

# Comparison of Collecting Methods of Nasal Fluids Using Albumin after Nasal Provocation in Allergic Patients

Young Hyo Kim, Tae Young Jang, Jae Eun Kim, Dong Wook Lim and Kyu-Sung Kim

Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Inha University College of Medicine, Incheon, Korea

## 알레르기성 비염 환자에서의 비강유발검사 후 비즙내 알부민을 이용한 비즙 채취 방법의 비교

김영효 · 장태영 · 김재은 · 임동욱 · 김규성

인하대학교 의학전문대학원 이비인후-두경부외과학교실

Received July 4, 2010

Revised August 17, 2010

Accepted August 25, 2010

Address for correspondence

Kyu-Sung Kim, MD, PhD

Department of Otorhinolaryngology-

Head and Neck Surgery,

Inha University College of Medicine,

7-206 Sinheung-dong 3-ga, Jung-gu,

Incheon 400-700, Korea

Tel +82-32-890-3620

Fax +82-32-890-3580

E-mail stedman@inha.ac.kr

**Background and Objectives** Although different methods of collecting nasal fluid exist and can influence the result of the study, there have not been any studies made yet to compare the different methods. The authors aimed to evaluate the usefulness of these methods by comparing the albumin concentration of nasal fluid after nasal provocation in patients with allergic rhinitis.

**Subjects and Method** In 22 patients with allergic rhinitis, we measured the change of nasal obstruction and rhinorrhea after nasal provocation using Visual Analogue Scale (VAS). In Group A (n=10), the nasal lavage and direct suction method were used and in Group B (n=12), nasal lavage and filter paper method were used. Nasal fluids were obtained before, 20 min after and 8 hours after provocation. The concentration of albumin was calculated using rate nephelometry.

**Results** Patients' nasal symptoms were aggravated in early allergic reaction but subsided in late reaction. There was meaningful increase of albumin concentration with the use of direct suction and filter paper methods. In contrast, there was no significant increase of concentration with the use of lavage method.

**Conclusion** The filter paper method is superior in the quantitative analysis of mediators in nasal fluid after nasal provocation in allergic patients. The lavage method, however, is considered inappropriate because of its dilution effect.

Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg 2010;53:615-9

**Key Words** Nasal lavage fluid · Nasal provocation tests · Allergic rhinitis.

## 서론

비즙은 면역글로불린 및 여러 가지 화학적 매개물질들을 포함하고 있으며, 비즙의 양과 비즙 내 포함되어 있는 매개물질들의 농도는 비점막의 분비능 및 알레르기 항원에 대한 반응성을 반영한다. 비즙 채취 및 분석은 비강과 부비동 내의 각종 염증성 질환의 정도를 평가하는 데 도움을 줄 수 있을 뿐 아니라, 비즙의 생화학적 분석을 통하여 각종 염증성 세포 및 사이토카인 등을 분석함으로써 병태생리를 이해하는 데 도움을 주고, 또한 이러한 표지자들의 치료 전후

변화를 살펴봄으로써 치료 효과를 판정하는 데 도움을 줄 수 있는 등 많은 유용성을 가지고 있다.<sup>1)</sup> 따라서 비즙을 채취하기 위해 많은 연구자들에 의해 다양한 방법들이 시도되어 왔다. 비즙 채취 방법에 따라 연구 결과에 영향을 미칠 수 있다는 보고에도 불구하고,<sup>2)</sup> 아직까지 이러한 다양한 비즙 채취 방법들의 유용성은 제대로 평가되지 못하고 있으며, 여러 가지 서로 다른 방법들을 비교해 보기 위한 연구는 더더욱 없는 실정이다.

