

SAĞLIKLI VE RİNİT'Lİ HASTALARDA METAKOLİN PROVOKASYONU İLE NAZAL HİPERREAKTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ *

Rauf TAHAMİLER, Salih ÇANAKÇIOĞLU

Background and Design.- In the present study, metacholine power is investigated for the trigger of nasal hyperreactivity and achievement of healthy-ill selection at the 97 diseased and 20 healthy person. After provocation, there was no significant difference in NAR (nasal airway resistance) measurements between control and patient groups ($p>0.05$). There was a correlation between NAR measurement and score at the end of the provocation. There was no significant positive provocation level in any groups with metacholine provocation. Achievement of healthy-ill selection of the metacholine is inadequate because of that the increment of the NAR measurements was also seen at the healthy control group. Metacholine could not trigger a significant nasal reactivity increment.

Tahamiler R, Çanakçıoğlu S. Evaluation of the nasal hyperresponsiveness with metacholine provocation at the healthy and patients with rhinitis. Cerrahpaşa J Med 2005; 36: 20-25.

Rinit'li hastaların burun mukozası non-spesifik değişik uyarılara karşı çeşitli düzeylerde hiperreaktivite gösterdikleri bilinmektedir.¹⁻³ Bazen sadece anamnez ile tanı koymak zorunda kalınan rinitlerin tanısı için objektif bir yöntem yani nazal provokasyon testi kullanılabilir, böylece hastalığın teşhisi, şiddetli, prognozu ve yapılan tedavinin sonucunu takip ve inceleme olanağı doğar. Biz bu çalışmada metakolin nazal provokasyon testi ile sağlıklı ve rinit'li hastaları birbirinden ayırmaya ve metakolinin nazal hiperreaktivite oluşturabilme yeteneğini ölçtük.

YÖNTEM ve GEREÇLER

1994-1996 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Alerji Polikliniği'ne başvuran kişilerden anamnez, muayene bulguları, prick test ve nazal smear sonuçlarına göre toplam 117 kişi çalışmaya dahil edildi. 32 kişilik NARES (non-allergic rhinitis with eosinophilic syndrom) grubu (20 erkek, 12 kadın yaş aralığı 18-45, yaş ortalaması 22), 35 kişilik SAR (sürekli alerjik rinit) grubu (22 erkek, 13 kadın yaş aralığı 20-42, yaş ortalaması 26), 30 kişilik MAR (mevsimsel alerjik rinit) grubu (21 erkek, 9 kadın yaş aralığı 19-44, yaş ortala-

ması 25) ve 20 sağlıklı kişiden kontrol grubu (12 erkek, 8 kadın, yaş aralığı 18-40 yaş ortalaması 23) oluşturuldu.

HAL allergenen Laboratorium B.V. (Haarlem, HALAB B.V.B.A, Brüksel, Belçika) tarafından üretilen kontrol Solüsyonu ve 25 gram Acetyl-Beta-Methylcholin ch. içeren ve Sigma Chemical Co. tarafından üretilen toz standart metakolin (M) kullanıldı. 8, 16, 32 ve 64 mg/ml oranında toz metakolin distile su ile sulandırılarak hazırladığımız solüsyonlar provokasyon işlemi için kullanıldı. Provokatör ajanlar tüm testlerde her iki burun boşluğuna uygulanmıştır.

Aktif anterior rinomanometri (RMM) yapan, HOMOTH Medizinelektrotronik tarafından üretilen HOMOTH Rhino 2002 rinomanometri cihazı nazal airway resistance (NAR) ölçümü için kullanıldı. 150 paskal (Pa) noktası basınç eğrisinde sabit olarak alınmıştır. Elde edilen sağ ve sol ana burun boşluklarının dirençleri $R_{total} = R_{sol} \times R_{sağ} / (R_{sol} + R_{sağ})$ formülüne koyularak her iki burun boşluğunun total nazal hava akım direnci (total NAR) elde edilir. Kontrol solüsyonu sıkıldıktan sonra ölçülen direnç NAR 0, 8 mg/ml metakolin içeren solüsyon sıkıldıktan sonra ölçülen direnç NAR 1, 16 mg/ml metakolin içeren solüsyon sıkıldıktan sonra ölçülen direnç NAR 2, 32 mg/ml

