

A. Olivé Pérez

CAP Besos, Barcelona.

Revisión

Provocaciones nasales: puesta al día

INTRODUCCIÓN

En el estudio de las rinitis, sean o no de carácter alérgico, la determinación de las resistencias y flujos nasales ofrece un interés particular. A su vez, el estudio de las modificaciones producidas por diferentes estímulos ofrece la posibilidad de hacer tanto un estudio dinámico como de obtener un procedimiento con interés diagnóstico.

Entre las diferentes técnicas de medida de las resistencias y los flujos destacan actualmente la rinomanometría anterior activa (AAR), la rinometría acústica (RMA) y los medidores de flujo inspiratorio forzado (NPIF). En un trabajo previo¹ hemos mostrado las ventajas e inconvenientes de los diversos métodos, mientras que en otro estudio² hemos visto que existe una buena correlación entre los resultados obtenidos utilizando el NPIF y la AAR.

Al estudiar las rinitis, debemos diferenciar dos grupos:

- (a) Rinitis de carácter no alérgico
- (b) Rinitis de carácter alérgico

En el caso de las primeras sólo cabe realizar estudios de hiperactividad inespecífica. Frente a las segundas cabe realizar provocaciones específicas.

Por provocación inespecífica debemos entender cualquier método capaz de estimular diversas estructuras nasales y producir diversos síntomas (obstrucción, rinorrea, etc) que podamos objetivizar. Desde el punto de vista patogénico es el resultado de la interacción entre el fármaco (sustancia química) y el receptor. En tales condiciones cabe construir curvas dosis-respuesta y, estudiando los posibles antagonismos, conocer las modificaciones de tales curvas³.

Los estudios de provocación específica son el resultado de estimular las estructuras nasales con los mediadores liberados como consecuencia de una reacción del tipo antígeno-anticuerpo. Las respuestas son bien inmediatas, las más frecuentes, en los primeros quince minutos y consecuencia de la desgranulación del mastocito con la liberación de histamina y triptasa (Fig. 1), o tardías, caracterizadas por el predominio obstructivo y la infiltración de eosinófilos (Fig. 2)⁴.

Para estudiar la reactividad nasal inespecífica realizamos pruebas que pretenden estimular la secreción nasal y, usando el método de Borum⁵ o el de Mygind⁶ (el mejor según nuestra opinión), conocer su volumen.

En las pruebas de provocación, sea específica o inespecífica es interesante no sólo evaluar la obstrucción nasal o la secreción sino también el conjunto de síntomas presentes usando un sistema de puntuaciones, como el de Bousquet y cols⁷. Ello es especialmente interesante en las pruebas de provocación específica, hasta el punto de que algunos autores es el único que emplean⁸.

Correspondencia:

A. Olivé Pérez
Madraza, 58 Enl 2^a.
08006 Barcelona

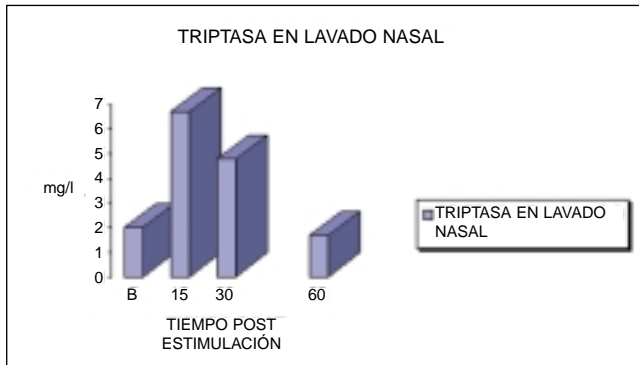


Fig. 1. Triptasa en el lavado nasal tras la provocación con extracto de *D. pteronyssinus*.

PRINCIPIOS GENERALES

Principios físicos

Cuando se estimula la mucosa nasal con histamina o con alérgenos – con la subsiguiente liberación de mediadores– se produce una vasodilatación de los senos vasculares de los cornetes con una disminución de la sección aérea nasal, lo que incrementa la resistencia al paso de la corriente aérea⁹. La consecuencia inmediata de ello es un incremento de las presiones diferenciales con el objeto de mantener los flujos¹⁰. Ello se realiza mediante el incremento de la presión en la rinofaringe hasta que, al progresar la obstrucción, ya no es posible mantener el incremento diferencial y se produce una reducción de los flujos: Tales variaciones se pueden estudiar con ayuda del rinomanómetro, que ofrece diferentes modelos de respuesta en función de: a) la intensidad del estímulo, b) la intensidad de la respuesta y c) el tiempo.

Principios instrumentales

Akerlind y cols.¹¹ realizaron una interesante revisión

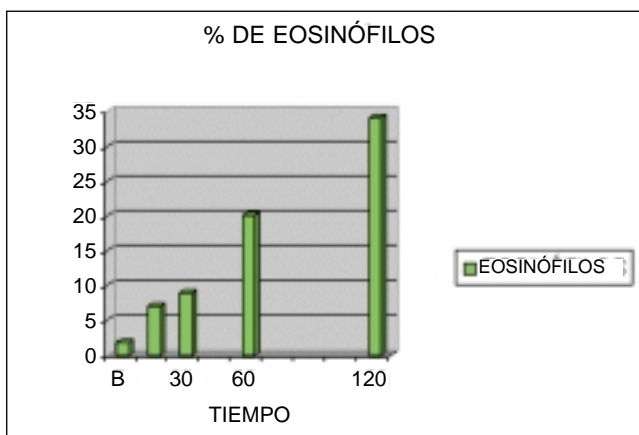


Fig. 2. Evolución de la infiltración de la mucosa nasal por eosinófilos.

sobre la provocación nasal y expusieron los diferentes sistemas para administrar el alérgeno: gotas¹², pipetas¹³ o discos de papel¹⁴. Coincidimos con ellos en que la distribución más homogénea se obtiene con el pulverizador, ya que la sustancia administrada se reparte de manera más homogénea y en un área mayor minimizando lo que sucede en la exposición natural.

Para medir los efectos se pueden usar diversos métodos (AAR, NPIF, RMA y otros) que permiten estudiar las variaciones del calibre de la vía nasal o bien sistemas de pesado del papel de filtro o de medida de la cantidad de secreción recogida con un embudo y un tubo graduado.

PROVOCACIONES NASALES INESPECÍFICAS

En función del agente usado en la provocación y del efecto buscado, debemos diferenciar: 1) la provocación con histamina, que busca el efecto obstructivo, el efecto secretos o ambos; 2) la provocación con fármacos colinérgicos, que busca el efecto secretor; y 3) la provocación con otros agentes (amoníaco, ácido cítrico, aire frío, etc) buscando ambos efectos. En nuestro estudio me limitaré a los dos primeros y comentaré muy brevemente el tercero.

Provocación con histamina

Bases fisiopatológicas

La estimulación con histamina aumenta la secreción nasal y dilata los vasos sinusoidales de los cornetes, con un edema de la mucosa y una disminución del calibre de la vía nasal.

Al administrar la histamina es sugestivo que dicha histamina exógena actúe con los receptores H₁, pese a que los estudios que realizamos en 1982³ mostraron que, usando agonistas H₁ o agonistas H₂ no se podía obtener una obstrucción nasal comparable como la obtenida con la histamina. El uso de un antagonista H₁ producía un desplazamiento de la curva dosis-respuesta hacia la derecha, lo que demuestra que se precisa un incremento significativo de la DE₅₀ de histamina. Dado que usando 4-metilhistamina se obtenía un incremento significativo de las resistencias nasales, se planteó la hipótesis de un posible efecto H₂. Recientemente Hirato y cols.¹⁵ buscaron la presencia de ARNm del receptor H₂ en la mucosa nasal y si su expresión aumentaba en los pacientes con rinitis. Lo encontraron expresado en las glándulas epiteliales y en la submucosa.

