



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA, RADIOLOGÍA Y PEDIATRÍA

PROGRAMA DE DOCTORADO:

INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Utilidad clínica y epidemiológica de diversos métodos de  
análisis de la curva dosis-respuesta a la prueba de provocación  
bronquial con metacolina

TESIS DOCTORAL

Directores: Prof. Dr. D. Juan Ramón Castillo Ferrando  
Dr. D. Mariano Aguayo Canela

Doctorando: José Luis Sánchez Ramos



## INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	7
1.1. Introducción del problema.....	9
1.2. Definición de conceptos relacionados con la respuesta bronquial .....	16
1.3. Fisiología de la broncoconstricción .....	18
1.4. Pruebas de provocación bronquial.....	20
1.4.1. Específicas.....	20
1.4.1.1. Antígenos .....	20
1.4.1.2. Alergenos ocupacionales .....	21
1.4.2. Inespecíficas .....	21
1.4.2.1. Histamina .....	21
1.4.2.2. Metacolina.....	21
1.4.3. Protocolos de aplicación.....	24
1.4.3.1. Condiciones de medida .....	25
1.4.3.2. Protocolo de laboratorio: .....	27
1.5. Comparación de métodos de valoración de la respuesta.....	29
1.6. Viabilidad del estudio .....	32
1.7. Justificación .....	32
2. OBJETIVOS .....	35
2.1.1. Objetivo general .....	37
2.1.2. Objetivos específicos .....	37
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	39
3.1. Población.....	41
3.2. Muestras.....	41
3.2.1. Fase I: Cuestionario breve sobre sintomatología respiratoria .....	41
3.2.2. Fase II: Cuestionario largo y pruebas objetivas .....	42
3.3. Consentimiento informado .....	42
3.4. Exploraciones .....	42
3.4.1. Cuestionarios .....	43
3.4.2. Pruebas de alergia .....	43
3.4.2.1. Sensibilidad cutánea .....	44
3.4.2.2. Determinación de IgE .....	44
3.4.3. Función Pulmonar .....	44
3.4.3.1. Protocolo de metacolina .....	46

3.5. Control de calidad.....	49
3.6. Análisis de la respuesta bronquial .....	50
3.6.1. PD <sub>20</sub> .....	50
3.6.2. Pendiente de O'Connor .....	51
3.6.3. Pendiente de regresión lineal .....	52
3.6.4. Área bajo la curva dosis-respuesta.....	53
3.6.5. Modelización mediante modelo de efectos aleatorios.....	54
3.6.6. Modelización mediante análisis de supervivencia.....	57
3.7. Validez de criterio .....	61
3.7.1. Índices de discriminación .....	61
3.7.2. Curvas ROC.....	62
3.7.2.1. Elaboración .....	62
3.7.2.2. Comparación entre curvas.....	63
3.8. Propiedades estadísticas de los parámetros que resumen la relación dosis-respuesta .....	65
3.8.1. Normalidad.....	65
3.8.2. Estabilidad de la varianza.....	65
3.9. Programas de análisis estadístico utilizados.....	65
4. RESULTADOS .....	67
4.1. Características demográficas.....	69
4.2. Síntomas .....	69
4.3. Atopia .....	70
4.4. Espirometría basal.....	72
4.5. Prueba de metacolina .....	72
4.6. Validez de criterio .....	73
4.6.1. Índices de discriminación .....	73
4.6.2. Curvas ROC.....	79
4.6.2.1. Ataques de asma en los últimos 12 meses.....	79
4.6.2.2. Sibilancias en los últimos 12 meses .....	82
4.6.2.3. Rinitis .....	84
4.6.2.4. Atopia.....	85
4.6.2.5. Bronquitis crónica.....	86
4.6.3. Modelización mediante modelo de efectos aleatorios.....	91
4.6.4. Modelización mediante análisis de supervivencia (Weibull).....	97
4.6.4.1. Ataques de asma en los últimos 12 meses.....	98

4.6.4.2. Sibilancias en los últimos 12 meses .....	102
4.6.4.3. Rinitis .....	105
4.6.4.4. Atopia.....	107
4.6.4.5. Bronquitis crónica.....	109
4.7. Propiedades estadísticas.....	111
4.7.1. Normalidad.....	112
4.7.2. Homogeneidad de la varianza. ....	117
5. DISCUSIÓN.....	119
6. CONCLUSIONES.....	135
7. BIBLIOGRAFÍA.....	139
8. ÍNDICE DE TABLAS.....	151
9. ÍNDICE DE FIGURAS.....	159
10. ANEXOS.....	165
10.1. Anexo 1. Modelo de consentimiento informado .....	167
10.2. Anexo 2. Cuestionario de síntomas .....	171
10.3. Anexo 3. Secuencia para la realización de pruebas cutáneas .....	177
10.4. Anexo 4. Hoja de anotaciones para las pruebas cutáneas.....	179
10.5. Anexo 5. Cuestionario de función pulmonar.....	181
10.6. Anexo 6. Protocolo de Función Pulmonar.....	187
10.7. Anexo 7. Cálculo de la PD20 .....	207
10.8. Anexo 8. Cálculo de la pendiente de O'Connor .....	209
10.9. Anexo 9. Cálculo de la pendiente mediante regresión lineal .....	211
10.10. Anexo 10. Cálculo del área bajo la curva .....	213
10.11. Anexo 11. Construcción del modelo de regresión polinomial para calcular las respuestas medias ajustadas.....	217



## **1. INTRODUCCIÓN**





## 1.1. Introducción del problema

En condiciones normales, el árbol bronquial responde con una constricción cuando es sometido a diversos estímulos físicos o químicos. Probablemente, la función fisiológica de esta respuesta sea adaptar la ventilación a la perfusión, y también es posible que la broncoconstricción actúe como mecanismo de defensa en el caso de que se inhale una sustancia tóxica o irritante<sup>1</sup>.

La hiperrespuesta bronquial inespecífica es una respuesta de broncoconstricción incrementada a varios estímulos físicos, químicos y farmacológicos<sup>2</sup>. Durante algún tiempo se la consideró patognomónica del asma, pero puede darse en diversas enfermedades: bronquitis crónica<sup>3</sup>, bronquiectasias, rinitis alérgica<sup>4,5,6</sup>, atopia<sup>7,8,9</sup>, sarcoidosis<sup>10</sup>, fibrosis quística<sup>11</sup>, infecciones respiratorias de vías altas<sup>12</sup>, insuficiencia cardíaca, lesiones medulares<sup>13</sup> o hasta en los individuos aparentemente sanos<sup>14</sup>, incluso con una alta prevalencia en atletas de élite<sup>15</sup>. Por tanto, su utilidad diagnóstica y epidemiológica está aún en discusión.

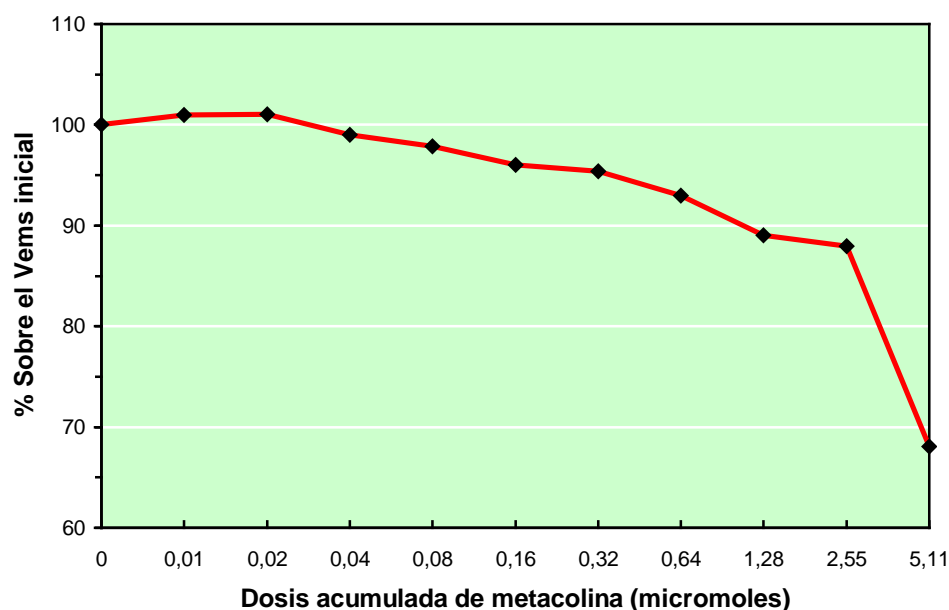
El asma ha tenido siempre un diagnóstico clínico, basado en una historia característica de sibilancias, tos y ataques de falta de aire y apoyado en pruebas objetivas de variaciones en el flujo de aire, fundamentalmente variabilidad en el *peak flow* y respuesta bronquial. Pero aún no se ha establecido una definición estandarizada sobre el tipo, la frecuencia o severidad de los síntomas, o el grado de variabilidad en el flujo aéreo necesario para el diagnóstico de asma<sup>16</sup>.

Por su parte, las medidas objetivas han tenido un amplio uso como marcadores de asma, especialmente en estudios epidemiológicos, y un reciente editorial en el *British Medical Journal* sugería que si quedaban dudas después de una cuidadosa historia y una espirometría, un resultado "positivo" en la monitorización del *peak flow* o en una prueba de metacolina era suficiente para diagnosticar asma<sup>17</sup>. Las dificultades metodológicas en la medición y en la expresión de los resultados de las pruebas objetivas no están totalmente resueltas, por no hablar de la

arbitrariedad con que se establece un resultado “positivo” en estas pruebas. Más importante aún es el hecho de que, si definimos asma en términos de valores extremos en estas pruebas objetivas, estaremos etiquetando como asmáticos a personas que no reconocemos actualmente como clínicamente asmáticos<sup>16</sup>.

La respuesta bronquial puede medirse utilizando diferentes estímulos. La diversidad metodológica en la elección de agentes broncoconstrictores y en la determinación de la respuesta es importante, si bien la metacolina como estímulo broncoconstrictor<sup>18</sup> y el cambio en el volumen espirado máximo en el primer segundo (VEMS) como indicador de la respuesta son los más usados. La relación entre ambos, estímulo y respuesta, se establece a su vez de varias formas.

La mejor idea de la repercusión que produce la metacolina sobre la función pulmonar nos la transmite la representación gráfica de la relación entre dosis y respuesta, lo que se llama curva dosis-respuesta (Figura 1). Es habitual en la literatura encontrar que esta curva se representa colocando en el eje de ordenadas el porcentaje de caída del VEMS, con lo que se invierte el sentido de la representación de la función pulmonar, para hacer más hincapié en la respuesta bronquial. Sin embargo, también es frecuente encontrar representaciones en las que el eje vertical representa directamente el VEMS, como porcentaje del inicial<sup>19</sup>, lo que da una idea más natural de la evolución de la función pulmonar durante la aplicación del estímulo. En el eje horizontal, se suele representar tanto la dosis acumulada de metacolina en una escala directa como en una escala logarítmica. Como esta última es la más habitual, además de permitir una mejor discriminación de la respuesta a las primeras dosis, será la que se utilice preferentemente en este trabajo, junto al porcentaje sobre el VEMS inicial en el eje vertical, conformando una escala semilogarítmica.



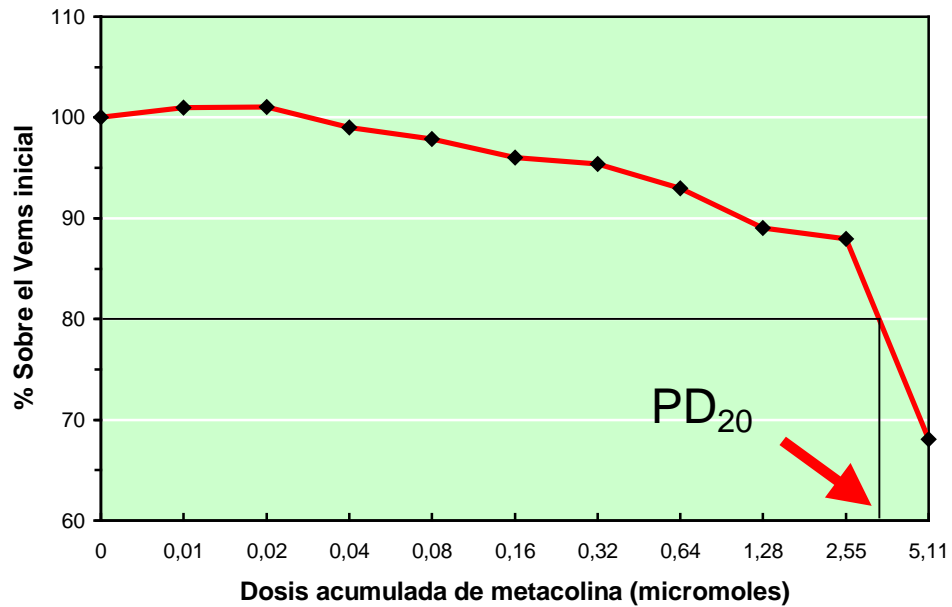
**Figura 1. Curva dosis-respuesta a la metacolina.**

Igualmente, es frecuente encontrar en la literatura la representación de las dosis tanto en unidades del sistema métrico (mg) como en el Sistema Internacional (micromoles). Como no se trata de ningún cambio de escala, sólo de denominación de la dosis, la representación gráfica y los cálculos lineales que se generen a partir de cualquiera de las dos escalas serán idénticos.

Entre las formas de establecer la relación entre la dosis y la respuesta bronquial se incluyen:

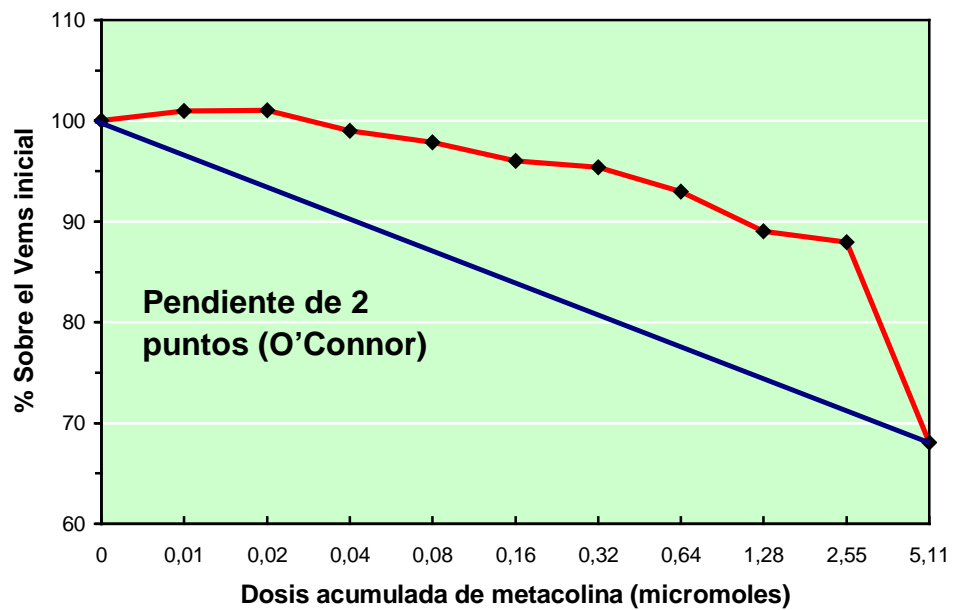
1.  $PD_{20}$  (Provocative Dose 20), o dosis acumulada de metacolina que provoca un 20% de caída en el VEMS. Es el parámetro de referencia en la clínica. Se establece por interpolación lineal entre los dos puntos adyacentes más próximos al valor exacto correspondiente al descenso de 20% en el VEMS<sup>20</sup> (Figura 2). Presenta el inconveniente, para estudios de base poblacional, de que no siempre se alcanza en la exploración una dosis de metacolina suficientemente alta como para

provocar esta caída. Por tanto, sólo se puede estimar en una minoría de los sujetos.



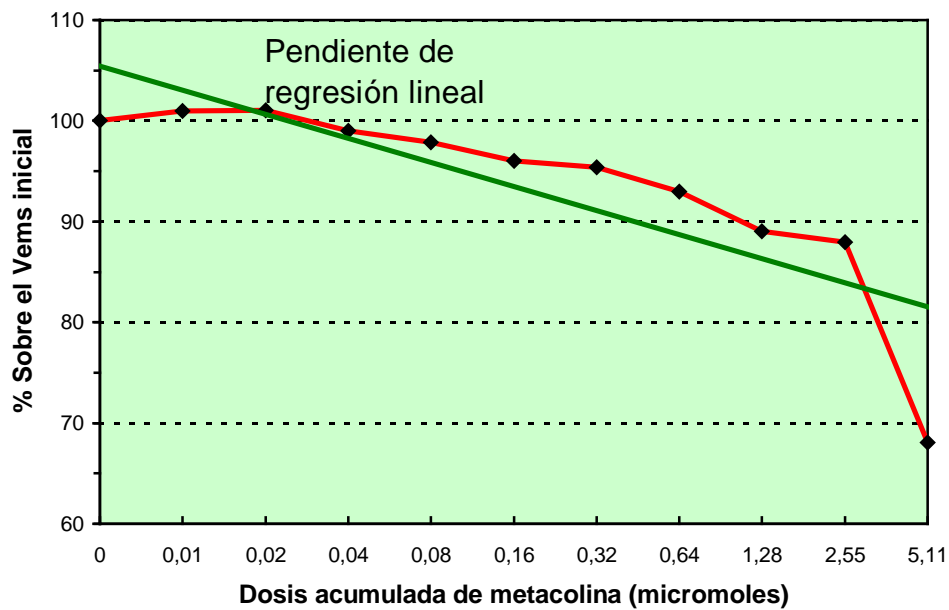
**Figura 2. Cálculo de la PD<sub>20</sub>.**

2. Pendiente de la curva establecida como cociente entre la caída total del VEMS y la dosis acumulada máxima (Figura 3), propuesta por O'Connor y cols. en 1987<sup>21</sup>. También llamada pendiente de dos puntos. Obtiene una medida de la pendiente para todos los sujetos explorados, aunque desprecia la información proporcionada por la velocidad de caída.



**Figura 3. Cálculo de la pendiente por el método de O'Connor**

3. Pendiente de la curva establecida mediante regresión lineal con todos los puntos de la curva<sup>22</sup> (Figura 4). Obtiene igualmente una medida para todos los sujetos explorados, si bien presupone una relación lineal entre la dosis y la respuesta, lo que no siempre ocurre en la realidad. Para obviar este problema se suelen realizar diversas transformaciones de la escala del estímulo, fundamentalmente la transformación logarítmica, pero ello no consigue suficiente ajuste.



**Figura 4. Cálculo de la pendiente mediante regresión lineal.**

4. Área bajo la curva dosis-respuesta<sup>23,24</sup>. Obtiene una estimación individual para todos los sujetos explorados, sin presuponer ningún tipo de relación entre dosis y respuesta. La curva dosis-respuesta acota una superficie bajo su contorno (Figura 5) que refleja la intensidad de la respuesta. Para un individuo que no responda en absoluto, el VEMS se mantendría constante, alrededor del 100% del inicial, a lo largo de todo el estímulo. Como la base del rectángulo, si se miden las dosis acumuladas de metacolina en mg, tiene un valor 1, el área bajo la curva sería de  $100 \times 1 = 100$ .

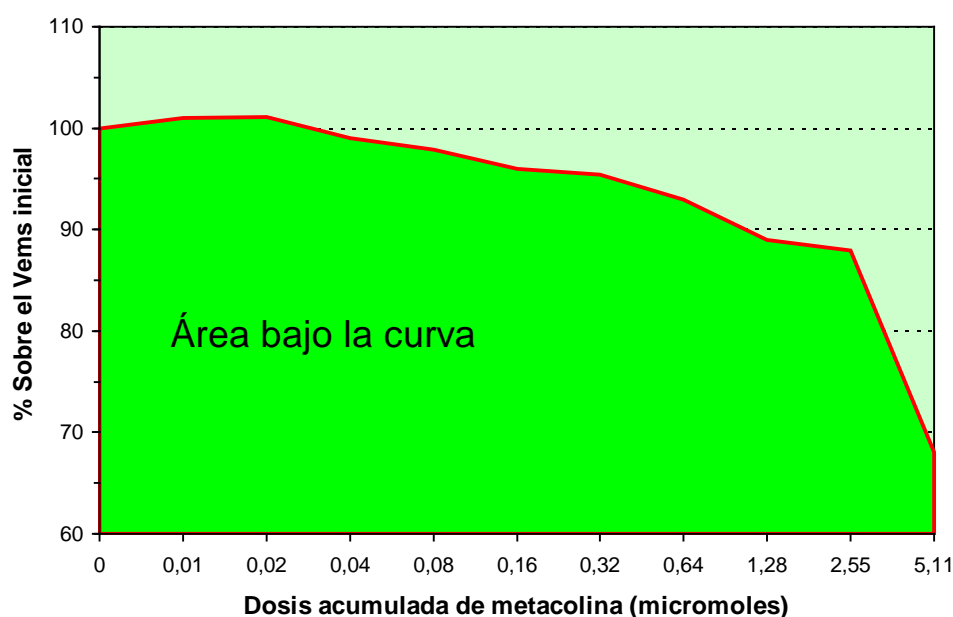


Figura 5. Cálculo del área bajo la curva.

5. Modelización de la curva dosis-respuesta mediante un modelo de efectos aleatorios, propuesto por Sherrill y cols. en 1993<sup>25</sup>. Orientado a la comparación entre grupos más que a la obtención de un índice de reactividad individual. Permite realizar predicciones sobre las tendencias medias en un grupo, teniendo en cuenta simultáneamente las observaciones repetidas de las respuestas en los individuos a cada dosis de metacolina. El modelo incluye un término relativo a los datos combinados de todos los sujetos (tendencia del grupo) y un segundo término que varía en función de la curva dosis-respuesta de cada individuo. El modelo permite la inclusión, como variables predictoras de reactividad, de posibles covariables de interés. El producto final sería un gráfico que refleja la tendencia de la respuesta a la prueba para cada grupo definido, corregida por las covariables y que tiene en cuenta la variabilidad individual en la respuesta a las dosis repetidas de metacolina.
  
6. Modelización mediante métodos paramétricos de análisis de la supervivencia basados en la distribución Weibull, propuesto por

Sunyer y Muñoz<sup>26</sup> en 1996, con los datos de las cinco ciudades españolas participantes en el European Community Respiratory Health Survey. Como en el caso anterior, no proporciona un índice para cada individuo, sino una función de supervivencia que permite calcular la proporción de individuos que no responden antes de una determinada dosis del estímulo provocador. Igualmente, permite controlar el efecto de otras posibles covariables, así como el riesgo creciente de caída del VEMS a medida que aumenta la dosis de metacolina.

## **1.2. Definición de conceptos relacionados con la respuesta bronquial**

En la valoración de la respuesta bronquial a la provocación se utilizan diversos conceptos, a veces aparentemente intercambiables, que conviene definir con alguna precisión:

### **Sensibilidad:**

Es el umbral de dosis que causa una determinada caída en la función pulmonar. Se han propuesto diversos umbrales, como el que produce una respuesta en la función pulmonar de dos desviaciones estándar por debajo de la media de los valores previos a la provocación<sup>27</sup>, pero la PD<sub>20</sub> muestra mayor reproducibilidad<sup>28,29</sup> y mejor discriminación entre sujetos asmáticos y normales<sup>29</sup>. La sensibilidad se manifestaría por desplazamientos laterales en la curva dosis-respuesta. Curvas desplazadas a la izquierda se producen en los individuos más sensibles a la provocación, que reaccionan antes, es decir, a dosis más bajas. Los individuos menos sensibles presentarían una curva más desplazada a la derecha, o incluso no llegarían a presentar caída en la función pulmonar.

### **Reactividad:**

Se define como la pendiente de la curva dosis-respuesta por encima de la dosis umbral. Lógicamente, para su determinación se requieren dosis más altas de estímulo que para estimar la sensibilidad. Diversos estudios muestran que tiene escasa relación con la situación clínica de los asmáticos<sup>30</sup>. Se ha sugerido que la sensibilidad y la reactividad tienen diferentes implicaciones clínicas<sup>31,32</sup>, pero rara vez es posible administrar



una dosis suficiente de estímulo para estimar la reactividad en estudios epidemiológicos<sup>33</sup>.

**Respuesta máxima o *plateau*:**

Cuando se inducen grados de obstrucción superiores a los convencionales puede identificarse un grado máximo de obstrucción en los individuos no asmáticos, por encima del cual no hay pérdida en la función pulmonar aunque se siga incrementando la dosis. Se manifiesta en las curvas dosis-respuesta mediante una respuesta máxima o meseta (*plateau*)<sup>34</sup>. La presencia de esta respuesta máxima y su nivel proporciona información relevante sobre la severidad potencial de la obstrucción de la vía aérea<sup>35</sup>, aunque no siempre se puede determinar<sup>36</sup>, debido a la irregularidad de las curvas. Una respuesta máxima elevada o ausente indica un progresivo estrechamiento de la vía aérea ante el estímulo<sup>37</sup>, lo que se asocia con síntomas de asma<sup>36</sup>.

**Hiperrespuesta bronquial:**

Define una respuesta exagerada a un estímulo broncoconstrictor. Se utiliza como término general, que de alguna manera engloba a alguno de los dos siguientes, o a una combinación entre ellos:

**Hipersensibilidad bronquial:**

Se trataría de un exagerado desplazamiento a la izquierda de la curva dosis-respuesta, es decir, una caída de la función pulmonar a bajas dosis de estímulo. En la literatura este término se contempla a menudo como sinónimo de hiperrespuesta bronquial<sup>38</sup>.

**Hiperreactividad bronquial:**

Incremento en la pendiente de la curva dosis-respuesta, definida por Orehek y cols. ya en 1977 como la característica principal de la respuesta asmática, por encima de la hipersensibilidad<sup>39</sup>.

### 1.3. Fisiología de la broncoconstricción

El músculo liso y sus propiedades contráctiles son la base fisiológica del paciente con broncospasmo. El músculo liso encierra a la vía aérea en una malla entrecruzada, y cuando se contrae el resultado es la broncoconstricción y la limitación del flujo aéreo. Al contrario que el músculo esquelético, en el que una rápida despolarización de una célula produce la contracción del músculo, el músculo liso sufre una despolarización escalonada, lo que produce como resultado un incremento gradual en el tono. La contracción de la musculatura lisa es el resultado de una suma de factores, no la superación de un determinado umbral como en el esquelético. Esta es también la razón por la que permanece contraído (un tono incrementado) durante un cierto período de tiempo<sup>40</sup>.

El músculo liso bronquial es inervado por el sistema nervioso parasimpático, que usa acetilcolina como neurotransmisor. La fibra preganglionar llega desde el sistema nervioso central a un ganglio en la pared de la vía aérea, donde se comunica con la fibra nerviosa posganglionar. La fibra nerviosa preganglionar libera acetilcolina, que estimula a la fibra posganglionar a través de la acción de receptores nicotínicos para liberar acetilcolina. La acetilcolina activa los receptores muscarínicos en la célula muscular lisa de la vía aérea, con lo que se produce la contracción muscular.

A nivel molecular, la acetilcolina liberada difunde desde el nervio terminal y se adhiere a los receptores en las células musculares lisas, lo que produce una serie de cambios intracelulares que resultan en la contracción del músculo liso. Se cree que los individuos hiperrespondedores tienen un número incrementado de receptores de acetilcolina, o una secuencia de sucesos intracelulares más potente. Esta es la base celular de una vía aérea que reacciona demasiado y demasiado fácilmente. Se cree, además, que hay complejos cambios estructurales que juegan un papel importante en la hiperrespuesta.

La metacolina es un análogo de la acetilcolina, y compite por los mismos receptores. La metacolina inhibe también el enzima adenilciclasa, que incrementa una señal intracelular, el AMP cíclico. El AMP cíclico intracelular incrementado tiene un efecto broncodilatador. Como la metacolina no sólo ocupa los receptores, sino que también inhibe la adenilciclasa, el broncospasmo inducido por la metacolina tarda más en revertir que el inducido por la histamina<sup>40</sup>. En un individuo hiperrespondedor este mecanismo puede estar exagerado.

Muchos factores incrementan la activación refleja del sistema parasimpático; entre ellos, el más potente es la irritación de la vía aérea. Esta es, al menos, uno de los mecanismos por los que la histamina induce broncospasmo. El sistema parasimpático es modulado por muchos otros factores fisiológicos, incluida la sugestión.

El sistema nervioso simpático se opone a la estimulación parasimpática del músculo liso de la vía aérea. En humanos, el sistema simpático no envía fibras a la vía aérea. En vez de eso, es activado por neurohormonas como la norepinefrina. Los receptores para esas neurohormonas son llamados  $\beta$ -receptores. El subtipo de  $\beta$ -receptor encontrado en abundancia en la célula muscular lisa es el receptor  $\beta_2$ . Se encuentran también  $\beta_2$  receptores en la fibra nerviosa posganglionar, en donde modulan la actividad parasimpática. Los  $\beta$ -agonistas, como el salbutamol, son un grupo de fármacos antiasmáticos que estimulan estos receptores. El sistema simpático contrarresta la broncoconstricción del sistema parasimpático, y es la suma de los efectos de ambos sistemas lo que determina si la vía aérea estará contraída o dilatada.

La histamina causa broncoconstricción a través de una serie de mecanismos. Causa cambios inflamatorios locales como permeabilidad celular incrementada y contracción del músculo liso, acciones que constituyen los efectos no acetilcolínicos. También actúa como un irritante para la vía aérea y estimula la activación refleja del sistema acetilcolina, con el resultado de broncoconstricción. Se ha especulado que la histamina es un componente clave en el asma mediante esta

activación refleja, especialmente en el asma alérgico. Así, la histamina aerosolizada puede ser una aproximación a una situación real fisiopatológica en la que los mastocitos liberan histamina en el medio intercelular.

#### **1.4. Pruebas de provocación bronquial**

La obstrucción de la vía aérea puede producirse por la contracción del músculo liso de la pared bronquial, tanto con presencia simultánea de inflamación como sin ella. Los cambios inflamatorios pueden incluir hiperemia, exudado plasmático, edema o hipersecreción, que por sí mismos no causan estrechamientos graves de la vía aérea, pero que en combinación con la contracción muscular puede llevar a una obstrucción aguda y grave<sup>41</sup>. Algunos broncoconstrictores actúan predominantemente sobre la contractura del músculo liso (metacolina, histamina), mientras que otros estímulos dependen del papel de mecanismos celulares que provocan indirectamente la contractura, junto con un cierto grado de inflamación (aerosoles no isotónicos, aire seco o frío, ejercicio). Los mecanismos inflamatorios predominan tras la provocación con agentes sensibilizantes (alergenos, sustancias presentes en el puesto de trabajo)<sup>38</sup>.

##### **1.4.1. Específicas**

Las pruebas de provocación bronquial específicas tratan de medir, en condiciones de control, el grado de obstrucción bronquial obtenido al someter al sujeto a la exposición de diversas sustancias relacionadas específicamente con el desencadenamiento de sus crisis asmáticas.

###### **1.4.1.1. Antígenos**

Habitualmente se trata de alergenos como ácaros, pólenes y epitelios de animales, administrados en forma de aerosol, obtenido pasando la solución antigénica por un nebulizador<sup>42</sup>. La respuesta se obtiene mediante la medición de la función pulmonar, fundamentalmente la caída con respecto al VEMS

inicial. Se distingue una respuesta temprana, entre 10 y 20 minutos tras la inhalación, y que se resuelve en 90-120 minutos, y una tardía, entre 3 y 8 horas tras la inhalación<sup>43</sup>.

#### **1.4.1.2. Alergenos ocupacionales**

Se usan estas pruebas como diagnóstico del asma ocupacional, ya que son la única vía para documentar la sensibilización a ciertas sustancias químicas de bajo peso molecular. Está bien documentado el caso del diisocianato de tolueno<sup>44,45,46</sup>.

#### **1.4.2. Inespecíficas**

La utilización de estímulos físicos o farmacológicos constituye el sustrato de las pruebas de provocación bronquial inespecífica. Entre los estímulos físicos, se han utilizado los aerosoles hipo e hipertónicos<sup>47</sup>, el aire frío o seco<sup>48</sup> y el ejercicio<sup>49</sup>. Entre los farmacológicos, nos detendremos por su importancia en la histamina y la metacolina.

##### **1.4.2.1. Histamina**

Se trata de un mediador farmacológico que actúa por un doble mecanismo: desencadenando un reflejo vagal y estimulando directamente receptores histaminérgicos. Su administración por vía inhalatoria induce una rápida broncoconstricción que aparece entre 1 y 2 minutos, manteniéndose su efecto durante 15 minutos (rango 4-37 minutos)<sup>50</sup>. Se ha comprobado una buena reproducibilidad<sup>51</sup> y una buena correlación con los resultados obtenidos con la metacolina<sup>52,53,51</sup>.

##### **1.4.2.2. Metacolina**

Se presenta en forma de cristales muy higroscópicos, incoloros o blancos, o como polvo blanco cristalino, inodoro o con un ligero

olor. Es soluble en 1,2 partes de agua, en 1,7 de alcohol y en 2,1 partes de cloroformo<sup>54</sup>.

Es un amonio cuaternario parasimpaticomimético, con las mismas acciones muscarínicas que la acetilcolina. Estimula los receptores muscarínicos parasimpáticos posganglionares, provocando una contracción del músculo liso de la vía aérea e incrementando las secreciones traqueobronquiales<sup>12</sup>. Es hidrolizado por la colinesterasa a una velocidad considerablemente menor que la acetilcolina, y es más resistente a las colinesterasas no específicas, por lo que sus acciones son más prolongadas<sup>54</sup>.

El pico de respuesta tras la administración inhalada se produce entre 1 y 4 minutos, y la duración de una única dosis si no se administra un broncodilatador es de unos 75 minutos, con un rango entre 12 y 150 minutos<sup>12,55</sup>.

Puede producir reacciones adversas en el sistema nervioso central (dolor de cabeza, fotofobia), gastrointestinal (irritación de garganta), respiratorio (opresión en el pecho, disnea, tos, sibilancias, incremento de las secreciones) o dermatológico (prurito), y no se puede emplear en embarazadas (categoría C en cuanto a riesgo en el embarazo de la Food and Drug Administration)<sup>56</sup>.