* **Anahtar Kelimeler:** Rinit, metakolin nazal provokasyonu, nazal hiperreaktivite; **Key Words:** Rhinitis, nasal metacholine provocation, nasal hyperreactivity; **Alındığı Tarih:** 21 Mart 2005; Uzm. Dr. Rauf Tahamiler, Prof. Dr. Salih Çanakçıoğlu: İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, İstanbul; **Yazışma Adresi (Address):** Dr. Rauf Tahamiler, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Ana Bilim Dalı, 34098, Cerrahpaşa, İstanbul.

<http://www.ccf.istanbul.edu.tr/dergi/online/2005v36/s1/051a3.pdf>

metakolin içeren solüsyon sıkıldıktan sonra ölçülen direnç NAR 3 ve 64 mg/ml metakolin içeren solüsyon sıkıldıktan sonra ölçülen direnç NAR S olarak adlandırıldı. Her provokasyon seansında hasta testten 30 dakika önce provokasyon yapılacak odaya alındı. Tüm provokasyon testleri boyunca hastalar oturur pozisyonda tutuldu. Provokasyon testlerine başlamadan önce tüm hastalara rinoskopi anterior yapılarak sekresyonları varsa burun mukozasına dokunmadan aspire edildi. Non-spesifik provokasyon ajanı metakolin her 4 gruba artan dozda kontrol solüsyonu uygulandıktan 15 dakika sonra ve yine 15 dakikalık aralıklarla uygulandı. Her uygulamadan önce ve sonra Dokic ve ark. önerdiği nazal provokasyon değerlendirme şemasına göre oluşan reaksiyonlar ölçülerek puanlandı. 8 puan ve üzeri alanlar provoke olmuş kabul edildi.⁴ Provokasyonu sonlandırma kriteri olarak end-point titrasyon yöntemi kullanıldı.⁵⁻⁸ Grupların homojenizasyon değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis 1-Way Anova ve Mann-Whitney U testleri kullanılmıştır. NAR S değerleri arasındaki karşılaştırma Tukey-HSD testiyle yapılmıştır. NAR 0-NAR S arası karşılaştırma testleri Wilcoxon Matched-Pairs Signed-Ranks testiyle yapılmıştır. Sekresyon ve aksırık karşılaştırmaları Wilcoxon Matched-Pairs Signed-Ranks testiyle yapılmıştır. Çalışmamızda anlamlılık düzeyi 0.05 olarak alınmıştır.

BULGULAR

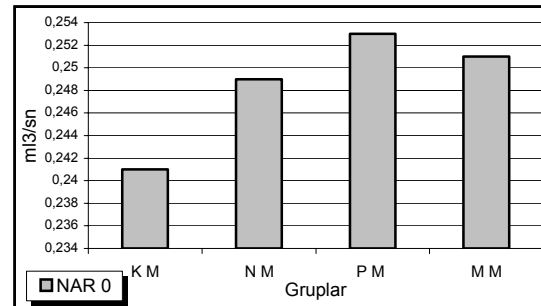
Kontrol solüsyonu sıkıldıktan sonra elde edilen NAR 0 değerleri arasında hiçbir çalışma

grubunda istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı ($\chi^2=15.457$, $p>0.05$). Başlangıç değerleri olan NAR 0'lar arasında fark olmaması çalışmanın homojen olduğunu göstermektedir. Grafik 1'de tüm çalışma gruplarında provokasyon öncesi ölçülen ortalama total NAR 0 değerleri gösterilmiştir.

Metakolin provokasyonunda tüm grupların NAR 0 ve NAR S değerleri arasında anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). NAR S değerleri arasındaysa hiçbir grupta anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo 1). Grafik 2'de aşamalara göre NAR değişimi gösterilmiştir.

Nazal provokasyon değerlendirme şemasına göre her hasta puanlanarak provokasyon sonunda total skoru elde edildi. Provokasyon sonunda elde edilen NAR S değeri ve bu skor arasında puanlama sistemimizin güvenilirliğini ölçmek amacıyla korelasyon olup olmadığı arandı. Tablo II'de tüm çalışma gruplarında NAR S ve skor arasındaki korelasyon düzeyi gösterilmiştir.