Otra opción interesante sería estimular los receptores sensitivos de irritación, descritos por Ishii¹⁶, de carácter adrenérgico o colinérgico o quizás peptidérgico. A favor de ello tenemos la inhibición significativa de la respuesta histamínica nasal mediante un tratamiento previo con lidocaína³ (Fig. 3). En esta línea destaca Baraniuk¹⁷ la posible participación de los receptores de irritación nasal, a través de los receptores muscarínicos, lo que indica la presencia de receptores M₃ en las glándulas epiteliales y en los vasos. El 40% de los receptores identificados era M₁, pero existen respuestas que no parecen mediadas por los M₁, los M₂ ni los M₃. A su vez, Anggard¹⁸ demostró que se libera VIP en las sinápsis colinérgicas, lo que incrementa la secreción glandular y provoca una vasodilatación¹⁹. Se han identificado otros neuropéptidos a nivel de las estructuras nasales cuya función es incierta. Tobin destacó la presencia de secretoneurina en los nervios adrenérgicos, colinérgicos y sensitivos²⁰, así como del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (*calcitonin gene related peptide*), etc. Es sugerente la participación de la vía neural, pues no es infrecuente la existencia de respuestas contralaterales que pueden bloquearse con atropina. En el estudio indicado, las respuestas estudiadas eran las de carácter secretor, pero usando AAR hemos encontrado respuestas contralaterales²¹ de obstrucción. Gerth van Wijk y cols.²² implican a la vía refleja, no sólo a nivel secretor, sino a nivel de otros síntomas, y señalan una elevación del umbral de respuesta refleja en las rinitis (lo que hemos llamado *hiperactividad nasal inespecífica* o RIN), en la que puede estar implicado el sistema α -adrenérgico. Tal *hiperactividad* se define como el trastorno clínico cuyos síntomas se deben a estímulos inespecíficos²³. Es precisamente este trastorno el que debemos estudiar con las provocaciones nasales inespecíficas. Usan-

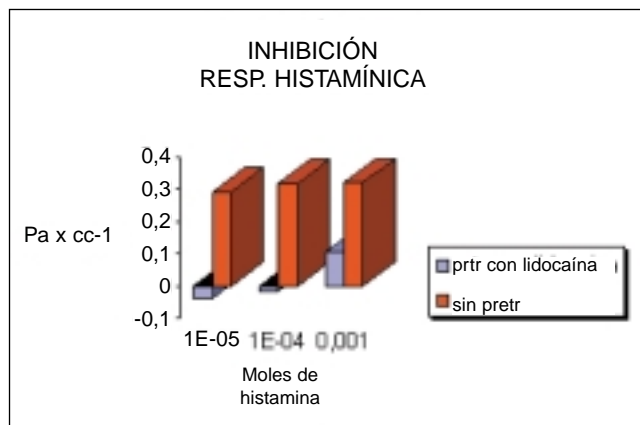


Fig. 3. Inhibición de la respuesta nasal frente a la histamina. Tratamiento previo con lidocaína.

do la prueba de histamina, estos autores encuentran una RIN en el 67,5% de los pacientes con rinitis vasomotora no alérgica. Si suponemos que las rinitis son expresión de esta RIN estimulada, por mecanismos alérgicos o por otros mecanismos, parece que la técnica es poco sensible pese a usar dosis de histamina de 1-5 mg/ml. Es importante considerar que los autores no realizaron un estudio de carácter acumulativo, lo que puede explicar la relativa insensibilidad de su técnica. En esta línea, Bousquet y cols.²⁴ indicaron que la RIN es consecuencia de la inflamación nasal y Doyle y cols.²⁵ no encontraron diferencias -salvo a nivel de la cantidad de secreción- entre las rinitis alérgicas y las no alérgicas al provocarles con diversas sustancias.

La vía clásica es la vía de los receptores H₁. Iryosi y cols.²⁶ encontraron un incremento de la expresión de ARNm de receptores H₁ en los sujetos con rinitis, mientras que Varty y cols.²⁷ hallaron concentraciones altas de ARNm del receptor H₁ en la mucosa nasal humana.

Los receptores H₁ implicados de manera clásica se definen como receptores acoplados a proteínas G (GPCR)²⁸. El receptor H₁ se codifica en el cromosoma 3p a diferencia de otros receptores H²⁹, y se considera que es un miembro de las proteínas Gq acopladas a GPT y ligadas a la fosfolipasa C (PLC). La estimulación de este receptor activa la proteína G α _q³⁰ y cataliza, a través de la PLC, la hidrólisis del inositol-fosfolípidos de membrana, e inicia una cascada que involucra la generación del inositol trifosfato (IP₃), la activación de la proteína cinasa C y la movilización del calcio³¹. En este contexto es interesante señalar que estudios recientes³² indican que existen dos formas de receptores H₁, la forma activa y la forma inactiva, y que entre ambas existe un equilibrio; pero con independencia del estímulo, los receptores poseen una actividad espontá-

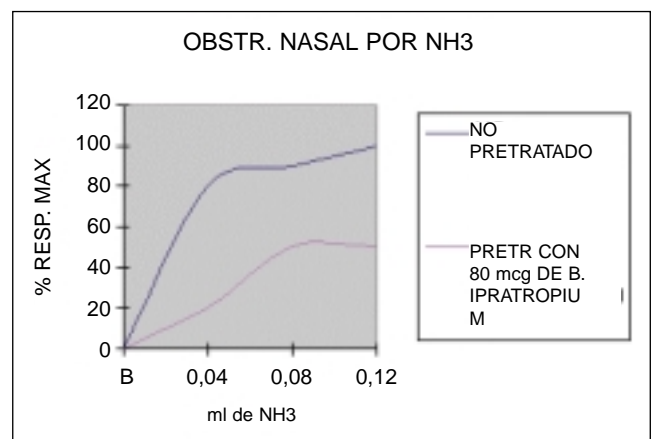


Fig. 4. Respuestas nasales provocadas por la inhalación de amoníaco.

nea, la *actividad constitutiva de los receptores*.

La histamina actuaría rompiendo dicho equilibrio desplazando hacia la forma activa. La importancia de tal desplazamiento —causado por diversas sustancias— depende de si se debe a un agonista completo o un agonista parcial.

Resumiendo lo anterior, la histamina es capaz de producir una vasodilatación lo que genera en primer lugar edema y congestión. Con todo, y dado que los antihistamínicos H₁ no bloquean este efecto, Church³³ sugiere la intervención de neuropéptidos para generar este efecto. Se ha indicado que existen diferencias entre sujetos sanos y enfermos. Hallen y cols.³⁴ mostraron mediante rinoestereometría que, a diferencia de los pacientes con rinitis, la congestión de la mucosa nasal es menor de 4 mm con dosis de histamina inferiores a 4 mg/ml y que cifras superiores exigen usar 16 mg/ml. El edema y la congestión aumentan el tamaño de los cornetes, lo que disminuye el calibre respiratorio nasal³⁵, que puede reducirse más del 30%. Ello genera un flujo turbulento que incrementa de forma exponencial las resistencias nasales y obliga a incrementar las presiones diferenciales para mantener el flujo aéreo hasta que, con la reducción del calibre de la vía respiratoria, las resistencias aumentan más allá de toda compensación posible, por lo que el flujo se reduce. La histamina produce además un incremento de la secreción nasal (Fig. 5) por un estímulo glandular o por un incremento del riego glandular. Y finalmente, la histamina produce por vía refleja prurito y un reflejo de estornudo.