알부민은 비즙 내에서 가장 높은 농도로 발견되는 물질 중의 하나로서, 비점막의 누출(transudation) 및 혈관 투

과성을 반영하는 좋은 지표이다.<sup>3)</sup> 따라서 본 연구에서는 다양한 비습 채취 방법들 중 가장 많이 인용되는 방법들인 비세척법(nasal lavage method), 직접 흡입법(direct suction method) 및 여과지 흡수법(filter paper method)을 비교하기 위해 알레르기성 비염 환자에서 집먼지 진드기 항원을 이용한 비강유발검사 후 서로 다른 방법을 이용하여 알부민의 농도를 측정함으로써 각 방법의 유용성 및 상관관계를 분석해 보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 환자군 및 항원 유발

22명의 알레르기성 비염 환자(남자 9명, 여자 13명, 15~49세, 평균 25.6세)를 대상으로 본 연구를 계획하였다. 모든 환자는 적어도 1년 이상 재채기, 수양성 비루 등 전형적인 알레르기성 비염 증상을 호소하였으며, 이학적 검사상 하비갑개의 충혈 및 창백 소견을 보였고, 또한 radioallergen sorbent test(RAST)상 집먼지 진드기(dermatophagoides pteronyssinus)에 대해 3+ 이상의 강양성 소견을 보였다. 최근 4주 이내 흡입성 혹은 전신성 스테로이드제를 포함한 항알레르기 약제를 사용한 병력이 있거나 또는 약제를 중단할 수 없는 환자, 불안정하거나 조절되지 않는 전신적인 질환을 가진 환자, 임신 혹은 수유 중인 환자, 3개월 이내 비강 내 수술을 받은 병력이 있는 환자, 부비동 단순촬영 또는 CT상 증명된 부비동염 또는 비염이 있는 환자, 직업적으로 반복하여 화학적 자극물질에 만성적으로 노출되는 환자, 흡연자 등은 본 연구의 대상에서 제외되었다. 모든 환자는 연구의 목적과 방법에 대해 충분한 설명을 듣고 자의로 연구 참여에 동의하였으며, 본 연구는 인하대학교 임상시험 윤리위원회의 승인을 받아 진행되었다.

모든 환자에서 항원유발을 위하여 동결건조된(lyophilized) 집먼지진드기 항원(Allergopharma, Reinbek, Germany)을 사용하여 양쪽 비강에 스프레이식 분사기를 사용하여 각각 약 50  $\mu$ L의 양을 분사하였다.

### 항원 유발 전후 증상 변화의 평가

항원 유발 전후 코막힘, 콧물 등 증상의 변화를 증상척도(Visual Analogue Scale, VAS)를 통해 평가하였다. VAS 평가를 위해 각 환자들은 1 cm 간격으로 점이 표시되어 있고 0부터 10까지의 점수가 표시되어 있는 10 cm 길이의 선 위에 증상이 전혀 없으면 0점, 증상이 참을 수 없이 매우 불편할 경우를 10점으로 하여 환자가 주관적으로 느끼는 증상의 점수를 선 위에 표기하도록 하였다.

### 비습 채취

서로 다른 비습 채취법의 비교를 위하여, 환자를 2개의 군으로 나누어 A군(n=10명)의 환자들에서는 양쪽 비강에 각각 비세척법 및 직접 흡입법을 통해 비습을 채취하였다. B군(n=12명)의 환자들에서는 양쪽 비강에 각각 비세척법 및 여과지흡수법을 사용하였다.

비세척법의 경우 Hilding<sup>4)</sup>의 연구자에 의해 확립된 방법을 준용하였다. 간략히 살펴보면, 일측 비전정에 8 Fr 크기의 Foley 도뇨관을 위치시킨 후 약 3~4 mL의 공기를 주입하여 풍선을 환자가 견딜 수 있는 한도 내에서 최대한 팽창시켜 비전정 부위를 폐쇄시켰다. 환자는 고개를 앞으로 60도 정도 굴곡시켜 후비공으로 액체가 흘러내리는 것을 방지하였다. 도뇨관을 통하여 미리 가온된 생리식염수 5 mL를 비강으로 주입 후 다시 흡인함으로써 비세척을 실시하였다. 이와 같은 과정을 총 3회 반복한 후 풍선의 공기를 제거하고 도뇨관을 제거하였다.

직접 흡입법의 경우 Biewenga 등<sup>5)</sup>의 연구자들이 사용하였던 방법을 따랐다. 흡입을 위하여 금속 카테터와 유리관을 연결한 장치를 제작하였다. 카테터의 끝부분에는 고무관을 씌워 비강 점막의 손상을 최소화하도록 하였다. 이러한 흡입 장치를 이용하여 비강저 및 중비도를 반복적으로 흡입하여 비습을 채취하였다. 흡입 직후 1 mL 정도의 생리식염수를 흡입하여 카테터 내에 남아 있는 점액성 비루를 유리관에 모을 수 있었다. 비습 채취 전 미리 무게를 측정해 놓은 유리관과 비습 채취 후의 유리관의 무게의 차이를 이용하여 비습의 양을 측정하고 희석 계수를 계산하였다.

