histologische verandering bij langdurige toediening zijn tot op heden niet aangetoond. De potentiële bijwerkingen bij langdurige beclomethason-toediening lijken groter dan bij cromoglicaat, zodat aan dit laatste middel in eerste instantie de voorkeur wordt gegeven.

Indien er bij intrabronchiale beclomethason-toediening sprake is van een virale of bacteriële infectie, dienen zo nodig ook orale corticosteroïden, al of niet in de vorm van stootkuur, gegeven te worden.

Categorie 3: orale corticosteroïden.

Orale corticosteroïden worden bij hooikoorts alleen incidenteel naast middelen van categorie 1 en/of 2 gegeven. Bij massale expositie aan het allergeen kunnen tijdelijk 1 of hooguit 2 tabletten prednison à 5 mg daags aan de overige medicatie worden toegevoegd. In het Nederlandse klimaat is het meestal niet langer dan enkele dagen achtereen nodig. Een dergelijke benadering in het kader van het hier beschreven behandelingsschema verdient de voorkeur boven de behandeling met depot-corticosteroïden wegens kleinere kans op onderdrukking van de bijnierschorsfunctie. In-

dien astma-patienten een virale of bacteriële luchtweginfectie krijgen, is het nogal eens nodig om naast de andere symptomatische therapie een prednison-stootkuur voor te schrijven. Dit verdient zeker overweging, als de patient beclomethason-inhalaties voor zijn astma krijgt. Bij een virale infectie dient men daarbij echter de mogelijk negatieve gevolgen van prednison in de therapeutische overwegingen te betrekken.

### Antibiotica

Bij hooikoortspatienten is het 's zomers nodig om purulente luchtweginfecties direkt mede met antibiotica gedurende minimaal 10 dagen te behandelen, alsook met voldoende symptomatische therapie. Wegens grote kans op aanwezigheid van Haemophilus influenza verdienen antibiotica als amoxicilline en doxycycline daarbij de voorkeur. Cotrimoxazol kan als een reserve antibioticum gebruikt worden. Bij dergelijke infecties moet gestreefd worden naar voldoende doorgankelijkheid in de neus en voldoende verwijding van de bronchiaalboom. Door deze infecties neemt de hyperreactiviteit van de luchtwegen meestal gedurende enkele weken toe (Empey et al, 1975), waarmede bij theapeutisch handelen rekening dient te worden gehouden.

### Hyposensibilisatie

Hyposensibilisatie bestaat uit de langdurige toediening van extract van het allergeen, waarvoor de patient atopisch is. De bedoeling van hyposensibilisatie is vermindering van de ernst van de klachten en verkorting van de duur van de atopie. In navolging van Cooke (1947) wordt hier de voorkeur gegeven aan de term hyposensibilisatie, omdat een totale ongevoeligheid ("desensibilisatie") niet wordt bereikt. Aangezien de vaccinatie met BCG en met andere bacteriële vaccins bij bepaalde maligniteiten ook immunotherapie wordt genoemd, lijkt het niet zo gelukkig deze term ook voor hyposensibilisatie te gebruiken.

Bij aanneme van de klinische effectiviteit van hyposensibilisatie (zie: Sherman, 1968; Voorhorst, 1971; Patterson, 1972; Middleton et al, 1978; Norman, 1982) komt de vraag naar voren bij welke hooikoortspatienten deze behandeling is geïndiceerd. In

elk geval is de indicatie hiertoe aanwezig bij ernstige hooikoortspatienten, bij wie de klachten 's zomers niet voldoende door geneesmiddelen van categorie 1 en 2 kunnen worden onderdrukt. Anderzijds is hyposensibilisatie niet geïndiceerd bij patienten met lichte hooikoorts, bij wie de incidentele klachten gemakkelijk met geneesmiddelen van categorie 1 kunnen worden onderdrukt. Voor de tussenliggende gevallen van hooikoorts ligt de indicatie tot hyposensibilisatie niet zo duidelijk. Voor patienten met wat ernstiger vormen van hooikoorts, die redelijk symptomatisch behandeld kunnen worden met geneesmiddelen van categorie 1 en 2, is het vaak niet zo aantrekkelijk gedurende 15 à 30 jaar gedurende 2 à 3 maanden per jaar dagelijks (meestal) meerdere geneesmiddelen enkele malen per dag te gebruiken. Dit met de zekerheid, dat op de atopie zelf geen wezenlijke invloed wordt uitgeoefend door de symptomatische therapie. Bij (veronderstelde) effectiviteit van hyposensibilisatie dienen dergelijke patienten zeker op de mogelijkheid van hyposensibilisatie gewezen te worden. Ook bij patienten met betrekkelijk lichte hooikoorts komt het voor, dat de voorkeur wordt gegeven aan hyposensibilisatie boven periodiek gebruik van medicamenten gedurende een betrekkelijk groot aantal jaren.

Er bestaan verschillende vormen van hyposensibilisatie. De meest gebruikelijke vorm is die van subcutane inspuiting. Een dergelijke kuur dient minimaal 3 à 4 jaar continu te worden gegeven en niet, zoals nog wel gebeurt, gedurende een aantal maanden per jaar (Patterson et al, 1978). Voldoende hoge totaaldoseringen aan ingespoten allergeenextract zijn nodig voor een duidelijk klinisch resultaat (Frankland, 1955; Johnstone, 1957; Franlin et al, 1967; Norman, 1978-3). Voor de graspollenextracten, die bij de onderzoeken van dit proefschrift werden gebruikt, liggen deze doseringen in de orde van grootte van 100.000 à 200.000 NE per jaar.

Goede klinische effecten zijn beschreven bij het gebruik van waterige extracten, al of niet aan aluminiumhydroxyde gebonden (Lichtenstein et al, 1971; Norman et al, 1972; Norman et al,

1978-2). Dit geldt ook voor extracten, die behandeld zijn met formaline ("allergoid") (Norman et al, 1977; Norman, 1981) en voor z.g. gepolymeriseerde extracten, indien deze ook in voldoende hoge totaal doseringen worden gegeven (Patterson et al, 1977; Bacal et al, 1978). Van kort durende kuren met gepolymeriseerd graspollenextract, dat aan tyrosine gebonden is, in lage totaaldosering is de klinische effectiviteit niet voldoende aangetoond (Symington et al, 1977; Verstraeten et al, 1978). Deze laatste 2 extracten reageren in mindere mate met IgE-antistoffen en vormen even veel of meer IgG-antistoffen, dan de waterige extracten. Onduidelijk is of extracten, die met pyridine zijn geëxtraheerd wel de nodige effectiviteit bezitten (Lichtenstein et al, 1968; Goodman et al, 1975). Intranasale (Johansson et al, 1979; Platts-Mills et al, 1980) en orale (Jorde, 1980) hyposensibilisatie blijven hier buiten beschouwing.

Bij goed doorgevoerde hyposensibilisatie vinden bij volwassenen en kinderen naast vermindering van klachten de volgende veranderingen plaats (Spreccace et al, 1966; Connell et al, 1969-2; Sardan et al, 1969; Levy et al, 1971; Voorhorst, 1971; Lichtenstein et al, 1973; Yunginger et al, 1973; Sobotka et al, 1974; Irons et al, 1975; Norman, 1978-3; Rocklin et al, 1980; Voorhorst et al, 1980; Norman, 1982):

- vermindering van directe huidreacties;
- langzame daling van de specifieke IgE-titer in het serum (bovendien wordt de steiging in de loop van het seizoen minder sterk);
- verminderde gevoeligheid van basofiele leucocyten van de patient voor pollenextract, gemeten aan de hoeveelheid allergenextract die nodig is voor 30% of 50% vrijmaking van histamine uit leucocyten-suspensies (bij waterige extracten);
- ontwikkeling van blokkerende activiteit in het serum, c.q. vorming van specifieke IgG<sub>1</sub>- en IgG<sub>4</sub>-antistoffen;
- stijging van specifieke iGA-antistoffen in neussecret, vergelijkbaar met de stijging van dezelfde antistoffen in het

serum (de stijging van specifieke IgG-antistoffen in neussecret is kleiner dan in serum);

- ontwikkeling van specifieke suppressor-T-lymfocyten.

In het algemeen wordt geen duidelijk verband tussen klinische verbetering en verandering aan objectieve variabelen gevonden. Zodoende is niet geheel bekend waarop het verbeterde effect van hyposensibilisatie is gebaseerd. Een sterke daling van specifieke IgE-antistoffen tijdens de hyposensibilisatie blijft achterwege, zodat het effect van de behandeling op vorming van specifieke IgE-antistoffen gering of afwezig is. Er is een aantal onderzoeken, waarbij de directe huidreacties door pollenextract duidelijk verminderen en meer lijken te verminderen dan de titers aan specifieke IgE-antistoffen. Het is dus mogelijk, dat door de hyposensibilisatie de mate van vrijmaking van mediators uit mestcellen vermindert. Goed doorgevoerde hyposensibilisatie leidt meestal tot een duidelijke stijging aan specifieke IgG-antistoffen. Deze antistoffen worden dan wel "blokkerende" antistoffen genoemd. Deze blokkerende antistoffen zouden allergeen wegvangen, voordat het bij de met specifiek IgE-antistoffen beladen mestcellen kan komen en ook voordat het lokale plasmacellen en regionale lymfeklieren kan bereiken. Meestal wordt bij een goed klinisch effect van hyposensibilisatie een hoge titer aan specifieke IgG-antistoffen gevonden. Het is dus verleidelijk om de vorming van specifieke IgG-antistoffen als basis van de klinische verbetering door hyposensibilisatie aan te nemen. Meestal wordt echter geen duidelijk verband gevonden tussen de mate aan vorming van specifieke IgG-antistoffen (in serum) en nauwkeurige scoring van het ziektebeeld. Mogelijk speelt juist de verhouding tussen de titer aan specifieke IgE- en die van blokkerende antistoffen een rol (Zeiss et al, 1977). Mogelijk moet aan de stijging van specifieke IgA-antistoffen in neussecret en mogelijk van andere secreten een therapeutisch effect worden toegekend (Platts-Mills, 1979). Bij hyposensibilisatie met waterige extracten werd een verminderde gevoeligheid van basofiele leucocyten van de patient voor allergeenextract gevonden, doch niet bij gebruik van waterig aan



aluminiumhydroxyde geadsorbeerd pollenextract. Hyposensibilisatie met ragweed-pollenextract leidt wel tot klinische verbetering van de ragweed-pollenhooikoorts doch niet van een gelijktijdig bestaande graspollenhooikoorts (Norman et al, 1978-1).

Bijwerkingen van hyposensibilisatie kunnen bestaan uit plaatselijke en algemene reacties. Zo plaatselijke reacties aanwezig zijn, dan zijn deze meestal onbetekenend. Soms komen ernstige plaatselijke reacties voor: bij een volgende injectie moet dan de dosering verminderd worden. Algemene reacties, met urticaria, angioedeem, rhinitis en astma en soms tensie-daling zijn voor de patient onaangenaam. Indien gelet wordt op de juiste hoeveelheid die op een bepaald moment bij een bepaalde patient moet worden ingespoten, en op vermindering van de dosering bij verminderde algemene toestand van de patient, is de kans op algemene reacties gering (zie ook: Vervloet et al, 1980-2). Voor de behandeling van algemene reacties wordt verwezen naar de hyposensibilisatie-schemata, zoals vermeld in de bijlagen (zie ook: Dieges, 1981). Bij atopische patienten met rhihitis en astma kunnen soms in het serum circulerende immunocomplexen worden aangetoond, doch een verband tussen het voorkomen hiervan en hyposensibilisatie kon niet worden vastgesteld (Yang et al, 1979).

Een nieuwe richting van de immunomanipulatie bij atopie wordt mogelijk aangegeven door dierproeven, waarbij allergenen door koppeling aan enkele niet-immunogene polymeren de vorming van specifieke IgE-antistoffen blijken te onderdrukken (Sehon, 1978).

## II.6 Evaluatie van het klinische effect van hyposensibilisatie bij hooikoortspatienten.

Indien het klinische effect van hyposensibilisatie bij hooikoorts bestudeerd wordt, moeten na verkregen toestemming, patienten met een typisch ziektebeeld en een onmiskenbare pollenatopie geselecteerd worden (Dieges, 1979). Andere klinisch belangrijke atopieën of andere chronische niet-atopische luchtwegklachten dienen afwezig te zijn. Hierdoor wordt het aantal patienten dat voor zo'n studie geschikt is, sterk beperkt. In 1974 en 1975 konden van de

100 nieuwe hoekoortspatiënten slechts 30 patiënten worden geselecteerd voor het onderzoek, in dit proefschrift beschreven. Alleen patiënten zonder voorafgaande hyposensibilisatie moeten worden geselecteerd. In veel studies in de literatuur is informatie over de wijze waarop de patiënten geselecteerd worden, onvoldoende. De homogeniteit van de onderzoekpopulatie wordt in negatieve zin beïnvloed door patiënten op te nemen, die het jaar of de jaren tevoren al behandeld werden.

Bij hyposensibilisatie-onderzoek is een controle-groep noodzakelijk. De pollentellingen in de verschillende seizoenen zijn min of meer verschillend, terwijl adequate informatie over het klinische beeld in een vorig jaar vrijwel altijd ontbreekt. De controle-groep wordt met placebo-injecties behandeld.

Een goede vergelijking van de resultaten bij de twee onderzoeksgroepen is pas mogelijk, wanneer beide groepen zo min mogelijk verschillen in samenstelling ten aanzien van klinische en objectieve variabelen. Dit kan worden bereikt door aselechte toewijzing van patiënten aan onderzoeksgroepen. Bij een groot aantal onderzoeken in de literatuur heeft aselechtige verdeling van patiënten niet plaatsgevonden.

Een dubbelblinde opzet van het onderzoek is uiteraard noodzakelijk, hoewel niet gemakkelijk te verwezenlijken. Dit blijkt uit een groot aantal studies, die niet dubbelblind verricht zijn.

Zoals eerder vermeld, is het klinische en immunologische effect van hyposensibilisatie afhankelijk van de totale dosering van ingespoten pollenextract gedurende de onderzoeksperiode. Zodoende moet bij een onderzoek gestreefd worden naar voldoende hoge totaal doseringen. Uiteraard kunnen lage doseringen wel enig immunologisch effect sorteren, doch dat levert geen directe informatie over de klinische effectiviteit.

Wat de eigenlijke klinische evaluatie betreft, ziet men frekwent in de literatuur, dat de mate van de klachten op een subjectieve manier door de patiënten wordt vastgelegd en dat met gebruik van

medicamenten geen rekening wordt gehouden. Waarschijnlijk zijn zulke klinische "scores" ook beïnvloed door psychologische interactie tussen patient en dokter. Norman en medewerkers (Norman et al, 1966) hebben een systeem voor evaluatie uitgewerkt, dat subjektieve invloeden zoveel mogelijk buitensluit. In dit systeem wordt een aparte waardering gegeven voor elke klacht. De duur van de klachten wordt uitgedrukt in een puntensysteem, hetgeen ook geldt voor het gestandaardiseerde gebruik van antihistaminica (zie later). Dit systeem van evaluatie is uitvoerig onderzocht met betrekking tot de dagelijkse pollentellingen en blijkt daarmee redelijk te kloppen (Norman et al, 1973). Bovendien levert dit systeem geen verschil in scores op bij een vergelijkend onderzoek tussen hyposensibilisatie met placebo-injecties en het achterwege laten van deze "behandeling" (Wise et al, 1979). Vooralsnog lijkt bij hyposensibilisatie deze wijze van evaluatie te leiden tot de meest juiste beoordeling van de klinische werkzaamheid. Naast een zo objectief mogelijk systeem van evaluatie is vergelijking van de dagelijkse totaal-score van klachten en het gebruik van medicamenten met de dagelijkse pollentellingen noodzakelijk voor de interne consistentie van de klinische evaluatie.

Tenslotte moet gepoogd worden de klinische bevindingen te correleren met veranderingen van immunologische variabelen. Bij de beoordeling van de klinische werkzaamheid is het echter van secundair belang.

Al met al zijn veel onderzoeken gebaseerd op subjektieve evaluatie van het klinische resultaat. In deze studies wordt een "verbetering" van 70 tot 90% vermeld. Indien dit werkelijk waar zou zijn, zou behandeling van hooikoorts een eenvoudige zaak zijn. De praktijk met hooikoortspatienten leert wel anders. Dit blijkt uit de resultaten van de onderzoeken van Lichtenstein et al (1971) en Norman et al (1972), waarbij na een half jaar van een zo hoog mogelijk opgevoerde pollenhyposensibilisatie de totaal-score bij de echt behandelde patienten 30 tot 40% lager uitvalt dan die van de placebo-patienten.



### III EIGEN ONDERZOEKINGEN

#### Inleiding

In de Inleiding van dit proefschrift (pagina 7) staat omschreven welke vraagstellingen tot dit proefschrift geleid hebben. Er bestaat twijfel over de klinische werkzaamheid van hyposensibilisatie bij pollinosis, alsook staat niet vast welke veranderingen ten grondslag liggen aan de eventuele klinische werkzaamheid. In het literatuuroverzicht van hoofdstuk II staat beschreven, dat (vooral) continue hyposensibilisatie met hoge totaal-doseringen klinisch effectief is. Tevens staat daar vermeld, dat bepaalde objektieve variabelen een bepaalde trend volgen tijdens hyposensibilisatie, zonder dat direkt een duidelijk verband tussen deze veranderingen en de klinische effectiviteit kan worden vastgesteld. De onderzoeken, in dit proefschrift vermeld, zijn vooral gericht op veranderingen bij de patient tijdens hyposensibilisatie, m.n. van huidreacties en serologische bepalingen van diverse specifieke antistoffen. Voorts werd een onderzoek verricht naar het eventueel verbeterende effect op de klachten van hooikoorts door hyposensibilisatie met waterig aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract. Een dergelijk extract kwam in 1973 in Nederland ter beschikking.

Van 1972 tot 1976 werd jaarlijks een onderzoek met een duur van 1 of 2 jaar gestart bij een aantal hooikoortspatienten, die in aanmerking kwamen voor hyposensibilisatie. Vooral de eerste onderzoeken waren sterk gebonden aan de "spreekuur-situatie", waarbij geen gebruik werd gemaakt van een controle-groep. Bij de eerste onderzoeken werden de direkte huidreacties voor graspollenextract in een verdunningsreeks vervolgd en werd teruggewallen op een bepaling van de blokkerende aktiviteit middels een huidreactie-remmingstest, die vrij eenvoudig uit te voeren was (Voorhorst, 1971; Dieges, 1972). Bij deze onderzoeken werden sera afgenomen en ingevroren voor (eventuele) latere bepaling van diverse antistoffen. De eerste 2 onderzoeken

werden verricht met waterig graspollenextract, zoals dat al vele jaren commercieel verkrijgbaar was. In 1975 vond een klinisch en immunologisch, dubbelblind onderzoek plaats naar de effecten van hyposensibilisatie met waterig, aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract. Een dergelijk extract was kort tevoren ter beschikking gekomen. Het arsenaal aan onderzoeken bij de patient kon hierbij uitgebreid worden. In vervolg op dit onderzoek, waarbij van een placebo-groep sprake was, werden nog 2 onderzoeken zonder controle-groep verricht. Hierbij werd speciale aandacht gewijd aan de late huidreactie voor graspollenextract, respektievelijk het effect op de histamine-vrijmaking door graspollenextract van leucocytensuspensies (basofiele leucocyten) van de patient. Gezien de grote aandacht voor huidreacties werd in 1977 een onderzoek verricht naar de reproduceerbaarheid van huidreacties door graspollenextract.

In de hoofdstukken IV en V wordt verslag gedaan van de resultaten van de eigen onderzoeken.

Tenslotte behelst hoofdstuk VI een discussie over de resultaten van de eigen onderzoeken en de slotkonklusie.

#### Overzicht van de eigen onderzoeken

Onderzoek naar de reproduceerbaarheid van huidtests met graspollenextract (direkte reacties) (Hoofdstuk IV).

Onderzoeken met hyposensibilisatie (Hoofdstuk V).

- 379-12-1: hyposensibilisatie met waterig graspollenextract (1972);
- 379-12-3: hyposensibilisatie met waterig graspollenextract (1973);
- 379-12-5: klinisch onderzoek over hyposensibilisatie met waterig aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract versus placebo-injecties met aselechte verdeling van patienten over de twee onderzoeksgroepen (1974);
- 379-12-7: hyposensibilisatie met waterig aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract (1975);

- 379-12-10: hyposensibilisatie met waterig aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract (1976).
- 379 = code van de vakgroep Keel-, Neus- en Oorheelkunde, Faculteit der Geneeskunde EUR.
- 12 = nummer van het hyposensibilisatie-project.
- 1, -3, -5, -7, -10 = nummer van onderdeel van het hyposensibilisatie-project.

### Patientenselektie

Patienten werden geselecteerd uit het poliklinische patientenbestand van de afdeling Allergologie van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam-Dijkzigt. Daaraan konden in 1974 en in 1975 ook patienten worden toegevoegd, die na oproep aan de huisartsen in Rotterdam en omgeving de polikliniek bezochten. Opvallend is, dat in beide genoemde jaren uit de totale toeloop van 100 nieuwe hooikoortspatienten slechts 30 patienten geselecteerd konden worden, die vrij waren van klinisch belangrijke andere atopieën en/of zonder andere chronische luchtwegklachten.

Patienten kwamen slechts dan in aanmerking voor deelname aan het onderzoek wanneer zij een typisch ziektebeeld en bij de huidtests op zijn minst een directe 1-plus-reactie op waterig graspollenextract 1NeqE/ml vertoonden en wanneer zij tevoren geen hyposensibilisatie hadden ondergaan.

De patienten werden op de polikliniek of bij de huisarts gehyposensibiliseerd. De totaal doseringen werden berekend uit de gegevens van de priklijst op de polikliniek of aan de hand van formulieren, die door de huisarts waren ingevuld.

### Methodieken

Huidtests, huidreactie-remmingstests en bloedafname werden per patient op een dag verricht. Bij de gehyposensibiliseerde patienten was er tussen de bepalingen en de laatste hyposensibilisatie-injectie steeds minimaal een week verlopen. Minstens 36 uur voor de onderzoeken werd de medicatie gestaakt, in elk geval de anti-histaminica. Dit was alleen nodig voorzover bepaalde pa-

tienten ook klachten buiten het hooikoortsseizoen hadden, namelijk bij het onderzoek van 379-12-1, -3 en -10. Bij deze drie onderzoeken waren er ook enkele patiënten die tevens met huisstofmijtenextract werden gehyposensibiliseerd.

Patiënten werden in het najaar steeds op ongeveer dezelfde datum onderzocht als in het voorafgaande jaar. Voor elk onderzoek, 379-12-1, -3, -5, -7 en -10, vond het bezoek verspreid over een periode van twee maanden plaats. Deze zelfde volgorde werd ook aangehouden voor de bezoeken, voorzover deze plaatsvonden in het voorjaar. De resultaten van deze bezoeken zijn dus afkomstig van een periode die ruim en in wisselende afstand buiten het pollen seizoen ligt. De verschillen in resultaten tussen voorjaar en najaar zullen dus niet alleen bepaald worden door het ertussen liggende pollenseizoen, doch ook door het natuurlijk verloop van de variabelen. Bij onderzoek 379-12-5 werd bovendien bloed afgenomen omstreeks half mei, half juni en half juli; de resultaten van dit serologisch onderzoek hangen derhalve wel direkt samen met het pollenseizoen.

#### Bereiding graspollenextract

De graspollenextracten werden bereid door Laboratorium Diephuis te Groningen. Het graspollenmengsel dat als grondstof hiervoor dient, is samengesteld uit gelijke delen van de volgende grassoorten:

- *Agrostis alba* (fioringras),
- *Anthoxanthum odoratum* (reukgras),
- *Dactylis glomerata* (kroppaar),
- *Secale cereale* (rogge),
- *Lolium perenne* (Engels raaigras),
- *Holcus lanatus* (echte witbol), en
- *Alopecurus pratensis* (grote vossestaart).

Het graspollenmengsel ondergaat de volgende bewerkingen:

- ontvetten met ether,
- extractie met isotone fosfaatbuffer pH 7,2 gedurende 5 dagen;



samenstelling fosfaatbuffer: $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	4,4	g
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	9,9	g
$\text{NaCl}$	3,8	g
Fenol	5,0	g
Aqua dest.	ad 1000	ml

- klaren (centrifugeren en membraanfilteren ter verwijdering van vaste deeltjes),
- dialiseren gedurende 24 uur (moleculaire doorlaatbaarheids-grens  $\pm$  10000 D),
- steriliseren middels 0,2  $\mu\text{M}$  membraan filtratie,
- biologische ijking op afdeling Allergologie, Academisch Ziekenhuis Leiden,
- verdunnen op grond van de ijkgegevens,
- dispensereren.

Een dergelijk waterig graspollenextract wordt voor huidtests gebruikt en is commercieel bekend als Diephuis-Voorhorst extract. Waterig graspollenextract wordt ook gebruikt bij de bereiding van depot extract-Diephuis voor hyposensibilisatie: aan het extract wordt aluminiumhydroxyde toegevoegd, waardoor absorptie optreedt. Het uiteindelijke gehalte aan aluminiumhydroxyde van graspollenextract 20.000 NeqE/ml bedraagt 4,32 mg/ml.

### Intracutane huidtests

#### Testextracten

Bij alle onderzoeken werden huidtests (Voorhorst, 1971) verricht met behulp van commercieel verkrijgbaar graspollenextracten (Diephuis-Voorhorst  $\text{\textcircled{R}}$ ), die biologisch geijkt waren door middel van vergelijkende huidtests.

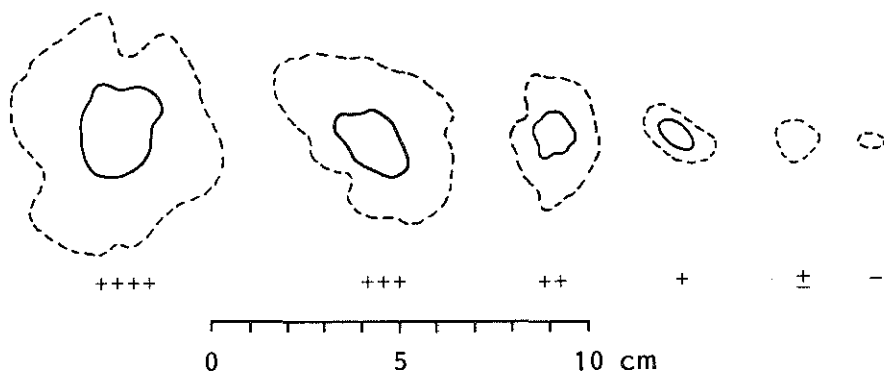
Pollenextracten worden meestal uitgedrukt op gewichtsbasis in Noon-Eenheden (afgekort: NE); één NE bevat het allergeen van 0,001 mg pollen. In deze studie worden de graspollenextracten uitgedrukt in biologisch geijkte, z.g. Noon-equivalente E/ml (afgekort: NeqE/ml) (Voorhorst, 1971). Deze extracten werden afgeleverd in een sterkte van 10.000 NeqE/ml en bewaard in de koelkast op 4 °C.

In de periode van onderzoek in voorjaar en najaar werd van vers bereide extracten gebruik gemaakt. Tienvoudige verdunningsreeksen voor de huidtests werden op elke dag van onderzoek 's morgens nieuw gemaakt. Extracten en verdunningen werden bereid met de fosfaatbuffer, zoals hiervoor staat beschreven. Deze fosfaatbuffer werd ook als controle-vloeistof gebruikt.

### Techniek

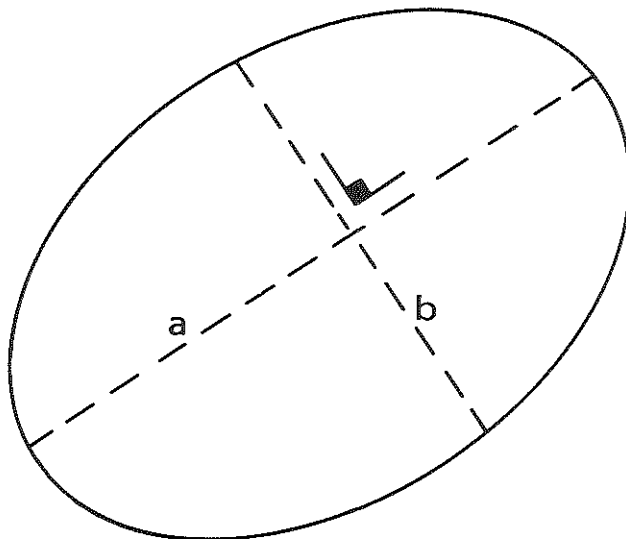
In de huid wordt een kleine kwaddel van ongeveer 0,02 ml vloeistof gebracht. Na ongeveer 20 minuten wordt de "direkte" reactie met ballpoint omlijnd. Hierbij wordt de grens van de kwaddel gevolgd en de rode hof zodanig aangegeven, dat de lijn midden door de uitlopers van de rode hof loopt. Late reacties, bestaande uit een diffuus en iets verheven erytheem, worden na 5 à 6 uur afgelezen en aan de grens van het erytheem omlijnd. Over alle huidreacties wordt Filmolux (R) geplakt, waarop de lijnen van de ballpoint overgaan. Deze filmolux wordt verwijderd en in cahiers bewaard.

Pas nadat het onderzoek geheel was afgerond, werden alle huidreacties op een of twee achtereenvolgende dagen beoordeeld. De beoordeling van de direkte reacties ging volgens het schema van Voorhorst in hele en halve plustekens (figuur III-1).



Figuur III-1. Beoordeling direkte huidreacties volgens Voorhorst (met toestemming overgenomen uit: R.Voorhorst, F.Th.M. Spieksma, H. Varekamp: House-dust atopy and the house-dust mite". Leiden, Stafleu, 1969).

Late huidreacties werden uitgedrukt in de som van de grootste lengte en de grootste breedte, gemeten loodrecht op de grootste lengte, en uitgedrukt in millimeters (figuur III-2). Dit is zeker een schijnnaauwkeurigheid, doch werd gebruikt omdat een indeling in plustekens niet bekend is.



Figuur III-2. Beoordeling late huidreacties. "Oppervlakte" = grootste lengte (a) + grootste breedte loodrecht op a (b) in mm.

Bij onderzoek 379-12-1 vond tweemaal beoordeling van de huidreactiviteit plaats: na een jaar en na afronding van het onderzoek. Bij onderzoek 379-12-7 vond beoordeling plaats na 2 jaar.

De huidtests werden op de rug op een afstand van minstens 5 cm van elkaar verricht, waarbij plaatsen boven uitstekende botgedeelten werden vermeden. Op de rug werd in vier rijen van vijf getest van boven naar beneden, waarbij deze plaatsen van 1 t/m 20 achtereenvolgens werden genummerd. Het begin van de reeks huidtests werd gevarieerd van nummerplaats volgens een tabel van aselechte getallen.

Bij onderzoek 379-12-7 werden de huidreacties met graspollen op

de laterale zijde van die bovenarm, waarin geen hyposensibilisatie-injecties werden gegeven, verricht in verband met de aflezing van de late huidreacties.

Bij de statistische analyse werd tevens gebruik gemaakt van de optelsom aan plustekens directe huidreactie en millimeters late huidreactie van de geteste verdunningsreeksen. Deze optelsommen werden betiteld: totale huidreactiviteit.

Bij de uitvoering van de huidtests werd rekening gehouden met het 24-uurs ritme van de huidreactiviteit voor histamine en allergen-extracten (Lee et al, 1977). Zodoende werden bij de onderdelen 379-12-1, 379-12-3 en 379-12-5 de huidtests steeds 's middags verricht. Bij 379-12-7 werden de huidtests steeds 's morgens vroeg gezet vanwege de late aflezing 's middags. In verband met de verwerking van afgenomen bloed voor de histamine-vrijmaking van leucocytensuspensies werd bij 379-12-10 het huidtest-onderzoek omstreeks 11-12 uur uitgevoerd.

Bij elk onderzoek werd een controle-test met fosfaatbuffer uitgevoerd. In de loop der jaren hebben diverse analisten de huidtests uitgevoerd. Dit gaat uiteraard gepaard met kleine verschillen in uitkomst.

Bij het onderzoek 379-12-5, 379-12-7 en 379-12-10 werden alle huidtests door dezelfde analiste verricht.

In overleg met Prof. R. van Strik (Instituut Biostatistica EUR) werd in 1977 een in hoofdstuk IV te beschrijven onderzoek opgezet naar de reproduceerbaarheid van de huidtest-techniek.

#### Huidreactie-remmingstest volgens Voorhorst.

De bedoeling van de huidreactie-remmingstest (Voorhorst, 1971; Dieges, 1972) is een indruk te krijgen van de mate van "blokkerende" activiteit van het serum. Dergelijke testen op de huid van de patient zelf zijn eerder beschreven (Loveless, 1940; Maunsell, 1946). De hier gebruikte methodiek gaat als volgt:

1. serum wordt gedurende één uur op 56 °C verwarmd, waardoor het Fc-fragment van de specifieke IgE-antistoffen wordt geïnactiveerd.

2. de volgende verdunningsreeksen van het serum worden gemaakt: 1/4 (behalve in 379-12-1), 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512.
3. aan elke flacon wordt zoveel graspollenextract toegevoegd, dat de uiteindelijke concentratie 3NeqE/ml wordt.
4. er worden twee controle-oplossingen gemaakt: verwarmd serum 1/4 (in onderzoek 379-12-1: 1/8) zonder graspollenextract en graspollenextract 3NeqE/ml zonder serum.
5. alle flacons, inclusief de controle-oplossingen, worden gedurende een half uur op 37 °C verwarmd om de interactie tussen antistof en allergeen te bevorderen.
6. intracutane huidtests worden verricht met alle flacons.
7. na 20 minuten wordt de huidreactie vastgelegd en beoordeeld als bij de huidtests met graspollenextract.

De titer is die serumverdunding van het mengsel, waarbij de huidreactie nog juist kleiner is dan die van 3NeqE graspollenextract zonder serum (zie figuur III-3). Het is voorstelbaar dat de uiteindelijke titerbepaling mede afhankelijk is van de sterkte van de huidreactie op het graspollenextract. Bij geen van de onderzoeken bestond evenwel een verband tussen de sterkte van de huidreactie op het graspollenextract en de titer van de huidreactie-remmingstest (Spearman-rangcorrelatietoets).

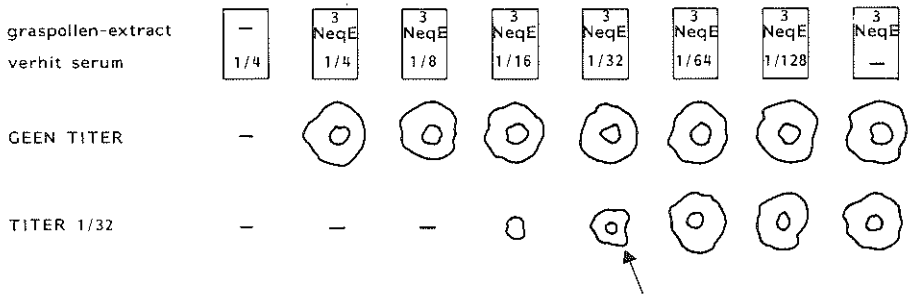
De sterkte van 3 NeqE/ml is arbitrair gekozen.

Als het graspollenextract te geconcentreerd is, loopt men de kans geen duidelijke titer te vinden.

Wanneer de concentratie te laag is, kan men bij het vervolgen tijdens hyposensibilisatie al snel geen huidreactie-remmingstiter meer vaststellen wegens het teruglopen van de huidreacties.

Vroeger is gebleken, dat de huidreactie-remmingstest-titer op 0,3 NeqE/ml graspollenextract niet 10× zo hoog is als die op 3 NeqE/ml (Dieges, 1972). Derhalve werd, mede omdat het huidoppervlak op de rug daarvoor te klein is, afgezien van het gelijktijdig vervolgen van een huidreactie-remmingstest-titer

ten opzichte van 30 NeqE/ml graspollenextract. Aangezien IgE-antistoffen na verwarming van één uur bij 56 °C nog binding met pollenextract kunnen vertonen (Ishizaka et al, 1967) zou ook dit de uiteindelijke huidreactie-remmingstest kunnen beïnvloeden. De hoeveelheid IgE-antistoffen in "behandeld" serum vormt echter meestal minder dan 1% van het totale bindend vermogen van zo'n serum (Lichtenstein et al, 1968). Bovendien daalt de specifieke IgE-titer tijdens hyposensibilisatie in veel mindere mate dan de titer aan blokkerende activiteit stijgt (Ishizaka et al, 1973). Bij enkele patiënten waren er directe huidreacties op eigen serum 1/4, waardoor een titerbepaling niet mogelijk was. De meest juiste vergelijking tussen titers wordt verkregen wanneer na een of twee jaar tegelijk met alle sera de huidreactie-remmingstest uitgevoerd wordt. De ruimte op de huid van de rug is hiervoor te klein, wanneer naast deze test ook een verdunningsreeks van graspollenextract, histamine e.d. getest wordt. Men loopt de kans na verloop van een of twee jaar geen titers meer te kunnen bepalen indien de huidreacties voor graspollenextract in sterke mate verminderen.



Figuur III-3. Huidreactie-remmingstest. Voorbeeld van het resultaat bij afwezigheid ("geen titer") en bij aanwezigheid ("titer 1/32") van blokkerende activiteit in het serum.

### Indirekte haemagglutinatietest

Tijdens hyposensibilisatie met pollenextracten stijgt de titer aan haemagglutinerende antistoffen ten opzichte van deze pollenextracten (Arbesman et al, 1960-1, -2 en -3). Bij de bepaling hiervan is het aandeel van de specifieke IgE-antistoffen minimaal, zodat de titer aan haemagglutinerende antistoffen zou overeenkomen met de blokkerende activiteit van het serum (Sehon et al, 1971).

In deze studie werd de indirecte haemagglutinatietest verricht met sera van 379-12-3 en 379-12-5. Van elk onderzoek werden deze titers gelijktijdig bepaald.

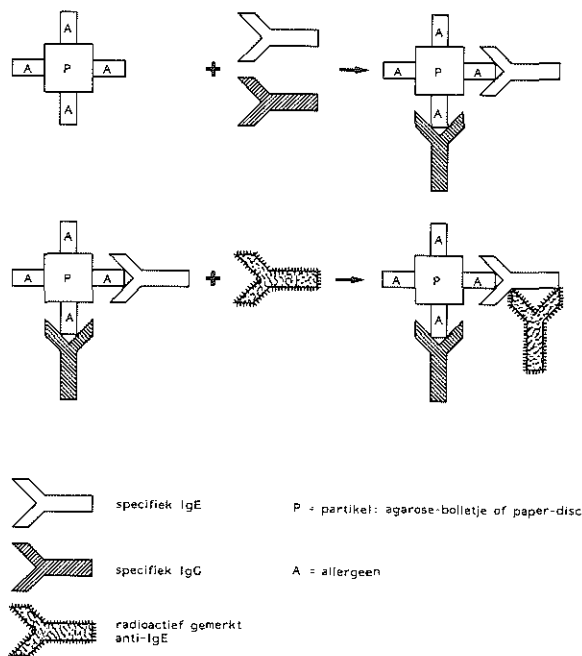
De indirecte haemagglutinatietest werd uitgevoerd, zoals in de literatuur wordt beschreven (Halpern et al, 1961).

Er werd van kippe-erythrocyten gebruik gemaakt, waaraan middels Bis-Diazotized-Benzidine waterig graspollenextract gekoppeld was. De resultaten van deze bepaling waren zodanig, dat geen duidelijke patronen in de loop der tijd werden gevonden. Bij andere onderzoeken werd deze test derhalve niet meer uitgevoerd.

### Radio-Allergo-Sorbenttest (RAST)

Met behulp van de radio-allergo-sorbenttest of RAST (Aalberse, 1974; Adkinson et al, 1976; Thomas et al, 1979; Adkinson, 1980; Adkinson, 1981; Platt-Mills, 1981; Merret, 1981) kan aanwezigheid van specifieke IgE-antistoffen worden aangetoond. De methode staat schematisch in figuur III-4 weergegeven. Aan partikels, agarose-bolletjes of "paper-discs" is allergeenextract in overmaat gekoppeld. Specifiek IgE- en andere specifieke antistoffen uit het serummonster hechten zich aan het allergeen. Na wassing wordt een oplossing met radio-actief gemerkt anti-IgE toegevoegd; voorzover er gebonden IgE-antistoffen bestaan, hecht dit anti-IgE zich hieraan. Na wassing wordt de radio-activiteit gemeten en vergeleken met de radio-activiteit van de oorspronkelijke anti-IgE-oplossing of met een standaardserum. Bij een hoge specifieke IgG-titer kan een RAST-score lager uitvallen dan anders het geval zou zijn. Dit is vooral bij de methode met paper-discs het geval en niet wanneer voldoende sepharose-bolletjes worden

gebruikt. De RAST-techniek kan ook gebruikt worden ter bepaling van specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen (Van Toorenbergen, 1982; Aalberse et al, in druk).



Figuur III-4. Schema radio-allergo-sorbenttest (RAST). Uitleg in tekst.

In dit proefschrift komen ter bepaling van specifieke IgE-antistoffen in het serum drie verschillende RAST-bepalingen voor. In onderdeel 379-12-1 zijn RAST-scores bepaald met behulp van de standaard RAST met gemengd graspollenextract van het Centraal Laboratorium van de Bloedtransfusiedienst te Amsterdam (CLB). In 379-12-3 en 279-12-5 werden met de testkit van Phadebas (R) duplo-bepalingen verricht van de specifieke IgE-antistoffen ten opzichte van *Dactylus glomerata* (G3) en *Phleum pratense* (G6): het gemiddelde hiervan werd als PRAST-score voor graspollen aangenomen.



Tenslotte werd op het CLB (Prof. R.C. Aalberse en medewerkers) van de onderzoeken 379-12-3, -5, -7 en -10 de RAST-score bepaald ten opzichte van graspollenextract charge 119, zoals dit ook voor de huidtests bij 379-12-5, -7 en -10 werd gebruikt. Met deze CLB-techniek werden niet alleen specifieke IgE- maar ook specifieke IgG<sub>1</sub>- en IgG<sub>4</sub>-titers bepaald.

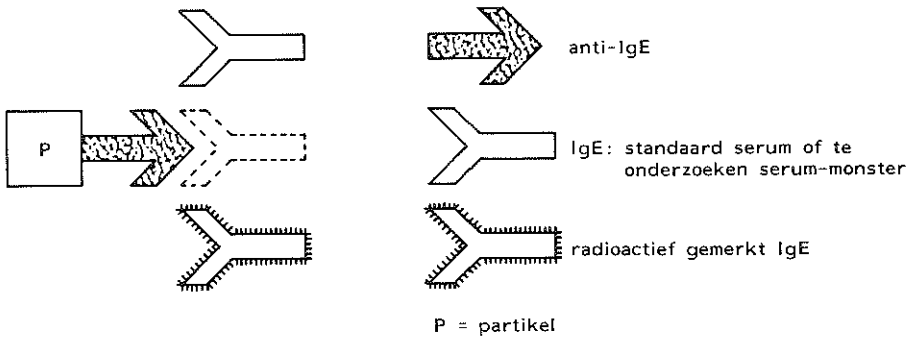
Hoewel de PRAST-scores (Phadebas (R)) redelijk gecorreleerd zijn aan de RAST-scores van het CLB verdient een RAST-bepaling met hetzelfde allergeenextract als voor de huidtest en eventueel andere onderzoeken wordt gebruikt, de voorkeur. In onderzoek 379-12-5 werden door ons specifieke IgG<sub>4</sub>-titers bepaald met behulp van de RAST-techniek, waarbij van paper-discs en radio-actief gemerkt anti-IgG<sub>4</sub>, dat door het CLB ter beschikking werd gesteld, gebruik gemaakt.