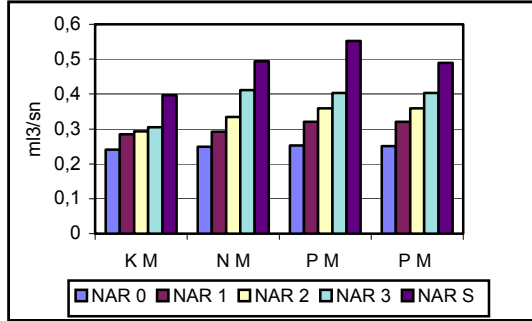
Grafik 1. Metakolin provokasyonu öncesi NAR değerleri



Tablo I. Metakolin provokasyonunda tüm grupların NAR 0 ve NAR S değerleri arasındaki fark

METAKOLİN	NAR 0	NAR S	Z	p
KONTROL	0.241±0.601	0.397±0.799	-3.289	<0.05
NARES	0.249±0.562	0.494±0.698	-3.521	<0.05
SAR	0.253±0.114	0.552±0.344	-3.517	<0.05
MAR	0.251±0.482	0.489±0.375	-3.521	<0.05
p	>0.05	>0.05		

Grafik 2. Metakolin provokasyonu süresince ölçülen 4 ayrı gruptaki total NAR değerleri

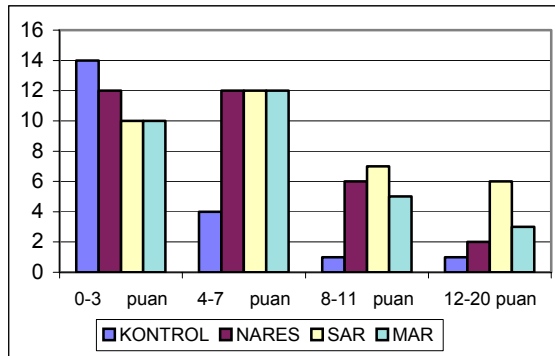


Tablo II. Ortalama NAR S ve ortalama skor arasındaki korelasyon

Grup	Ort. NAR S	Ort. Skor	p	r
K M	0.397	1.06	<0.05	0.68
N M	0.494	5.52	<0.05	0.85
S M	0.552	7.75	<0.05	0.77
M M	0.489	6.87	<0.05	0.73

Metakolin provokasyonu hiçbir grupta anlamlı pozitif provokasyon düzeyi oluşturmamıştır. Bu bulgu metakolin provokasyonu sonucu ölçülen NAR S değerlerini istatistiksel karşılaştırılmasıyla aynı doğrultudadır. Tüm gruplarda NAR 0 ve NAR S arası istatistiksel karşılaştırmaya göre bu iki değer arasında anlamlı fark çıkmaktadır. Provokasyon sonu total skor'lara bakıldığında kontrol grubunda metakolin provokasyonu sonucu kimsenin provoke olmadığını görmekteyiz. Grafik 3' de hastaların aldıkları puanlara göre gruplardaki dağılımı verilmiştir.

Grafik 3. Metakolin provokasyon sonu skor dağılımı



Tüm gruplarda metakolin provokasyonu sonucunda elde edilen ortalama sekresyon miktarları anlamlı düzeye ulaşamadı ve en çok 0.125 ml sekresyon mevsimsel grupta oluşabildi. Genel kabule göre 0.5 ml sekresyon oluşması hastanın provoke olduğunu göstergesidir.^{3,5-8} Kontrol grubunda hiç aksırık tespit edilmedi. Genel kaniya göre 5 ve üstü aksırık hastanın provoke olduğunu göstergesidir.⁵⁻⁷ Metakolin NARES grubunda yalnız bir kişide 5 ve üstü aksırığa yol açmıştır. Bu bulgulara göre aksırık semptomunu oluşturmada metakolin yetersiz kalmıştır. Provokasyon değerlendirme şemasında sekonder etkilerden ürtiker MAR grubunda metakolin provokasyonunu takiben 6 saat sonra 1 kişide ortaya çıktı. Göz semptomları ise kontrol ve NARES grubunda ortaya çıkmazken ve metakolin provokasyonunda 1'er kişide göz semptomları ortaya çıktı (Tablo III).