Métodos

Como hemos indicado existen diferentes métodos de administrar la histamina. También hay diferencias en las pautas utilizadas.

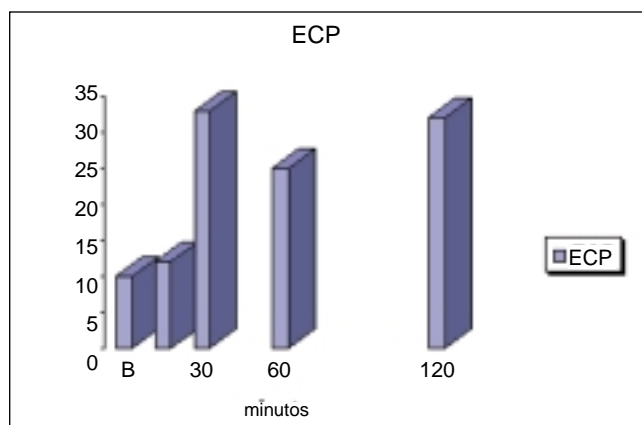


Fig. 5. Evolución de la ECP tras la provocación nasal con *D. pteronyssinus*.

Sin pretender ser exhaustivos, pasamos a indicar diversas pautas:

Grønborg y cols.³⁶ usaron histamina al 10% y dosis variables de 100, 200 y 400 mg. Gerth van Wijk y cols.²² usaron entre 0,25 y 4 mg/ml. Dyle y cols.²⁵ usaron entre 0,01 y 5 mg/ml (que son las dosis que actualmente usamos nosotros). Nacleiro y cols.²¹ usaron entre 0,4 y 1 mg/ml. Frente a ello, Graf uso entre 0,1 y 32 mg/ml administrando 0,14 ml³⁷. Plavec y cols.³⁸ usaron entre 0,3 y 32 mg/ml con dosis de 0,13 ± 0,01 ml. Nosotros, Granel y cols.³⁹ usábamos dosis entre 0,001 y 1 mg/ml con un volumen de 0,16 ml. En 1999 Kolbech y cols.⁴⁰ alcanzaron dosis de hasta 8 mg/ml. Zambetti y cols.²³ usaron dosis entre 1 y 4 mg administrando 0,1 ml. En la Tabla I se muestran las concentraciones que nosotros utilizamos actualmente.

Es interesante el estudio de Gerth van Wijk y cols.⁴¹ en el que estudiaron la reproducibilidad de la técnica. Para ello provocaron con histamina a 12 pacientes por duplicado con siete días de intervalo. La correlación hallada respecto a la cantidad de secreción por el sistema de Borum fue de $r = 0,87$ ($P < 0,001$), respecto al número de estornudos de $r = 0,76$ ($P = 0,004$) y respecto a las resistencias nasales (estudiando las resistencias totales con rinomanometría anterior pasiva) de $r = 0,71$; ($P = 0,01$); y la concentración necesaria para doblar las resistencias ofreció un valor de $r = 0,56$; ($P = 0,052$).

Resultados y evaluación

La mayoría de los autores está de acuerdo en que es una técnica útil para diferenciar las personas con rinitis de las personas sanas, por lo menos a nivel estadístico^{22,25-32}.

Togias y cols.⁴³ compararon un grupo normal, un grupo con rinitis perenne alérgica y otro con rinitis perenne no alérgica. Los pacientes con rinitis respondieron más que los sujetos normales, lo que hace pensar que esto sea una consecuencia de la inflamación mucosa.

En nuestro estudio de 1995³¹ se compararon las resis-

Tabla I. Concentraciones de histamina

Nº de la Dosis	Concentración
1	0,1 mg/ml
2	1
3	2
4	3
5	4
6	5

Dosis 0,2 ml

tencias nasales en 11 sujetos con rinitis alérgica y en 11 enfermos con rinitis no alérgica. No hallamos diferencias estadísticas entre ambos grupos respecto a la dosis precisa para obtener un incremento de las resistencias totales en un 100%, y las pendientes de las curvas dosis-respuesta no mostraban diferencias.

Vemos que es una técnica que permite discriminar entre pacientes con rinitis y sin ella, pero que no permite diferenciar entre la rinitis alérgica y la rinitis no alérgica.

A la hora de buscar aplicaciones, y fuera de su utilidad en el estudio de la función nasal o en los estudios farmacológicos, se puede usar en el estudio de la tos crónica nocturna sin componente bronquial para buscar la existencia de una insuficiencia respiratoria nasal que se manifieste con tal síntoma. En el estudio del diagnóstico diferencial de las rinorreas la prueba sirve para evidenciar la existencia de una rinitis.

Estudio de la vía colinérgica

Como en el apartado anterior expondremos la fisiopatología y posteriormente los métodos y los resultados.

Fisiopatología

A diferencia del anterior, el estudio de la vía colinérgica se hizo inicialmente con acetilcolina y posteriormente con metacolina -más resistente a la hidrólisis-; algunos autores han usado el carbacol⁴⁴, más estable que la metacolina. Todos ellos exploran la actividad muscarínica, si bien unos y otros tienen un cierto grado de actividad nicotínica. Respecto a los receptores implicados, interesa indicar que los receptores M₁ poseen un 40% de homología respecto a los H₁ con las posibles repercusiones que ello pueda implicar.

La secreción nasal acuosa es fruto del estímulo colinérgico por estímulo glandular. La secreción glandular se caracteriza por su riqueza en lactoferrina⁴⁵. Es consecuencia de la estimulación del fundus glandular y es un proceso activo con consumo energético, que exige un mayor aporte sanguíneo a costa de un proceso de vasodilatación⁴⁶.

El mediador colinérgico -la acetilcolina- puede actuar sobre receptores nicotínicos o, como en el caso que nos interesa, sobre receptores muscarínicos. De ellos se han identificado cinco subtipos. Mediante estudios autorradiográficos, Okayama y cols⁴⁷. mostraron la existencia en la mucosa nasal de receptores M₁, M₂ y M₃, e indicaron que los receptores muscarínicos M₁ podrían participar en la regulación de la secreción nasal así como el tono vascular.

La activación tanto de los receptores M₁ como de los receptores M₃ conduce a la hidrólisis del fosfoinositol de la membrana y a la liberación del Ca⁺⁺ intracelular a través de la activación de una proteína Gq que activa una PLC, con una activación adicional de la MAPK (proteína cinasa activada)⁴⁸. Recientemente Nayaka y cols.⁴⁹ encontraron todos los tipos de receptor M en la mucosa nasal, y el más extensamente distribuido fue M₃. Salvo M₄, los restantes abundan en las glándulas de la mucosa. Baraniuk¹⁷ describió la distribución de los receptores indicando que a nivel glandular son M₃. En 1999, en un estudio sobre los receptores colinérgicos oculares, Ríos y cols.⁵⁰ señalaron que la secreción es de carácter colinérgico, a través de los receptores M₁ y M₃, y con la intervención del VIP, a través del receptor VIPR2.

El estudio con antagonistas (agonista inversos) permite mostrar el papel de los receptores muscarínicos en la secreción nasal. Así Boorody y cols.⁵¹ demostraron que la atropina inhibía la respuesta secretora de la metacolina entre 30 y 90 minutos después de la estimulación. En el 2001, De Tineo y cols.⁵², usando gallamina que es un antagonista de los receptores muscarínicos M₂, no pudieron inhibir la respuesta secretora nasal, lo que hace pensar que es independiente de tales receptores.