Interacciona con los bloqueantes beta-adrenérgicos, los anticolinérgicos (atropina, cromoglicato sódico) y los antiepilépticos (clorfenilamina, dexclorfenilamina)<sup>56</sup>. La Tabla 1 resume las principales interacciones

Sustancia	Mecanismo	Recomendaciones
Ácido ascórbico	Reduce la reactividad de la vía aérea en pacientes asmáticos	Debe evitarse
Atropina	Inhibe la respuesta broncoconstrictora inducida por la metacolina	Debe evitarse
Bloqueantes beta-adrenérgicos	Su uso concomitante con la metacolina puede provocar respuestas exageradas o prolongadas que no responderán adecuadamente a la terapia bronodilatadora, probablemente por contracción sinérgica del músculo liso	
Clorfenilamina	Aunque el mecanismo no está totalmente claro, se presume que la clorfenilamina cambia la respuesta de la vía aérea a la metacolina	Si es posible, debe evitarse 48 horas antes de la prueba
Cromoglicato sódico	Estudios recientes han demostrado que no altera la respuesta bronquial	Se recomienda suspender su administración 24 horas antes de la prueba
Dexclorfenilamina	Aunque el mecanismo no está totalmente claro, se presume que la clorfenilamina cambia la respuesta	Si es posible, su administración debe ser interrumpida 48 horas antes de la prueba
Fenoterol/Ipratropio	El ipratropio es un antagonista colinérgico que inhibe la respuesta broncoconstrictora inducida por la inhalación de metacolina.	Debe evitarse
Hidroxicina	Aunque el mecanismo no está claro, se presume que modifica la respuesta de la vía aérea a la metacolina	Debe ser interrumpida 48 a 96 horas antes de la prueba
Metaproterenol	“	Si es posible, debe ser interrumpido 8 horas antes de la prueba
Nifedipino	“	Si es posible, debe ser interrumpido antes de la prueba
Prednisolona/ Prednisona	“	Si es posible, debe ser interrumpida antes de la prueba, o hacerla en un día en el que no se haya administrado el tratamiento si éste es en días alternos
Reproterol	“	Si es posible, debe interrumpirse 8 horas antes de la prueba
Teofilina	“	Si es posible, debe interrumpirse de 6 a 8 horas antes de la realización de la prueba, o 12 horas para los productos de liberación retardada
Troleandomicina	Algunos autores han demostrado que no tiene efecto sobre la reactividad bronquial,	Si es posible debe interrumpirse antes de la prueba

**Tabla 1. Principales interacciones medicamentosas de la metacolina.**

Su única utilidad clínica es la diagnóstica, inicialmente de asma, especialmente en pacientes con sintomatología sugerente aunque

no específica de asma<sup>57</sup>, aunque también se ha usado para evaluar la severidad del proceso en pacientes asmáticos<sup>58</sup> y para ajustar el tratamiento<sup>59</sup>

Para la administración por vía inhalatoria se debe proceder a la dilución de la presentación en forma de polvo seco en una solución salina. De esta forma mejora tanto su tolerancia en el árbol bronquial como su conservación<sup>50</sup>. Se ha demostrado que, a temperatura ambiente, la metacolina pierde un 10% de su potencia en 48 días y hasta un 50% en 10 meses. Si se mantiene a 4° C, la pérdida de potencia es más lenta, necesiéndose alrededor de 128 días para detectar una pérdida del 10% de su actividad<sup>60</sup>.

#### **1.4.3. Protocolos de aplicación**

En 1983 se publicaron las primeras normas para estandarizar la medición de la hiperrespuesta bronquial, por parte de la European Respiratory Society<sup>20</sup>. En esta publicación se narra la historia de las pruebas, citando un artículo de Dautrebande y Phillipot, en 1941, como el primer informe de que los asmáticos eran más sensibles a los efectos bronquiales de la histamina y los agentes colinérgicos que los sujetos normales<sup>61</sup>. El primer uso de la dosis estimada para producir una caída relevante en la función pulmonar se debe a Tiffeneau, en 1958<sup>62</sup>. La idea fue posteriormente definida más formalmente por Cockcroft y cols., en 1977, como la concentración estimada para producir un 20% de caída en el VEMS<sup>63</sup>.

Una nueva versión de las normas que regulan las “Pruebas de provocación estandarizadas con estímulos farmacológicos, físicos y sensibilizantes en adultos” se publicó en 1993, como informe de un grupo de trabajo que establece la normativa oficial de la European Respiratory Society<sup>38</sup>. Resumidamente, estas normas establecen las condiciones de medida, como la selección de los sujetos, la elección del estímulo, la administración del estímulo, el método de medida de



la broncostricción y las precauciones a tomar, tanto médicas como técnicas, y todo ello para los distintos protocolos de laboratorio aplicado a cada uno de los estímulos broncoprovocadores. Incluyen también recomendaciones para el análisis y la interpretación de los resultados obtenidos, tanto en el medio clínico como en estudios de investigación.

Por su importancia para la realización de la presente tesis doctoral, resumiremos aquí las normas relativas a la prueba de provocación con metacolina:

#### **1.4.3.1. Condiciones de medida**

Aunque los procedimientos estandarizados se han mostrado seguros en numerosos estudios clínicos, se recomiendan las siguientes contraindicaciones absolutas:

- Obstrucción severa de la vía aérea a nivel basal (VEMS <1,2 litros en adultos)
- Infarto de miocardio reciente (menos de tres meses)
- Accidente vascular cerebral reciente (menos de tres meses)
- Aneurisma arterial
- Incapacidad para comprender los procedimientos y las implicaciones de la prueba

Como contraindicaciones relativas se establecen las siguientes:

- Obstrucción de la vía aérea inducida por la espirometría
- Obstrucción de la vía aérea moderada o severa (VEMS menor del VEMS predicho menos tres desviaciones típicas: VEMS predicho menos 1,5 litros en varones y VEMS predicho menos 1,2 litros en mujeres)
- Infección respiratoria de vías altas reciente (menos de dos semanas)
- Exacerbación de asma
- Hipertensión

- Embarazo
- Epilepsia que requiera tratamiento farmacológico

#### Características de los sujetos:

Se recomienda documentar cualquier exposición reciente y relevante a alérgenos o sustancias sensibilizantes, así como registrar cualquier tratamiento farmacológico, incluyendo la dosis y horario. El uso de broncodilatadores orales o inhalados impedirá la realización de la prueba durante la duración de su acción. El cromoglicato, el nedocromil o los corticoides, aunque no tienen un efecto agudo, deben tenerse en cuenta cuando se interpreten los resultados. El efecto del consumo previo de cafeína o tabaco es probablemente pequeño, aunque controvertido.

#### Precauciones:

Se recomienda disponer de personal entrenado en asma severa aguda, y de oxígeno y broncodilatadores. En particular, en los estudios epidemiológicos puede llevarse a cabo la prueba incluso sin la presencia de un médico si:

- Se utiliza un protocolo estandarizado y la dosis de comienzo es baja
- El VEMS basal es mayor que el predicho menos tres desviaciones típicas, y mayor o igual a 2 litros
- Tras la administración del diluyente no se produce una broncoconstricción importante
- La prueba la realiza un técnico entrenado y experimentado
- Se puede disponer rápidamente de oxígeno y de un agente beta-2-adrenérgico
- El médico responsable o un médico local informado y capacitado para el manejo de la broncoconstricción puede ver al sujeto rápidamente (en 10 minutos) en caso de emergencia

En todo caso, el paciente no debe quedar desatendido en ningún momento. Debe ser instruido para que interrumpa la inhalación si

nota algún síntoma molesto. Al finalizar la prueba, el paciente no debe abandonar la zona hasta que su broncoconstricción haya remitido, tanto de forma espontánea como con broncodilatador inhalado (hasta valores del VEMS mayores del 90% del basal). El paciente debe recibir instrucciones para el caso de que la broncoconstricción recidive en las 24 horas siguientes a la prueba.

#### **1.4.3.2. Protocolo de laboratorio:**

La medida del VEMS está bien estandarizada. Incluso aunque el registro del VEMS afecte implícitamente al grado de obstrucción debido a la inspiración profunda previa, que de por sí modifica la respuesta, su uso en medidas seriadas de la respuesta de la vía aérea lleva a los resultados más reproducibles. El pH de la solución de metacolina es estable y no se necesita un diluyente tamponado. Se empleará solución salina como diluyente, ya que se ha demostrado que la tamponada con fosfato muestra una inestabilidad química durante un periodo de tres meses. El polvo de metacolina es altamente higroscópico<sup>64</sup>; debe ser almacenado en un contenedor seco y frío, y manejado cuidadosamente para asegurar las condiciones de sequedad. La viscosidad aumenta a altas concentraciones, y la salida de los nebulizadores para un flujo determinado puede verse reducida, y necesitar ajustes. Debe almacenarse a 4° C, protegida de la luz. En estas condiciones es estable al menos durante 3 meses, aunque la contaminación bacteriana la degrada rápidamente. Como la temperatura afecta a la salida del nebulizador, debe colocarse a temperatura ambiente al menos 30 minutos antes de su uso.

La salida del nebulizador aumenta con la presión y el flujo de aire comprimido que le llegan, por lo que deben calibrarse los nebulizadores para que operen a una salida conocida. La calibración debe realizarse exactamente en las mismas condiciones en las que se desarrollará la prueba. El método más simple de calibración consiste en evaluar la pérdida de peso del

nebulizador. La pérdida de peso por cada disparo se utiliza para calcular la dosis acumulada para la estimación de la  $PD_{20}$ . La salida de los nebulizadores varía considerablemente de unos lotes a otros, e incluso entre unidades del mismo lote. Pero es bastante consistente dentro de una misma unidad, si se efectúa correctamente la limpieza del nebulizador, incluso después de un período prolongado de uso. En todo caso, se recomienda la comprobación periódica de la salida del nebulizador.

La mayoría de los nebulizadores tipo jet generan gotitas heterodispersas con un diámetro MMAD (Mediana del diámetro de la masa aerodinámica) de entre 1 y 4 micras. Variaciones dentro de este rango tienen poco efecto sobre la respuesta.

Cuando el aire comprimido pasa a través de los nebulizadores se produce una evaporación importante, y las soluciones se enfrían y se concentran. Después de 2 minutos de nebulización, la concentración se incrementa en un 10%. La salida del nebulizador también disminuye con el frío. Para controlar ambos efectos, las soluciones deben ser descartadas tras el uso y no se debe permitir a los pacientes que aprieten el nebulizador con la mano caliente.

Un dosímetro es un sistema de válvula eléctrica que permite la administración del aerosol únicamente durante la inspiración. Un sensor de flujo dispara un solenoide que expone al nebulizador a aire comprimido a 138 kPa durante un tiempo determinado. El bolo de aerosol es inhalado y retenido durante 5 segundos.

El estrechamiento de la vía aérea puede calcularse como porcentaje de caída en el VEMS, por dos procedimientos: tomando como referencia el más bajo VEMS posdiluyente, o como media de tres valores de VEMS basales. La  $PD_{20}$  se obtiene mediante interpolación lineal entre los dos últimos puntos de la curva dosis-respuesta. Debe evitarse la extrapolación de las curvas dosis-respuesta, aunque puede ser apropiada en un rango

de dosis que no exceda de la siguiente dosis duplicada. A la salida de nebulizador recomendada, la  $PD_{20}$  normal para un adulto es mayor o igual a 7,8 micromoles, aunque éste es un punto de corte arbitrario.

### **1.5. Comparación de métodos de valoración de la respuesta**

Se han realizado varios estudios que comparan la utilidad de los diversos índices de respuesta a la provocación bronquial (Rijcken y cols. en 1989<sup>65</sup>, Peat y cols. en 1991<sup>66</sup> y 1992<sup>67</sup>, Chinn y cols. en 1993<sup>22</sup>). Suelen basarse en la capacidad discriminativa entre sintomáticos y no sintomáticos de cada índice, mediante la comparación de los índices promedio de cada grupo, así como en sus propiedades estadísticas.

Idealmente, la definición de un criterio diagnóstico que discrimine entre los “sanos” y los “enfermos” debería permitir, al estudiar una población en la que ambos grupos se encuentran mezclados, que la mayoría de los enfermos obtuviesen una valoración alta en el criterio, en tanto que la mayoría de los sanos obtuviesen una valoración baja. Hablando en términos de la distribución de la variable que se elija como criterio, debería tener una distribución bimodal, con una moda para los sanos, en la zona baja del rango de valores, y otra para los enfermos, suficientemente alejada y con escaso solapamiento. Los estudios que comparan individuos claramente enfermos con individuos claramente sanos tienden a obtener estas nítidas separaciones<sup>68</sup>.

Sin embargo, en la práctica nos encontramos con situaciones bien distintas. Orehek y cols<sup>39</sup> sugerían que en la población general la subpoblación de asmáticos se caracterizaría por un alto nivel de respuesta, con poca variabilidad, en tanto que los sujetos sin asma tendrían una respuesta baja, aunque muy variable. Cockcroft y cols., estudiando una muestra aleatoria de 300 estudiantes de 20 a 29 años, comprobaron que más que representar un pico separado (bimodal) o presentar un punto de corte nítido, los sujetos asmáticos mostraban un

sustancial solapamiento con el resto de la población<sup>69</sup>. Otros estudios han encontrado similares distribuciones de la respuesta a la metacolina<sup>21,70</sup>.

Resulta por tanto evidente que no es una cuestión resuelta la separación entre los que tienen y los que no tienen una respuesta excesiva a la prueba de metacolina. En el ámbito clínico se ha impuesto, por el uso, la norma de considerar hiperrespondedora a toda persona que sufra una caída del 20% en su función pulmonar (VEMS) tras la administración de un estímulo broncoconstrictor. Pero esto no deja de ser un convenio, que lleva a considerar dicotómica la respuesta bronquial a los estímulos, cuando toda la experiencia pone en evidencia lo contrario. La dosis a la que se produce esta caída, a la que llamamos PD<sub>20</sub>, es una magnitud continua, que sólo se puede calcular para aquellos individuos que llegan a caer por debajo de este nivel.

Cuando se trata de “comprobar” una sospecha de asma, o de establecer la severidad, o la eficacia del tratamiento, este planteamiento podría ser aún válido. Pero si se trata de estudios epidemiológicos, en los que precisamente la evaluación de la hiperrespuesta bronquial se plantea como una medida objetiva de asma en la población<sup>69</sup>, cuando no de una mejor comprensión de la historia natural de la enfermedad, o de las interrelaciones entre factores predisponentes, reactividad bronquial y síntomas o crisis asmáticas, el proceso requiere de una mirada más detenida.

Se hace necesario, por tanto, definir criterios que permitan la separación más nítida posible entre respuestas “positivas” y “negativas” a la prueba de provocación bronquial con metacolina, que intenten aprovechar toda la información que proporciona todo el desarrollo de la prueba, es decir, toda la curva dosis-respuesta.

Cualquier criterio diagnóstico que se establezca a partir de una medida continua precisará de la definición de un punto de corte adecuado, y éste variará en función del interés que tenga el investigador o el clínico en resaltar la sensibilidad o la especificidad de la prueba. Es importante, por

tanto, a la hora de evaluar la validez de éstas medidas, que se realice la validación teniendo en cuenta todo el rango posible de puntos de corte, y sobre un espectro de sujetos suficientemente representativo del colectivo al que se aplicará la prueba posteriormente<sup>71</sup>. El procedimiento adecuado para ello es el uso de las curvas que relacionan la sensibilidad y especificidad de una prueba para cada uno de los puntos de corte: curvas de características operativas para el receptor (Receiver-Operator Characteristic, ROC)<sup>72</sup>. Estas curvas se generaron en el contexto de las telecomunicaciones a partir de los problemas de recepción de señales, e importadas luego al ámbito médico por Lusted en 1971<sup>73</sup>.

Dadas las propiedades deseables que debería tener un criterio diagnóstico de este tipo, es decir, validez y precisión, las normas de evaluación que se utilizarán para comparar los distintos criterios serán las siguientes:

1. Debe permitir su cálculo en todos los individuos, aunque no se hayan alcanzado determinadas dosis de exposición.
2. Debe discriminar apropiadamente entre individuos con y sin características asociadas a la hiperrespuesta bronquial (historia de ataques de asma, sibilancias, etc.).
3. Debe permitir el cálculo de puntos no medidos en la curva dosis-respuesta sin excesivos errores de interpolación.
4. Aunque la complejidad metodológica no debe frenar el avance en el conocimiento, una medida con una interpretación inmediata tendrá más posibilidades de ser aceptada y aplicada, tanto en el medio clínico como en el de investigación.
5. Sería deseable que su distribución tuviese las propiedades estadísticas de normalidad y estabilidad de la varianza requeridas para su utilización en posteriores análisis que intenten evaluar su asociación, tanto con presuntos factores de riesgo de hiperrespuesta bronquial, como con fenómenos consecuentes a la misma.

## **1.6. Viabilidad del estudio**

Nuestro grupo de investigación, en el Hospital Juan Ramón Jiménez de Huelva, participa como centro colaborador en el Estudio Europeo de Salud Respiratoria (European Community Respiratory Health Study, ECRHS). Se trata de un estudio transversal sobre problemas respiratorios, realizado mediante un protocolo común en dos fases. En la primera se analiza la prevalencia de síntomas en una muestra de base poblacional de un mínimo de 3.000 adultos entre 20 y 44 años en cada uno de los 48 centros colaboradores, fundamentalmente de Europa occidental. En la segunda, se hace un estudio más detallado, incluyendo provocación bronquial con metacolina, a una submuestra aleatoria de unas 600 personas, además de estudiar a aquellos de la primera fase que presentasen síntomas sugerentes de asma<sup>74</sup>. Entre los cinco centros españoles que participaron en el estudio (Albacete, Barcelona, Galdakao, Huelva y Oviedo) se completaron un total de 1.825 pruebas de metacolina<sup>75</sup>.

El ECRHS está financiado con fondos de la Comunidad Económica Europea y ayudas del Fondo de Investigaciones Sanitarias: FIS 91/001606 (00E-05E) y 93/0393. El centro coordinador del ECRHS en España, radicado en Barcelona, ha autorizado la utilización de los datos correspondientes de los cinco centros españoles para este trabajo. La disponibilidad de estos datos permite su utilización para la evaluación de los distintos métodos de medición de la respuesta a la metacolina.

## **1.7. Justificación**

La revisión del estado actual de conocimientos sobre el tema, y sobre todo, la experiencia personal de participación en el ECRHS, un estudio dirigido a determinar la etiología del asma que utiliza la hiperreactividad bronquial como parte de la definición operativa de la enfermedad, nos plantea la necesidad de aumentar nuestro conocimiento sobre el valor de los diversos métodos de expresión de la prueba de provocación bronquial con metacolina. La respuesta bronquial a la metacolina es una magnitud continua, y se necesitan por tanto formas válidas de resumirla para cada



individuo en particular, así como para cada grupo de individuos. Del mismo modo, se necesitan límites claros de separación que permitan, en su caso, discernir si una persona cae o no dentro de la categoría de respuesta bronquial elevada.



## **2. OBJETIVOS**



### **2.1.1. Objetivo general**

Evaluar la utilidad clínica y epidemiológica de diversos métodos de medición de la respuesta bronquial a la prueba de provocación con metacolina. Los métodos que se evaluarán serán:  $PD_{20}$ , pendiente de O'Connor, pendiente obtenida mediante regresión lineal, área bajo la curva dosis-respuesta, modelo de efectos aleatorios y supervivencia basada en la distribución Weibull.

### **2.1.2. Objetivos específicos**

1. Evaluar la validez de criterio de los diversos métodos de medición de la respuesta bronquial, usando como criterios de referencia los cinco siguientes: haber tenido ataques de asma en los últimos doce meses, haber tenido sibilantes en los últimos doce meses, el consumo de tabaco, los antecedentes de rinitis y la presencia de atopia.
2. Determinar, para cada uno de los métodos, los puntos de corte más adecuados para la discriminación entre respuestas "positivas" y "negativas" a la prueba de metacolina.
3. Evaluar las propiedades estadísticas de normalidad y estabilidad de la varianza de los diversos métodos de medición de la respuesta bronquial.



### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**





### 3.1. Población

La población a la que se refiere este estudio es la población de derecho residente en los municipios de Albacete, Barcelona, Galdakao, Huelva y Oviedo. Según el censo oficial, el correspondiente a 1991, vigente en el momento de realización del trabajo de campo, estaba formada por 2.140.735 personas, de las cuales 1.125.772 eran mujeres y 1.014.963 varones<sup>76</sup>.

	Varones	Mujeres	Total
Albacete	63.649	66.377	130.026
Barcelona	775.983	867.559	1.643.542
Galdakao	14.263	14.306	28.569
Huelva	69.112	73.435	142.547
Oviedo	91.956	104.095	196.051
Total	1.014.963	1.125.772	2.140.735

**Tabla 2. Población representada en el estudio**

Siguiendo el protocolo del Estudio Europeo de Salud Respiratoria<sup>74</sup>, se seleccionó la población de entre 20 y 44 años. Se usó como marco de muestreo el Padrón Municipal de Habitantes.

### 3.2. Muestras

#### 3.2.1. Fase I: Cuestionario breve sobre sintomatología respiratoria

Se obtuvo una muestra aleatoria de un mínimo de 1.500 mujeres y 1.500 varones en cada municipio, estratificada por sexo y por quinquenios de edad, con asignación proporcional al tamaño de cada estrato. De esta forma, la muestra final estaría autoponderada<sup>77</sup>. El tamaño de esta muestra estaba calculado para, en el ámbito de todo el estudio europeo, obtener una potencia del 90% en la detección de prevalencias de asma en determinadas áreas de estudio que llegasen a duplicar las encontradas en otras, asumiendo una prevalencia de síntomas de un 5%<sup>74</sup>.

### **3.2.2. Fase II: Cuestionario largo y pruebas objetivas**

A partir de las 3.000 personas obtenidas en la fase anterior, se obtuvo una submuestra aleatoria, mediante la opción correspondiente del programa SPSS<sup>78</sup>, del 20% de la muestra inicial. El tamaño de esta muestra estaba calculado para obtener variaciones significativas en la prueba de metacolina en distintas áreas de estudio, asumiendo una prevalencia de hiperrespuesta bronquial de un 14%<sup>74</sup>.

A esta muestra aleatoria se añadió, para incluirlos en la segunda fase, a todos los sintomáticos, es decir aquellos que en la fase I del estudio hubiesen respondido afirmativamente a alguna de las preguntas siguientes:

- ¿Se ha despertado por la noche con una sensación de opresión o tirantez en el pecho alguna vez en los últimos 12 meses?
- ¿Ha tenido algún ataque de asma en los últimos 12 meses?
- ¿Toma actualmente alguna medicina (incluyendo inhaladores, aerosoles o pastillas) para el asma?

### **3.3. Consentimiento informado**

El protocolo de estudio fue aprobado por la Comisión de Investigación de cada uno de los centros participantes, y las personas seleccionadas para la Fase II, una vez informadas del contenido de las exploraciones, dieron su consentimiento por escrito para cada una de las pruebas antes de su realización. En el Anexo 1 se recoge el modelo de consentimiento utilizado.

### **3.4. Exploraciones**

Las personas seleccionadas para la Fase II fueron citadas en un centro sanitario, y en la misma sesión se rellenaba el cuestionario principal, se

aplicaban las pruebas de sensibilidad cutánea para la determinación de la atopia, se extraía la muestra de sangre y se realizaban las pruebas de función pulmonar.

#### **3.4.1. Cuestionarios**

Los cuestionarios fueron desarrollados a partir de cuestionarios previamente validados y experimentados en estudios multinacionales. Las preguntas sobre síntomas e historial médico se tomaron del Cuestionario de la Unión Internacional contra la Tuberculosis y las Enfermedades Pulmonares (International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, IUATLD). Las preguntas sobre hábito tabáquico se han tomado del Programa de Acción contra el Cáncer. En el Anexo 2 se recoge una copia del cuestionario de síntomas utilizado.

Se comprobó su comprensibilidad, y fueron traducidos según un procedimiento de traducción y retrotraducción al inglés para cada una de las lenguas utilizadas (catalán, euskera y castellano).

El cuestionario corto fue enviado por correo y autoadministrado, aunque algunos de los centros realizaron buena parte de ellos por teléfono. El cuestionario principal y el cuestionario corto donde no fue autoadministrado, fueron administrados por encuestadores entrenados.

#### **3.4.2. Pruebas de alergia**

La atopia es una predisposición genética para desarrollar una respuesta inmune mediada por IgE a antígenos ambientales, a los que no son sensibles los individuos no atópicos. La expresión de un fenotipo atópico requiere la interacción de una predisposición genética con alérgenos medioambientales. Pueden utilizarse dos tipos de pruebas para determinar el estatus atópico: la medida de la sensibilidad cutánea a alérgenos y la medida de la IgE sérica.

#### **3.4.2.1. Sensibilidad cutánea**

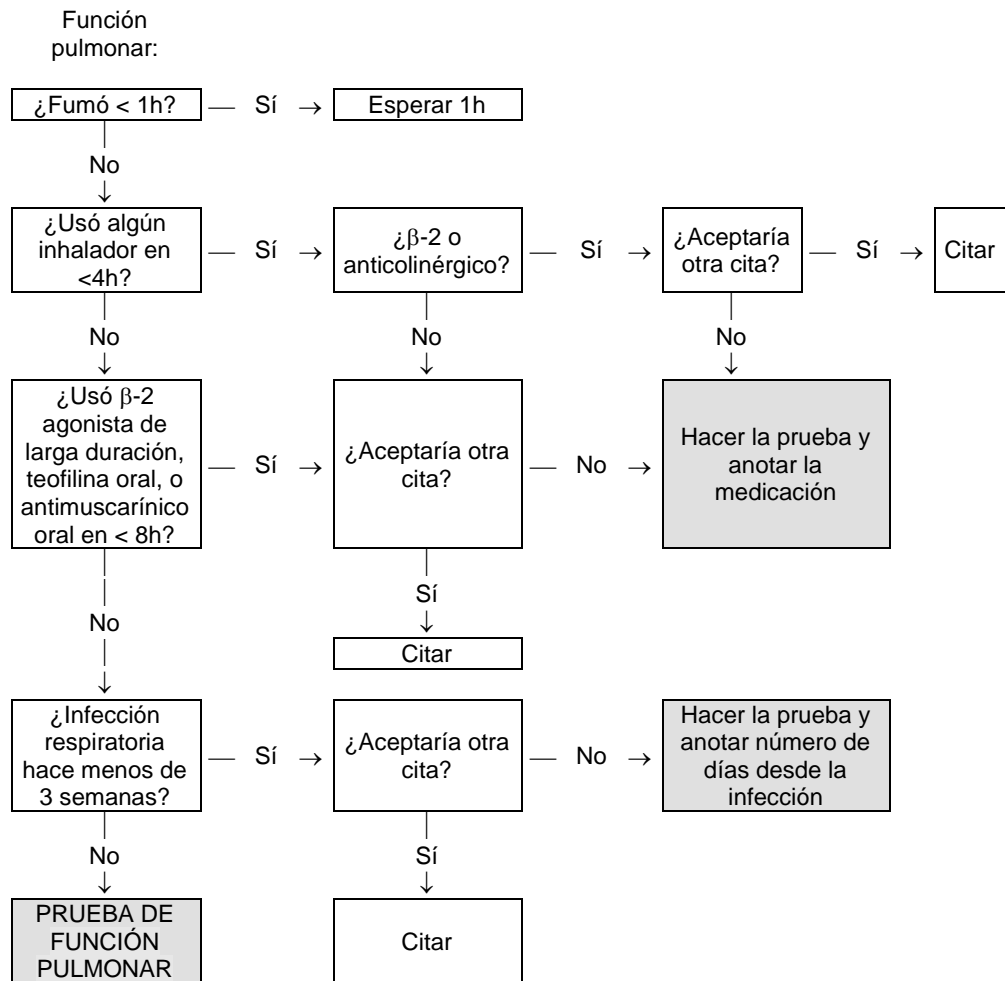
Se usaron técnicas estandarizadas para la aplicación de las pruebas cutáneas. El Phazet (Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala) es una lanceta cuya punta está recubierta por un alérgeno estándar liofilizado. Tras preguntar por cualquier medicación que pudiera interferir en los resultados, los técnicos previamente entrenados (ver control de calidad) siguieron la secuencia que se recoge en el Anexo 3, establecida en el protocolo de investigación del EERCS. Los resultados se registraron en la hoja que se presenta en el Anexo 4.

#### **3.4.2.2. Determinación de IgE**

La IgE sérica puede ser medida como IgE total o como IgE específica frente a determinados alérgenos específicos. Se extrajeron 10 ml de sangre de cada participante adulto, y se envió una alícuota con suero a Pharmacia (Uppsala, Suecia) para el análisis de IgE específica (sistema Phadiotop) e IgE total.

#### **3.4.3. Función Pulmonar**

El protocolo llevado a cabo para la realización de las pruebas de función pulmonar se detalla en el Anexo 6. Muy resumidamente, se le realizó inicialmente una espirometría basal a aquellos sujetos que acudieron al centro, siempre que no hubiesen fumado en la última hora, no hubiesen tomado medicación inhalada, o padecido una infección de las vías respiratorias en las últimas tres semanas. La Figura 6 resume los criterios para la realización de las pruebas de función pulmonar.



**Figura 6. Diagrama de decisión para los criterios de realización de las pruebas de función pulmonar**

Todas estas circunstancias se comprobaron mediante la aplicación previa de un cuestionario de función pulmonar, recogido en el Anexo 5.

Se inició la prueba registrando maniobras de Capacidad Vital Forzada (FVC) completas y el VEMS, con los criterios de aceptación que se resumen en la Figura 7. Una vez iniciada la espirometría basal, se realizó la prueba de metacolina si el sujeto: había podido realizar al menos dos maniobras técnicamente satisfactorias durante la espirometría basal, tenía un VEMS superior a 1,5 litros y mayor del 70% del predicho, dió su consentimiento para la prueba de metacolina, y no estaba dentro de los criterios de exclusión reseñados en

la Figura 8, que fueron detectados mediante el cuestionario de función pulmonar. En caso de no cumplir con alguno de estos criterios, se solicitó al sujeto su consentimiento para la realización de una prueba broncodilatadora con 400 microgramos de salbutamol (Anexo 6).

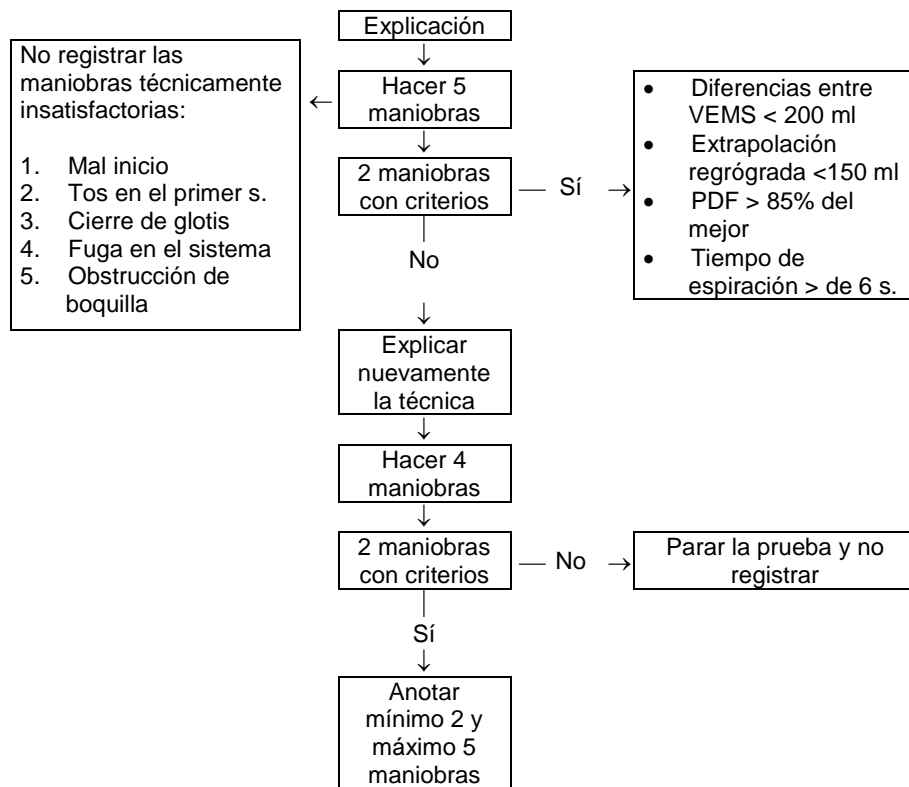
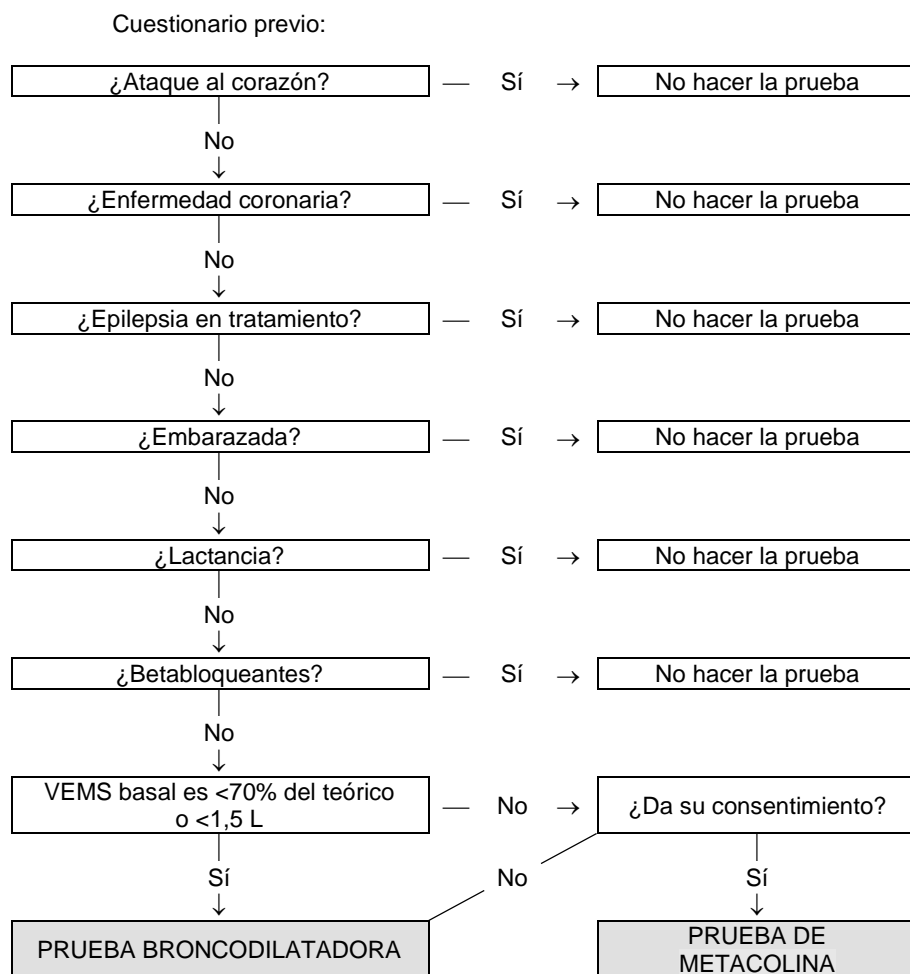


Figura 7. Diagrama de decisión para los criterios de calidad de la espirometría basal

### 3.4.3.1. Protocolo de metacolina

Se registraron el VEMS y la FVC iniciales, calculando el mejor VEMS inicial como porcentaje del valor predicho para la edad, altura, peso y sexo.