Tablo III. End point titrasyon yöntemine göre elde edilen sonuçlar (K M: Kontrol grubu, N M: NARES grubu, S M: SAR grubu, M M: MAR grubu)

Kişi	K M	N M	S M	M M
NAR %100 ↑	0	1	3	3
0.5 ml ve ↑ sek.	0	1	1	1
5 ve ↑ aks.	0	1	0	0
Üçü bir arada	0	0	0	0

TARTIŞMA

Rinit tanısının temelinde hastanın hikayesi yatmaktadır. Alerjik rinit tanısında bu esasın yanında cilt testleri ve antijene spesifik IgE tayininde önemli rol oynamaktadır.⁹ Özellikle sürekli alerjik rinit'te ev tozları kenelerinin devamlı bir şekilde ortamda bulunması anamnez ağırlıklı koyulan teşhise güvenilirliğin azalmasına neden olmaktadır.⁴ Non-alerjik rinitlerde ise anamnez dışında fizik muayene dahil kullanılacak güvenilir herhangi bir test yöntemi yoktur.³ Bu gerçekler ışığı altında hem alerjik, hem non-alerjik rinitlerde nazal reaktivite veya hiperreaktivite düzeyinin tespiti daha etkin bir teşhis yöntemi olacağı aşıkardır. Spesifik ve non-spesifik nazal provokasyon testleri nazal hiperreaktivite varlığı ve düzeyinin tespiti ayrı-

ca nazal hastalığın patofizyolojisinin açıklanmasında başvurulacak test yöntemidir. Rinit teşhisi yanı sıra alerjik rinitlerde hiposensitizasyonu sonlandırmada seçilecek yöntem nazal provokasyondur.^{9,10} Metakolin direkt olarak nazal guddelere etki ederek sekresyon yaratmaktadır.^{3,4} Beta adrenerjik ajanlar hücre içi cAMP düzeyini artırarak histamin salınışını inhibe ederler.¹¹ Alfa adrenerjik ajanlar ise hücre içi cGMP düzeyini artırarak histamin salınışını kolaylaştırır.¹² Biz çalışmamızda non-spesifik provokatör ajan olarak metakolin kullandık. En büyük sorun provokasyon sonucunu değerlendirmek için standart bir yöntem oluşturmaktır. Bazı araştırmacılar NAR ölçümlerini nazal provokasyon değerlendirmesinde esas almaktadırlar.^{13,14} Bazı otoriteler ise NAR sonucundan daha ziyade sekresyon ve aksırık değerlerinin kullanılmasını önermektedirler.¹⁵ Bir kısım araştırmacılar ise NAR değerleri yanı sıra sekresyon ve aksırık semptomlarının değerlendirilmesinden yanalar.^{5-7,16} Bazılarına göre ise bir skorlama sistemi oluşturularak geniş değerlendirme yapılmalıdır.¹⁷ Dokic ve ark. 1991'de önerdikleri skorlama sistemi ile NAR, sekresyon, aksırık ve ödemin yanı sıra nazal provokasyonun sekonder etkileri olan kaşıntı, göz semptomları, ürtiker, öksürük ve bronkospazmı puanlama sistemine dahil ederek geniş bir nazal provokasyon değerlendirme yöntemi geliştirmişlerdir.⁴

Metakolin nazal provokasyonlarında çeşitli otoriteler değişik provokasyon yöntemleri önermişler. Gerth Van Wijk ve arkadaşları metakolini^{8,16,32} ve 64 mg/ml dozlarında sulandırarak 15 dakika arayla kullandılar.⁵⁻⁸ Baroody ve ark. ise metakolin emdirilmiş kağıt diskleri nazal septumun 1/3 ön-orta bölümüne mukokütanoz bileşkenin hemen arkasına yerleştirerek artan dozda metakolin uygulayarak provokasyonu gerçekleştirdiler.¹⁸ Biz çalışmamızda Gerth Van Wijk' in önerdiği doz miktarı ve aralıklarını kullandık. Non-spesifik provokasyon protokolü olarak Gerth Van Wijk'in önerdiği protokolü, provokasyon sonuçlarını değerlendirmede ise end-point titrasyon yöntemi, Dokic ve ark. önerdiği provokasyon değerlendirme şemasını kullandık. Böylece en geniş hasta marjı, en geniş değerlendirme yöntemi ve