De acuerdo con los datos de Baraniuk¹⁷ existen receptores M₁ en los vasos de capacitancia y en las arterias. Ello puede explicar nuestras observaciones³ así como los de Deviller y cols.⁵³ de que la metacolina incrementa las resistencias nasales y de que tal incremento se bloquea con anticolinérgicos antimuscarínicos.

Otro aspecto interesante es la capacidad de la nicotina de estimular la secreción, pero su efecto los antagonizan los anticolinérgicos antimuscarínicos⁵⁴, lo que indica una actividad ganglionar por la vía neurógena y por la activación local de los receptores muscarínicos.

De lo anterior cabe indicar que: a) la acetilcolina, la metacolina y el carbacol actúan sobre los receptores muscarínicos M₁ y M₃ y provocan un estímulo glandular, lo que incrementa la secreción nasal; b) los agonistas muscarínicos, a través de los receptores M₁, podrían incrementar las resistencias nasales; y c) parece que esto se produce por vía neurógena, con participación ganglionar a través del estímulo de los receptores muscarínicos. Es posible que sea el mecanismo de los agentes irritantes.

Métodos

El objetivo es medir la cantidad de secreción. Se puede realizar por el método descrito por Borum⁵: decan-

tación simple y recogida con un embudo dejando caer la secreción en un tubo de ensayo graduado; es el *método volumétrico*. O bien el sistema de Mygind⁶, que es el que nosotros hemos usado. Consiste en preparar piezas nasales de papel de Watman. Las piezas se pesan y a continuación se introducen en las fosas nasales. Tras retirarlas se vuelven a pesar. Las diferencias de peso corresponde al peso de secreción. Es el *método de la pesada doble*.

La administración de carbacol o metacolina se hace con el mismo método que usamos para administrar histamina.

Las dosis varían según los autores. Referido al carbacol, Botey y cols.⁴³ usaron 0,001, 0,01 y 0,4 mg/ml. Gerth van Wijk y cols.³² usaron entre 8 y 64 mg/ml de metacolina. Devillier y cols.⁵² utilizaron entre 3 y 12 μ mol. White⁴⁴ usó entre 1 y 25 mg. Vemos que existe un amplio abanico de dosis.

Evaluación de la prueba

El carbacol se usa para estudiar la obstrucción nasal, por su capacidad de liberar histamina⁴³, por ello nos remitimos a lo dicho sobre esta amina. Devillier y cols.⁵² usaron la rinomanometría posterior para estudiar las resistencias nasales inducidas por la metacolina. Encontraron un mayor incremento de las resistencias en los afectados por rinitis que en los controles. White⁴⁴ usó las concentraciones de lactoferrina en la secreción y consideró que las dosis de metacolina necesaria para obtener los valores máximos de lactoferrina eran inferiores en los atópicos y también la cantidad de secreción obtenida.

Dado que la provocación con sustancias colinérgicas busca estudiar la hiperactividad nasal, su aplicación clínica es similar a la descrita con la histamina.

Estudio de los receptores de irritación

Los receptores sensitivos de irritación siguen las vías colinérgica y posiblemente la adrenérgica. Los estudios se han realizado con amoníaco⁴⁵. En nuestro estudio se analizó la secreción nasal usando el método de la pesada doble y observamos que el tratamiento previo con bromuro de ipratropio producía una inhibición significativa, lo mismo que el tratamiento previo con cromoglicato. Tales reducciones no son por antagonismo competitivo (Fig. 4). Realizamos también provocaciones con agua helada, sin obtener variaciones significativas⁴⁵. También hemos realizado provocaciones con diferentes diluciones de ácido cítrico.

Otra línea de estudio es provocar con diluyentes antes de realizar las provocaciones. Ramírez y cols.⁵⁵ utiliza-

ron el diluyente de los alérgenos con una técnica similar a la usada con la histamina⁵⁶ y demostraron incrementos de las resistencias iguales o superiores a un 25% de los valores nasales, lo que traduce la existencia de una hiperreactividad nasal.

Otra vía de estudio es con aire frío y seco⁵⁷. Con este estímulo se incrementan las puntuaciones de síntomas y se liberan mediadores. En estudios posteriores⁴² se señaló la implicación de la vía colinérgica. La aplicación de atropina reduce la secreción en un 70%⁵⁸.

Finalmente, Krayenbuhl y cols.⁵⁹ demostraron que los sujetos con rinitis alérgica presentaban reducciones del NPIF al provocarles con soluciones hipermolares. El mecanismo de acción es desconocido.

PROVOCACIONES NAsALES ESPECÍFICAS

Esta técnica tiene como objeto reproducir en el laboratorio lo que sucede en la exposición natural. La inhalación controlada de un extracto antigénico intenta reproducir los sucesos que tienen lugar en la vida cotidiana. En caso de que la prueba sea positiva, se origina una inflamación nasal que se manifiesta con el cortejo sintomático característico de estornudos en salva, rinorrea acuosa, prurito y obstrucción. Con un sistema de puntuaciones normalizado o con métodos de detección de la obstrucción nasal, podemos seguir su evolución y evaluar la intensidad de las respuestas.

Debemos diferenciar una *respuesta inmediata*, que se inicia en los primeros minutos del contacto antigénico y se caracteriza por la participación de los mediadores mastocitarios, y una segunda fase o *respuesta tardía*, que parece independiente del mastocito y debida sobre todo al eosinófilo.

Fisiopatología de la respuesta inmediata

Tras la estimulación con el alérgeno se activan los mastocitos. La participación mastocitaria se evidencia por la presencia de triptasa en el lavado nasal (Fig. 2), junto a los incrementos de la histamina⁶⁰; ambas aumentan de forma dosis-dependiente y ese incremento se produce en los primeros 10–15 minutos para declinar después, lo que sucede en la exposición natural⁶¹.

La reacción entre el alérgeno y la IgE situada en los receptores de afinidad alta (FcERI) del mastocito libera mediadores preformados y se estimula el metabolismo del ácido araquidónico hacia la vía de la COX 1 y de la lipooxigenasa, que conduce a la aparición de los LT cisteinili-

cos (Cys leucotrienos). La obstrucción nasal, así como los estornudos, la rinorrea y el prurito resultantes, parecen ligarse a la histamina, tal como ya se ha señalado antes. El estudio de la secuencia reactiva muestra que las salvas de estornudos y la rinorrea son precoces y corresponden al período de presencia de la histamina en el lavado nasal⁶². Los Cys LT podrían estar implicados en la génesis de la obstrucción nasal.

La rinitis alérgica (RA) es una inflamación de la mucosa nasal inducida por diversas sustancias a través de la IgE y con la participación de diversas interleucinas (IL4, IL5 e IL13). La consecuencia inmediata es la desgranulación del mastocito, la liberación de mediadores, la quimiotaxis celular y la llegada de eosinófilos, que se activan y liberan diferentes proteínas activas.

En esta inflamación ya conocemos la participación de la histamina. La PGD₂²⁵ incrementa la permeabilidad vascular y aumenta la secreción glandular, mientras que el PAF tiene efectos vasoactivos⁶³ y potencia la acción de la histamina.

Es interesante conocer los mediadores implicados en las respuestas inmediata y en tardía. En la primera se conoce la participación de la histamina y probablemente el del PAF como potenciador de la anterior.

El uso de agonistas inversos de la histamina inhibe la respuesta secretora y la rinorrea con un efecto escaso o nulo sobre la obstrucción nasal, lo que hace pensar que este síntoma se relaciona con los CLT, que actuarían sobre las estructuras vasculares de la mucosa y preferentemente sobre los plexos eréctiles de los cornetes, lo que provocaría la obstrucción nasal.