**Figura 8. Diagrama de decisión: criterios para el comienzo de la prueba de provocación bronquial con metacolina.**

### **Medición de control (post-diluyente) VEMS**

El VEMS de control es el VEMS medido después de inhalar el diluyente. Se administraron cuatro inhalaciones de diluyente. Se calculó el mejor VEMS de control como porcentaje del mejor VEMS inicial.

La prueba de broncoprovocación con metacolina no se llevó a cabo si el mejor VEMS de control era inferior al 90% del mejor VEMS inicial. En este caso, se invirtió la broncoconstricción mediante la administración de 400 microgramos de salbutamol vía Volumatic y se repitieron las maniobras FVC completas.

Durante la prueba con metacolina es posible que el sujeto tenga que realizar 30 maniobras de espiración o más, por lo que para minimizar el cansancio la espiración forzada se mantuvo sólo el tiempo necesario para registrar el VEMS.

- Se realizaron hasta cinco intentos para registrar un VEMS dos minutos después de inhalar del dosímetro.
- Se registraron los valores correspondientes a las primeras dos maniobras técnicamente satisfactorias. La siguiente dosis se suministró inmediatamente después de finalizar estas mediciones.
- Se abandonó la realización de pruebas adicionales si el sujeto no fue capaz de producir dos maniobras técnicamente satisfactorias en cinco intentos.

### Programa de dosificación

Elección de protocolo largo o corto

A cada sujeto se le sometió a la metacolina siguiendo el protocolo corto o largo (Tabla 3). El protocolo largo se incrementa mediante la duplicación de dosis y el corto, mediante su cuadruplicación. Aquellos sujetos que respondieron 'Sí' a las preguntas 1, 2, 3, 5, 11 o 14 del Cuestionario se consideraron de mayor probabilidad de reacción ante la metacolina y fueron sometidos al protocolo largo.

Dosis	Concentración (mg/ml)	Nº de inhalaciones		Dosis acumulada (mg)
		LARGO	CORTO	
1	0,195	1		0,00195
2	0,195	1	2	0,0039
3	0,39	1		0,0078
4	0,39	2	3	0,0156
5	1,56	1		0,0312
6	1,56	2	3	0,0625
7	6,25	1		0,125
8	6,25	2	3	0,25
9	12,5	2		0,5
10	12,5	4	6	1,0

Tabla 3. Protocolo de dosificaciones en la prueba de estímulo con metacolina



### **Paso del protocolo largo al corto**

Si durante el protocolo corto el VEMS cayó un 10% o más por debajo del mejor VEMS de control, el sujeto recibió el siguiente nivel de dosificación del protocolo largo.

### **Finalización de la prueba**

La prueba con metacolina se completó al alcanzar una dosis acumulada de 1 mg de metacolina.

Se detuvo con anterioridad si:

- Se produjo una caída superior al 10% en el VEMS a partir del mejor VEMS de línea basal tras la inhalación del diluyente.
- Se produjo una caída superior al 20% en el VEMS a partir del mejor VEMS del diluyente tras la inhalación de cualquier concentración de solución de metacolina.
- El sujeto no fue capaz de realizar dos maniobras técnicamente satisfactorias en cinco intentos después de cualquier nivel de dosificación.
- El sujeto no deseaba proseguir.

### **3.5. Control de calidad**

Se diseñó un plan de control de calidad del trabajo de campo para todos los centros participantes. Este plan incluía la supervisión de cada uno de los pasos del estudio por un técnico experimentado del centro coordinador que visitaba los centros participantes. El grado de seguimiento fue auditado in situ por un equipo de control de calidad externo al menos en dos ocasiones durante el transcurso del estudio. Los aproximadamente 30 laboratorios europeos que utilizaron equipos espirométricos Biomedin entraron en un programa de control de calidad consistente en el análisis externo (Biomedin, en Padua, Italia) de unas 30 curvas espirométricas seleccionadas al azar del banco de datos de cada

centro, correspondientes a diferentes tiempos de la recogida de datos durante el curso del protocolo.

Cada centro participante envió una muestra de 5 ml de diluyente y 5 ml de solución de metacolina al centro coordinador de Londres, donde se determinó el pH, la osmolaridad y se validó la concentración real de metacolina por cromatografía líquida de alta resolución. El protocolo contemplaba un estricto control de calidad del flujo de los nebulizadores de metacolina con el objetivo de mantener la correcta calibración de los aparatos, y con periodicidad mensual se calibraba el dosímetro y los nebulizadores mediante pesaje antes y después de ser usados .

### 3.6. Análisis de la respuesta bronquial

#### 3.6.1. PD<sub>20</sub>

La dosis de metacolina a la que se produce una caída del 20 % en el VEMS (PD<sub>20</sub>) se calcula mediante la interpolación lineal entre los dos últimos puntos de la curva dosis-respuesta (Figura 2), de acuerdo a la siguiente fórmula<sup>2</sup>:

$$PD_{20} = \text{Anti log} \left( \log D_2 + \frac{(\log D_2 - \log D_1)(20 - R_1)}{(R_2 - R_1)} \right)$$

donde:

$D_1$  : Penúltima dosis (anterior al 20% de caída en el VEMS)

$D_2$  : Última dosis (posterior al 20% de caída en el VEMS)

$R_1$  : Porcentaje de caída del VEMS tras la dosis  $D_1$

$R_2$  : Porcentaje de caída del VEMS tras la dosis  $D_2$

El cálculo de la PD<sub>20</sub> se realizó en el programa SPSS, con las variables y la secuencia de sintaxis que se recogen en el

## Anexo 7.

Como se comentó en la introducción, es admisible, y de hecho muy utilizado en la literatura, calcular la  $PD_{20}$  asumiendo que la tendencia de la caída en el VEMS entre las dos últimas dosis se mantendría si se administrase una dosis más elevada de metacolina. De cara a asegurar la comparabilidad, se ha elegido en este estudio una dosis de metacolina de 8 micromoles, la habitual en estudios poblacionales<sup>22,79</sup>.

### 3.6.2. Pendiente de O'Connor

Se calculó mediante el porcentaje de caída en el VEMS, desde el posdiluyente hasta el correspondiente a la última dosis, dividido por la dosis acumulativa final administrada<sup>21</sup>:

$$Pendiente = \frac{\frac{VEMS_{inicial} - VEMS_{final}}{VEMS_{inicial}} \times 100}{Dosis}$$

Donde:

- $VEMS_{inicial}$  : VEMS posdiluyente.
- $VEMS_{final}$  : Último VEMS registrado, por caída superior al 20%, o por finalización de la prueba tras la dosis máxima o por otro motivo.
- $Dosis$  : Dosis acumulada de metacolina administrada.

La interpretación gráfica de esta expresión, como muestra la figura 3, es la pendiente de una línea que conecta el origen de la curva dosis-respuesta con el punto final de la curva. Aunque la representación gráfica cambiaría si se usase una escala directa en vez de una escala logarítmica, al incluir en el denominador únicamente la dosis total administrada, a escala directa, la cuantificación de la pendiente no se modifica.

Es habitual en la literatura utilizar una transformación logarítmica posterior al cálculo de la pendiente. En la medida en que pueden existir pendientes nulas y negativas, en las que sería imposible dicha transformación, se suele añadir, previamente al cálculo del logaritmo de la pendiente, una constante suficiente para eliminar cualquier pendiente igual o inferior a 0 de la serie de datos. En este estudio se ha utilizado la constante 1,9.

El cálculo de la pendiente de O'Connor se ha realizado mediante el programa SPSS, con la sintaxis que se recoge en el Anexo 8.

### 3.6.3. Pendiente de regresión lineal

El cálculo de la pendiente de regresión lineal se realizó con todos los puntos disponibles de la curva dosis-respuesta, mediante el método de los mínimos cuadrados. El método se basa en calcular la recta de regresión que produce que los cuadrados de las distancias verticales de cada uno de los puntos a la recta tengan una suma mínima. El cálculo de la altura en el origen (a) y de la pendiente (b) se realiza mediante las siguientes expresiones<sup>80</sup>:

$$b = \frac{\sum_{i=1}^n (D_i - \bar{D})(R_i - \bar{R}_y)}{\sum_{i=1}^n (D_i - \bar{D})^2}$$

$$a = \bar{R} - b\bar{D}$$

Donde:

- $b$  : pendiente de la curva dosis-respuesta
- $n$  : número de dosis que se han administrado a cada individuo, incluyendo la correspondiente al diluyente de la metacolina (dosis 0)
- $D_i$  : cada una de las dosis, incluyendo la correspondiente al diluyente de la metacolina (dosis 0)
- $\bar{D}$  : media de las dosis administradas a cada individuo

- $R_i$ : cada una de las respuestas del individuo, incluyendo la correspondiente al diluyente de la metacolina (dosis 0), expresadas como porcentaje con respecto al VEMS inicial (posdiluyente)
- $\bar{R}$ : media de las respuestas del individuo
- $a$ : altura en el origen, expresada como porcentaje con respecto al VEMS inicial, de donde parte la recta de regresión.

Los cálculos necesarios para elaborar la pendiente en cada individuo se han realizado mediante el programa SPSS, con la sintaxis que se recoge en el Anexo 9.

#### 3.6.4. Área bajo la curva dosis-respuesta

El cálculo de la superficie se realizó mediante un método trapezoidal, sumando las superficies de cada uno de los diez trapecios formados por la base de cada uno de los incrementos de dosis y como altura el promedio del porcentaje del VEMS previo y posterior a cada una de las dosis, con la siguiente expresión:

$$\text{Área} = \sum_{i=1}^{10} (D_i - D_{i-1}) \left( \frac{R_i + R_{i-1}}{2} \right)$$

donde:

- $D_i$ : cada una de las dosis
- $R_i$ : cada una de las respuestas del individuo,

En los casos en los que se utilizó el protocolo corto de metacolina, es decir, dosis cuádruples en vez de dobles, la respuesta a la dosis intermedia, realmente no administrada, se ha estimado mediante interpolación lineal, según la expresión:

$$R_i = \frac{R_{i-1} + R_{i+1}}{2}$$

donde:

- $R_i$  : cada una de las respuestas estimadas del individuo, a las dosis no administradas por seguir el protocolo corto
- $R_{i-1}$  : respuesta a la dosis previa administrada
- $R_{i+1}$  : respuesta a la dosis posterior administrada

El cálculo del área bajo la curva se realizó con el programa SPSS, con la sintaxis que se recoge en el Anexo 10.

### 3.6.5. Modelización mediante modelo de efectos aleatorios

Cuando el objetivo es comparar la curva dosis-respuesta a la metacolina entre varios grupos, un enfoque posible es usar un análisis de la varianza (ANOVA) de medidas repetidas, con la dosis de metacolina como variable independiente. Sin embargo, ya que no todos los sujetos recibieron todas las dosis, debido al uso de los protocolos corto o largo en la administración de metacolina, los datos del conjunto de los individuos contienen muchos valores faltantes. Esto es lo que se denomina un “diseño no equilibrado”<sup>81</sup>, que imposibilita el análisis habitual mediante Anova de medidas repetidas. El modelo de efectos aleatorios<sup>25,82</sup> (Random Effects Model, REM) permite realizar predicciones sobre las tendencias medias en un grupo, teniendo en cuenta simultáneamente las observaciones repetidas en los individuos<sup>83</sup>.

El modelo básico para el individuo  $i$ ésimo puede ser expresado como:

$$E(y_i) = X_i\alpha + Z_i\beta_i + \varepsilon_i$$

donde

- $y_i$  es un vector columna de  $n_i$  observaciones para el sujeto  $i$ ésimo
- $\alpha$  es un vector de  $p$  coeficientes que representan los parámetros lineales de la población

- $\beta$  es un vector de  $q$  coeficientes, aleatorios, cuyo papel es controlar la correlación seriada: las medidas repetidas en un sujeto se presume que están correlacionadas entre sí
- $X_i$  y  $Z_i$  son matrices, específicas para cada sujeto, que relacionan  $\alpha$  y  $\beta_i$ , respectivamente, con  $y_i$

Para nuestro propósito, el vector  $y_i$  contiene los valores de VEMS obtenidos por el sujeto  $i$ ésimo como respuesta a las  $n_i$  dosis de metacolina administradas. La matriz  $X_i$  para el sujeto  $i$ ésimo es cuadrática, con una columna de unos para estimar la ordenada en el origen, una columna de dosis para estimar la pendiente, una columna de dosis al cuadrado para estimar el coeficiente cuadrático y columnas adicionales generadas a partir de las covariables para un sujeto dado. El componente intrasujeto del modelo es también cuadrático para todos los casos, con la matriz  $Z_i$  que contiene una columna de unos para estimar la desviación de cada sujeto con respecto a la ordenada en el origen, una columna de dosis correspondientes a las medidas de VEMS observadas para estimar las desviaciones de cada sujeto en la pendiente, y una columna de dosis al cuadrado para estimar la desviación de cada sujeto en la curvatura.

Resultados similares a los obtenidos con el modelo de efectos aleatorios se consiguen también realizando dos análisis separados con los datos de respuesta a la metacolina. Este enfoque, denominado a veces análisis de regresión en dos pasos<sup>84</sup>, consiste en un primer paso en el que se ajusta un polinomio cuadrático a la respuesta individual de cada sujeto, con lo que se obtienen dos coeficientes (lineal y cuadrático) que definen la respuesta individual a la metacolina. En un segundo paso, estos dos coeficientes se convierten en las variables dependientes en un análisis múltiple de la varianza (MANOVA). En esta etapa, se pueden comparar los vectores de coeficientes medios de los grupos de interés, como las categorías de ataques de asma, sibilancias, rinitis, etc.

Este enfoque tiene la ventaja de que proporciona coeficientes resumen para cada individuo, y puede obtenerse mediante los programas estadísticos usuales. Esta ha sido la razón de que en este trabajo se adopte este enfoque.

El procedimiento empleado, por tanto, ha consistido en el ajuste, para cada individuo, de una regresión polinomial, para modelizar la curva individual de respuesta a cada una de las dosis de metacolina, con un coeficiente lineal  $\beta_1$  para la dosis y otro cuadrático  $\beta_2$  para la dosis al cuadrado. En un segundo paso, mediante MANOVA, se comparan los coeficientes lineal y cuadrático medios para cada uno de los grupos que se pretenden comparar, en función de la presencia de ataques de asma, sibilantes, rinitis, atopía y bronquitis crónica. Estos coeficientes se calculan ajustados  $(\hat{\beta}_1, \hat{\beta}_2)$  por covariables como la edad, el sexo, el nivel de IgE, la función pulmonar basal medida como porcentaje sobre el VEMS predicho y el tabaquismo actual.

El porcentaje esperado de caída sobre el VEMS inicial para la dosis  $x$  en un determinado grupo (por ejemplo, los que han padecido ataques de asma) se calcula mediante la siguiente expresión:

$$\%VEMS = \hat{\beta}_1(x) + \hat{\beta}_2(x^2)$$

La información se presenta finalmente mediante un gráfico que representa la evolución para cada grupo de interés (sibilantes y no sibilantes, etc.) de la caída con respecto al VEMS inicial en función de la dosis administrada.

Los cálculos necesarios para las dos fases del procedimiento se han realizado con el paquete estadístico SPSS, con la sintaxis establecida en el Anexo 11.



Los cálculos de las medias de respuesta a cada dosis a partir de los coeficientes estimados para cada grupo y los gráficos correspondientes al perfil de respuesta de cada grupo a las sucesivas dosis se han realizado con la hoja de cálculo Excel.

### **3.6.6. Modelización mediante análisis de supervivencia**

El análisis de supervivencia habitual se basa en el cálculo de la probabilidad de supervivencia mas allá de un determinado tiempo  $t$ . Cambiando el tiempo por la dosis acumulada de metacolina y la muerte por la caída de la función pulmonar (VEMS) por debajo del 80% de la situación inicial (posdiluyente) se pueden usar para analizar la curva dosis-respuesta a la metacolina métodos bien establecidos para el análisis de la respuesta, incluyendo la información proporcionada por aquellos individuos que no responden tras aplicar la dosis máxima (censurados, en la terminología del análisis de la supervivencia), como ocurre con la mayoría de los que realizan la prueba de metacolina.

Los censurados provienen tanto de los que no respondieron con protocolos incompletos (pidieron parar la prueba, o no consiguieron dos maniobras técnicamente válidas) como de aquellos que no respondieron tras completar la prueba. Pero todos ellos aportan una información interesante: hasta la última maniobra registrada **no** habían respondido a la provocación con metacolina.

Puede ocurrir que en la primera dosis en la que se observe una respuesta bronquial considerable, ésta exceda con mucho el nivel del 80% con respecto al posdiluyente. Esto querría decir que el sujeto hubiese caído a una dosis inferior, si se le hubiese administrado. Es decir, si en una dosis  $d_0$  su respuesta está por encima del 80% y en la siguiente dosis  $d_1$  está por debajo, su respuesta se ha producido a una dosis efectiva  $d$ , intermedia entre  $d_0$  y  $d_1$ . Utilizamos un mecanismo de interpolación simple para calcular esta dosis efectiva<sup>26</sup>. En particular, si el VEMS en  $d_1$  está

entre el 71% y el 80% del posdiluyente,  $d=d_1$ ; si el VEMS se encuentra entre el 61% y el 70%,  $d=d_0+(d_1-d_0)/2$ ; y si el VEMS se encuentra por debajo del 60%,  $d=d_0+(d_1-d_0)/4$ . Esta dosis efectiva se utiliza como indicador de la respuesta bronquial. No sólo tiene la ventaja de que interpola con respecto a la magnitud de la caída en el VEMS, sino que permite obviar las diferencias en el protocolo en función de la presencia de síntomas: protocolo corto, con dosis que se duplican para los sintomáticos, y protocolo corto, con dosis cuádruples para los asintomáticos.

La primera aproximación posible sería la representación gráfica de la función de supervivencia: porcentaje de individuos que permanecen con un VEMS superior al 80% del posdiluyente mediante el análisis clásico de Kaplan-Meier. Para cada criterio, por ejemplo el haber padecido o no ataques de asma en los últimos 12 meses, se realizaría un gráfico conjunto, con la supervivencia de los individuos en los que el criterio está presente y la de aquellos en los que el criterio esté ausente. Se puede evaluar si la separación entre ambas líneas se debe al azar, o se debe a una diferencia real entre los dos grupos que se comparan mediante la prueba de Log-Rank de Mantel y Cox. La idea básica es la del estadístico  $\chi^2$ : una comparación entre lo observado y lo esperado suponiendo que la probabilidad de respuesta a la prueba de metacolina fuese igual en ambos grupos.

Una aproximación más fina al análisis desde los métodos de supervivencia consiste en la aplicación de los métodos paramétricos, basados en la familia de distribuciones Weibull<sup>85,86</sup>.

En el modelo Weibull, la proporción de individuos que “sobreviven”, es decir, que no responden antes de una dosis  $d$  viene dada por la función de supervivencia:

$$S(d) = e^{-(de^{-\beta})^\sigma}$$

El parámetro  $\sigma$ , llamado parámetro de escala, controla la tendencia del riesgo de respuesta a medida que se va incrementando la dosis<sup>87</sup>. Específicamente, el caso particular  $\sigma = 1$  corresponde a un riesgo de respuesta constante para todas las dosis. El caso de  $\sigma > 1$  corresponde a un riesgo decreciente de respuesta a medida que la dosis aumenta, y  $\sigma < 1$  corresponde a la más probable situación de que el riesgo de respuesta se incrementa con la dosis de metacolina.

El parámetro  $\beta$  es el coeficiente habitual en regresión: permite obtener una pendiente que informe de la velocidad de caída cuando la dosis se incremente en una unidad.

La ventaja de este modelo es que es fácilmente extensible, tanto en los coeficientes de regresión, para valorar el efecto simultáneo de factores relacionados con la respuesta bronquial, como en los parámetros de escala, para incluir covariables que puedan estar relacionadas con la tendencia a la respuesta a medida que se incrementa la dosis.

Es decir, se puede sustituir fácilmente en el modelo el coeficiente  $\beta$ , único para todos los individuos, por un predictor lineal con una combinación lineal de  $p$  covariables  $x$  ( $x_1, x_2, \dots, x_p$ ):

$$\beta'x = (\beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \dots + \beta_px_p).$$

La extensión del parámetro de escala también es directa: para una serie de variables  $z$  ( $z_1, z_2, \dots$ ):

$$\sigma'z = (\sigma_0 + \sigma_1z_1 + \sigma_2z_2 + \dots)$$

La función de supervivencia, en el modelo ampliado, sería por tanto:

$$S(d) = e^{-(de^{-\beta'x})^{\sigma'z}}$$

Una vez obtenida la función de supervivencia, se pueden calcular a partir de ella, como si de la representación gráfica se tratara, los percentiles, es decir, valores de la dosis D que hacen que un determinado porcentaje P (percentil) de los individuos responda positivamente a la prueba. El cálculo para un determinado percentil sería, en un grupo definido por un conjunto de covariables x:

$$D(P; x) = e^{\beta \cdot x} \times [-\log(1 - P)]^{\sigma \cdot z}$$

Este percentil se puede comparar con el obtenido por otro grupo de individuos, definido por otro conjunto de variables x\*: D(P;x\*) mediante los percentiles relativos, que cuantifican la fuerza de la asociación entre una covariable y la reactividad bronquial. El cálculo de estos percentiles relativos PR para un determinado percentil P vendría dado por:

$$PR(P) = \frac{D(P; x)}{D(P; x^*)} = e^{[\beta \cdot (x - x^*)]} \times [-\log(1 - P)]^{\sigma \cdot (z - z^*)}$$

El percentil relativo es una medida de asociación que cuantifica la disminución (PR(P)<1) o aumento (PR(P)>1) de las dosis de metacolina necesarias para conseguir un determinado grado de respuesta en diferentes grupos.

Los intervalos de confianza para los percentiles relativos vienen dados por la expresión:

$$IC95\%(PR) =$$

$$= \beta_1 + \sigma_1 [\log(-\log(1 - p))] \pm \sqrt{\chi_{2gl;0.95}^2} \times EE(\beta_1 + \sigma_1 [\log(-\log(1 - p))])$$

donde

$$EE(\beta_1 + \sigma_1 [\log(-\log(1 - p))]) =$$

$$= \sqrt{\text{Var}(\beta_1) + [\log(-\log(1-p))] \times \text{Var}(\sigma_1) + 2[\log(-\log(1-p))] \times \text{Cov}(\beta_1, \sigma_1)}$$

Las varianzas de  $\beta_1$  y  $\sigma_1$ , así como la su covarianza se obtienen de la matriz de varianzas y covarianzas obtenida tras el ajuste del modelo de regresión.

La presentación final de los resultados se realizará mediante un gráfico que refleje la evolución, para cada dosis, de los percentiles, es decir, porcentaje de caída en cada grupo que se compara en función de la dosis de metacolina administrada

Los cálculos necesarios para el ajuste del modelo de regresión Weibull se han realizado con el módulo de modelos paramétricos de análisis de la supervivencia del programa Egret. Los cálculos necesarios, a partir del modelo, para construir las razones de riesgo, los percentiles, los percentiles relativos y sus intervalos de confianza, así como la representación gráfica de los percentiles, que representan el perfil de respuesta de cada grupo a las sucesivas dosis, se han programado en la hoja de cálculo Excel.

### **3.7. Validez de criterio**

#### **3.7.1. Índices de discriminación**

Una prueba diagnóstica tiene como función clasificar a los individuos a los que se aplica como sanos o enfermos. Cualquier variable continua que pretenda desempeñar esa función debería obtener unos resultados “altos” en los enfermos y “bajos” en los sanos. Es decir, las medias  $\mu$  de ambos grupos deberían ser diferentes.

Para comprobarlo, se realizará una comparación de medias de los distintos índices resumen de la curva dosis-respuesta mediante una prueba de la t de Student, si se da la condición de homocedasticidad (homogeneidad de las varianzas), o la prueba de Welch, que es una buena aproximación si no se cumple tal supuesto<sup>88</sup>.

Como la magnitud absoluta de esta diferencia  $D$  entre el grupo de “sanos” y el grupo de “enfermos” estará en función de las unidades y del rango de valores en que se mida la variable, una aproximación más fina a la capacidad de discriminación, comparable además con otras variables, la proporciona la distancia estandarizada entre las medias  $D/s$ <sup>89</sup>. El factor de estandarización consiste en la variabilidad conjunta de ambos grupos (desviación típica común,  $s$ ):

$$D/s = \frac{\mu_{\text{enfermos}} - \mu_{\text{sanos}}}{s}$$

### 3.7.2. Curvas ROC

#### 3.7.2.1. Elaboración

Se elaboró una curva ROC (sensibilidad frente a 1-especificidad) para evaluar la capacidad discriminativa de cada una de las mediciones anteriores entre sintomáticos y no sintomáticos. El área bajo la curva se define como la probabilidad de clasificar correctamente un par de individuos sano y enfermo, seleccionados al azar, al aplicarles la prueba. Por ejemplo, un área bajo la curva de 0,75 significa que un individuo seleccionado aleatoriamente a partir del grupo de enfermos tendrá el 75% de las veces un valor de la prueba mayor que un individuo sano elegido al azar<sup>90</sup>.

Se calculó el área bajo la curva ROC mediante un método “trapezoidal” (geométrico). Aunque en teoría subestima el área, al tratarse de una magnitud continua, y con un número suficiente de datos hay prácticamente una relación continua entre sensibilidad y especificidad, con un número muy grande de puntos de corte, por lo que la estimación es suficientemente precisa. Estudios previos sitúan este déficit en el orden de una diezmilésima.

El cálculo del error estándar para el área bajo la curva se realizó mediante la expresión<sup>91</sup>:

$$EE = \sqrt{\frac{\text{área}(1 - \text{área}) + (n_1 - 1)(Q_1 - \text{área}^2) + (n_2 - 1)(Q_2 - \text{área}^2)}{n_1 n_2}}$$

donde:

$n_1$  = número de sintomáticos

$n_2$  = número de no sintomáticos

$Q_1$  = probabilidad de que dos sintomáticos elegidos al azar tengan una pendiente mayor que un no sintomático elegido al azar:

$$Q_1 = \frac{\text{área}}{2 - \text{área}}$$

$Q_2$  = probabilidad de que un sintomático elegido al azar tenga una pendiente mayor que dos no sintomáticos elegidos al azar:

$$Q_2 = \frac{2\text{área}^2}{1 + \text{área}}$$

### 3.7.2.2. Comparación entre curvas

1) Para dos curvas ROC independientes: se compara con la distribución normal el estadístico de contraste<sup>92</sup>:

$$z = \frac{|\text{área}_1 - \text{área}_2|}{EE(\text{área}_1 - \text{área}_2)}$$

siendo

$$EE(\text{área}_1 - \text{área}_2) = \sqrt{EE^2(\text{área}_1) + EE^2(\text{área}_2)}$$

2) Para dos curvas ROC realizadas para dos pruebas distintas (por ejemplo, dos formas de medir la curva dosis-respuesta a la metacolina) con los mismos sujetos, es decir, el mismo número de enfermos y de sanos. En este caso, es de esperar una correlación entre las áreas de las dos curvas, ya que se trata de los mismos sujetos. El error estándar apropiado para la comparación entre las áreas debería tener en cuenta esta correlación. En la misma referencia se recomienda la siguiente formulación para ese EE:

$$EE(\text{área}_1 - \text{área}_2) = \sqrt{EE^2(\text{área}_1) + EE^2(\text{área}_2) - 2rEE(\text{área}_1)EE(\text{área}_2)}$$

donde  $r$  representa la correlación introducida entre las dos áreas por el estudio de la misma muestra de pacientes. Esta correlación se calcula mediante una tabla que se proporciona en la misma referencia, tras el cálculo de dos coeficientes intermedios:

- $r_n$ : Correlación entre los valores de los sujetos “normales” (no sintomáticos) proporcionadas por los dos métodos de medida.
- $r_a$ : Correlación entre los valores de los sujetos “anormales” (sintomáticos) proporcionadas por los dos métodos de medida.

Estos coeficientes de correlación se promedian  $(r_n + r_a)/2$  y se combinan con el resultado del área promedio  $(\text{área}_1 + \text{área}_2)/2$  mediante una tabla de doble entrada<sup>92</sup> en la que se obtiene el coeficiente de correlación  $r$  entre las dos áreas bajo la curva.

Todos los cálculos necesarios (sensibilidad, especificidad para cada punto de corte, áreas bajo la curva ROC, errores estándar, correlaciones, comparaciones entre curvas y representación gráfica de las curvas) se han elaborado programando la hoja de cálculo Excel.



### **3.8. Propiedades estadísticas de los parámetros que resumen la relación dosis-respuesta**

#### **3.8.1. Normalidad**

La evaluación de la normalidad se ha realizado mediante procedimientos gráficos, construyendo el histograma correspondiente a cada variable, y mediante la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, con la corrección de Lilliefors. Para ambos procedimientos se ha utilizado el paquete estadístico SPSS.

#### **3.8.2. Estabilidad de la varianza**

Se comprobó mediante el estadístico de Levene, que contrasta la homogeneidad de la varianza. Se utilizó el paquete estadístico SPSS.

### **3.9. Programas de análisis estadístico utilizados**

Los programas utilizados en este trabajo han sido SPSS, Excel y Egret, todos ellos disponibles en el mercado. SPSS (Statistical Package for Social Sciences) es uno de los programas de análisis estadístico más difundidos. La disponibilidad de una sintaxis de comandos le da una gran versatilidad en la elaboración de análisis específicos. Las secuencias de comandos empleadas en los principales análisis se recogen en los anexos 1 a 5. La versión utilizada ha sido SPSS 10.0.

El programa Excel comparte con el resto de hojas de cálculo una gran capacidad para la programación de cálculo, además de incluir funciones de base de datos y gráficas. Se ha utilizado para la elaboración de las curvas ROC (los cálculos previos de sensibilidad y especificidad, el trazado gráfico de las propias curvas y la determinación de los puntos de corte óptimos) y para la elaboración de la mayoría de los gráficos presentados. La versión utilizada ha sido Microsoft Excel 2000.

Egret (Epidemiological Graphics, Estimation, and Testing package) es un programa estadístico especializado en la modelización y utilidades gráficas para estudios epidemiológicos y biomédicos. Uno de sus módulos de análisis de la supervivencia permite la elaboración de modelos de regresión paramétricos basados en la distribución Weibull. La versión utilizada ha sido Egret for Windows 2.0.2.

## **4. RESULTADOS**



#### **4.1. Características demográficas**

Respondieron al cuestionario y completaron la prueba de metacolina 864 mujeres (48%) y 936 varones (52%), con un total de 1800 personas entre los cinco centros. De entre ellos, 1315 (70,9%) habían sido seleccionados al azar sobre una base poblacional, en tanto que 485 habían sido seleccionados en función de que habían respondido afirmativamente a alguna de las tres siguientes preguntas del cuestionario inicial: haber tenido sibilancias o pitos en los últimos doce meses, haber tenido algún ataque de asma en los últimos doce meses, o tomar alguna medicación para el asma.

#### **4.2. Síntomas**

Habían padecido algún ataque de asma en los últimos 12 meses 25 varones (2,7%) y 36 mujeres (4,2%), con diferencias en el límite de la significación estadística ( $p=0,081$ ). Presentaron sibilancias en los últimos 12 meses 309 varones (33,3%) y 244 mujeres (28,5%), diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,027$ ).

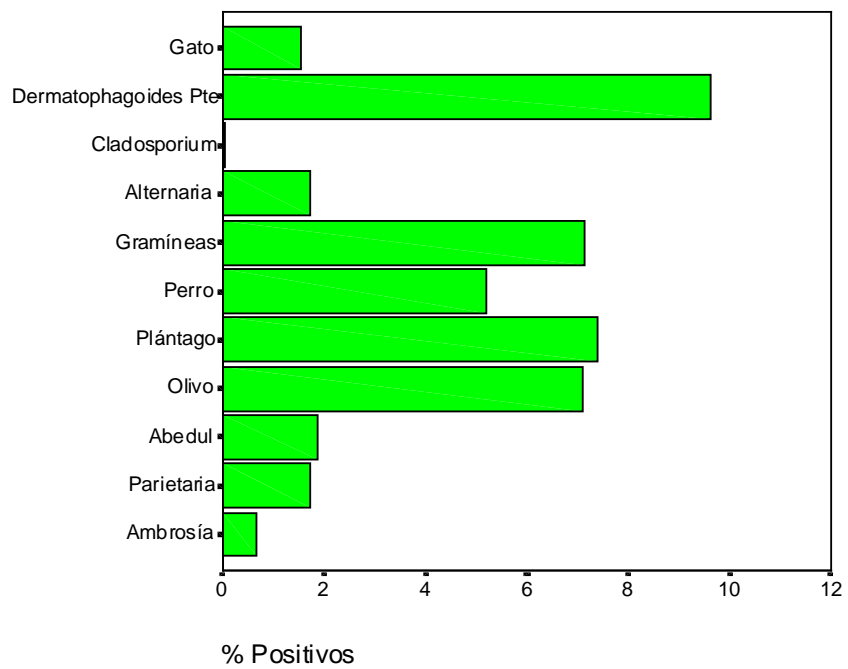
Referían padecer alergias nasales, incluyendo rinitis 200 varones (21,6%) y 199 mujeres (23,2%) ( $p=0,47$ ). Cumplían criterios de bronquitis crónica (expectoración la mayoría de los días al menos tres meses al año) 116 varones (12,5%) y 74 mujeres (8,6%) ( $p=0,008$ ). En la Tabla 4 se recoge la distribución de las distintas combinaciones de síntomas en función del sexo.