en çok kullanılan provokasyon materyal ve yöntemlerini kullanarak yapılan testleri olabildiğince standardize etmeye ve sonuçları güvenilir kılmaya çalıştık. Aktif anterior RMM Wihl ve ark. tarafından kullanıldı.^{9,19-21} Biz çalışmamızda aktif anterior RMM yöntemini kullandık. Bu yöntem iyi tolere edilebilmesi ve düşük seviyede hasta konsantrasyonu gerektirdiğinden dolayı seçildi. Biz çalışmamızda fenol içeren kontrol solüsyonu kullandık ve kontrol solüsyonu kullandıktan sonra ölçülen NAR 0 değerleri arasında hiçbir grupta anlamlı fark tespit etmedik ($p>0.05$) (Grafik 1). Bu da çalışmamızda uygulanan tüm testlerin başlangıç değerlerinin homojen olduğunu ve çıkan sonuçların güvenilirlik düzeyinin yüksek olduğunu göstermektedir. Metakolin provokasyonunda tüm gruplarda NAR 0 ve NAR S değerleri arasında anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$). Corrado ve Doyle alerjik ve non-alerjik hastalarla yaptıkları metakolin çalışmasında aynı doğrultuda bir sonuç bulmuşlardır.^{22,23} Tüm gruplarda NAR değerleri karşılaştırdıklarında kontrol grubu NAR S'yi ve hasta grupları NAR S değerleri arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$). Bu da metakolinin burun tıkanıklığına etkisi olmadığını göstermektedir. Borum, 1979'da yaptığı çalışmada metakolin provokasyonunu takiben 15. dakikada ölçtüğü NAR değeri arasında herhangi bir anlamlı fark olmadığını göstermiştir.³ Çalışmamızda metakolin provokasyonunda kontrol grubunda ikişer hastada sekresyon gelişmiştir. Gronborg'un sağlıklı şahıslarda yaptığı metakolin provokasyonunda sekresyon elde etmiştir.¹⁶ Çalışmamızda NARES, SAR ve MAR gruplarında metakolin provokasyonu sonucu gelişen sekresyonlar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$). 0.5 ml ve üzerinde sekresyon verenlerin sayısı oldukça azdır. Diğer araştırmacılar ise metakolin provokasyonlarında değişik sonuçlar elde etmişler. Gerth Van Wijk 1991'de non-alerjik rinit ve enfeksiyöz rinitli hastalarda yaptığı histamin ve metakolin nazal provokasyon sonucu oluşan sekresyonun kontrol grubunda elde edilen sekresyondan anlamlı fark göstermediğini ortaya koymuştur.⁷ Aynı araştırmacı 1987'de sürekli alerjik rinitli hastalarda histamin ve metakolin'in hastalarda kontrol grubuna göre an-