Siguiendo a Buse⁶⁴, para implicar a los leucotrienos se deben cumplir varios criterios, como:

- 1) Los CLT deben hallarse en lavados nasales.
- 2) La administración de CLT exógenos debe simular su efecto.
- 3) En la mucosa nasal debe haber receptores de los CLT.
- 4) El uso de inhibidores de su síntesis o de antagonistas inversos ha de disminuir su efecto.

Resultados de los lavados nasales

Pipikorn y cols.⁶⁵ detectaron LTC4 y LTD4 a los 10 minutos de la provocación que persistieron varias horas. Wang y cols.⁶⁶ detectaron LTC4 a los 5 minutos de la provocación nasal. Creticos y cols.⁶⁷ estudiaron un grupo de sujetos con rinitis y a los 10 minutos de la provocación detectaron elevaciones significativas de los leucotrienos.

Resultados del uso de leucotrienos exógenos

La provocación con LTD4 incrementa las resistencias nasales y el flujo sanguíneo. Su potencia es 5.000 veces superior a la de la histamina⁶⁸.

Estudio de los receptores de los leucotrienos

Se conocen dos receptores de los leucotrienos: Cys LT1 y Cys LT2. La potencia de los agonistas varía según el receptor⁶⁹:

Cys LT1 : LTD4 > LTC4 > LTE4

Cys LT2 : LTD4 = LTC4 >> LTE4⁷⁰

Es posible que existan subtipos de tales receptores, así como otros receptores no identificados⁷¹. La presentación de los Cys LT está regulada por la IL-4. Se ha hallado ARNm del receptor de los Cys-LT en toda la mucosa nasal y Cys LT en los eosinófilos, los mastocitos, los macrófagos, los neutrófilos y el endotelio vascular⁷². Mediante hibridación *in situ* se demuestran concentraciones altas de Cys LT en los vasos sanguíneos y en las glándulas de las submucosa.

La estimulación de Cys LT1 estimula el flujo de Ca⁺⁺ intracelular mientras que la actividad de Cys LT2 se liga a la activación de MAPK⁵⁹.

Uso de antagonistas de los leucotrienos

En un estudio diseñado para conocer la capacidad de antagonizar los receptores de los leucotrienos, Flowers y cols.⁷³ usaron L649,923 que no inhibió la respuesta inmediata nasal en una provocación nasal con pólenes. Howard pensó que ello era consecuencia de la ineficacia del compuesto⁷⁴. También es interesante conocer⁶⁸ que la actividad vascular en la mucosa nasal generada por la activación de los Cys LT no se antagoniza con antagonistas de CysLT1 y se señala la posible actividad de los CysLT2, frente a los cuales no hay antagonistas.

Llanes y cols. compararon el montelukast y la fluticasona⁷⁵. La fluticasona era más eficaz en la fase tardía, pero el montelukast mejoró las puntuaciones de síntomas, lo que es un dato interesante. En los estudios expuestos por Nathan, el montelukast era menos eficaz que los corticoides nasales en relación a la inflamación nasal⁷⁶. Nathan⁷⁷ analizó la literatura aparecida en *Medline* y concluyó que los fármacos antileucotriénicos son superiores al placebo en el tratamiento de las rinitis, pero inferiores a los antihistamínicos y a los corticoides inhalados. Parnes⁷⁸ mostró que el montelukast era superior al placebo evitando las recidivas de los pólipos nasosinusales. Con todo, al ser su acción superior a la del placebo, demuestran la

existencia de receptores de los leucotrienos en la mucosa nasal y en justificar su actividad en ella.

Durante esta fase inmediata se produce una vasodilatación, tal como se ha expuesto al analizar las acciones de los mediadores, una extravasación de plasma y un edema, con una reducción de la sección aérea nasal. Otro fenómeno importante es la activación de *las células epiteliales*, que expresan moléculas de adhesión⁷⁹. Junto a todo ello hemos de recordar la participación de los neuropéptidos, que ya hemos revisado en otras ocasiones⁸⁰, y la liberación de los factores quimiotácticos que atraen diversas células al foco para su posterior activación.

Fisiopatología de las respuestas tardías

Unas tres horas después del contacto de la mucosa con el alérgeno se inicia la fase tardía. La falta de triptasa en el lavado nasal indica que el mastocito no participa. Esta reacción no es constante. Dvoracek y cols.⁸¹ estimaron que sucede en un 50% de los pacientes provocados con polen.

La fase tardía se caracteriza por el incremento de células CD4⁺, eosinófilos y basófilos. Los eosinófilos producen LTC₄ que produce obstrucción nasal. También interesan las proteínas derivadas del eosinófilo, como MBP y ECP, que lesionan el epitelio⁸².

Wang y cols.⁸³ realizaron un interesante estudio en 18 pacientes alérgicos al polen de las gramíneas. En sus enfermos se incrementaron las resistencias nasales a las tres horas de la provocación (y antes, en los primeros quince minutos), que se mantuvieron elevadas hasta las 10 horas. Desde los 15 minutos empiezan a elevarse los eosinófilos, como nosotros hemos podido constatar (ver Fig. 2), y se mantienen elevados hasta la hora 56. Es interesante que la máxima infiltración eosinofílica se alcance a las 2 horas.

Pastorello y cols.⁸⁴ estudiaron los diferentes sistemas celulares implicados en la respuesta tardía en 15 pacientes con rinitis alérgica al polen de las gramíneas. En su trabajo el estudio se realizó a los 5 minutos, las 8 horas y a las 24 horas y se comparó con los datos de 6 pacientes no alérgicos. Las resistencias se incrementaron más de cinco veces respecto a los valores basales. A las 8 y 24 horas hubo un incremento de los basófilos, y también de los neutrófilos y los eosinófilos. La obstrucción nasal se correlacionó con los recuentos celulares a las 8 horas, pero sólo los neutrófilos y los eosinófilos se correlacionan con la obstrucción a las 24 horas.

Los cúmulos de eosinófilos originan incrementos de la ECP, como se muestra en la Fig. 4, así como de la mielope-

roxidasa derivada de los neutrófilos⁸⁵. A su vez, la ECP parece ligarse a la activación de las moléculas de adhesión⁸⁶.

Esta fase tardía parece estar íntimamente relacionada con la presencia de IL-4 e IL-5. Mediante estudios de hibridación se ha demostrado la expresión de ARNm de IL-4 y de IL-5 durante la fase tardía⁸⁷, lo que hace pensar en la participación de los linfocitos del tipo Th2.

Métodos

No existe unanimidad en cuanto a los métodos. Hay quién usa métodos *exclusivamente* instrumentales o quién sólo usa la cuantificación de síntomas, entre otras variaciones. Como ya hemos indicado, la forma de aplicar el alérgeno es muy variada y todavía más las dosis, los sistemas de estandarización de los extractos y otras características.

Tradicionalmente hemos usado la técnica descrita en 1992⁸⁸, aunque recientemente hemos introducido algunas modificaciones en lo referente a la evaluación del resultado. En resumen son:

- Junto a la rinomanometría incluimos la determinación inicial y final del NPIF y una determinación posterior del NPIF a las 6 horas de terminar la prueba. Las determinaciones se realizan por triplicado y se acepta el valor más elevado. Con ello podemos estudiar las respuestas tardías.
- Usamos el sistema de puntuaciones propuesto por Bousquet y cols.⁷.
- En ciertas condiciones realizamos un raspado nasal con un cepillo citológico antes de la prueba, al terminar y a las 6 horas. Opcionalmente realizamos lavados nasales al principio y a los 15, 30, 60 y 180 minutos de terminar la prueba. En ellos se determina la presencia de ECP.