여과지 흡수법의 경우 작은 크기의(5×20 mm) 멸균된 여과지(Whatman No.44, Maidston, England)를 하비갑개의 전상방에 위치시켰다. 여과지를 위치시키기 전 환자들로 하여금 가볍게 코를 풀도록 하였다. 여과지를 10분간 위치시킨 후 제거하여, 200  $\mu$ L의 생리식염수에 담가 세척함으로써 비습을 채취하였다. 마지막으로 여과지를 짜낸 후 폐기하였다. 모든 방법에서 채취한 비습은 4℃의 온도에서 15분간, 3,000 rpm으로 원심분리하여 상층액을 분석에 사용할 때까지 -20℃에서 보관하였다.

비습 채취는 항원 유발전(기저치), 항원 유발 20분 후(조기반응) 및 항원 유발 8시간 후(후기반응)에 양측 비공으로부터 각각 시행하였다. 일중 변동(diurnal variation)을 배제하기 위해 기저치 및 조기반응의 평가를 위한 비습 채취를 오전 8시에서 9시 사이에 시행하였으며, 평가 당일 후기반응을 함께 평가하기 위하여 8시간 대기 후 오후 4시에서 5시 사이에 비습 채취를 다시 시행하였다.

### 알부민 수치 정량화 및 통계 분석

비즙 내 알부민 수치의 정량화는 rate nephelometry 방법(Beckman Array® 360 system, GMI Inc., Ramsay, MN, USA)를 이용하였다. 이 방법으로 정량화할 수 있는 알부민 수치는 0.2 mg/dL에서 40 mg/dL 사이이며, 이보다 높은 농도의 경우 자동으로 희석되어 그에 따라 다시 계산되었다. 환자수 및 비즙 샘플의 수가 충분하고 분포가 정규 분포를 따르고 있지 않았으므로 비모수적 통계기법(Mann-Whitney U test)을 사용하였으며, 통계 프로그램은 SPSS(Statistical Package for the Social Sciences, Version 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였고  $p$ -value 0.05 미만을 통계적 유의성의 기준으로 삼았다.

## 결 과

### 주관적 증상 척도의 변화

코막힘과 콧물 증상 모두에서 기저치에 비해 조기반응 시 통계적으로 유의한 증상의 악화를 보였으며( $p<0.001$ ), 후기반응 시 증상의 정도가 감소하여 기저치와 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Figs. 1 and 2). 후기반응 시 증상의 정도는 조기반응 시 증상의 정도와 비교하였을 때 통계적으로 유의하게 감소하는 양상을 보였다( $p<0.05$ ).

### 각각의 비즙 채취 방법에 따른 알부민 수치 비교

A군의 환자 10명을 대상으로 비세척법 및 직접 흡입법에 따른 알부민 수치를 비교하였을 때, 두 방법 모두에서 조기반응 시 기저치에 비해 통계적으로 유의하게 증가하는 양상을 관찰할 수 있었으며( $p<0.05$ ), 후기반응 시는 감소하여 기저치와 의미 있는 차이를 보이지 않았다(Fig. 3). 또한 기저치 및 조기반응, 후기반응 시 모두에서 직접 흡입법이 비세척법에 비해 유의하게 높은 알부민 수치를 나타내는 것을 확인할 수 있었다( $p<0.01$ ).