	Hombres	%	Mujeres	%	Total	%
Ningún síntoma	427	45.6	455	52.7	882	49.0
Sibilancias	117	12.5	107	12.4	224	12.4
Rinitis	52	5.6	70	8.1	122	6.8
Atopia	83	8.9	33	3.8	116	6.4
Bronquitis crónica	17	1.8	10	1.2	27	1.5
Ataques de asma+sibilancias	2	0.2	1	0.1	3	0.2
Ataques de asma+rinitis	0	0.0	1	0.1	1	0.1
Sibilancias+atopia	17	1.8	17	2.0	34	1.9
Sibilancias+bronquitis crónica	54	5.8	30	3.5	84	4.7
Rinitis+atopia	35	3.7	35	4.1	70	3.9
Rinitis+bronquitis crónica	3	0.3	7	0.8	10	0.6
Atopia+bronquitis crónica	17	1.8	6	0.7	23	1.3
3 o más síntomas	82	8.8	68	7.9	150	8.3
Total	936	100.0	864	100.0	1800	100.0

**Tabla 4. Distribución de la sintomatología en hombres y mujeres**

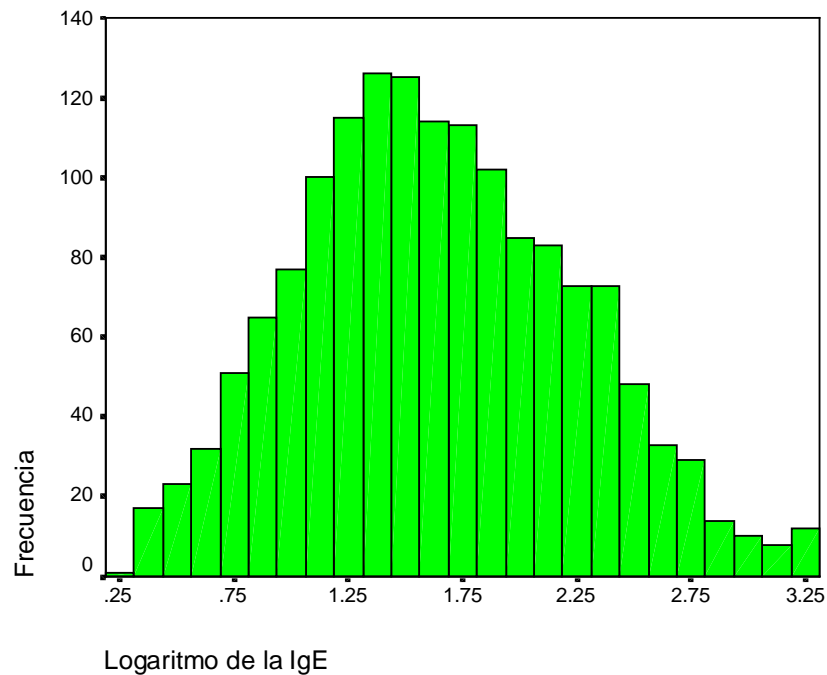
### 4.3. Atopia

Reaccionaron a alguno de los alérgenos inoculados 217 varones (23,5%) y 143 mujeres (16,7%), diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ). De los que presentaban reacción cutánea, el 40,4% lo hacían a más de un alérgeno. La Figura 9 recoge el porcentaje de positividades a cada uno de los alérgenos, siendo el más frecuente el *Dermatophagoides Pteronissinus*, al que reacciona el 9,6% de la muestra.



**Figura 9. Porcentaje de positividades a los diversos alérgenos**

Se obtuvo una muestra de sangre para cuantificación de IgE en 1529 personas. La distribución de la IgE inespecífica, en escala logarítmica, se presenta en la Figura 10. La media geométrica obtenida fue de 43,65 UI/ml, significativamente mayor ( $p < 0,001$ ) para los varones (52,4 UI/ml) que para las mujeres (35,5 UI/ml).



**Figura 10. Distribución de la IgE inespecífica (transformación logarítmica)**

#### **4.4. Espirometría basal**

Se realizó una espirometría basal a 1858 sujetos, obteniéndose un VEMS inicial de entre 1,82 y 6,61, con una mediana de 3,55 l. Como porcentaje del VEMS esperado para la edad, sexo, altura, la mediana fue de 106%, con un rango entre el 71 y el 155%. La capacidad vital inicial estuvo entre 2,34 y 8,28 l, con una mediana de 4,26 l.

#### **4.5. Prueba de metacolina**

Iniciaron la prueba de metacolina 1854 personas. Completaron la prueba sin que se produjese una caída del VEMS superior al 20% 1587 (85,4%). Dieron un resultado positivo, es decir, tuvieron una caída superior al 20%, 238 (12,8%). No terminaron la prueba 29 personas, 20 (1,1%) por no poder realizar dos maniobras válidas y 9 (0,5%) porque pidieron parar.



## 4.6. Validez de criterio

### 4.6.1. Índices de discriminación

Una primera aproximación requiere la comprobación descriptiva de que los índices que resumen la curva dosis-respuesta diferencian adecuadamente entre individuos “sanos” y “enfermos”. Las tablas siguientes muestran los valores promedios obtenidos por cada uno de los índices al separar entre cada uno de los síntomas.

ALGÚN ATAQUE DE ASMA EN LOS ÚLTIMOS 12 MESES		PD <sub>20</sub>	O'CONNOR	PENDIENTE (LINEAL)	ÁREA BAJO LA CDR
NO	Media	3,95	0,51	-4,84	91,36
	N	331	1730	1730	1730
	Desv. típ.	2,53	0,33	39,74	19,30
SI	Media	1,35	1,31	-89,81	43,76
	N	46	61	61	61
	Desv. típ.	1,94	0,87	166,39	41,67
Total	Media	3,63	0,54	-7,73	89,74
	N	377	1791	1791	1791
	Desv. típ.	2,61	0,39	51,88	22,19

**Tabla 5. Descripción de los resultados de cada uno de los índices al separar entre los que han tenido ataques de asma en los últimos 12 meses y los que no.**

SIBILANCIAS		PD <sub>20</sub>	O'CONNOR	PENDIENTE (LINEAL)	ÁREA BAJO LA CDR
NO	Media	4,41	0,47	-2,38	93,82
	N	166	1236	1236	1236
	Desv. típ.	2,57	0,28	10,60	15,32
SI	Media	3,02	0,70	-19,66	80,65
	N	211	555	555	555
	Desv. típ.	2,47	0,53	90,77	30,79
Total	Media	3,63	0,54	-7,73	89,74
	N	377	1791	1791	1791
	Desv. típ.	2,61	0,39	51,88	22,19

**Tabla 6. Descripción de los resultados de cada uno de los índices al separar entre los que han sibilancias en los últimos 12 meses y los que no.**

RINITIS		PD20	O'CONNOR	PENDIENTE (LINEAL)	ÁREA BAJO LA CDR
NO	Media	4,11	0,50	-4,59	92,39
	N	244	1391	1391	1391
	Desv. típ.	2,49	0,32	41,65	17,63
SI	Media	2,75	0,69	-18,65	80,52
	N	133	400	400	400
	Desv. típ.	2,59	0,55	76,66	31,90
Total	Media	3,63	0,54	-7,73	89,74
	N	377	1791	1791	1791
	Desv. típ.	2,61	0,39	51,88	22,19

**Tabla 7. Descripción de los resultados de cada uno de los índices al separar entre los que han tenido rinitis y los que no.**

ATOPIA		PD <sub>20</sub>	O'CONNOR	PENDIENTE (LINEAL)	ÁREA BAJO LA CDR
No	Media	4,08	0,49	-4,87	92,40
	N	237	1423	1423	1423
	Desv. típ.	2,54	0,32	40,94	17,90
Sí	Media	2,84	0,72	-19,28	78,98
	N	140	362	362	362
	Desv. típ.	2,55	0,55	81,25	32,37
Total	Media	3,62	0,54	-7,79	89,68
	N	377	1785	1785	1785
	Desv. típ.	2,61	0,39	52,01	22,28

**Tabla 8. Descripción de los resultados de cada uno de los índices al separar entre los atópicos y los no atópicos**

CRITERIOS DE BRONQUITIS CRÓNICA		PD <sub>20</sub>	O'CONNOR	PENDIENTE (LINEAL)	ÁREA BAJO LA CDR
NO	Media	3,62	0,53	-7,94	90,07
	N	317	1601	1601	1601
	Desv. típ.	2,66	0,39	54,17	21,98
SI	Media	3,72	0,59	-6,04	86,96
	N	60	190	190	190
	Desv. típ.	2,35	0,37	25,38	23,81
Total	Media	3,63	0,54	-7,73	89,74
	N	377	1791	1791	1791
	Desv. típ.	2,61	0,39	51,88	22,19

**Tabla 9. Descripción de los resultados de cada uno de los índices al separar entre los que tenían criterios clínicos de bronquitis crónica y los que no.**

Desde el punto de vista de la valoración que puede hacerse de cada índice resumen en particular, al enfrentarlo a los distintos criterios, las diferencias en valores medios de cada uno de los índices para los distintos criterios se reflejan en las figuras siguientes:

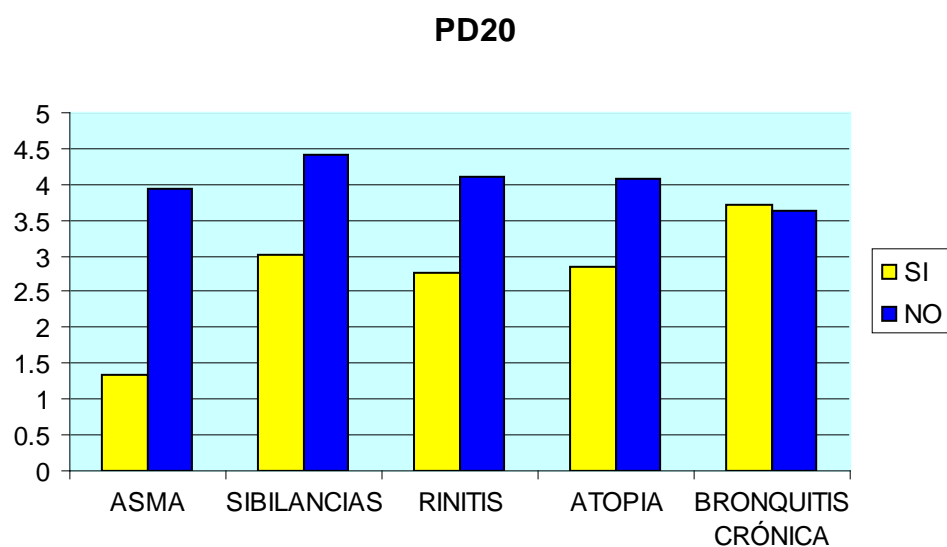


Figura 11. Medias de PD<sub>20</sub> en función de la presencia o ausencia de los distintos criterios

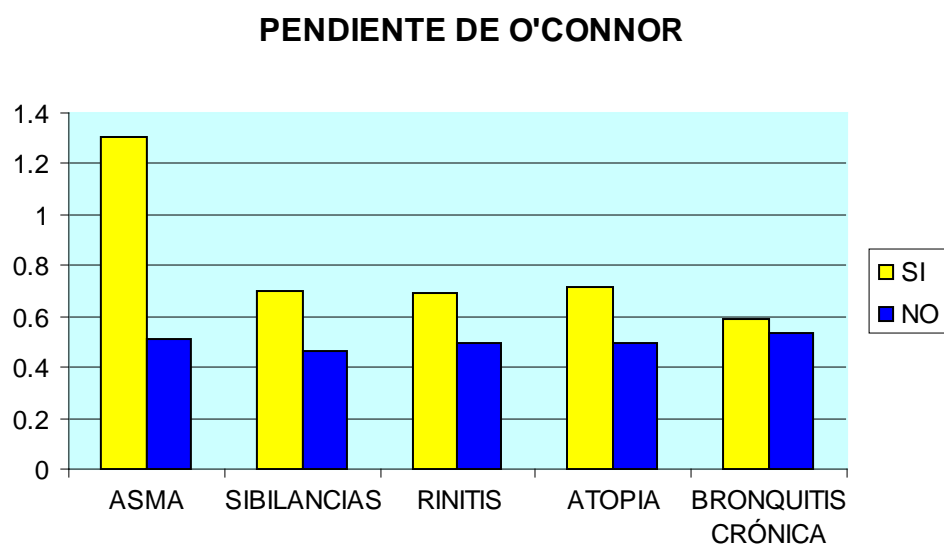


Figura 12. Medias de Pendiente de O'Connor en función de la presencia o ausencia de los distintos criterios

### PENDIENTE MEDIANTE REGRESIÓN LINEAL

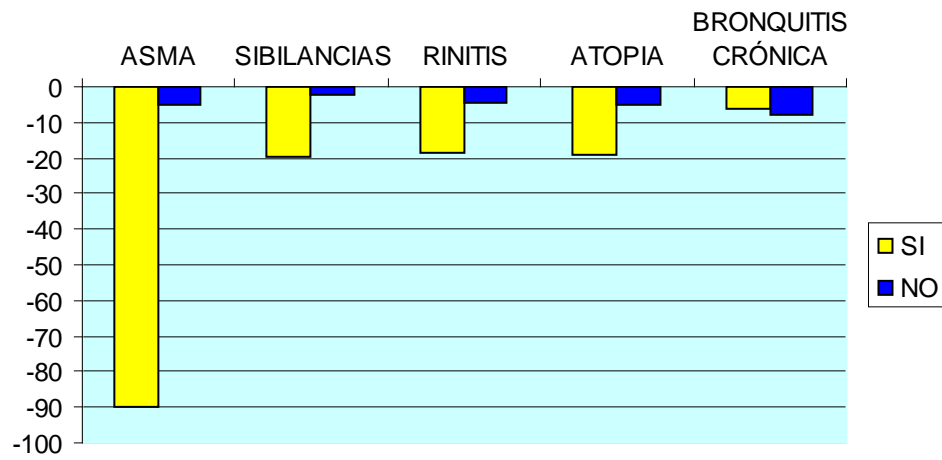


Figura 13. Medias de Pendiente obtenida mediante regresión lineal en función de la presencia o ausencia de los distintos criterios

### AREA BAJO LA CURVA DOSIS-RESPUESTA

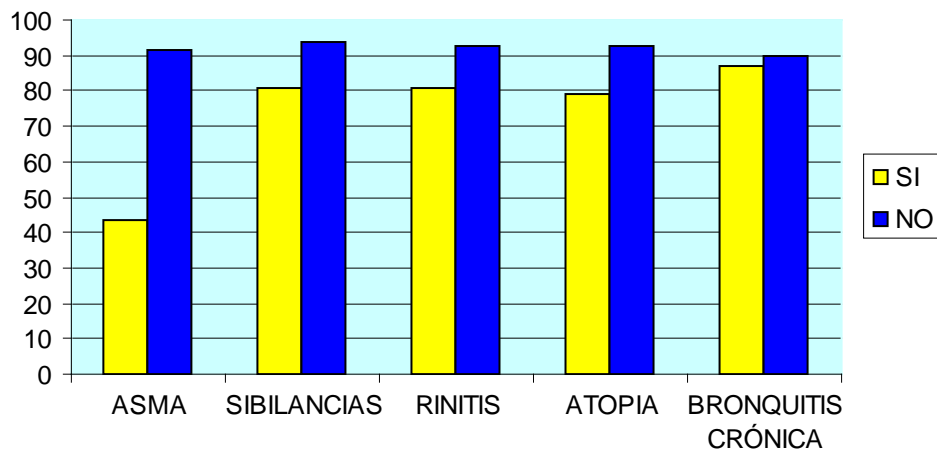


Figura 14. Medias de área bajo la curva dosis-respuesta en función de la presencia o ausencia de los distintos criterios

Puede apreciarse cómo el criterio ataques de asma en los últimos 12 meses es siempre en el que mejor se aprecian las diferencias para todos los índices, mientras que el criterio bronquitis crónica es siempre el peor discriminado para todos ellos. Incluso la  $PD_{20}$  y la pendiente calculada mediante regresión lineal tienen un comportamiento anómalo: los bronquíticos reaccionarían a una dosis más alta de metacolina que los no bronquíticos, y su curva dosis respuesta tendría también una pendiente más suave. Es decir, se obtienen peores resultados en los no bronquíticos que en los bronquíticos.

Las diferencias que se expresan en los distintos gráficos se evaluaron desde el punto de vista estadístico, con pruebas formales de significación. Todos los índices de valoración de la curva dosis-respuesta se asociaron significativamente a los criterios elegidos (ataques de asma, sibilancias, rinitis, atopia, bronquitis crónica). La única excepción se da en el caso de la bronquitis crónica en donde la única diferencia significativa se da para la  $PD_{20}$ , y en un sentido contrario al esperado. La Tabla 10 recoge los resultados de la comparación de medias mediante la prueba de Welch, utilizada para comparar desde el punto de vista estadístico las medias de cada uno de los índices entre el grupo que presentaba el criterio y el que no lo presentaba. Se ha optado por la prueba de Welch por la falta de homogeneidad de las varianzas entre los distintos grupos que se comparan (ver 3.8.2).

		Ataques de asma	Sibilancias	Rinitis	Atopia	Bronquitis crónica
PD <sub>20</sub>	t	4,913	1,814	4,162	3,212	-2,135
	p	0,000	0,072	0,000	0,002	0,037
Pendiente de O'Connor	t	-4,112	-4,552	-3,625	-3,370	0,667
	p	0,000	0,000	0,000	0,001	0,505
Pendiente CDR	t	3,986	4,434	3,533	3,284	-0,823
	p	0,000	0,000	0,000	0,001	0,411
Área bajo la curva dosis-respuesta	t	8,894	9,474	7,171	7,647	1,726
	p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,086

**Tabla 10. Prueba de Welch de comparación de medias de los índices que resumen la curva dosis-respuesta frente a los distintos criterios. t: t experimental (estadístico de contraste para la prueba de Welch)**

Mención aparte merece el caso del tabaquismo, cuyos resultados se recogen en la Tabla 11. Ninguno de los métodos de valoración de la curva dosis-respuesta obtuvo valores diferentes entre no fumadores, exfumadores y fumadores. Esta falta de asociación, que refleja la escasa correspondencia del criterio elegido con los índices de respuesta a la prueba de metacolina, ha motivado la exclusión del tabaquismo como criterio de la presentación del resto de los análisis.

		N	Media	s	F	p
PD <sub>20</sub>	No fumador	116	3,19	2,78	2,8154	0,061
	Exfumador	44	3,53	2,52		
	Fumador	217	3,89	2,50		
	Total	377	3,63	2,61		
O'Connor	No fumador	604	10,56	45,89	0,12921	0,879
	Exfumador	236	10,22	56,82		
	Fumador	951	9,23	54,16		
	Total	1791	9,81	51,87		
Regresión	No fumador	604	-8,44	46,41	0,13258	0,876
	Exfumador	236	-8,33	57,86		
	Fumador	951	-7,14	53,62		
	Total	1791	-7,73	51,88		
Área bajo la curva	No fumador	604	88,87	24,44	0,77809	0,459
	Exfumador	236	90,67	20,77		
	Fumador	951	90,06	21,01		
	Total	1791	89,74	22,19		

**Tabla 11. Comparación entre las medias de los métodos de valoración de la curva dosis-respuesta en función del tabaquismo.**

Como ya se ha comentado anteriormente, cualquiera de las formas de resumir la curva dosis-respuesta a la metacolina discriminan entre todos los criterios, aunque, para el criterio bronquitis crónica, las diferencias sólo llegan a ser estadísticamente significativas con respecto a la pendiente de O'Connor. Pero la capacidad discriminativa de un índice no la determina tanto las diferencias entre grupos que se establezcan, sino en su capacidad de obtener diferencias por encima de la variabilidad intrínseca a toda medición.

Este factor de corrección se refleja mediante los índices de discriminación (diferencias de medias / desviación típica conjunta entre los dos grupos que se comparan:  $D/s$ ), que se resumen en la Figura 15 (Página 88). Por ejemplo, el valor medio de  $PD_{20}$  obtenido por los individuos no asmáticos fue de 3.95 micromoles, mientras que los asmáticos tuvieron una media de 1,35 micromoles (Figura 11). Calculando la diferencia entre estas dos cantidades y dividiéndola entre la desviación típica conjunta de ambas, 2,6 micromoles, se obtiene el índice de discriminación 0,997 representado en la Figura 15. Para la pendiente de O'Connor, este índice se eleva a 2,04.

De manera global, la discriminación es máxima para el criterio ataques de asma en los últimos 12 meses, y, dentro de éste, el área bajo la curva y la pendiente de O'Connor obtienen los mejores resultados

#### **4.6.2. Curvas ROC**

##### **4.6.2.1. Ataques de asma en los últimos 12 meses**

Las curvas ROC con la capacidad discriminativa entre los que tuvieron y los que no tuvieron ataques de asma de cada uno de los índices se reflejan en la Figura 16 (en la página 88). Se han superpuesto las curvas ROC para facilitar la comparación entre ellas.

Las características de las curvas ROC de cada uno de los métodos se reflejan en la Tabla 12. Si bien la mayor capacidad discriminativa la presentó el área bajo la curva dosis-respuesta a la metacolina, con un área bajo la curva ROC de 0,814 (IC 95%: 0,748-0,879), se puede apreciar que no existen diferencias notables entre ellas. En la Tabla 13 se aprecia cómo la mejor combinación entre sensibilidad y especificidad para el punto de corte óptimo la obtuvo también el área bajo la curva dosis-respuesta (68,9 + 91,3=160,2).

La PD<sub>20</sub> tuvo una capacidad discriminativa, cuantificada con un área bajo la curva ROC, de 0,811 (IC 95%: 0,734-0,889). La amplitud del intervalo se debe al hecho ya previsto de un tamaño de muestra inferior al resto de los análisis, ya que sólo puede realizarse el cálculo de la PD<sub>20</sub> extrapolada en un reducido número de sujetos (en este caso, 46 que habían padecido ataques de asma y 331 que no).

	Área bajo la curva ROC	Error estándar	IC 95%
PD <sub>20</sub>	0,811	0,040	0,734 - 0,889
O'CONNOR	0,806	0,034	0,740 - 0,873
PENDIENTE (LINEAL)	0,805	0,034	0,738 - 0,872
ÁREA BAJO LA CDR	0,814	0,034	0,748 - 0,879

**Tabla 12. Áreas bajo la curva ROC con sus errores estándar y límites de confianza al 95% inferior y superior de los distintos métodos frente a los ataques de asma en los últimos 12 meses.**

El punto de corte que obtuvo una mayor discriminación, suponiendo la misma trascendencia para un resultado falso negativo que para un falso positivo, fue el correspondiente a una PD<sub>20</sub> de 1,6 micromoles de metacolina, consiguiéndose al utilizarlo como límite para decidir si la prueba tiene un resultado positivo o negativo una sensibilidad del 76,09% y una especificidad del 74,32%.



	Punto de corte óptimo	Sensibilidad	Especificidad
PD <sub>20</sub>	1,602	76,1	74,3
O'CONNOR	0,762	70,5	88,8
PENDIENTE (LINEAL)	-3,497	72,1	87,6
ÁREA BAJO LA CDR	84,273	68,9	91,3

**Tabla 13. Puntos de corte óptimos, sensibilidad y especificidad para este punto de corte de los distintos métodos frente a los ataques de asma en los últimos 12 meses.**

La comparación entre las superficies contenidas bajo la curva ROC de los cuatro índices se refleja en la Tabla 14. En ella se recoge, para cada una de las curvas que se comparan, el error estándar apropiado para la comparación (por encima de la diagonal de la tabla), así como el nivel de significación p (por debajo de la diagonal de la tabla). A modo de ejemplo, la diferencia entre las áreas bajo la curva ROC entre la PD<sub>20</sub> y la pendiente de O'Connor sería de  $0,811-0,806=0,005$ , según la Tabla 13. Como las curvas ROC se han realizado con distinto número de sujetos (377 que tenían una determinación de PD<sub>20</sub> y 1791 que tenían una determinación de la pendiente de O'Connor), el error estándar para la comparación de estas dos áreas se ha calculado sin corregir por la correlación existente entre ambas curvas, obteniéndose un valor de 0,052. Dividiendo la diferencia entre las áreas 0,005 entre su error estándar 0,052 se obtendría el estadístico de contraste  $t=0,096$ , que tendría una probabilidad asociada bajo la hipótesis nula de no diferencia entre las áreas de  $p=0,927$ . Es decir, la diferencia no puede considerarse significativa.

Para curvas ROC realizadas con los mismos individuos, por ejemplo las correspondientes a la pendiente de O'Connor y la pendiente de regresión lineal, ambas realizadas con los mismos 1791 individuos, sí que habría que corregir la estimación del error estándar para tener en cuenta la correlación existente entre ambas curvas. La diferencia entre las áreas bajo la curva ROC entre pendiente de O'Connor y la pendiente de regresión lineal sería de  $0,806-0,805=0,001$ , según la Tabla 13. El error estándar para la comparación de

estas dos áreas, corregido por la correlación existente entre ambas curvas, al tratarse de pruebas realizadas con los mismos sujetos, sería de 0,048. Dividiendo entre sí estas dos últimas cantidades se obtendría el estadístico de contraste, que tendría una probabilidad asociada bajo la hipótesis nula de no diferencia entre las áreas de  $p=0,981$ . Es decir, la diferencia tampoco puede considerarse significativa.

Puede observarse que ninguna de las comparaciones por parejas entre cada uno de los índices arroja diferencias significativas, como ya era observable en la yuxtaposición de las curvas ROC en la Figura 16.

	PD <sub>20</sub>	O'CONNOR	PENDIENTE (LINEAL)	ÁREA BAJO LA CDR
PD <sub>20</sub>		0,052	0,052	0,052
O'CONNOR	0,927		0,048	0,048
PENDIENTE (LINEAL)	0,909	0,981		0,048
ÁREA BAJO LA CDR	0,963	0,880	0,861	

**Tabla 14. Errores estándar (por encima de la diagonal) y niveles de significación p (por debajo de la diagonal) para la comparación entre las áreas bajo la curva ROC para los ataques de asma en los últimos 12 meses**

#### 4.6.2.2. Sibilancias en los últimos 12 meses

La Figura 17 representa las curvas ROC de cada uno de los índices como medida de la capacidad que tienen para discriminar entre los que han presentado sibilancias y los que no en los últimos 12 meses. Puede apreciarse aquí en general una menor capacidad discriminativa que con respecto a los ataques de asma, así como unas diferencias mínimas entre los distintos índices.

Como en el caso anterior, el cruce de la curva correspondiente a la PD<sub>20</sub> con respecto a los demás refleja una mayor sensibilidad para este índice en la parte más baja de la escala (representada en el ángulo superior derecho de la figura) que posteriormente se pierde a medida que aumenta el punto de corte para la PD<sub>20</sub>, es

decir, se llega a la zona de los individuos menos hiperreactivos, representada en el ángulo inferior izquierdo de la figura.

	Área bajo la curva ROC	Error estándar	IC 95%	
PD <sub>20</sub>	0,660	0,028	0,606	0,715
O'CONNOR	0,638	0,015	0,609	0,666
PENDIENTE (LINEAL)	0,645	0,015	0,616	0,673
ÁREA BAJO LA CDR	0,635	0,015	0,606	0,663

**Tabla 15. Áreas bajo la curva ROC con sus errores estándar y límites de confianza al 95% inferior y superior de los distintos métodos frente a la presencia de sibilancias**

	Punto de corte óptimo	Sensibilidad	Especificidad
PD <sub>20</sub>	3,133	57,3	68,1
O'CONNOR	0,670	36,0	89,1
PENDIENTE (LINEAL)	-1,999	43,1	82,9
ÁREA BAJO LA CDR	91,430	39,5	87,1

**Tabla 16. Puntos de corte óptimos, sensibilidad y especificidad para este punto de corte de los distintos métodos frente a la presencia de sibilancias**

La comparación entre las superficies contenidas bajo la curva ROC de los cuatro índices se refleja en la Tabla 17. Tampoco aquí se aprecian diferencias significativas en la capacidad discriminativa de cada uno de los índices. De la misma manera que para el criterio ataques de asma en los últimos 12 meses, la comparación entre las curvas ROC se ha realizado sin corrección del error estándar en las comparaciones con la PD<sub>20</sub> y corrigiendo éste por la correlación esperada para el resto de las parejas.

	PD <sub>20</sub>	O'CONNOR	PENDIENTE (LINEAL)	ÁREA BAJO LA CDR
PD <sub>20</sub>		0,031	0,031	0,031
O'CONNOR	0,470		0,020	0,020
PENDIENTE (LINEAL)	0,613	0,724		0,020
ÁREA BAJO LA CDR	0,420	0,895	0,628	

**Tabla 17. Errores estándar (por encima de la diagonal) y niveles de significación p (por debajo de la diagonal) para la comparación entre las áreas bajo la curva ROC para la presencia de sibilancias.**

#### 4.6.2.3. Rinitis

La Figura 18 representa las curvas ROC de cada uno de los índices como medida de la capacidad que tienen para discriminar entre los que han presentado rinitis y los que no. La capacidad discriminativa global es aún menor, y con marcadas coincidencias entre todos los índices, aunque con una ligera ventaja para la PD<sub>20</sub>. La Tabla 18 recoge las características de las curvas, y la Tabla 19 los puntos de corte óptimos y sus respectivas sensibilidad y especificidad.

	Área bajo la curva ROC	Error estándar	IC 95%	
PD <sub>20</sub>	0,657	0,030	0,597	0,716
O'CONNOR	0,601	0,017	0,568	0,633
PENDIENTE (LINEAL)	0,603	0,017	0,571	0,635
ÁREA BAJO LA CDR	0,608	0,017	0,576	0,641

**Tabla 18. Áreas bajo la curva ROC con sus errores estándar y límites de confianza al 95% inferior y superior de los distintos métodos frente a la presencia de rinitis.**

	Punto de corte óptimo	Sensibilidad	Especificidad
PD <sub>20</sub>	5,270	50,4	77,0
O'CONNOR	0,555	44,8	73,2
PENDIENTE (LINEAL)	-2,052	39,3	79,6
ÁREA BAJO LA CDR	94,052	45,8	73,3

**Tabla 19. Puntos de corte óptimos, sensibilidad y especificidad para este punto de corte de los distintos métodos frente a la presencia de rinitis.**

La comparación entre las superficies contenidas bajo la curva ROC de los cuatro índices se refleja en la Tabla 20. Las diferencias entre las superficies para la PD<sub>20</sub> y la pendiente de O'Connor no llegan a presentar significación estadística ( $p=0,105$ ), aunque sí una tendencia, y se aprecia una tendencia también a las diferencias entre PD<sub>20</sub> y pendiente lineal y PD<sub>20</sub> y área bajo la curva dosis-respuesta.

	PD <sub>20</sub>	O'CONNOR	PENDIENTE (LINEAL)	ÁREA BAJO LA CDR
PD <sub>20</sub>		0,034	0,034	0,034
O'CONNOR	0,105		0,023	0,023
PENDIENTE (LINEAL)	0,120	0,919		0,023
ÁREA BAJO LA CDR	0,161	0,741	0,819	

**Tabla 20. Errores estándar (por encima de la diagonal) y niveles de significación p (por debajo de la diagonal) para la comparación entre las áreas bajo la curva ROC para la presencia de rinitis**

#### 4.6.2.4. Atopia

Las curvas ROC de cada uno de los índices se representan en la Figura 19. El entrecruzamiento de la curva ROC de la PD<sub>20</sub> con el resto refleja el comportamiento desigual de este índice, con una mayor sensibilidad en la parte baja de la escala, pero con peor especificidad después. La Tabla 21 y la Tabla 22 recogen, respectivamente, las características cuantitativas de las curvas y los puntos de corte óptimos.

	Área bajo la curva ROC	Error estándar	IC 95%	
PD <sub>20</sub>	0,640	0,030	0,581	0,698
O'CONNOR	0,623	0,017	0,589	0,657
PENDIENTE (LINEAL)	0,622	0,017	0,588	0,656
ÁREA BAJO LA CDR	0,626	0,017	0,592	0,660

**Tabla 21. Áreas bajo la curva ROC con sus errores estándar y límites de confianza al 95% inferior y superior de los distintos métodos frente a la presencia de atopia.**

	Punto de corte óptimo	Sensibilidad	Especificidad
PD <sub>20</sub>	5,002	65,7	58,6
O'CONNOR	0,608	43,6	81,0
PENDIENTE (LINEAL)	-2,061	44,8	80,6
ÁREA BAJO LA CDR	91,934	40,9	82,4

**Tabla 22. Puntos de corte óptimos, sensibilidad y especificidad para este punto de corte de los distintos métodos frente a la presencia de atopia**

La comparación entre las superficies contenidas bajo la curva ROC de los cuatro índices se refleja en la Tabla 23. No se

aprecian diferencias estadísticamente significativas en la capacidad de cada uno de los índices para discriminar entre atópicos y no atópicos.

	PD <sub>20</sub>	O'CONNOR	PENDIENTE (LINEAL)	ÁREA BAJO LA CDR
PD <sub>20</sub>		0,034	0,034	0,034
O'CONNOR	0,632		0,024	0,024
PENDIENTE (LINEAL)	0,610	0,964		0,024
ÁREA BAJO LA CDR	0,696	0,898	0,863	

**Tabla 23. Errores estándar (por encima de la diagonal) y niveles de significación p (por debajo de la diagonal) para la comparación entre las áreas bajo la curva ROC para la presencia de atopía**

#### 4.6.2.5. Bronquitis crónica

La Figura 20 recoge las curvas ROC de los distintos índices. Se observa en ella un comportamiento peculiar de la curva de la PD<sub>20</sub>, que se desarrolla en parte de su recorrido por debajo de la diagonal, es decir, estaría en una zona de discriminación inversa, clasificando erróneamente a los individuos como “sanos” (no bronquíticos) con valores de PD<sub>20</sub> más bajos. En la Tabla 24 se recogen las áreas bajo la curva ROC y sus intervalos de confianza, resaltando que la PD<sub>20</sub> tendría una superficie bajo la curva de 0,482, inferior al límite teórico de capacidad discriminativa, que estaría establecido en un área bajo la curva ROC de 0,5. La Tabla 25 recoge la sensibilidad y especificidad alcanzadas con los puntos de corte óptimos.

	Área bajo la curva ROC	Error estándar	IC 95%	
PD <sub>20</sub>	0,482	0,040	0,403	0,561
O'CONNOR	0,565	0,023	0,520	0,609
PENDIENTE (LINEAL)	0,583	0,023	0,538	0,627
ÁREA BAJO LA CDR	0,553	0,023	0,509	0,598

**Tabla 24. Áreas bajo la curva ROC con sus errores estándar y límites de confianza al 95% inferior y superior de los distintos métodos frente a la presencia de bronquitis crónica**

	Punto de corte óptimo	Sensibilidad	Especificidad
PD <sub>20</sub>	5,375	73,3	35,3
O'CONNOR	0,650	31,1	81,3
PENDIENTE (LINEAL)	-2,030	37,9	76,6
ÁREA BAJO LA CDR	89,703	28,4	84,6

**Tabla 25. Puntos de corte óptimos, sensibilidad y especificidad para este punto de corte de los distintos métodos frente a la presencia de bronquitis crónica**

La comparación entre las superficies contenidas bajo la curva ROC de los cuatro índices se refleja en la Tabla 26. En esta ocasión, la capacidad discriminativa de la PD<sub>20</sub> (área bajo la curva ROC de 0,482) se ha mostrado estadísticamente inferior a la de la pendiente lineal (área bajo la curva ROC de 0,583; p=0,029) y con una diferencia cercana al límite de significación (p=0,073) con respecto a la pendiente de O'Connor (área bajo la curva ROC de 0,565).