#### Radio-immuno-sorbenttest (RIST)

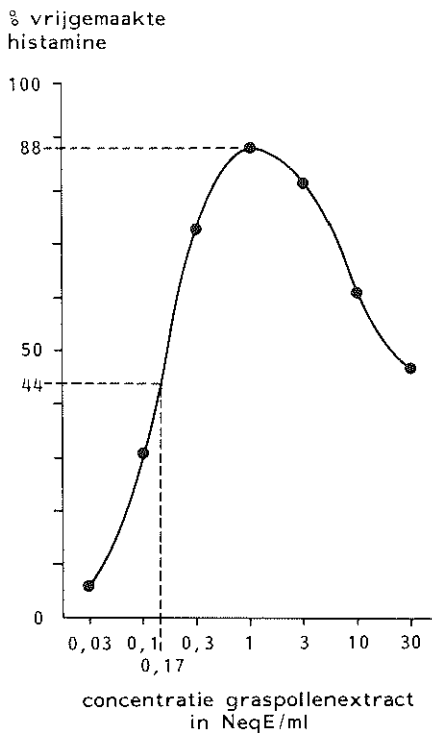
Het totaal IgE-gehalte werd met behulp van radio-immuno-sorbenttest (RIST) bepaald (Adkinson et al, 1976; Thomas et al, 1979; Adkinson, 1980; Adkinson, 1981; Merrett, 1981; Platt-Mills, 1981). Bij deze methode wordt het gehalte aan totaal IgE bepaald aan de hand van concurrentie tussen een bekende hoeveelheid IgE van een standaard serum of een onbekende hoeveelheid IgE van het te onderzoeken serummonster en een bekende hoeveelheid radio-actief gemerkt IgE. Schematisch wordt dit weergegeven in fig.III-5. In dit onderzoek werden de bepalingen gedaan met de Phadebas-IgE-kit (handelskit van Pharmacia).

#### Histamine-vrijmaking van leucocytensuspensies

In onderzoek 379-12-10 werd nagegaan, in hoeverre histamine-vrijmaking van leucocytensuspensies (Adkinson et al, 1976; Siraganian, 1980) door graspollenextract charge 119 en door calcium-ionophore A 23187 (Lichtenstein, 1975) in kwantitatieve zin veranderde gedurende het eerste jaar van hyposensibilisatie. Dit gedeelte van het onderzoek werd verricht door Dr. J. Noordhoek en medewerkers, destijds Instituut Farmacologie, EUR, waarbij gebruik gemaakt



Figuur III-5. Schema radio-immuno-sorbent test (RIST). Uitleg in tekst.



Figuur III-6. Voorbeeld van dosis-response curve bij vrijmaking van histamine in leucocyten-suspensies na toevoeging van allergeenextract. De concentratie van het extract waarbij 50% van de maximaal door allergeenextract vrij te maken histamine wordt vrijgemaakt, wordt ED-50 genoemd.

werd van de methode zoals beschreven door Lichtenstein et al (1964). Het principe hiervan is als volgt:

Veneus afgenomen bloed wordt onstolbaar gemaakt door ethyleen-diaminetetra azijnzuur (EDTA). Door toevoeging van dextran slaan de erythrocyten neer. De bovenstaande vloeistof, waarin zich leucocyten, onder meer de basofiele granulocyten, bevinden, wordt afgecentrifugeerd. De bovenstaande vloeistof wordt verwijderd, waarna de totale leucocyten-fractie overblijft. Deze fractie wordt geresuspendeerd en met buffer-oplossing gewassen. Deze gewassen leucocyten-suspensie wordt verdeeld over een groot aantal buisjes. Aan één reeks van deze buisjes wordt een verdunningsreeks van graspollenextract charge 119 toegevoegd en aan een andere reeks een verdunningsreeks van calcium-ionophore A 23187. Na voldoende tijd voor interactie wordt de vrijgekomen histamine fluorimetrisch bepaald. Grafisch worden vervolgens de hoeveelheden toegevoegde stof en hoeveelheid vrijgekomen histamine tegen elkaar uitgezet (zie fig.III-6). Tevens wordt door toevoeging van perchloorzuur aan de leucocyten-suspensie de maximaal vrij te maken hoeveelheid histamine bepaald.

Als mate voor de histamine-vrijmaking door respectievelijk graspollenextract en calcium-ionophore A 23187 kan de (geïnterpoleerde)hoeveelheid van de stof genomen worden, die 50% van de door die stof maximale hoeveelheid vrijgemaakte histamine libereert (ED 50). Hoewel een dergelijke benadering in theorie het beste is om het effect van een stof vast te stellen, geldt hier als bezwaar, dat de 100% vrijmaking van histamine door de stof niet steeds nauwkeurig te bepalen is.

In de literatuur wordt wel aanbevolen als maat van de "cel-gevoeligheid" die hoeveelheid stof te nemen, die 50 of 30% van de door perchloorzuur vrij te maken hoeveelheid histamine laat vrijkomen. In de studies van dit proefschrift werd gekozen voor de ED 50 als maat van de specifieke reactiviteit van de leucocyten-suspensie van de patient.

### Uitvoering hyposensibilisatie

Bij de onderzoeken 379-12-1 en 379-12-3 werden de patienten gehyposensibiliseerd met commercieel verkrijgbaar waterig graspollenextract (Diephuis-Voorhorst ®). Bij onderzoek 379-12-5 werden de patienten gehyposensibiliseerd met waterig aan aluminiumhydroxyde gebonden graspollenextract charge 119. Bij dit onderzoek bestond het placebo-extract uit een lactoflavine-oplossing. Bij 379-12-7 en 379-12-10 werden de patienten behandeld met waterig, aan aluminiumhydroxyde gebonden graspollenextract (in deze studie ook depot-graspollenextract genoemd), zoals dit in de handel verkrijgbaar is (Diephuis ®).

Deze hyposensibilisaties werden uitgevoerd volgens de schema's zoals achter in een bijlage is beschreven. Bij een aantal van de patienten konden de prikschema's niet geheel worden gevolgd en werd de toename van de dosering getemporiseerd. Uiteindelijk bleek bij de meeste onderzoeken, dat de totaal-doseringen per jaar binnen een patientengroep nogal verschilden.

### Klinische evaluatie

Bij het onderzoek 379-12-5 werden door de patienten in zomer 1975 de klachten en het gestandaardiseerde gebruik van kortwerkende medicamenten genoteerd op een formulier (zie Tabel III-I). Voorts werd gedurende een week in april van dat jaar het formulier door de patienten ingevuld. Dit was bedoeld als oefening vooraf, terwijl tevens hiermee kon worden vastgelegd in hoeverre klachten aanwezig waren in de periode van weinig of geen graspollen in de lucht. Het formulier is met enkele modificaties identiek aan dat van Norman et al (zie hoofdstuk II). Het formulier werd dagelijks ingevuld voor de perioden van 0-12 uur en van 12-24 uur. De duur van een aantal klachten werd aangekruist en in een score van 0-3 punten uitgedrukt. Aan het formulier van Norman werd toegevoegd: kortademigheid/piepen. Tevens kon de patient aangeven of er sprake was van purulent neussecreet en/of purulent sputum. Het gestandaardiseerde gebruik van medicamenten werd genoteerd. Alle patienten konden zo nodig van dezelfde ge-

Tabel III-I. Formulier voor notitie van klachten en gebruik van medicamenten.

NAAM:		NO.: HOOIKOORTSKLACHTEN IN DE WEEK BEGINNEND OP:																					
DAG x)	x) indien buiten woonplaats, vermelding verblijfplaats onder naam van dag	NIEZEN				VEFSTOPTE en/of WATERIGE NEUS				JEUK en/of ROODHEID OGEN				HOESTEN				PIEPEN en/of ZAGEN				GROENGEEL SLIJM	
		0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	NEUS	SPUTUM
MAANDAG	midernacht tot 12 uur																						
	12 uur tot midernacht																						
DINSDAG	midernacht tot 12 uur																						
	12 uur tot midernacht																						
WOENSDAG	midernacht tot 12 uur																						
	12 uur tot midernacht																						
DONDERDAG	midernacht tot 12 uur																						
	12 uur tot midernacht																						
VRIJDAG	midernacht tot 12 uur																						
	12 uur tot midernacht																						
ZATERDAG	midernacht tot 12 uur																						
	12 uur tot midernacht																						
ZONDAG	midernacht tot 12 uur																						
	12 uur tot midernacht																						

GEBRUIKTE MEDICIJNEN					
	POLARAMINE-tabl. 2 mg ROOD aantal	EFEDRINE-tabl. 50 mg. WIT (tegen sufheid) aantal	BEROTEC-tabl. 2½ mg klein WIT (tegen astma) aantal	PREDNISON-tabl. 5 mg. plat-WIT aantal	ANDERE gaarne naam, sterkte, aantal
MA					
DI					
WO					
DO					
VR					
ZA					
ZO					

Tabel III-II. Score-berekening  
van klachten en  
gebruik van medicamenten.

	duur klachten per 12 uur periode			
	geen	0 - 1/2 uur	1/2-2 uur	langer dan 2 uur
niezen	0	1	2	3
waterige secretie/verstopping neus	0	1	2	3
jeuk ogen	0	1	2	3
hoesten	0	1	2	3
kortademigheid/piepen	0	1	2	3
medicamenten: 1 tablet dexchlorfenamine 2 mg = 1 punt 1 tablet efedrine 50 mg = 1/2 punt (minder dan 1 tablet 1 tablet fenoterol 2 1/2 mg = 1 punt dd 0 punt) 1 tablet prednison 5 mg = 2 punten				

neemsmiddelen gebruik maken, waarbij werd geadviseerd dit zo min mogelijk te doen. Afgezien van prednison tabletten, waarvan de inname alleen kon plaatsvinden na overleg met de arts, werden alleen medicamenten met een betrekkelijk korte werkingsduur gekozen om de natuurlijke variabiliteit van het klachtenpatroon zo min mogelijk te beïnvloeden. Bewust werd afgezien van medicamenten, die een langdurig beschermend effect hebben, zoals cromoglicaat en depot-corticosteroiden, terwijl langdurig prednison-gebruik zoveel mogelijk werd beperkt.

Voor de waardering in punten van de klachten en het gebruik van medicamenten wordt verwezen naar tabel III-II. Het voorkomen van purulent neussecreet en/of sputum werd niet in de score-berekening opgenomen, evenmin als het gebruik van antibiotica en neusdruppels daarbij (meestal gedurende enkele dagen). Alle punten voor de klachten per 24 uur opgesteld, leverde de klachtendagscore; samen met de medicamentendagscore vormde dit de totale dagscore. De dagscores werden gebruikt voor de dag-gemiddelden per groep. De individuele totale dagscores voor de gehele zomerperiode werden gebruikt voor vergelijking tussen de groep met injecties met depot-graspollenextract en de groep met placebo-injecties. Tevens werd nagegaan of de individuele totale scores van het seizoen gecorreleerd konden worden aan de bevindingen van huidtests en serologisch onderzoek.

Hoewel er geen informatie bestaat over de verhouding tussen duur en intensiteit van de klachten bij hooikoorts, verdient de methode van Norman thans de voorkeur voor de scoring van het klinisch beeld (Norman et al, 1966; Norman et al, 1973).

#### Statistische verwerking van gegevens

Bij de statistische verwerking (De Jonge, 1964; Syllabus Medische Statistiek 1975) werd gebruik gemaakt van verdelingsvrije toetsen, die op rangnummers zijn gebaseerd. Als onbetrouwbaarheidsdrempel  $P$  wordt genomen  $\alpha = 0,05$ . Een overschrijdingskans  $P \leq 0,05$  leidt dus tot de uitspraak: significant.

De gebruikte toetsen zijn:

- rangtekentoets of symmetrietoets van Wilcoxon (Voortaan rang-



tekentoets genoemd) voor kwantitatieve verschillen tussen gepaarde waarnemingen;

- tweestEEKproeuentoets van Wilcoxon (-Mann-Whitney) voortaan afgekort met Wilcoxon), voornamelijk gevoelig voor verschillen tussen de gemiddelden van twee populaties;
- rangcorrelatietoets van Spearman (voortaan afgekort Spearman) voor onderlinge (on)afhankelijkheid van waarnemingsparen; voor interpretatie is grafische voorstelling van de waarnemingen noodzakelijk.

De gebruikte symbolen zijn:

- $n$  = aantal,
- $\bar{x}$  = gemiddelde,
- $m$  = mediaan,
- $R$  = spreidingsbreedte,
- $P$  = overschrijdingskans.

De gebruikte afkortingen zijn:

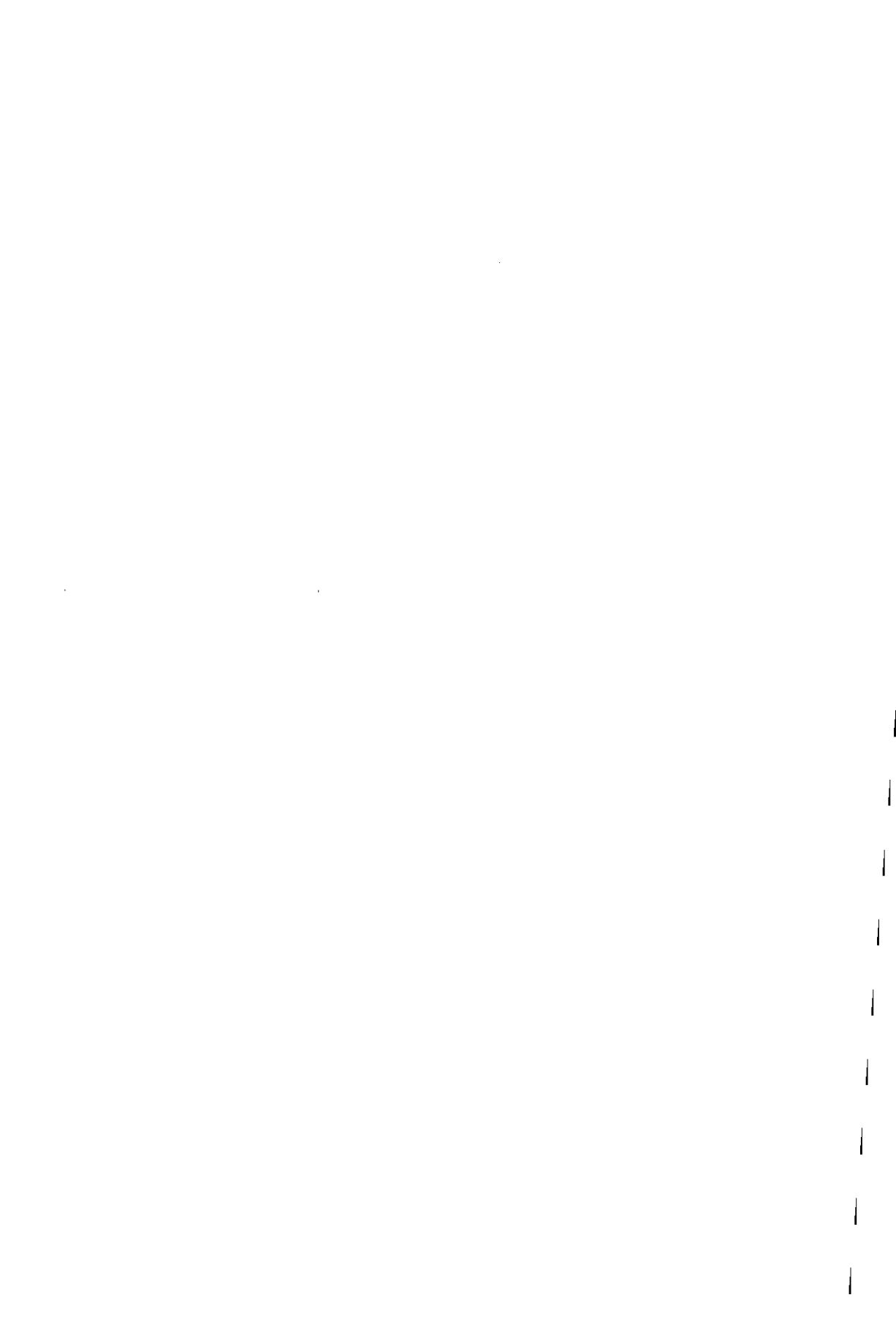
- $S$  = significant,
- $NS$  = niet significant,
- $+$  = aanwezig,
- $-$  = niet aanwezig.

In deze studie worden de gegevens van groepen patiënten gekarakteriseerd door de mediaan en de spreidingsbreedte. Echter, wanneer het gemiddelde duidelijk van de mediaan afwijkt, wordt ook dit gegeven vermeld.

Wegens de kleine aantallen patiënten en het grote aantal beschouwde variabelen, is het te verwachten dat er significante correlaties gevonden worden, die schijn zijn en zich voordoen als geïsoleerde toevalsbevindingen.

Bij de statistische bewerking van de specifieke IgE- en IgG<sub>1</sub>- en IgG<sub>4</sub>-titers werden berekeningen met de logaritmen van de uitslagen verricht. In het algemeen verschilden deze berekeningen niet van die met de absolute waarden. Waar dit wél het geval is, wordt dit apart vermeld in hoofdstuk V.

In de puntendiagrammen wordt met dwarse streep de mediane waarde aangegeven.



#### IV RESULTATEN VAN HET ONDERZOEK NAAR DE REPRODUCEERBAARHEID VAN HUIDTESTS MET GRASPOLLENEXTRACT (DIREKTE REACTIES)

##### 1. Inleiding.

In 1977 werd een onderzoek uitgevoerd naar de reproduceerbaarheid van huidtests met graspollenextract (direkte reacties). Het onderzoek werd uitgevoerd door de analiste, die alle huidtests had verricht bij de onderzoeken 379-12-5, 379-12-7 en 379-12-10. Daartoe werd bij ieder van 10 hooikoortspatienten graspollenextract in vier concentraties (100, 10, 1 en 0,1 NeqE/ml) steeds in vijfvoud getest. De opzet en uitvoering van het onderzoek is in paragraaf 2 beschreven. De statistische analyse van de uitkomsten is samengevat in paragraaf 3. De hieruit resulterende conclusies zijn in paragraaf 4 vermeld.

De uitwerking van de opzet en de statistische analyse van dit onderzoek is van de hand van Prof. R. van Strik (Instituut Biostatistica EUR).

##### 2. Uitvoering van het onderzoek.

Bij ieder van de 10 hooikoortspatienten werd graspollenextract in vier verdunningen steeds in vijfvoud toegediend. De verdunningsreeks omvatte de concentraties 100, 10, 1 en 0,1 NeqE/ml.

De 20 te gebruiken flesjes werden voorzien van codenummers (aselecte permutatie van nummers 1-20) en vervolgens op de rug van elke patient getest, volgens de gebruikelijke standaardprocedure. Daarbij werden 20 vaste posities op de rug gemarkeerd en aangeduid met de nummers 1-20, als volgt:

Blok *)	links		rechts	
	boven			
1	1	2	3	4
2	5	6	7	8
3	9	10	11	12
4	13	14	15	16
5	17	18	19	20
	onder			

\*) Blokken 1, 2, 3, 4, 5 duiden, van boven naar beneden, elk een rij van vier posities aan, van links naar rechts.

Per patient werden de 20 flesjes in telkens een andere volgorde over de 20 rugposities verdeeld, volgens een "extended Latin Square"-schema. Dat betekent dat per blok van 4 posities elke concentratie eenmaal voorkwam, dat in de blokken 1-4 elke concentratie van links naar rechts eenmaal in elke "kolom" voorkwam en dat de volgorde van de concentratie in blokken 1 en 5 dezelfde was (met weliswaar steeds verschillende codenummers op de flesjes). Voor patient 1 bijv. kwam dit neer op onderstaand schema:

Patient 1.

Blok 1	fles nr.	20	5	8	12
	conc.	1	10	100	0,1
Blok 2	fles nr.	14	6	11	4
	conc.	0,1	100	10	1
Blok 3	fles nr.	19	16	15	2
	conc.	100	0,1	1	10
Blok 4	fles nr.	1	7	17	13
	conc.	10	1	0,1	100
Blok 5	fles nr.	9	18	3	10
	conc.	1	10	100	0,1

Om vergissingen bij de toediening te vermijden, werden voor elke patient de flesjes eerst in de voor die patient toe te passen volgorde opgesteld. Daarna werd bij elke patient volgens de normaal gebruikelijke werkwijze het extract in de huid gebracht en de responsies werden op "standaardmanier" beoordeeld, steeds door de analiste. De beoordeling werd als gebruikelijk uitgedrukt in een semi-kwantitatieve score op de schaal 0-4 (zie hoofdstuk III, pagina 50). Bovendien echter, werd per patient een rangvolgorde van de responsies opgesteld door direkte observatie van de analiste, onafhankelijk van de genoteerde scores. De bevindingen met betrekking tot de scores, respektievelijk rangnummers, zijn samengevat in tabel IV-IA, respektievelijk IV-IB.

### 3. Statistische analyse.

#### 3.1 Variabiliteit per concentratie.

In hoeverre aan de responsie-scores een absolute betekenis mag worden gehecht -binnen het bestek van dit onderzoek- valt enigszins af te lezen uit tabel IV-II. Daarin zijn per concentratie de frekwentie-verdelingen van de waargenomen scores weergegeven rond hun gemiddelden. De spreiding omvat hier behalve de beoordelingsonnauwkeurigheid (en afrondings-"fouten") ook de biologische variatie tussen patienten alsmede de variatie binnen patienten tussen de rugposities.

Gezien de aanzienlijke variatie en responsie-scores per concentratie, dient eerst vastgesteld te worden welke de voornaamste variatiebron is, voordat over de merites van deze score iets gezegd kan worden. Wanneer we de overeenkomstige rangcijfers beschouwen (zie tabel IV-III), zien we eveneens een relatief grote variabiliteit, terwijl de "tussen patienten-variatie" hierin geen of een veel geringere rol speelt.

#### 3.2 Variabiliteit tussen rugposities binnen patienten.

Nagegaan is, of er een min of meer systematisch patroon per testconcentratie is te onderkennen in de reactie-gevoeligheid tussen de rugposities per patient. Daartoe zijn op de

responsie-scores respektievelijk op de rangnummers variantie-analyses toegepast, rekening houdende met het "extended Latin Square"-schema. Blijkens deze analyses was bij geen der patienten duidelijk sprake van een systematisch patroon in reactie-gevoeligheid: de F-toets voor verschillen in horizontale, respektievelijk verticale richting tussen rugposities, resulteerde slechts voor één van de twintig gevallen in een waarde, groter dan de kritieke grenswaarde bij  $P = 0,05$ . Dit betekent dat toevallige fluctuaties in de responsies een eventueel optredend systematisch patroon volledig overschaduwden. De omvang van de toevallige fluctuaties kan worden uitgedrukt in de "standaardafwijking binnen patienten":  $s_p$ , waarin naast beoordelingsonnauwkeurigheid ook de (kleine) variatie tussen rugposities is verdisconteerd.

### 3.3 Reproduceerbaarheid binnen één patient.

De variabiliteit van de responsie-scores per concentratie binnen patienten is uitgedrukt in standaardafwijkingen, zoals weergegeven in tabel IV-IV.

Hieruit kan per concentratie de reproduceerbaarheid per patient worden afgeleid (via (gewogen) gemiddelden van individuele gekwadraterde standaardafwijkingen). De resultaten zijn in tabel IV-V samengevat. Deze resultaten wekken de indruk dat de reproduceerbaarheid afhangt van de concentratie c.q. van het gemiddelde responsie-niveau, hetgeen eenvoudig grafisch bevestigd wordt in figuur IV-1. In deze figuur is tevens af te lezen, welk verschil  $\Delta_p$  tussen 2 individuele responsie-scores per patient net als significant is te beschouwen bij  $\alpha = 0,05$ , in afhankelijkheid van het gemiddelde responsie-scores-niveau.

### 3.4 Reproduceerbaarheid tussen patienten.

Uit de variatie tussen de gemiddelde responsies  $\bar{x}$  in tabel IV-IV kan ook de reproduceerbaarheid tussen patienten worden afgeleid. Hierin is tevens de variabiliteit binnen patienten verdisconteerd. De resultaten zijn samengevat in tabel IV-VI.

Het uit  $\hat{\sigma}_t$  afgeleide "kleinste significante verschil"  $\Delta_t$  tussen twee individuele responsie-scores bij verschillende patienten is eveneens in figuur IV-1 weergegeven.

#### 4. Conclusies.

In figuur IV-1 (en tabellen IV-V en IV-VI) zijn de belangrijkste resultaten samengevat. Hieruit blijkt:

- de reproduceerbaarheid van directe huidreacties met gras-pollenextract is matig;
- de reproduceerbaarheid wordt slechter met afnemende concentratie en derhalve afnemend gemiddeld responsie-score-niveau;
- de reproduceerbaarheid binnen patienten is uitgedrukt in de standaardafwijking  $\hat{\sigma}_b$ , alsmede in het daarvan afgeleide "kritieke verschil"  $\Delta_b$ : het kleinste significante verschil tussen 2 individuele responsie-scores binnen één patient ( $\alpha = 0,05$ ); de waarde van  $\Delta_b$  bereikt pas de waarde 1 (= één plus) bij gemiddelde responsie-score van 2.5 of hoger, m.a.w. een verschil één plus is niet (statistisch) significant zolang het responsie-niveau gemiddeld niet boven "twee plussen" ligt;
- de reproduceerbaarheid tussen patienten (voor zover in de praktijk van belang) volgt globaal dezelfde trend (zie figuur IV-1).

Tabel IV-IA. Responsie-scores, gerangschikt naar patienten en extract-concentraties (= fles nrs.).

Fles nr.	Conc. (NeqE)	P a t i e n t									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	10	2.5	2.5	2	2.5	2.5	3	2.5	2.5	2.5	2
2	10	2.5	2.5	2	2.5	2.5	2	2	2.5	2	1
3	100	3	3	3	3	3	3	2.5	3	3	2.5
4	1	1.5	2.5	2.5	2.5	2	2	1.5	2	0.5	1
5	10	2	3.5	3	2.5	3	2	2	2.5	2.5	2
6	100	3	3.5	3	3	3	3	2.5	3	3	2
7	1	1.5	2	2.5	2	2	2.5	1.5	1.5	1.5	2
8	100	3	3	3	3	3.5	3	2.5	3	2.5	2
9	1	2	2.5	2	2.5	2.5	2	1.5	2.5	2	1
10	0.1	1.5	2.5	2.5	1	2	2	2	1.5	0.5	0.5
11	10	2	2.5	2.5	3	2.5	2.5	2	3	2.5	2
12	0.1	0.5	2	1	1.5	1.5	0.5	1	1.5	0.5	0.5
13	100	3	3.5	4	3	3	3	2.5	3	3	2
14	0.1	0.5	2	1.5	2	1.5	2	1	1.5	0.5	0.5
15	1	1.5	2.5	2	1.5	2	2	2	2.5	2	0.5
16	0.1	0.5	0.5	1	1.5	2	0.5	2	2	1.5	0.5
17	0.1	1	2	2	2	2	1	1.5	1	1	0.5
18	10	2.5	3	2	2	2.5	3	2	2.5	2.5	1.5
19	100	3	3	2.5	2.5	3	3	2.5	3	2.5	1
20	1	2	2	2	2	1.5	2	1.5	2	2	0.5



Tabel IV-IB. Rangnummers van responsies per patient, gerangschikt naar extract-concentraties (= fles nrs.).

Fles nr.	Conc. (NeqE)	P a t i e n t									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		R a n g n u m m e r s									
1	10	12.5	12	3	12.5	12	19	16.5	11	15	17.5
2	10	14	7.5	5	12.5	10.5	6.5	13	14	10.5	10
3	100	20	12	19	16.5	19	17	19	18	18.5	20
4	1	6.5	12	12.5	10	8.5	6.5	4.5	7.5	3	10
5	10	10.5	18	16.5	12.5	13	10.5	14.5	13	13.5	17.5
6	100	17.5	19.5	16.5	16.5	18	14	14.5	18	20	17.5
7	1	6.5	3	8	8.5	6	10.5	4.5	5.5	7	12.5
8	100	17.5	17	18	20	20	17	20	18	16.5	14.5
9	1	10.5	15	6	12.5	10.5	12	4.5	11	9	8
10	0.1	6.5	5	11	1	8.5	6.5	12	4	4	2.5
11	10	12.5	10	14.5	15	15	13	10	18	13.5	17.5
12	0.1	1	3	3	2	2.5	1	2	2.5	2	2.5
13	100	17.5	19.5	20	19	16	15	18	18	18.5	14.5
14	0.1	2.5	6	3	8.5	1	6.5	1	2.5	1	2.5
15	1	6.5	9	12.5	4	6	6.5	10	7.5	10.5	6.5
16	0.1	2.5	1	1	4	4	2	10	5.5	6	2.5
17	0.1	4	7.5	8	6.5	6	3	4.5	1	5	5
18	10	15	15	10	4	14	17	7.5	11	12	12.5
19	100	17.5	15	14.5	18	17	20	16.5	15	16.5	10
20	1	9	3	8	6.5	2.5	6.5	7.5	9	8	6.5

Tabel IV-II. Frekwentieverdeling van responsie-scores per concentratie.

Score	Conc. (NeqE)			
	100	10	1	0.1
	Frekwenties			
0.5			3	14
1	1	1	2	9
1.5	0	1	11	11
2	3	15	23	14
2.5	10	25	11	2
3	32	7		
3.5	3	1		
4	1			
Gemiddeld (n = 50)	2.85	2.39	1.87	1.31

Tabel IV-III. Frekwentieverdeling van rangcijfers per concentratie.

Rangcijfer	Conc. (NeqE)			
	100	10	1	0.1
Frekwenties				
1				9
1.5				
2				4
2.5			1	9
3		1	3	4
3.5				
4		1	1	5
4.5			3	1
5		1		3
5.5			1	1
6		1	3	3
6.5			9	4
7			1	
7.5		2	3	1
8			4	1
8.5			2	2
9			4	
9.5				
10	1	4	3	1
10.5		4	4	
11		2	1	1
11.5				
12	1	3	2	
12.5		6	4	1
13		4		
13.5		2		
14	1	3		
14.5	4	2		
15	3	5	1	
15.5				
16	1			
16.5	6	2		
17	4	1		
17.5	5	3		
18	8	2		
18.5	2			
19	4	1		
19.5	2			
20	8			
Mediaan (n=50)	17,5	12,75	7,75	3
Ideaal gemiddelde *)	18	13	8	3

\*) Het te verwachten gemiddelde indien per patient de hoogste concentratie altijd responsies met de hoogste rangcijfers zou opleveren (nl. de cijfers 16 t/m 20) en zo vervolgens voor de lagere concentraties.

Tabel IV-IV. Gemiddelden ( $\bar{x}$ ) en standaardafwijkingen ( $s_b$ ) van responsie-scores per concentratie en per patient.

Conc. (NeqE)		P a t i e n t										Gem. responsie- scores
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0.1	$\bar{x}$	0.8	1.8	1.6	1.6	1.8	1.2	1.5	1.5	0.8	0.5	1.31
	$s_b$	0.45	0.76	0.65	0.42	0.27	0.76	0.50	0.53	0.45	0.00	
1	$\bar{x}$	1.7	2.3	2.2	2.1	2.0	2.1	1.6	2.1	1.6	1.8	1.87
	$s_b$	0.27	0.27	0.27	0.42	0.53	0.22	0.22	0.42	0.65	0.61	
10	$\bar{x}$	2.3	2.8	2.3	2.5	2.6	2.5	2.1	2.6	2.4	1.7	2.39
	$s_b$	0.27	0.45	0.45	0.53	0.22	0.50	0.22	0.22	0.22	0.45	
100	$\bar{x}$	3.0	3.2	3.1	2.9	3.1	3.0	2.5	3.0	2.8	1.9	2.85
	$s_b$	0.00	0.27	0.55	0.22	0.22	0.00	0.00	0.00	0.27	0.55	

Tabel IV-V. Reproduceerbaarheid binnen patienten.

Standaardafwijkingen van responsie-scores binnen patienten:  $\hat{\sigma}_b$ , en daarvan afgeleid "het kleinste significante verschil" als maat voor de reproduceerbaarheid binnen patienten.

Concentratie (NeqE)	$\hat{\sigma}_b$ ( $\nu=40$ )	"kleinste significante verschil" ( $\alpha=0,05$ ) tussen 2 individuele responsie-scores per patient
0.1	0.52	$\Delta_b = 1.5$
1	0.42	1.2
10	0.38	1.1
100	0.29	0.8

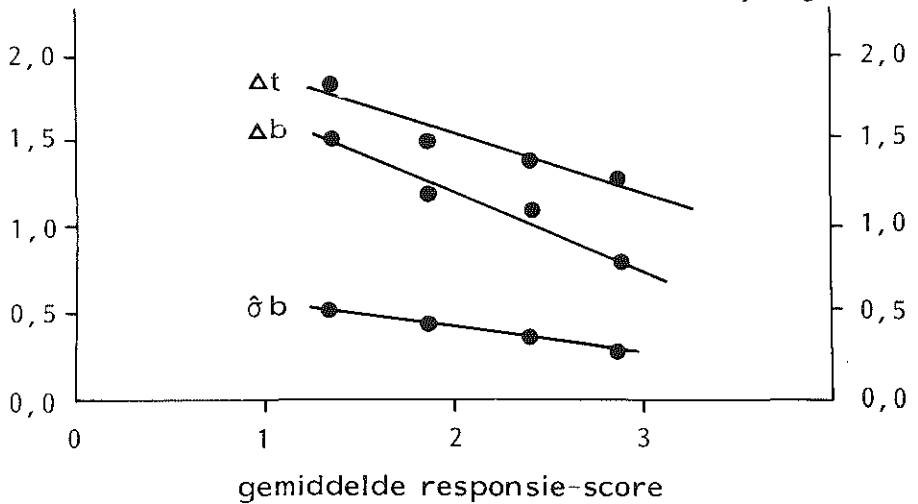
Tabel IV-VI. Reproduceerbaarheid tussen patienten.

Standaardafwijkingen van responsie-scores tussen patienten:  $\hat{\sigma}_t$  en daarvan afgeleid het "kleinste significante verschil" als maat voor de reproduceerbaarheid tussen patienten.

Concentratie (NeqE)	$\hat{\sigma}_t$ ( $\nu = 36$ )	"kleinste significante verschil" ( $\alpha=0.05$ ) tussen 2 individuele responsie-scores bij verschillende patienten
0.1	0.63	$\Delta_t = 1.8$
1	0.54	1.5
10	0.51	1.4
100	0.45	1.3

kleinste significante  
verschil tussen 2  
individuele  
responsie-scores ( $\Delta$ )

standaard  
afwijking ( $\hat{\sigma}_b$ )



Figuur IV-1. Verband tussen de reproduceerbaarheid van directe huidreacties en de concentratie van het testextract, c.q. responsieniveau van de reacties.

$\Delta_t$  = kleinste significante verschil tussen twee individuele responsie-scores bij verschillende patienten.

$\Delta_b$  = idem bij eenzelfde patient.

$\hat{\sigma}_b$  = standaardafwijking van responsie-scores binnen patienten.

V RESULTATEN VAN DE ONDERZOEKINGEN MET HYPOSENSIBILISATIE MET GRASPOLLENEXTRACT

Onderzoek 379-12-1<sup>\*)</sup>: Hyposensibilisatie met waterig graspollenextract.

Vanaf najaar 1972 werden 15 patienten gehyposensibiliseerd met commercieel verkrijgbaar waterig graspollenextract (Diephuis/Voorhorst). Hierbij werden om de 3 maanden huidtests met graspollenextract verricht en tevens de blokkerende activiteit van het serum bepaald met behulp van de huidreactie-remmingstest. Tevens werd bloed afgenomen voor serologisch onderzoek. Er waren geen uitvallers in het eerste jaar. Een gedeelte van deze patienten werd gedurende een aantal jaren vervolgd, waarbij eenmaal per jaar een onderzoek als hierboven vermeld, werd verricht.

Najaar 1972/najaar 1973

Om de 3 maanden werden de volgende onderzoeken verricht:

- intracutane huidtests met waterig graspollenextract 100, 10, 1 en 0,1 NeqE/ml met directe aflezing;
- bepaling van specifiek IgE in serum met behulp van de RAST van het CLB.  
Bij 8 patienten was de RAST-score in onverdunde serum zo hoog, dat het serum 1/10 verdund diende te worden om een betrouwbare RAST-score te verkrijgen. Hierdoor werden de gegevens gedeeltelijk verwerkt in 2 groepen A en B, respectievelijk met RAST-scores in onverdund en verdund serum;
- bepaling van blokkerende activiteit van het serum met behulp van de huidreactie-remmingstest.

-----  
\*) De betekenis van deze code is als volgt: code van de Vakgroep K.N.O. is 379. Het nummer van het hyposensibilisatie-project binnen de Vakgroep K.N.O. is 12. De reeks derde nummers is het nummer van het onderdeel van het hyposensibilisatie-project.

### Najaar 1973/najaar 1976

Gedurende deze periode werd getracht bovenvermelde onderzoekingen eenmaal per jaar in het najaar te verrichten. Dit leverde incomplete gegevens op, die statistisch niet konden worden verwerkt.

## RESULTATEN

### Najaar 1972/najaar 1973

#### Huidreacties

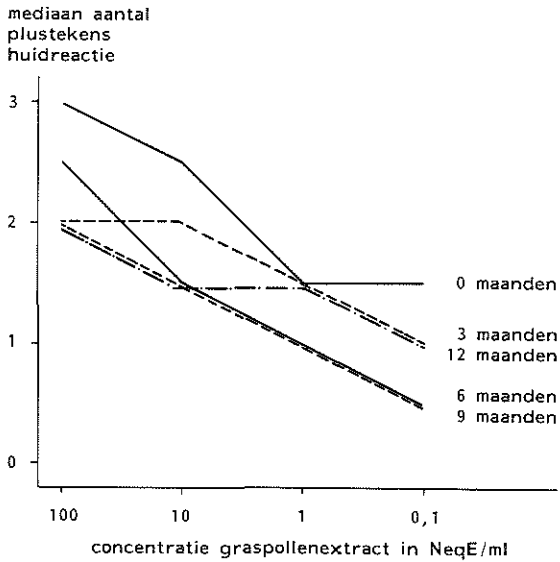
Een overzicht van het verloop van de huidreacties wordt gegeven in fig.V-1, waaruit vermindering van de huidreacties voor alle geteste concentraties blijkt. Indien men het totaal aantal plus-tokens voor de reacties op de 4 verdunningen als maat van specifieke huidreactiviteit neemt (fig.V-2 en tabel V-I), zijn de verschillen tussen 0 respectievelijk 3, 6, 9 en 12 maanden significant, benevens de verschillen tussen 3 en 9 en tussen 3 en 12 maanden (rangtekentoets). In tabel V-I staan tevens de huidreacties (medianen) voor graspollen in groepen A en B weergegeven. Hierbij zijn alleen de verschillen tussen 0 en 12 maanden berekend: in groep A is dit verschil significant en in groep B niet niet ( $0,05 < P < 0,10$ ; rangtekentoets). De veranderingen aan huidreacties tussen 0 en 12 maanden zijn tussen beide groepen niet verschillend (Wilcoxon), hetgeen een echte daling in groep B van 0 - 12 maanden aannemelijk maakt. Behalve op het tijdstip van 3 maanden, zijn de huidreacties in groep A groter dan in groep B (Wilcoxon). Het is ook te verwachten, dat in de groep met de sterkere huidreacties hogere RAST-scores worden gevonden.

#### Specifiek IgE (RAST)

De RAST-scores in groepen A en B worden in fig.V-3 vermeld. In groep A is er een daling van 0 - 6 maanden en van 3 - 6 maanden, doch verder zijn er geen significante verschillen (rangtekentoets).

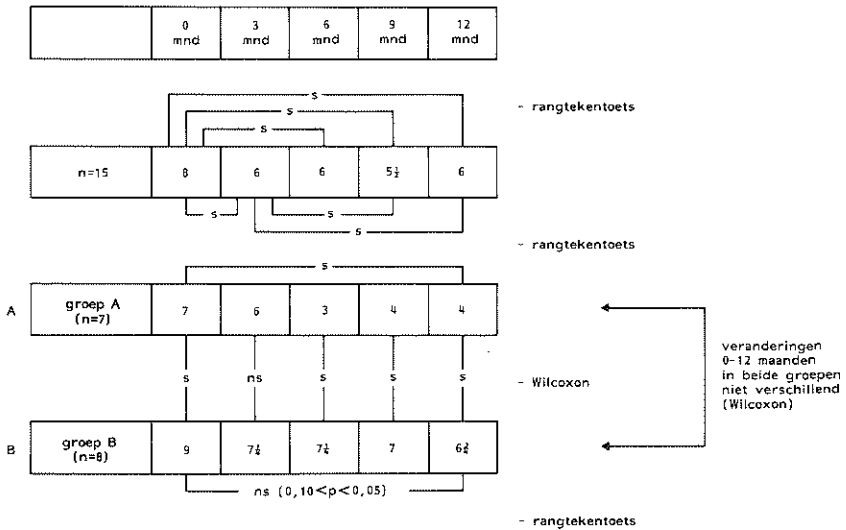
In groep B zijn er geen verschillen in RAST-scores op de verschillende tijdstippen. Bij beide groepen is er op elk tijdstip geen verband tussen de RAST-score en het totaal aantal plus-tokens huidreactie graspollen (Spearman).

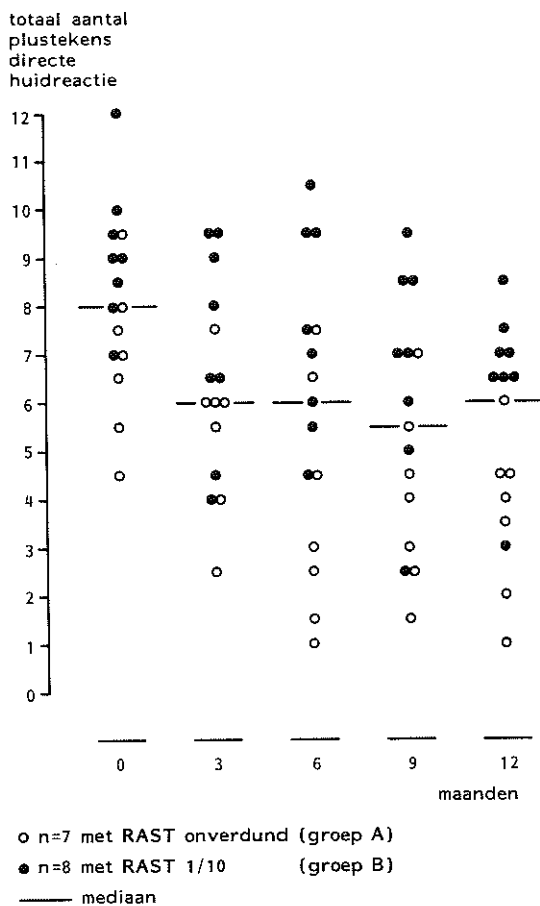




Figuur V-1. Direkte huidreacties graspollenextract gedurende het eerste jaar.

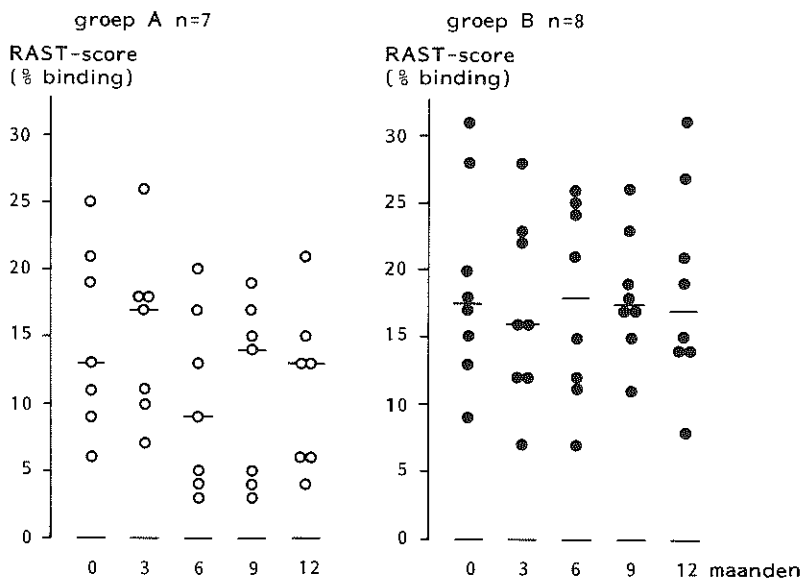
Tabel V-I. Medianen totale directe huidreactiviteit graspollenextract gedurende het eerste jaar.