B군의 환자 12명을 대상으로 비세척법 및 여과지 흡수법을 비교하였을 때, 비세척법에서는 조기반응 및 후기반응 시 기저치에 비해 의미 있는 차이를 찾을 수 없었으며( $p>0.05$ ), 반면 여과지 흡입법에서는 조기반응 시 기저치에 비해 유의미한 증가 및 후기반응 시 감소하는 양상을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 또한 여과지 흡입법에서도 직접 흡입법과 마찬가지로 비세척법에 비해 모든 단계에서 유의하게 높은 알부민 수치를 나타내었다( $p<0.01$ ). A군 및 B군 환자 모두(22명)를 대상으로 비세척법 시행 후 알부민 수치를 분석하였을 때 조기반응에서는 통계적으로 유의한 차이가 관찰되었으나( $p<0.01$ ), 후기반응에서는 별다른 차이를 찾을

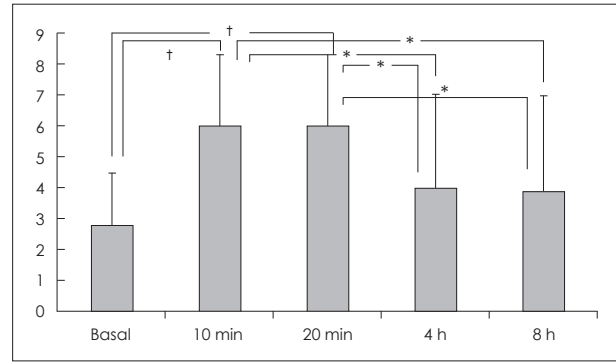


Fig. 1. Symptom change of nasal obstruction after nasal provocation (Mann-Whitney U test, \* $p<0.05$ , † $p<0.001$ ).

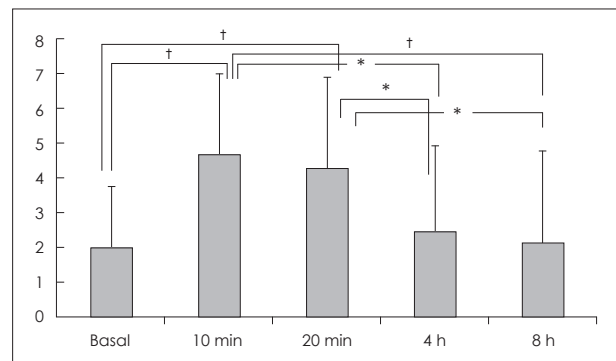


Fig. 2. Symptom change of rhinorrhea after nasal provocation (Mann-Whitney U test, \* $p<0.01$ , † $p<0.001$ ).

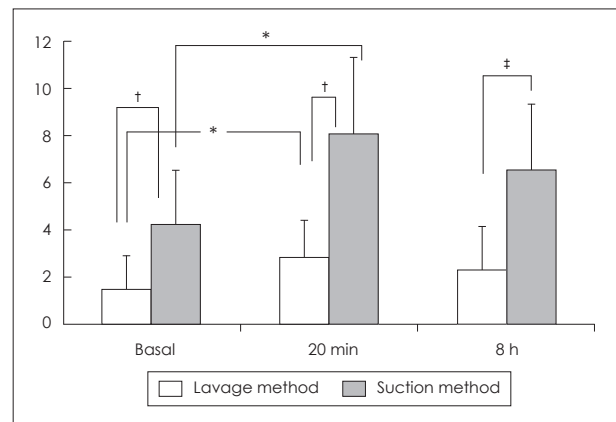
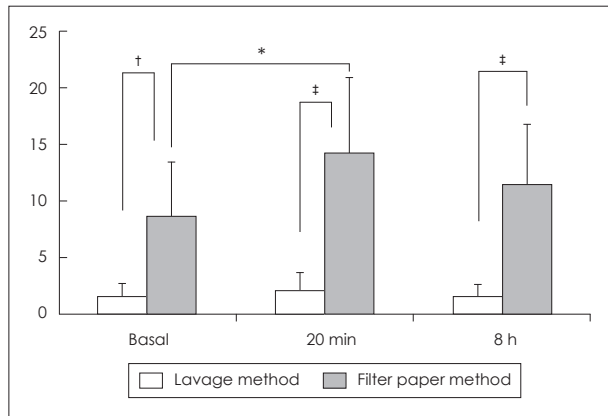