	PD <sub>20</sub>	O'CONNOR	PENDIENTE (LINEAL)	ÁREA BAJO LA CDR
PD <sub>20</sub>		0,046	0,046	0,046
O'CONNOR	0,073		0,032	0,032
PENDIENTE (LINEAL)	0,029	0,566		0,032
ÁREA BAJO LA CDR	0,121	0,720	0,351	

**Tabla 26. Errores estándar (por encima de la diagonal) y niveles de significación p (por debajo de la diagonal) para la comparación entre las áreas bajo la curva ROC para la presencia de bronquitis crónica**

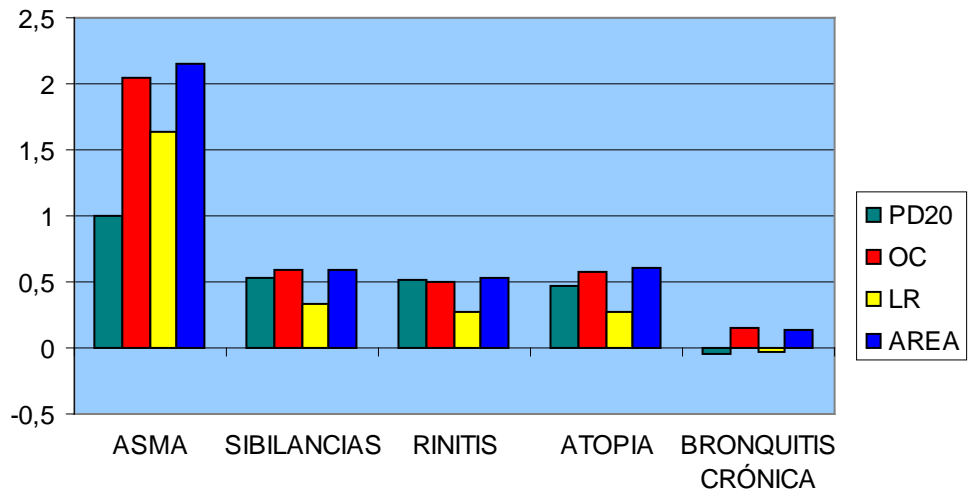


Figura 15. Índices de discriminación (diferencia de medias / desviación típica conjunta) obtenidos con los diferentes criterios. OC: pendiente de O'Connor; LR: pendiente de regresión lineal; Area: área bajo la curva dosis-respuesta.

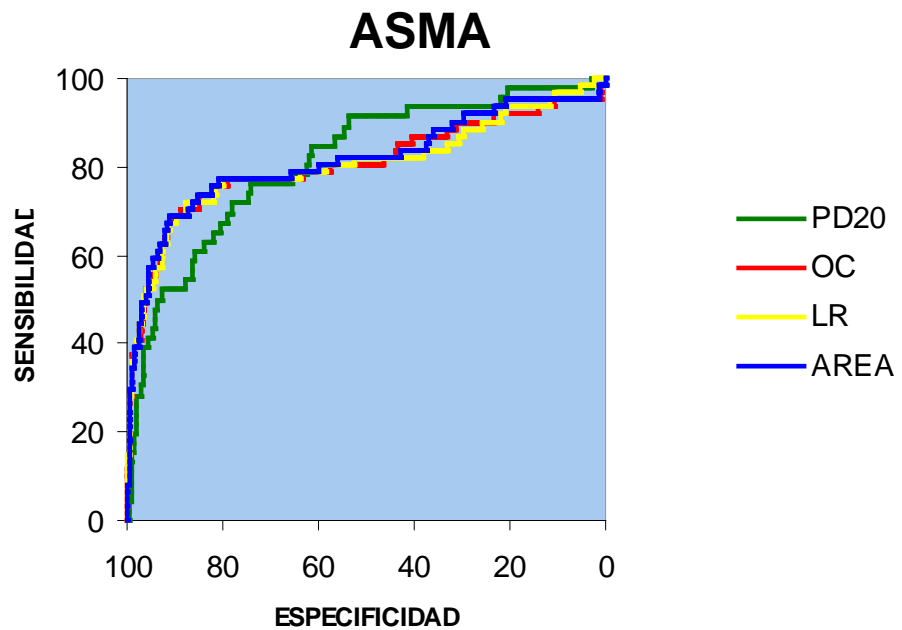


Figura 16. Capacidad discriminativa (curvas ROC) de la PD<sub>20</sub>, pendiente de O'Connor (OC), pendiente de regresión lineal (LR) y área bajo la curva dosis-respuesta (Área) frente a los ataques de asma en los últimos 12 meses



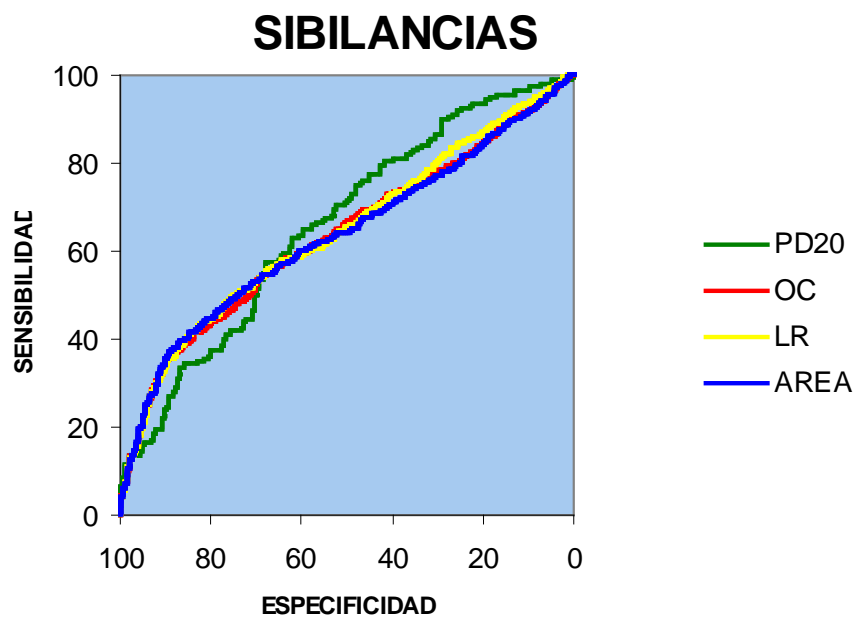


Figura 17. Capacidad discriminativa (curvas ROC) de la PD<sub>20</sub>, pendiente de O'Connor (OC), pendiente de regresión lineal (LR) y área bajo la curva dosis-respuesta (Área) frente a los presencia de sibilancias

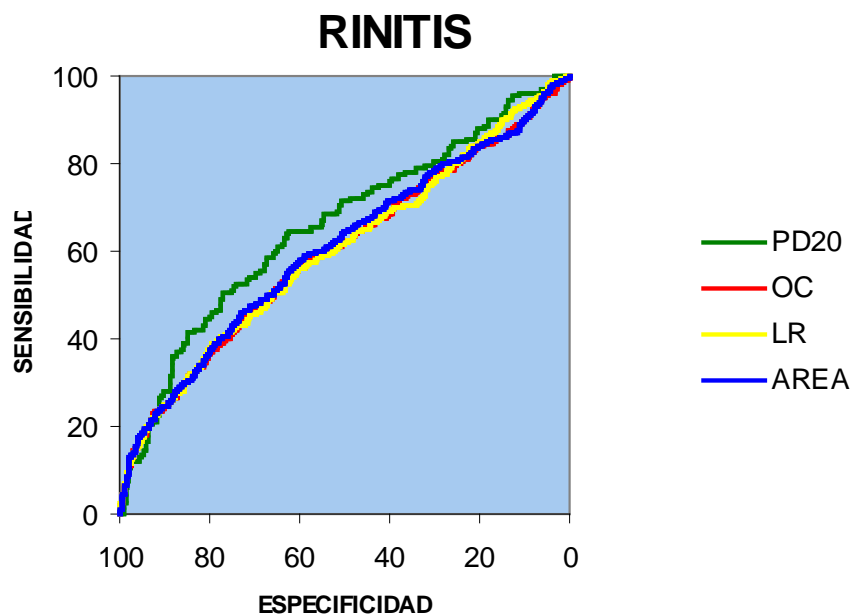


Figura 18. Capacidad discriminativa (curvas ROC) de la PD<sub>20</sub>, pendiente de O'Connor (OC), pendiente de regresión lineal (LR) y área bajo la curva dosis-respuesta (Área) frente a la presencia de rinitis

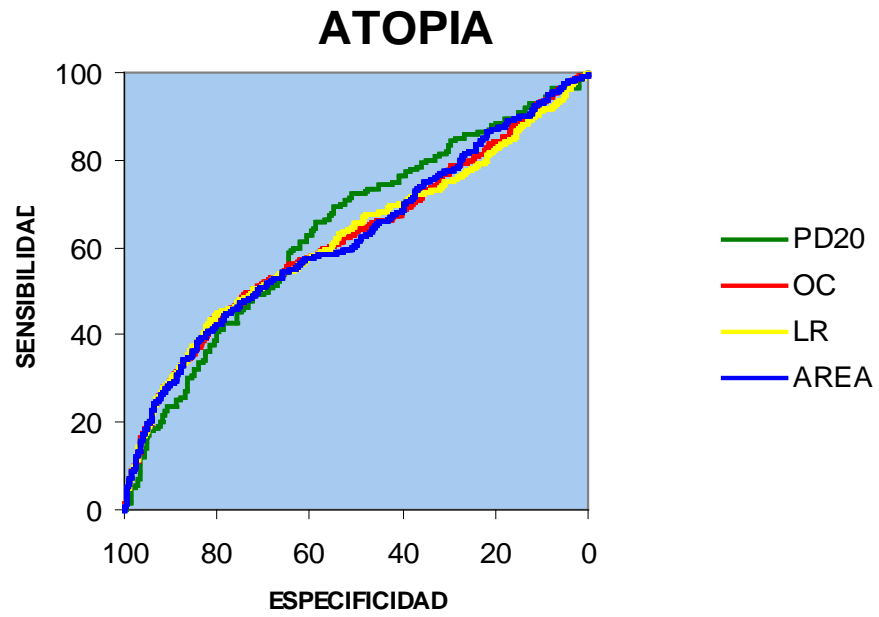


Figura 19. Capacidad discriminativa (curvas ROC) de la  $PD_{20}$ , pendiente de O'Connor (OC), pendiente de regresión lineal (LR) y área bajo la curva dosis-respuesta (Área) frente a los presencia de atopia

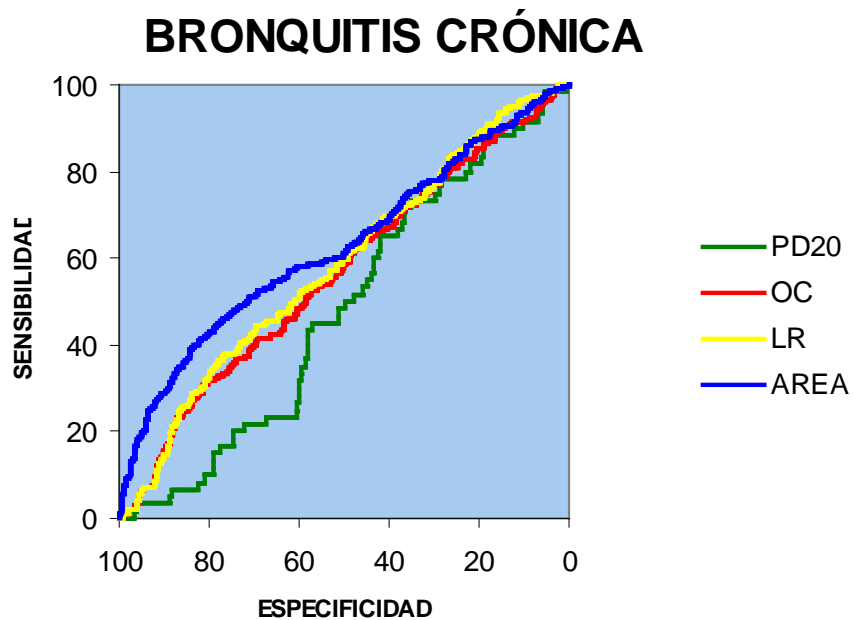
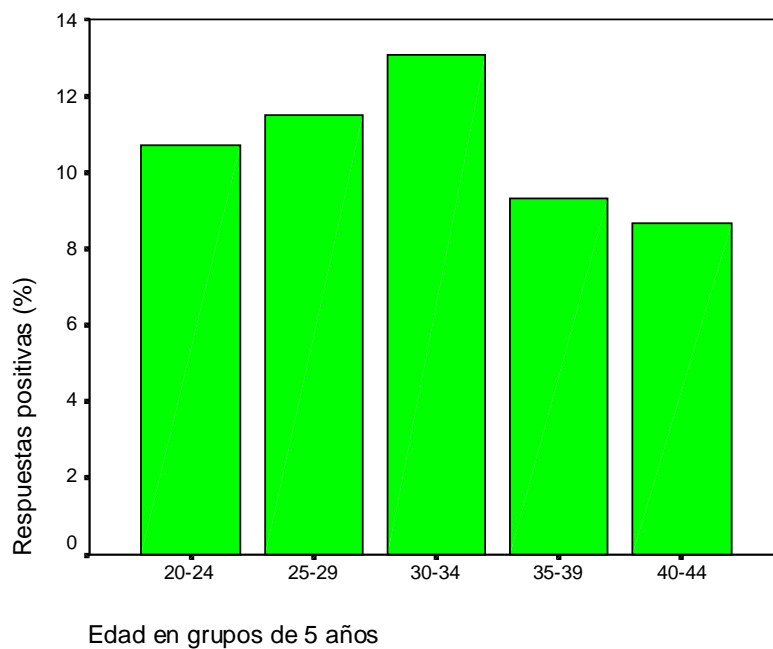


Figura 20. Capacidad discriminativa (curvas ROC) de la  $PD_{20}$ , pendiente de O'Connor (OC), pendiente de regresión lineal (LR) y área bajo la curva dosis-respuesta (Área) frente a los presencia de bronquitis crónica

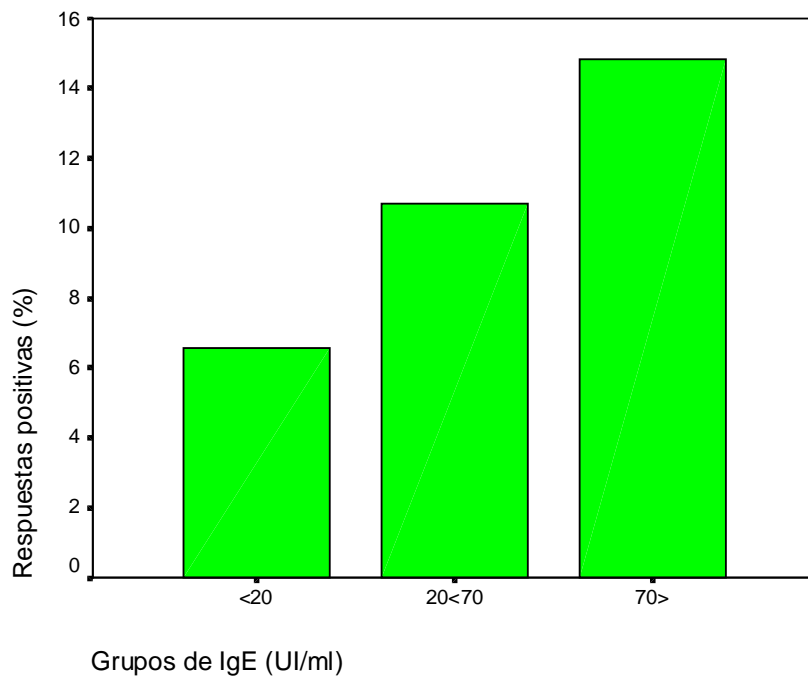
#### **4.6.3. Modelización mediante modelo de efectos aleatorios**

Antes de calcular los parámetros de la regresión se ha realizado la transformación logarítmica de la dosis de metacolina acumulada. Para evitar valores negativos en esta transformación logarítmica, cada valor de dosis fue previamente multiplicado por 100.

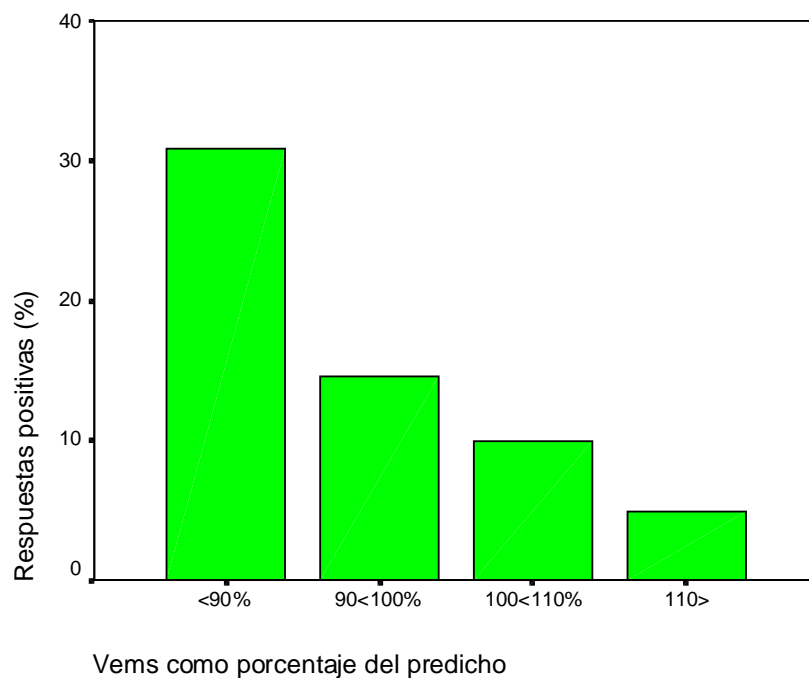
Se han construido modelos para cada una de las variables predictoras que teóricamente deberían estar asociadas con la respuesta bronquial (ataques de asma, sibilancias, rinitis, atopia, bronquitis crónica). Evidentemente, existen otros factores pueden condicionar también la respuesta bronquial, como el sexo (8,9% de respuestas entre los varones, 12,6% entre las mujeres), la edad (Figura 21), el nivel de IgE (Figura 22), la función pulmonar basal medida como porcentaje del VEMS basal con respecto al predicho (Figura 23), o el tabaquismo (13,7% los fumadores, 11,5% los no fumadores). Por esta razón se han usado todos estos factores como posibles factores de confusión, y para controlarlos se han introducido en los modelos de predicción de la respuesta bronquial.



**Figura 21. Proporción de respuestas positivas a la prueba de metacolina en función de la edad.**



**Figura 22. Proporción de respuestas positivas a la prueba de metacolina en función de los niveles de IgE.**



**Figura 23. Proporción de respuestas positivas a la prueba de metacolina en función de la función pulmonar basal: porcentaje sobre el VEMS predicho.**

La Tabla 27 recoge los resultados obtenidos para la comparación entre los que han tenido ataques de asma en los últimos 12 meses y los que no. En la primera fase del análisis (ver material y métodos) se ajusta una regresión polinomial para modelizar la curva individual de respuesta a cada una de las dosis de metacolina. Los coeficientes lineal (de la dosis de metacolina) y cuadrático (de la dosis al cuadrado) se analizan en la primera parte de la tabla mediante análisis de la varianza, en el que se puede observar que ambos son estadísticamente significativos. La segunda parte de la tabla proporciona los coeficientes medios para los que han sufrido ataques de asma en los últimos doce meses y los que no, ajustados por edad, sexo, función pulmonar basal, IgE y tabaquismo.

Variable	Suma de cuadrados regresión	Suma de cuadrados residual	Media cuadrática regresión	Media cuadrática residual	Estadístico F	P
Dosis	108,41	27232,59	108,41	17,37	6,24	0,013
Dosis <sup>2</sup>	15,90	5717,55	15,90	3,65	4,36	0,037

	Variable	Medias observadas	Medias ajustadas
Ataques de asma	Dosis	-0,981	-0,824
	Dosis <sup>2</sup>	1,351	1,491
No ataques de asma	Dosis	0,891	0,734
	Dosis <sup>2</sup>	2,228	2,088

**Tabla 27. Análisis múltiple de la varianza (MANOVA). Comparación de los coeficientes de la dosis y de la dosis al cuadrado entre los que han sufrido ataques de asma y los que no. Medias ajustadas por edad, sexo, VEMS basal, nivel de IgE y tabaquismo.**

A partir de los coeficientes medios ajustadas en la tabla anterior se construyen los porcentajes sobre el VEMS estimados para el grupo que ha padecido ataques de asma y el que no (Tabla 28).

Dosis de metacolina (μmoles)	Log (dosis*100)	% Sobre el VEMS inicial (sin ataques de asma)	% Sobre el VEMS inicial (con ataques de asma)
0,01	0,00	100,00	100,00
0,02	0,30	100,15	99,55
0,04	0,60	100,04	98,72
0,08	0,90	99,66	97,50
0,16	1,20	99,02	95,89
0,32	1,51	98,12	93,90
0,64	1,81	96,96	91,53
1,28	2,11	95,53	88,77
2,55	2,41	93,83	85,63
5,11	2,71	91,88	82,10

**Tabla 28. Porcentajes de caída sobre el VEMS inicial estimados para cada dosis. Ajustados por edad, sexo, VEMS basal, nivel de IgE y tabaquismo.**

Esta misma información se ha trasladado a un formato gráfico para una lectura más directa (Figura 24).

Idéntico procedimiento de cálculo se ha seguido para la comparación de grupos en función de la presencia de sibilancias (Figura 25), rinitis (Figura 26), atopia (Figura 27) y bronquitis crónica (Figura 28). En todos los casos, salvo en el de la bronquitis crónica, se aprecia una nítida separación, mayor a

medida que aumenta la dosis, entre los porcentajes de caída entre los grupos que se comparan.

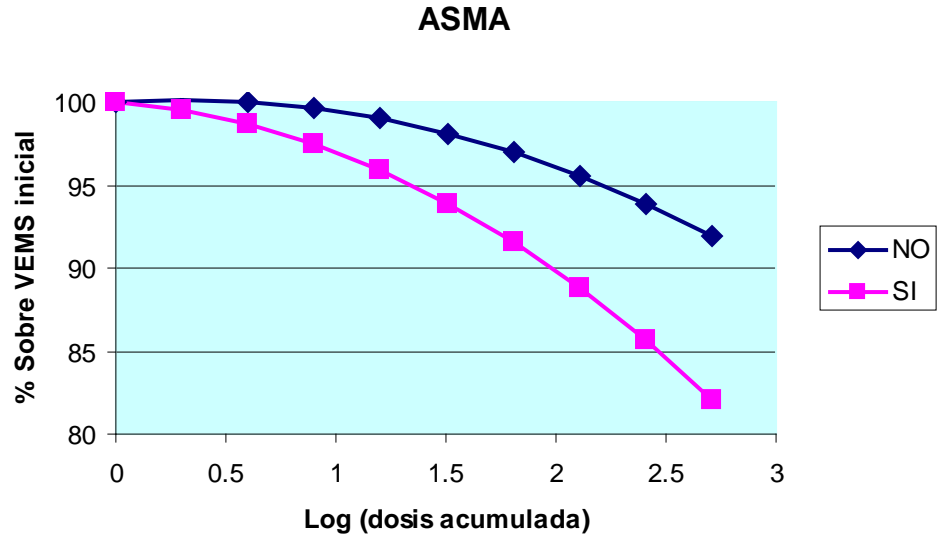


Figura 24. Medias esperadas de caída en el VEMS, en función de la presencia o no de ataques de asma en los últimos 12 meses, ajustadas por edad, sexo, VEMS basal, nivel de IgE y tabaquismo.

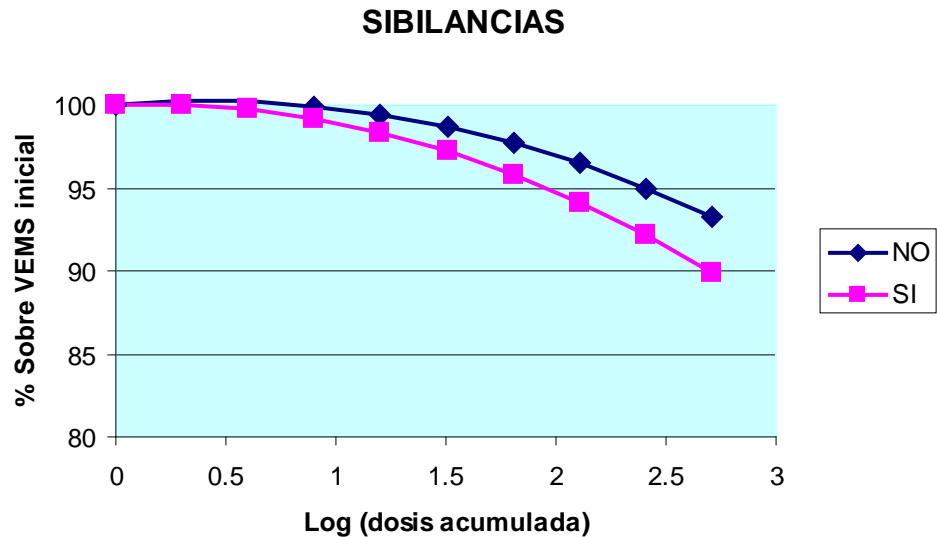


Figura 25. Medias esperadas de caída en el VEMS, en función de la presencia o no de sibilancias en los últimos 12 meses, ajustadas por edad, sexo, VEMS basal, nivel de IgE y tabaquismo.

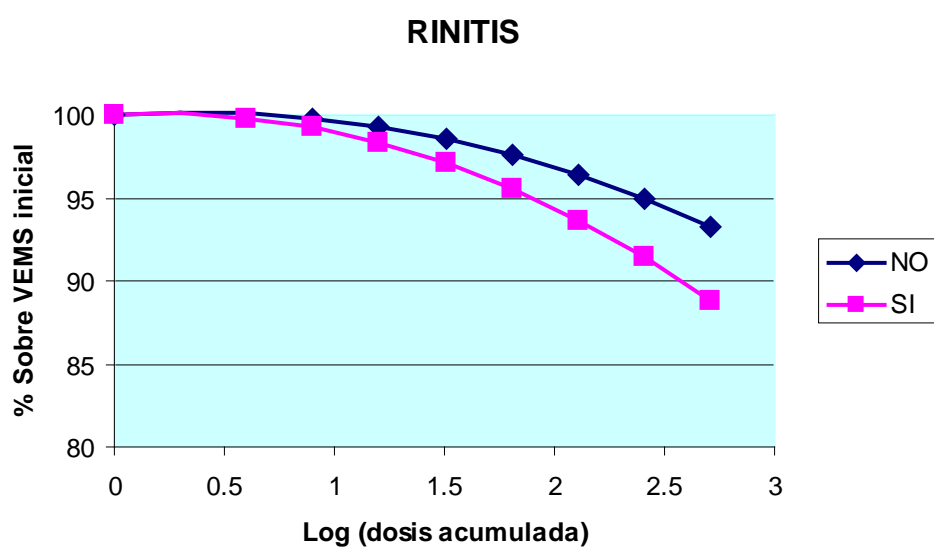


Figura 26. Medias esperadas de caída en el VEMS, en función de la presencia o no de rinitis, ajustadas por edad, sexo, VEMS basal, nivel de IgE y tabaquismo.

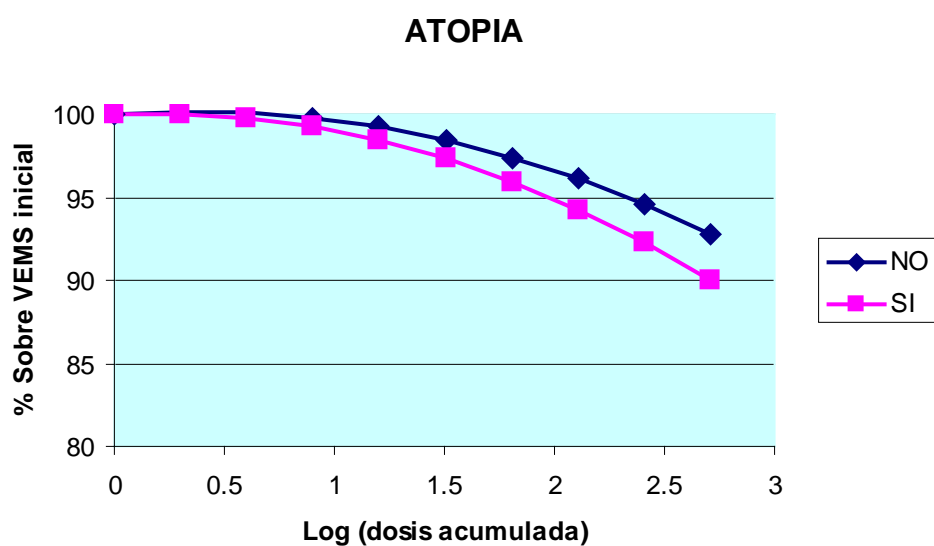


Figura 27. Medias esperadas de caída en el VEMS, en función de la presencia o no de atopia, ajustadas por edad, sexo, VEMS basal, nivel de IgE y tabaquismo.



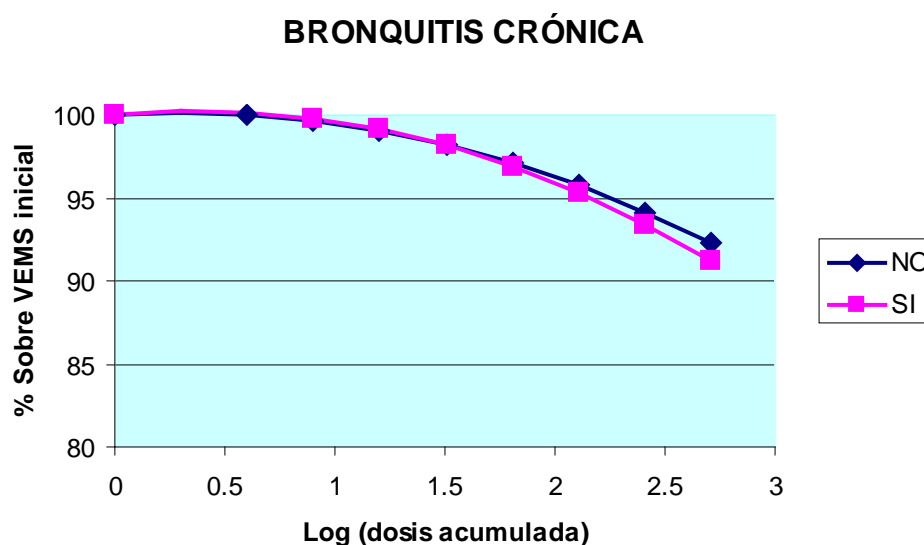


Figura 28. Medias esperadas de caída en el VEMS, en función de la presencia o no de bronquitis crónica, ajustadas por edad, sexo, VEMS basal, nivel de IgE y tabaquismo.

#### 4.6.4. Modelización mediante análisis de supervivencia (Weibull)

La Tabla 29 describe los resultados obtenidos para el método de análisis propuesto. El número total de no respondedores fue de 1598 (87,4%). De ellos, 1582 (98,9%) recibieron la dosis máxima de metacolina administrada, es decir, en la terminología del análisis de la supervivencia, fueron censurados al final del estudio, en tanto que 16 (1,1%) no completaron el protocolo, es decir, censurados antes del final del estudio. La mayoría (191, 83%) de los 230 que respondieron a la metacolina lo hicieron con una caída en el VEMS no superior al 70%. De acuerdo al método previsto, se les asignó como dosis efectiva aquella en la que efectivamente se observó la respuesta. Por el contrario, a los 39 que tuvieron caídas del VEMS por debajo del 70% se les asignó una dosis efectiva en función del método de interpolación simple previsto, ya que es muy probable que hubiesen caído a una concentración intermedia de metacolina. Esta es la razón para el uso de los procedimientos de interpolación descrito en la sección de material y métodos.

Dosis número:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Total
Dosis acumulada (μmoles)	0,01	0,02	0,04	0,08	0,16	0,32	0,64	1,28	2,56	5,11	
No responden	0	1				3	2	6	4	1582	1598
Responden:											
VEMS 71- 80%		2	1	8	11	16	18	35	44	56	191
VEMS 61- 70%			2	1	1	3	3	2	3	16	31
VEMS < 60%									3	5	8
Total responden	0	2	3	9	12	19	21	37	50	77	230
Total	0	3	3	9	12	22	23	43	54	1659	1828

**Tabla 29. Número de participantes que no responden (VEMS >80% posdiluyente) y que responden (VEMS < 80% posdiluyente) y grado de respuesta medida por la magnitud de la caída en cada dosis de metacolina.**

A continuación se expresan los resultados para cada una de las variables predictoras:

#### **4.6.4.1. Ataques de asma en los últimos 12 meses**

El modelo multivariante de los síntomas, ajustado por las covariables comentadas, se expresa en la Tabla 30. En ella se presentan los coeficientes habituales en regresión con sus errores estándar y las probabilidades calculadas bajo la hipótesis nula de no asociación. Puede observarse que todas las variables, salvo la edad, mantienen una relación estadísticamente significativa con la respuesta bronquial.

La razón de riesgo, obtenida al exponenciar el opuesto del coeficiente de cada variable, informa del riesgo de respuesta bronquial asociado a cada una de las variables. Los individuos con variables cuyos coeficientes de regresión sean negativos (los que han presentado ataques de asma, las mujeres, aquellos con mayores niveles de IgE y los fumadores) necesitan dosis inferiores de metacolina para producir un determinado nivel de respuesta. Por el contrario, los individuos con variables que presenten un coeficiente positivo en el modelo (mayor edad, una mejor función pulmonar basal) responderán a dosis de metacolina superiores. Los límites inferior y superior conforman un intervalo

de confianza al 95% para la razón de riesgos, que informa de la precisión con que se ha realizado la medida. El hecho de que todos los intervalos, excepto el de la razón de riesgo para la edad, excluyan la unidad da una idea bastante clara del sentido de la relación, además de que la medición se ha realizado con suficiente precisión.

El parámetro de escala para los que no presentan ataques de asma (0,1858) y para los que sí los presentan (0,1858 + 0,2072 = 0,3930) indica que existe una clara relación dosis-respuesta entre la dosis de metacolina administrada y el riesgo de presentar hiperreactividad. Como ya se indicó en material y métodos, un parámetro de escala  $\sigma < 1$  corresponde a la más que probable situación de que el riesgo de respuesta se incremente con la dosis de metacolina.

Finalmente, la parte inferior de la tabla refleja el papel conjunto representado por las variables que se han segmentado para el modelo en variables indicadoras dicotómicas, es decir, cuál es la relación global del VEMS inicial con la probabilidad de respuesta, por encima de la posible asociación de una categoría de VEMS en concreto. El estadístico de Wald contrasta la hipótesis nula de no asociación, y se presenta el valor de la cantidad experimental, sus grados de libertad y la probabilidad asociada de obtener los presentes resultados si no existiese ninguna relación.