Figuur V-2. Totale direkte huidreactiviteit gras-pollen-extract gedurende het eerste jaar.

o n = 7 met RAST onverdund (groep A)  
● n = 8 met RAST 1/10 (groep B)



Figuur V-3. IgE-RAST-scores in het eerste jaar. Verklaring der tekens: zie figuur IV-2.

#### Blokkerende activiteit (huidreactie-remmingstest)

De titers aan blokkerende activiteit in het serum worden weergegeven in tabel V-II. De titers stijgen naarmate de behandelingsduur langer wordt; dit geldt ook voor beide groepen A en B apart. Op geen der tijdstippen verschillen de titers tussen de beide groepen (Wilcoxon). Er is geen verband tussen de titer aan blokkerende activiteit en de vermindering van het totaal aantal plus-tokens aan huidreacties met graspollenextract (Spearman). In figuur V-4 wordt dit voor het tijdstip van 12 maanden grafisch weergegeven. Opvallend is, dat de titer aan blokkerende activiteit na 6 maanden pas duidelijk aanwezig is, terwijl al na 3 maanden de grootste daling aan huidreactie wordt gevonden.

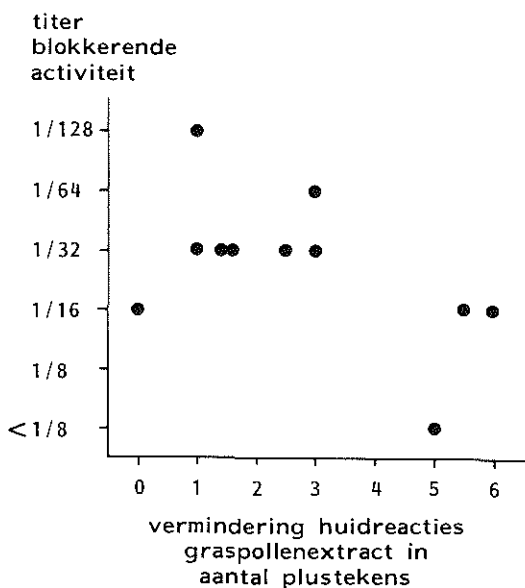
#### Totale dosering

De totale dosering aan ingespoten graspollenextract bij behandeling na 12 maanden staat vermeld in tabel V-III. Er is geen verschil tussen de hoeveelheden in de groepen A en B (Wilcoxon).

Tabel V-II. Titer blokkerende aktiviteit.

A + B      n = 15	aantal patienten				
	0 mnd	3 mnd	6 mnd	9 mnd	12 mnd
geen huidreactie op graspollen*)		1	2	3	3
positieve serum re- actie*)					1
1/128					1
1/64				1	1
1/32			3	6	4
1/16		1	5	3	4
1/8		2	2	1	
1/8	15	11	3	1	1
<hr/>					
A      n = 7					
onbekend		1	2	3	3
1/128					1
1/64				1	
1/32			2	2	2
1/16			1	1	
1/8		1	1		
1/8	7	5	1		1
<hr/>					
B      n = 8					
onbekend					1
1/128					
1/64					1
1/32			1	4	2
1/16		1	4	2	4
1/8		1	1	1	
1/8	8	6	2	1	

\*) titer onbekend.

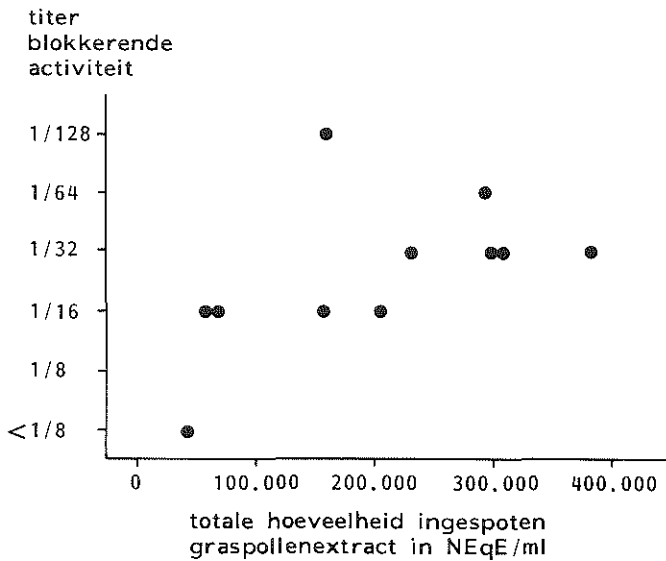


Figuur V-4. Verband tussen vermindering directe huidreactiviteit graspollenextract en titer blokkerende activiteit na 1 jaar ( $n = 15 - 4 = 11$ , Spearman  $P < 0,05$ ).

Er is na 12 maanden geen verband tussen deze totaaldosering en de vermindering van huidreacties graspollen, doch wél met de titer aan blokkerende activiteit (Spearman). Dit laatste is grafisch weergegeven in figuur V-5, waaruit inderdaad een trend aanwezig blijkt.

Tabel V-III. Cumulatieve dosering ingespoten graspollenextract in NeqE na 1 jaar.

A + B n = 15	A n = 7	B n = 8
270.605	270.605	249.615
41.155 - 385.548	41.155 - 385.548	57.420 - 301.105



Figuur V-5. Verband tussen totale dosering graspollenextract en de titer blokkerende activiteit na 1 jaar. (n = 15 - 4 = 11, Spearman P < 0,05).

Najaar 1973/najaar 1976

De huidreactiviteit voor graspollenextract stijgt bij 6 patienten weer na kortere of langere tijd. Bij 4 patienten is er in de loop der jaren een duidelijke daling van de RAST-score. Voor zover na te gaan, lijkt de titer aan blokkerende activiteit van het serum na 2 jaar niet verder te stijgen.

Onderzoek 379-12-3: Hyposensibilisatie met waterig graspollenextract.

In dit onderzoek werden 20 hooikoortpatienten vanaf najaar 1973 gedurende 2 jaar vervolgd tijdens hyposensibilisatie met commercieel verkrijgbaar waterig graspollenextract (Diephuis/Voorhorst). Aanvankelijk waren 23 patienten in het onderzoek betrokken. In het tweede jaar staakten 3 patienten de behandeling wegens respektievelijk herhaalde sterke plaatselijke reacties, één algemene reactie en drukke werkzaamheden. In najaar 1973, 1974 en 1975 werden de volgende variabelen vervolgd:

- directe huidreacties met commercieel verkrijgbaar graspollenextract in testconcentraties 100, 10, 1 en 0,1 NeqE/ml;
- specifiek IgE, bepaald met Phadebas-PRAST-kit (gemiddelde van duplo waarnemingen van G<sub>3</sub> = Dactylus glomerata en G<sub>6</sub> = Phleum pratense) en specifiek IgG<sub>4</sub> volgens de PRAST-techniek, waarbij graspollenextract charge 119 van Diephuis werd gekoppeld aan paper-discs en gebruik gemaakt kon worden van radio-actief gemaakt antihumaan-IgG<sub>4</sub>-serum van het CLB. (Deze laatste bepalingen waren niet compleet.);
- specifieke IgE-, specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen, bepaald door het CLB, waarbij graspollenextract charge 119 van Diephuis als allergeenextract werd gebruikt;
- totaal IgE (Phadebas-RIST);
- titer blokkerende activiteit van het serum middels huidreactieremmingstest.

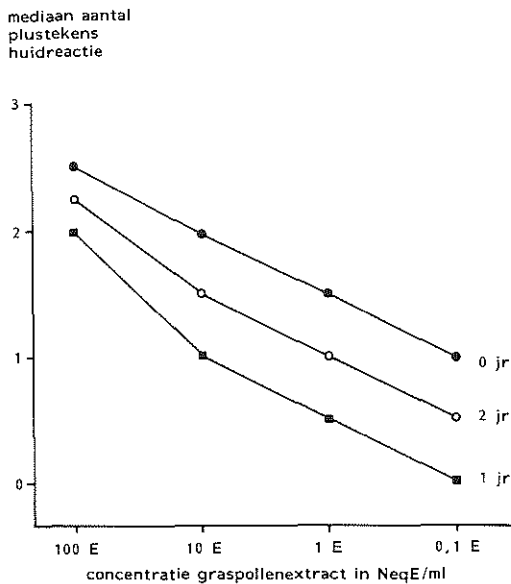
Aangenomen mag worden, dat de totaaldosering in 1973/1974 circa 85.000 NeqE en in 1974/1975 circa 120.000 NeqE bedroeg.

8 hooikoortspatienten werden tevens met huisstofmijtenextract gehyposensibiliseerd; deze hyposensibilisatie had geen merkbare invloed op de resultaten bij de graspollen-hyposensibilisatie.

## Resultaten

### Huidreacties met graspollenextract

De medianen van de directe reacties voor 100, 10, 1 en 0,1 NeqE/ml testextract zijn weergegeven in figuur V-6. De reacties verminderen sterk in het eerste jaar, doch stijgen weer enigszins in het tweede jaar. De totale huidreactiviteit, bestaande uit de som aan plustekens huidreactie voor de 4 testconcentraties te zamen, staat weergegeven in figuur V-7.



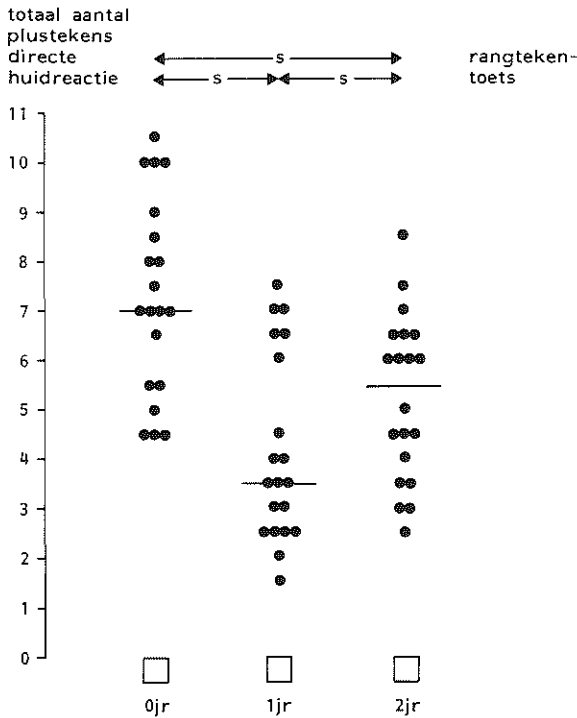
Figuur V-6. Direkte huidreacties graspollenextract.

De totale huidreactiviteit daalt significant van 0 naar 1 jaar, doch stijgt weer van 1 naar 2 jaar, terwijl na 2 jaar de huidreacties nog steeds significant kleiner zijn dan vóór de behandeling.

### Specifieke IgE-antistoffen (Phadebas-PRAST)

De resultaten van dit onderzoek staan weergegeven in figuur V-8. De specifieke IgE-titer daalt van 0 naar 1 jaar en stijgt van 1



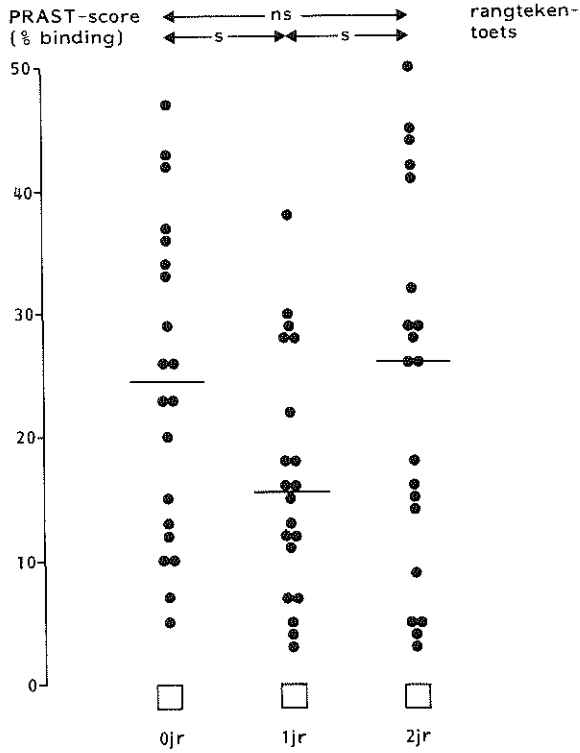


Figuur V-7. Totale directe huidreactiviteit graspollenextract.

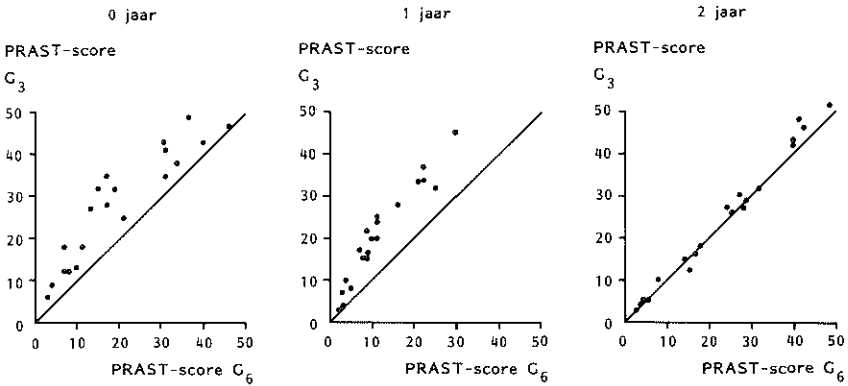
naar 2 jaar, terwijl er geen significant verschil bestaat tussen 0 en 2 jaar. In figuur V-9 zijn de aparte PRAST-scores weergegeven voor  $G_3 = \text{Dactylus glomerata}$  en  $G_6 = \text{Phleum pratense}$ : op alle 3 tijdstippen blijkt een duidelijk verband tussen beide scores. Echter zijn bij 0 en 1 jaar de PRAST-scores voor  $G_3$  significant hoger dan voor  $G_6$ , terwijl deze scores na 2 jaar niet verschillend zijn.

Specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen (met PRAST bepaald)

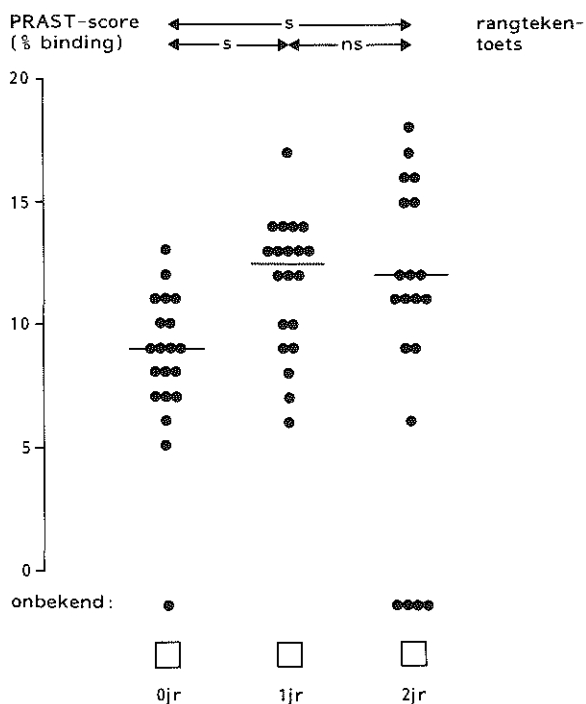
In figuur V-10 staan de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers vermeld. Er is een duidelijke stijging van 0 naar 1 jaar, terwijl de verschillen tussen 1 en 2 jaar niet significant zijn; bovendien is er een significante stijging van 0 naar 2 jaar.



Figuur V-8. IgE-PRAST-scores (gemiddelde van  $G_3$  en  $G_6$ ).  
 $G_3$  = *Dactylus glomerata*.  $G_6$  = *Phleum pratense*.



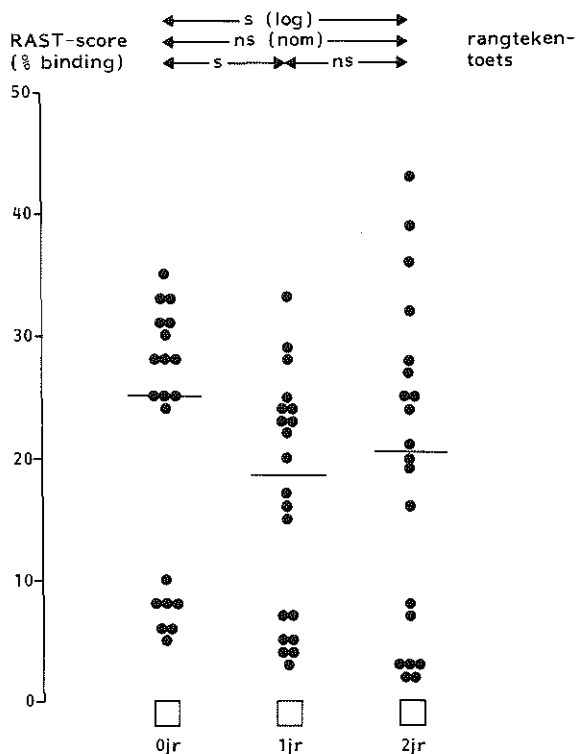
Figuur V-9. Verband tussen IgE-PRAST-scores van  $G_3$  en  $G_6$ .  
 $G_3$  = *Dactylus glomerata*.  $G_6$  = *Phleum pratense*.



Figuur V-10.  $IgG_4$ -PRAST-scores (gemiddelde van  $G_3$  en  $G_6$ ).

Specifieke antistoffen bepaald op het CLB.

De specifieke IgE-titers staan weergegeven in figuur V-11. Hier valt op, dat de waarnemingen per tijdstip in twee groepen verdeeld zijn, vooral bij 0 jaar. Het is onduidelijk, waarom dit optreedt. Dit bemoeilijkt de interpretatie van statistische berekeningen, m.n. wanneer de specifieke IgE-titers of veranderingen daarin worden vergeleken met andere variabelen of hun veranderingen. Overigens zijn er -afgezien van de significante daling van 0 tot 1 jaar- geen veranderingen in de nominale specifieke IgE-titers. Bij berekeningen met de logaritme van de uitslagen blijkt tevens een significante daling van 0 naar 2 jaar te bestaan. De specifieke  $IgG_1$ -titers staan weergegeven in figuur V-12. Er blijkt een significante stijging van 0 naar 1 jaar en een lichte daling van 1 naar 2 jaar aanwezig te zijn, terwijl de waarden in het tweede jaar nog steeds significant hoger zijn dan vóór het begin van de behandeling.



Figuur V-11. IgE-RAST-scores.

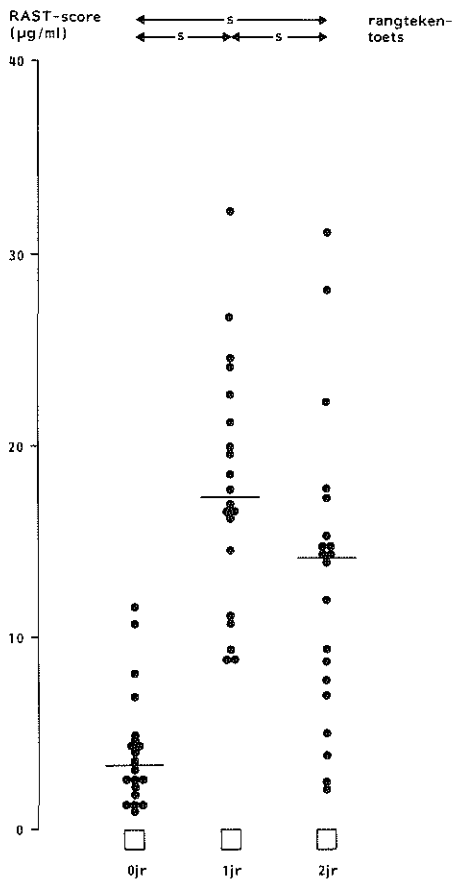
De specifieke IgG<sub>4</sub>-titers staan weergegeven in figuur V-13. De titers stijgen significant van 0 naar 1 en van 0 naar 2 jaar, terwijl er tussen 1 en 2 jaar geen verschil aanwezig is.

#### Totaal IgE.

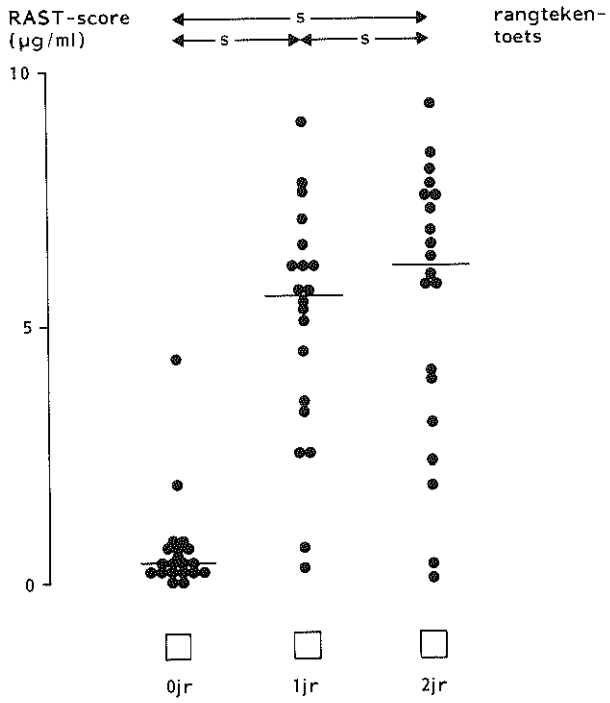
Het totaal IgE-gehalte van de serum-monsters verschillen niet bij 0 en 1 jaar, doch er is wel een stijging van 0 naar 2 jaar en van 1 naar 2 jaar (figuur V-14).

#### Blokkerende activiteit (huidreactie-remmingstest)

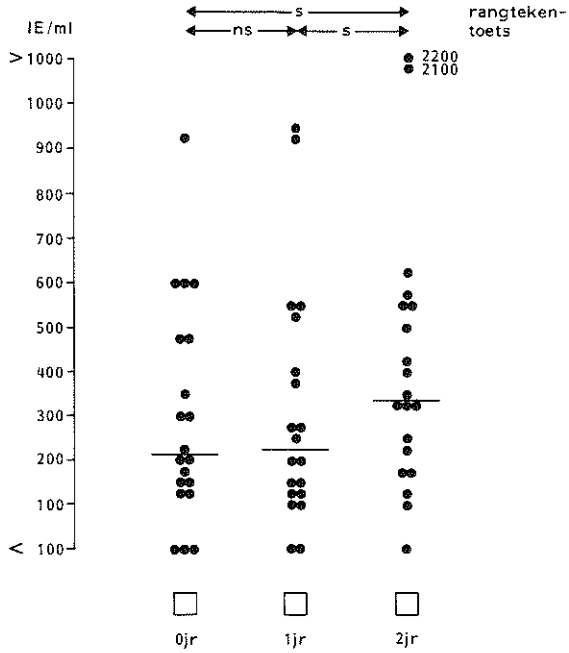
De resultaten van de huidreactie-remmingstest staan weergegeven in tabel V-IV. Zowel na 1, als na 2 jaar zijn titers aan blokkerende activiteit in het serum aanwezig. Er is geen verschil tussen de titers na 1 en 2 jaar.



Figuur V-12. IgG<sub>1</sub>-RAST-scores.



Figuur V-13. IgG<sub>4</sub>-RAST-scores.



Figuur V-14. Totaal IgE in serum (RAST).

Tabel V-IV. Titer blokkerende activiteit.

	aantal patienten		
	0 jaar	1 jaar	2 jaar
geen huidreactie op 3 NegE graspollen *)		3	5
1/256		1	
1/128		2	3
1/64		5	3
1/32		4	3
1/16		2	4
1/8		3	2
1/4			
< 1/4	20		

\*) titer onbekend

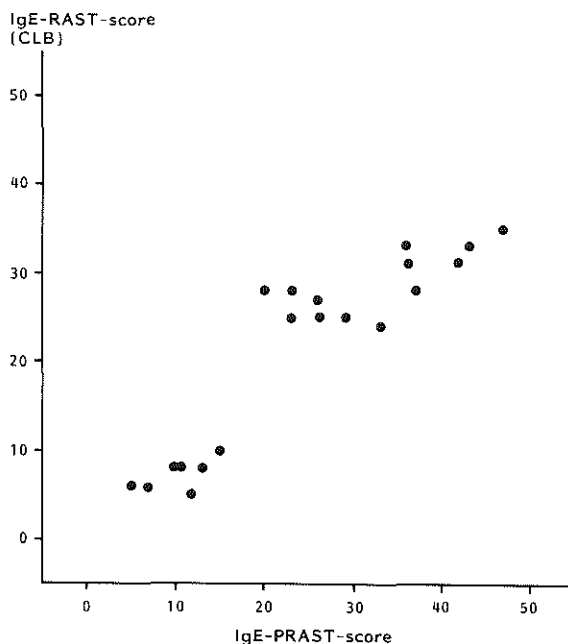
### Verbanden tussen variabelen.

De directe huidreactiviteit voor graspollen blijkt op geen der 3 tijdstippen gecorreleerd te zijn aan de specifieke IgE-, specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-titers.

De IgE-PRAST-titers, de IgE-RAST-titers en totaal IgE-gehalten zijn op alle tijdstippen aan elkaar gecorreleerd (Spearman en grafische voorstelling). Hierbij moet worden aangetekend, dat vooral bij het tijdstip van 0 jaar de grafische beoordeling van de IgE-PRAST-scores ten opzichte van de IgE-RAST-scores bemoeilijkt wordt door de ongelijkmatige verdeling van de IgE-RAST-scores (figuur V-15); bij de rangcorrelatietoets van Spearman is  $P < 0,001$ .

De IgE-RAST-scores zijn niet gecorreleerd aan de IgG<sub>1</sub>-RAST- en IgG<sub>4</sub>-RAST-scores.

De specifieke IgG<sub>4</sub>-titers, gemeten volgens RAST en PRAST zijn niet met elkaar gecorreleerd; evenmin bestaat er een verband tussen de IgG<sub>1</sub>-RAST- en de IgG<sub>4</sub>-RAST-scores op de 3 tijdstippen.



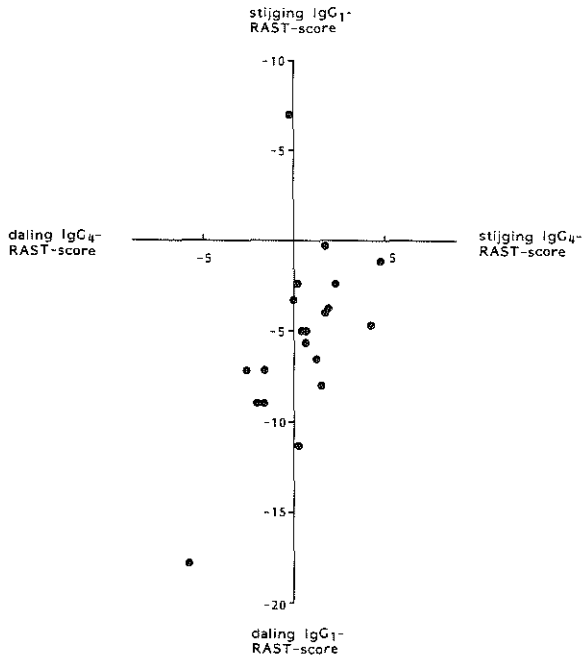
Figuur V-15. Verband IgE-PRAST-scores met IgE-RAST-scores bij 0 jaar (Spearman,  $P < 0,001$ ).



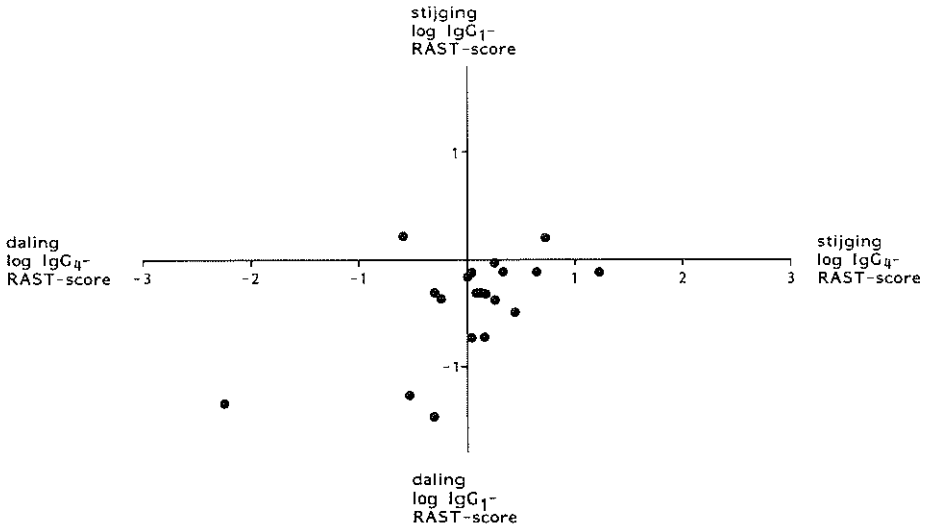
Verbanden tussen veranderingen in variabelen.

De daling aan directe huidreactiviteit voor graspollen is op alle 3 tijdstippen niet gecorreleerd aan de veranderingen van alle specifieke IgE-, specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-titers, noch aan de titer van blokkerende activiteit.

Tussen veranderingen aan specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-titers én de titers aan blokkerende activiteit van het serum bestaat geen significant verband. Voorts is er voor de periode van 1 naar 2 jaar een gering verband tussen de veranderingen van de specifieke IgG<sub>1</sub>- en de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers (CLB-RAST); zie figuren V-16 en V-17. Dit is een eenmalige waarneming en waarschijnlijk een toevalsbevinding.



Figuur V-16. Verband tussen nominale veranderingen van IgG<sub>1</sub>- en IgG<sub>4</sub>-RAST-scores in mg/ml van 1 -2 jaar (Spearman, P < 0,02).



Figuur V-17. Verband tussen logaritmische veranderingen van  $IgG_1$ - en  $IgG_4$ -RAST-scores van 1-2 jaar (Spearman,  $P < 0,05$ ).

De veranderingen van direkte huidreactiviteit voor graspollen-extract zijn niet gecorreleerd met de veranderingen van de andere variabelen. Hetzelfde geldt voor de veranderingen van de specifieke IgE-titers.

Onderzoek 379-12-5: Klinisch onderzoek over hyposensibilisatie met waterig aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract versus placebo-injecties.

Dit onderzoek, van najaar 1974 tot najaar 1975, gaat na of een patientengroep, die met waterig aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract wordt gehyposensibiliseerd, minder klachten zou hebben dan een groep die placebo-injecties krijgt. Daarbij worden huidreacties en serologische variabelen vervolgd.

Opzet van het onderzoek.

Patienten.

In najaar 1974 zijn 28 typische hooikoortspatienten geselecteerd, die buiten het seizoen weinig of geen luchtwegklachten hadden en voorts voldeden aan de eisen, zoals in hoofdstuk III vermeld. De patienten zijn aselekt over 2 deelnemersgroepen verdeeld. Oorspronkelijk bestonden beide groepen aldus uit 14 patienten. Naderhand bleken 3 patienten toch veel klachten buiten het hooikoortsseizoen te hebben (1 in de gehyposensibiliseerde groep en 2 in de placebo-groep). In de placebo-groep viel voorts 1 patient uit wegens onvolledige invulling van zijn formulieren tijdens het seizoen en 1 patient wegens verblijf gedurende 4 weken in de zomer in een "pollenloos" gebied. Bij 1 patient uit de gehyposensibiliseerde groep konden tijdens de behandeling slechts zeer lage doseringen worden bereikt in verband met kennelijke onverdraagzaamheid, zodat ook de gegevens van deze patient niet voor verwerking in aanmerking kwamen.

Een overzicht van de resterende 22 patienten wordt in tabel V-V gegeven. Beide groepen zijn goed met elkaar vergelijkbaar met betrekking tot zeven variabelen, met uitzondering van het aantal seizoenen doorgemaakte hooikoorts vóór het onderzoek. Deze aantallen zijn significant verschillend tussen beide groepen. Onderzoek naar correlatie in elke groep tussen dit aantal seizoenen en andere variabelen wijst uit dat er geen correlatie optreedt met de totale huidreactiviteit voor graspollen, noch met de specifieke IgE-, de specifieke IgG<sub>1</sub>- en de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers. Evenmin is er een verband met de totale score van klach-

ten en medicamentengebruik in 1975 voor beide groepen apart. In de met graspollenextract behandelde groep is er bovendien geen correlatie aantoonbaar tussen het aantal seizoenen en de totaal-dosering die in voorjaar 1975 en in najaar 1975 werd bereikt.

Tabel V-V. Overzicht patientengroepen.

	placebo	depotgraspollen
n	10	12
man	5	6
vrouw	5	6
leeftijd		
m	30	* 27
R	21-58	14-33
beginleeftijd		
hooikoorts	m 16,5	* 15
	R 10-34	8-30
aantal seizoenen		
hooikoorts	m 12	** 5
	R 2-33	1-20
pollenastma	4	5
vroeger constitutioneel eczeem	2	1 ?
andere atopieën (zonder invloed op het klachtenpatroon)	7	8
familie anamnese atopie	6	11

\*) geen significant verschil (Wilcoxon).

\*\*\*) significant verschil (Wilcoxon,  $P < 0,05$ )

Tenslotte bestaat er een duidelijke overlapping in de aantallen seizoenen met hooikoorts van beide groepen. Op grond van deze bevindingen is het niet aannemelijk dat het verschil in mediaan aantal seizoenen hooikoorts vóór het onderzoek tussen de groepen,

de vergelijkbaarheid heeft beïnvloed of anderszins een rol bij de resultaten van het onderzoek heeft gespeeld.

#### Opzet van het onderzoek.

Vanaf 1975 werden de patienten na aselechte verdeling volgens het dubbelblind principe óf behandeld met waterig aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract (afgekort DG), ook wel "depotgraspollenextract" genoemd, óf met placebo-injecties (afgekort PL) met lactoflavine 0,006 mg/ml, beide vloeistoffen met hetzelfde toedieningsschema. Klinische evaluatie vond plaats in de periode van 12 mei tot 7 juli 1975. De extracten voor huidtests en serologisch onderzoek zijn evenals die van de hypo-sensibilisatievloeistoffen van dezelfde graspollen charge 119 gemaakt.

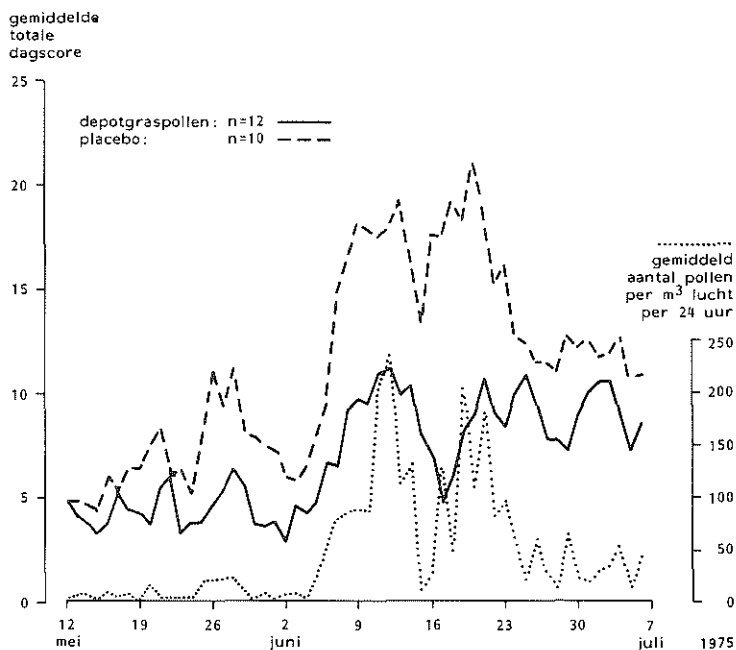
In najaar 1974, voorjaar 1975, najaar 1975 werden de volgende variabelen vervolgd:

- directe huidreacties met graspollenextract in de testconcentraties 100 tot en met 0,001 NeqE/ml;
- directe huidreacties met histamine in de testconcentraties 0,1 tot en met 0,001 mg/ml;
- specifiek IgE, bepaald met de Phadebas-PRAST-kit (gemiddelde van duplo waarnemingen van  $G_3$  = *Dactylus glomerata* en  $G_6$  = *Phleum pratense*) en specifieke IgG<sub>4</sub>-titer volgens de PRAST-techniek, waarbij gebruik gemaakt kon worden van radio-actief gemerkt antihumaan-IgG<sub>4</sub>-serum van het CLB;
- specifieke IgE-, specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen bepaald door het CLB waarbij graspollenextract charge 119 als allergeenextract werd gebruikt (RAST);
- totaal IgE (Phadebas-RIST);
- titer blokkerende activiteit van serum middels de huidreactieremmingstest.

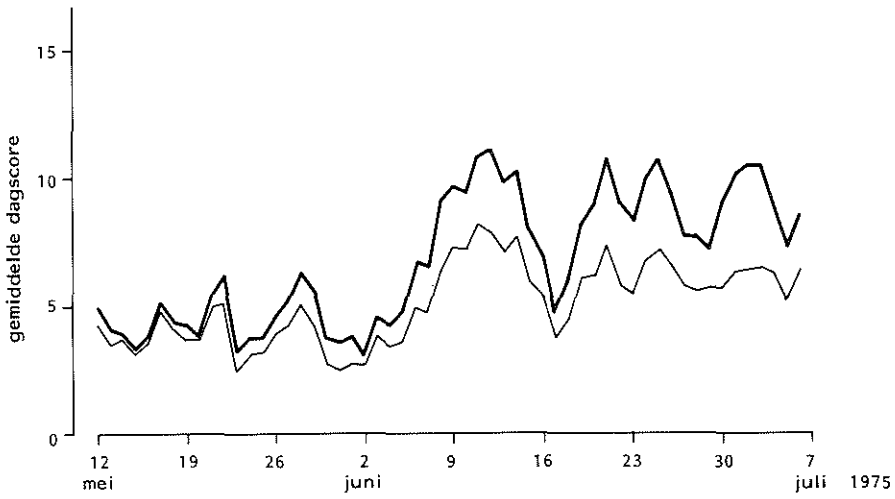
## Resultaten.

### Klinische evaluatie.

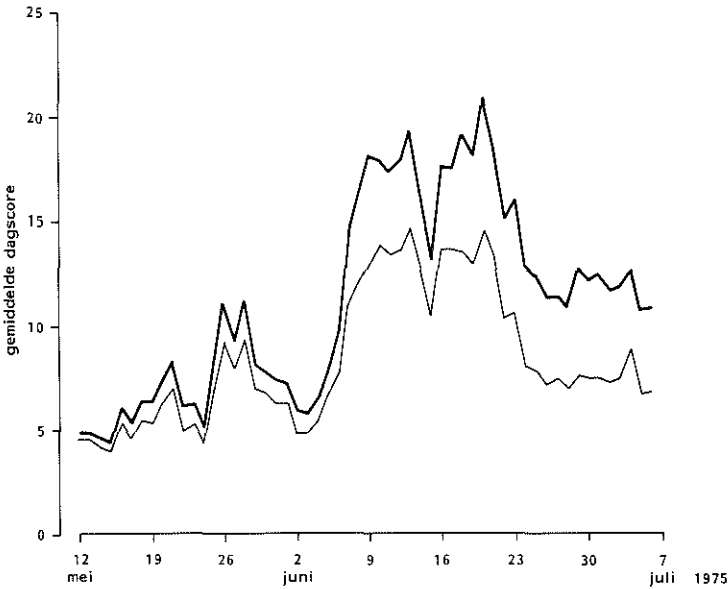
Een overzicht over het klinische effect van de behandelingen wordt weergegeven in figuur V-18. Hierin staan vermeld de gemiddelde totale dagscores van de DG-groep en PL-groep en voorts het gemiddelde aantal pollen met  $m^3$  lucht per 24 uur (Dr. F.Th.M. Spieksma, Leiden). De gemiddelde totale dagscores van de DG-groep zijn kleiner dan die van de PL-groep. In beide groepen volgen de gemiddelde totale dagscores de pollentellingen. De gemiddelde totale dagscores en de gemiddelde klachtenscores van de DG-groep staan vermeld in figuur V-19 en die van de PL-groep in figuur V-20.



Figuur V-18. Gemiddelde totale dagscores in beide patientengroepen.



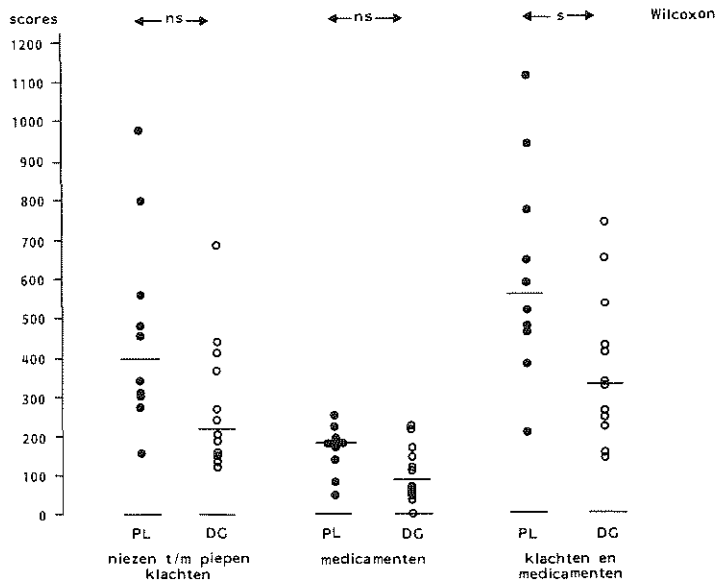
Figuur V-19. Gemiddelde totale dagscore (—) en gemiddelde klachtendagscore (—) in de depotgraspollengroep.



Figuur V-20. Gemiddelde totale dagscore (—) en gemiddelde klachtendagscore (—) in de placebo-groep.

Figuur V-21 behelst een overzicht van de totale scores over de gehele periode van 12 mei tot 7 juli 1975. De verschillen tussen de beide groepen ten aanzien van de klachten en de medicamenten apart is net niet significant. Dit is wel het geval wanneer klachten en medicamenten te zamen worden genomen (Wilcoxon). De gemiddelde totale score in de depotgraspollen-groep is 61% van het gemiddelde van de placebo-groep.

Zowel in de placebo-groep (6 patiënten) als in de depotgraspollen-groep (5 patiënten) kwam éénmaal tijdens de periode van waarneming purulente luchtweginfectie voor met verergering van klachten. Deze infectie werd behandeld met 10 dagen antibioticum, 1 week neusdruppels, en aanpassing van de symptomatische therapie. Het gebruik van antibiotica en neusdruppels werd niet in de score verwerkt, wél de tijdelijk verhoogde symptomatische therapie.