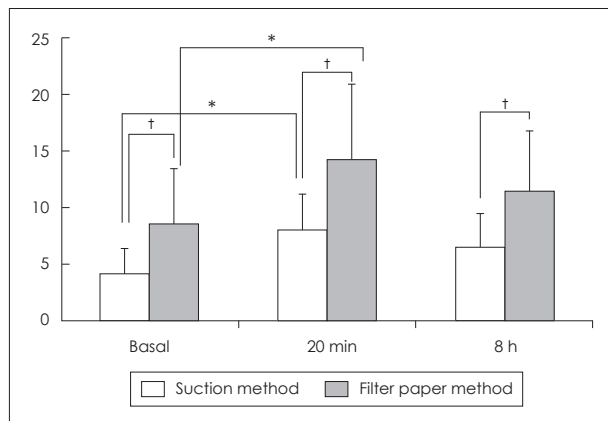
Fig. 3. Comparison of albumin concentration between lavage method and suction method before and after nasal provocation (Mann-Whitney U test, \* $p<0.05$ , † $p<0.01$ , # $p<0.001$ ).

수 없었다( $p>0.05$ ).

A군(10명) 및 B군(12명) 환자를 대상으로 직접 흡입법과 여과지 흡수법을 비교하였을 때, 두 방법 모두에서 조기반응 시 기저치에 비해 통계적으로 유의하게 증가하는 양상을 관찰할 수 있었으며( $p<0.05$ ), 후기반응 시는 감소하여 기저치와 유의미한 차이를 보이지 않았다(Fig. 5). 또한 기저치 및 조기반응, 후기반응 시 모두에서 여과지 흡수법이 직



**Fig. 4.** Comparison of albumin concentration between lavage method and filter paper method before and after nasal provocation (Mann-Whitney U test, \* $p<0.05$ , † $p<0.01$ , ‡ $p<0.001$ ).



**Fig. 5.** Comparison of albumin concentration between suction method and filter paper method before and after nasal provocation (Mann-Whitney U test, \* $p<0.05$ , † $p<0.01$ ).

접 흡입법에 비해 유의하게 높은 알부민 수치를 나타내는 것을 확인할 수 있었다( $p<0.01$ ).

각 비즙 채취 방법 간 알부민 수치를 이용하여 상관관계를 분석하였을 때, 비세척법과 직접 흡입법 간에는 유의한 상관관계가 관찰되지 않았으나( $p>0.05$ ), 비세척법과 여과지 흡수법 간에는 유의한 상관관계를 관찰할 수 있었다( $p<0.01$ ). 직접 흡입법과 여과지 흡수법 간에는 상관관계수 0.523으로 비교적 높은 상관관계가 관찰되었다( $p<0.01$ ).

## 고 찰

본 연구에서 알레르기성 비염 환자들에 대해 집먼지 진드기 항원으로 항원유발검사를 시행하였을 때, 초기반응에서는 유의한 증상의 악화를 보이다가 후기반응에서는 증상이 완화되는 것을 관찰할 수 있었다. 이는 알레르기 반응의 조기반응과 후기반응 각각의 특성과 잘 부합하는 결과로서, 조기반응 시에는 항원에 의해 비만세포로부터 각종 매개물

질들이 분비되어 급성 반응을 일으킴으로써 급격하고 좀더 심한 증상이 유발되는 반면, 후기반응 시에는 각종 염증세포들이 알레르기 반응이 유발된 부위로 동원되면서 초기반응 때보다 약한 증상이 유발된다는 기존의 연구 결과들과 일치한다.<sup>6)</sup>

본 연구에서 직접 흡입법 및 여과지 흡수법을 이용한 경우 초기반응 시 알부민의 농도가 유의하게 증가하였으나, 비세척법의 경우 B군에서 유의한 차이를 찾을 수 없었다. 이는 비세척법의 경우 비즙이 희석되는 정도가 환자에 따라 다양할 수 있으며, 따라서 정확한 비즙의 양을 측정하기 어렵기 때문이다. 따라서 비즙을 채취하기에 상대적으로 간편하며 많은 양을 채취할 수 있고 반복 채취가 가능하다는 점 등의 장점에도 불구하고 비세척법은 다른 방법들에 비해 정량적인 분석에는 상대적으로 적합하지 않으며, 연구자들은 비세척법을 이용한 비즙의 분석 시 이 결과가 반정량적(semi-quantitative)일 수 있다는 사실을 명심하여야 한다. 다만 희석에 대한 보정을 시행할 경우 다른 검사법들과 유사한 알부민 농도를 얻을 수 있으므로 비즙 채취 방법을 선택할 때 이를 함께 고려하여야 한다.