Sólo los dos primeros puntos se realizan siempre, mientras que el tercero se usa en estudios sobre la inflamación nasal.

En 1986 demostré que la técnica era muy reproducible⁸⁹. La principal diferencia con la técnica de entonces era que se usaban –en aquel momento– alérgenos de Pharmacia (Uppsala, Suecia) medidos en UB del sistema HP y ahora se utilizan alérgenos medidos en otros sistemas de unidades biológicas.

RESULTADOS Y EVALUACIÓN

En 1986 publicamos un artículo⁹⁰ y demostramos la alta sensibilidad de la prueba y su especificidad con *D. pteronyssinus*. En 1992⁹¹ estudiamos 59 pacientes con pruebas cutáneas positivas frente a *D. pteronyssinus* y un segundo grupo,

ampliando hasta 84 pacientes, y la selección se hizo en función de la anamnesis. Se realizaron pruebas cutáneas con *prick*, RAST y provocación nasal. Hallamos que la provocación nasal era más sensible y específica que el RAST o las pruebas cutáneas, pero que éstas poseen un mayor valor predictivo positivo, sin diferencias estadísticas entre las tres técnicas. La probabilidad bayesiana de las tres pruebas fue muy similar, pero ligeramente superior con la prueba de provocación. Entre la población atópica, el tener una provocación positiva ofrece un 66,5% de posibilidades de que ese alérgeno sea la causa, frente al 59,2 % en los casos de las pruebas alérgicas o el 62,8% en el del RAST. La utilización conjunta de las tres técnicas ofrece un valor predictivo positivo del 90%. En un estudio de 1980 Olivé Pérez y cols.⁴² en 100 pacientes con rinitis perenne mostramos la buena correlación con la anamnesis y las pruebas cutáneas y la falta de correlación con la IgE y el estudio citológico de la secreción: sólo el 14% de las pruebas más positivas se acompañaba de la presencia previa de eosinófilos en la secreción nasal.

En 1991, Dokic y cols.⁹³ realizaron un estudio semejante con 25 pacientes. El 64% de los pacientes con pruebas cutáneas positivas a *D. pteronyssinus* tuvo provocación positiva con este ácaro. A su vez encontraron una buena correlación entre las tres pruebas.

En 1987 Ramírez y cols.⁹⁴ estudiaron 67 pacientes y realizaron pruebas cutáneas, RAST y, en 33 ocasiones, una provocación nasal. En esta población, el RAST fue el método más sensible y la provocación el menos sensible, sin diferencias marcadas a nivel de especificidad, que fue baja con las tres pruebas. Destaca la frecuencia de RAST positivos en la población con una anamnesis negativa. Los datos confirmaban un estudio previo de Granel y cols., así como los datos obtenidos en el laboratorio por Granel y cols. Más recientemente Phipatanakul y cols. fracasaron al intentar usar la rinometría acústica en las provocaciones con epitelio de gato.

Respecto al uso de la técnica en la polinosis, Scumacher y cols.⁹⁸ la realizaron en pacientes alérgicos al polen de las gramíneas y demostraron su especificidad. En nuestro estudio de 1986⁸⁹, analizamos un grupo con rinitis por gramíneas y otro con rinitis por parietaria y demostramos la sensibilidad de la técnica aunque su especificidad con parietaria fue baja.

Posteriormente, en 1993, Granel y cols.⁹⁹ estudiaron el valor de las pruebas diagnósticas frente a *Plantago lanceolata*. Entre 32 provocaciones, 23 (72%) fueron positivas. La correlación entre la provocación y las pruebas cutáneas fue del 0,69 ($p < 0,05$).

Muy interesante es el estudio de Jiménez-Timón y cols.¹⁰⁰, que realizaron en 31 pacientes con rinitis alérgica a *alternaria* diagnosticados por anamnesis, pruebas cutáneas, CAP, oftalmorreacción e intradermorreacción, junto a 11 controles. Al realizar las provocaciones se descartaron 7 por RIN y 21 fueron positivos, de los cuales 8 (38%) mostraron reacciones inmediatas y tardías. La sensibilidad de la prueba se estimó en un 87,5 %, lo que ofreció la posibilidad de usarla como prueba de referencia diagnóstica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Olivé Pérez A. La obstrucción nasal y su medida. *Allergol et Immunopath S* 2004;32:361-367.
- Olivé Pérez A. Validación de la determinación del flujo inspiratorio nasal. *Allergol Immunol Clin* 2004;19:25-28.
- Olivé Pérez A. Diagnosis of nasal reactivity to histamine. *European Academy of Allergology and Clinical Immunology*. Funchal 1982;24-26.
- Olivé Pérez A. Inflamación nasal experimental. Papel de los eosinófilos en la respuesta inmediata. Congreso virtual de Alergia 2000 www.alergovirtual.org.ar/trabajos/017.html.
- Borum P. Nasal metacholine challenge *J Allergy Clin Immunol* 1979;63:253-257.
- Mygind N. *Nasal Allergy*. Blackwell, Blackwell Sci Ed. Oxford 1ª ed 1978.
- Bousquet J, Maasch H, Heijaadout A, Wahl R, Michel FG. Double-blind, placebo controlled immunotherapy with mixed grass pollen allergoid. II Comparison between parameters assessing the efficacy of immunotherapy *J. Allergy Clin Immunol* 1988;82:439-446.
- Eriksson NE. *Diagnosis methods in reaginic allergy*. Tesis doctoral, Göttemborg 1977.
- Olivé Pérez A. Nasal provocation test (NPT) through previous active rhinomanometry. Physical and mathematical reasons *Allergol et Immunopath* 1989;17:291-299.
- Olivé Pérez A. Nasal challenge test: Response patterns. *Rhinology* 1988;26:59-62.
- Akerlund A, Anderson M, Leflein J, Lidholdt T, Mygind N. Clinical trials design, nasal allergen challenge models, and consideration relevance to pediatrics, nasal polyposis, and different classes of medication *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:S460-482.
- Karlsson G, Rundocranz H. Peroral chromones: a new way to treat allergic rhinitis. *Acta Otolaryngol* 1979; (supl 360):27-29.
- Kirkegaard J, Secher C, Borum P, Mygind N. Inhibition of histamine induced nasal symptoms by H1 antihistamine chlorpheniramina maleate: demonstration of topical effect *Br J Dis Chest* 1983;77:113-122.
- Schumacher MJ, Cota KA, Taussing LM. Pulmonary response to nasal challenge testing of atopic subjects with stable asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1986;78:30-35.
- Hirata N, Takeuchi K, Ukai K, Jin C, Yoshida T, Sakakura Y. Expression and localization of histamine H2 receptor messenger RNA in human nasal mucosa. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:944-949.
- Ishii T. The autonomic innervation of nasal mucosa. En *Advances in Allergy and Applied Immunology* Edit. Oehling, Glazer A, Mathov