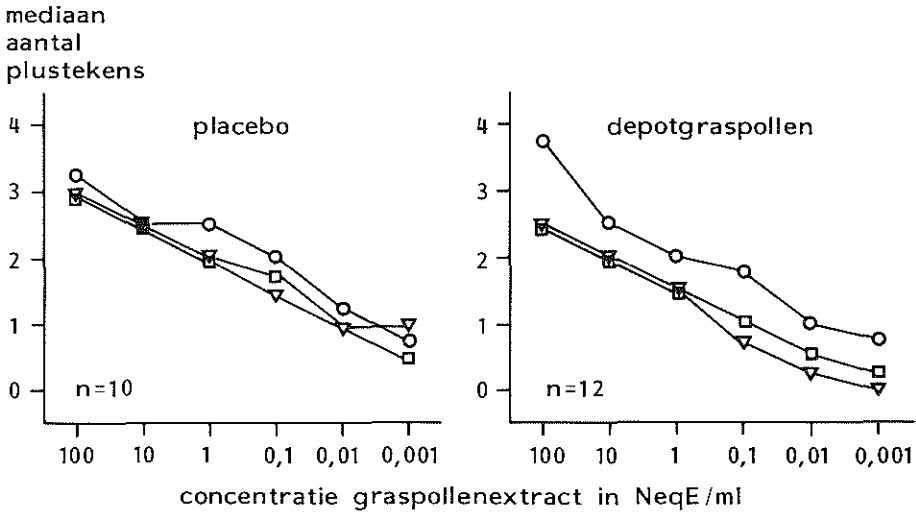


Figuur V-21. Overzicht scores 12 mei - 7 juli 1975.  
 PL = Placebo-groep ●  
 DG = Depotgraspollen-groep ○



Huidreacties met graspollenextract.

De medianen van de directe huidreacties van 100 t/m 0,001 NeqE/ml testextract zijn apart weergegeven in figuur V-22. De totale huidreactiviteit, bestaande uit de som aan plustekens huidreactie voor de 6 testconcentraties te zamen, staat weergegeven in figuur V-23.



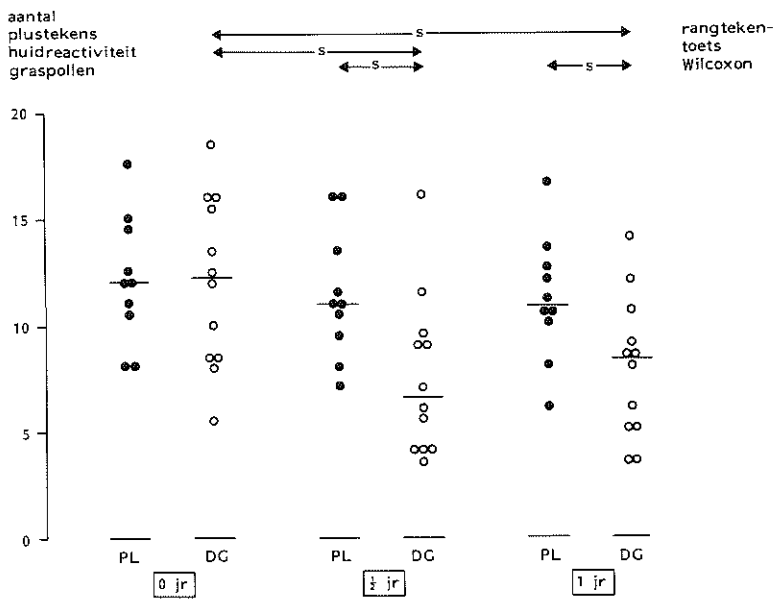
Figuur V-22. Directe huidreacties graspollenextract.

0 jaar   ○—○  
1/2 jaar   ▽—▽  
1 jaar   □—□

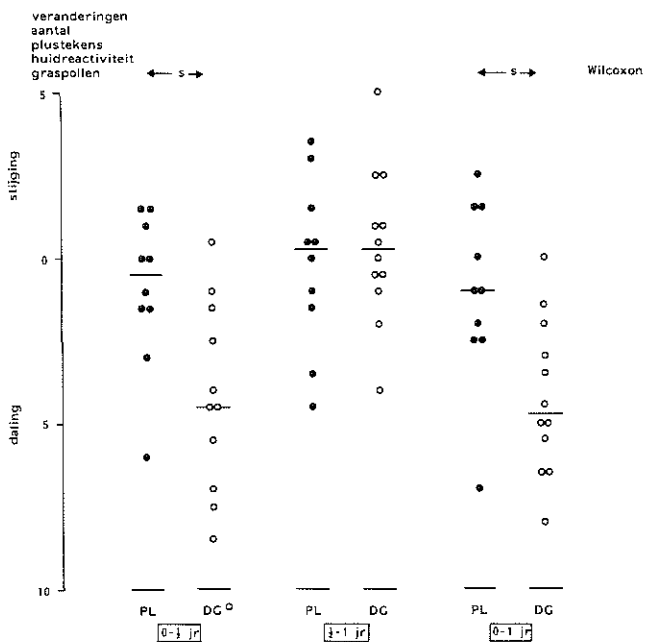
In de DG-groep daalt de huidreactiviteit significant van 0 naar een half en van 0 naar 1 jaar, terwijl de huidreactiviteit in de placebo-groep niet verandert. De huidreactiviteit in beide groepen verschilt niet bij 0 jaar, doch wel is bij een half en bij 1 jaar de huidreactiviteit in de DG-groep significant lager dan in de PL-groep.

De verandering in de directe huidreactiviteit (figuur V-24) is significant verschillend in beide groepen in de periode 0 tot een half jaar en 0 tot 1 jaar, terwijl de veranderingen tussen

een half en 1 jaar niet significant verschillen (Wilcoxon).



Figuur V-23. Totale directe huidreactiviteit graspollenextract. Verklaring der tekens: zie figuur V-21.

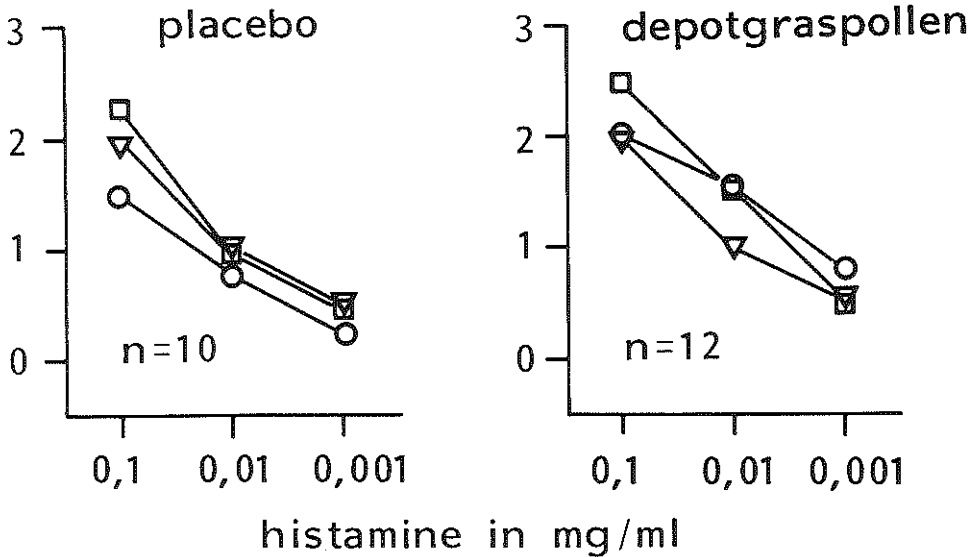


Figuur V-24. Veranderingen totale directe huidreactiviteit graspollenextract. Verklaring der tekens: zie fig. V-21.

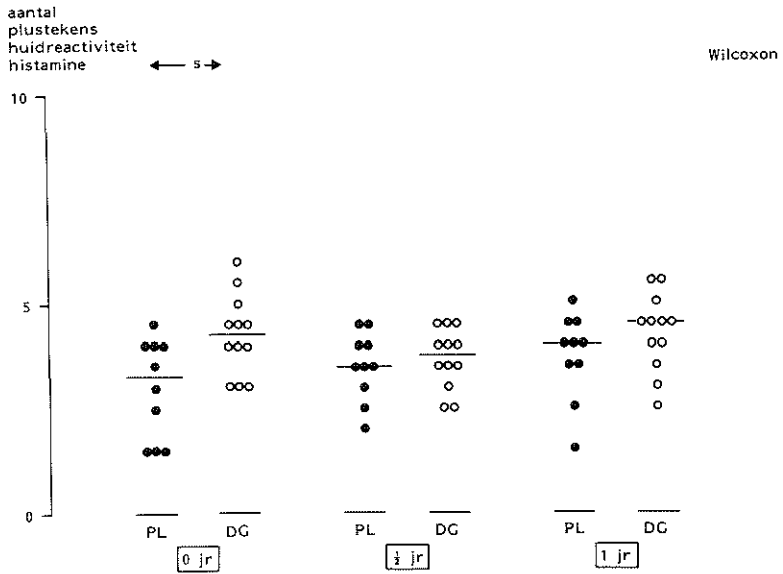
### Huidreacties met histamine.

De medianen van de direkte huidreacties voor 0,1, 0,01 en 0,001 mg histamine zijn apart weergegeven in figuur V-25. Een overzicht van de totale huidreactiviteit voor histamine staat weergegeven in figuur V-26. In beide groepen verandert deze huidreactiviteit niet tijdens het jaar van onderzoek. In najaar 1974 was de huidreactiviteit in de DG-groep significant hoger dan in de PL-groep. De veranderingen aan huidreactiviteit in de periode van 0 tot 1 jaar zijn niet significant verschillend (figuur V-27). Dit maakt aannemelijk dat de iets lagere huidreactiviteit in de placebo-groep bij 0 jaar wellicht een toevalsbevinding is. Geen verband bestaat er tussen de totale huidreactiviteit voor histamine en die voor graspollenextract. Alleen in najaar 1974 (0 jaar) is er bij berekening volgens de rangcorrelatietoets van Spearman een significant verband ( $P < 0,05$ ), doch bij grafische voorstelling (figuur V-28) is dit niet erg duidelijk.

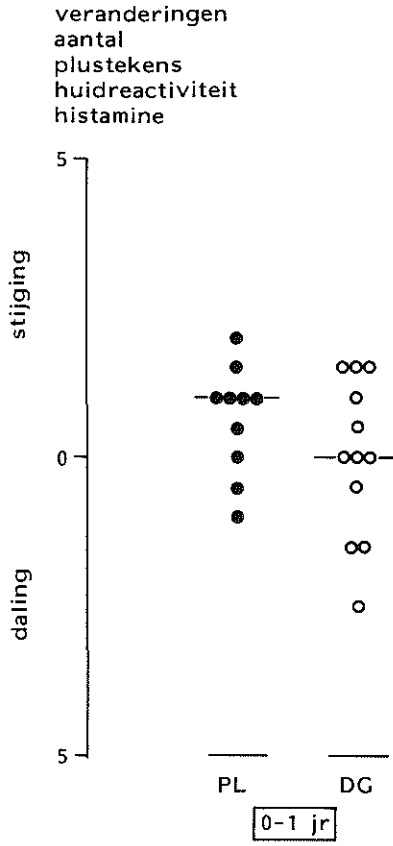
mediaan  
aantal  
plustekens



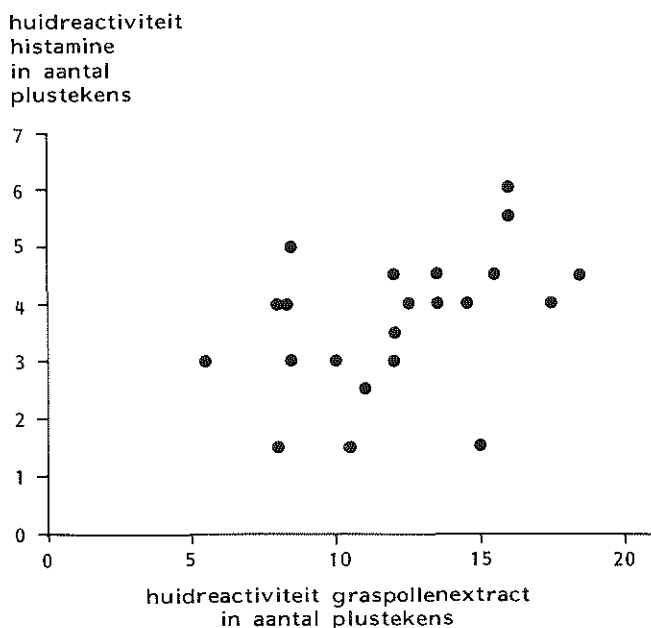
Figuur V-25. Direkte huidreacties histamine. Verklaring der tekenen: zie figuur V-22.



Figuur V-26. Totale directe huidreactiviteit histamine.  
 Verklaring der tekens: zie figuur V-21.



Figuur V-27. Verandering totale directe huidreactiviteit histamine. Verklaring der tekens: zie figuur V-21.

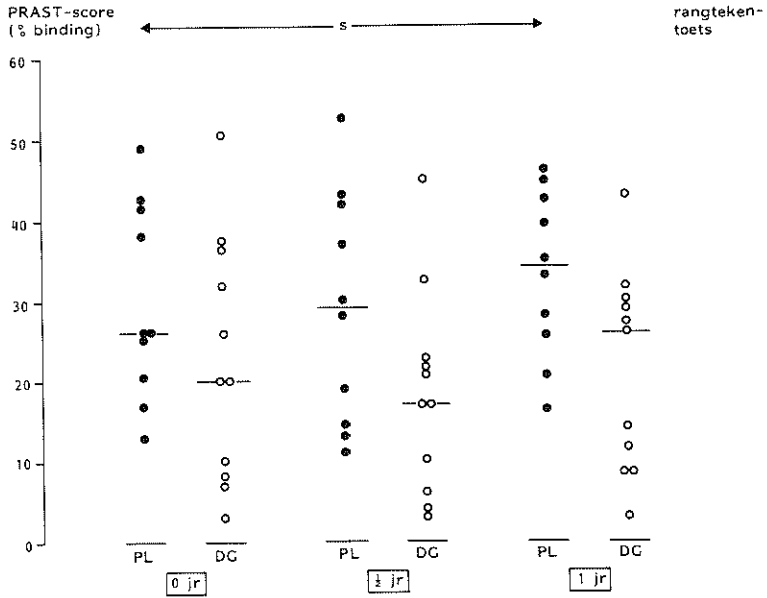


Figuur V-28. Direkte huidreactiviteit graspollenextract vs histamine in najaar 1974 (n = 22, Spearman, P < 0,05)

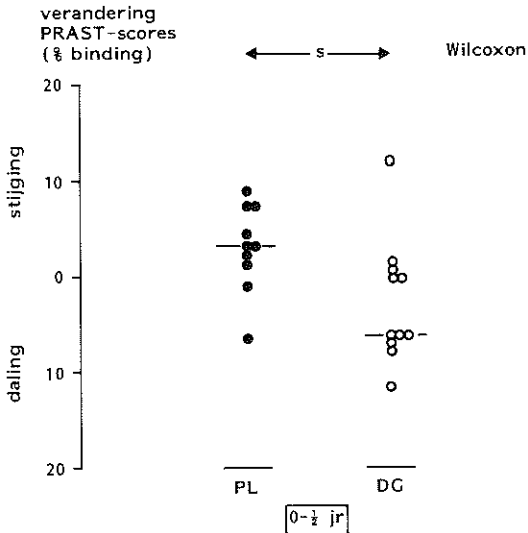
Specifiek antistoffen.

IgE-PRAST

De IgE-PRAST-scores (figuur V-29) blijven in beide patientengroepen gedurende het jaar van onderzoek vrijwel onveranderd, met als uitzondering een lichte stijging van 0 naar 1 jaar in de placebo-groep. Op de 3 tijdstippen 0 jaar, een half jaar en 1 jaar is er geen significant verschil in de IgE-PRAST-scores tussen beide groepen. De veranderingen in de IgE-PRAST-scores zijn niet verschillend in beide groepen, met uitzondering voor de periode van 0 tot 1/2 jaar (figuur V-30) waar in de PL-groep een lichte stijging is en in de DG-groep een daling. Veranderingen in de logaritmen van de IgE-PRAST-scores van 0 naar 1 jaar zijn niet significant verschillend.



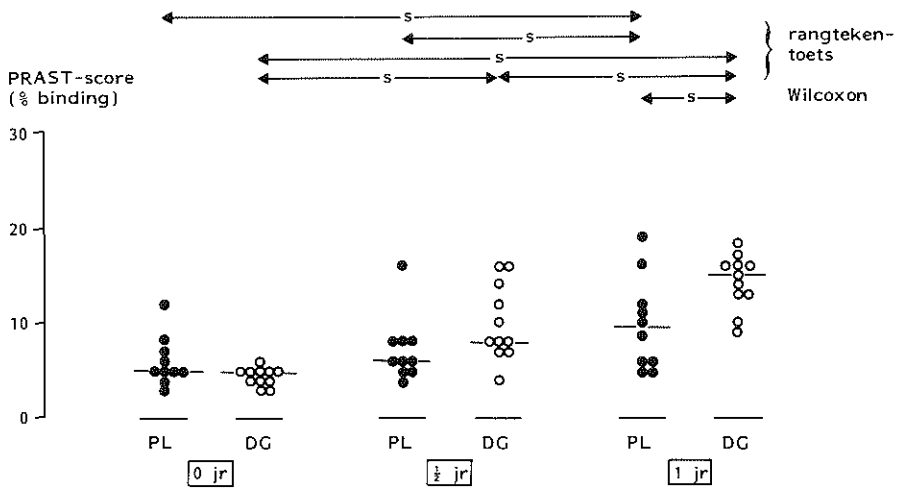
Figuur V-29. IgE-PRAST-scores. Verklaring der tekens: zie figuur V-21. Depotgraspollen-groep n = 11.



Figuur V-30. Veranderingen in IgE-PRAST-scores. Verklaring der tekens: zie figuur V-21.

### IgG<sub>4</sub>-PRAST

De IgG<sub>4</sub>-PRAST-scores (figuur V-31) stijgen in beide patientengroepen in alle perioden, behalve voor de PL-groep over de periode van 0 naar een half jaar. Op de tijdstippen 0 en een half jaar zijn de IgG<sub>4</sub>-PRAST-scores tussen de beide patientengroepen niet significant verschillend, doch wel na een jaar, waarbij de IgG<sub>4</sub>-PRAST-scores in de DG-groep hoger zijn dan in de PL-groep.



Figuur V-31. IgG<sub>4</sub>-PRAST-scores. Verklaring der tekens: zie figuur V-21. Depotgraspollen-groep n = 11.

De stijging aan IgG<sub>4</sub>-PRAST-scores (figuur V-32) zijn in de perioden van 0 tot een half jaar en van 0 tot 1 jaar significant verschillend tussen beide patientengroepen.

De stijging in de DG-groep is steeds hoger dan in de PL-groep. Er is geen verschil in verandering voor de periode van een half tot 1 jaar.





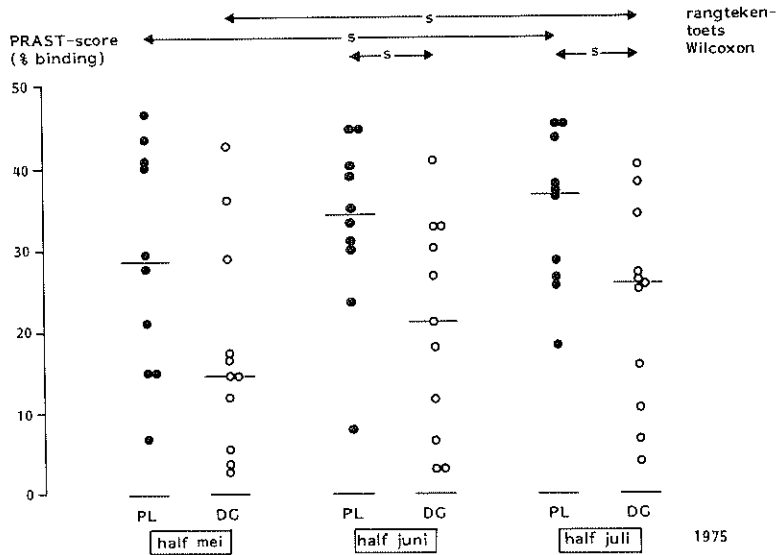
Figuur V-32. Verandering in IgG<sub>4</sub>-PRAST-scores. Verklaring der tekens: zie figuur V-21. Depotgraspollen-groep n = 11.

IgE-PRAST en IgG<sub>4</sub>-PRAST in zomer 1975.

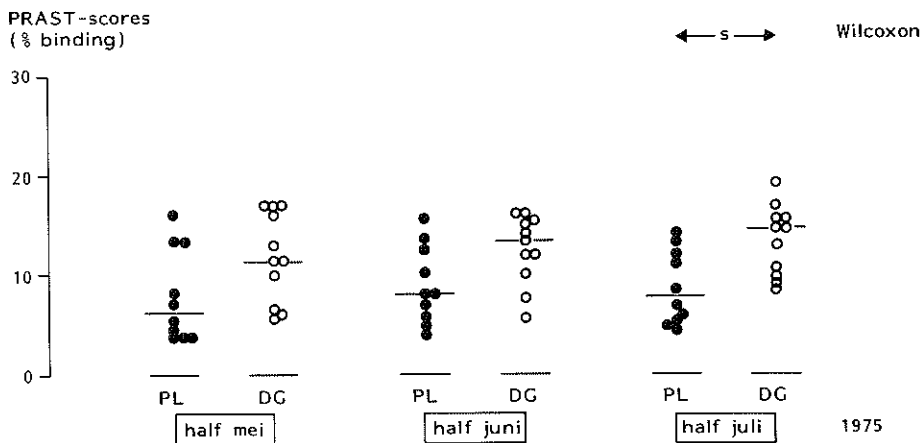
De IgE-PRAST-scores tijdens zomer 1975 (figuur V-33) stijgen in beide patientengroepen van half mei tot half juli. In half juni en half juli zijn de IgE-PRAST-scores significant verschillend tussen beide groepen, met name in de PL-groep hoger dan in de DG-groep.

De IgG<sub>4</sub>-PRAST-scores (figuur V-34) zijn niet significant verschillend in mei en juni, terwijl in juli deze scores significant hoger uitvallen in de DG-groep.

Op geen van de tijdstippen is er verband tussen de IgE-PRAST- en de IgG<sub>4</sub>-PRAST-scores. Er zijn geen verbanden tussen de stijgingen aan IgE-PRAST-scores en de IgG<sub>4</sub>-PRAST-scores in beide patientengroepen. Ook bestaat er geen verband tussen de stijgingen van de IgE-PRAST-scores en die van de IgG<sub>4</sub>-PRAST-scores in alle perioden in beide groepen.



Figuur V-33. IgE-PRAST-scores in zomer 1975. Verklaring der tekens: zie figuur V-21. Depotgraspollen-groep n = 11.

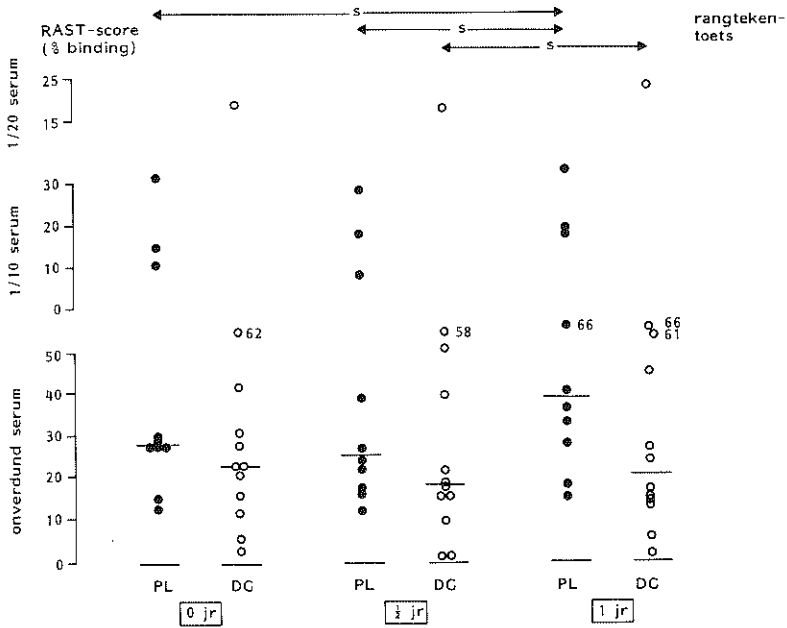


Figuur V-34. IgG<sub>4</sub>-PRAST-scores in zomer 1975. Verklaring der tekens: zie figuur V-21. Depotgraspollen-groep n = 11.

RAST-scores van het CLB.

IgE-RAST-scores.

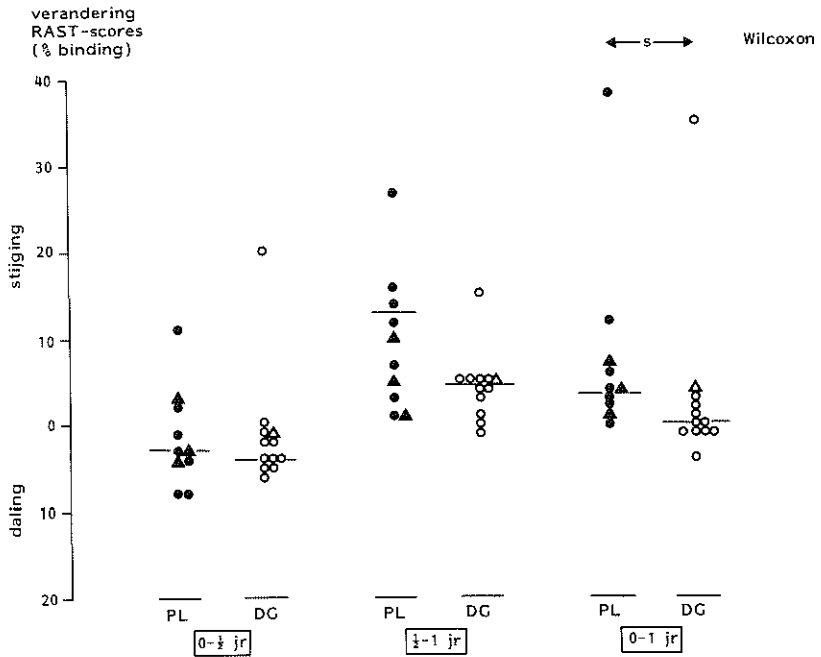
IgE-RAST-scores staan vermeld in figuur V-35. In de placebo-groep is er een stijging van 0 naar 1 jaar en van een half naar 1 jaar; verder zijn er geen veranderingen.



Figuur V-35. IgE-RAST-scores. Verklaring der tekens: zie figuur V-21.

In de DG-groep wordt alleen een stijging gevonden van een half naar 1 jaar. Op alle 3 tijdstippen zijn de IgE-RAST-scores niet verschillend tussen beide patientengroepen.

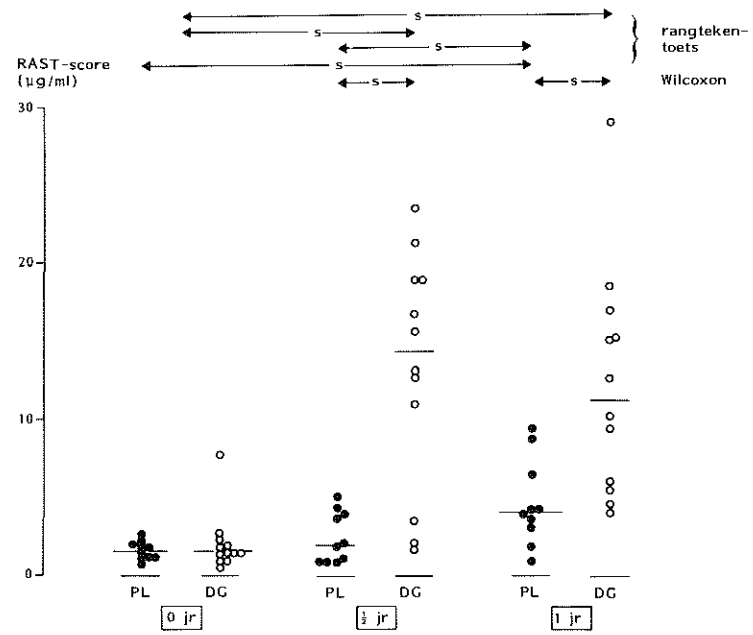
De veranderingen in de IgE-RAST-scores staan weergegeven in figuur V-36. Alleen de verschillen tussen de beide groepen van 0 naar 1 jaar zijn significant, hetgeen te wijten is aan de stijging in de PL-groep, gezien de vrij konstante waarde in de DG-groep.



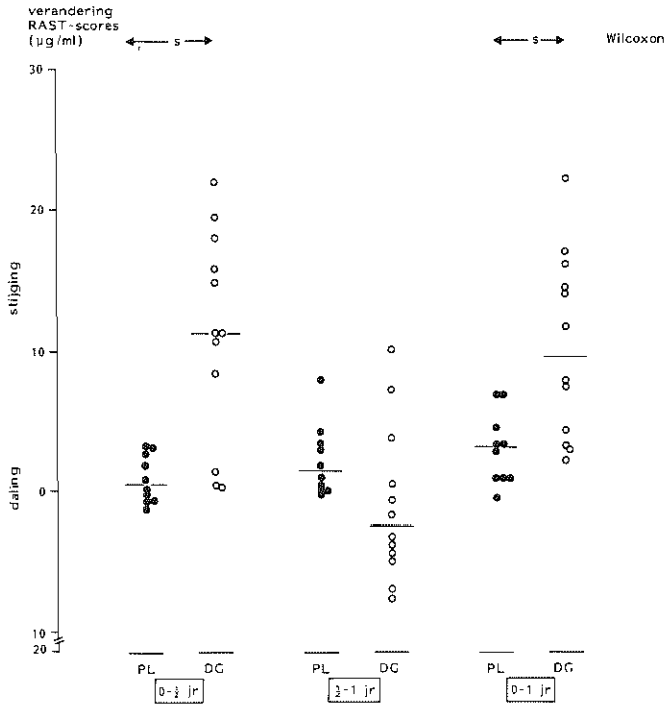
Figuur V-36. Veranderingen IgE-RAST-scores. Verklaring der tekens: zie figuur V-21.  
 ▲ 1/10 serum. △ 1/20 serum.

#### IgG<sub>1</sub>-RAST-scores.

De IgG<sub>1</sub>-RAST-scores (figuur V-37) stijgen significant in de PL-groep van 0 naar 1 jaar en van een half naar 1 jaar; in de DG-groep is er een significante stijging van 0 naar een half en van 0 naar 1 jaar. Op het tijdstip 0 zijn de IgG<sub>1</sub>-RAST-scores niet verschillend tussen beide patientengroepen, doch wel na een half en 1 jaar (hogere scores in de DG-groep). De veranderingen in de IgG<sub>1</sub>-RAST-scores staan weergegeven in figuur V-38. In de perioden van 0 tot een half jaar en van 0 tot 1 jaar zijn de veranderingen in de DG-groep significant groter dan in de PL-groep.



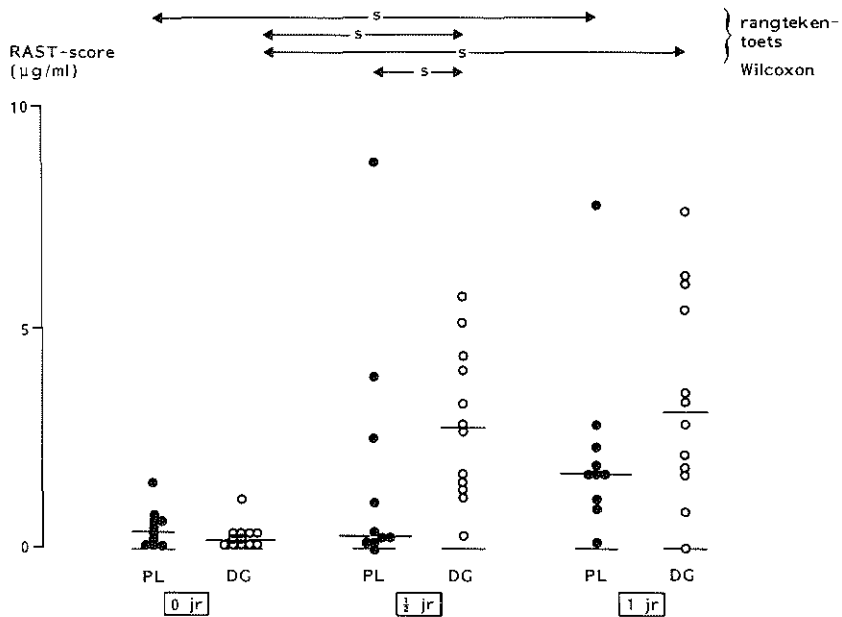
Figuur V-37. IgG<sub>1</sub>-RAST-scores. Verklaring der tekens: zie figuur V-21.



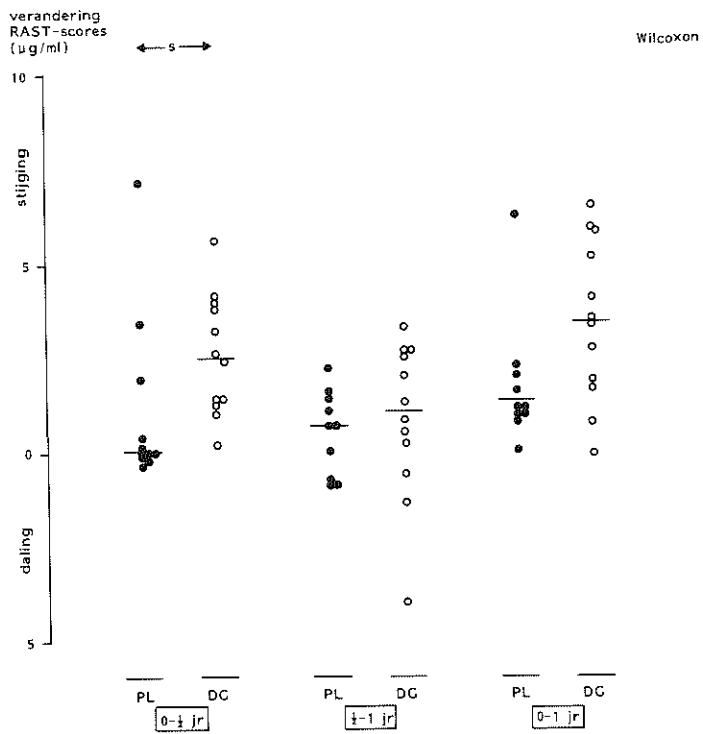
Figuur V-38. Veranderingen IgG<sub>1</sub>-RAST-scores. Verklaring der tekens: zie figuur V-21.

#### IgG<sub>4</sub>-RAST-scores.

De IgG<sub>4</sub>-RAST-scores staan weergegeven in figuur V-39 en de absolute veranderingen daarin in figuur V-40. In de PL-groep is er alleen een stijging van 0 naar 1 jaar; in de DG-groep is er een stijging van 0 naar een half en van 0 naar 1 jaar. Tussen de twee groepen zijn de scores alleen na een half jaar significant verschillend. Na 1 jaar is er in de PL-groep één uitschieter, waardoor het ogenschijnlijk duidelijke verschil tussen beide patientengroepen niet significant blijkt. In de periode van 0 tot een half jaar is de stijging in de DG-groep significant groter dan de stijging in de PL-groep. Voor de periode van 0 tot 1 jaar zijn de verschillen in stijging aan IgG<sub>4</sub>-RAST-scores in absolute zin niet, doch logaritmisch wel significant verschillend en wel groter in de DG-groep.



Figuur V-39. IgG<sub>4</sub>-RAST-scores. Verklaring der tekens: zie figuur V-21.

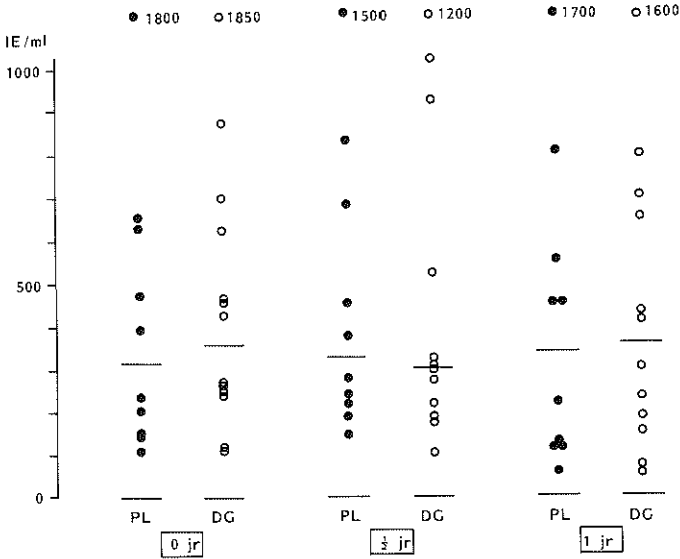


Figuur V-40. Veranderingen IgG<sub>4</sub>-RAST-scores. Verklaring der tekens: zie figuur V-21.



Totaal IgE-gehalte (RIST).

Het totaal IgE-gehalte in het serum verandert niet in de loop van het onderzoekjaar, noch is er een significant verschil tussen de waarden in beide groepen patienten op de 3 onderzochte tijdstippen (figuur V-41).



Figuur V-41. Totaal IgE in serum (RIST). Verklaring der tekens: zie figuur V-21.

Titer aan blokkerende activiteit van het serum.

De titer aan blokkerende activiteit t.o.v. 3 NeqE graspollen-extract stijgt significant bij de patienten van de DG-groep, terwijl die in de PL-groep onveranderd laag blijft (tabel V-VI). Er is geen verschil tussen de titers na een half en 1 jaar in de DG-groep (rangtekentoets).

Tabel V-VI. Titer blokkerende activiteit (huidreactie-remmingstest).

titer	placebo			depotgraspollen		
	aantal patienten			aantal patienten		
1/128						
1/64				3	3	
1/32				3	1	
1/16				2	2	
1/8				2	3	
1/4		1				1
< 1/4	10	9	10	12	2	2
	0 jaar	1/2 jaar	1 jaar	0 jaar	1/2 jaar	1 jaar

Rangtekentoets      ← NS →

Verbanden tussen variabelen.

In het algemeen is weinig of geen verband tussen de verschillende variabelen aangetoond, met een aantal uitzonderingen. De meeste van deze uitzonderingen zullen vermoedelijk op toevalsbevindingen berusten (zie hoofdstuk III, pagina    ).

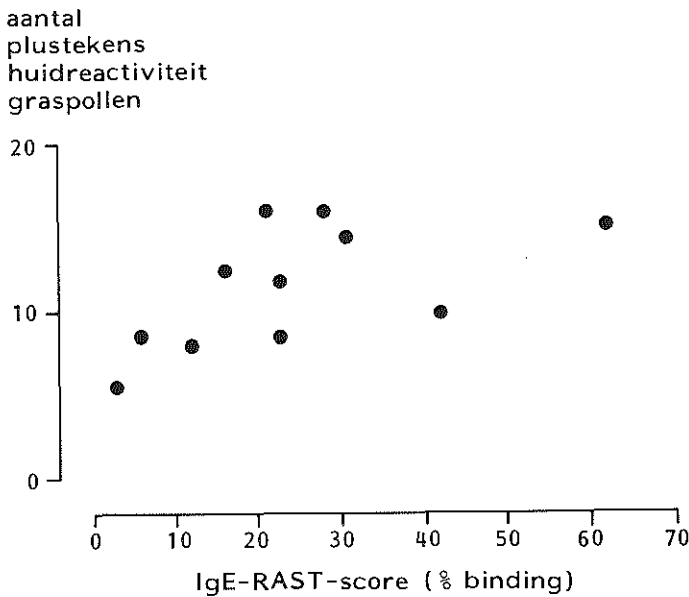
De totale huidreactiviteit voor graspollenextract is alleen in de DG-groep in zekere mate gecorreleerd aan de IgE-PRAST-score na een half jaar en met de IgE-RAST-score op alle 3 tijdstippen: ter illustratie zijn in figuur V-42 de gegevens van het tijdstip 0 weergegeven. Er bestaat geen aantoonbare correlatie van de huidreactiviteit voor graspollenextract met de huidreactiviteit voor histamine, de IgG<sub>4</sub>-PRAST-score, de IgG<sub>1</sub>-RAST-score en de IgG<sub>4</sub>-RAST-score. De IgE-PRAST-score vertoont in het algemeen geen significant verband met de IgG<sub>4</sub>-PRAST-score met

uitzondering van het tijdstip een half jaar in de DG-groep: enige neiging tot verband. De IgE-RAST-score is gecorreleerd aan de IgE-PRAST-score (rangcorrelatietoets van Spearman), behalve bij 0 jaar in de PL-groep.

De IgE-RAST-score is niet gecorreleerd aan het totaal IgE-gehalte behalve enigszins bij 0 en bij 1 jaar in de DG-groep.

De IgE-RAST-score vertoont geen significant verband met de IgG<sub>1</sub>- en de IgG<sub>4</sub>-RAST-scores.

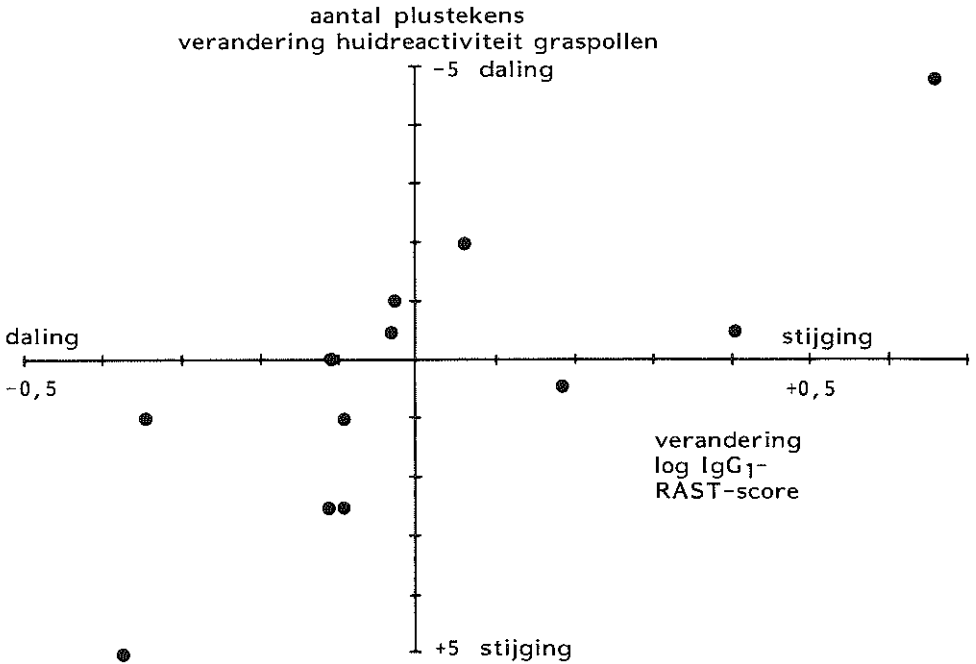
De IgG<sub>1</sub>- en de IgG<sub>4</sub>-RAST-scores vertonen in beide patiëntengroepen geen verband behalve in lichte mate bij het tijdstip 1 jaar in de DG-groep. De IgG<sub>4</sub>-RAST-score is niet gecorreleerd met de IgG<sub>4</sub>-PRAST-scores, doch bij het tijdstip een half jaar bestaat er in de PL-groep enige aanwijzing tot verband.



Figuur V-42. Verband tussen totale directe huidreactiviteit voor graspollenextract en IgE-RAST-scores in de depotgraspollen-groep (0 jaar, n = 11) (Spearman, P < 0,05).

Verbanden tussen veranderingen in variabelen.

Voor alle perioden geldt, dat de daling aan huidreactiviteit voor graspollenextract geen verband vertoont met veranderingen van de IgE-RAST-score, de IgG<sub>1</sub>-RAST-score, de IgG<sub>4</sub>-RAST-score en de titer aan blokkerende activiteit, met één uitzondering. Alleen voor de DG-groep is deze daling in de periode van een half tot 1 jaar gecorreleerd aan de logaritmische stijging van de IgG<sub>1</sub>-RAST-score (figuur V-43).