직접 흡입법의 경우 양측 비강에서 각각 독립적으로 비즙을 채취할 수 있으며 상대적으로 환자가 느끼는 불편감이 적고 재현성이 높은 장점 때문에 많이 사용되고 있는 방법 중의 하나이다.<sup>7-9)</sup> 그러나 비강 내로 삽입되는 카테터에 의한 물리적 자극 때문에 비점막이 자극되어 비즙 분비에 영향을 줄 수 있으며,<sup>1)</sup> 비점막 내 혈관이 풍부하게 발달되어 있는 환자의 경우 세심한 주의에도 불구하고 시술 시 출혈을 일으키게 되면 직접 흡입은 물론이고 다른 방법을 이용한 비즙 채취마저 불가능해지게 되는 단점이 있다. 또한 얻을 수 있는 비즙의 양이 환자마다 큰 차이가 있기 때문에,<sup>1)</sup> 환자에 따라 분석하기에 비즙의 양이 너무 적어 연구에서 탈락하는 경우도 발생할 수 있다. 본 연구에서도 직접 흡입법으로 비즙 채취 도중 6명의 환자에서 출혈이 일어나 채취를 중단하였고, 5명의 환자에서는 채취된 비즙의 양이 너무 적어 최종 분석에 포함되지 못하였다.

여과지 흡수법은 재현성이 높으며 양측 비강으로부터 각각 비즙을 채취할 수 있고, 비즙의 정확한 정량화가 가능한 등 여러 가지 장점을 가지고 있다. 본 연구 결과 비세척법 및 직접 흡입법과 비교하였을 때 상대적으로 높은 알부민 농도를 나타내었다. 또한 직접 흡입법에서와 같이 비즙의 양이 너무 적어 탈락하는 경우도 상대적으로 적게 발생하였으며, 직접 흡입법에 비해 비침습적이므로 출혈이나 불편감 때문에 탈락하는 경우도 발생하지 않았다. 채취할 수 있는 비즙의 양이 다른 방법들에 비해 상대적으로 적을 수 있으나



이는 분석 시 보다 높은 민감도를 가지는 검사 도구들을 사용함으로써 극복할 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구에서 사용되지 않은 다양한 비침 채취 방법들이 보고되어 있다. 처음으로 시도된 방법은 단순히 코를 풀게 하는 것이었으나, 비침 내 각종 매개물질의 정량적 분석이 불가능하며 단지 비침의 양에 대해서만 반정량적 검사가 가능한 단점 때문에 현재는 널리 쓰이지 않는 방법이다.<sup>10)</sup> 면봉 도말법, imprint 방법, 비점막 생검 등의 방법도 시도되었으나, 환자에게 통증 및 불편감을 줄 수 있으며 비점막에 손상을 주어 비침의 성상에 변화를 줄 수 있기 때문에 적합하지 않은 방법이라고 사료된다.<sup>11,12)</sup> 이외에도 스폰지 또는 패킹 거즈를 비강 내에 위치시켰다가 꺼내는 방법 등이 소개되었으나, 이 물질들 자체에 의하여 비강이 자극될 수 있으며, 거즈 혹은 스폰지를 삽입 혹은 제거하는 조작 자체에 의해서도 비강에 물리적 손상이 가해질 수 있는 등의 단점들을 가지고 있다.<sup>13,14)</sup> 반면 여과지 흡수법은 이러한 점막의 손상 및 자극이 없으면서도, 거동이 불편하거나 고령, 혼수 상태 등으로 적극적인 협조가 어려운 환자들에서도 쉽게 시행할 수 있는 장점이 있어 위에 기술한 방법들에 비해 장점을 가지고 있다.

본 연구의 제한점으로는 적은 수의 환자가 연구에 참여함으로써 인해 각종 수치가 정규분포를 따르지 않으며 표준편차가 커서 비모수적인 방법으로 통계 처리를 할 수밖에 없었던 점이다. 추후 추가적인 연구를 통해 모집단의 수를 증가시킴으로써 이러한 제한점을 보완할 수 있을 것이라 생각된다.