- I, Arbesman E. C Permamon Press, Londres 1980 pp 101.
17. Baraniuk JN. Sensory, parasympathetic and sympathetic neural influences in nasal mucosa. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:1045-4050.
 18. Anggard A. Autonomic nervous control of blood circulation and secretion in nasal mucosa. Tesis Doctoral. Estocolmo 1974.
 19. Baraniuk JN, Kaliner MA. Neuropeptides and nasal secretion. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86:620-627.
 20. Tobin MJ. Asthma, airways biology and nasal disorders in AJRCCM2003. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;169:265-276.
 21. Nacleiro RM, Baroody FM. Response of nasal mucosa to histamine or metacholine challenge: Use of a quantitative method to examine the modulatory effects of atropine and ipratropium bromide. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:1051-1054.
 22. van Wijk RG, Diegues PH. Comparison of nasal responsiveness to histamine, metacholine and phenotamine in allergic rhinitis patients and control. *Clinical Allergy* 1987;17:563-570.
 23. Zambetti G, Moresi M, Romeo R, Luce M, Filiaci F. Non-specific nasal provocation test with histamine. Analysis of the dose response curve. *Rhinology* 1999;37:168-174.
 24. Bousquet J, Vignola AM, Campell AM, Michel FB. Pathophysiology of allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 1996;110:207-218.
 25. Doyle WJ, Boehm S, Skoner DP. Physiologic responses to intranasal dose-response challenges with histamine, metacholine, bradykinin, and prostaglandin in adult volunteers with and without nasal allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1990;86:924-935.
 26. Iryoshi N, Takeuchi K, Yuta A, Ukai K, Sakakura Y. Increased expression of histamine H1 receptors, mRNA in allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 1996;26:379-385.
 27. Varty LM, Gustafson E, Laverty M, Hey JA. Activation of histamine H3 receptors in the human nasal mucosa inhibits sympathetic vasoconstriction. *Eur J Pharmacol* 2004;489:83-89.
 28. Gether U. Uncovering molecular mechanism involved in activation of G-protein coupled receptors. *Endocr Rev* 2000;21:90-113.
 29. Le coniat M, Traiffort E, Ruat M, Arrang JM, Berger R. Chromosomal localization of the human histamine H1- receptor gene. *Hum Gen* 1994;94:186-188.
 30. Kuhn B, Schmid A, Harteneck C, Guderman T, Schultz G. G proteins of Gq family coupled the H2 histamine receptor to phospholipase C. *Mol Endocrinol* 1996;10:1697-1707.
 31. Hill SJ, Galleni CR, Timmerman H, Schwartz JC, Schankley NP, Young JM, et al. International union pharmacology XIII. Classification of histamine receptors. *Pharmacol Rev* 1997;49:253-278.
 32. Leurs R, Church MK, Tagliatela M. H1-antihistamines: inverse agonism, anti-inflammatory actions and cardiac effects. *Clin Exp All* 2002;32:489-498.
 33. Church MK. Histamine receptors, Inverse agonism, and allergy. *Allergy Clin Immunol Int* 2004;16:112-116.
 34. Hallen H, Juto JE. Nasal mucosa reaction. A model for mucosal reaction during challenge. *Rhinology* 1992;30:129-133.
 35. Olivé Pérez A. Cross-sectional Area of nasal airways during the nasal provocation tests. *Allergol et Immunopathol* 1992;20:101-104.
 36. Grønborg H, Borum P, Mygind N. Histamine and metacholine do not increase nasal reactivity. *Clin Allergy* 1986;16:597-602.
 37. Graf P, Juto JE. Histamine sensitivity in the nasal mucosa during four-week use of oxymetazoline. *Rhinology* 1994;32:123-126.
 38. Plavec D, Somogy-Zalud E, Godnic-Cvar J. Modified method of nonspecific nasal provocation with histamine for routine use. *Ann Allergy* 1994;72:321-328.
 39. Granel C, Olivé A. Histamine nasal test in allergic. *Rhinitis Allergy* 1995;50(26 supl abstr): P307.
 40. Kobbeck KG, Ehnhage A, Juto JE. Nasal and bronchial histamine reactivity in patients with allergic rhinitis out of season. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999;82:55-60.
 41. van Wijk RG, Mulder PGH, Dieges PH. Nasal provocation with histamine in allergic rhinitis patients: clinical significance and reproducibility. *Clin Exp Allergy* 1989;19:293-298.
 42. Hilberg O, Grymer LT, Pedersen OF. Nasal histamine challenge in non allergic and allergic subjects evaluated by acoustic rhinometry. *Allergy* 1995;50:166-173.
 43. Toggias A, Proud D, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM, Nacleiro RM. Cold dry air (CDA) and histamine (HIST) induced more potent responses in perennial rhinitic compared to normal individuals. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:p.148 abstr.
 44. Botey J, Marin A, Eseberri JL. Rinomanometría en niños asmáticos Publicaciones de la SCAIC. 1988;6:63-68.
 45. White MV. Nasal cholinergic hyperresponsiveness in atopic subjects studied out of season. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:278-287.
 46. Olivé Pérez, A. Aplicación en provocación nasal inespecífica Manual de Rinomanometría. Ed MRA. Barcelona 2001;37-54.
 47. Okayama M, Mullo J, Baraniuk JN, Hausfeld JN, Feldman B, Merida M, et al. Muscarinic receptor subtype in human nasal mucosa: Characterization, autoradiographic localization, and functions in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993;8:176-187.
 48. Kanno H, Horikawa Y, Hodges RR, Zoukhri D, Shatos M, Ríos JD, Dartt A. Cholinergic agonists transactivate EGFR and stimulate MAPK to induced goblet cells secretion. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003;284:C988-C998.
 49. Nayaka M, Yuasa T, Usui N. Immunohistochemical localization of subtypes of muscarinic receptors in human inferior turbinate mucosa. *Am Otol Rhinol Laryngol* 2002;111:593-597.
 50. Ríos JD, Zoukhri D, Rawe IM, Hodges RR, Zieske JD, Dartt DA. Immunolocalization of muscarinic and VIP receptor subtypes and their role in stimulating goblet cell secretion. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:1102-1111.
 51. Baroody FM, Driscoll PV, Moyland B, Fleming L, Shilstone J, Nacleiro RM. Duration of action of intranasal atropine on methacholine-induced nasal secretion. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1996;122:321-323.
 52. De Tineo ML, Clar K, Baroody FM, Nacleiro RM. Lack of evidence for muscarinic type 2 receptors modulation in human nasal reflex. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:194-195.
 53. Deviller P, Dessanges JF, Rakotosihanaka A, Ghaem A, Boushey HA, Lockhart A, et al. Nasal response to substance P and metacholine in subjects with and without allergic rhinitis. *Eur Respir J* 1988;1:358-361.
 54. Stajerne P, Lundbland, L, Lundberg JM, Anggard A. Capsaicin and nicotine-sensitive afferent neurones and nasal secretion in healthy human volunteers and in patients with vasomotor rhinitis. *Br J Pharmacol* 1989;96:693-670.
 55. Ramírez Ferrerías W, Olivé A. El test de provocación nasal en el estudio de la hiperactividad inespecífica. Publicaciones de la SCAIC 1988;6:77-83.
 56. Olivé A, Granel C. Nasal challenge with histamine. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97 abstr.
 57. Toggias AG, Nacleiro RM, Proud D, Fish JE, Adkinson Jr F, Kagey-Sobotka A, et al. Nasal challenge with cold, dry air in release of inflammatory mediators. Possible mast cell involvement. *J Clin Invest* 1985;73:1375-1381.
 58. Jankowski R, Philip G, Toggias A, Nacleiro RM. Demonstration of bilateral cholinergic secretory response after unilateral nasal cold,