Figuur V-43. Verband tussen daling van totale directe huidreactiviteit voor graspollenextract met logaritmische stijging van IgG<sub>1</sub>-RAST-score in de DG-groep voor de periode 1/2 - 1 jaar (Spearman, P < 0,05).

De veranderingen in de IgE-RAST-scores zijn niet gecorreleerd aan die van IgG<sub>1</sub>- en de IgG<sub>4</sub>-RAST-scores. Alleen bestaat er in de periode van 0 tot 1 jaar in de PL-groep enig verband tussen de daling van de logaritmen van de IgE-RAST-scores met de stijging van de logaritmen van de IgG<sub>4</sub>-RAST-scores.

Voor de titer aan blokkerende activiteit in het serum (eigenlijk wordt de titerstijging gemeten) is voor alle perioden geen sig-

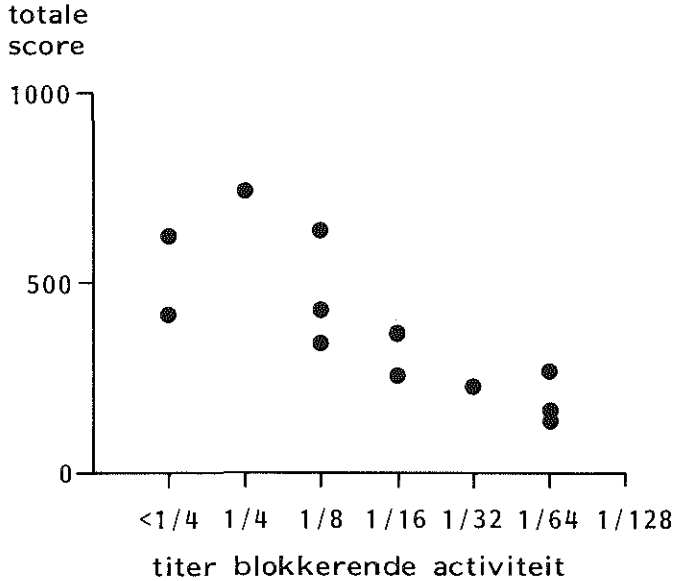
nificant verband aantoonbaar met de daling van totale huidreactiviteit voor graspollenextract, noch met de veranderingen in de IgE-RAST-scores, de IgG<sub>1</sub>-RAST-scores (met mogelijk een uitzondering voor de periode van 0 tot 1 jaar, waarschijnlijk een toevallsbevinding) en van de IgG<sub>4</sub>-RAST-scores.

Verband van totale score aan klachten en gebruik van medicamenten met andere variabelen.

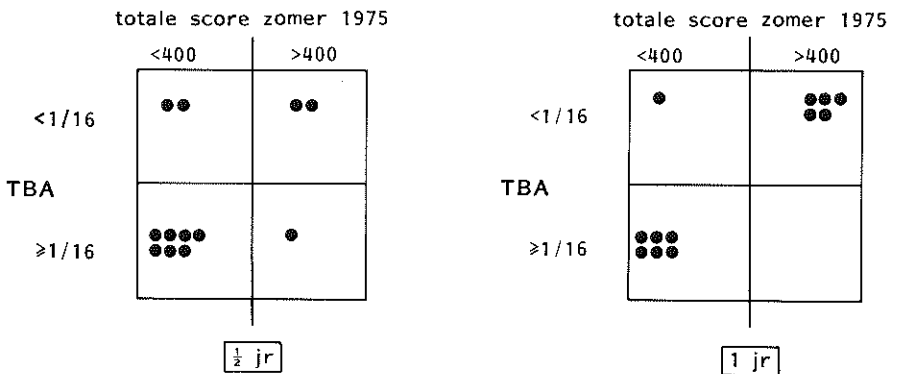
De totale score aan klachten en gebruik van medicamenten in de zomer 1975 vertoont geen significant verband met de totale huidreactiviteit voor graspollenextract op een half en 1 jaar, ook niet met de vermindering aan totale huidreactiviteit voor graspollenextract, noch met + en ++ huiddrempelwaarde in voorjaar 1975. Er is geen verband tussen de totale score en de IgE-PRAST-scores, de IgG<sub>4</sub>-PRAST-scores of de veranderingen daarin. Dit geldt ook voor de logaritmische veranderingen met de volgende uitzondering. Een significant verband tussen de totaalscore en veranderingen in de IgE-PRAST-scores bestaat in de placebo-groep voor de periode 0 tot een half jaar. Deze verloopt geheel anders dan verwacht zou worden: de totale score is hoger naarmate de daling van de logaritmen van de IgE-PRAST-scores sterker is: kennelijk een toevallsbevinding. De totale score vertoont geen significant verband met de IgE-PRAST-score van half mei 1975, evenmin met de stijging van de IgE-PRAST-score en de IgG<sub>4</sub>-PRAST-score voor de periode van half mei tot half juli 1975. Evenwel is in de DG-groep enig verband tussen de totale score en de stijging aan logaritmen van de IgG<sub>4</sub>-PRAST-scores aanwezig. De totale score is niet gecorreleerd aan de IgE-, de IgG<sub>1</sub>- en de IgG<sub>4</sub>-RAST-score in voorjaar 1975 in beide patientengroepen. Er is ook geen verband met de veranderingen van al deze RAST-scores.

Tussen de totale score en de titer aan blokkerende activiteit kan niet na een half jaar, doch wel na 1 jaar een significante correlatie worden vastgesteld (rangcorrelatietoets van Spearman,  $P < 0,01$ ; grafische voorstelling: zie figuur V-44). In figuur V-45 wordt zowel voor het tijdstip een half jaar als voor het tijdstip 1 jaar een puntendiagram weergegeven, waarbij de totale

scores beneden en boven 400 en de titer aan blokkerende activiteit  $< 1 : 16$  en  $\geq 1 : 16$  worden uitgezet. Alleen bij het tijdstip van 1 jaar is een duidelijke trend aanwezig: een lage titer aan blokkerende activiteit gaat samen met een hoge totale score en omgekeerd.



Figuur V-44. Verband tussen titer blokkerende activiteit na 1 jaar en totale score in zomer 1975 in de depot-graspollengroep (Spearman,  $P < 0,01$ )



Figuur V-45. Diagrammen titer blokkerende activiteit na 1/2 en 1 jaar v. totale score in zomer 1975 in depot-graspollengroep.

### Dosering in de depot-graspollen-groep.

De dosering (tabel V-VII) vertoont geen correlatie met de totale score, de vermindering aan huidreactiviteit voor graspollenextract, de daling van IgE-PRAST-scores, de stijging van de IgG<sub>4</sub>-PRAST-scores en de stijging van de titers aan blokkerende activiteit. Ook is er geen verband met de veranderingen van de IgG<sub>1</sub>-RAST-scores en de IgG<sub>4</sub>-RAST-scores, met uitzondering van de logaritmische stijging van de IgG<sub>4</sub>-RAST-score voor de periode van 0 tot 1 jaar. De dosering vertoont wel verband met de stijging van de IgG<sub>1</sub>-RAST-score voor de periode van 0 tot een half jaar en van 0 tot 1 jaar.

Tabel V-VII. Cumulatieve dosering aan ingespoten depot-graspollenextract in NeqE (depotgraspollen-groep).

	voorjaar 1975	12-05-1975	najaar 1975
m	23.005 *	74.270	159.200
R	1.360 - 169.840	1.960 - 189.840	9.790 - 305.840

\* alleen in voorjaar 1975 was m duidelijk verschillend van  $\bar{X}$ : 71.355

### Bijwerkingen van de hyposensibilisatie.

In de PL-groep waren er geen locale of algemene reacties na de injecties. In de DG-groep hadden drie patiënten geen reacties na de inspuitingen. Zes patiënten hadden sterke locale reacties die aanpassing van het doseringsschema noodzakelijk maakten: één patient 2×, twee patiënten 3× en twee patiënten 4×. Twee patiënten vertoonden eenmaal een matig-ernstige algemene reactie, die snel op de gebruikelijke behandeling (zie Bijlagen) reageerde. Eén patient had zesmaal een sterke plaatselijke reactie en tweemaal een algemene reactie, die goed door de inspuiting van antidota behandeld kon worden. Na de algemene reacties werden de doseringen aangepast. Op grond van deze bevindingen werd voor latere onderzoeken een nieuw schema opgesteld met lagere be-

ginconcentratie en minder snel toenemende doseringen (zie Bijlagen).



Onderzoek 379-12-7: Hyposensibilisatie met waterig, aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract.

In dit onderzoek werden hooikoortspatienten zonder andere luchtwegklachten vanaf najaar 1975 gedurende 2 jaar vervolgd tijdens hyposensibilisatie met commercieel verkrijgbaar waterig aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract. In het eerste jaar werden de gegevens van 25 patienten verwerkt en in het tweede jaar van 19 patienten.

Het oorspronkelijke aantal patienten bedroeg 30. In het eerste jaar vielen 5 patienten uit wegens: een algemene reactie (1 patient) en zonder opgave van redenen (4 patienten). In het tweede jaar vielen 6 patienten uit wegens: 2 algemene reacties (1 patient), herhaalde sterke locale reacties (1 patient), zonder opgave van redenen (3 patienten) en wegens tijdgebrek (1 patient).

In najaar 1975, in voor- en najaar 1976 en in voor- en najaar 1977 werden de volgende variabelen vervolgd:

- directe en late huidreacties met graspollenextract charge 119 in de testconcentraties 100, 10, 1 en 0,1 NeqE/ml;
- directe huidreacties met histamine in de testconcentraties 0,1, 0,01 en 0,001 mg/ml en met compound 48/80 in dezelfde testconcentraties als histamine;
- specifieke IgE-, specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen, bepaald door het CLB, waarbij graspollenextract charge 119 als allergeenextract werd gebruikt (RAST);
- totaal IgE (Phadebas-RIST). De totaal IgE-gehalten van het tweede onderzoeksjaar werden later bepaald en afgestemd op de resultaten van het eerste jaar door vermenigvuldiging met de mediaan van de omrekeningsfactoren van de twee bepalingen van najaar 1976;
- titer blokkerende activiteit van serum middels de huidreactieremmingstest.

De cumulatieve doseringen aan ingespoten graspollenextract staan vermeld in tabel V-VIII.

Tabel V-VIII. Cumulatieve dosering ingespoten depotgraspollenextract in NeqE.

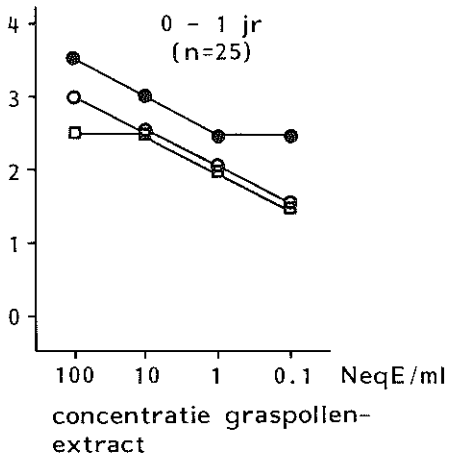
	0 jaar	1/2 jaar	1 jaar	1 1/2 jaar	2 jaar
n=25	-	61.280	221.280		
m	-				
R	-	300-141.280	620-324.080		
			229.810	360.000	465.480
n=19			620-324.080	1000-434.080	1600-570.080
m					
R					

## Resultaten

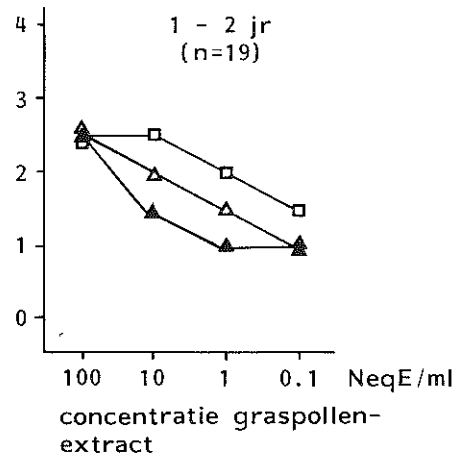
### Huidtesten met graspollenextract.

De medianen van de directe huidreacties zijn weergegeven in figuur V-45a. De totale huidreactiviteit staat weergegeven in figuur V-46. Deze huidreactiviteit vermindert significant van 0 naar 1/2 en van 0 naar 1 jaar en evenzo van 1 naar 1 1/2 en naar 2 jaar. Voor de 19 patienten die 2 jaar behandeling volmaakten, geldt bovendien dat de dalingen in de perioden van 1 en 2 jaar steeds significant zijn.

mediaan  
aantal  
plustekens



mediaan  
aantal  
plustekens

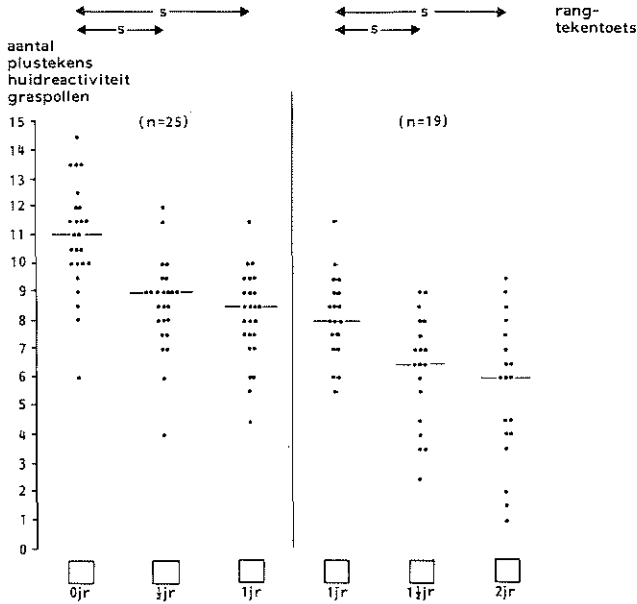


Figuur V-45 a. Direkte huidreacties graspollenextract.

0 jaar ●—●	1 jaar □—□
1/2 jaar ○—○	1 1/2 jaar △—△
1 jaar □—□	2 jaar ▲—▲

De medianen van de late huidreacties zijn weergegeven in figuur V-47 en de totale huidreactiviteit in figuur V-48. Deze huidreactiviteit vermindert significant van 0 naar 1/2 en naar 1 jaar en van 1 naar 1 1/2 en naar 2 jaar, benevens van 1 1/2 naar 2 jaar. Voor de 19 patienten, die aan het tweede onderzoeksjaar meededen, geldt dat de daling van 0 naar 2 jaar van van 1/2 naar

naar 1 1/2 jaar significant is.



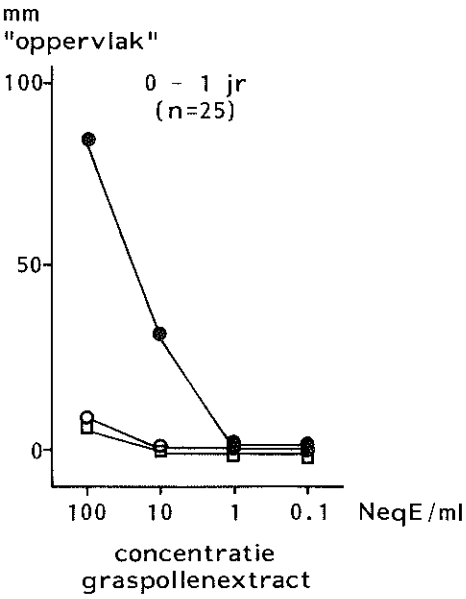
Figuur V-46. Totale direkte huidreactiviteit graspollenextract.

Op geen enkel tijdstip bestaat een verband tussen de totale direkte en de totale late huidreactiviteit, noch tussen de veranderingen van deze reactiviteiten. Bij wijze van voorbeeld wordt in figuur V-49 het verband tussen de totale direkte en late huidreactiviteit in najaar 1975 weergegeven. Bij 5 patienten waren er geen late huidreacties. Voor de overige 20 patienten wordt geen correlatie gevonden (Spearman;  $P > 0,10$ ); dit laatste is in overeenstemming met de grafische voorstelling.

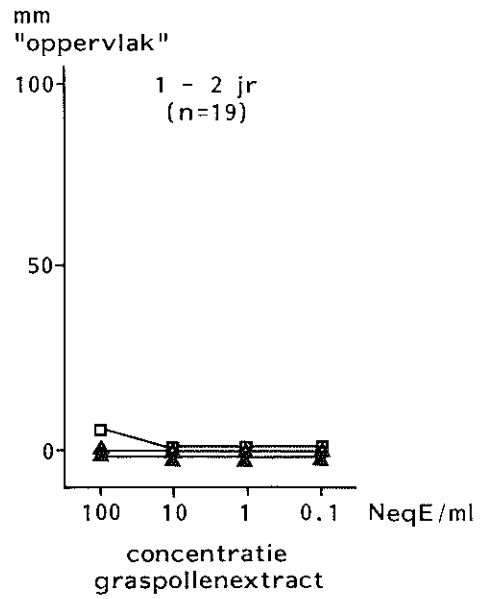
Het verloop met de tijd van de direkte en late huidreacties voor elke testconcentratie apart is in het algemeen gelijk aan dat voor de totale huidreactiviteit. De frekwentieverdelingen van de direkte en late huidreacties voor 100 NeqE en 10 NeqE graspollenextract is weergegeven in respektievelijk tabel V-IX en V-X. Voor beide testconcentraties geldt bovendien, dat de veranderingen van de direkte reacties van 1/2 naar 1 jaar significant zijn. Ook de daling van de late huidreacties van 100 NeqE

van 1 1/2 naar 2 jaar is significant.

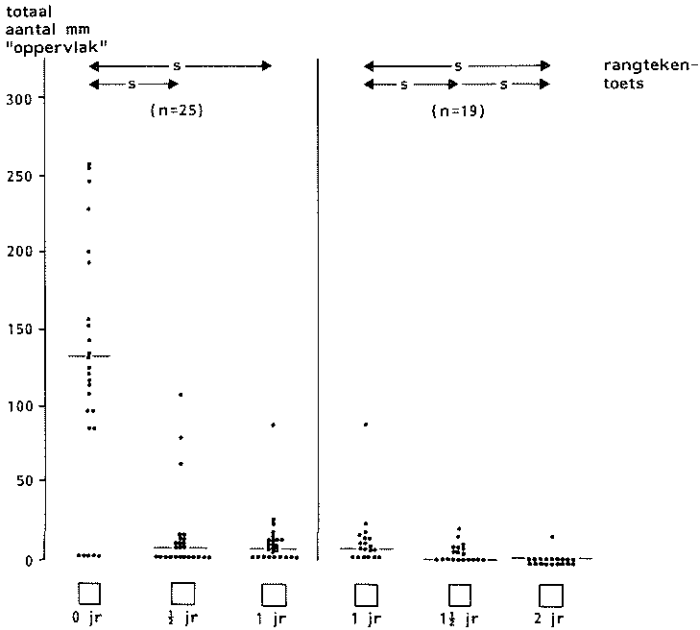
medianen



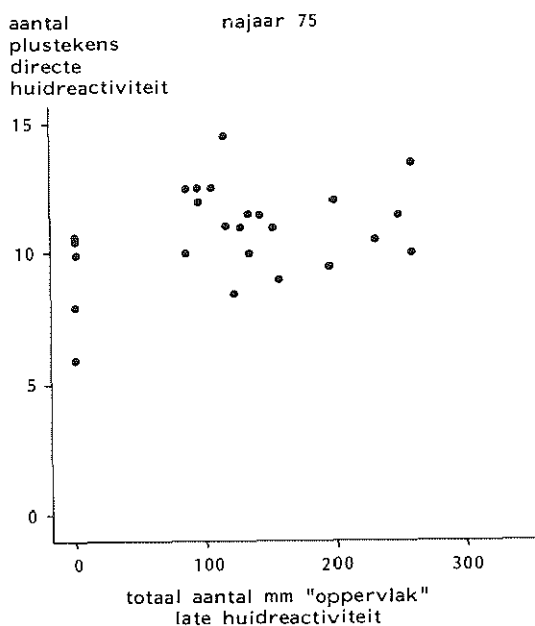
medianen



Figuur V-47. Late huidreacties graspollenextract (medianen).  
Verklaring der tekens: zie figuur V-45.



Figuur V-48. Totale late huidreactiviteit graspollenextract.



Figuur V-49. Verband totale direkte en late totale huidreactiviteit graspollenextract in najaar 1975 (zie tekst).

Huidreacties met histamine en compound 48/80.

De medianen van de direkte huidreacties voor histamine zijn weergegeven in figuur V-50. De totale huidreactiviteit voor histamine staat vermeld in figuur V-51; deze blijft gemiddeld onveranderd in de tijd.

De medianen van de direkte huidreacties voor compound 48/80 zijn weergegeven in figuur V-52. De totale direkte huidreactiviteit staat vermeld in figuur V-53. Deze reactiviteit is bij 0 jaar significant lager dan op elk van de andere tijdstippen; verder worden geen significante veranderingen gevonden.

De totale direkte huidreactiviteit voor histamine en die voor compound 48/80 zijn onderling niet gecorreleerd en evenmin ten opzichte van de totale direkte en totale late huidreactiviteit voor graspollenextract, nagegaan bij 0, 1/2 en 1 jaar.

Tabel V-IX. Frekwentieverdelingen direkte en late huidreacties graspollenextract 100 NeqE/ml (n = 19)

Direkte huidreacties in aantal plustekens.

	0-1/2	1-11/2	2-21/2	3-31/2	4-41/2	5-51/2	+
0 jaar	-	-	2	10	6	1	S
1/2 jaar	-	-	8	10	1	-	
1 jaar	-	-	14	4	1	-	S
11/2 jaar	-	2	15	2	-	-	
2 jaar	1	2	13	3	-	-	S
aantal patienten							

rangtekentoets

Late huidreacties in mm.

	0	1-10	11-30	31-90	91-270	mm
5	-	-	-	6	8	S
10	5	1	3	-	-	
6	9	3	1	-	-	S
10	8	1	-	-	-	
18	1	-	-	-	-	S
aantal patienten						

rangtekentoets

Tabel V-X. Frekwentieverdelingen direkte en late huidreacties graspollenextract 10 NeqE/ml (n = 19)

Direkte huidreacties in aantal plustekens.

	0-1/2	1-11/2	2-21/2	3-31/2	4-41/2	5-51/2	+
0 jaar	-	-	11	7	1	-	
1/2 jaar	-	1	15	3	-	-	
1 jaar	-	3	15	1	-	-	
11/2 jaar	-	5	14	-	-	-	
2 jaar	3	7	9	-	-	-	
aantal patienten							

rangtekentoets

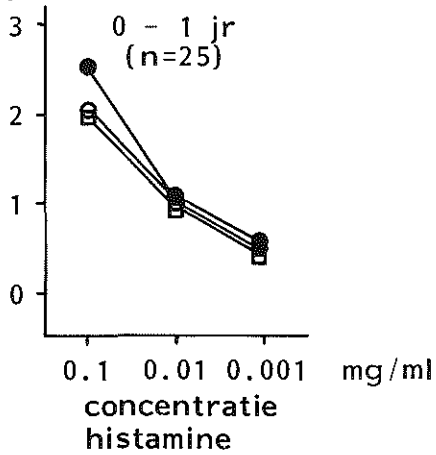
Late huidreacties in mm.

	0	1-10	11-30	31-90	91-270	mm
7	-	3	9	-	-	
16	1	2	-	-	-	
16	3	-	-	-	-	
18	1	-	-	-	-	
18	1	-	-	-	-	
aantal patienten						

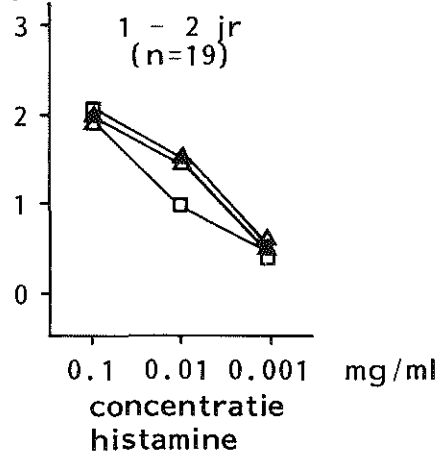
rangtekentoets



mediaan  
aantal  
plustekens

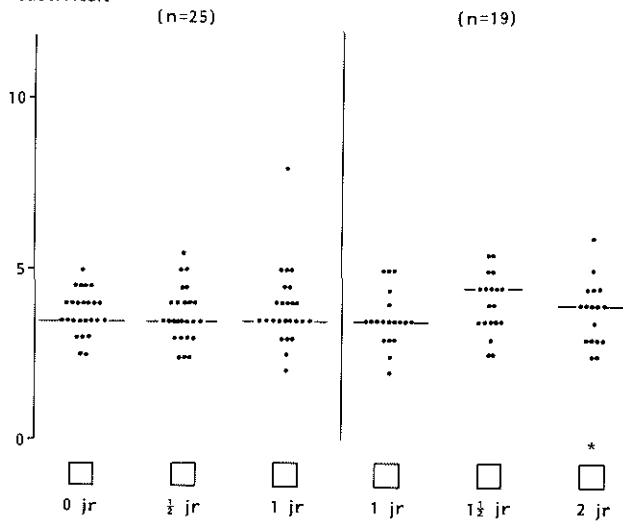


mediaan  
aantal  
plustekens



Figuur V-50. Direkte huidreacties histamine. Verklaring der tekens: zie figuur V-45.

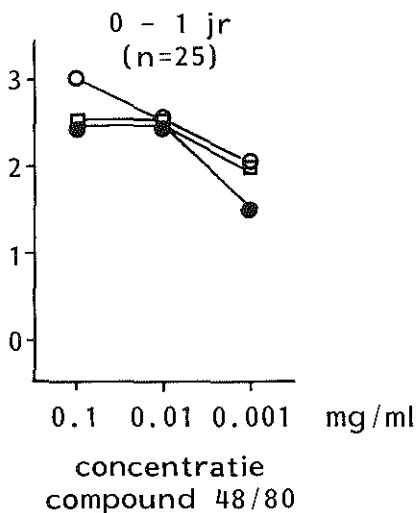
totaal aantal  
plustekens  
directe huid-  
reactiviteit



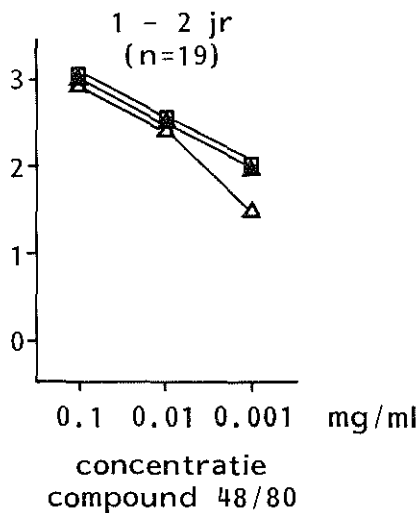
\* 2 patienten niet bepaald

Figuur V-51. Totale directe huidreactiviteit histamine.

mediaan  
aantal  
plustekens

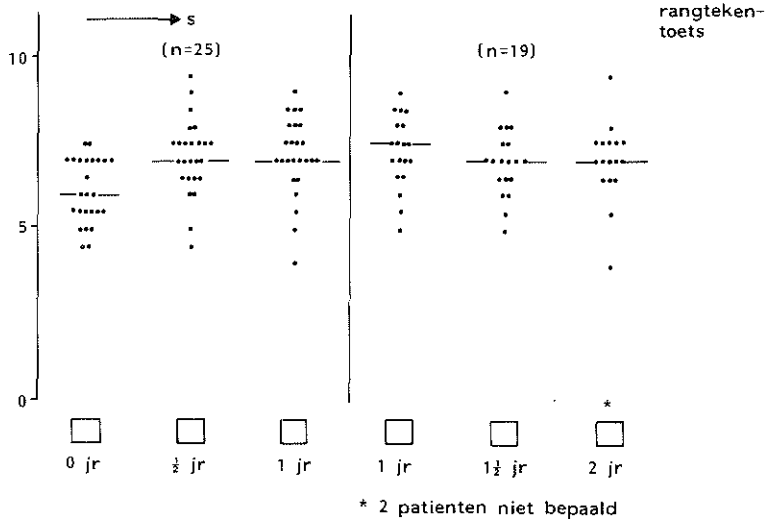


mediaan  
aantal  
plustekens



Figuur V-52. Directe huidreacties compound 48/80. Verklaring der tekens: zie figuur V-45.

totaal aantal  
plustekens  
directe huid-  
reactiviteit



Figuur V-53. Totale directe huidreactiviteit compound 48/80.

### Specifieke IgE-antistoffen

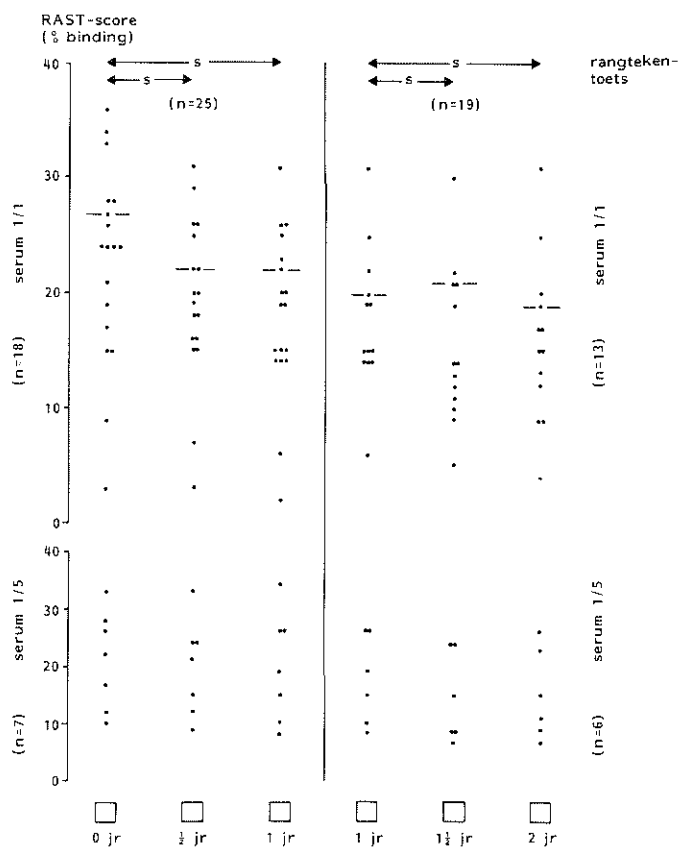
De specifieke IgE-titers staan weergegeven in figuur V-54. Bij een aantal patienten was het percentage binding radioactiviteit zo hoog in onverdund serum, dat pas bij een 1/5 verdunning van het serum een reproduceerbare uitslag kon worden bepaald. De RAST-scores in onverdund en verdund serum zijn apart statistisch verwerkt. De toetsuitkomsten zijn dezelfde. Er is in het eerste jaar een significante daling van 0 naar 1/2 en naar 1 jaar. Er zijn minimale, doch significante dalingen van 1 naar 1 1/2 en naar 2 jaar, als ook van 1/2 naar 1 1/2 jaar. Op geen der tijdstippen bleek de totale direkte en de totale late huidreactiviteit voor graspollenextract gecorreleerd aan de specifieke IgE-titers.

### Specifieke IgG<sub>1</sub>-antistoffen

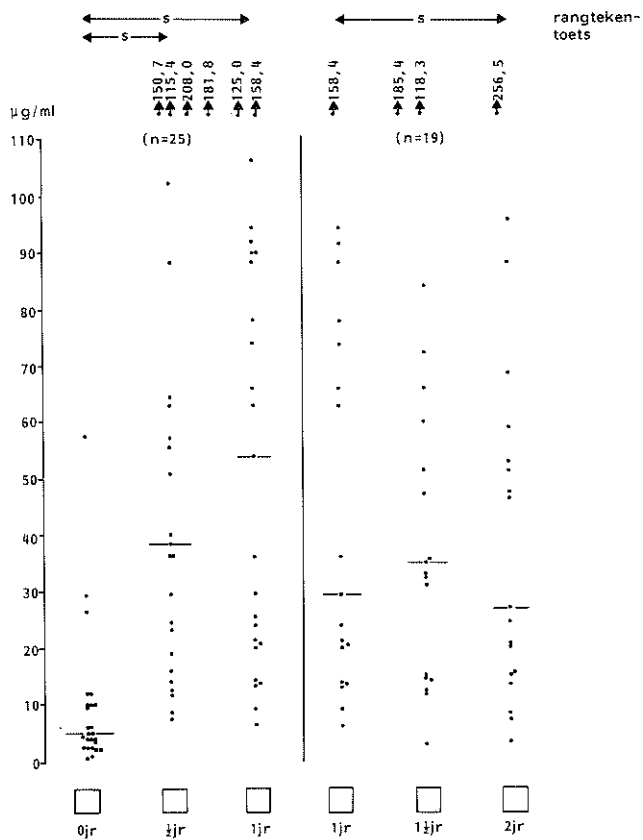
In figuur V-55 staan de titers aan specifieke IgG<sub>1</sub>-antistoffen vermeld. Er is een significante stijging van 0 naar 1/2 en naar 1 jaar. In het tweede jaar is er enige daling van 1 naar 2 jaar. De waarden na 2 jaar zijn significant hoger dan die voor de behandeling. De specifieke IgG<sub>1</sub>-titers zijn niet gecorreleerd met de specifieke IgE- en IgG<sub>4</sub>-titers, noch met de titers aan blokkerende activiteit. Er is geen verband tussen veranderingen in specifieke IgG<sub>1</sub>-titers en veranderingen van de andere genoemde variabelen.

### Specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen

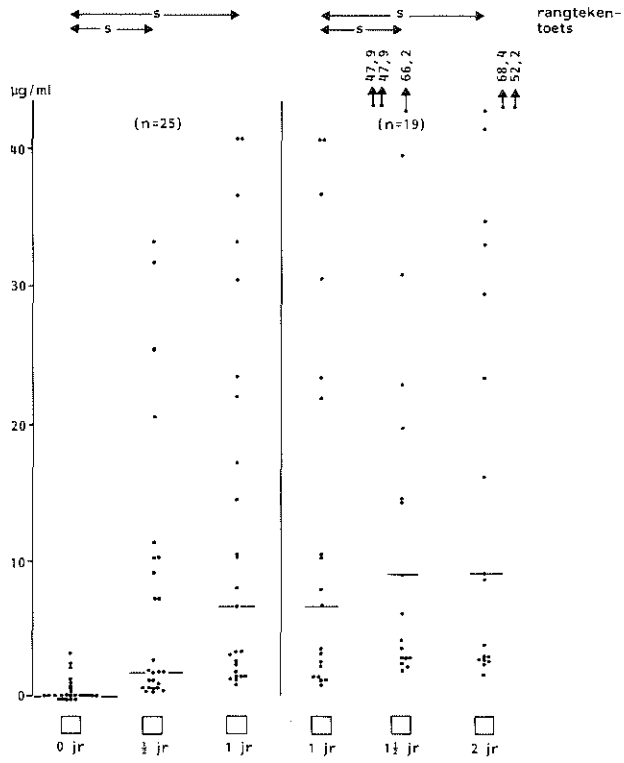
Voor het verloop van de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers wordt verwezen naar figuur V-56. De titers stijgen significant van 0 naar 1/2 en naar 1 jaar en voorts van 1 naar 1 1/2 en 2 jaar. De titers stijgen eveneens significant van 1/2 naar 1 1/2 jaar. In vergelijking met de IgG<sub>1</sub>-titers is de (geringe) verdere stijging van IgG<sub>4</sub>-titers in het tweede jaar opvallend. Ook de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers en de veranderingen geven geen correlatie te zien met andere variabelen, zoals de titer aan blokkerende activiteit.



Figuur V-54. IgE-RAST-scores.



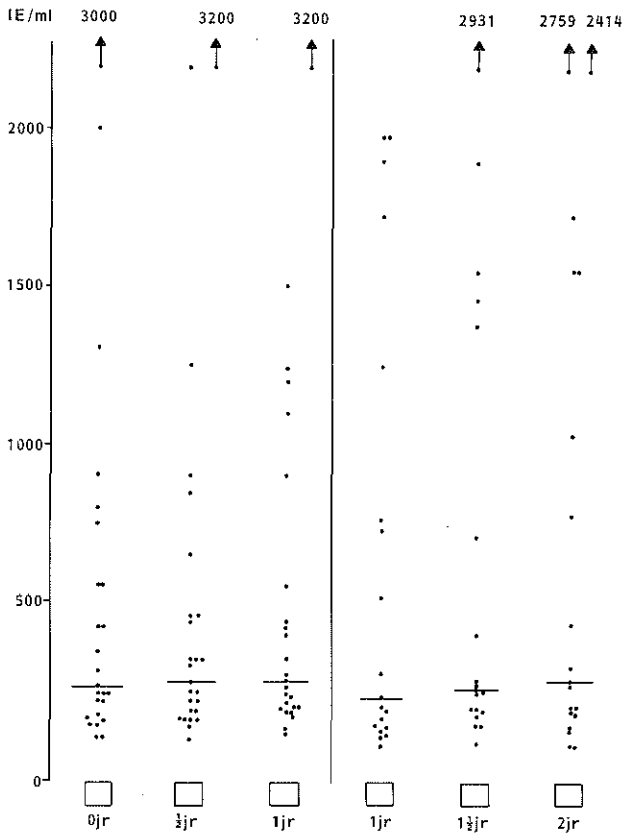
Figuur V-55. IgG<sub>1</sub>-RAST-scores.



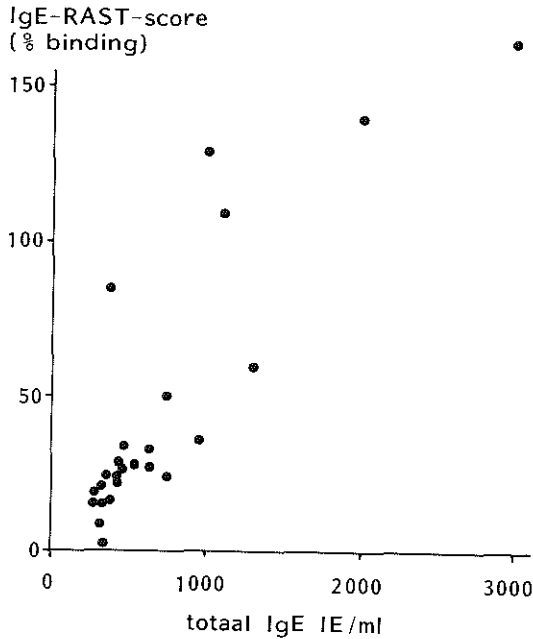
Figuur V-56. IgG<sub>4</sub>-RAST-scores.

Totaal IgE

In figuur V-57 staan de totaal IgE-gehalten vermeld. Deze gehalten veranderen niet in de loop van het eerste en van het tweede jaar van behandeling. Gedurende het eerste jaar was er steeds een duidelijke correlatie tussen het specifieke IgE- en het totale IgE-gehalte van het serum: zie figuur V-58, met gegevens van najaar 1975.



Figuur V-57. Totaal IgE in serum (RIST).



Figuur V-58. Verband tussen RAST-score en RIST-score (0 jaar)

Blokkerende activiteit (huidreactie-remmingstest)

De titers aan blokkerende activiteit staan vermeld in tabel V-XI. Door het teruglopen van de directe huidreacties kan bij de voortgang van de behandeling bij hoe langer hoe minder patienten een titer worden bepaald. Paarsgewijze vergelijkingen van bepaalde titers toont een significante stijging van de titer van 0 naar 1/2 jaar, van 0 naar 1 jaar en van 1 naar 2 jaar.

Verbanden, voorafgaand aan de behandeling (najaar 1975)

Vóór de behandeling in najaar 1975 is geen verband aantoonbaar tussen de totale directe en totale late huidreactiviteit voor graspollenextract met de titers aan specifieke IgE-, specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen. De grootte van de totale



Tabel V-XI. Titer blokkerende activiteit (Huidreactie-remmingstest)

0-1 jaar n=25

1-2 jaar n=19

← S →  
← S →

← S →

rangtekentoets

titer blokkerende activiteit	aantal patienten			aantal patienten		
	0 jr	1/2 jr	1 jr	1 jr	1 1/2 jr	2 jr
1/128		1				2
1/64		1	5	5	5	1
1/32		3	7	6		1
1/16		4	1		1	1
1/8		7	3	2	1	1
1/4		4	2	1		
< 1/4	25	1	3	2	1	1
? *)		4	4	3	11	12
	0 jr	1/2 jr	1 jr	1 jr	1 1/2 jr	2 jr

\*) Niet te bepalen.

direkte en de totale late huidreactiviteit voor graspollenextract, alsook de hoogte van de specifieke IgE-, specifieke IgG<sub>1</sub>- en de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers zijn niet gecorreleerd aan de totaal-dosering aan ingespoten graspollenextract na 1/2 en 1 jaar.

#### Verloop van variabelen tijdens het eerste jaar (najaar 1975-najaar 1976)

##### Daling totale direkte huidreactiviteit graspollenextract

De daling aan direkte huidreactiviteit voor graspollenextract is niet gecorreleerd met de daling van de specifieke IgE-titers, noch met de stijging van de specifieke IgG<sub>1</sub>- en de specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen. Ook is er geen verband tussen de daling van de direkte huidreactiviteit en de titer aan blokkerende activiteit.

##### Daling totale late huidreactiviteit graspollenextract

Hiervoor gelden dezelfde bevindingen als bij de daling aan direkte huidreactiviteit.

##### Verloop RAST-scores

De veranderingen van de RAST-scores tonen geen verband met elkaar en evenmin met de titer aan blokkerende activiteit.

##### Dosering (gegevens van eerste en tweede behandelingsjaar)

Uitvoerig is nagegaan in hoeverre een verband bestond tussen de cumulatieve dosering aan ingespoten graspollenextract en de veranderingen van de verschillende variabelen van dit onderzoek.

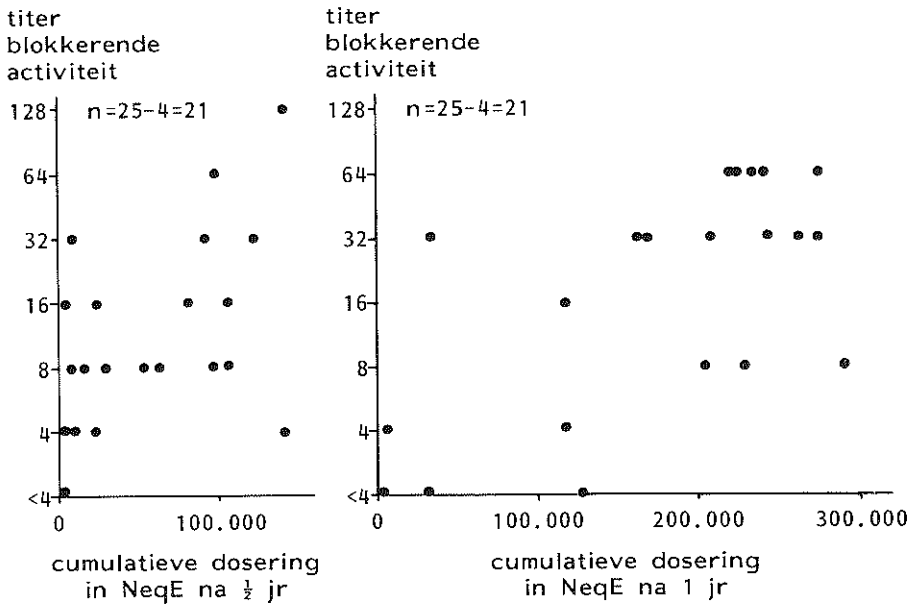
Alleen de volgende verbanden kunnen worden vastgesteld:

Na 1/2 en 1 jaar is er een zeker verband van de dosering met de titer aan blokkerende activiteit aanwezig (figuur V-59).