lamli fark gösteren sekresyon yarattığını göstermiştir.⁵ Saengpanich ve ark. alerjen provokasyonu ardından metakolin emdirilmiş disk ile yaptıkları nazal provokasyonda oluşan sekresyon miktarıyla kontrol grubundan ve başlangıçta elde edilen sekresyon miktarlarına nazaran anlamlı artış tespit ettiler.²⁴ Biz bu sonucu yapılan alerjen provokasyonun yarattığı nazal reaktivite artışına bağlıyoruz. Çalışmamızda metakolin oluşturdukları sekresyon açısından hasta ve sağlıklı kişileri birbirinden ayırma özelliğini gösterememişler, başka bir deyişle sekresyon açısından sağlıklı ve rinitli hastalar arasında anlamlı bir ayırım yapılamamıştır. Metakolin tüm gruplarda yalnız 1 kişide 5 ve üstü aksırık oluşturabildi. End-point titrasyon yönteminde provoke oldukları dozu belirleyen total NAR'da %100 artış 0.5 ml ve üzerinde sekresyon, 5 ve üzerinde aksırık ve Gerth Van Wijk' in önerisi olan bu üç olgunun bir arada değerlendirilmesi sonuçlarına göre metakolin alerjik rinit gruplarında bu üç öğeyi bir arada ortaya çıkaramamaktadır. Dokic ve arkadaşları tarafından önerilen provokasyon değerlendirme ve puanlama sistemine göre kontrol grubunda metakolin hiçbir hastayı provoke edememektedir. Kontrol grubunda hiçbir hastanın provoke olmamış olarak ortaya çıkması bu grupta metakolin provokasyonunda NAR 0 ile NAR S arasında anlamlı fark olması açısından çelişki yaratırken değerlendirme şemasının diğer semptomları açısından uygunluk göstermektedir. SAR ve MAR gruplarında metakolin provokasyonu sonucu birer kişide 0.5 ml üzerinde sekresyon oluşması ve hiç kimsede 5 ve üstünde aksırığın meydana gelmemesi gerçeğine dayanarak provokasyon değerlendirme şemasında provoke olmuş olarak görülen hastaların uyarılmış görülmelerinin nedeni total NAR artış olarak gösterilebilir ve bunu bu gruplarda NAR 0 ile NAR S arasında artışın anlamlı olması ile izah edebiliriz ($p<0.05$). Nazal provokasyon işlemlerimiz sürecinde herhangi bir yan etki tespit edilmedi. Gerth Van Wijk yaptığı karşılaştırmalı metakolin nazal provokasyonunda önemli bir yan etkinin gözlenmediğini bildirmiştir.⁵ Holopenen ve ark. da herhangi bir komplikasyona rastlamadıklarını bildirmişlerdir.²⁵

Sonuçta metakolin tüm gruplarda anlamlı Nazal Airway Resistance (NAR) artışına neden oldu ($p<0,05$). Metakolin provokasyonu diğer reaktivite bulgularını oluşturma ve ortaya çıkarmada etkili değildir ($p>0,05$). Alvarez-Puebla ve ark. metakolin ile yaptıkları provokasyonun en başarılı olduğu alanı bronşiyal hiperreaktiviteyi ortaya koyma çalışmaları olarak gösterdiler.²⁶ Metakolin sağlıklı ve rinit'li hastalarda anlamlı nazal reaktivite ve hiperreaktiviteye yol açmamaktadır ($p>0,05$). Sağlıklı ve rinit'li hastaları birbirinden ayırt etmede yetersiz kaldığından bu amaçla kullanımı tavsiye edilmemektedir.

ÖZET

Bu çalışmada 97 hasta ve 20 sağlıklı kişide metakolinin nazal hiperreaktiviteye yol açabilme ve sağlıklı-hasta ayırımı yapma bilme yetisi araştırıldı. Provokasyon sonrası kontrol ve hasta grupları arasında NAR (nasal airway resistance) değerleri anlamlı farklılık göstermedi ($p>0.05$). Provokasyon sonu NAR değeri ve skor arasında korelasyon bulundu. Metakolin provokasyonu hiçbir grupta anlamlı pozitif provokasyon düzeyi oluşturmadı. Metakolin NAR değerlerinde sağladığı artışı sağlıklı kontrol grubunda da oluşturduğu için hasta-sağlıklı ayırımı yapabilme gücü yetersiz kaldı. Metakolin anlamlı nazal reaktivite artışına yol açmadı.

KAYNAKLAR

1. Bienenstock J, Befus AD, Pearce F, et al. Mast cell heterogeneity: Derivation and function, with emphasis on the intestine. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 70: 407-10.
2. Bisgaard H, Olsson P, Bende M. Leukotriene D4 increases nasal blood flow in humans. *Prostaglandins* 1984; 27: 599-604.
3. Borum P. Nasal methacoline challenge. *J Allergy Clin Immunol* 1979; 63: 253-7.
4. Dokic D, Jovanovic SA, et al. Diagnosis of nasal allergy to the house dust mite. *Rhinology* 1991; 29: 117-123.
5. Gerth Van Wijk R, Dieges PH. Comparison of nasal responsiveness to histamine, methacholine and pentoamine in allergic rhinitis patients and controls. *Clin Allergy* 1987; 17: 563-570.