Variables	Coficiente	Error estándar	p	Razón de riesgo	Lim inf	Lim sup
Parámetro de regresión $\beta$	2,7086	0,0669	< 0,001	0,07	0,06	0,08
Ataques de asma	-0,45	0,0746	< 0,001	1,57	1,36	1,82
Edad > 35 a	0,0138	0,0324	0,6716	0,99	0,93	1,05
Sexo Mujer	-0,124	0,0333	< 0,001	1,13	1,06	1,21
VEMS inicial 90<100%	0,1545	0,0433	< 0,001	0,86	0,79	0,93
VEMS inicial 100<110%	0,2729	0,0471	< 0,001	0,76	0,69	0,83
VEMS inicial >110%	0,4138	0,0567	< 0,001	0,66	0,59	0,74
IgE 20-70 UI/ml	-0,121	0,0449	0,0071	1,13	1,03	1,23
IgE >70 UI/ml	-0,192	0,0448	< 0,001	1,21	1,11	1,32
Tabaquismo actual	-0,061	0,0337	0,069	1,06	1,00	1,14
Parámetro de escala $\sigma$	0,1913	0,0151				
Ataques de asma	0,1733	0,0554	0,0018			

Test de Wald para las variables indicadoras:

Variable	Estadístico	g.l.	p
VEMS inicial	57,757	3	< 0,001
IgE	18,386	2	< 0,001

**Tabla 30. Modelo de regresión Weibull sobre la respuesta bronquial a la prueba de metacolina, en función de la presencia de ataques de asma en los últimos 12 meses, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Categoría de referencia: Varones, VEMS inicial <90% del predicho, IgE<20 UI/ml, no fumadores (g.l.: grados de libertad).**

De la información contenida en esta tabla en particular se puede deducir que la presencia de ataques de asma en los últimos 12 meses está claramente asociada a la dosis de metacolina necesaria para producir una determinada respuesta. En concreto, el riesgo se multiplica por 1,57 (intervalo de confianza al 95% de 1,36 a 1,82) al comparar a los que han tenido ataques de asma en los últimos 12 meses con los que no los han padecido, a igualdad de edad, sexo, función pulmonar basal, nivel de IgE y consumo de tabaco.

La Tabla 31 se basa en el modelo ajustado en la tabla anterior. En ella se especifican las dosis de metacolina necesarias para que presenten respuestas positivas el 1%, 2%, 5%, 10%, 15%... de los que han padecido ataques de asma en los últimos meses y de los que no. De nuevo, las estimaciones tienen en cuenta las influencias añadidas de la edad, sexo, etc. La columna de percentiles relativos no es más que el cociente entre las dos anteriores. Es decir, si para que caiga un 1% de los que han

presentado ataques de asma se necesitan 1,79 dosis de metacolina y para que caiga un 1% de los que no han tenido ataques de asma se necesitan hasta 6,2 dosis de metacolina, estas dos cantidades dan un cociente de 0,29. Para que responda el 1% de los que han presentado ataques basta un 29% de la cantidad que sería necesario administrar a que no han tenido ataques para que cayeran en la misma proporción. Para todos los percentiles se mantiene la reducción en las dosis necesarias (todos los percentiles relativos son inferiores a 1). Los intervalos de confianza de estos percentiles relativos, por debajo de la unidad en todos los percentiles, indican que la relación se mantiene y es suficientemente precisa.

Percentil	NO	Sí	Percentiles Relativos	Lim inf	Lim sup
1	6,2	1,79	0,29	0,15	0,56
2	7,1	2,31	0,32	0,18	0,58
5	8,5	3,24	0,38	0,24	0,60
10	9,8	4,21	0,43	0,30	0,62
15	10,6	4,93	0,47	0,34	0,64
20	11,3	5,54	0,49	0,37	0,65
30	12,3	6,57	0,53	0,42	0,67
40	13,2	7,49	0,57	0,46	0,69
50	14,0	8,37	0,60	0,50	0,72
60	14,8	9,27	0,63	0,53	0,74

**Tabla 31. Percentiles: dosis a las que caería el percentil correspondiente de la población, en función de que la presencia (columna Sí) o ausencia (columna NO) de ataques de asma en los últimos 12 meses, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Percentiles relativos: cociente Sí / NO. Lim inf y Lim sup: límites inferior y superior del intervalo de confianza al 95% para los percentiles relativos.**

Para una expresión más intuitiva, a partir de la tabla anterior se ha elaborado la Figura 29, que refleja el distinto perfil de respuesta que presentan los que han padecido ataques de asma en los últimos 12 meses y los que no.

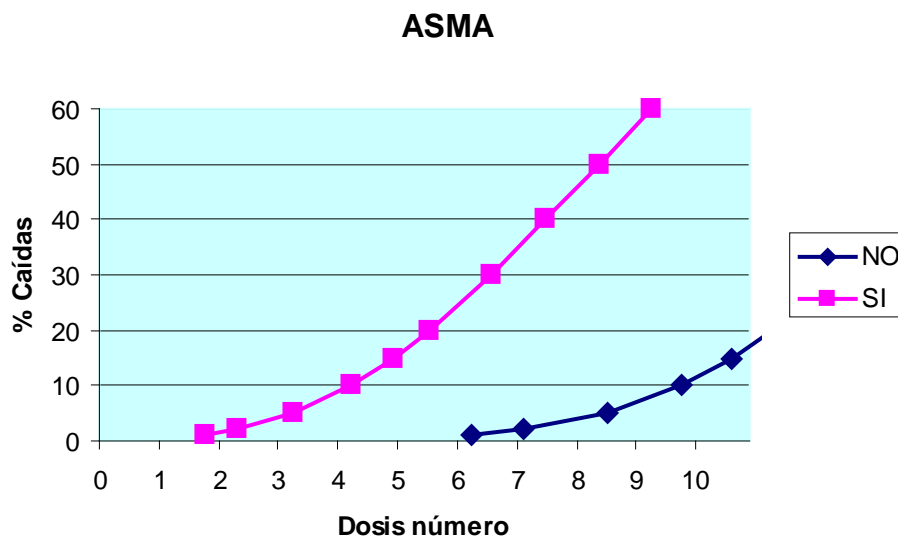


Figura 29. Proporción de la población que cae a las distintas dosis, en función de la presencia o ausencia de ataques de asma, ajustada por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo

#### 4.6.4.2. Sibilancias en los últimos 12 meses

El modelo construido para las sibilancias se recoge en la Tabla 32

Variabes	Coficiente	Error estándar	p	Razón de riesgo	Lim inf	Lim sup
Parámetro de regresión $\beta$	2,7204	0,0787	< 0,001	0,07	0,06	0,08
Sibilancias	-0,181	0,0687	0,0083	1,20	1,05	1,37
Edad > 35 a	0,0435	0,036	0,2259	0,96	0,89	1,03
Sexo Mujer	-0,149	0,0368	< 0,001	1,16	1,08	1,25
VEMS inicial 90<100%	0,1879	0,0492	< 0,001	0,83	0,75	0,91
VEMS inicial 100<110%	0,2785	0,0508	< 0,001	0,76	0,69	0,84
VEMS inicial >110%	0,4348	0,0611	< 0,001	0,65	0,57	0,73
IgE 20-70 UI/ml	-0,119	0,0493	0,0159	1,13	1,02	1,24
IgE >70 UI/ml	-0,207	0,0489	< 0,001	1,23	1,12	1,35
Tabaquismo actual	0,0598	0,0387	0,1225	0,94	0,87	1,02
Parámetro de escala $\sigma$	0,1865	0,0212				
Sibilancias	0,0717	0,0277	0,0097			

Test de Wald para las variables indicadoras:

Variable	Estadístico	g.l.	p
VEMS inicial	53,312	3	< 0,001
IgE	18,322	2	< 0,001

**Tabla 32. Modelo de regresión Weibull sobre la respuesta bronquial a la prueba de metacolina, en función de la presencia de sibilancias, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Categoría de referencia: Varones, VEMS inicial <90% del predicho, IgE<20 UI/ml, no fumadores (g.l.: grados de libertad).**

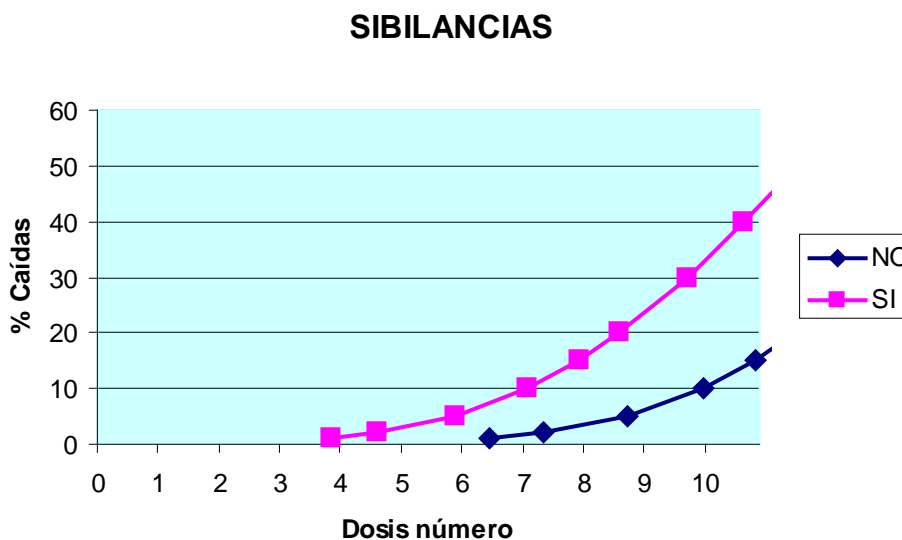
Se puede comprobar que la presencia de sibilancias está claramente asociada a la dosis de metacolina necesaria para producir una determinada respuesta. El riesgo se multiplica por 1,20 (intervalo de confianza al 95% de 1,05 a 1,37) al comparar a los que han tenido sibilancias con los que no las han padecido, a igualdad de edad, sexo, función pulmonar basal, nivel de IgE y consumo de tabaco.

La Tabla 33 se basa en el modelo ajustado en la tabla anterior. De nuevo, las estimaciones tienen en cuenta las influencias añadidas de la edad, sexo, etc. Para todos los percentiles se mantiene la reducción en las dosis necesarias (todos los percentiles relativos son inferiores a 1). Los intervalos de confianza de estos percentiles relativos, por debajo de la unidad en todos los percentiles, indican que la relación se mantiene y es suficientemente precisa.

Percentil	No	Sí	Percentiles Relativos	Lim inf	Lim sup
1	6,4	3,86	0,60	0,40	0,89
2	7,3	4,63	0,63	0,44	0,90
5	8,7	5,88	0,67	0,50	0,91
10	10,0	7,09	0,71	0,55	0,92
15	10,8	7,93	0,73	0,58	0,93
20	11,5	8,60	0,75	0,60	0,93
30	12,5	9,71	0,77	0,64	0,94
40	13,4	10,65	0,80	0,67	0,94
50	14,2	11,53	0,81	0,70	0,94
60	14,9	12,39	0,83	0,73	0,94

**Tabla 33. Percentiles: dosis a las que caería el percentil correspondiente de la población, en función de que la presencia (columna Sí) o ausencia (columna No) de sibilancias, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Percentiles relativos: cociente Sí / No. Lim inf y Lim sup: límites inferior y superior del intervalo de confianza al 95% para los percentiles relativos.**

El gráfico de percentiles de la Figura 30 refleja el distinto perfil de respuesta que presentan los que han padecido sibilancias y los que no.



**Figura 30. Proporción de la población que cae a las distintas dosis, en función de la presencia o ausencia de sibilancias, ajustada por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo**



#### 4.6.4.3. Rinitis

El modelo construido para las rinitis se recoge en la Tabla 34. La relación de la rinitis con la respuesta bronquial es muy débil, con una razón de riesgo de 1,08, una vez ajustada por las covariables y con un intervalo de confianza que no excluye la unidad (entre 0,96 y 1,23), lo que indica que los riniticos y los no riniticos pueden no tener distinto riesgo de responder a la prueba de metacolina

Variabes	Coficiente	Error estándar	p	Razón de riesgo	Lim inf	Lim sup
Parámetro de regresión $\beta$	2,7346	0,0737	< 0,001	0,06	0,06	0,08
Rinitis	-0,081	0,0627	0,199	1,08	0,96	1,23
Edad > 35 a	0,0393	0,0359	0,2735	0,96	0,90	1,03
Sexo Mujer	-0,153	0,0369	< 0,001	1,17	1,08	1,25
VEMS inicial 90<100%	0,2024	0,0485	< 0,001	0,82	0,74	0,90
VEMS inicial 100<110%	0,3213	0,0521	< 0,001	0,73	0,65	0,80
VEMS inicial >110%	0,4879	0,0643	< 0,001	0,61	0,54	0,70
IgE 20-70 UI/ml	-0,128	0,0496	0,0101	1,14	1,03	1,25
IgE >70 UI/ml	-0,214	0,0499	< 0,001	1,24	1,12	1,37
Tabaquismo actual	-0,07	0,0377	0,0631	1,07	1,00	1,15
Parámetro de escala $\sigma$	0,2004	0,0179				
Rinitis	0,0871	0,032	0,0065			

Test de Wald para las variables indicadoras:

Variable	Estadístico	g.l.	p
VEMS inicial	62,2	3	< 0,001
IgE	18,666	2	< 0,001

**Tabla 34. Modelo de regresión Weibull sobre la respuesta bronquial a la prueba de metacolina, en función de la presencia de rinitis, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Categoría de referencia: Varones, VEMS inicial <90% del predicho, IgE<20 UI/ml, no fumadores.**

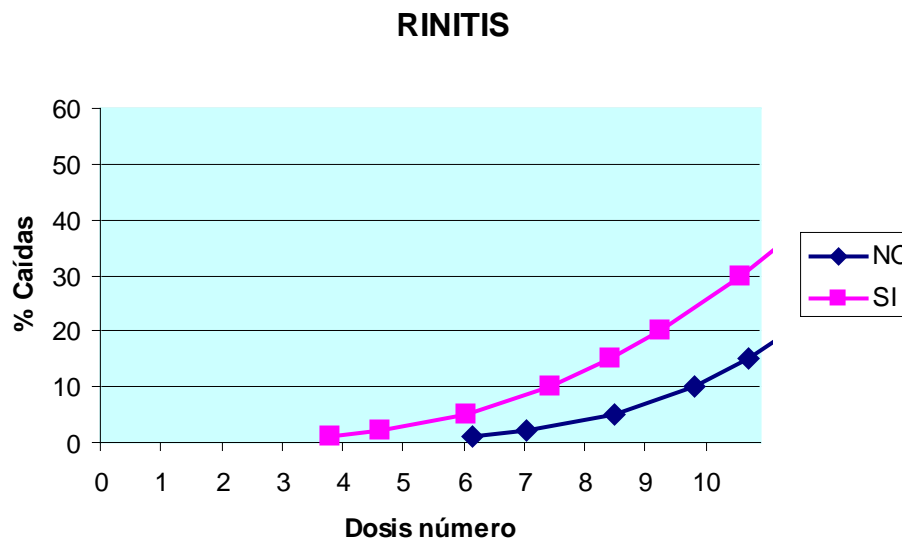
La Tabla 35 se basa en el modelo ajustado en la tabla anterior. De nuevo, las estimaciones tienen en cuenta las influencias añadidas de la edad, sexo, etc. Para todos los percentiles se mantiene la reducción en las dosis necesarias: todos los percentiles relativos son inferiores a 1, aunque la diferencia tiende a reducirse a medida que se avanza en la escala, con lo que los cocientes tienden a acercarse a la unidad. Los intervalos de confianza de estos percentiles relativos incluyen la unidad a partir del percentil

15, lo que indica que la relación es débil e imprecisa para las últimas dosis, y un poco más clara para el comienzo de la escala.

Percentil	No	Sí	Percentiles Relativos	Lim inf	Lim sup
1	6,1	3,79	0,62	0,41	0,94
2	7,0	4,63	0,66	0,45	0,95
5	8,5	6,05	0,71	0,52	0,97
10	9,8	7,44	0,76	0,58	0,99
15	10,7	8,43	0,79	0,62	1,00
20	11,4	9,23	0,81	0,65	1,00
30	12,5	10,57	0,84	0,70	1,01
40	13,5	11,72	0,87	0,74	1,02
50	14,3	12,79	0,89	0,78	1,02
60	15,1	13,86	0,92	0,82	1,02

**Tabla 35. Percentiles: dosis a las que caería el percentil correspondiente de la población, en función de que la presencia (columna Sí) o ausencia (columna No) de rinitis, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Percentiles relativos: cociente Sí / No. Lim inf y Lim sup: límites inferior y superior del intervalo de confianza al 95% para los percentiles relativos.**

El gráfico de percentiles de la Figura 31 refleja el perfil de respuesta que presentan los que han padecido rinitis y los que no.



**Figura 31. Proporción de la población que cae a las distintas dosis, en función de la presencia o ausencia de rinitis, ajustada por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo**

#### 4.6.4.4. Atopia

El modelo construido para las atopia se recoge en la Tabla 36

VARIABLES	Coeficiente	Error estándar	p	Razón de riesgo	Lim inf	Lim sup
Parámetro de regresión $\beta$	2,7284	0,0709	< 0,001	0,07	0,06	0,08
Atopia	-0,119	0,0611	0,0524	1,13	1,00	1,27
Edad > 35 a	0,0151	0,0359	0,6752	0,99	0,92	1,06
Sexo Mujer	-0,168	0,0373	< 0,001	1,18	1,10	1,27
VEMS inicial 90<100%	0,2057	0,0486	< 0,001	0,81	0,74	0,90
VEMS inicial 100<110%	0,3124	0,0522	< 0,001	0,73	0,66	0,81
VEMS inicial >110%	0,4843	0,0638	< 0,001	0,62	0,54	0,70
IgE 20-70 UI/ml	-0,109	0,0475	0,0219	1,12	1,02	1,22
IgE >70 UI/ml	-0,148	0,0494	0,0027	1,16	1,05	1,28
Tabaquismo actual	-0,073	0,0381	0,0559	1,08	1,00	1,16
Parámetro de escala $\sigma$	0,1976	0,0181				
Atopia	0,0882	0,0318	0,0055			

Test de Wald para las variables indicadoras:

Variable	Estadístico	g.l.	p
VEMS inicial	60,994	3	< 0,001
IgE	9,1921	2	0,0101

**Tabla 36. Modelo de regresión Weibull sobre la respuesta bronquial a la prueba de metacolina, en función de la presencia de atopia, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Categoría de referencia: Varones, VEMS inicial <90% del predicho, IgE<20 UI/ml, no fumadores.**

Se puede comprobar que la presencia de atopia se asocia a la dosis de metacolina necesaria para producir una determinada respuesta. El riesgo se multiplica por 1,13 (intervalo de confianza al 95% de 1,00 a 1,27) al comparar a los que han tenido atopia con los que no, a igualdad de edad, sexo, función pulmonar basal, nivel de IgE y consumo de tabaco.

La Tabla 37 se basa en el modelo ajustado en la tabla anterior. De nuevo, las estimaciones tienen en cuenta las influencias añadidas de la edad, sexo, etc. Para todos los percentiles se mantiene la reducción en las dosis necesarias (todos los percentiles relativos son inferiores a 1). Los intervalos de confianza de estos percentiles relativos, por debajo de la unidad en todos los percentiles, indican que la relación se mantiene y es suficientemente precisa.

Percentil	No	Sí	Percentiles Relativos	Lim inf	Lim sup
1	6,2	3,65	0,59	0,39	0,90
2	7,1	4,46	0,63	0,44	0,91
5	8,5	5,82	0,68	0,50	0,93
10	9,8	7,15	0,73	0,56	0,94
15	10,7	8,09	0,76	0,60	0,95
20	11,4	8,86	0,78	0,63	0,96
30	12,5	10,13	0,81	0,68	0,97
40	13,4	11,22	0,84	0,72	0,98
50	14,2	12,25	0,86	0,76	0,98
60	15,0	13,26	0,88	0,79	0,98

Tabla 37. Percentiles: dosis a las que caería el percentil correspondiente de la población, en función de que la presencia (columna Sí) o ausencia (columna No) de atopía, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Percentiles relativos: cociente Sí / No. Lim inf y Lim sup: límites inferior y superior del intervalo de confianza al 95% para los percentiles relativos.

El gráfico de percentiles de la Figura 32 refleja el distinto perfil de respuesta que presentan los que tienen atopía y los que no.

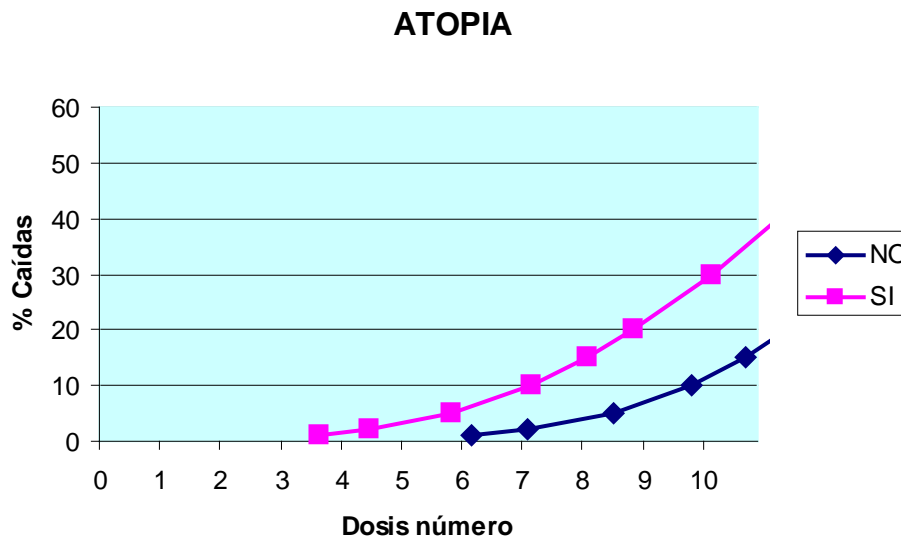


Figura 32. Proporción de la población que cae a las distintas dosis, en función de la presencia o ausencia de atopía, ajustada por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo

#### 4.6.4.5. Bronquitis crónica

El modelo construido para las atopía se recoge en la Tabla 38.

VARIABLES	Coeficiente	Error estándar	p	Razón de riesgo	Lim inf	Lim sup
Parámetro de regresión $\beta$	2,7542	0,0753	< 0,001	0,06	0,05	0,07
Bronquitis crónica	-0,138	0,0633	0,0299	1,15	1,01	1,30
Edad > 35 a	0,0548	0,038	0,1494	0,95	0,88	1,02
Sexo Mujer	-0,157	0,0389	< 0,001	1,17	1,08	1,26
VEMS inicial 90<100%	0,2006	0,052	< 0,001	0,82	0,74	0,91
VEMS inicial 100<110%	0,3273	0,0554	< 0,001	0,72	0,65	0,80
VEMS inicial >110%	0,5094	0,0675	< 0,001	0,60	0,53	0,69
IgE 20-70 UI/ml	-0,157	0,0538	0,0036	1,17	1,05	1,30
IgE >70 UI/ml	-0,261	0,0544	< 0,001	1,30	1,17	1,44
Tabaquismo actual	-0,004	0,0391	0,9202	1,00	0,93	1,08
Parámetro de escala $\sigma$	0,244	0,0184				
Bronquitis crónica	-0,027	0,0324	0,4107			

Test de Wald para las variables indicadoras:

Variable	Estadístico	g.l.	p
VEMS inicial	60,671	3	< 0,001
IgE	23,45	2	< 0,001

**Tabla 38. Modelo de regresión Weibull sobre la respuesta bronquial a la prueba de metacolina, en función de la presencia de atopía, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Categoría de referencia: Varones, VEMS inicial <90% del predicho, IgE<20 UI/ml, no fumadores.**

Se puede comprobar que la presencia de bronquitis crónica está asociada a la dosis de metacolina necesaria para producir una determinada respuesta. El riesgo se multiplica por 1,15 (intervalo de confianza al 95% de 1,01 a 1,30) al comparar a los que han tenido atopía con los que no, a igualdad de edad, sexo, función pulmonar basal, nivel de IgE y consumo de tabaco.

La Tabla 39 se basa en el modelo ajustado en la tabla anterior. De nuevo, las estimaciones tienen en cuenta las influencias añadidas de la edad, sexo, etc. Para todos los percentiles se mantiene la reducción en las dosis necesarias (todos los percentiles relativos son inferiores a 1). Los intervalos de confianza de estos percentiles relativos, que incluyen la unidad en todos los percentiles salvo el último, indican que la relación es débil e

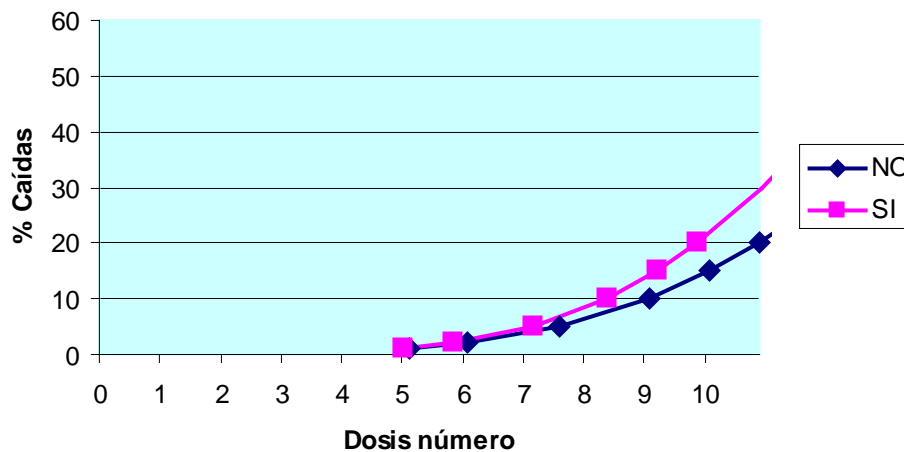
imprecisa, y únicamente se aprecia con nitidez en dosis que no se darían habitualmente.

Percentil	No	Sí	Percentiles Relativos	Lim inf	Lim sup
1	5,1	5,04	0,98	0,65	1,50
2	6,1	5,86	0,97	0,67	1,40
5	7,6	7,18	0,94	0,69	1,28
10	9,1	8,39	0,93	0,71	1,20
15	10,1	9,22	0,91	0,72	1,16
20	10,9	9,88	0,91	0,73	1,12
30	12,2	10,94	0,90	0,75	1,08
40	13,3	11,83	0,89	0,76	1,04
50	14,4	12,64	0,88	0,77	1,01
60	15,4	13,43	0,87	0,78	0,98

**Tabla 39. Percentiles: dosis a las que caería el percentil correspondiente de la población, en función de que la presencia (columna Sí) o ausencia (columna No) de bronquitis crónica, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Percentiles relativos: cociente Sí / No. Lim inf y Lim sup: límites inferior y superior del intervalo de confianza al 95% para los percentiles relativos.**

El gráfico de percentiles de la Figura 33 refleja el perfil de respuesta que presentan los que tienen bronquitis crónica y los que no.

### BRONQUITIS CRÓNICA



**Figura 33. Proporción de la población que cae a las distintas dosis, en función de la presencia o ausencia de bronquitis crónica, ajustada por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo**

#### 4.7. Propiedades estadísticas

La Tabla 40 recoge un resumen de la distribución de los distintos índices resumen de la curva dosis-respuesta a la metacolina. Puede apreciarse que para los individuos en los que el resultado de la prueba ha sido “positivo” en función del criterio de una caída del VEMS por encima del 20% con respecto al inicial, la variabilidad en el resultado, medida tanto por el rango (valor máximo menos valor mínimo) como por la desviación típica es una variabilidad grande. Por el contrario, el rango de valores y la desviación típica de los distintos índices para los individuos en los que la prueba ha resultado negativa han quedado dentro de unos límites mucho más pequeños, como era de esperar.

		Prueba completa	Caída 20%	Total
PD <sub>20</sub>	Media		1,83	1,83
	Desv. típ.		1,48	1,48
	Mínimo		0,02	0,02
	Máximo		5,08	5,08
	N		230	230
Pendiente de O'Connor	Media	2,83	55,45	9,82
	Desv. típ.	0,99	133,69	51,81
	Mínimo	0,04	5,83	0,04
	Máximo	5,79	1035,75	1035,75
	N	1561	239	1800
Pendiente CDR	Media	-0,94	-52,24	-7,75
	Desv. típ.	0,93	134,16	51,82
	Mínimo	-4,56	-1035,36	-1035,36
	Máximo	1,78	-2,75	1,78
	N	1561	239	1800
Área bajo la curva dosis-respuesta	Media	96,95	42,61	89,73
	Desv. típ.	3,79	32,60	22,21
	Mínimo	83,42	0,35	0,35
	Máximo	109,39	92,42	109,39
	N	1561	239	1800

**Tabla 40. Valores de los distintos índices que pueden utilizarse para resumir la curva dosis-respuesta a la prueba de metacolina, en función de que la prueba haya terminado con la máxima dosis y sin que se produzca una caída del 20% del VEMS (prueba completa) o de que se haya producido esta caída.**

#### 4.7.1. Normalidad

Para la evaluación de la normalidad se han empleado tanto una prueba de contraste de hipótesis, basada en el método de Kolmogorov-Smirnov, con la corrección de Lilliefors, como un método gráfico, con la elaboración de histogramas.

Las pruebas de normalidad se recogen en la Tabla 41. Para todos los índices, la prueba de Kolmogorov-Smirnov permite rechazar la hipótesis nula de ajuste a la distribución normal.

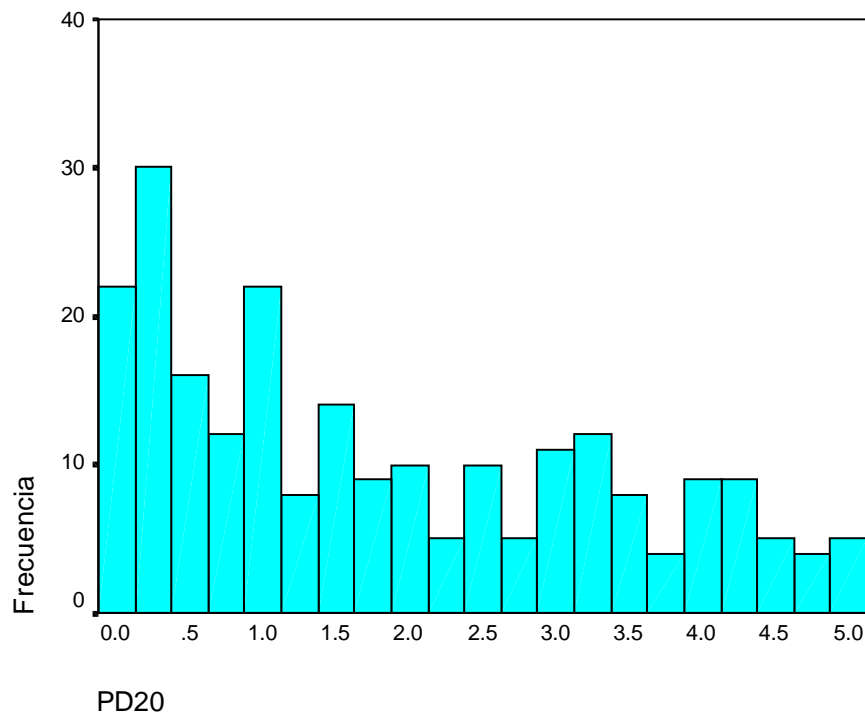
	Kolmogorov-Smirnov			
	Motivo terminación metacolina	Estadístico	gl	p
PD <sub>20</sub>	Caída 20%	0,128	230	0,000
Pendiente de O'Connor	Test completo	0,078	1561	0,000
	Caída 20%	0,355	239	0,000
Pendiente CDR	Test completo	0,104	1561	0,000
	Caída 20%	0,356	239	0,000
Área bajo la curva dosis-respuesta	Test completo	0,056	1561	0,000
	Caída 20%	0,180	239	0,000

**Tabla 41. Pruebas de normalidad para los distintos índices resumen, en función de que la prueba haya terminado con la máxima dosis y sin que se produzca una caída del 20% del VEMS (prueba completa) o de que se haya producido esta caída.**

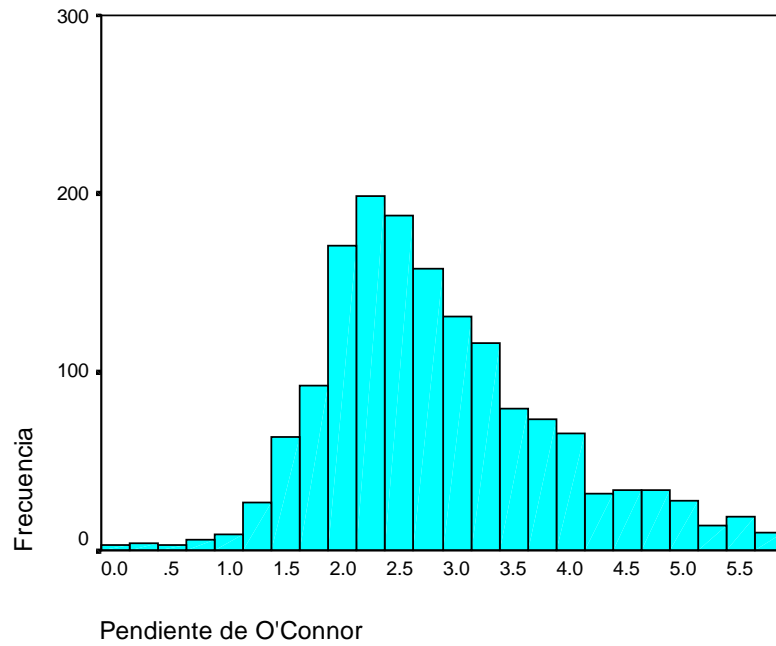
Desde la Figura 34 a la Figura 40 se representan los histogramas correspondientes a la distribución de los distintos índices, separados en función de que la prueba de metacolina haya terminado o no con una caída del VEMS superior al 20% del inicial. En el caso de la PD<sub>20</sub>, que sólo es posible calcular cuando se produce una caída del 20% del VEMS, evidentemente sólo es posible representar su distribución para el caso de que la prueba haya terminado en caída. En todos los demás casos se aprecia cómo la distribución es claramente no normal para los individuos que han caído en la prueba, y se aleja relativamente poco de la normalidad para los individuos que no han caído en la prueba. La similitud con la curva normal es especialmente llamativa en el caso del área bajo la curva dosis-respuesta (Figura 40). La aparente contradicción entre la apariencia de estos últimos



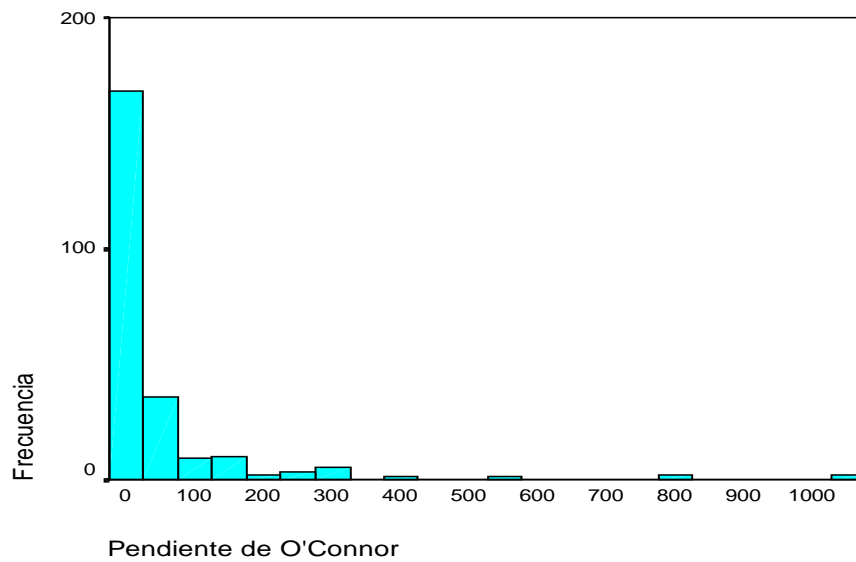
gráficos, con bastante similitud a la distribución normal, y el resultado de la prueba de Kolmogorov-Smirnov, que rechaza la hipótesis nula de normalidad, puede explicarse por la potencia de la prueba: con un tamaño de muestra grande, la capacidad de la prueba para detectar pequeñas desviaciones de la normalidad es enorme. Nos encontramos, pues, como muestran los siguientes gráficos, con unos índices resumen de la curva dosis-respuesta que podrían considerarse muy cercanos a la normalidad en el caso de pruebas de metacolina “negativas”, en las que no se produce una caída superior al 20% con respecto al VEMS inicial (Figura 35, Figura 37, Figura 39). En las pruebas de metacolina en las que se produce una caída mayor del 20% la distribución de los índices se aleja notablemente de la normalidad, con una dispersión muy irregular (Figura 34, Figura 36, Figura 38, Figura 40).