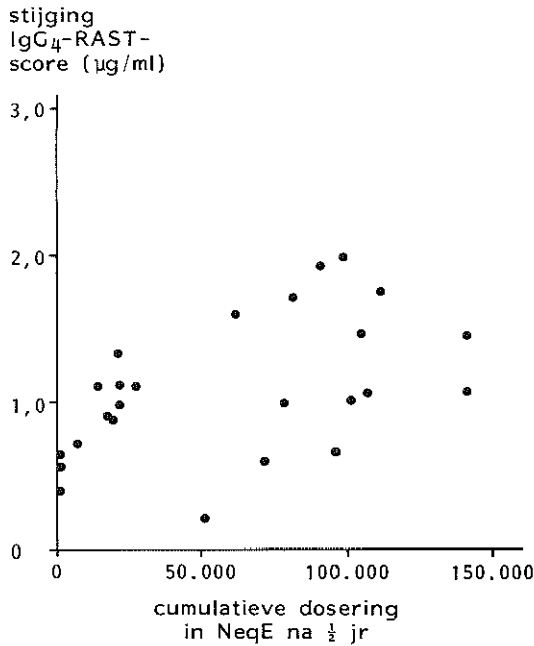
In voorjaar 1976 is enig verband gevonden tussen de dosering en de stijging in de logaritmen van de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers (figuur V-60). Dit laatste geldt ook voor het verband na 2 jaar behandeling (najaar 1977). Tussen de totaal-dosering en de vermindering aan totale direkte huidreactiviteit voor graspollen-

extract na 2 jaar behandeling (najaar 1977) is een significant verband aangetoond (figuur V-61).

Samenvattend kan gesteld worden, dat er in het algemeen geen duidelijke verbanden bestaan tussen het verloop van de verschillende variabelen tijdens het eerste jaar van onderzoek.

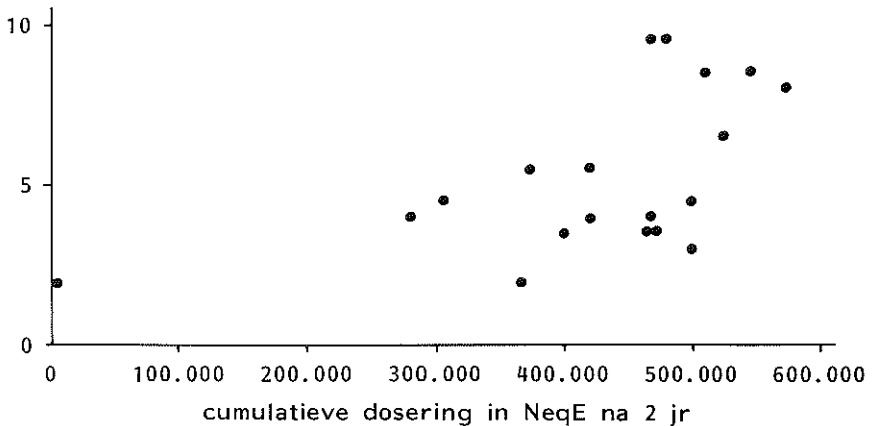


Figuur V-59. Verband titer blokkerende activiteit en cumulatieve dosering depotgraspollenextract; na 1/2 jaar (Spearman  $P < 0,05$ ) en na 1 jaar (Spearman  $P < 0,01$ ).



Figuur V-60. Verband stijging IgG -RAST-scores met cumulatieve dosering depotgraspollenextract na 1/2 jaar (Spearman  $P < 0,01$ ).

vermindering  
aantal plus-  
tekens directe  
huidreactiviteit



Figuur V-61. Verband vermindering totale directe huidreactiviteit graspollenextract met cumulatieve dosering depotgraspollenextract na 2 jaar (Spearman  $P < 0,01$ ).

Onderzoek 379-12-10: Hyposensibilisatie met waterig, aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract

In dit onderzoek werden vanaf najaar 1976 14 patienten gedurende een jaar vervolgd tijdens hyposensibilisatie met commercieel verkrijgbaar, waterig, aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract.

In najaar 1976, voorjaar 1977 en najaar 1977 werden de volgende variabelen vastgelegd:

- directe huidreacties met graspollenextract 100, 10 en 1 NeqE/ml;
- directe huidreacties met histamine 0,1, 0,01 en 0,001 mg/ml;
- directe huidreacties met compound 48/80 0,1, 0,01 en 0,001 mg/ml;
- specifieke IgE-, specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen (C.L.B.);
- totaal IgE-gehalte van het serum (RIST);
- de histaminevrijmaking van leucocyten-suspensies van de patienten door graspollenextract en door calcium-ionophore A 23187 (Dr.J.Noordhoek).

Najaar 1976 werden 17 patienten in het onderzoek opgenomen. Er waren 3 uitvallers. De redenen van uitval waren respektievelijk: sterke plaatselijke reacties na de injecties, algemene reactie na injectie en onduidelijke redenen.

Naast hyposensibilisatie met depotgraspollenextract ondergingen vijf patienten ook dezelfde behandeling met waterig, aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd huisstofmijtenextract. De gegevens van deze laatste patienten verschillen niet systematisch van die van de patienten, die alleen met depotgraspollenextract zijn behandeld, zodat zij als één groep zijn beschouwd.

In tabel V-XII staat de cumulatieve dosering aan ingespoten depotgraspollenextract weergegeven.

Tabel V-XII. Cumulatieve dosering depotgraspollenextract in NeqE.

	0 jaar	1/2 jaar	1 jaar
m	-	1078	118.369
R	-	36 - 27.328	418 - 221.328

### Resultaten

#### Huidreacties met graspollenextract

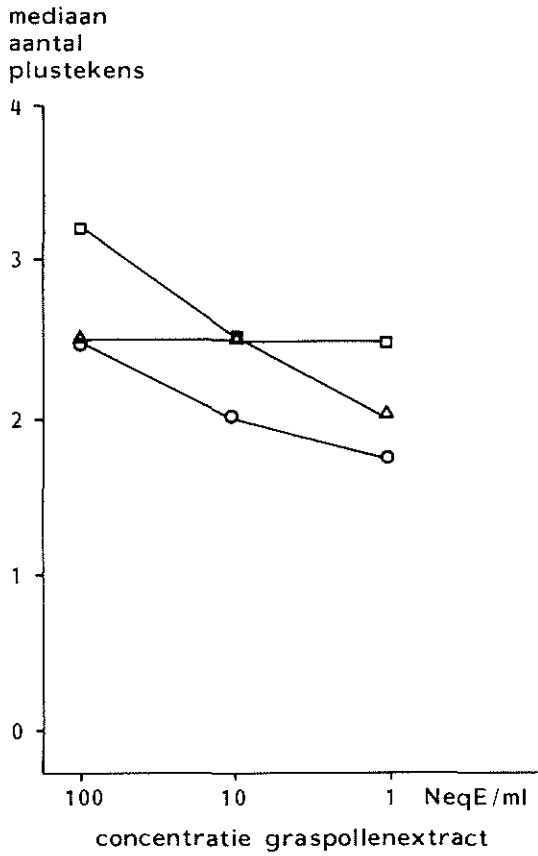
De medianen van de directe huidreacties voor graspollenextract staan weergegeven in figuur V-62. Het totaal aantal plustekens staat weergegeven in figuur V-63. Deze totale huidreactiviteit vermindert significant van 0 naar 1/2 en naar 1 jaar, alsook van 1/2 naar 1 jaar.

#### Huidreacties met histamine

De medianen van de directe huidreacties voor histamine staan weergegeven in figuur V-64. De totale huidreactiviteit voor histamine staat weergegeven in figuur V-65. Deze huidreactiviteit verandert niet significant tijdens de duur van het onderzoek.

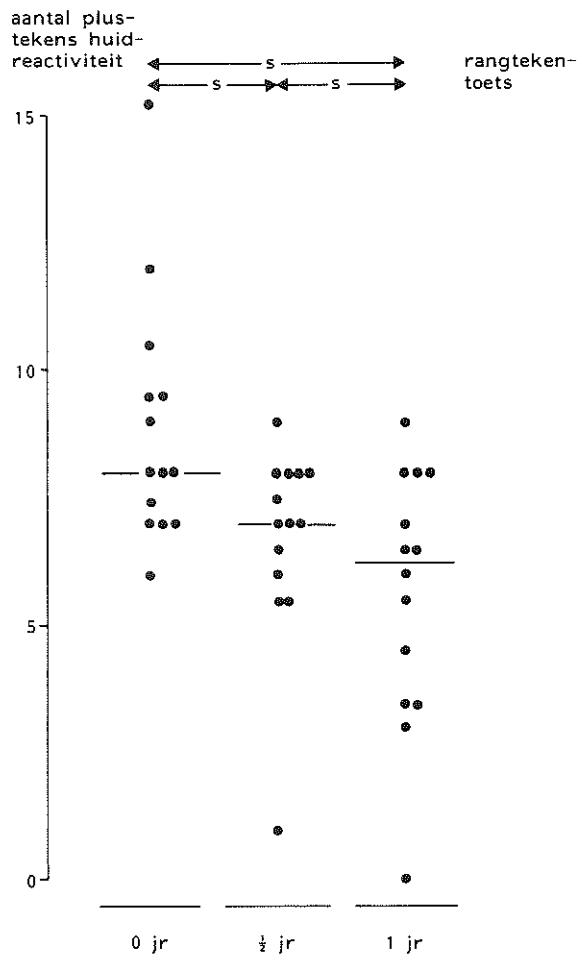
#### Huidreacties met compound 48/80

De medianen van de directe huidreacties voor compound 48/80 staan weergegeven in figuur V-66. De totale huidreactiviteit voor compound 48/80 staat vermeld in figuur V-67. Deze totale huidreactiviteit verandert niet tijdens de onderzoeksperiode, met uitzondering van de periode van 1/2 naar 1 jaar, wanneer er een lichte stijging optreedt ( $P = 0,05$ ).



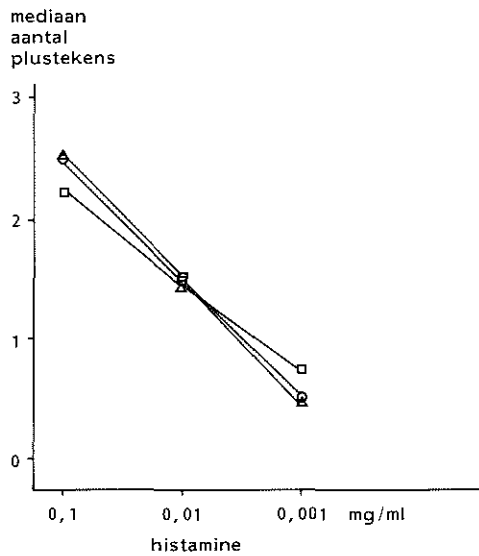
Figuur V-62. Direkte huidreacties graspollenextract.

0 jaar    □—□  
 1/2 jaar    △—△  
 1 jaar    ○—○



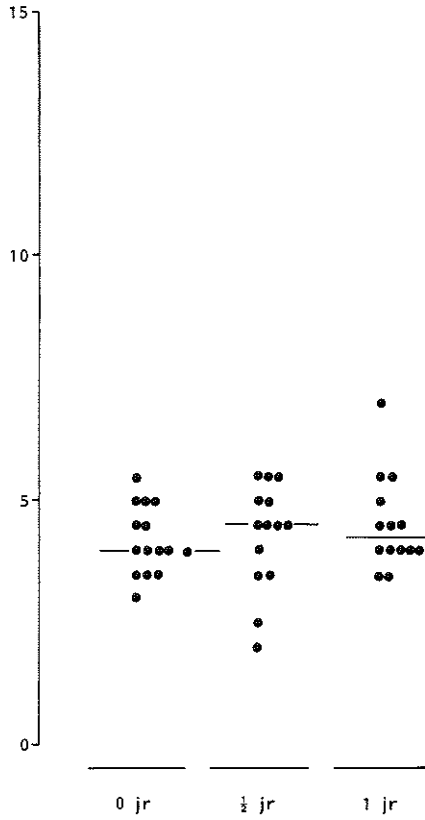
Figuur V-63. Totale directe huidreactiviteit graspollenextract.



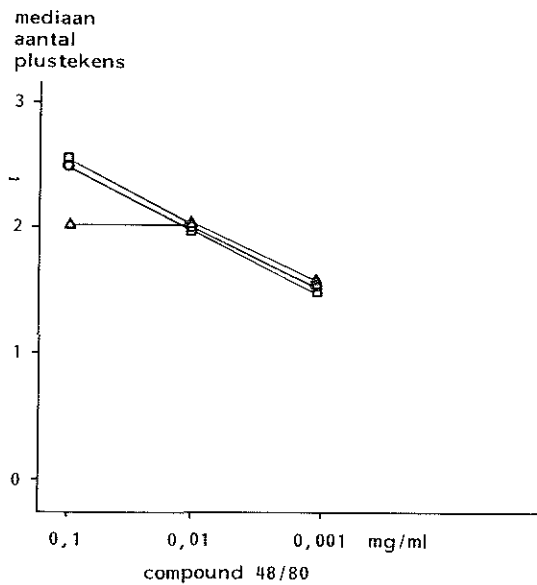


Figuur V-64. Direkte huidreacties histamine. Verklaring der tekens: zie figuur V-62.

aantal plus-  
tekens huid-  
reactiviteit

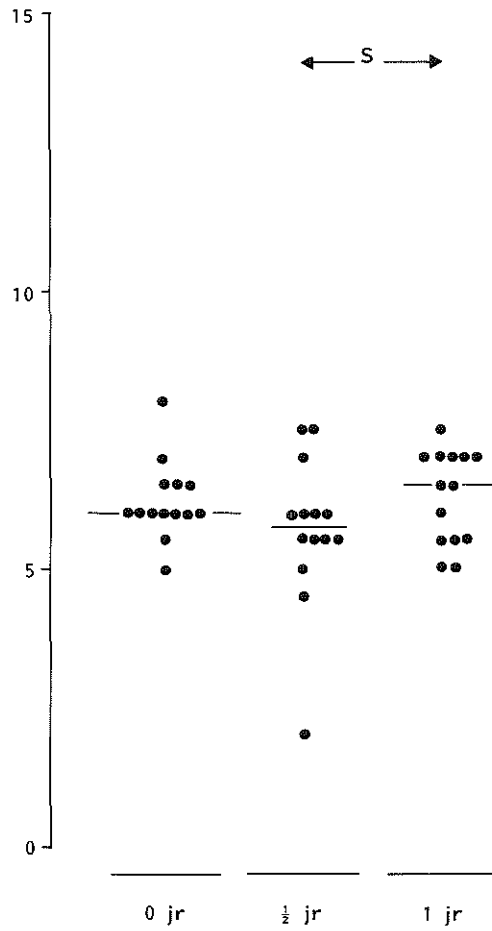


Figuur V-65. Totale direkte huidreactiviteit histamine.



Figuur V-66. Direkte huidreacties compound 48/80. Verklaring der tekens: zie figuur V-62.

aantal plus-  
tekens huid-  
reactiviteit



Figuur V-67. Totale direkte huidreactiviteit compound 48/80.

### Verband tussen de totale huidreactiviteit voor graspollenextract, histamine en compound 48/80

Op het tijdstip van 0 jaar bestaat er geen verband tussen de totale huidreactiviteit voor graspollenextract, histamine en compound 48/80.

Na 1/2 jaar is er een significant verband tussen de 3 gebruikte testextracten onderling (rangcorrelatietoets van Spearman). Bij de hier niet weergegeven grafische voorstelling wordt dit evenwel niet duidelijk bevestigd. Na 1 jaar is er enig verband aangetoond tussen de huidreactiviteit voor graspollenextract en compound 48/80.

### Serologisch onderzoek

De specifieke IgE-titers staan weergegeven in figuur V-68. Deze titers dalen significant van 0 naar 1 jaar, in de tussenliggende perioden zijn er geen veranderingen.

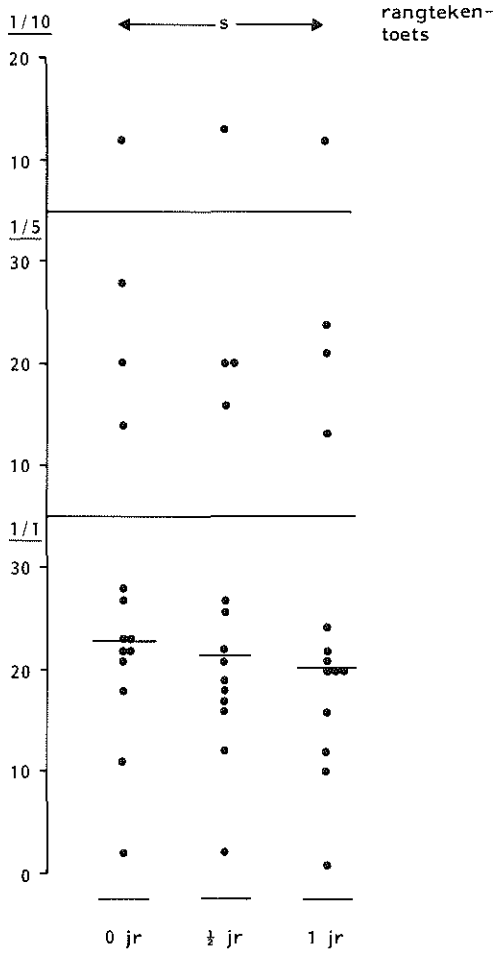
De specifieke IgG<sub>1</sub>-titers staan vermeld in figuur V-69. Deze titers geven in alle perioden van het onderzoek een significante stijging te zien. Dit is ook het geval met de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers, die vermeld staan in figuur V-70.

### Totaal IgE-gehalten

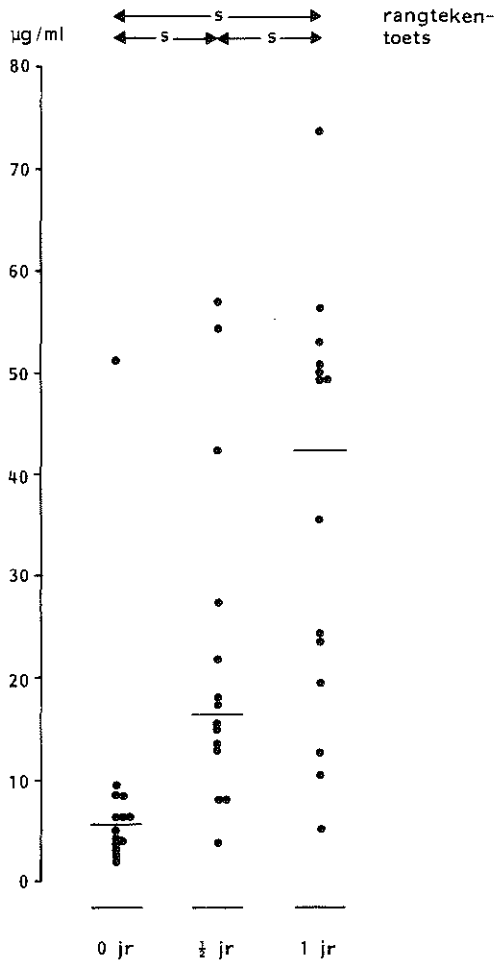
De totaal IgE-gehalten staan weergegeven in figuur V-71. Deze veranderen niet in de loop van het onderzoek.

### Verbanden tussen de resultaten van het serologisch onderzoek

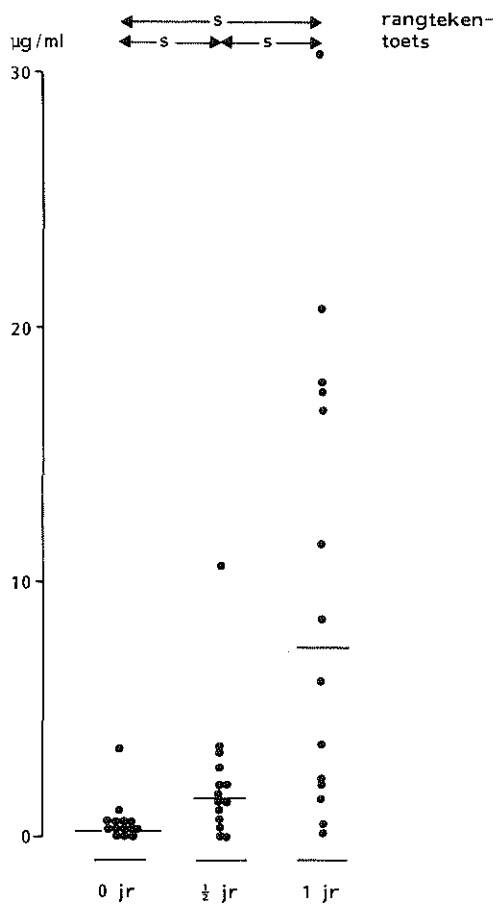
Er bestaat geen verband tussen de specifieke IgE-titers met de totaal IgE-gehalten, de specifieke IgG<sub>1</sub>-titers en de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers. Evenmin bestaat er verband tussen de specifieke IgG<sub>1</sub>- en de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers.



Figuur V-68. IgE-RAST-scores.

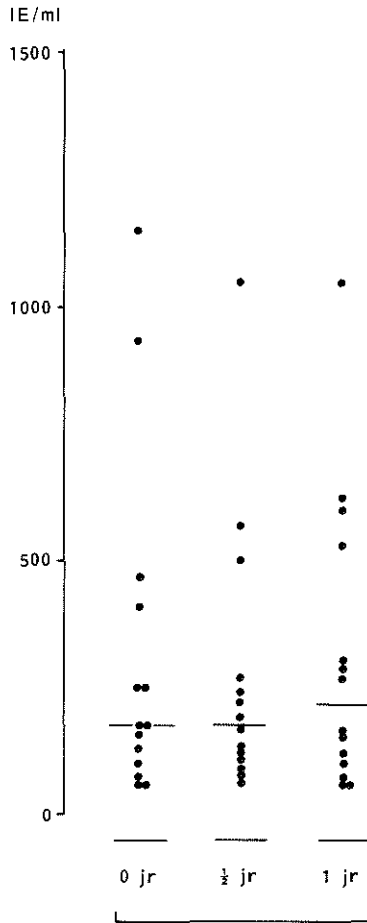


Figur V-69. IgG<sub>1</sub>-RAST-scores.



Figuur V-70. IgG<sub>4</sub>-RAST-scores.

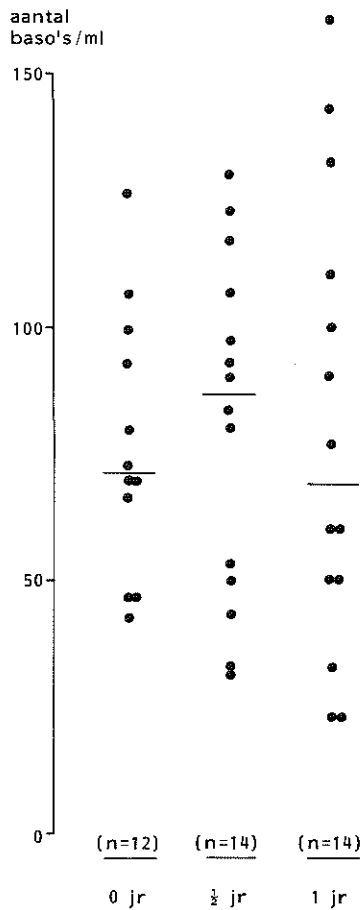




Figuur V-71. Totaal IgE in serum (RIE).

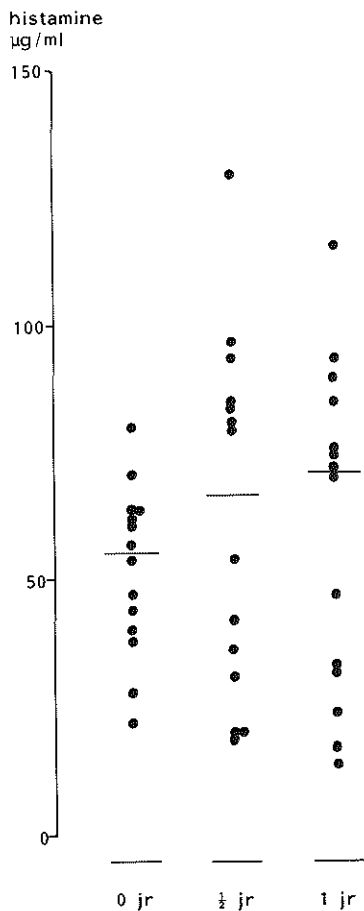
Onderzoekingen met vrijmaking van histamine uit suspensies van witte bloedcellen

Het aantal basofiele leucocyten per ml suspensie verandert niet significant in de loop van het onderzoek: zie figuur V-72. Zowel na 1/2 als na 1 jaar bestaat er een verband tussen het aantal basofielen per ml suspensie witte bloedcellen en de maximale hoeveelheid histamine die door perchloorzuur en calcium ionophore (zie later) kan worden vrijgemaakt. In najaar 1976 kan geen verband in dit opzicht worden gevonden.



Figuur V-72. Aantal basofiele leucocyten per ml suspensie.

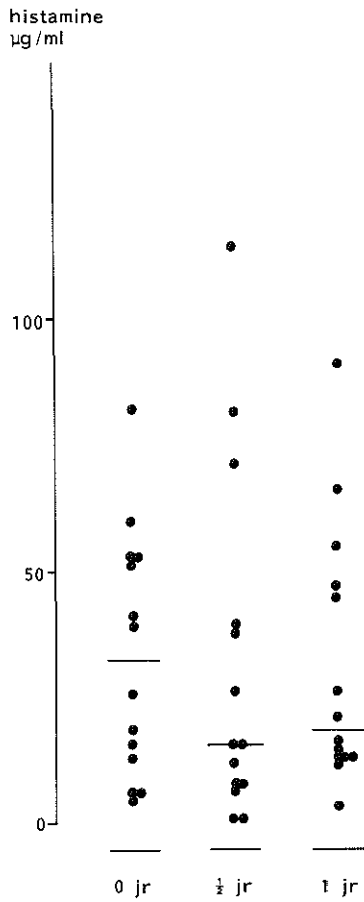
De "totale" gehalten aan histamine van de leucocyten-suspensies na toevoeging van perchloorzuur staan weergegeven in figuur V-73. Deze veranderen niet significant.



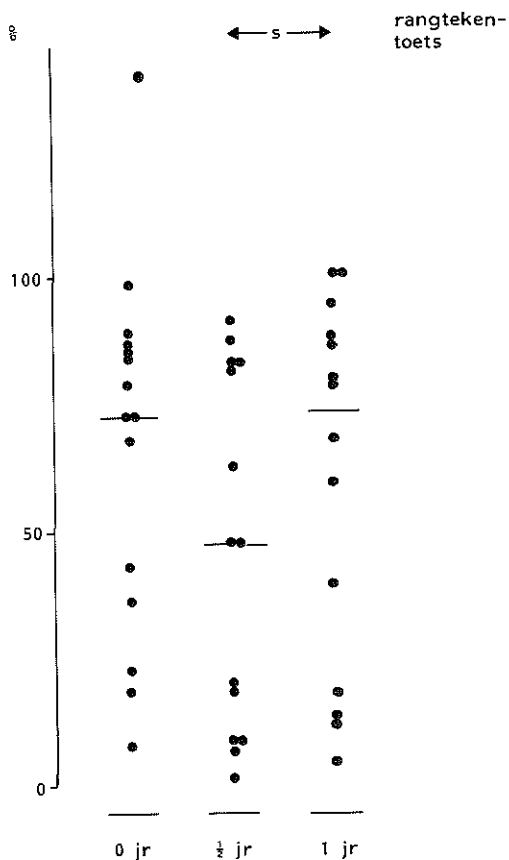
Figuur V-73. "Totale" gehalten aan histamine van leucocyten-suspensies, door perchloorzuur vrijgemaakt.

De maximale hoeveelheid histamine, die door graspollenextract kunnen worden vrijgemaakt, staan weergegeven in figuur V-74. Er is geen significante verandering in deze waarden. Indien deze waarden worden uitgedrukt als percentage van de totale

gehalten aan histamine door perchloorzuur, is een significante stijging van 1/2 naar 1 jaar aantoonbaar (figuur V-75).



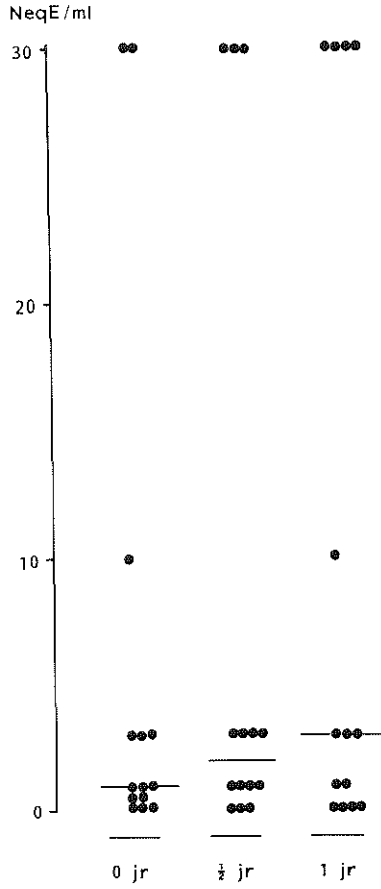
Figuur V-74. Maximale vrijmaking histamine uit leucocyten-suspensies door graspollenextract.



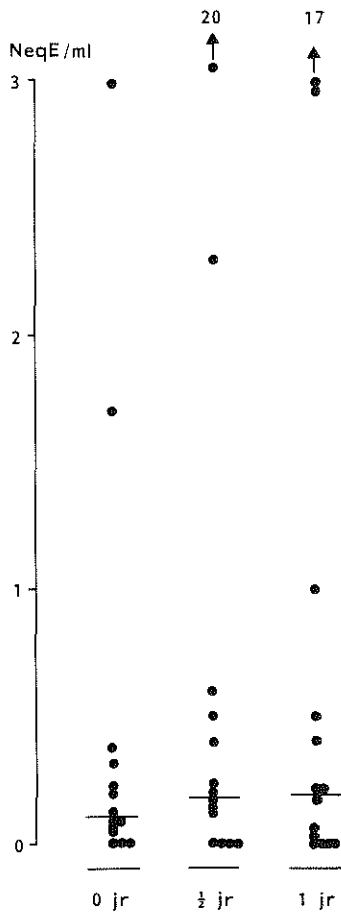
Figuur V-75. Maximale hoeveelheid histamine door graspollenextract vrijgemaakt als percentage van de "totale" hoeveelheid histamine, van de leucocyten-suspensie.

De sterkten aan graspollenextract in NeqE/ml, die nodig zijn voor de maximale vrijmaking van histamine door graspollenextract, staan vermeld in figuur V-76. Deze waarden en de logaritmen daarvan veranderen niet significant tijdens de onderzoeksperiode. Evenmin is dit het geval met de concentratie graspollenextract, waarbij 50% histamine wordt vrijgemaakt van de totale hoeveelheid, die maximaal door graspollenextract kan worden vrijgemaakt (ED-50); zie figuur V-77. De ED-50 waarde wordt

gebruikt als parameter van de specifieke gevoeligheid van de suspensies van witte bloedcellen.

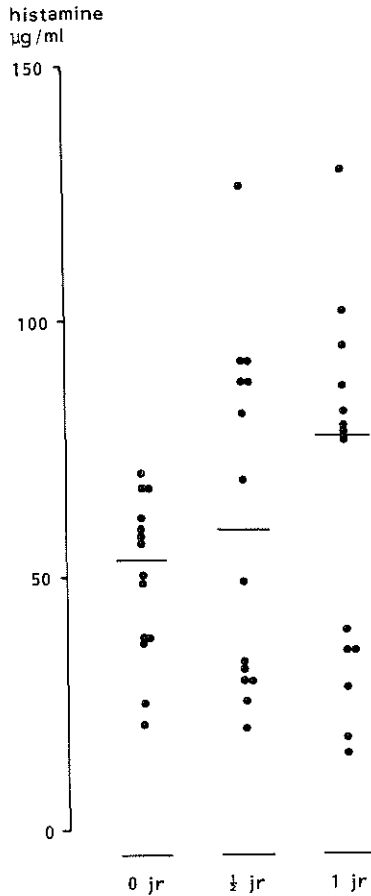


Figuur V-76. Concentratie graspollenextract voor maximale histamine-vrijmaking van leucocyten-suspensies.



Figuur V-77. Concentratie graspollenextract, nodig voor 50% histaminevrijmaking door graspollenextract (ED-50) uit leucocyten-suspensies.

De maximale hoeveelheid histamine, die door calcium-ionophore kan worden vrijgemaakt, staat weergegeven in figuur V-78. De waargenomen stijging in deze waarden tijdens de onderzoeksperiode blijkt niet significant. Worden deze waarden uitgedrukt als percentages van de totale hoeveelheid histamine, door perchloorzuur vrijgemaakt, dan is er een significante stijging van 0 naar 1 jaar (figuur V-79). De concentraties aan calcium-ionophore, die nodig zijn voor maximale vrijmaking van histamine door deze

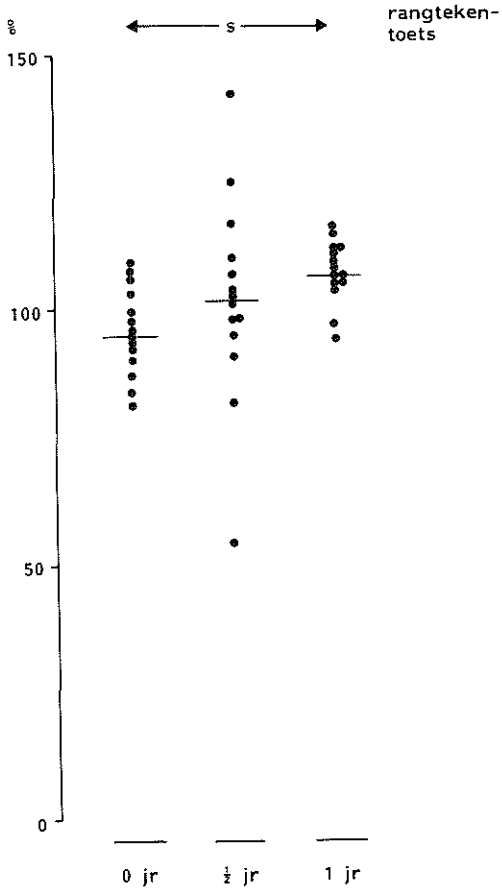


Figuur V-78. Maximale histaminevrijmaking uit leucocyten-suspensies door calcium-ionophore A 23187.

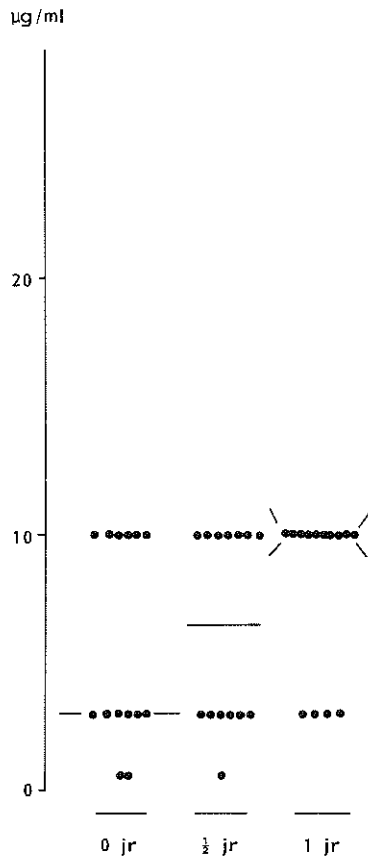
stof, verandert niet tijdens het onderzoek (evenmin de logaritmen daarvan): zie figuur V-80. De concentraties calcium-ionophore, die 50% van de maximaal door calcium-ionophore vrij te maken histamine laat vrijkomen (ED-50), staan vermeld in figuur V-81. Deze waarden stijgen van 0 naar 1/2 en naar 1 jaar; een verband tussen de ED-50 en de maximale vrijmaking van histamine door calcium-ionophore kan niet aangetoond worden. Er is ook geen verband, noch nominaal, noch logaritmisch, tussen de veranderingen in de ED-50 en de hoeveelheid calcium-ionophore voor



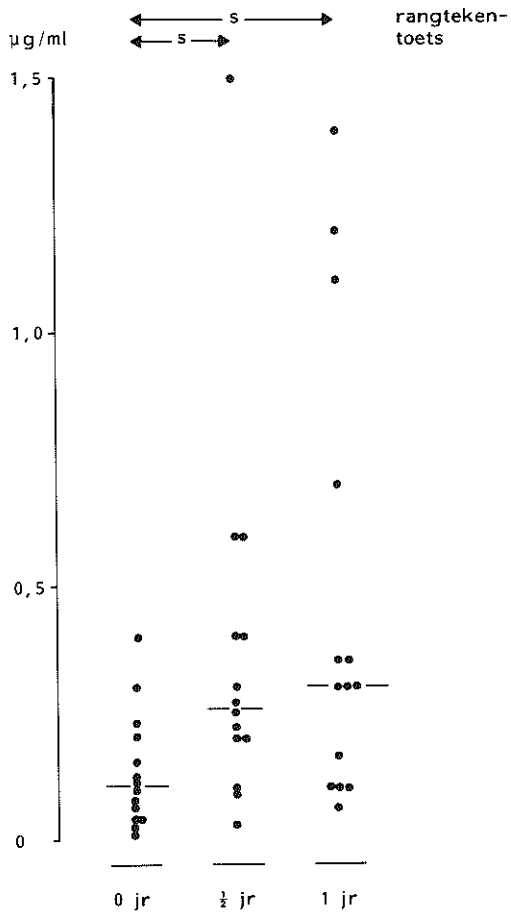
maximale vrijmaking van histamine.



Figuur V-79. Maximale hoeveelheid histamine door calcium-ionophore vrijgemaakt als percentage van de "totale" hoeveelheid histamine van de leucocyten-suspensies.



Figuur V-80. Concentratie calcium-ionophore voor maximale histamine-vrijmaking van leucocyten-suspensies.

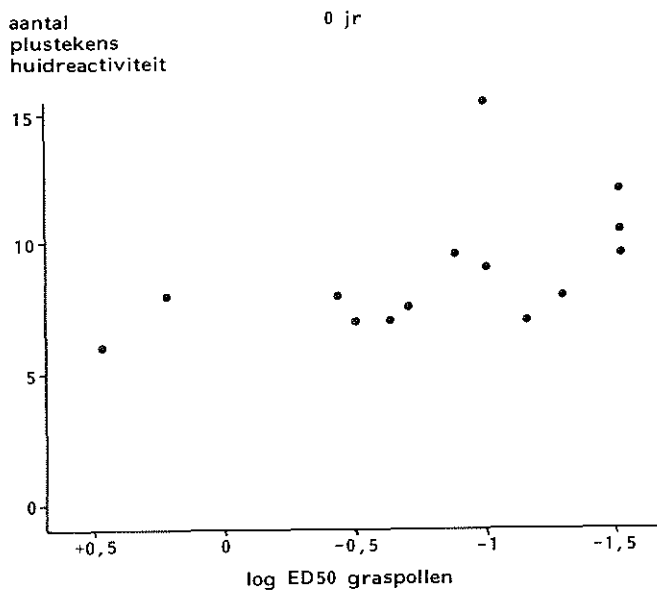


Figuur V-81. Concentratie calcium-ionophore nodig voor 50% histamine-vrijmaking door calcium-ionophore (ED-50 calcium-ionophore) uit leucocyten-suspensies.

Verbanden tussen de direkte huidreactiviteit voor graspollenextract, titers aan specifieke IgE-, IgG<sub>1</sub>- en IgG<sub>4</sub>-antistoffen en de ED-50 graspollenextract bij histaminevrijmaking.

De huidreactiviteit voor graspollenextract vertoont geen significant verband met de specifieke IgE, IgG - en IgG -antistoffen. noch met de ED-50 graspollenextract. Evenmin is de specifieke IgE-titer gecorreleerd met de ED-50 voor graspollenextract. Dit geldt voor alle tijdstippen.

Alleen in najaar 1976 blijkt de logaritme van de ED-50 graspollenextract enig verband te vertonen met de direkte huidreactiviteit voor graspollenextract (figuur V-82). Voor het overige zijn de bevindingen met logaritmen van de variabelen dezelfde als met de nominale uitslagen.



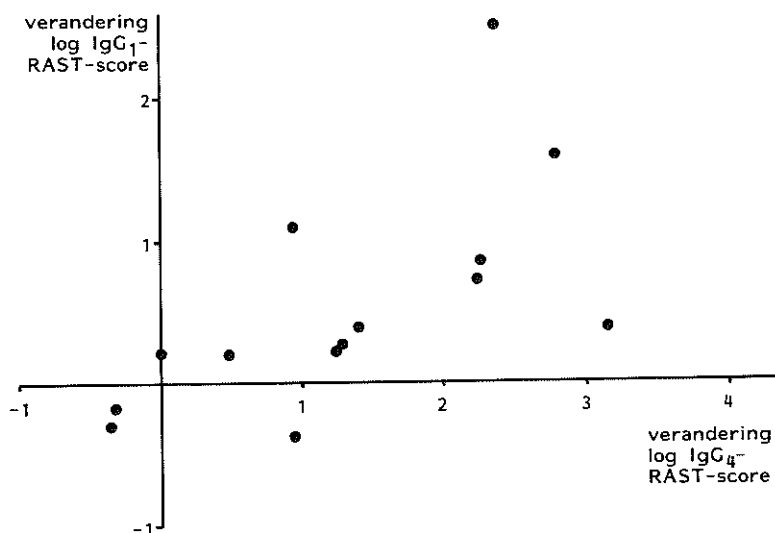
Figuur V-82. Verband direkte huidreactiviteit graspollenextract met log ED-50 graspollenextract van leucocyten-suspensies (0 jaar,  $P < 0,02$ ).

Verbanden tussen veranderingen van variabelen en van logaritmen van variabelen.

De dosering aan ingespoten graspollenextract blijkt voor alle perioden (0-1/2 jaar, 1/2-1 jaar en 0-1 jaar) niet gecorreleerd te zijn aan veranderingen van de directe huidreactiviteit voor graspollenextract, de specifieke IgE-, IgG<sub>1</sub>- en IgG<sub>4</sub>-titer en ook niet met de verandering in de ED-50 graspollenextract en de ED-50 calcium-ionophore. Hetzelfde geldt voor de logaritmen van deze variabelen.

De veranderingen van de directe huidreactiviteit voor graspollenextract zijn niet gecorreleerd aan de absolute en logaritmische veranderingen van de andere variabelen. Hetzelfde geldt voor de veranderingen van de specifieke IgE-titers.

Ten aanzien van de veranderingen aan specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen zijn er dezelfde bevindingen; alleen de veranderingen met betrekking tot de logaritmen van deze beide antistoffen zijn voor de perioden van 1/2 - 1 jaar en 0 - 1 jaar enigszins met elkaar gecorreleerd (figuur V-83 voor de periode 1/2 - 1 jaar).



Figuur V-83. Verband tussen veranderingen van log IgG<sub>1</sub>-RAST-score en log IgG<sub>4</sub>-RAST-score (1/2 - 1 jaar, Spearman P < 0,01).

## Samenvattingen van de onderzoeken

### Onderzoek 379-12-1

Tijdens het eerste jaar van hyposensibilisatie met waterig graspollenextract daalt de directe huidreactiviteit voor graspollenextract. De specifieke IgE-titers dalen niet of nauwelijks. De blokkerende activiteit van het serum, gemeten met de huidreactie-remmingstest, neemt toe tijdens de behandeling. Na een jaar is er een verband tussen de totale dosering aan ingespoten graspollenextract en de titer van de blokkerende activiteit.

### Onderzoek 379-12-3

Tijdens de hyposensibilisatie met waterig graspollenextract daalt de directe huidreactiviteit voor graspollenextract in het eerste jaar. In het tweede jaar stijgt deze huidreactiviteit weer, doch niet tot het uitgangsniveau.