6. Gerth Van Wijk R, Mulder PGH, Dieges PH. Nasal provocation with histamine in allergic rhinitis patients: Clinical significance and reproducibility. *Clin Exp Allergy* 1989; 19: 293-298.
7. Gerth Van Wijk R, Dieges PH. Nasal hyper-responsiveness to histamine, methacholine and phenolamine in patients with perennial non-allergic rhinitis and in patients with infectious rhinitis. *Clin Otolaryngol* 1991; 16: 133-137.
8. Gerth Van Wijk R, Dieges PH. Nasal reactivity to histamine and methacholine: Two different forms of upper airway responsiveness. *Rhinology* 1994; 32: 119-122.
9. Wihl JA, Malm L. Rhinomanometry in routine allergen challenge. *Clin Otolaryngol* 1985; 10: 185-189.
10. Bousquet J, Calvayrac P, Gunerin B, et al. Immunotherapy with a Standardized Dermatophagoides pterinssinus extract. I. in vivo and in vitro parameters after a short course of treatment. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76: 734-744.
11. Mygind N. Mediators of nasal allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 70: 149-159.
12. Klainer M, Orange RP, Austen KF. Immunological release of histamine and slow reacting substance of anaphylaxis from human lung: IV. Enhancement by cholinergic and alpha adrenergic stimulation. *J Exp Med* 1972; 136: 556-567.
13. Britton MG, Empey DW, John GC, et al. Histamine challenge and nasal rhinometry. Their use in the assessment of pseudoephedrine-ephedrine and triprolidine as nasal decongestants in subject with hay fever. *Br J Clin Pharmacol* 1987; 6: 51-58.
14. Clement P, Stop AP, Kaufman L. Histamine threshold and nasal hyperreactivity in nonspecific allergic rhinopathy. *Rhinology* 1985; 23: 32-42.
15. Okuda M, Hipointen O, Sakaguchi K, et al. Nasal histamine sensitivity in allergic rhinitis. *Ann Allergy* 1983; 51: 51-55.
16. Gronborg H, Borum P, Mygind N. Histamine and methacholine do not increase nasal reactivity. *Clin Allergy* 1986; 16: 597-602.
17. Mygind N, Secher C, Kirkegaard J. Role of histamine and antihistamines in the nose. *Eur J Respir Dis* 1983; 64 (suppl 128): 16-20.
18. Baroody FM, Wagenmann M, Naclerio RM. Comparison of the secretory response of the nasal mucosa to methacholine and histamine. *J Appl Physiol* 1993; 74: 2661-2671.
19. Wihl JA, Mygind N. Studies on the allergen – challenged human nasal mucosa. *Acta orolaryngol (stockh)* 1977; 84: 281-6.
20. Wihl JA, Peterson BN, Peterson LN, et al. Effect of non-sedative H1- receptor antagonist in perennial allergic and non-allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 75: 270-7.
21. Wihl JA. Methods of assessing nasal reactivity. *Eur J Respir Dis* 1984; 64 (suppl 128): 175-9.
22. Corrado OJ, Gould CAL, Kassab JY, et al. Nasal response of rhinitic and non-rhinitic subjects to histamine and methacholine: A comparative study. *Thorax* 1986; 41: 863-868.
23. Doyle WJ, Boehems, Skoner DP. Physiologic responses to intranasal dose-response challenge with histamine, methacholine, bradykinin and prostaglandin in adult volunteers with and without nasal allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86: 924-935.
24. Saengpanich S, Assanasen P, de Tineo M, et al. Effects of intranasal Azelastin on the response to nasal allergen challenge. *Laryngoscope* 2002; 112: 47-52.
25. Holopainen E, Tarkianen E, Malmberg H. Nasal challenge. *Rhinology* 1976; 14: 181-188.
26. Alvarez-Puebla MJ, Garcia-Figueroa BE, Tabar-Purroy AI, et al. Discriminant analysis in allergic rhinitis and asthma: methacholine dose-response slope allows a good differentiation between mild asthma and rhinitis. *Respir Med* 2003; 97: 30-6.