또한 직접 흡입법과 여과지 흡수법을 비교하는 데 있어서 다른 환자군을 대상으로 하였기 때문에, 비침 내 알부민 농도에 있어 개인적인 편차가 작용하였을 가능성을 배제할 수 없다. Pupek 등<sup>15)</sup>의 연구자들은 건강 자원자군의 비침내 알부민 농도는  $250 \pm 230 \mu\text{g}$ 으로 편차가 크다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서 비세척법을 시행하였을 때 A군과 B군의 비침 내 알부민 농도는 기저치, 조기반응 및 후기반응 시 통계적으로 유의미한 차이가 없었기 때문에( $p > 0.05$ ) 두 군 간의 편차는 무시할 수 있을 것으로 생각된다.

## Acknowledgments

This article is supported by an Inha University Research Grant.

## REFERENCES

- 1) Watelet JB, Gevaert P, Holtappels G, Van Cauwenberge P, Bachert C. Collection of nasal secretions for immunological analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2004;261(5):242-6.
- 2) Klimek L, Rasp G. Norm values for eosinophil cationic protein in nasal secretions: influence of specimen collection. *Clin Exp Allergy* 1999;29(3):367-74.
- 3) Marenmani C, Fattori B, De Ciccio M, Ceravolo R, Ghilardi PL, Muratorio A. Electrophoretic pattern of physiological human nasal secretions. *Rhinology* 1996;34(3):147-50.
- 4) Hilding AC. Simple method for collecting near-normal human nasal secretion. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1972;81(3):422-3.
- 5) Biewenga J, Stoop AE, Baker HE, Swart SJ, Nauta JJ, van Kamp GJ, et al. Nasal secretions from patients with polyps and healthy individuals, collected with a new aspiration system: evaluation of total protein and immunoglobulin concentrations. *Ann Clin Biochem* 1991;28(Pt 3):260-6.
- 6) Adkinson NF Jr, Bochner BS, Busse WW, Holgate ST, Lemanske RF Jr, Simons FER, editors. *Middleton's allergy: principles and practice*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Mosby;2009. p.1281-2.
- 7) Wang DY, Clement P. Pathogenic mechanisms underlying the clinical symptoms of allergic rhinitis. *Am J Rhinol* 2000;14(5):325-33.
- 8) Yamazaki M, Kimura K, Watanabe S, Komiyama O, Mishiku Y, Yamamoto K, et al. Use of a rapid detection assay for influenza virus, on nasal aspirate specimens. *Kansenshogaku Zasshi* 1999;73(10):1064-8.
- 9) Besançon-Watelet C, Béné MC, Montagne P, Faure GC, Jankowski R. Eosinophilia and cell activation mediators in nasal secretions. *Laryngoscope* 2002;112(1):43-6.
- 10) Niehaus MD, Gwaltney JM Jr, Hendley JO, Newman MJ, Heymann PW, Rakes GP, et al. Lactoferrin and eosinophilic cationic protein in nasal secretions of patients with experimental rhinovirus colds, natural colds, and presumed acute community-acquired bacterial sinusitis. *J Clin Microbiol* 2000;38(8):3100-2.
- 11) Kim SS, Kim KS, Lee JG, Park IY, Koo JS, Yoon JH. Levels of intracellular protein and messenger RNA of mucin and lysozyme in normal human nasal and polyp epithelium. *Laryngoscope* 2000;110(2 Pt 1): 276-80.
- 12) Ingels K, Durdureux JP, Cuvelier C, van Cauwenberge P. Nasal biopsy is superior to nasal smear for finding eosinophils in nonallergic rhinitis. *Allergy* 1997;52(3):338-41.
- 13) Gevaert P, Lang-Loidolt D, Lackner A, Stammberger H, Staudinger H, Van Zele T, et al. Nasal IL-5 levels determine the response to anti-IL-5 treatment in patients with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118(5):1133-41.
- 14) Klimek L, Reske-Kunz AB, Malling HJ. Methods for monitoring of therapeutic efficacy in immunotherapy of allergic rhinitis. *Wien Med Wochenschr* 1999;149(14-15):394-402.
- 15) Pupek M, Mikulewicz W, Mielnik J, Batycka B, Katnik-Prastowska I. Time-dependent observations of secretion marker levels in nasal secretion after histamine and methacholine provocations. *Arch Immunol Ther Exp* 2003;51(4):259-65.