De specifieke IgE-titers zijn na één jaar iets lager dan vóór de behandeling en zijn na twee jaar even hoog als vóór de behandeling. De totaal IgE-gehalten zijn na twee jaar hoger dan bij het begin en na één jaar. De specifieke IgG<sub>1</sub>-titers stijgen duidelijk in het eerste jaar, doch dalen daarna weer iets in het tweede jaar. De specifieke IgG<sub>4</sub>-titers stijgen in het eerste jaar en blijken na twee jaar niet verschillend van de waarden na één jaar.

### Onderzoek 379-12-5

In dit onderzoek van één jaar wordt de behandeling met depotgraspollenextract (DG) in een gerandomiseerde, dubbel-blinde studie vergeleken met placebo-behandeling (PL). Na ruim een half jaar behandeling met graspollenextract blijken de klachten en medicatengebruik te zamen in deze groep gemiddeld 40% lager dan in de placebo-groep.

De directe huidreacties voor graspollenextract verminderen wel in de depotgraspollen-groep, doch niet in de placebo-groep. In de DP-groep zijn de specifieke IgE-titers vrij constant, doch in de PL-groep is er een lichte stijging in de loop van één jaar. De specifieke IgG<sub>1</sub>-titers stijgen in de DP-groep duidelijk meer

dan in de PL-groep. Ook de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers stijgen in beide patientengroepen. De stijging is groter in de depotgraspollen-groep dan in de placebo-groep.

Het totaal IgE-gehalte verandert niet in beide patientengroepen. Tijdens de klinische evaluatie van zomer 1975 stijgen de specifieke IgE-titers in beide patientengroepen, doch zijn lager in de DG-groep. Ook is er een stijging van de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers in beide groepen. In juli zijn de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers hoger in de DG-groep.

De totale score aan klachten en gebruik van medicamenten in zomer 1975 blijkt negatief gecorreleerd te zijn aan de titer aan blokkerende activiteit na één jaar.

#### Onderzoek 379-12-7

Tijdens dit twee jaar durende onderzoek, waarbij patienten worden gehyposensibiliseerd met waterig, aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract, blijkt naast een daling van de directe huidreactiviteit ook een sterke daling van de late huidreactiviteit voor graspollenextract te bestaan. Na twee jaar is de late huidreactiviteit verdwenen.

De specifieke IgE-titers dalen in de loop van twee jaar in lichte mate.

De specifieke IgG<sub>1</sub>-antistoffen stijgen in het eerste jaar, doch dalen weer enigszins in het tweede jaar.

De specifieke IgG<sub>4</sub>-titers stijgen gedurende het onderzoek.

Er is een duidelijke stijging van de titer aan blokkerende activiteit. Zowel na een half jaar als na één jaar bestaat er een verband tussen de titer aan blokkerende activiteit en de cumulatieve dosering aan ingespoten depotgraspollenextract. Na twee jaar is deze cumulatieve dosering gecorreleerd aan de vermindering van de directe huidreactiviteit voor graspollen.

#### Onderzoek 379-12-10

In dit onderzoek van één jaar, waarbij patienten worden gehyposensibiliseerd met waterig, aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract, treedt weer vermindering op van de directe

huidreactiviteit voor graspollenextract. De specifieke IgE-titers dalen iets, terwijl er een duidelijke stijging is van de specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-titers.

De reactiviteit van basofiele leucocyten, gemeten aan de hand van onderzoeken met behulp van de vrijmaking van histamine van leucocyten-suspensies, verandert niet voor graspollenextract, doch blijkt voor calcium-ionophore te verminderen.



## VI DISKUSSIE EN CONCLUSIE

### 1. Huidreacties voor graspollenextract.

Bij alle groepen van patienten, die betrokken zijn bij ons onderzoek, wordt een daling van de direkte huidreactiviteit voor graspollenextract tijdens hyposensibilisatie vastgesteld. Er treedt steeds een daling in het eerste jaar op. Bij de behandeling met waterig, aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract zet deze daling zich ook in het tweede jaar voort. Daarentegen stijgt deze reactiviteit weer enigszins in het tweede jaar bij behandeling met waterig extract. De reden van het verschillend verloop in het tweede jaar zou kunnen zijn, dat de dosering in het tweede onderzoeksjaar bij het waterig graspollenextract lager is dan bij waterig aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract. Bij placebo-behandeling verandert de direkte huidreactiviteit voor graspollenextract niet. Evenmin verandert tijdens hyposensibilisatie de direkte huidreactiviteit voor histamine en compound 48/80. Dit bevestigt in zekere zin de specificiteit van de vermindering van de huidreactiviteit voor graspollenextract. De vermindering van de direkte huidreactiviteit voor graspollenextract tijdens hyposensibilisatie is in overeenstemming met de resultaten, verkregen door Sprecace et al (1966), Connell et al (1969), Voorhorst (1971), Voorhorst et al (1980). Het is onduidelijk hoe de vermindering van de direkte huidreactiviteit voor graspollenextract tot stand komt. Deze lijkt niet voldoende te kunnen worden verklaard door eventuele vermindering van de specifieke IgE-titer, voor zover deze en dan nog in lichte mate, aanwezig is. Gezien de duidelijke titerstijging aan specifieke IgG-antistoffen, zou men terecht kunnen veronderstellen, dat dit voor een kleiner of groter deel bijdraagt aan de vermindering van de direkte huidreactiviteit voor graspollenextract. Evenwel kon geen duidelijk verband gevonden worden tussen de vermindering van direkte huid-

reactiviteit voor graspollen en de stijging aan blokkerende activiteit van het serum, zoals gemeten met de huidreactie-remmingstest of de stijging van de specifieke IgG<sub>1</sub>- of IgG<sub>4</sub>-antistoffen. Een andere mogelijkheid zou kunnen zijn, dat het vermogen van de mestcellen om mediators vrij te maken kwantitatief vermindert. Ook hiervoor zijn vooralsnog weinig aanwijzingen. De huidreactiviteit voor de histamine-liberator compound 48/80 verandert niet tijdens hyposensibilisatie, doch het is niet duidelijk of de histaminevrijmaking door compound 48/80 te vergelijken is met de histaminevrijmaking bij de IgE-gemedieerde reactie. In onderzoek 379-12-10 werd een aanwijzing gevonden, dat door hyposensibilisatie basofiele leucocyten, die min of meer met mestcellen vergelijkbaar zijn, een verminderde neiging tot vrijmaking van mediators vertonen, althans er bestaat een verminderde gevoeligheid van de leucocytensuspensies voor calcium-ionophore A 23187. Het is onduidelijk of deze bevindingen zonder meer op mestcellen in de huid van toepassing kunnen worden verklaard. Tenslotte bestaat de mogelijkheid dat meerdere van de genoemde factoren bijdragen tot vermindering van de directe huidreactiviteit voor graspollenextract.

Het lijkt gerechtvaardigd om tijdens hyposensibilisatie de directe en de late huidreactiviteit te gebruiken als één van de variabelen, waaraan het effect van hyposensibilisatie kan worden afgemeten, zonder dat hieraan absolute betekenis kan worden gehecht.

Van het effect van hyposensibilisatie op de late atopische reactie is weinig bekend. Warner et al (1978) beschrijven, dat in een onderzoek over hyposensibilisatie met huisstofmijtenextract bij kinderen met astma de frekwentie van de late longprovocatie-reactie op allergeenextract vermindert. De frekwentie van de directe longprovocatie-reactie met huisstofmijtenextract was niet verminderd. Dit wijst erop, dat het effect van hyposensibilisatie op de late atopische reactie groter is dan op de directe, althans bij een behandelingsduur van minimaal één jaar. Overigens zijn de bevindingen van Warner niet in overeenstemming met bevindingen van Van Locke-

ren Campagne (1972): deze vond na 3 jaar hyposensibilisatie met huisstofextract bij kinderen juist verdwijning van de direkte bronchiale reactie op allergeenextract bij een onverminderde frekwentie van de late reactie. Onze gegevens over de late huidreactiviteit voor graspollenextract tijdens hyposensibilisatie komen overeen met de bevindingen van Warner: naast enige vermindering van de direkte huidreactiviteit is er ook een uitgesproken vermindering van de late huidreactiviteit voor graspollenextract. Na 2 jaar hyposensibilisatie is de late huidreactiviteit voor graspollenextract vrijwel geheel verdwenen. Het is onduidelijk waarom de late huidreactiviteit, die IgE-afhankelijk is (Solley et al; 1976), bij hyposensibilisatie mogelijk sneller terugloopt dan de direkte huidreactiviteit.

De reproduceerbaarheid van direkte huidreacties met graspollenextract is nogal matig, vooral bij kleine reacties en/of bij lage concentraties van het testextract. In deze reproduceerbaarheid kan verbetering worden gebracht door bij de huidtesten gebruik te maken van verdunningsreeksen van het testextract. Door de gevonden reacties te middelen of te sommeren (zoals in dit proefschrift) verbetert de relatieve reproduceerbaarheid. Het ontbreken van significante correlaties van direkte huidreacties met andere variabelen kan ten dele te wijten zijn aan deze matige reproduceerbaarheid.

## 2. Specifieke IgE-titers.

In tegenstelling tot wat elders beschreven is (Lichtenstein et al; 1973) vinden wij geen of geen duidelijke dalingen van de specifieke IgE-titers (vergelijk Yunginger et al; 1973). Bij hyposensibilisatie met waterig, aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd pollenextract is ook door Norman et al (1978-2)' geen duidelijke daling van de specifieke IgE-titers gevonden. In dit verband lijkt de vorming van specifieke T-suppressorcellen door hyposensibilisatie (Rocklin et al; 1980) niet relevant. Ter aanvulling zij hier vermeld, dat met name de bepaling van specifieke IgE-antistoffen door het CLB niet

negatief beïnvloed kan worden door de aanwezigheid van specifieke IgG-antistoffen. In onze onderzoeken blijft het totaal IgE-gehalte, zoals bepaald met behulp van de RIST tijdens hyposensibilisatie, constant.

Bij de in dit proefschrift beschreven onderzoeken wordt met een enkele uitzondering (zie figuur V-42) geen verband gevonden tussen de IgE-RAST-scores en de directe huidreactiviteit voor graspollenextract. Mogelijk wordt dit mede bepaald door de toegepaste selectie van patienten met ernstige hooikoorts en een duidelijke huidreactiviteit voor graspollenextract. De specifieke IgE-titers zijn niet gecorreleerd aan de specifieke IgG<sub>1</sub>- en de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers. Ook bestaat er geen verband tussen de veranderingen van specifieke IgE-titers en die van specifieke IgG<sub>1</sub>- en IgG<sub>4</sub>-titers.

Tussen veranderingen van specifieke IgG- en specifieke IgE-antistoffen wordt geen verband gevonden overeenkomstig gegevens van Ishizaka et al (1973).

Bij het klinische onderzoek (379-12-5) zijn tijdens zomer 1975 driemaal de specifieke IgE-titers gemeten in beide patientengroepen: in het algemeen zijn de titers in de depot-graspollen-groep lager dan in de placebo-groep doch de stijgingen verschillen tussen beide patientengroepen niet significant.

De specifieke IgE-titer lijkt voorsnog geen belangrijke variabele bij het vervolgen van het effect van hyposensibilisatie.

### 3. Blokkerende activiteit van het serum.

In navolging van Cooke et al (1935), Loveless (1940) en Maunsell (1946), is ook bij ons onderzoek gebruik gemaakt van een soortgelijke huidreactie-remmingstest (Voorhorst, 1971; Dieges, 1972) om "blokkerende activiteit" in serum van gehyposensibiliseerde patienten aan te tonen. De resultaten laten zien, dat tijdens hyposensibilisatie in het serum (hoogst waarschijnlijk) antistoffen ontstaan, die de atopische huidreactie kunnen remmen. Voorsnog is het onbekend in hoeverre

de klinische verbetering door hyposensibilisatie van deze blokkerende activiteit in het serum afhankelijk is. Bij proeven met atopische honden blijkt serum met blokkerende antistoffen een blokkerend effect op locale en algemeen atopische reacties te hebben (Patterson, 1965). Bij hooikoortspatienten geeft lokaal toegediend (blokkerend) serum een duidelijk verhoogde tolerantie voor in de neus verstoven pollen (Connel, 1970). In een dubbel-blind klinisch onderzoek, waarbij "blokkerend" serum of placebo in de neus tijdens het hooikoortsseizoen werd toegediend, werd geen verschil in klachtenpatroon tussen beide groepen patienten vastgesteld (Gleich et al, 1975). Uit onderzoekingen, in dit proefschrift beschreven, blijkt dat de blokkerende activiteit in serum reeds aanwezig is voordat vermindering van huidreactiviteit optreedt (onderzoek 379-12-1). In sommige onderzoeken werd een verband gevonden tussen de titer aan blokkerende activiteit en de totale dosering aan ingespoten graspollenextract by hyposensibilisatie (379-12-1, 379-12-7). In het klinisch onderzoek (379-12-5) blijkt de titer aan blokkerende activiteit na één jaar behandeling negatief gecorreleerd te zijn met de totale score aan klachten en medicamentengebruik tijdens het voorafgaande hooikoortsseizoen. Dit is in overeenstemming met de bevindingen van Lichtenstein et al (1971), dat bij patienten met een goed klinisch effect van hyposensibilisatie het blokkerende effect van serum hoger is dan bij patienten bij wie dat klinisch effect minder duidelijk is. Overigens blijkt uit alle vijf de onderzoekingen, in dit proefschrift beschreven, dat hyposensibilisatie leidt tot een titer aan blokkerende activiteit bij de meeste patienten. Hierboven onder punt 1 werd reeds de mogelijke invloed van blokkerende activiteit op de vermindering van directe huidreacties besproken. Er is geen verband tussen de titers aan blokkerende activiteit en de specifieke IgE-titers of veranderingen daarin. Hetzelfde geldt voor het eventuele verband tussen de titer aan blokkerende activiteit en de specifieke IgG<sub>1</sub>- en de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers. Mogelijk wordt dit laatste mede bepaald door het feit, dat de huidreactie-remmingstest een vrij ruwe methode is

met duidelijke variatie in de resultaten bij duplo- of triplobepalingen. Men zou nl. kunnen verwachten, dat de specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-titers al of niet in combinatie (nagenoeg) identiek aan de blokkerende activiteit zouden zijn. Wel kan bepaling van blokkerende activiteit middels de huidreactie-remmingstest gebruikt worden als variabele bij de beoordeling van het effect van hyposensibilisatie, echter zonder dat hieraan absolute betekenis kan worden gehecht.

#### 4. Specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-titers.

Op grond van de bevindingen van Van der Giessen et al (1976) en Devey et al (1976), werden in de laatste vier onderzoeken van hoofdstuk V de specifieke IgG<sub>1</sub>- en de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers vervolgd. De specifieke IgG<sub>1</sub>-antistoffen stijgen in al deze onderzoeken: in het tweede jaar van behandeling vindt hiervan een lichte daling plaats. Opvallend is, dat in het klinisch onderzoek (379-12-5) ook in de placebo-groep een lichte stijging aan specifieke IgG<sub>1</sub>-antistoffen wordt gevonden, zonder dat daarvoor een verklaring aanwezig is. Deze bevinding, die ook voor de IgG<sub>4</sub>-antistoffen geldt, wijst erop, dat bij klinisch onderzoek steeds een controle-groep met placebo-behandeling nodig is om gemeten veranderingen van allerlei variabelen op de juiste waarde te kunnen schatten. De specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen stijgen eveneens in al deze onderzoeken, waarbij na het eerste behandelingsjaar geen of weinig verdere stijging optreedt. Van specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen is beschreven, dat het titer-verloop hetzelfde zou zijn als van de specifieke IgE-antistoffen (Van der Giessen et al, 1976). Dit zou de gelijktijdige stijging van specifieke IgE- en IgG-antistoffen in de placebo-groep van onderzoek 379-12-5 kunnen verklaren. Evenwel kon een significant verband tussen de diverse titerstijgingen niet worden vastgesteld. De stijging van de specifieke IgG-antistoffen en de vermindering van de late huidreacties (onderzoek 379-12-7) is in tegenspraak met de vermelding, dat late reacties na longprovocatie met allergenextract bepaald worden door specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen

(Gwynn et al, 1982). Significante verbanden tussen de specifieke IgG<sub>1</sub>-titers en de IgG<sub>4</sub>-titers met de titers aan blokkerende activiteit, zoals gemeten met de huidreactie-remmingstest, konden niet worden vastgesteld. Of de specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen de eigenlijke blokkerende antistoffen bij hyposensibilisatie zijn, is niet duidelijk (Aalberse et al, in druk). Wel is het opvallend, dat zowel van de blokkerende activiteit als van de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers er een stijging is in het eerste jaar van de behandeling en in het tweede jaar geen of zeer lichte stijging. Het is thans onduidelijk hoe antistoffen, die verantwoordelijk zijn voor de blokkerende activiteit van het serum, of specifieke IgG<sub>1</sub>- en IgG<sub>4</sub>-antistoffen lokaal in neus, ogen en bronchiën een "beschermend" effect hebben.

Bij het klinisch onderzoek (379-12-5) zijn tijdens zomer 1975 driemaal de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers naast de specifieke IgE-titers (zie boven) gemeten in beide patientengroepen: het enige significante verschil was een hogere specifieke IgG<sub>4</sub>-titer in de depotgraspollen-groep dan in de placebo-groep omstreeks half juli. Hieruit is geen duidelijke conclusie te trekken. Zowel de specifieke IgG<sub>1</sub>- als IgG<sub>4</sub>-antistoffen stijgen tijdens hyposensibilisatie, hoewel ook bij placebo-patienten een overigens onbegrepen stijging is gevonden, zij het minder dan bij de depotgraspollen-groep. Nader onderzoek naar de betekenis van de beschreven titerstijgingen is nodig om inzicht te krijgen in de betekenis van deze antistoffen.

##### 5. Histaminevrijmaking van leucocytensuspensies door graspollenextract.

De onderzoekingen met histaminevrijmaking van leucocytensuspensies door graspollenextract (onderzoek 379-12-10) leverde geen duidelijke vermindering van de gevoeligheid voor graspollenextract van de basofiele leucocyten op na één jaar behandeling met waterig, aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract. Dit is in overeenstemming met de gegevens van andere onderzoekers (Norman et al, 1978-2) en staat in tegenstelling

tot bevindingen bij hyposensibilisatie met het gewone waterige pollenextract, waarbij wél een vermindering optreedt, vooral bij kinderen (Levy et al, 1973; Norman et al, 1978-1; Sadan et al, 1969; Evans et al, 1976).

De verminderde gevoeligheid van leucocyten-suspensies voor calcium-ionophore A 23178 (Lichtenstein, 1975) tijdens hyposensibilisatie is opvallend. Dit kan wijzen op een verminderde neiging tot vrijmaking van mediators van basofiele leucocyten. Een en ander zou kunnen betekenen dat, althans bij basofiele leucocyten, tijdens hyposensibilisatie het vermogen van de cellen om mediators af te geven, vermindert. De calcium-ionophore sluit als het ware de vrijmaking van mediators kort en is dus niet geheel te vergelijken met de vrijmaking van mediators door toevoeging van allergeenextract (Lichtenstein, 1975). Ook is het opvallend, dat bij bepaalde patiënten op sommige momenten de maximaal door calcium-ionophore A 23187 vrij te maken hoeveelheid histamine groter is dan die door perchloorzuur wordt bepaald. In het algemeen wordt aangenomen dat perchloorzuur de maximale hoeveelheid vrij te maken histamine laat vrijkomen. Onderzoek 379-12-10 is derhalve slechts te beschouwen als een verkennend onderzoek, waarvoor nadere bevestiging noodzakelijk is.

#### 6. Klinisch effect van hyposensibilisatie.

Het klinisch onderzoek (379-12-5) met waterig, aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract werd opgezet omdat een gerandomiseerd, vergelijkend onderzoek hiermee nog niet eerder was verricht en een Nederlands preparaat ter beschikking kwam. Een dergelijk preparaat heeft als voordeel, dat het aantal benodigde injecties minder is dan bij het waterige extract en dat hogere totaaldoseringen kunnen worden bereikt (vergelijk Norman et al, 1978-2). Overeenkomstig de ervaringen met een dergelijk ragweedpollenextract zijn er wat meer lokale reacties en minder algemene reacties dan met het waterige extract. Al lang is bekend, dat een hoge totaaldosering meer klinisch effect heeft dan een lage (Frankland, 1955;



Johnstone, 1957; Franklin et al, 1967; Norman, 1978-3). De opzet van het eigen onderzoek, dat grotendeels vergelijkbaar is met een dergelijk onderzoek van Norman en medewerkers (1972) leverde ook vergelijkbare resultaten op. Er is sprake van duidelijke klinische verbetering. Vermeldenswaard is, dat het eigen onderzoek uitgevoerd werd met patienten die allen sterk atopisch waren voor graspollen en buiten pollinosis geen klachten hadden van andere, klinisch belangrijke atopieën of andere soorten luchtwegklachten. De behandelde groep en de placebo-groep zijn vergelijkbaar qua diverse variabelen, zoals te verwachten is bij een aselechte verdeling van patienten over de onderzoeksgroepen.

De gebruikte methode van score van klachten en het gestandaardiseerd gebruik van medicijnen is de enige methode, waarvan de betrouwbaarheid aan de hand van dagelijkse pollentellingen aannemelijk is gemaakt (Norman et al, 1966; Norman et al, 1973; Wiese et al, 1979). Klinische verbetering bij dit onderzoek (379-12-5) gaat gepaard met vermindering van directe huidreactiviteit voor graspollenextract, een duidelijke titerstijging aan blokkerende activiteit (huidreactie-remmingstest) en stijging aan specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen. De totale scores aan klachten en gebruik van medicamenten vertonen vrijwel geen verband met bepaalde variabelen of met veranderingen daarin. Wel is een significant verband gevonden tussen de titer aan blokkerende activiteit na één jaar behandeling (ongeveer 2 maanden na het seizoen) en de totaalscore tijdens het voorafgaande seizoen. Wanneer deze totaalscores worden vergeleken met de titer aan blokkerende activiteit van 1 à 2 maanden vóór het hooikoortsseizoen, wordt geen verband gevonden.

In de literatuur is geen duidelijk verband gevonden tussen de titer aan blokkerende activiteit en het klinische beeld, doch wel is het duidelijk dat hoge titers aan blokkerende antistoffen meestal gepaard gaan met minder klachten tijdens het hooikoortsseizoen (Norman, 1978-1; Patterson et al, 1978; Norman, 1982). Dat in het algemeen geen duidelijk significant verband

tussen de titer aan blokkerende activiteit en de klinische scores kan worden gevonden, kan gedeeltelijk verklaard worden door het feit dat de uiteindelijke klachten mede zullen afhangen van de mate van atopische reactie van de patient. Bij een gelijkwaardige titer aan blokkerende antistoffen kan de specifieke IgE-titer zeer wel verschillend zijn. Voorts is de expositie aan pollen voor alle hooikoortspatienten mogelijk niet steeds even groot. Bovendien is men vaak niet geïnformeerd in hoeverre de reactiviteit van weefsel bij de verschillende patienten toeneemt tijdens het hooikoortsseizoen (hyperreactiviteit). Tevens blijkt tijdens ons onderzoek, dat in de hooikoortsperiode nogal eens purulente luchtweginfecties voorkomen, die op zich ook weer verergering van klachten kunnen geven. In ons onderzoek lijkt de frekwentie van deze infecties niet verschillend in de depotgraspollen-groep en in de placebo-groep.

Tijdens hyposensibilisatie kunnen direkte en late huidreactiviteit, titer aan blokkerende activiteit (huidreactie-remmingstest) en mogelijk ook specifieke IgG<sub>1</sub>- en IgG<sub>4</sub>-titers gebruikt worden om het effect van hyposensibilisatie (mede) te beoordelen. Aan veranderingen van geen van deze variabelen kan een absolute betekenis worden gehecht.

Op grond van klinische ervaring wordt hyposensibilisatie 3 à 5 jaar continu toegepast. Op grond van dezelfde ervaring wordt de indruk verkregen, dat het merendeel van de hooikoortspatienten dan grotendeels geen klachten meer heeft. Het is ethisch niet verantwoord een onderzoek met placebo als controle-behandeling gedurende zoveel jaar uit te voeren. Voor zover bekend, is er nimmer een goed prospectief onderzoek verricht naar hetgeen na beëindiging van de hyposensibilisatie gebeurt. Voor zover bekend, komen in de loop van enkele jaren na beëindiging bij sommige patienten de klachten weer enigszins terug.

## CONCLUSIE

Op grond van literatuurgegevens, voor zover betrouwbaar, en het eigen klinisch onderzoek, kan geconcludeerd worden dat hyposensibilisatie, althans binnen een bestek van een onderzoek van maximaal één jaar, vermindering van hooikoortsklachten tengevolge heeft. Dit effect lijkt bij verdere behandeling groter te worden, zij het dat hooikoortsklachten vrijwel nooit geheel verdwijnen door deze behandeling. Hyposensibilisatie is tot op heden de enige bekende vorm van behandeling, waarbij veranderingen in het lichaam optreden van immunologische factoren, die de atopische reactiviteit bepalen. Door de behandeling vermindert de direkte en late huidreactiviteit voor graspollenextract, daalt de specifieke IgE-titer soms in lichte mate, neemt de blokkerende activiteit van het serum (huidreactie-remmingstest) toe en vindt er een stijging plaats van de titer aan specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen. Evenwel, aan veranderingen van deze variabelen kan geen absolute betekenis ten aanzien van het verbeterend effect van hyposensibilisatie worden gehecht. Er zijn voldoende redenen om aan te nemen dat hyposensibilisatie bij pollinosis een zinvolle therapie kan zijn, afhankelijk van de ernst van de klachten en de bevindingen bij het allergologisch onderzoek.



## SAMENVATTING

Aanleiding tot de onderzoeken die in dit proefschrift beschreven zijn, is de omstandigheid dat twijfel bestaat over het nut van hyposensibilisatie bij pollinosis. Deze twijfel betreft allereerst de klinische effectiviteit van deze behandeling. Voorts vraagt men zich af in hoeverre door de behandeling (immunologische) veranderingen teweeg worden gebracht en in hoeverre deze veranderingen verantwoordelijk kunnen worden gesteld voor de eventuele vermindering van de klachten. Tenslotte wordt wel de vraag gesteld, welke plaats de hyposensibilisatie bij de therapie van hooikoorts-patienten inneemt. De in dit proefschrift beschreven onderzoeken hebben tot doel, het verloop van een aantal objektieve variabelen en van het klachtenpatroon tijdens hyposensibilisatie vast te leggen. In hoofdstuk I worden het begrip allergie en de vormen van allergie omschreven.

Hoofdstuk II geeft een overzicht van het ziektebeeld van typische hooikoorts (pollinosis, veroorzaakt door het stuifmeel van gras), voorts over de pathogenese, de diagnostiek en de behandeling. Speciale aandacht wordt besteed aan de hyposensibilisatie, met name de immunologische veranderingen hierbij en de klinische evaluatie hiervan.

Hoofdstuk III is gewijd aan beschrijving van de opzet van de eigen onderzoeken over hyposensibilisatie met graspollenextract. Achtereenvolgens komen ter sprake: de patientenselectie, de verschillende methodieken als huidtests, huidreactie-remmingstests en serologische bepalingen (RAST-RIST), het onderzoek met de histamine-vrijmaking van leucocyten-suspensies, de klinische evaluatie en de uitvoering van hyposensibilisatie.

Hoofdstuk IV bevat de resultaten van een onderzoek naar de reproduceerbaarheid van huidtesten met graspollenextract (direkte reacties). Deze blijkt nogal matig te zijn. Door summatie

van reacties op een verdunningsreeks van het testextract verbetert de relatieve reproduceerbaarheid.

De resultaten van de onderzoeken over hyposensibilisatie zijn vermeld in hoofdstuk V.

Hieronder volgen de samenvattingen:

Onderzoek 379-12-1.

Tijdens het eerste jaar van hyposensibilisatie met waterig graspollenextract daalt de directe huidreactiviteit voor graspollenextract. De specifieke IgE-titers dalen niet of nauwelijks. De blokkerende activiteit van het serum, gemeten met de huidreactieremmingstest, neemt toe tijdens de behandeling. Na een jaar is er een verband tussen de totale dosering aan ingespoten graspollenextract en de titer van de blokkerende activiteit.

Onderzoek 379-12-3.

Tijdens de hyposensibilisatie met waterig graspollenextract daalt de directe huidreactiviteit voor graspollenextract in het eerste jaar. In het tweede jaar stijgt deze huidreactiviteit weer, doch niet tot het uitgangsniveau.

De specifieke IgE-titers zijn na één jaar iets lager dan vóór de behandeling en zijn na twee jaar even hoog als vóór de behandeling. De totaal IgE-gehalten zijn na twee jaar hoger dan bij het begin en na één jaar. De specifieke IgG<sub>1</sub>-titers stijgen duidelijk in het eerste jaar, doch dalen daarna weer iets in het tweede jaar. De specifieke IgG<sub>4</sub>-titers stijgen in het eerste jaar en blijken na twee jaar niet verschillend van de waarden na één jaar.

Onderzoek 379-12-5.

In dit onderzoek van één jaar wordt de behandeling met depotgraspollenextract (DG) in een gerandomiseerde, dubbel-blinde studie vergeleken met placebo-behandeling (PL). Na ruim een half jaar behandeling met graspollenextract blijken de klachten en medicamentengebruik te zamen in deze groep gemiddeld 40% lager dan in de placebo-groep.

De direkte huidreacties voor graspollenextract verminderen wel in de depotgraspollen-groep, doch niet in de placebo-groep. In de DP-groep zijn de specifieke IgE-titers vrij constant, doch in de PL-groep is er een lichte stijging in de loop van één jaar. De specifieke IgG<sub>1</sub>-titers stijgen in de DP-groep duidelijk meer dan in de PL-groep. Ook de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers stijgen in beide patientengroepen. De stijging is groter in de depotgraspollen-groep dan in de placebo-groep. Het totaal IgE-gehalte verandert niet in beide patientengroepen. Tijdens de klinische evaluatie van zomer 1975 stijgen de specifieke IgE-titers in beide patientengroepen, doch zijn lager in de DG-groep. Ook is er een stijging van de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers in beide groepen. In juli zijn de specifieke IgG<sub>4</sub>-titers hoger in de DG-groep. De totale score aan klachten en gebruik van medicamenten in zomer 1975 blijkt negatief gecorreleerd te zijn aan de titer aan blokkerende activiteit na één jaar.

#### Onderzoek 379-12-7

Tijdens dit twee jaar durende onderzoek, waarbij patienten werden gehyposensibiliseerd met waterig, aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract, blijkt naast een daling van de direkte huidreactiviteit ook een sterke daling van de late huidreactiviteit voor graspollenextract te bestaan. Na twee jaar is de late huidreactiviteit verdwenen.

De specifieke IgE-titers dalen in de loop van twee jaar in lichte mate.

De specifieke IgG<sub>1</sub>-antistoffen stijgen in het eerste jaar, doch dalen weer enigszins in het tweede jaar.

De specifieke IgG<sub>4</sub>-titers stijgen gedurende het onderzoek.

Er is een duidelijke stijging van de titer aan blokkerende activiteit. Zowel na een half jaar als na één jaar bestaat er een verband tussen de titer aan blokkerende activiteit en de cumulatieve dosering aan ingespoten depotgraspollenextract. Na twee jaar is deze cumulatieve dosering gecorreleerd aan de vermindering van de direkte huidreactiviteit voor graspollen.

Onderzoek 379-12-10.

In dit onderzoek van één jaar, waarbij patienten worden gehyposensibiliseerd met waterig, aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd graspollenextract, treedt weer vermindering op van de directe huidreactiviteit voor graspollenextract. De specifieke IgE-titers dalen iets, terwijl er een duidelijke stijging is van de specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-titers.

De reactiviteit van basofiele leucocyten, gemeten aan de hand van onderzoekingen met behulp van de vrijmaking van histamine van leucocytensuspensies, verandert niet voor graspollenextract, doch blijkt voor calcium-ionophore te verminderen.

Hoofdstuk VI behelst een discussie over de gevonden resultaten bij de eigen onderzoekingen. Deze resultaten worden vergeleken met die uit de literatuur. Tenslotte wordt de conclusie getrokken, dat hyposensibilisatie met waterig, aan aluminiumhydroxyde geadsorbeerd allergeenextract bij pollinosis, veroorzaakt door het stuifmeel van gras, klinisch effectief is, hetgeen nog niet eerder was aangetoond. Voorts neemt tijdens hyposensibilisatie met een dergelijk extract zowel de directe als de late huidreactiviteit voor graspollenextract af: na twee jaar behandeling is de late huidreactiviteit geheel verdwenen. Dit kan erop wijzen, dat het grootste effect van hyposensibilisatie niet de directe, maar de late atopische reactie geldt. Voorts neemt tijdens hyposensibilisatie meestal de blokkerende activiteit (huidreactie-remmingstest) toe, alsmede is er een stijging van specifieke IgG<sub>1</sub>- en specifieke IgG<sub>4</sub>-antistoffen. De titer aan specifieke IgE-antistoffen daalt niet of weinig.

Een duidelijk verband tussen deze variabelen of de veranderingen daarin met het klinisch resultaat kan niet worden aangetoond, met uitzondering van de bevinding, dat na één jaar behandeling de titer aan blokkerende activiteit (huidreactie-remmingstest) gecorreleerd blijkt aan de score van de klachten en het medicamentegebruik van het voorafgaande hooikoortsseizoen. Tenslotte wordt de mogelijkheid geopperd, dat het verbeterend effect van hyposensibilisatie mogelijk (ook) kan samenhangen met een ver-



minderde vrijmaking van mediators uit basofiele leucocyten,  
respektievelijk mestcellen.



## SUMMARY

### HYPOSENSITIZATION IN POLLINOSIS, CAUSED BY GRASS POLLEN

Doubt about the usefulness of hyposensitization treatment in pollinosis motivated the investigations described in this thesis. This doubt concerned: the clinical effectiveness, the possible (immunological) changes brought about and their relation to the clinical amelioration and the place of hyposensitization in the treatment of hay fever patients. The aim of the investigations of this thesis was to record the course of some objective variables and of the symptom pattern in patients during treatment.

The concept of allergy and the classification of allergic reactions are described in chapter I.

In chapter II the clinical picture of hay fever, caused by grass pollen, and its pathogenesis, diagnosis and treatment are reviewed. Special attention is drawn to hyposensitization, particularly to changes in immunological variables and to the clinical evaluation of hyposensitization.

Chapter III is devoted to the description of the design of the reported investigations. The following aspects are discussed: the selection of patients, methods used as skin tests, skin-reaction-inhibition test (in order to determine the blocking activity of serum), serological assays (RAST/RIST), the histamine-release-test of leucocyte suspensions, the clinical evaluation and the practice of hyposensitization treatments. An outline of the statistics applied in the investigations of this thesis concludes this chapter.

The results of an investigation concerning the reproducibility of direct skin reactions to grass pollen extract, are reported in chapter IV. These reactions appeared to be only moderately reproducible. The relative reproducibility could however be improved by addition of numeric scores to a dilution series of the

test extract.

Results of the investigations on hyposensitization are described in chapter V. These are summarized below:

Investigation 379-12-1

During the first year of hyposensitization with aqueous grass pollen extract the direct skin reactivity to grass pollen extract was found to diminish. Specific IgE-titers decreased only slightly or not at all. The blocking activity of serum increased. After one year a correlation was found between the titers of blocking activity and the total dosages of injected pollen extract.

Investigation 379-12-3

After the first year of hyposensitization with aqueous grass pollen extract direct skin reactivity to grass pollen extract appeared to be diminished. During the second year this skin reactivity rose again, though not to the pre-treatment level. Specific IgE-titers were somewhat lower after one year, but returned to the pre-treatment level after two years. Total IgE-titers were higher after two years than before treatment and after one year.

Specific IgG<sub>1</sub>-titers rose during the first year and tended to decrease in the second year. Specific IgG<sub>4</sub>-titers rose during the first year, and remained unchanged during the second year. Blocking activity followed the same course as the specific IgG<sub>4</sub>-titers.

Investigation 379-12-5

In this investigation of one year's duration, treatment with aqueous alum precipitated grass pollen extract (depot-grass pollen extract) was compared with placebo treatment in a randomized double-blind study. After treatment for more than six months the total numeric addition of symptoms and of use of medicaments during the pollen season was about 40% lower in the

pollen-treated group than in the placebo group. Direct skin reactivity to grass pollen extract decreased in the pollen-treated group, but not in the placebo-group. In the pollen-treated group, specific IgE-titers remained fairly constant, but rose somewhat in the placebo-group.

Specific IgG<sub>1</sub>-antibodies rose in the pollen-treated group to a greater extent than in the placebo-group. Specific IgG<sub>4</sub>-titers increased in both groups of patients. The rise in the pollen-treated group was greater than in the placebo-group. Total IgE-titers remained unchanged in both groups.

During the clinical evaluation of the summer of 1975, specific IgE-titers rose in both groups, but were lower in the pollen-treated group. A rise in specific IgG<sub>4</sub>-antibodies in both groups was also found; in July specific IgG<sub>4</sub>-titers were higher in the pollen-treated group.

The blocking activity titer after one year appeared to be negatively correlated with the total score of complaints and medication during the previous grass pollen season.

#### Investigation 379-12-7

During this two years' study, in which patients were treated with aqueous alum precipitated grass pollen extract, a decrease of direct as well as late skin reactions to grass pollen extract was found.

After this two years' treatment late skin reactivity completely disappeared.

Specific IgE-titers diminished somewhat in the course of two years. Specific IgG<sub>1</sub>-antibodies rose during the first year and decreased to some degree during the second year. Specific IgG<sub>4</sub>-antibodies rose during this investigation.

Blocking activity of the sera increased significantly.

The cumulative dosage of injected pollen extract appeared to be correlated to this blocking activity after 1/2 and 1 year. After two years this activity was correlated with the decrease of direct skin reactivity to grass pollen extract.

Investigation 379-12-10

Again, during the one year of hyposensitization with aqueous alum precipitated grass pollen extract, a diminution of direct skin reactivity to grass pollen extract was present. Specific IgE-titers diminished somewhat and specific IgG<sub>1</sub>- and IgG<sub>4</sub>-antibodies rose greatly.

The reactivity of basophilic leucocytes, as measured by the histamine-release-test of leucocyte suspensions, did not change when leucocyte suspensions were stimulated with grass pollen extract, but was found to decrease when calcium-ionophore A 23187 was used as the stimulant.

In chapter VI the results of the investigations reported in chapters IV and V are discussed and compared with results from literature. The conclusion drawn from the investigations is that hyposensitization with aqueous alum precipitated grass pollen extract has clinical effectiveness. This had not been previously demonstrated. During treatment with such an extract, direct and late skin reactivity to grass pollen extract decreases: late skin reactivity becomes absent after two years of treatment. This could mean, that the greatest effect of hyposensitization is directed more towards the late atopic reaction than towards the direct reaction. Furthermore, the blocking activity of serum rises during treatment in most cases, and specific IgG<sub>1</sub>- and IgG<sub>4</sub>-titers do so as well. The specific IgE-titers decrease somewhat or not at all. A well-defined correlation of these variables or of changes of these variables with the clinical result of hyposensitization cannot be found, with one exception: after 1 year's treatment the blocking activity of serum, as determined by the skin reaction inhibition test, is correlated with the total numeric score of complaints and of use of medicaments during the past pollen season. Finally, the possibility was put forward, that for a greater or lesser part the clinical effectiveness of hyposensitization could be due to a diminished liberation of mediators from basophilic leucocytes or mast cells or both.

LITERATUURLIJST

AALBERSE, R.C.

"Immunoglobuline E, allergens and their interaction."  
Thesis. Amsterdam (1974)

AALBERSE, R.C., DIEGES; P.H., KNUL-BRETTLOVA, V. et al

"IgG<sub>4</sub> as a blocking antibody".

In: "Clinical Reviews in Allergy". Eds P.O.Weislogel en  
M.E.Gershwin.

Elsevier-North Holland Publ. Cy., Amsterdam. (in druk)

AAS, K. (ed.)

"Materials and methods in allergy".

Allergy 35; 165-261.

ASKINSON, N.F. en LICHTENSTEIN, L.M.

"Assessment of allergic states: IgE methodology and the  
measurement of allergen-specific IgG antibody".

In: "Clinical immunobiology". Vol.3. Eds F.H.Bach en  
R.A.Good.

Academic Press, New York (1976)

ADKINSON, N.F.

"Measurement of total serum immunoglobulin E and allergen-  
specific immunoglobulin E antibody".

In: "Manual of clinical immunology". 2nd ed. Eds N.R.Rose  
en H.Friedman.

Am.Soc. for Microbiology, Washington (1980)

ADKINSON, N.F.

"The radioallergosorbent test in 1981 - Limitations and  
refinement."

J.Allergy Clin.Immunol. 67; 87-89 (1981).

ALTOUNYAN, R.E.C.

"Changes in histamine and stropine responsiveness as a guide to diagnosis and evaluation of therapy in obstructive airway disease."

In: "Disodium cromoglycate in allergic airway diseases" Eds J.Pepys en A.W.Frankland.

Butterworths, London (1970)

ASSEM, A. van den

"Het dagelijks voorkomen van pollenkorrels in de lucht in verband met het optreden van pollinosis."

In: Aërobiologie. PUDOC, Wageningen (1972)

ARBESMAN, C.E., ROSE, N.R., KANTOR, S.Z. et al

"Immunologic studies of ragweed-sensitive patients.

I. Specificity and sensitivity of hemagglutination reactions."

J.Allergy 31; 317-332 (1960-1)

ARBESMAN, C.E., ROSE, N.R., KANTOR, S.Z.

"Immunologic studies of ragweed-sensitive patients.

II. Effect of specific hyposensitization therapy on hemagglutinating antibody titers."

J.Allergy 31; 333-341 (1960-2)

ARBESMAN, C.E., KANTOR, S.Z., RAPP, D. et al

"Immunologic studies of ragweed-sensitive patients.

III. Clinical aspects: the relationship of reagin and hemagglutinating antibody titers to results of hyposensitization therapy."

J.Allergy 31; 342-351 (1960-3)

BACAL, E., SUSZKO, I.M., LEVITZ, B.S. et al

"Polymerized whole ragweed: an improved method of immunotherapy."

J.Allergy Clin.Immunol. 62; 289-294 (1978)



- BAGNI, N., CHARPIN, H., DAVIES, R.R. et al  
"City spore concentrations in the European Economic Community (EEC). I. Grass pollen", 1973.  
Clin.Allergy 6; 61-68 (1976)
- BECKER, E.L.  
"Chemotaxis."  
J.Allergy Clin.Immunol. 66; 97-105 (1980)
- BELLANTI, J.A.  
"Immunology II"  
Saunders, Philadelphia (1978)
- Berg, T., JOHANSSON, S.G.O.  
"In vitro diagnosis of atopic allergy. IV. Seasonal variations of IgE antibodies in children allergic to pollens."  
Int.Arch.Allergy Appl.Immunol. 4: 452-462 (1971)
- BERNSTEIN, I.L.  
"Cromolyn sodium in the treatment of asthma: changing concepts"  
J.Allergy Clin.Immunol. 68; 247-253 (1981)
- BERRENS, L.  
"Inhalant allergens in human atopic diseases: their chemistry and modes of action"  
Ann. NY Ac.Sci. 221; 183-198 (1974)
- BOUSHEY, H.A., HOLTZMAN, M.J., SHELLER, J.R. et al  
"Bronchial hyperreactivity"  
Am.Rev.Resp.Dis. 121; 389-413 (1980)
- BOWMAN, W.C., RAND, M.J. (eds)  
Textbook of pharmacology, 2nd ed.  
Blackwell, Oxford (1980)
- BRUYNZEEL, P.L.B., BERG, W. van den, LEFERINK, J.G.  
"The bronchial tree and the beta-adrenergic system"  
Eur.J.Resp.Dis. 63, suppl.121; 64-71 (1982)

- CHARPIN, J., AUBERT, J., MALLEA, M. et al  
"Quelques données actuelles sur le rôle du pollen en al-  
lergie respiratoire"  
Rev.Franç Allergol. 18; 125-130 (1978)
- COCA, A.F., COOKE, R.A.  
"On the classification of the phenomena of hypersensi-  
tiveness"  
J.Immunol. 8; 163-182 (1923)
- COCKROFT, D.W., RUFFIN, R.E., DOLOVICH, J. et al  
"Allergen-induced increase in non-allergic bronchial  
reactivity"  
Clin.Allergy 7; 503-513 (1977)
- CONNELL, J.T.  
"Quantitative intranasal pollen challenges.  
I. Apparatus design and technique"  
J.Allergy 39; 358-367 (1967)
- CONNELL, J.T.  
"Quantitative intranasal pollen challenges II. Effect of  
daily pollen challenge, environmental pollen exposure, and  
placebo challenge on the nasal membrane"  
J.Allergy 41; 123-139 (1968-1)
- CONNELL, J.T.  
"Quantitative intranasal pollen challenges VI. The priming  
effect and its relationship to histopathologic changes in  
nasal biopsies" (abstract)  
J.Allergy 41; 101-102 (1968-2)
- CONNELL, J.T.  
"Quantitative intranasal pollen challenges III. The priming  
effect."  
J.Allergy 43; 33-44 (1969-1)

CONNELL, J.T. and SHERMAN, W.B.