- dry air challenge. *Rhinology* 1993;31:97-110.
59. Krayenbuhl MC, Hudspith BN, Scadding GK, Brostoff J. Nasal response to allergen and hyperosmolar challenge. *Clinical Allergy* 1988;18:157-164.
 60. Jacobi HH, Skov PS, Poulsen LK, Malling HJ, Mygind N. Histamine and tryptase in nasal lavage fluid after allergen challenge: Effect of 1 week of pretreatment with intranasal azelastina or systemic ceterizine. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:768-772.
 61. Reaño M, Rodríguez J, Miranda P, Seoane J, Bencabat Z, Canto G. Determinación de la triptasa en exudado nasal en pacientes con rinitis alérgica estaciona. *Rev Esp Alergol Inmunol* 1996;11:159-162.
 62. Nacleiro RM. Patophysiology of perenneal allergic rhinitis. *Allergy* 1997;52:7-13.
 63. Eccles R. Plasma exudation in rhinitis. *Allergy* 1992;22:319-320.
 64. Buse WW. The role of leukotrienes in asthma and allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 1996;26:868-878.
 65. Pipkorn U, Proud D, Lichtenstein LM, et al. Effect of short-term systemic glucocorticoid treatment on human nasal mediator release after antigen challenge. *J Clin Invest* 1987;80:957-961.
 66. Wang D, Clement PAR, Smitz J, De Waeke M, Derde MP. Correlation between complaints, inflammatory cells and mediators concentrations in nasal secretion after nasal allergen challenge and during natural allergen exposure. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1992;106:278-283.
 67. Creticos P, Peters SP, Adkinson NF Jr, Nacleiro RM, Hayles EC, Norman PS, Lichtenstein LM. Peptide leukotriene release after antigen challenge in patients sensitive to ragweed. *N Engl J Med* 1984;310:1626-1630.
 68. Bisgaard H, Olsson P, Bende M. Effect of leukotriene D4 on nasal mucosa blood flow, nasal airways resistance, and nasal secretion in humans. *Clin Allergy* 1986;26:289-297.
 69. Dahlen SE. Pharmacological Characterization of Leukotriene Receptors. *Am J Resp Crit Care Med* 2000;161:541-545.
 70. Steinke JW, Borish L. Leukotriene Receptors in rhinitis and sinusitis. *Curr Allergy Asthma Reports* 2004;4:217-223.
 71. Nicosia S, Capra V, Ravasi S, Rovati E. Binding to cysteinyl-leukotrienes receptors. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:S453-S450.
 72. Shirasaki H, Kanaizumi E, Watanbe K, Matsui T, Sato J, Narita S, et al. Expression and localization of cysteinil leukotriene 1 receptor in human nasal mucosa. *Clin Exp Allergy* 2002;32:1007-1012.
 73. Flowers BK, Proud D, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM, Nacleiro RM. The effect of a leukotriene antagonist on early response to antigen. *Otolaryngolgy Head Neck Surg* 1990;102:219-224.
 74. Howarth PH. Leukotrienes in rhinitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:S133-136.
 75. Llanes SJ, Sur S, Grant AJ, Alam R. Comparison of the effects of fluticasone and montelukast on early and late-phase nasal allergic reaction. *J Allergy Clin Immunol* 2001;87:S312 Abstr.
 76. Nathan RA. Do leukotriene receptor antagonists have a place in pharmacotherapy of allergic rhinitis?. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003;90:466-468.
 77. Natham RA. Pharmacotherapy for allergic rhinitis: a critical review of leukotriene receptor antagonists compared with other treatments. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003;90:182-191.
 78. Parnes SM. The role of leukotriene inhibitors in patients with paranasal sinus disease. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;11:184-191.
 79. Canonica W, Cipriandi G, Buscaglia S, Pesce G, Bagnasco M. Adhesión molecules of the allergic inflammation: recent insigh on their functional role. *Allergy* 1994;49:135-141.
 80. Olivé Pérez A. Patología nasal de interés en alergología. Ed Massons. Barcelona 1996.
 81. Dvoracek JE, Yunginger JW, Kern EB, Hyat RE, Gleich GJ. Induction of nasal late-phase reactions by insufflation of ragweed pollen extract. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:363-368.
 82. Christodouloupoulos P, Cameron L, Durham S, Hamid Q. Molecular pathology of allergic disease II Upper airway diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:211-223.
 83. Wang D, Clement P, De Waele M, Derde MP. Study of nasal cytology in atopic patients after nasal allergen challenge. *Rhinology* 1995;33:78-81.
 84. Pastorello EA, Riario-Sforza GG, Incorvaia C, Fumagalli M, Gandini R. Comparisson of rhinomanometry, symptom score, and inflammatory cell counts in assessing the nasal late-phase reaction to allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:85-92.
 85. Linder A, Venge P, Deuschl H. Eosinophil cationic protein and myeloperoxidase in nasal secretion as markers of inflammation in allergic. *Rhinitis Allergy* 1987;42:583-590.
 86. Aaltman LC, Ayars GH, Baker C, Luchtel DL. Cytokines and eosinophil-derived cationic proteins upregulate intercellular adhesion molecule- 1- on human nasal epithelial cells. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:527-536.
 87. Durham SR, Ying S, Varney VA, Jacobson MR, Sudderick RM, Mackay IS, Kay AB, Hamid QA. Cytokine messenger RNA expression for IL-3, IL-4, IL-5 and granulocyte/macrophage-colony-stimulating factors in the nasal mucosa after local allergen provocation: relationship to tissue eosinophilia. *J Immunol* 1992;148:2390-2394.
 88. Olivé Pérez A. Rinitis alérgicas. Ed Jims Barcelona 1992.
 89. Olivé Pérez A. Test de provocación nasal mediante rinomanometria anterior activa. Tesis Doctoral Universidad Autónoma de Barcelona, 1986.
 90. Olivé Pérez A. The nasal provocation test in the diagnosis of allergic rhinitis II comparison with other diagnostic test. *Rhinology* 1986;23:175-181.
 91. Olivé Pérez A. Valoración de los test de provocación nasal en rinitis alérgicas perennes. I Rinitis por ácaros. *Allergol et Immunopathol* 1992;20:24-27.
 92. Olivé Pérez A, Cisteró Bahima A, Monés Pujol-Busquets L. El test de provocación nasal en las rinitis alérgicas perennes. Comparación con la historia clínica, test cutáneos, eosinófilos en el moco y tasa de IgE sérica, medida mediante PRIST. *Allergol et Immunopathol* 1980;8:657-662.
 93. Dokic D, Jovanovic S, Berghaus A, Brunee T. Diagnosis of nasal allergy to the house dust mite. *Rhinology* 199;29:117-123.
 94. Ramírez W, Batista A, Garde A, Cisteró A, Olivé A. Diagnóstico de la alergia al epitelio de gato I Rentabilidad de los test diagnósticos. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1987;2:433-436.
 95. Granel C, Cisteró A, Garde A, Rigo M, Olivé A. Value of RAST and NPT in allergy to cat epithelium. *Ann Allergy* 1985;55:321 Abstr.
 96. Granel C, Casanovas M, Cisteró A, Garde A, Rigo M, Olivé A. Cat and dog allergens . In vitro studies. Annual Meeting AEACI Bruselas, 1984, Abstracts book, 1985, pp 54.
 97. Phipatanakul W, Kasavanathan J, Eggleston P, Johnson E, Wood RA. The value of acoustic rhinometry in assessing nasal responses to cat exposure. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:896-901.
 98. Schumacher MJ, Pain MC. Nasal challenge testing in grass pollen hay fever. *J Allergy Clin Immunol* 1979;64:202-208.
 99. Granel C, Tapias G, Valencia M, Randazzo L, Olivé A. Plantain allergy (*Plantago lanceolata*): Assesment of diagnosis tests. *Allergol et Inmunopathol* 1993;21:158-160.
 100. Jiménez-Timón S, Vigaray J, Cimarra M, Martínez-Cócera C. Nasal challenge in patients allergic to alternaria. *Allergy* 1997;52:208-209.