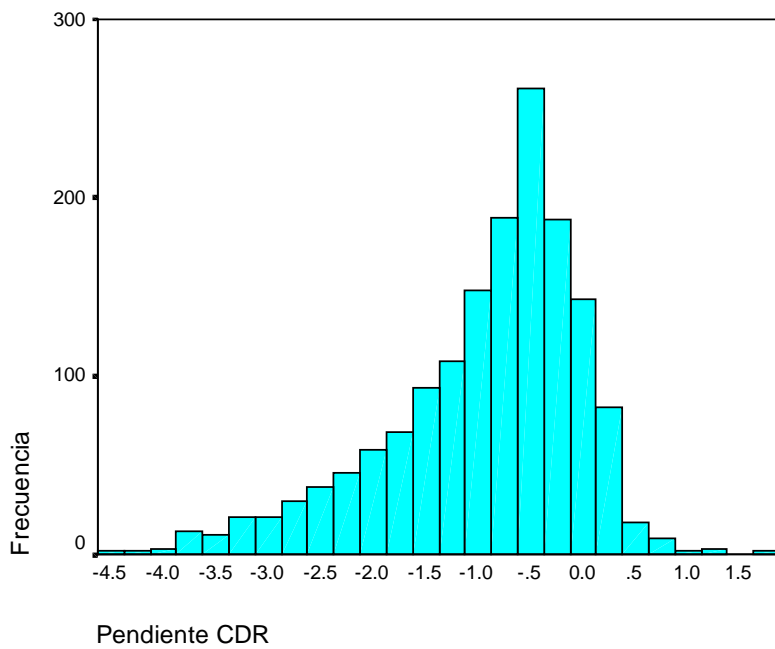
**Figura 34. Histograma correspondiente a la distribución de la PD<sub>20</sub> en los individuos que han caído por debajo del 20% del VEMS inicial**



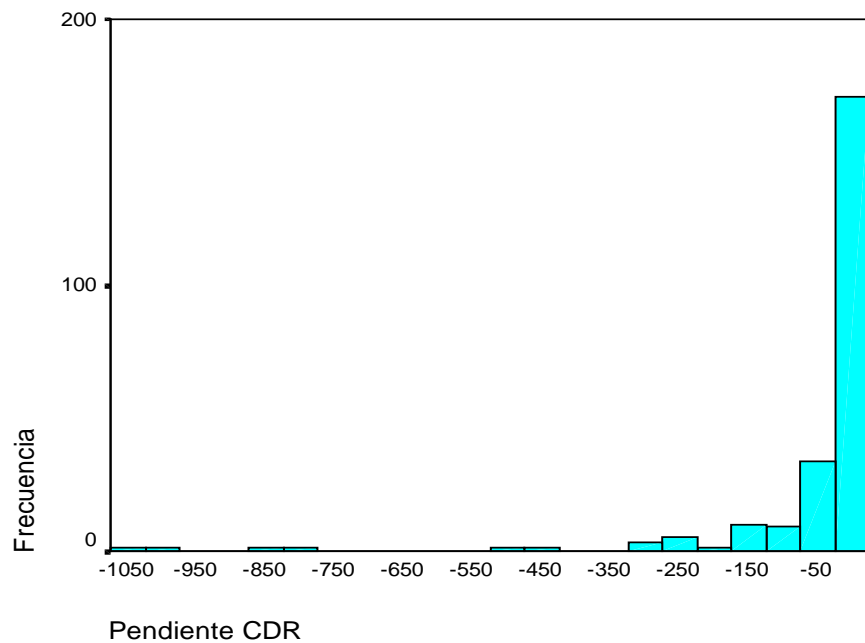
**Figura 35. Histograma correspondiente a la distribución de la Pendiente de O'Connor en los individuos que no han caído por debajo del 20% del VEMS inicial**



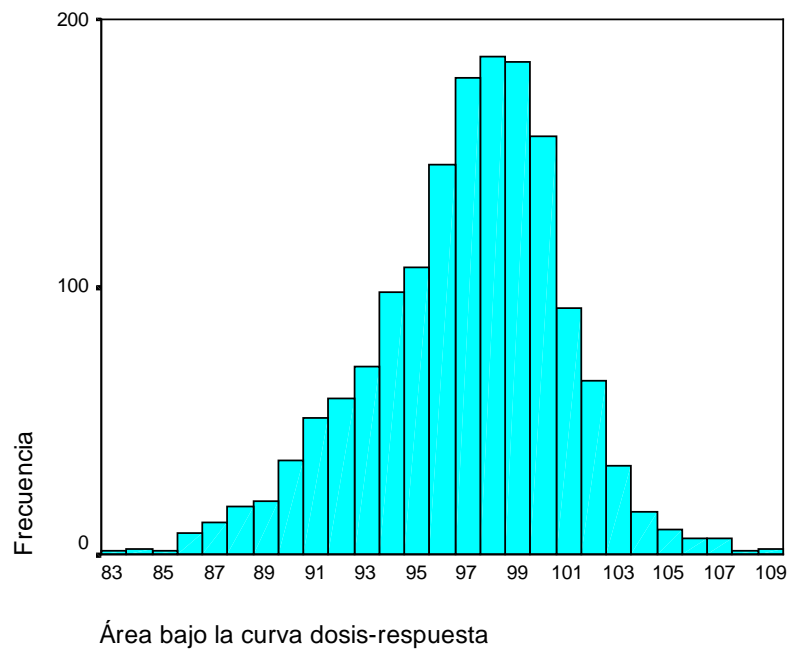
**Figura 36. Histograma correspondiente a la distribución de la Pendiente de O'Connor en los individuos que han caído por debajo del 20% del VEMS inicial**



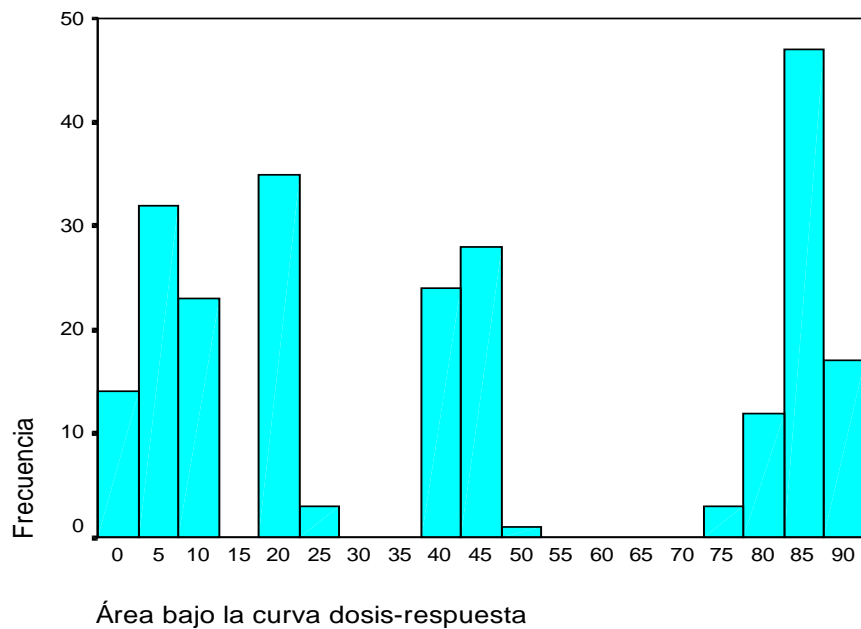
**Figura 37. Histograma correspondiente a la distribución de la pendiente obtenida mediante regresión lineal en los individuos que no han caído por debajo del 20% del VEMS**



**Figura 38. Histograma correspondiente a la distribución de la pendiente obtenida mediante regresión lineal en los individuos que han caído por debajo del 20% del VEMS inicial**



**Figura 39. Histograma correspondiente a la distribución del área bajo la curva dosis-respuesta en los individuos que no han caído por debajo del 20% del VEMS inicial**



**Figura 40. Histograma correspondiente a la distribución del área bajo la curva dosis-respuesta en los individuos que han caído por debajo del 20% del VEMS inicial**

#### 4.7.2. Homogeneidad de la varianza.

La homogeneidad de la varianza se comprobó mediante la prueba de Levene, con los resultados que aparecen en la Tabla 42. Puede comprobarse que, salvo para la PD<sub>20</sub> en la comparación entre los distintos grupos de sibilancias, rinitis, atopía y bronquitis crónica, en todos los demás casos se concluye que el índice resumen muestra una dispersión diferente entre los presentan y no presentan cada uno de los criterios.

		Ataques de asma	Sibilancias	Rinitis	Atopia	Bronquitis crónica
PD <sub>20</sub>	F	6,013	0,082	2,327	2,650	0,082
	p	0,015	0,775	0,129	0,105	0,775
Pendiente de O'Connor	F	296,535	132,060	65,750	61,557	132,060
	p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Pendiente CDR	F	286,970	124,383	63,096	57,314	124,383
	p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Área bajo la curva dosis-respuesta	F	175,285	401,137	280,488	299,385	401,137
	p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

**Tabla 42. Homogeneidad de la varianza de los distintos índices que resumen la curva dosis-respuesta, en función de la presencia o ausencia de ataques de asma, sibilancias, rinitis, atopía y bronquitis crónica. F: estadístico F experimental para la prueba de Levene.**

Las consecuencias de estos resultados desde el punto de vista de las propiedades estadísticas de cada uno de los índices se traducen en la dificultad para analizar estos índices como variables dependientes con los métodos habituales que requieran como requisito la homocedasticidad (Anova, t de Student, etc.). Como métodos alternativos, habrá que recurrir a los métodos que no requieran la igualdad de las varianzas, como la prueba de Welch o las pruebas no paramétricas (U de Mann-Withney, Wilcoxon o Kruskal-Wallis) para la comparación de medias entre distintos grupos.



## **5. DISCUSIÓN**





El propósito principal de este estudio era evaluar la utilidad clínica y epidemiológica de diversos métodos de medición de la respuesta bronquial a la prueba de provocación con metacolina. En particular, evaluar la validez de criterio de los diversos métodos de medición de la respuesta bronquial, usando como criterios de referencia la presencia de ataques de asma en los últimos doce meses, sibilantes en el mismo periodo, rinitis, atopia y criterios clínicos de bronquitis crónica, recogidos mediante cuestionario en el contexto de un estudio epidemiológico.

Se han evaluado la  $PD_{20}$ , la pendiente de O'Connor, la pendiente obtenida mediante regresión lineal y el área bajo la curva dosis-respuesta como indicadores que resumen individualmente la respuesta bronquial a la metacolina, y el modelo de efectos aleatorios y el análisis de supervivencia basado en la distribución Weibull como métodos que proporcionan no un resumen individual, sino una determinada tendencia del grupo a la respuesta a la prueba. Los cuatro primeros índices se han comparado formalmente entre sí mediante índices de discriminación y mediante curvas ROC, que se confrontaron unas frente a otras. Los dos últimos métodos se han comparado entre sí determinando su capacidad para discriminar la respuesta como grupo de los que presentaban y los que no presentaban cada uno de los criterios.

Todos los índices de valoración de la curva dosis-respuesta se asociaron significativamente a los criterios elegidos. Es decir, las medias de cada uno de los índices diferían entre los que presentaban y no cada uno de los criterios. La excepción la presentó el criterio bronquitis crónica, para el que las pendientes de O'Connor y de regresión lineal y el área bajo la curva dosis-respuesta no presentaron diferencias estadísticamente significativas, mientras que la  $PD_{20}$  sí que las presentó aunque de forma paradójica: los que padecían bronquitis crónica tenían medias de  $PD_{20}$  superiores a los sanos, lo que indica que caían a dosis de metacolina más altas. Pero esta norma de significación estadística, como en tantos otros casos, no es la más adecuada para evaluar el potencial de discriminación de cada uno de los índices. La capacidad discriminativa de un índice la determina más bien su posibilidad de obtener diferencias por encima de la variabilidad intrínseca a

toda medición. Los índices de discriminación, que reflejan este factor de corrección, han sido superiores siempre, como era previsible, para el criterio de ataques de asma en los últimos doce meses, con una mayor capacidad discriminativa del área bajo la curva dosis-respuesta y de la pendiente de O'Connor. Para el resto de los criterios se mantiene la superioridad de estos dos índices, a excepción del criterio bronquitis crónica, sobre la que parecen discriminar mejor la pendiente de regresión lineal y, de nuevo paradójicamente, la  $PD_{20}$ .

El análisis de las curvas ROC ha permitido abordar otro enfoque de la comparación entre los distintos índices resumen, al mostrar gráficamente la capacidad discriminativa de cada uno de ellos. Este análisis se ha complementado con una comparación formal, desde el punto de vista estadístico, del área obtenida por debajo de cada una de las curvas ROC como indicador numérico de la posibilidad de discriminar entre los que presentaban y no cada uno de los criterios. De nuevo, el criterio haber presentado ataques de asma en los últimos doce meses ha provocado la mejor combinación entre sensibilidad y especificidad para todos los índices, en tanto que para el criterio bronquitis crónica la capacidad discriminativa de todos los índices ha sido muy pobre.

La representación gráfica de las curvas ROC yuxtapuestas de cada uno de los índices ya era muy reveladora: se produce un gran solapamiento entre las curvas, reflejando la ausencia de diferencias relevantes entre los índices. Es de destacar el comportamiento de la curva correspondiente a la  $PD_{20}$ , que con respecto a las demás curvas refleja una mayor sensibilidad para este índice en la parte más baja de la escala, superioridad que luego se pierde (menor especificidad) a medida que aumenta el punto de corte para la  $PD_{20}$ , es decir, se llega a la zona de los individuos menos hiperreactivos. En el caso particular del criterio bronquitis crónica, la curva ROC de la  $PD_{20}$  se desarrolla en parte de su recorrido por debajo de la diagonal, es decir, estaría en una zona de discriminación inversa, clasificando erróneamente a los individuos como "sanos" (no bronquíticos) con valores de  $PD_{20}$  más bajos. La comparación entre las áreas bajo la curva ROC refleja la similitud ya comentada en la capacidad discriminativa. Sólo frente al criterio rinitis, la

PD<sub>20</sub>, con un área bajo la curva ROC de 0,657, supone una mejoría frente a la pendiente de O'Connor, con un área de 0,601, aunque no frente a los demás índices. Como ya se comentó anteriormente, la PD<sub>20</sub> mostró una pobre capacidad discriminativa con respecto a la bronquitis crónica (área bajo la curva ROC de 0,482), estadísticamente inferior a la de la pendiente de O'Connor, con un área de 0,565 y a la de la pendiente lineal, con 0,583. En todo caso, el criterio bronquitis crónica fue el que menor asociación presentó con todos los índices que resumen la curva dosis-respuesta.

Los métodos de análisis que proporcionan una tendencia grupal han permitido comparar la tendencia a la respuesta a la prueba de metacolina de los que presentan y no cada criterio. Esta comparación se ha realizado teniendo en cuenta la influencia de otros factores que se han demostrado a su vez capaces de influir en la respuesta a la metacolina: la edad, el sexo, el nivel de IgE, el tabaquismo o la función pulmonar basal medida por el VEMS inicial como porcentaje del valor teóricamente previsto en función de la edad, sexo, peso y altura de cada individuo. Para el modelo de efectos aleatorios, en todos los criterios, salvo la bronquitis crónica, se aprecia una nítida separación entre los porcentajes de caída entre los grupos que se comparan, mayor a medida que aumenta la dosis.

Mediante el análisis de supervivencia basado en la distribución Weibull se ha realizado un modelo de regresión para cada criterio, comprobando cómo cada uno de estos criterios era un buen predictor de la respuesta bronquial, controlando por otras posibles variables de confusión, y obteniéndose estimaciones del incremento de riesgo de respuesta en relación con la presencia del criterio. Los percentiles relativos calculados a partir de los modelos anteriores proporcionan una estimación de qué parte de la dosis de metacolina necesaria para que respondiera un determinado porcentaje de la población con el criterio habría que suministrar a la población sin el criterio para que respondiera en la misma proporción. Estos percentiles relativos, y sus intervalos de confianza, han demostrado claras diferencias para los criterios de ataques de asma en el último año, sibilancias y atopia, y menos claras para la rinitis y bronquitis crónica. La mayor capacidad discriminativa se produjo para el criterio ataques de asma en los últimos doce meses. Para

el percentil 1, el percentil relativo fue de 0,29, es decir, para que caiga el 1% de los que han padecido ataques de asma en los últimos doce meses sólo se necesita el 29% de la dosis necesaria para que caiga el 1% de los que no los tuvieron. Al realizar la representación gráfica de estos modelos, se comprobó igualmente una nítida separación entre los porcentajes de población que responden a la metacolina a las distintas dosis, en función de la presencia o ausencia de cada uno de los criterios, separación que se incrementa con la dosis administrada. En estas representaciones gráficas se ha demostrado una clara capacidad de separación mayor para el análisis de supervivencia basado en la distribución Weibull que para el modelo de efectos aleatorios.

Un segundo objetivo de este estudio era determinar los puntos de corte más adecuados para la discriminación entre respuestas positivas y negativas a la prueba de metacolina. El análisis de las curvas ROC nos ha permitido también alcanzarlo, al obtener, para cada uno de los índices, el punto de corte que ha producido una mejor combinación entre sensibilidad y especificidad. Bajo la suposición de que tiene la misma trascendencia un resultado falso negativo que un falso positivo, los puntos de corte óptimos calculados para el criterio ataques de asma en el último año fueron el correspondiente a una  $PD_{20}$  de 1,6 micromoles de metacolina, consiguiéndose al utilizarlo como límite para decidir si la prueba tiene un resultado positivo o negativo una sensibilidad del 76,09% y una especificidad del 74,32%. Una pendiente de O'Connor de 0,762 permite discriminar entre los que han padecido y no ataques de asma con una sensibilidad del 70,5% y una especificidad del 88,8%. Para la pendiente obtenida mediante regresión lineal, un valor de  $-3,497$  discrimina con una sensibilidad del 72,1% y una especificidad del 87,6%. Para el mismo criterio de ataques de asma, la mejor combinación entre sensibilidad y especificidad para el punto de corte óptimo la obtuvo el área bajo la curva dosis-respuesta, con un 68,9% de sensibilidad y un 91,3% de especificidad al utilizar un punto de corte de 84,273 como límite entre respuesta positiva y negativa a la prueba.

El tercer objetivo de este estudio era evaluar las propiedades estadísticas de normalidad y estabilidad de la varianza de los diversos métodos de medición de la respuesta bronquial. Las comprobaciones realizadas no han permitido

concluir la normalidad de ninguno de los índices resumen, si bien, para aquellos que terminaron la prueba sin haber llegado a perder un 20% de su VEMS inicial, la representación gráfica de cada uno de los índices resumen se asemeja bastante a la normalidad, sobre todo en el caso del área bajo la curva dosis-respuesta. Por el contrario, los índices, para aquellos sujetos que sí han caído por debajo del 20%, presentaron una distribución claramente irregular.

Parece existir, por tanto, una distribución regular, aproximadamente normal, con una mayoría de valores cercanos a la tendencia central, y con pocos valores alejados tanto por encima como por debajo de los valores centrales para aquellos individuos con una prueba de metacolina negativa, mientras que los que tienen un resultado positivo presentan índices resumen claramente alejados de la normalidad. Pero la exigencia de normalidad como requisito para la utilización de las pruebas estadísticas habituales, como la prueba de la t de Student o el análisis de la varianza, no se aplica a los grupos formados por el resultado de la prueba, sino precisamente para comparar los resultados de la prueba entre grupos formados previamente por alguna otra característica. Cuando se comparan las medias de cada uno de los índices entre los que presentan o no los distintos criterios (asma, sibilancias, atopia, rinitis, bronquitis crónica) se detecta la absoluta ausencia de normalidad en las distribuciones de los grupos. Lo mismo ocurrió con la homogeneidad de las varianzas, claramente inexistente para todos los índices. Por tanto, para la comparación de medias entre grupos es necesario recurrir a métodos de análisis que no requieran la homocedasticidad ni la normalidad, como la prueba de Welch, que permite la comparación de medias con varianzas distintas y en ausencia de normalidad siempre que se tenga un tamaño suficiente de muestra, o los métodos no paramétricos, que al no requerir condiciones de aplicación pueden ser utilizados en todas las situaciones.

Se han investigado diferentes métodos estadísticos para valorar la hiperreactividad bronquial, que en parte coinciden en la selección de los procedimientos a evaluar o en los métodos para hacerlo que se han utilizado en esta tesis, aunque con resultados algo discrepantes:

Chinn y cols.<sup>22</sup> realizaron una comparación entre medidas alternativas de hiperreactividad bronquial en estudios epidemiológicos. Aunque referido a pruebas de provocación bronquial con histamina, este trabajo se compararon la  $PD_{20}$ , la pendiente de O'Connor y la pendiente calculada mediante regresión en términos de repetibilidad, normalidad y, como medida de la validez, la capacidad de separar los sintomáticos de los no sintomáticos mediante índices de separación. Encontraron que la transformación logarítmica de la  $PD_{20}$  parece seguir una distribución normal, en tanto que no lo fueron ni la pendiente de regresión ni la de O'Connor, ni sus transformaciones inversas, es decir,  $1/(\text{pendiente de O'Connor} + 10)$  y  $1/(\text{pendiente de regresión lineal} + 10)$ . La capacidad de diferenciar entre asmáticos y no asmáticos fue muy similar para los tres índices transformados, y la de diferenciar entre sibilantes y no sibilantes fue ligeramente superior para la transformación inversa de la pendiente de regresión lineal. La repetibilidad, medida por el coeficiente de correlación intraclase, fue de 0,85 para el logaritmo de la  $PD_{20}$ , de 0,84 para  $1/(\text{pendiente de O'Connor}+10)$  y de 0,89 para  $1/(\text{pendiente de regresión lineal}+10)$ . Estos resultados les llevan a concluir que la pendiente de regresión lineal, en concreto su transformación inversa tras sumarle la constante 10 para evitar valores nulos, sería la medida más deseable para resumir la respuesta bronquial a la metacolina en estudios epidemiológicos. En nuestro trabajo no hemos realizado transformaciones artificiosas de los índices, más allá de las transformaciones de escala logarítmica habituales. Con todo, y en la medida en que sean comparables, en la discriminación entre asmáticos y no asmáticos y sibilantes y no sibilantes, la pendiente de O'Connor presenta unos índices de discriminación que aventajan claramente a los de la pendiente de regresión lineal.

Peat y cols.<sup>66</sup> evaluaron la relación de la pendiente de la curva dosis-respuesta medida con el método de O'Connor con los síntomas respiratorios en escolares. Aunque los valores de la pendiente aparecían distribuidos simétricamente en la representación gráfica con una escala logarítmica, se desviaban significativamente de la distribución normal, presumiblemente por la presencia de valores extremos. Los valores medios de la pendiente eran estadísticamente diferentes entre los escolares que padecían sibilantes, los

que los habían padecido en el pasado y los asintomáticos. Concluyen afirmando las ventajas de usar la pendiente de O'Connor en vez de la  $PD_{20}$  como medida de la severidad de la respuesta bronquial en estudios epidemiológicos: se correlaciona bien con la presencia y frecuencia de sibilancias, permite el cálculo en todos los sujetos del estudio, y la capacidad de calcular un rango normal de valores, lo que no es posible con la  $PD_{20}$ , tiene aplicaciones prácticas en el estudio y comparación de grupos de población. En un estudio posterior<sup>67</sup>, el mismo grupo realizó un análisis similar en adultos, con idénticas conclusiones. Nuestra valoración coincide absolutamente con sus conclusiones, aunque hemos introducido un parámetro más, el área bajo la curva dosis-respuesta, que incluso mejora las características de la pendiente de O'Connor.

Abramson y cols.<sup>93</sup> compararon, en 809 trabajadores de una fundición de aluminio, la  $PD_{20}$ , la  $PD_{20}$  calculada mediante el ajuste de una curva exponencial, la pendiente de regresión lineal cuando ésta era significativamente distinta de 0 y la pendiente de O'Connor. Encontraron que todas las medidas estaban relacionadas con los síntomas, el diagnóstico y el tratamiento del asma. En cuanto a su distribución, no encontraron alejamientos significativos de la normalidad para la  $PD_{20}$  ni para la transformación inverso de la raíz cúbica de la pendiente de regresión ( $1/\sqrt[3]{b}$ ), aunque sí para la  $PD_{20}$  exponencial y para el logaritmo de la pendiente de O'Connor. La reproducibilidad fue mala para la  $PD_{20}$  (0,28), algo mejor para la  $PD_{20}$  exponencial (0,52) y aceptable para la transformación inverso de la raíz cúbica (0,74) y la pendiente de O'Connor (0,73). Los índices de separación (D/s) entre asmáticos y no asmáticos fueron más favorables para la pendiente de O'Connor, menos para el inverso de la raíz cúbica y hubo un gran solapamiento para la  $PD_{20}$ . La pendiente de O'Connor posee las ventajas de su simplicidad y de no presentar datos censurados, y pudo comprobarse su relevancia clínica, por lo que sugieren que se utilice para el análisis de la reactividad bronquial en estudios epidemiológicos. Nuestros resultados coinciden en cuanto a los índices de separación, aunque no en la normalidad de la  $PD_{20}$ . El criterio para construir la pendiente de regresión lineal ha diferido en nuestro caso: se han calculado las pendientes para todos los individuos, no sólo aquellas pendientes que

fueran significativamente distintas de 0. Este criterio lleva, en el trabajo de Abramson y cols, a poder calcular la pendiente sólo en dos tercios de los participantes, desechando por tanto pendientes de regresión que no por ser horizontales dejan de ser un buen resumen de la curva dosis-respuesta.

Rijcken y cols<sup>65</sup> estudiaron la distribución de la respuesta bronquial a la histamina en sujetos sintomáticos y asintomáticos, comparando diversos índices de respuesta:  $PD_{10}$  y  $PD_{20}$  estimadas tanto por interpolación lineal como por regresión con todos los puntos de la curva, pendiente de regresión lineal y pendiente de dos puntos. Encontraron que las transformaciones logarítmicas (base 2) de todos estos índices no se alejaban significativamente de la normalidad. La capacidad discriminativa de todos ellos también fue buena, con diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de sibilantes, los que tenían tos y expectoración crónica y los asintomáticos. Utilizando los resultados de la prueba medidos con los índices anteriores como predictores de la aparición de síntomas calcularon los puntos de corte óptimos para cada uno de los índices utilizando el procedimiento de curvas ROC. Los puntos de corte óptimos fueron elegidos de manera que correspondieran a las concentraciones de histamina habituales en la prueba. Para la  $PD_{20}$ , un punto de corte de 16 mg/dl permitió distinguir entre sibilantes y no sibilantes con una sensibilidad del 51% y una especificidad del 79%. Para la pendiente de regresión lineal y para la pendiente de dos puntos un límite de 0,65% mg/ml produjo una sensibilidad del 51% y una especificidad del 80% en la detección de las sibilancias. Concluyen afirmando que la distribución de la respuesta bronquial es continua, y que hacerla dicotómica no ayuda a separar a los sujetos sintomáticos de los asintomáticos.  $PD_{10}$ ,  $PD_{20}$  o pendientes de regresión lineal o de dos puntos no difieren mucho entre sí en sensibilidad, especificidad o valores predictivos. En nuestro estudio, un punto de corte óptimo similar, de 0,67 en la pendiente de O'Connor para la separación entre sibilantes y no sibilantes obtuvo una peor sensibilidad (36%) y mejor especificidad (89,1%). En la detección de los que han tenido ataques de asma en los últimos 12 meses, el área bajo la curva dosis-respuesta a la metacolina obtiene en nuestro caso una sensibilidad del 68,9% y una especificidad del 91,3%.



De Vega y cols<sup>94</sup> comparan tres modelos para la curva dosis-respuesta: el primero lineal, tomando como variable independiente la dosis acumulada de metacolina y como dependiente el descenso porcentual en el VEMS; el segundo modelo, recíproco, con las mismas variables, pero bajo el modelo  $1/y = a + bx$ ; el tercer modelo logarítmico, con las unidades acumuladas de metacolina transformadas logarítmicamente. Analizan el grado de ajuste de los puntos reales a las respectivas rectas de regresión, obteniendo unos coeficientes de correlación promedios de  $-0,951$  para la regresión lineal, de  $0,962$  para la regresión recíproca y de  $-0,887$  para la regresión logarítmica. Pese a la pequeña ventaja para la regresión recíproca, que llega a ser estadísticamente significativa, concluyen considerando más aconsejable la regresión lineal por su mayor sencillez. En nuestro trabajo no hemos evaluado la adecuación de los modelos a los puntos reales de la curva dosis respuesta, aunque sí su validez de criterio, su grado de correspondencia con la presencia de síntomas. Tanto la pendiente de regresión lineal como la pendiente de O'Connor han sido suficientemente válidas, aunque con ventajas para la última. Sí hemos realizado un análisis parecido al realizado por De Vega y cols en los pasos iniciales de nuestro modelo de efectos aleatorios, del que se puede concluir que una regresión polinomial, en la que se incluyen dos variables independientes, la dosis de metacolina y el cuadrado de la anterior, tienen un mejor ajuste a los puntos reales de la curva que un modelo de regresión simple, con la dosis de metacolina como la única variable predictora.

Verlato y cols<sup>95</sup> encontraron que un modelo exponencial fue mejor que uno lineal en lo que respecta a la interpolación de las curvas dosis-respuesta a la metacolina. Ambos modelos fueron, sin embargo, poco reproducibles cuando se extrapolaba a dosis más altas de metacolina, comparando con los datos observados. En nuestro trabajo hemos empleado un procedimiento de extrapolación para calcular la  $PD_{20}$  hasta una dosis de 8 micromoles, cuando en realidad la dosis máxima acumulada de metacolina que se suministraba fue de 1 mg (5,11 micromoles). La base para esta extrapolación estaba, por un lado, en el protocolo del ECRHS, en el que se preveía esta forma de análisis de los resultados de la prueba, buscando la comparabilidad con el límite habitual para la  $PD_{20}$  en la literatura. Por otro lado, en las

recomendaciones vigentes para la realización de la prueba en la época en la que se realizó el trabajo de campo<sup>20</sup>. Los últimos documentos de consenso<sup>96</sup> desaconsejan claramente esta práctica.

Un método de supervivencia basado en la distribución Weibull para valorar la respuesta bronquial fue evaluado también por el grupo de De Marco en Italia<sup>97</sup>. Se encontró que este modelo explicaba la variabilidad en la respuesta bronquial mejor que la regresión lineal o la logística. En nuestro caso, el análisis de supervivencia basado igualmente en la distribución Weibull se mostró también superior al otro método con el que se comparaba, en nuestro caso el modelo de efectos aleatorios.

Es obligado revisar y discutir las posibles amenazas a la validez de los hallazgos de la presente tesis. Este trabajo sería heredero de los posibles sesgos de selección debidos a la no respuesta que pudiesen afectar al estudio del que procede, el ECRHS. Sin embargo, dados los objetivos del presente proyecto, no parece que ello pudiese amenazar su validez interna. Igual ocurre con la mala clasificación: en cuanto a la reactividad bronquial, el procedimiento está muy protocolizado y su validez y repetibilidad están muy comprobadas; algo menos segura es la clasificación como sintomático o no, que se realiza mediante cuestionario, aunque también las preguntas están basadas en el cuestionario sobre sintomatología respiratoria de la IUATLD (International Union Against Tuberculosis and Lung Disease), ampliamente validado y de una correspondencia con hiperreactividad comprobada<sup>98</sup>. El cuestionario de síntomas se ha traducido a múltiples idiomas, entre ellos el catalán o el euskera, idiomas en los que se ha aplicado en nuestro país junto con el español. En sus distintas versiones ha mostrado una alta consistencia interna, sugiriendo que las comparaciones internacionales no están afectadas por errores debidos a variaciones interculturales en la manera en que las personas perciben y comunican los síntomas<sup>99</sup>.

La relación entre tabaquismo actual e hiperreactividad bronquial no está clara. Mientras algunos trabajos presentan el tabaquismo como un determinante independiente de hiperreactividad bronquial<sup>100,101,102</sup>, Sunyer y cols<sup>103</sup> encontraron, sin embargo, que el tabaco estaba asociado con la

hiperreactividad bronquial sólo en sujetos no atópicos. Leynaert<sup>104</sup> describió un mayor riesgo de hiperreactividad en fumadoras intensas, pero no encontró esta asociación en los varones. En cualquier caso, nuestros datos no expresaban claramente esta relación, por lo que se ha prescindido del tabaquismo como criterio de validez para evaluar las índices de respuesta, como estaba previsto inicialmente, manteniéndolo como variable de control en los modelos multivariantes utilizados.