"Changes in skin-sensitizing antibody titer after injections of aqueous pollen extract"

J.Allergy 43; 22-32 (1969-2)

CONNELL, J.T. and KLEIN, D.E.

"Protective effect of nasal sprays containing blocking antibody in hay fever"

J.Allergy 45; 115 (1970)

CONNELL, J.T.

"A novel method to assess antihistamine and decongestant efficacy"

Ann.Allergy 42; 278-285 (1979)

CONROY, M.C., ADKINSON, N.F., LICHTENSTEIN, L.M.

"Measurement of IgE on human basophils: relation to serum IgE and anti-IgE-induced histamine release"

J.Immunol. 118; 1317-1321 (1977)

COOKE, R.A. et al

"Serological evidence of immunity with coexisting sensitization in a type of human allergy (hay fever)"

J.Exp.Med. 62; 733-750 (1935)

COOKE, R.A.

"Allergy in theory and practice"

Saunders, Philadelphia (1947)

COOMBS, R.R.A, GELL, P.G.H.

"Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease"

In: Clinical aspects of immunology, 3rd ed. Eds P.G.H.Gell, R.R.A.Coombs, P.J.Lachmann.

Blackwell, Oxford (1975)

COUTINHO, R.A., JANSEN, J.T., BECKERS, H.T. et al

"Histamine-vergiftiging na het eten van makreel"

Ned.Tdschr.Geneesk. 123; 1519-1521 (1979)

DEUTSCHL, H.

"Immunoglobulines in nasal secretion with special reference to IgE.

III. Seasonal studies of timothy-specific IgE-antibody in patients with allergic rhinitis"

Int.Arch.Allergy Appl.Immunol. 52; 276-383 (1976)

DEVEY, M.E., WILSON, D.V., WHEELER, A.W.

"The IgG subclasses of antibodies to grass pollen allergens in hay fever patients during hyposensitization"

Clin.Allergy 6; 227-236 (1976)

DIEGES, P.H.

"A method for demonstration of blocking antibodies in desensitized hay fever patients"

Acta Allergol. 27; 179-185 (1972)

DIEGES, P.H.

"Clinical evaluation of desensitization therapy in hay fever"

Acta Oto-rhino-laryngol. Belg. 33; 522-527 (1979)

DIEGES, P.H. (onder mede-verantwoordelijkheid van de Redactie-commissie)

"Hyposensibilisatie bij pollinosis"

Geneesmiddelenbulletin 15; 39-42 (1981)

DOEGLAS, H.M.G., HUISMAN, J., NATER, J.P.

"Een geval van histamine-intoxicatie door het eten van kaas"

Ned.Tdschr.Geneesk. 111; 1526-1529 (1967)

EMPEY, D.W., LAITINEN, L.A., JACONS, L. et al

"Mechanisms of bronchial hyper-reactivity in normal subjects after upper respiratory tract injection"

Amer.Rev.Resp.Dis. 113; 131-139 (1976)

ERIKSON, N.E.

"Diagnosis of reaginic allergy with house dust, animal dander and pollen allergens in adult patients. III. Case histories and combinations of case histories, skin tests and the radio allergosorbent test, RAST, compared with provocation tests"

Int.Arch. Allergy Appl.Immunol. 53; 441-449 (1979)

EVANS, R., PENCE, H., KAPLAN, H. et al

"The effect of immunotherapy on humoral and cellular responses in ragweed hay fever"

J.Clin.Invest. 57; 1378-1385 (1976)

FELTKAMP-VROOM, Th.M., STALLMAN, P.J., AALBERSE, R.C.

"Immunofluorescence studies on renal tissue, tonsils, adenoids, nasal polyps, and skin of atopic and non-atopic patients with special reference to IgE"

Clin.Immunol.Immunopathol. 4; 392-404 (1976)

FISH, J.E. and KELLY, J.F.

"Measurements of responsiveness in bronchoprovocation testing"

J.Allergy Clin.Immunol. 64; 592-596 (1979)

FRANKLAND, A.W.

"High and low dosage pollenextract treatment in summer hay fever and asthma"

Acta Allergol. 9; 183-187 (1955)

FRANKLIN, W. and LOWELL, F.C.

"Comparison of two dosages of ragweed extract in the treatment of pollenosis"

JAMA 201; 95-97 (1967)

GEROVIC, P., KAPLAN, A.P.

"Contrast agents and anaphylactic-like reactions"

J.Allergy Clin.Immunol. 63; 225-227 (1979)

- GIESSEN, M. van der, HOMAN, W.L., KERNEBEEK, G. van, et al  
"Subclass typing of IgG antibodies formed by grass pollen  
allergic patients during immunotherapy"  
Int.Archs Allergy Appl.Immunol. 50; 625-640 (1976)
- GLEICH, G.J. and YUNGINGER, J.W.  
"Ragweed hay fever: treatment by local passive admini-  
stration of IgG antibody"  
Clinical Allergy 1; 79-87 (1975)
- GLEICH, G.J., YUNGINGER, J.W., STOBO, J.D.  
"Laboratory methods for studies of allergy: principles and  
interpretation" In: Middleton et al. (1978)
- GLEICH, G.J.  
"The late phase of the immunoglobulin E-mediated reaction:  
a link between anaphylaxis and common allergic disease?"  
J.Allergy Clin.Immunol. 70; 160-169 (1982)
- GOETZL, E.J.  
"Mediators of immediate hypersensitivity derived from  
arachidonic acid"  
New Eng.J.Med. 303; 822-825 (1980)
- GÖKEMEIJER, J.D.M.  
"Hyperreactiviteit van de luchtwegen"  
Thesis. Groningen (1976)
- GOODMAN, D.H. and HARRIS, J.  
"Allpyral: an appraisal"  
Ann.Allergy 35; 17-22 (1975)
- GRAAMANS, K.  
"Neus en luchtweg"  
Thesis. Amsterdam (1980)
- GROBLER, N.  
"Reactivity of the nasal mucosa"  
Thesis. Groningen (1966)

- GUPTA, S. en GOOD, R.A. Eds.  
 "Cellular, molecular and clinical aspects of allergic disorders"  
 Plenum, New York (1979)
- GWYNN, C.M., INGRAM, J., ALMOUSAWI, T. et al  
 "Bronchial provocation tests in atopic patients with allergen-specific IgG<sub>4</sub> antibodies"  
 Lancet I;254-256 (1982)
- HALPERN, B.N., JACOB, N., BINAGHI, R. et al  
 "Mise en évidence et dosage des anticorps allergiques par l'hémagglutination in vitro dans les syndromes allergiques humains et expérimentaux"  
 Rev.Franc.Allergie 1; 201-204 (1961)
- HARGREAVE, F.E., RYAN, G., THOMSON, N.C. et al  
 "Bronchial responsiveness to histamine or acetylcholine in asthma: measurement and clinical significance"  
 J.Allergy Clin.Immunol. 68; 347-355 (1981)
- HARNETT, J.C., SPECTOR, S.L., FARR, S.R.  
 "Aspirin idiosyncrasy"  
 In: Middleton et al (1978)
- HASTIE, R., HEROY, J.H., LEVY, D.A.  
 "Basophil leucocytes and mast cells in human nasal secretions and scrapings studied by light microscopy"  
 Lab.Invest. 40; 554-561 (1979)
- HENDERSON, L.L., LARSON, J.B., GLEICH, G.J.  
 "Maximal rise IgE antibody following ragweed pollination season"  
 J.Allergy Clin.Immunol. 55; 10-15 (1975)
- HO, P.C., LEWIS, R.A., AUSTEN, K.F. et al  
 "Mediators of immediate hypersensitivity"  
 In: Gupta et al (1979)

HOGG, J.C.

"Bronchial mucosal permeability and its relationship to airways hyperreactivity"

J.Allergy Clin.Immunol. 67; 421-425 (1981)

IRONS, J.S., PRUZANSKY, J.J., PATTERSON, R.

"Immunotherapy: mechanisms of action suggested by measurements of immunologic and cellular parameters"

J.Allergy Clin.Immunol. 56; 64-77 (1975)

ISHIZAKA, K., ISHIZAKA, T., MENZEL, A.E.O.

"Physicochemical properties of reaginic antibody. VI. Effect of heat on gamma-E, gamma G- and gamma-A antibodies in the sera of ragweed sensitive patients"

J.Immunol. 99; 610-618 (1967)

ISHIZAKA, K. en ISHIZAKA, T.

"Human reaginic antibodies and immunoglobuline E"

J.Allergy 42; 330-363 (1968)

ISHIZAKA, K. en ISHIZAKA, T.

"Mechanisms of reaginic hypersensitivity: a review"

Clin.Allergy 1; 9-12 (1971)

ISHIZAKA, K. en ISHIZAKA, T.

"Role of IgE and IgG antibodies in reaginic hypersensitivity in the respiratory tract"

In: Asthma. Physiology, immunopharmacology, and treatment.

K.F.Austen en L.M.Lichtenstein, eds.

Academic Press, New York (1973)

ISHIZAKA, K. en ISHIZAKA, T.

"Immunoglobulin E: biosynthesis and immunological mechanisms of IgE-mediated hypersensitivity"

In: Gupta et al (1979)

JOHANSSON, S.G.O. en FOUCARD, T.

"IgE in immunity and disease"

In: Middleton et al (1978)



JOHANSSON, S.G.O., DEUTSCHL, H., ZETTERSTRÖM, O.

"Use of glutaraldehyde-modified timothy grass pollen extract in nasal hyposensitization treatment of hay fever"  
Int.Arch.Allergy Appl.Immunol. 60; 447-460 (1979)

JOHNSTONE, D.E.

"Study of the role of antigen dosage in the treatment of pollenosis and pollen asthma"  
J.Dis.Childr. 94; 1-5 (1957)

JONGE, H. de

"Inleiding tot de medische statistiek"  
Ned.Instituut voor Preventieve Geneeskunde, Leiden (1963)

JORDE, W.

"Orale Desensibilisierung"  
In: Allergologie. Band II. Ed. G.Filipp  
Banachewsky, München (1980)

KALINER, M. moderator

"Autonomic nervous system abnormalities and allergy"  
Ann.Int.Med. 96; 349-357 (1982)

KAPLAN, A.P.

"Urticaria and angioedema"  
In: Middleton et al (1978)

KAY, A.B.

"The role of the eosinophil"  
J.Allergy Clin.Immunol. 64; 90-104 (1979)

KELLY, J.F., FISH, J.E., PETERMAN, V.L.

"Effect on environmental exposure on bronchial sensitivity to antigen"  
Int.Archs Allergy Appl.Immunol. 59; 130-134 (1979)

KOËTER, G.H., MEURS, H., KAUFFMAN, H.F. et al

"The role of the adrenergic system in allergy and bronchial hyperreactivity"  
Eur.J.Resp.Dis. 63, Suppl.121; 72-78 (1982)

LANDWEHR, J.

"Atlas van de Nederlandse grassen"

Thieme, Zutphen (1977)

LEE, R.E., SMOLENSKY, M.H., LEACH, C.S. et al

"Circadian rhythms in the cutaneous reactivity and selected antigens including phase relationship to urinary cortisol secretion"

Ann.Allergy 38; 231-236 (1977)

LEVY, D.A., LICHTENSTEIN, L.M., GOLDSTEIN, E.O. et al

"Immunologic and cellular changes accompanying the therapy of pollen allergy"

J.Clin.Invest. 50; 360-369 (1971)

LEWIS, R.A. en AUSTEN, K.F.

"Mediation of local homeostasis and inflammation by leucotrienes and other mast cell-dependent compounds"

Nature 293; 103-108 (1981)

LICHTENSTEIN, L.M. en OSLER, A.G.

"Studies on the mechanisms of hypersensitivity phenomena. IX. Histamine release from human leucocytes by ragweed pollen antigen"

J.Exp.Med. 120; 507-530 (1964)

LICHTENSTEIN, L.M., HOLTZMAN, N.A., BURNETT, L.S.

"A quantitative in vitro study of the chromatographic distribution and immunoglobulin characteristics of human blocking antibody"

J.Immunol. 101; 317-324 (1968)

LICHTENSTEIN, L.M., NORMAN, P.S., WINKENWEDER, W.L.

"Antibody response following immunotherapy in ragweed hay fever: Allpyral vs whole ragweed extract"

J.Allergy 41; 49-57 (1968)

LICHTENSTEIN, L.M., NORMAN, P.S., WINKENWEDER, W.L.

"A single year of immunotherapy for ragweed hay fever"

Ann.Int.Med. 75; 66-71 (1971)

- LICHTENSTEIN, L.M., ISHIZAKA, K., NORMAN, P.S. et al  
"IgE antibody measurements in ragweed hay fever"  
J.Clin.Invest. 52; 472-482 (1973)
- LICHTENSTEIN, L.M.  
"The mechanism of basophil histamine release induced by  
antigen and by the calcium ionophore A 23187"  
J.Immunol. 114; 1692-1699 (1975)
- LIER, L.A.J. van  
"Een vergelijkende studie over de rhinitis vasomotoria  
allergica en non-allergica"  
Thesis, Leiden (1960)
- LOOKEREN CAMPAGNE, J.G. van  
"De reactiepatronen na de huisstof-provocatietest bij  
kinderen met chronische aspecifieke respiratoire aan-  
doeningen (CARA)"  
Thesis, Groningen (1972)
- LOVELESS, M.H.  
"Immunological studies of pollinosis: I. The presence of  
two antibodies related to the same pollen-antigen in the  
serum of treated hay fever patients"  
J.Immunol. 38; 25-50 (1940)
- LØWENSTEIN, H.  
"Quantitative immunoelectrophoretic methods as a tool  
for the analysis and isolation of allergens"  
Progr.Allergy 25; 1-62 (1978)
- MALVEAUX, F.J., CONROY, M.C., ADKINSON, N.F. et al  
"IgE-receptors on human basophils"  
J.Clin.Invest. 62; 176-181 (1978)
- MARSH, D.G.  
"Allergens and the genetics of allergy"  
In: The antigens, Vol.III. Ed. M.Sela.  
Academic Press, New York (1975)

- MARSH, D.G., MEYERS, D.A., BIAS, W.B.  
"The epidemiology and genetics of atopic allergy"  
New Engl.J.Med. 305; 1551-1559 (1982)
- MAUNSELL, K.  
"Direct test for blocking antibody in treated hay fever"  
Lancet II; 199-201 (1946)
- MCCARTHY, D.S. en PEPYS, J.  
"Allergic broncho-pulmonary aspergillosis. Clinical  
Immunology: (2) Skin, nasal and bronchial tests"  
Clin.Allergy 1; 415-432 (1971)
- MCLEAN, J.A., MATHEWS, K.P., SOLOMON, W.T. et al  
"Effect of histamine and metacholine on nasal airway  
resistance in atopic and non-atopic subjects"  
J.Allergy Clin.Immunol. 59; 165-170 (1977)
- MERRETT, T.G.  
"The radioallergosorbent test (RAST)"  
Immunology today 2; 13-18 (1981)
- MIDDLETON, E., REED, C.E., ELLIS, E.F. (eds)  
"Allergy"  
Mosby, St.Louis (1978)
- MYGIND, N.  
"Nasal allergy" 2nd ed.  
Blackwell, Oxford (1979)
- MYGIND, N. en CLARK, T.J.H. (eds)  
"Topical Steroid Treatment for Asthma & Rhinitis"  
Baillièrre Tindall, London (1980)
- NEWBALL, H.H. en LICHTENSTEIN, L.M.  
"Mast cells and basophils: effector cells of inflammatory  
disorders in the lung"  
Thorax 36; 721-725 (1981)

NEIJENS, H.J.

"Bronchial responsiveness in children"  
Thesis. Rotterdam (1981)

NORMAN, P.S., RHYNE, M.B., MELLITS, E.D.

"The evaluation of agents for the treatment of seasonal  
respiratory allergies"  
In: International Encyclopedia of Pharmacology and  
Therapeutics. Vol.II, section 6, pp 639-652. Ed. L.Lasagne.  
Pergamon, Oxford (1966)

NORMAN, P.S., WINKENWEDER, W.L., LICHTENSTEIN, L.M.

"Trials of alumprecipitated pollen extracts in the treat-  
ment of hay fever"  
J.Allergy Clin.Immunol. 50; 31-44 (1972)

NORMAN, P.S., LICHTENSTEIN, L.M., ISHIZAKA, K.

"Diagnostic test in ragweed hay fever"  
J.Allergy 52; 210-224 (1973)

NORMAN, P.S., MARSH, D.G., ISHIZAKA, K. et al

"New immunologic methods of treatment in IgE mediated  
allergies"  
In: Allergy and clinical immunology. Eds E.Mathov, T.Sindo,  
P.Naranjo.  
Excerpta Medica, Amsterdam (1977)

NORMAN, P.S. en LICHTENSTEIN, L.M.

"The clinical and immunologic specificity of immunotherapy"  
J.Allergy Clin.Immunol. 61; 370-377 (1978-1)

NORMAN, P.S. en LICHTENSTEIN, L.M.

"Comparisons of alum-precipitated and unprecipitated  
aqueous ragweed pollen extracts in the treatment of  
hay fever"  
J.Allergy Clin.Immunol. 61; 384-389 (1978-2)

NORMAN, P.S.

"A review of immunotherapy"  
Allergy 33; 62-70 (1978-3)

NORMAN, P.S.

"Newer developments in immunotherapy for hay fever"  
Int.Archs Allergy Appl.Immun. 66 (suppl.); 43-47 (1981)

NORMAN, P.S.

"Immunotherapy"  
Progr.Allergy 32; 318-346 (1982)

OTTESEN, E.A. en COHEN, S.G.

"The eosinophil, eosinophilia, and eosinophil-related disorders"  
In: Middleton et al (1978)

PATTERSON, R., TENNENBAUM, J.I., PRUZANSKY, J.J.

"Canine antiragweed serum. Demonstration of 'blocking' activity by in vivo and in vitro techniques"  
J.Allergy 65; 138-146 (1965)

PATTERSON, R. (ed)

"Allergic diseases"  
Lippincott, Philadelphia (1972)

PATTERSON, R., SUSZKO, I.M., PRUZANSKY, J.J. et al

"Polymerization of mixtures of grass allergens"  
J.Allergy Clin.Immunol. 59; 314-319 (1977)

PATTERSON, R., LIEBERMAN, P., IRONS, J.S. et al

"Immunotherapy"  
In: Middleton et al (1978)

PATTERSON, R.

"Clinical efficacy of allergen immunotherapy"  
J.Allergy Clin.Immunol. 64; 155-158 (1979)

PEPYS, J., ROTH, A., CARROL, K.B.

"RAST, skin and nasal tests and the history in grass pollen allergy"  
Clin.Allergy 5; 431-442 (1975)

- PERELMUTTER, L., LEA, D.J., FREEDMAN, S.O. et al  
"Demonstration of precipitating antibodies in sera of rag-  
weed-allergic individuals by the agar gell technique"  
Int.Arch.Allergy 20; 355-367 (1962)
- PIRQUET, C. von  
"Allergie"  
Münch.Med.Wschr. 53; 1457-1458 (1906)
- PLATTS-MILLS, T.A.E., SNAJDR, M.J., ISHIZAKA, K. et al  
"Measurement of IgE-antibody by an antigen-binding assay:  
correlation with PK activity and IgE and IgA antibodies to  
allergens"  
J.Immunol. 120; 1201-1210 (1978-1)
- PLATTS-MILLS, T.A.E.  
"Studies on the half life of IgE antibody in skin and  
serum" (abstract)  
In: Proc. Third Blackley Symp., Nottingham (1978-2)
- PLATTS-MILLS, T.A.E.  
"Local production of IgG, IgA and IgE antibodies in  
grass pollen hay fever"  
J.Immunol. 122; 2218-2225 (1979)
- PLATTS-MILLS, T.A.E. en WILKINS, S.  
"The rationale for nasal desensitization"  
In: Advances in allergology and clinical immunology.  
Eds. A.Oehling, E.Mathov, I.Glazer, C.Arbesman.  
Pergamon, Oxford (1980)
- PLATTS-MILLS- T.A.E.  
"Diagnostic tests. Part IV: laboratory techniques in im-  
mediate hypersensitivity"  
In: Immunological and clinical aspects of allergy.  
Ed. M.H.Lessof  
MTP Press, Lancaster (1981)

- PLAUT, M. en LICHTENSTEIN, L.M.  
"Cellular and chemical basis of the allergic inflammation"  
In: Middleton et al (1978)
- REGAMEY, R.H., HENNESEN, W., PERKINS, F.F. (eds)  
"International WHO-IABS symposium on standardization and  
control of allergens administered to man".  
Karger, Basel (1975)
- RICHERSON, H.B., RAJTORA, D.W., PENICK, G.D. et al  
"Cutaneous and nasal allergic responses in ragweed hay  
fever: lack of clinical and histopathologic correlations  
with late phase reactions"  
J.Allergy Clin.Immunol. 64; 67-77 (1979)
- ROBERTSON, D.G., KERIGAN, A.T., HARGREAVE, F.E. et al  
"Late asthmatic responses induced by ragweed pollen  
allergen"  
J.Allergy Clin.Immunol. 54; 244-254 (1974)
- ROCKLIN, R.E., SHEFFER, A.L., GREINER, D.K. et al  
"Generation of antigen-specific suppressor cells during  
allergy desensitization"  
New Engl.J.Med. 302; 1213-1219 (1980)
- ROITT, I.  
"Essential Immunology" 3rd ed.  
Blackwell, Oxford (1977)
- ROSENTHAL, R.R., NORMAN, P.S., SUMMER, W.R.  
"Bronchoprovocation: effect on priming and desensiti-  
zation phenomenon in the lung"  
J.Allergy Clin.Immunol. 56; 338-346 (1975)
- ROSENTHAL, R.R.  
"The emerging role of bronchoprovocation"  
J.Allergy Clin.Immunol. 64; 564-568 (1979-1)



- ROSENTHAL, R.R., BLEECKER, E.R., LAUBE, B. et al  
"Effect on environmental antigen on cholinergic hyper-  
reactivity"  
Chest 75 (suppl.); 228-229 (1979-2)
- SADAN, N., RHYNE, M.B., MELLITS, E.D. et al  
"Immunotherapy of pollinosis in children"  
New Engl.J.Med. 280; 623-627 (1969)
- SAMUELSSON, B.  
"Leucotrienes: mediators of allergic reactions and in-  
flammation"  
Int.Archs Allergy Appl.Immun. 66 (suppl.I); 98-106 (1981)
- SEHON, A.H. en GYENES, L.  
"Antibodies in atopic patients and antibodies developed  
during treatment"  
In: Immunological diseases. 2nd ed. Ed. M.Samter.  
Little Brown, Boston (1971)
- SEHON, A.H.  
"Specific suppression of IgE antibodies"  
J.Allergy Clin.Immunol. 62; 257-260 (1978)
- SHERMAN, W.B.  
"Hypersensitivity"  
Saunders, Philadelphia (1968)
- SIMON-LICHT, I.F. en DIEGES, P.H.  
"A double blind clinical trial with cromoglycate eye-drops  
in patients with atopic conjunctivitis"  
Ann.Allergy 49; 220-224 (1982)
- SIRAGANIAN, R.P.  
"Histamine release and assay methods for the study of  
human allergy"  
In: Manual of clinical immunology. 2nd ed. Eds. N.R.Rose en  
H.Friedman  
American Society for Microbiology, Washington (1980)

SNIDER, D.E. en PARKER, C.W.

"Prostaglandins"

In: Middleton et al (1978)

SOBOTKA, A.K., VALENTINE, M.D., ISHIZAKA, K. et al

"Measurement of IgG-blocking antibodies: development and application of a radioimmunoassay"

J.Immunol. 117; 84-90 (1976)

SOLLEY, G.O., GLEICH, G.J., JORDAN, R.E. et al

"The late phase of the immediate wheal and flare skin reaction"

J.Clin.Invest. 58; 408-420 (1976)

SPECTOR, S. en FARR, R.

"Bronchial inhalation challenge with antigens"

J.Allergy Clin.Immunol. 64; 580-586 (1979)

SPIEKSMAN, F.Th.M.

"Daily hay fever forecast in the Netherlands"

Allergy 35; 593-603 (1980)

SPRECCACE, G.A., POMPER, S.G., SHERMAN, W.B. et al

"The effect of antigen injections on skin reactivity to antigens"

J.Allergy 38; 9-25. (1966)

STALLMAN, P.J.

"IgE on human basophils"

Thesis. Amsterdam (1977)

STANWORTH, D.R.

"Immediate hypersensitivity"

North Holland Publ. Cy, Amsterdam (1973)

SVENTIVANYI, A.

"The conformational flexibility of adrenoreceptors and the constitutional basis of atopy"

Triangle 18; 109-115 (1979)

SYLLABUS MEDISCHE STATISTIEK

Instituut Biostatistica E.U.R., Rotterdam (1975)

SYMINGTON, I.S., O'NEILL, D., KERR, J.W.

"Comparison of a glutaraldehyde-modified pollen-tyrosine adsorbate with an alum-precipitated pollen vaccine in the treatment of hay fever"

Clin.Allergy 7; 189-194 (1977)

TAYLOR, G.

"The nose as a model for the study of respiratory tract allergic disease"

Ann.NY Ac.Sci. 221; 117-123 (1973)

THOMAS, L.L. en LICHTENSTEIN, L.M.

"Laboratory diagnosis of immediate hypersensitivity disorders"

In: S.Gupta et al (1979)

TOORENENBERGEN, A.W. van

"The biological activity of immunoglobulin E"

Thesis. Amsterdam (1982)

TOWNLEY, R.G., BEWTRA, A.K., NAIR, N.M. et al

"Metacholine inhalation challenge studies"

J.Allergy Clin.Immunol. 64; 569-574 (1979)

TS'AO, C., PATTERSON, R., MCKENNA, I.M. et al

"Ultrastructural identification of mastcells obtained from human bronchial lumens"

J.Allergy Clin.Immunol. 59; 320-326 (1977)

VERSTRAETEN, J.M. en WHEELER, A.W.

"A comparative study of an aqueous grass pollen extract and glutaraldehyde-treated grass pollen-tyrosine adsorbate in the treatment of pollenosis"

Clin.Allergy 8; 435-443 (1978)

- VERVLOET, D. en CHARPIN, J.  
"Basophiles et mastocytes. Analogies et différences"  
Rev.Franç.Allergol. 20; 61-68 (1980-1)
- VERVLOET, D., KHAIRALLAH, E., ARNAUD, A. et al  
"A prospective national study of the safety of immuno-  
therapy"  
Clin.Allergy 10; 59-64 (1980-2)
- VOORHORST, R.  
"Basic facts of allergy"  
Stenfert Kroese, Leiden (1962)
- VOORHORST, R., SPIEKSMAN, F.Th.M., VAREKAMP, H.  
"House-dust atopy and the House-dust mite"  
Stafleu, Leiden (1969)
- VOORHORST, R.  
"Het atopie syndroom" 2e druk.  
Stafleu, Leiden (1971)
- VOORHORST, R. en HOOFT-VAN ASBECK, M.C.van der  
"Atopic skin test reevaluated. VIII. Decrease in skin  
sensitivity of hay fever patients due to desensitization"  
Ann.Allergy 44; 181-185 (1980)
- VRIES, K.de, BOOY-NOORD, H., LENDE, R.van der et al  
"Reactivity of the airways to exogenous stimuli"  
Progr.Resp.Dis. 6; 66-77 (1971)
- VRIES, K.de, KOËTER, G.H., GÖKEMEIJER, J.D.M.  
"Some aspects of the regulation of the bronchial tree  
in obstructive lung disease"  
Eur.J.Resp.Dis. 63, suppl.121; 60-63 (1982)
- WAKKERS-GARRITSEN, B.G., HOUWERZIJL, J., NATER, J.P. et al  
"IgE-mediated adverse reactivity to a radiographic  
contrast medium"  
Ann.Allergy 36; 122-126 (1975)

- WARNER, J.O., PRICE, H.F., SOOTHILL, J.F. et al  
"Controlled trial of hyposensitization to dermatophagoïdes pteronyssinus in children with asthma"  
Lancet II; 912-915 (1978)
- WASSERMAN, S.I.  
"The mast cell and the inflammatory response"  
In: The mast cell, its role in health and disease.  
Eds. J.Pepys and A.M.Edwards.  
Butterworths, Turnbridge Wells (1979-1)
- WASSERMAN, S.I. en CENTER, D.M.  
"The relevance of neutrophil chemotactic factors to allergic disease"  
J.Allergy Clin.Immunol. 64; 231-234 (1979-2)
- WELSH, P.W., YUNGINGER, J.W., TANI, D.G. et al  
"Topical ocular administration of cromolyn sodium for treatment in seasonal ragweed conjunctivitis"  
J.Allergy Clin.Immunol. 64; 209-215 (1979)
- WHO MEMORANDUM  
"Use and abuse of eight widely-used diagnostic procedures in clinical immunology"  
Bull.Wrld Hlth Organ. 59; 717-728 (1981)
- WILSON, A.F., NOVEY, H.S., BERKE, R.A. et al  
"Deposition of inhaled pollen and pollen extract in human airways"  
New Engl.J.Med. 228; 1056-1058 (1973)
- WISE, P.J., ROSENTHAL, R.R., KILLIAN, P. et al  
"A 'controlled' study of placebo treatment in hay fever"  
(abstract) J.Allergy Clin.Immunol. 63; 216-217 (1979)
- YANG, W.H., DORVAL, G., OSTERLAND, C.K. et al  
"Circulating immune complexes during immunotherapy"  
J.Allergy Clin.Immunol. 63; 300-307 (1979)

YUNGINGER, J.W. en GLEICH, G.J.

"Seasonal changes in IgE antibodies and their relationship  
to IgG antibodies during immunotherapy for hay fever"  
J.Clin.Invest. 52; 1268-1275 (1973)

ZEISS, C.R., METZGER, W.J., LEVITZ, D.

"Quantitative relationships between IgE antibody and  
blocking antibodies specific for antigen E in patients  
given immunotherapy with ragweed antigen E"  
Clin.Exp.Immunol. 28; 250-255 (1977)

BIJLAGEN

# DIEPHUIS LABORATORIUM

---

**DESENSIBILISATIEKUUR**

met

**GRASPOLLEN - EXTRACT**

(Dr. VOORHORST)

2 flacons à 6 ml

---



J. BEL  
R. G. DE LANGE      APOTHEKERS

MOESSTRAAT 30-34  
POSTBUS 1518

9701 BM GRONINGEN  
TEL. 050 - 71 78 48





Academisch Ziekenhuis Rotterdam-Dijkzigt  
 Polikliniek Allergologie  
 Hoofd: P.H. Dieges, allergoloog

379-12-5

NAAM:  
 NR:

HYPOSENSIBILISATIE MET DEPOT-GRASPOLLEN-EXTRACT DIEPHUIS

CODE

DE FLACONS VOOR HET GEBRUIK GOED SCHUDDEN

INJECTIES SUBCUTAAN IN DE BOVENARM GEVEN - NIET IN EEN BLOEDVAT SPUITEN

PATIENT STEEDS 20 MINUTEN NA DE INJECTIE LATEN WACHTEN

DOSERINGSSHEMA

1x per week	dosering	alternatieve	datum	reactie	
		dosering		locaal	algemeen
1e flacon 200 NE/ml	0,2 ml				
	0,5 ml				
	1,0 ml				
2e flacon 2.000 NE/ml	0,2 ml				
	0,5 ml				
	1,0 ml				
3e flacon 20.000 NE/ml	0,2 ml				
	0,4 ml				
	0,7 ml				
	1,0 ml				
1x per 2 weken					
flacon 20.000 NE/ml	1 ml				
	1 ml				
	1 ml				
	1 ml				
1x per maand tot 1 jaar na begin hyposensibilisatie; na 1 jaar 1x per 2 maanden					
flacon 20.000 NE/ml	1 ml				
	1 ml				
	1 ml				
	1 ml				
	1 ml				
	1 ml				
	1 ml				
	1 ml				
	1 ml				
	1 ml				
	1 ml				

DOSERING TIJDENS HET POLLENSEIZOEN

Bij veel hooikoortsklachten dosering niet verhogen (als maximum nog niet bereikt zou zijn) of zo nodig bij voorbeeld halveren. In dit geval na seizoen weer gaan stijgen in de frequentie van 1 x per 2 weken tot maximum is bereikt; hierna 1x per maand gedurende 2 maanden en tenslotte 1 x per 2 maanden.

In enkele gevallen bestaat de kans, dat de injecties tijdens het seizoen gestaakt moeten worden. Voor deze patiënten zal na het seizoen een nieuw schema op de Polikliniek moeten worden opgesteld.

COMPLICATIES

ZIE VOLGENDE BLADZIJDE

COMPLICATIES1) Locaal

Direct en/of na enige uren heftige zwelling op de injectieplaats.  
Therapie: géén, of natte omslagen; eventueel bij directe reactie een anti-histaminicum. Bij volgende injectie nogmaals voorafgaande dosering of ongeveer de helft daarvan en weer gaan stijgen.

2) Algemeen

Bijna meteen na injectie of soms na verloop van tijd (de patiënt dient geïnstrueerd te zijn in dat geval direct naar de arts terug te keren) urticaria of diffuus erytheem, Quincke's oedeem, astma bronchiale, tensiedaling en eventueel shock.

Speciaal kans op algemene reactie aanwezig bij patiënten, die niet "fit", dan wel vermoeid of verkouden zijn, soms bij vrouwen in de premenstruele periode; soms ook bij overschakeling op andere flacon van dezelfde sterkte. In dergelijke situaties dosering niet verhogen.

SNEL INGRIJPEN BIJ ALGEMENE REACTIE GEBODEN

Therapie:

- a) Patiënt neerleggen
- b) Meteen 0,3 - 0,5 ml adrenaline 1/1000 subcutaan rond injectieplaats en in aansluiting 2 ml=2 mg Tavegil (antihistaminicum) langzaam intraveneus; bij heftige kortademigheid tevens 1 ml=25 mg Multergan intramusculair, of 10 ml=250 mg aminofylline langzaam intraveneus onder polscontrole. Deze doseringen gelden voor volwassenen; voor kinderen dienen deze verminderd te worden.
- c) Adrenaline mag in één uur nog 2x herhaald worden; de andere medicamenten nog éénmaal. Intraveneus toegediende corticosteroiden hebben pas minimaal na 1 à 2 uur uitwerking.
- d) Bij eerstvolgende injectie dosering verminderen tot 1/4 of 1/5 van de laatste injectie en weer gaan stijgen. Patiënt voortaan een uur voor de injectie een antihistaminicum laten innemen, bij voorbeeld een capsule met 25-50 mg tripeleennamine en 5-20 mg efedrine (tegen slaperigheid).

N.B. Bij hyposensibilisatie behoort men steeds bij de hand te hebben:

- ampullen Adrenaline 1/1000 voor subcutane injectie,
- ampullen Tavegil (2 mg in 2 ml) voor intraveneuze injectie,
- ampullen Multergan (50 mg in 2 ml) voor intramusculaire injectie, of ampullen Aminofylline (250 mg in 10 ml) voor intraveneuze injectie.

Zo nodig kan steeds met de Polikliniek overleg worden gepleegd:

tel. (010) 362000 - toestel 2970

379-12-7 & -10

Afdeling Allergologie  
 Hoofd: P.H. Dieges, allergoloog

Naam:  
 Geboortedatum:

HYPOSENSIBILISATIE MET WATERIG, AAN ALUMINIUMHYDROXYDE GEADSORBEERD GRASPOLLENEXTRACT  
 (Diephuis)

DE FLACONS VOOR HET GEBRUIK GOED SCHUDDEN  
INJECTIES SUBCUTAAN IN DE BOVENARM GEVEN - NIET IN EEN BLOEDVAT SPIJTEN  
PATIËNT STEEDS 20 MINUTEN NA DE INJECTIE LATEN WACHTEN

DOSERINGSSHEMA		alternatieve	datum	reactie
1 x per week	dosering	dosering		locaal algemeen
flacon 20 NE/ml	0.1 ml			
	0.2 ml			
	0.4 ml			
	0.7 ml			
	1.0 ml			
flacon 200 NE/ml	0.1 ml			
	0.2 ml			
	0.4 ml			
	0.7 ml			
	1.0 ml			
flacon 2.000 NE/ml	0.1 ml			
	0.2 ml			
	0.4 ml			
	0.7 ml			
	1.0 ml			
flacon 20.000 NE/ml	0.1 ml			
	0.2 ml			
	0.4 ml			
	0.7 ml			
	1.0 ml			
1 x per 2 weken				
flacon 20.000 NE/ml	1 ml			
	1 ml			
	1 ml			
	1 ml			
voortaan steeds 1x per maand				
flacon 20.000 NE/ml	1 ml			
	1 ml			
	1 ml			
	1 ml			
	1 ml			
	1 ml			
	1 ml			
	1 ml			
	1 ml			
	1 ml			
	1 ml			
	1 ml			

Zie volgende  
 bladzijde

## DOSERING TIJDENS HET POLLENSEIZOEN

379-12-7 & -10

Bij veel hooikoortsklachten dosering niet verhogen (als maximum nog niet bereikt zou zijn) of zo nodig halveren. In dit laatste geval na seizoen weer gaan stijgen in frequentie van 1 x per 2 weken tot maximum is bereikt; hierna 1 x per maand. In enkele gevallen moeten de injecties tijdens het seizoen gestaakt worden. Voor deze patiënten zal na het seizoen een nieuw schema op de Polikliniek moeten worden opgesteld.

## COMPLICATIES

### 1. Locaal

Direct en/of na enige uren heftige zwelling op de injectieplaats.

Therapie: géén, of natte omslagen; eventueel bij directe reactie een antihistaminicum. Bij volgende injectie dosering niet verhogen of halveren; daarna weer stijgen met dosis.

Bij herhaalde plaatselijke reacties steeds een uur tevoren een antihistaminicum laten innemen.

### 2. Algemeen:

Bijna meteen na de injectie of pas na verloop van tijd urticaria of diffuus erytheem, angioedeem, asthma bronchiale, eventuele tensiedaling tot shock toe. De patiënt dient geïnstrueerd te zijn direct naar arts terug te keren bij een late algemene reactie.

Speciaal kans op algemene reactie bij patiënten die vermoeid, verkouden of niet fit zijn, soms bij overschakeling op flacon met zelfde sterkte. In dergelijke situaties dosering iets verlagen en daarna weer verhogen.

Tijdens acute infectieziekten als griep, bij koorts en na duidelijke astma-aanval injectie 1 week uitstellen en daarbij dosering iets verlagen (daarna weer verhogen).

Bij herhaalde algemene reacties steeds 1 uur tevoren een antihistaminicum laten innemen en/of 1 ventolin rotacap 200 of 400 mcg laten inhaleren.

## SNEL INGRIJPEN BIJ ALGEMENE REACTIES NOODZAKELIJK

Hoe eerder men ingrijpt, des te sneller reageert de patiënt op de toediening van onderstaande medicamenten. Deze medicamenten moeten in de behandelkamer gereed aanwezig zijn of snel voor gebruik gereed gemaakt kunnen worden. De behandeling bestaat uit:

1. Patiënt neerleggen.
2. Steeds 0,3 tot 0,5 ml adrenaline (1 mg/ml) subcutaan of bij tensiedaling intramusculair toedienen. Dit mag nog 2 x om de 15 minuten herhaald worden.
3. Steeds 2 ml = 2 mg Tavegil (= clemastine) langzaam intraveneus of intramusculair toedienen.
4. Bij bronchospasme  $\beta$ -sympathicomimeticum laten inhaleren (Ventolin of ander middel) of intraveneuze injectie van 240 mg aminofylline 10 ml, in 5 minuten, dus zeer langzaam, en onder polscontrole ingespoten.  
Voor bestrijding van late reacties intraveneuze of intramusculaire toediening van een corticosteroïd, bij voorbeeld 4 - 10 mg dexamethason, of 25 - 50 mg prednisolon-natriumsuccinaat.
5. In verreweg de meeste gevallen is bovenstaande medicatie, mits tijdig gegeven, afdoende. Zelden is ziekenhuisopname nodig.
6. Bij de volgende injectie de dosering van het allergeenextract verminderen tot 1/4 à 1/5 en daarna geleidelijk dosering verhogen.  
Voortaan steeds 1 uur tevoren een antihistaminicum laten innemen en/of 1 Ventolin rotacap 200 of 400 mcg laten inhaleren.

ZO NODIG KAN STEEDS MET DE AFDELING ALLERGOLOGIE OVERLEG WORDEN GEPLEEGD.

Telefoon 010 - 63.6170/63.4654.



## CURRICULUM VITAE

De schrijver van dit proefschrift werd op 9 mei 1935 te Hengelo (O) geboren. In 1953 werd het diploma Gymnasium-bèta aan het Stedelijk Gymnasium te Haarlem behaald. Studie in de geneeskunde volgde in Leiden. Van 1957 - 1959 student-assistent op de afdeling Allergologie (hoofd: Dr. R. Voorhorst) in het Academisch Ziekenhuis te Leiden. Vanaf 1960 voortzetting aan de Stichting Klinisch Hoger Onderwijs te Rotterdam, artsexamen in 1963.

Na militaire dienst vanaf 1965 aanvankelijk specialisatie in de Keel-, Neus- en Oorheelkunde en vanaf 1968 in de Allergologie.

### Opleidingsschema:

- 1965 : één jaar allergologie (Prof.Dr. R.Voorhorst, Leiden)
- 1966/1967 : twee jaar keel-, neus- en oorheelkunde (Prof.Dr. W.H.Struben, Rotterdam)
- 1968/1969 : twee jaar inwendige geneeskunde (Prof.Dr. W.H.Birkenhäger, Rotterdam)
- 1970 : één jaar allergologie (Prof.Dr. R.Voorhorst, Leiden)

Op 1 januari 1971 als allergoloog in het Specialistenregister ingeschreven. Vanaf 1 mei 1971 als wetenschappelijk hoofdmedewerker verbonden aan het Instituut Keel-, Neus- en Oorheelkunde (hoofd: achtereenvolgens Prof.Dr. W.H.Struben, Prof.Dr. E.H.Huizing, Prof.Dr. C.D.A.Verwoerd) van de Faculteit der Geneeskunde, Erasmus Universiteit Rotterdam; tevens als allergoloog verbonden aan het Academisch Ziekenhuis Rotterdam-Dijkzigt, binnen het kader van de afdeling Keel-, Neus- en Oorheelkunde (hoofd: Prof.Dr. W.H.Struben).

Vanaf september 1975 hoofd van de afdeling Allergologie van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam-Dijkzigt.

Vanaf 1977 opleider voor het specialisme Allergologie.

In 1981/1982 secretaris van de Nederlandse Vereniging voor Allergologie. Vanaf 1981 lid van de Specialisten Registratie Commissie voor de allergologie.