La comparación de la  $PD_{20}$  con otras medidas que resumen la respuesta bronquial presenta algunos problemas. En primer lugar, la  $PD_{20}$  sólo se puede calcular en una pequeña parte de los sujetos, lo que limita bastante el tamaño de muestra disponible, y por tanto la potencia con la que se realizan las comparaciones. Por otra parte, al incluir en la comparación a todos los individuos, en los que sí se han podido calcular las otras medidas alternativas, se están comparando las medidas en grupos muy diferentes: la totalidad de los que han realizado la prueba de metacolina por un lado y, por otro, aquellos seleccionados en función de su resultado positivo en esa prueba, según la definición clínica habitual, basada precisamente en la  $PD_{20}$ . Es evidente que dentro del grupo con  $PD_{20}$  calculada sólo podrá hablarse de más o menos reactivos, en tanto que en la totalidad de los individuos se encontrará todo el rango de posibilidades, desde los muy reactivos, hasta los que no sólo no disminuyen, sino que incrementan su VEMS con respecto al inicial. Pero es ésta precisamente la limitación de la  $PD_{20}$  que se pretende salvar recurriendo a otros índices, y limitar la comparación sólo a los hiperreactivos no haría sino invalidar la ventaja de las demás medidas. Los métodos que se han usado para la comparación directa, índices de discriminación y curvas ROC, permiten, además, evaluar la capacidad de clasificación de cada medida sin necesidad de diseños estrictamente apareados.

El relativo fracaso de uno de los criterios elegidos, la bronquitis crónica, en su correspondencia con los índices que resumen la respuesta bronquial, también necesita ser explicado. En primer lugar, se trata de una definición clínica de bronquitis crónica, evaluada mediante el cuestionario de síntomas, con las preguntas relativas a tos y expectoración durante al menos tres meses al año. Es decir, se trata de personas con una bronquitis crónica

simple, sin que se tenga constancia de ninguna repercusión funcional que permitiese clasificarlas como enfermedad pulmonar obstructiva crónica. En segundo lugar, el rango de edad al que pertenece la población estudiada, de entre 20 y 44 años, tampoco permitiría esperar graves deterioros funcionales en estos pacientes. Los resultados paradójicos de la  $PD_{20}$ , en los que los bronquíticos caen en la prueba a una dosis más alta que los no bronquíticos, habría que entenderlos en el contexto de que con la  $PD_{20}$  estamos estudiando a todos los individuos que presentaron una respuesta “positiva” a la metacolina, y comparando entre ellos tan sólo quién tarda más en caer. Aunque las diferencias sean significativas, en un estudio como éste, en el que se realizan múltiples comparaciones, podríamos estar ante un error de tipo I, o error  $\alpha$ , que es el que se comete en un contraste de hipótesis al rechazar la hipótesis nula de igualdad, siendo cierta.

El protocolo del estudio, al ir dirigido a población general, era forzosamente limitado a dosis bajas de metacolina, hasta 1 mg (5,11 micromoles) de dosis máxima acumulada, por lo que no se han podido estudiar otros aspectos de la curva dosis-respuesta, como la existencia de una fase de meseta.

En este trabajo se han evaluado distintos métodos de valoración de la respuesta a la prueba de metacolina, prueba de referencia en el estudio clínico y epidemiológico del asma. Hiperreactividad bronquial no significa asma, pero es útil como marcador de asma en estudios epidemiológicos, evaluación de cambios geográficos y temporales en prevalencia, severidad del asma<sup>105</sup> y respuesta al tratamiento<sup>106,107</sup>. Es de destacar el papel de la reactividad bronquial como el predictor más fuerte de incidencia de asma, independientemente de la presencia de síntomas de asma. La hiperreactividad bronquial proporciona un marcador fiable de una característica fisiológica asociada con el asma y puede estar involucrada en muchos de los mecanismos por los que ocurre el asma, aunque la hiperreactividad bronquial no sea específica del asma<sup>108</sup>.

La provocación bronquial es una prueba de laboratorio realizada en la mayoría de los laboratorios de función pulmonar, bien sea como herramienta de investigación o como prueba diagnóstica de asma. El interés actual en el

asma radica en el continuo crecimiento en la incidencia de esta enfermedad. Hay muchos aspectos de la provocación bronquial que son controvertidos, y hay una amplia variación en la manera en la que se realiza la prueba. Por esto, más que en ninguna otra prueba pulmonar, es importante evitar posibles elementos de confusión tanto en su realización como en la interpretación de los resultados.

Como la mayoría de los síndromes, el asma tiene un espectro de presentaciones clínicas muy heterogéneas, por lo que se hace difícil establecer una definición homogénea. Existe un acuerdo en los tres elementos esenciales del asma: la variabilidad en la limitación en el flujo aéreo, la reversibilidad de esta limitación, y la respuesta exagerada de la vía aérea a desencadenantes externos.

Es más fácil el diagnóstico de asma cuando un paciente tiene frecuentes y claros síntomas y las característicos hallazgos espirométricos. La dificultad aparece en un paciente con síntomas esporádicos y espirometría normal. Por otra parte, los pacientes asmáticos pueden tener poca o ninguna sensación de falta de aire, a pesar de presentar una limitación significativa del flujo.

La provocación bronquial es muy útil, tanto en el diagnóstico de sintomatología esporádica, como en aquellos que no tienen síntomas, al permitir la comprobación de si la hiperreactividad está presente realmente. Es importante tener en cuenta que la provocación bronquial sólo es útil para descartar asma, ya que la hiperreactividad por sí sola no establece el diagnóstico.

Un paciente que ha comenzado un régimen terapéutico puede encontrarse mejor, pero frecuentemente faltan datos objetivos que confirmen esta mejoría. Una medida más cuantificable de mejora, como la función pulmonar, puede ser útil cuando se comienza el tratamiento, se ajusta la dosis o cambia el régimen de medicación. Hay estudios que avalan que la provocación bronquial puede ser usada para este propósito, pero el uso de esta prueba para guiar el tratamiento es aún controvertida y no tiene un uso amplio.

La provocación bronquial es también una herramienta de investigación extremadamente útil. Puede ser usada para estudiar y caracterizar una población de individuos, analizando la incidencia de hiperreactividad. También proporciona una forma de investigar la causa del asma, al proporcionar una medida objetiva y cuantificable de asma y un marcador indirecto de inflamación.

Los resultados de esta tesis permiten concluir que ninguno de los métodos de análisis de la curva dosis-respuesta está en una clara situación de ventaja con respecto a los demás. Rijcken y Schouten<sup>109</sup> revisan con sano escepticismo los diversos métodos clásicos, como la  $PD_{20}$  y las pendientes de la curva dosis-respuesta, y los más sofisticados y modernos, en los que aprecian básicamente similares problemas. Adoptan una postura bastante salomónica: dado que las distintas medidas de reactividad bronquial o diversos métodos analíticos aplicados al mismo conjunto de datos suelen revelar similares relaciones entre factores de riesgo y respuesta bronquial, proponen el uso simultáneo de varias de estas medidas, ya que es difícil sostener que sólo una de ellas es la mejor. Suscribiendo en buena parte sus argumentos, sin embargo nuestros resultados sí permiten detectar algunas diferencias entre los métodos analizados.

Este es el estudio de mayor tamaño de cuantos se han dedicado a este tema. En él se han revisado los procedimientos más habituales de valoración, aunque se ha recuperado también un método, el del área bajo la curva dosis-respuesta, que parecía en desuso. Aunque no existen grandes diferencias entre los índices, el área bajo la curva dosis-respuesta a la metacolina reúne la mejor combinación de propiedades discriminativas y de simetría en la distribución. En cuanto a los procedimientos grupales de comparación, el análisis de supervivencia basado en la distribución Weibull se ha demostrado más eficiente en la separación de las curvas de respuesta entre sintomáticos y no sintomáticos para todos los criterios. La  $PD_{20}$  es y probablemente seguirá siendo el parámetro de referencia en la clínica, pero no parece la más recomendable como medida continua de intensidad de la respuesta bronquial a la metacolina.

## **6. CONCLUSIONES**





1. En la valoración de la prueba de provocación bronquial con metacolina, los diversos índices analizados ( $PD_{20}$ , pendiente de O'Connor, pendiente obtenida mediante regresión lineal, área bajo la curva dosis-respuesta, modelo de efectos aleatorios y supervivencia basada en la distribución Weibull) han sido capaces de separar nítidamente entre los criterios ataques de asma en los últimos 12 meses, sibilancias en el mismo período, rinitis y atopía. Todos los índices presentan, por tanto, una buena validez de criterio. La bronquitis crónica no ha sido bien discriminada por ninguno de los índices.
2. Los mayores índices de separación se produjeron para el área bajo la curva dosis-respuesta y la pendiente de O'Connor. La comparación entre las curvas ROC de cada uno de los índices refleja una gran similitud en su capacidad discriminativa entre todos los criterios.
3. En la comparación las respuestas globales de los grupos, el análisis de supervivencia basado en la distribución Weibull es capaz de establecer, en todos los criterios, una nítida separación entre los porcentajes de caída entre los grupos que se comparan, mayor a medida que aumenta la dosis. Igual ocurre con el modelo de efectos aleatorios, que obtiene una buena separación entre los grupos, a excepción la bronquitis crónica. En la representación gráfica se ha demostrado una capacidad de separación claramente mayor con el análisis de supervivencia que con el modelo de efectos aleatorios.
4. Al utilizar la prueba de metacolina para separar a los que habían padecido ataques de asma de los que no los habían padecido, la mejor combinación entre sensibilidad y especificidad la obtuvo el área bajo la curva dosis-respuesta. El punto de corte óptimo se obtuvo utilizando un área de 84,3% como límite entre respuesta positiva y negativa a la prueba.
5. En cuanto a las propiedades estadísticas de los índices evaluados, en los individuos con una prueba de metacolina negativa parece existir una distribución simétrica, aproximadamente normal, con una mayoría de

valores cercanos a la tendencia central, y con pocos valores alejados tanto por encima como por debajo de los valores centrales, mientras que los que tienen un resultado positivo presentan distribuciones claramente alejadas de la normalidad. Cuando se comparan las medias de cada uno de los índices entre los que presentan y los que no presentan los distintos criterios (asma, sibilancias, atopia, rinitis, bronquitis crónica) se detecta la absoluta ausencia de normalidad de las distribuciones en los grupos. Lo mismo ocurrió con la homogeneidad de las varianzas, claramente inexistente para todos los índices. Por tanto, para la comparación de medias entre grupos es necesario recurrir a métodos de análisis que no requieran la homocedasticidad ni la normalidad, como la prueba de Welch o los métodos no paramétricos.

6. Podemos concluir, por tanto, que:
  - a. El análisis de la supervivencia basado en la distribución Weibull es un método válido y eficiente para la comparación entre grupos.
  - b. Aunque no existen grandes diferencias entre los índices evaluados, el área bajo la curva dosis-respuesta a la metacolina reúne la mejor combinación de propiedades discriminativas y de simetría en la distribución. La  $PD_{20}$  es y probablemente seguirá siendo el parámetro de referencia en la clínica, pero no parece la más recomendable como medida continua de intensidad de la respuesta bronquial a la metacolina.

## **7. BIBLIOGRAFÍA**



1. Picado C. Asma bronquial e hiperreactividad bronquial: amigos para siempre. *Med Clin Barc* 1996; 106: 780-781.
2. Sterk P., Fabbri L., Quanjer P., Cockcroft D., O'Byrne P., Anderson S. et al. Airway responsiveness. Standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. *European Respiratory Journal*. 1993; 6(Suppl. 16): 53-83.
3. Woolcock A., Anderson S., Peat J., Zhang Y., Smith C. et al. Characteristics of bronchial hyperresponsiveness in chronic obstructive pulmonary disease and in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1991 Jun; 143(6): 1438-43.
4. Prieto L., Gutierrez V., Berto J., Tornero C., Camps B., Perez M. Relationship between airway responsiveness and peak expiratory flow variability in subjects with allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995 Sep; 75(3): 273-9.
5. Koh Y., Lee M., Kim C., Min Y., Kim Y., Min K. et al. A familial predisposition in bronchial hyperresponsiveness among patients with allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102(6 Pt 1): 921-6.
6. Kolbeck K., Ehnhage A., Juto J. Nasal and bronchial histamine reactivity in patients with allergic rhinitis out of season. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 82(1): 55-60.
7. Chinn S., Jarvis D., Luczynska C., Burney P. Individual allergens as risk factors for bronchial responsiveness in young adults. *Thorax* 1998; 53(8): 662-7.
8. Soriano J., Tobias A., Kogevinas M., Sunyer J., Saez M., Martinez J. et al. Atopy and Nonspecific Bronchial Responsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1636-1640.
9. Boezen H., Postma D., Schouten J., Kerstjens H., Rijcken B. PEF variability, bronchial responsiveness and their relation to allergy markers in a random population (20-70 yr). *Am J Respir Crit Care Med* 1996 Jul; 154(1): 30-5.
10. Mana J., Salazar A., Pujol R., Manresa F. Are the pulmonary function tests and the markers of activity helpful to establish the prognosis of sarcoidosis?. *Respiration* 1996; 63(5): 298-303.

11. Ackerman V., Montgomery G., Eigen H., Tepper R. Assessment of airway responsiveness in infants with cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144(2): 344-6.
12. Pratter M., Irwin R. The clinical value of pharmacologic bronchoprovocation challenge. *Chest* 1984; 85(2): 260-5.
13. Deluca R., Grimm D., Lesser M., Bauman W., Almenoff P. Effects of a beta2-agonist on airway hyperreactivity in subjects with cervical spinal cord injury. *Chest* 1999; 115(6): 1533-8.
14. Aquilina A. Comparison of airway reactivity induced by histamine, methacholine, and isocapnic hyperventilation in normal and asthmatic subjects. *Thorax* 1983; 38(10): 766-70.
15. Landeau JB, Turcotte H, Bowie DM, Jobin J, Desgagne P, Boulet LP. Airway hyperresponsiveness in elite athletes. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161(5):1479-84.
16. Britton J., Lewis S. Objective measures and the diagnosis of asthma. We need a simple diagnostic test but don't yet have one. *BMJ* 1998; 317: 227-228.
17. Taylor D. Making the diagnosis of asthma. *BMJ* 1997; 315: 4-5.
18. Scott G., Braun S. A survey of the current use and methods of analysis of bronchoprovocational challenges. *Chest* 1991 Aug; 100(2): 322-8.
19. Lötvall J., Inman M., O'Byrne P. Measurement of airway hyperresponsiveness: new considerations. [Número completo]. *Thorax* 1998; 53: 419-424.
20. Eiser N., Kerrebijn K., Quanjer P.H. Guidelines for standardization of bronchial challenges with (nonspecific) bronchoconstricting agents. *Bull Eur Physiopathol Respir* 1983; 19: 495-511.
21. O'Connor G., Sparrow D., Taylor D., Segal M., Weiss S. Analysis of dose-response curves to methacholine. An approach suitable for population studies. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136(6): 1412-7.
22. Chinn S., Burney P., Britton Jr., Tattersfield A., Higgins. Comparison of PD20 with two alternative measures of response to histamine challenge in epidemiological studies. [Number complete]. *Eur Respir J* 1993; 6: 670-679.

23. Townley R., Bewtra A., Nair N., Brodkey F.D., Watt G.D., Burke B.S. Methacholine inhalation challenge studies. *J Allergy Clin Immunol* 1979; 64(6): 569-574.
24. Hopp R., Weiss S., Nair N., Bewtra A., Townley R. Interpretation of the results of methacholine inhalation challenge tests. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 80(6): 821-30.
25. Sherrill D., Martinez F., Sears M., Lebowitz M. An alternative method for comparing and describing methacholine response curves. *Am Rev Respir Dis* 1993 Jul; 148(1): 116-22.
26. Sunyer J., Munoz A. Concentrations of methacholine for bronchial responsiveness according to symptoms, smoking and immunoglobulin E in a population-based study in Spain. Spanish Group of the European Asthma Study. *Am J Respir Crit Care Med* 1996 Apr;
27. Habib MP, Paré PD, Engel LA. Variability of airway responses to inhaled histamine in normal subjects. *J Appl Physiol: Respir Environ Exercise Physiol* 1979; 47: 51-58.
28. Dehaut P., Rachiele A., Martin R., Malo J. Histamine dose-response curves in asthma: reproducibility and sensitivity of different indices to assess response. *Thorax* 1983; 38(7): 516-22.
29. Cockcroft D., Berscheid B., Murdock K. Measurement of responsiveness to inhaled histamine using VEMS: comparison of PC20 and threshold. *Thorax* 1983; 38(7): 523-6.
30. Beaupre A., Malo J. Histamine dose-response curves in asthma: relevance of the distinction between PC20 and reactivity in characterising clinical state. *Thorax* 1981 Oct; 36(10): 731-6.
31. Sterk P., Bel E. Bronchial hyperresponsiveness: the need for a distinction between hypersensitivity and excessive airway narrowing. *Eur Respir J* 1989; 2(3): 267-274.
32. Perpiñá, Pellicer C., Marco V. Sensibilidad y reactividad bronquial en los sujetos asmáticos: su interrelación y significado. *Archivos de Bronconeumología* 1986; 22: 223-226.
33. Chinn S., Sunyer J. Bronchial Hyperresponsiveness. *Eur Respir J* . (En prensa)

34. Prieto L., Bertó JM., López M., Peris A. Hiperrespuesta bronquial inespecífica. Análisis de la relación entre sensibilidad, reactividad y respuesta máxima. Archivos de Bronconeumología 1992; 29: 57-63.
35. MacKlem P. A hypothesis linking bronchial hyperreactivity and airway inflammation: implications for therapy. Ann Allergy 1990 Feb; 64(2 Pt 1): 113-6.
36. James A., Pearce-pinto G., Ryan G., Musk B. Maximal airway narrowing in a general population. Am Rev Respir Dis 1992 Oct; 146(4): 895-9.
37. Bel E., Zwinderman A., Timmers M., Dijkman J., Sterk P. The protective effect of a beta 2 agonist against excessive airway narrowing in response to bronchoconstrictor stimuli in asthma and chronic obstructive lung disease. Thorax 1991; 46(1): 9-14.
38. Sterk P., Fabbri L., Quanjer P., Cockcroft D., O'Byrne P., Anderson S. et al. Airway responsiveness. Standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. European Respiratory Journal. 1993; 6(Suppl. 16): 53-83.
39. Orehek J., Gayrard P., Smith A., Grimaud C., Charpin J. Airway response to carbachol in normal and asthmatic subjects: distinction between bronchial sensitivity and reactivity. Am Rev Respir Dis 1977 Jun; 115(6): 937-43.
40. Wagers S., Irvin C. The pharmacology of aerosolized airway challenge. Respir Care Clin N Am 1999 Dec; 5(4): 633-48.
41. Moreno R., Hogg J., Pare P. Mechanics of airway narrowing. Am Rev Respir Dis 1986 Jun; 133(6): 1171-80.
42. Hinojosa M. Tests de provocación bronquial inespecíficos. En: Picado C., Prieto L., editores. El ensayo clínico en el asma. Madrid: Ediciones Ergon, 1998: 63-74.
43. Cockcroft D. Bronchial inhalation tests. II. Measurement of allergic (and occupational) bronchial responsiveness. Ann Allergy 1987 Aug; 59(2): 89-98.
44. de Marco R., Fabbri L., Crescioli S., Plebani M., Testi R., Mapp C. Dose-dependent inhibitory effect of inhaled beclomethasone on late asthmatic reactions and increased responsiveness to methacholine



- induced by toluene diisocyanate in sensitised subjects. *Pulm Pharmacol* 1988; 1(1): 15-20.
45. Fabbri L., Boschetto P., Zocca E., Milani G., Pivrotto F., Plebani M. et al. Bronchoalveolar neutrophilia during late asthmatic reactions induced by toluene diisocyanate. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136(1): 36-42.
  46. Huang J., Frazer D., Millecchia L., Fedan J. Brief exposure of air-filled guinea-pig isolated trachea to low levels of toluene diisocyanate (TDI) vapour in vitro increases reactivity to methacholine. *Toxicology* 1997; 124(2): 83-93.
  47. Smith C., Anderson S. Inhalation provocation tests using nonisotonic aerosols. *J Allergy Clin Immunol* 1989 Nov; 84(5 Pt 1): 781-90.
  48. Heaton R., Henderson A., Costello J. Cold air as a bronchial provocation technique. Reproducibility and comparison with histamine and methacholine inhalation. *Chest* 1984; 86(6): 810-4.
  49. Drobic F. Estudio clínico del asma inducida por el ejercicio. En: Picado C., Prieto L., editores. *El ensayo clínico en el asma*. Madrid: Ediciones Ergon, SA, 1998: 157-175.
  50. Pellicer C. Test de provocación bronquial inespecífico. En: Picado C., Prieto L., editores. *El ensayo clínico en el asma*. Madrid: Ediciones Ergon, SA, 1998: 43-61.
  51. Peat J., Salome C., Bauman A., Toelle B., Wachinger S., Woolcock A. Repeatability of histamine bronchial challenge and comparability with methacholine bronchial challenge in a population of Australian schoolchildren. *Am Rev Respir Dis* 1991 Aug; 144(2): 338-43.
  52. Juniper E., Frith P., Dunnett C., Cockcroft D., Hargreave F. Reproducibility and comparison of responses to inhaled histamine and methacholine. *Thorax* 1978 Dec; 33(6): 705-10.
  53. James A., Ryan G. Testing airway responsiveness using inhaled methacholine or histamine. *Respirology* 1997 Jun; 2(2): 97-105.
  54. Reynolds J.E. editor. Martindale, W. *The Extra Pharmacopeia*. 30<sup>a</sup> London: Pharmaceutical Press, 1993.
  55. Fetters L., Matthews J. Methacholine challenge test. *Arch Intern Med* 1984; 144(5): 938-40.
  56. Anónimo. *Health Care Series Vol 104*. Micromedex, 1999.

57. Nelson H. Diagnostic procedures in allergy II. Bronchial provocation testing. *Ann Allergy* 1983; 51(5): 488-92.
58. Zeiger R., Dawson C., Weiss S. Relationships between duration of asthma and asthma severity among children in the Childhood Asthma Management Program (CAMP) [see comments]. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103(3 Pt 1): 376-87..
59. Sont J., Willems L., Bel E., Vandembroucke J., Sterk P. Clinical control and histopathologic outcome of asthma when using airway hyperresponsiveness as an additional guide to long-term treatment. The AMPUL Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1999 Apr; 159(4 Pt 1): 1043-51.
60. Pratter M., Woodman T., Irwin R., Johnson B. Stability of stored methacholine chloride solutions: clinically useful information. *Am Rev Respir Dis* 1982 Oct; 126(4): 717-9.
61. Dautrebande L., Phillipot W. Crise d'asthme expérimental par aérosol de carbaminoylcholine chez l'homme, traitée par dispersat de phénylaminopropane. *Presse Méd* 1941; 49: 942-946.
62. Tiffeneau R. Hypersensibilité cholinergo-histaminique pulmonaire de l'asthmatique. *Acta Allergol* 1958; 5(suppl): 187-221.
63. Cockcroft D., Killian D., Mellon J., Hargreave F. Bronchial reactivity to inhaled histamine: a method and clinical survey. *Clin Allergy* 1977 May; 7(3): 235-43.
64. Alberts W., Ferguson P., Ramsdell J. Preparation and handling of methacholine chloride testing solutions. Effect of the hygroscopic properties of methacholine. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127(3): 350-1.
65. Rijcken B., Schouten J., Weiss S., Meinesz A., de V., Van D. The distribution of bronchial responsiveness to histamine in symptomatic and in asymptomatic subjects. A population-based analysis of various indices of responsiveness. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140(3): 615-23.
66. Peat J., Salome C., Berry G., Woolcock A. Relation of dose-response slope to respiratory symptoms in a population of Australian schoolchildren. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144(3 Pt 1): 663-7.
67. Peat J., Salome C., Berry G., Woolcock A. Relation of dose-response slope to respiratory symptoms and lung function in a population study

- of adults living in Busselton, Western Australia. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146(4): 860-5.
68. Hulley S.B., Cummings S.R. *Diseño de la Investigación Clínica*. Barcelona: Doyma, 1993.
  69. Cockcroft D., Berscheid B., Murdock K. Unimodal distribution of bronchial responsiveness to inhaled histamine in a random human population. *Chest* 1983; 83(5): 751-4.
  70. Hendrick D. Epidemiological measurement of bronchial responsiveness in polyurethane workers. *Bull Eur Physiopathol Respir* 1987; 23(6): 555-9.
  71. Sackett D., Haynes R., Tugwell P. *Clinical Epidemiology. A basic science for clinical medicine*. Boston: Little, Brown and Company, 1985.
  72. Zweig M., Campbell G. Receiver-Operating Characteristic (ROC) Plots: A Fundamental Evaluation Tool in Clinical Medicine. *Clinical Chemistry* 1993; 39(4): 561-576.
  73. Silva Ayçaguer LC. *Cultura estadística e investigación científica en el campo de la salud: una mirada crítica*. Díaz de Santos. Madrid, 1997.
  74. Burney P., Luczynska C., Chinn S., Jarvis D. The European Community Respiratory Health Survey. *Eur Respir J* 1994 May; 7(5): 954-60.
  75. Grupo Español del Estudio Europeo del Asma. Estudio Europeo del Asma. Prevalencia de hiperreactividad bronquial y asma en adultos jóvenes de cinco áreas españolas. *Med Clin (Barc)* 1996 May 25; 106(20): 761-7.
  76. Instituto Nacional de Estadística. Inebase. Banco de datos Tempus. Acceso HTTP: <http://www.ine.es/inebase/cgi/um>
  77. Silva Ayçaguer, LC. *Muestreo para la investigación en ciencias de la salud*. Díaz de Santos. Madrid, 1993.
  78. SPSS® 10.0 Syntax Reference Guide for SPSS Base SPSS Regression Models SPSS Advanced Models [manual de programa informático]. SPSS Inc, productor. Chicago: 1999.
  79. Nystad W., Stensrud T., Rijcken B., Hagen J., Magnus P., Carlsen K. Wheezing in school children is not always asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 1999 Feb; 10(1): 58-65.

80. Colton T. Estadística en Medicina. Barcelona: Masson-Little, Brown, 1995.
81. Jones R., Boadi-Boateng F. Unequally spaced longitudinal data with AR(1) serial correlation. *Biometrics* 1991 Mar; 7(1): 161-75.
82. Jones R. Polynomials with asymptotes for longitudinal data. *Stat Med* 1990, Jan 15; 15(1): 61-74.
83. Sherrill D., Viegi G. On modelling Longitudinal Pulmonary Function Data. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: S217-S222.
84. Grizzle J., Allen D. Analysis of growth and dose response curves. *Biometrics* 1969 Jun; 25(2): 357-382.
85. Muñoz A., Sunyer J. Comparison of Semiparametric and Parametric Survival Models for the Analisis of Bronchial Responsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 1996: S234-S239.
86. Kalbfleisch J., Prentice R. The Statistical Analisis of Failure Time Data. New York: John Wiley and Sons, 1980.
87. Klein J.P., Moeschberger M.L. Survival Analisis. Techniques for Censored and Truncated Data. New York: Springer, 1997.
88. Martín Andrés A, Luna del Castillo JD. Bioestadística para las ciencias de la Salud. Madrid: Ediciones Norma, 1988.
89. Armitage P., Berry G. Statistical Methods in Medical Research. Second Edition Oxford: Blacwell Scientific Publications, 1987.
90. Argimón Pallás JM, Jiménez Villa J. Métodos de investigación clínica y epidemiológica. 2ª Ed. Madrid: Harcourt, 2000.
91. Hanley J., McNeil B. The meaning and use of the Area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology* 1982 Apr; 143(1): 29-36
92. Hanley J., McNeil B. A Method of Comparing the Areas under Receiver Operating Characteristic Curves Derived from the Same Cases. *Radiology* 1983; 148: 839-843.
93. Abramson M., Saunders N., Hensley M. Analysis of bronchial reactivity in epidemiological studies. *Thorax* 1990 Dec; 45(12): 924-9.
94. De Vega Gómez A, Payo Losa F, Palenciano Ballesteros L. Relación dosis-respuesta en el test de provocación bronquial inespecífica con metacolina. *Archivos de Bronconeumología* 1999; 35(7): 362.

95. Verlato G, Cerveri I, Villani A, Pasquetto M, Ferrari M, Fanfulla F, Zanolin E, Rijcken B, de Marco R. Evaluation of methacholine dose-response curves by linear and exponential mathematical models: goodness-of-fit and validity of extrapolation. *European Respiratory Journal* 1996; 9:506-11
96. American Thoracic Society. Guidelines for Methacholine and Exercise Challenge Testing-1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 309-329.
97. De Marco R, Bugiani M, Zanolin E, Verlato G, Rijcken B. Doses and models in risk assessment analysis for bronchial hyperresponsiveness. *J Clin Epidemiol* 1998; 51:19-28.
98. O'Connor G., Weiss S. Clinical and symptom measures. *Am J Respir Crit Care Med* 1994 Feb; 149(2 Pt 2): S21-30.
99. Sunyer J, Basagana X, Burney P, Anto JM. International assessment of the internal consistency of respiratory symptoms. European Community Respiratory Health Study (ECRHS). *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:930-5.
100. Norrman E, Plaschke P, Bjornsson E, Rosenhall L, Lundback B, Jansson C, Lindholm N, Boman G. Prevalence of bronchial hyperresponsiveness in the southern, central and northern parts of Sweden. *Respiratory Medicine* 1998; 92:480-7.
101. Nowak D, Heinrich J, Jorres R, Wassmer G, Berger J, Beck E, Boczor S, Claussen M, Wichmann HE, Magnussen H. Prevalence of respiratory symptoms, bronchial hyperresponsiveness and atopy among adults: west and east Germany. *Eur Respir J* 1996; 9:2541-52.
102. Jensen EJ, Dahl R, Steffensen F. Bronchial reactivity to cigarette smoke in smokers: repeatability, relationship to methacholine reactivity, smoking and atopy. *Eur Respir J* 1998; 11(3):670-6.
103. Sunyer J, Anto JM, Kogevinas M, Soriano JB, Tobias A, Munoz A. Smoking and bronchial responsiveness in nonatopic and atopic young adults. Spanish Group of the European Study of Asthma. *Thorax* 1997; 52:235-8.
104. Leynaert B, Bousquet J, Henry C, Liard R, Neukirch F. Is bronchial hyperresponsiveness more frequent in women than in men? A

- population-based study. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:1413-20.
105. Woolcock AJ, Jenkins CR. Assessment of bronchial responsiveness as a guide to prognosis and therapy in asthma. *Med Clin North Am* 1990; 74:753-65.
106. Ahrens R., Bonham A., Maxwell G., Weinberger M. A method for comparing the peak intensity and duration of action of aerosolized bronchodilators using bronchoprovocation with methacholine. *Am Rev Respir Dis* 1984; 129(6): 903-6
107. Dinh Xuan AT, Lockhart A. Use of non-specific bronchial challenges in the assessment of antiasthmatic drugs. *Eur Respir Rev* 1991;1:19-24.
108. Basagaña X, Sunyer J, Zock JP, Kogevinas M, Urrutia I, Maldonado JA, Almar E, Payo F, Antó JM for the Spanish ECRHS group. Incidence of asthma in Spain (En prensa)
109. Rijcken B; Schouten JP. Measuring bronchial responsiveness in epidemiology. *Eur Respir J.* 1993. 6, 617-618.

## **8. ÍNDICE DE TABLAS**





Tabla 1. Principales interacciones medicamentosas de la metacolina. ....	23
Tabla 2. Población representada en el estudio .....	41
Tabla 3. Protocolo de dosificaciones en la prueba de estímulo con metacolina .....	48
Tabla 4. Distribución de la sintomatología en hombres y mujeres.....	70
Tabla 5. Descripción de los resultados de cada uno de los índices al separar entre los que han tenido ataques de asma en los últimos 12 meses y los que no. ....	73
Tabla 6. Descripción de los resultados de cada uno de los índices al separar entre los que han sibilancias en los últimos 12 meses y los que no.....	73
Tabla 7. Descripción de los resultados de cada uno de los índices al separar entre los que han tenido rinitis y los que no. ....	74
Tabla 8. Descripción de los resultados de cada uno de los índices al separar entre los atópicos y los no atópicos.....	74
Tabla 9. Descripción de los resultados de cada uno de los índices al separar entre los que tenían criterios clínicos de bronquitis crónica y los que no.....	74
Tabla 10. Prueba de Welch de comparación de medias de los índices que resumen la curva dosis-respuesta frente a los distintos criterios. t: t experimental (estadístico de contraste para la prueba de Welch) .....	78
Tabla 11. Comparación entre las medias de los métodos de valoración de la curva dosis-respuesta en función del tabaquismo. ....	78
Tabla 12. Áreas bajo la curva ROC con sus errores estándar y límites de confianza al 95% inferior y superior de los distintos métodos frente a los ataques de asma en los últimos 12 meses. ....	80
Tabla 13. Puntos de corte óptimos, sensibilidad y especificidad para este punto de corte de los distintos métodos frente a los ataques de asma en los últimos 12 meses. ....	81
Tabla 14. Errores estándar (por encima de la diagonal) y niveles de significación p (por debajo de la diagonal) para la comparación entre las áreas bajo la curva ROC para los ataques de asma en los últimos 12 meses.....	82

Tabla 15. Áreas bajo la curva ROC con sus errores estándar y límites de confianza al 95% inferior y superior de los distintos métodos frente a la presencia de sibilancias .....	83
Tabla 16. Puntos de corte óptimos, sensibilidad y especificidad para este punto de corte de los distintos métodos frente a la presencia de sibilancias .....	83
Tabla 17. Errores estándar (por encima de la diagonal) y niveles de significación p (por debajo de la diagonal) para la comparación entre las áreas bajo la curva ROC para la presencia de sibilancias. ....	83
Tabla 18. Áreas bajo la curva ROC con sus errores estándar y límites de confianza al 95% inferior y superior de los distintos métodos frente a la presencia de rinitis.....	84
Tabla 19. Puntos de corte óptimos, sensibilidad y especificidad para este punto de corte de los distintos métodos frente a la presencia de rinitis. ....	84
Tabla 20. Errores estándar (por encima de la diagonal) y niveles de significación p (por debajo de la diagonal) para la comparación entre las áreas bajo la curva ROC para la presencia de rinitis .....	85
Tabla 21. Áreas bajo la curva ROC con sus errores estándar y límites de confianza al 95% inferior y superior de los distintos métodos frente a la presencia de atopía. ....	85
Tabla 22. Puntos de corte óptimos, sensibilidad y especificidad para este punto de corte de los distintos métodos frente a la presencia de atopía.....	85
Tabla 23. Errores estándar (por encima de la diagonal) y niveles de significación p (por debajo de la diagonal) para la comparación entre las áreas bajo la curva ROC para la presencia de atopía.....	86
Tabla 24. Áreas bajo la curva ROC con sus errores estándar y límites de confianza al 95% inferior y superior de los distintos métodos frente a la presencia de bronquitis crónica .....	86
Tabla 25. Puntos de corte óptimos, sensibilidad y especificidad para este punto de corte de los distintos métodos frente a la presencia de bronquitis crónica.....	87
Tabla 26. Errores estándar (por encima de la diagonal) y niveles de significación p (por debajo de la diagonal) para la comparación	

entre las áreas bajo la curva ROC para la presencia de bronquitis crónica .....	87
Tabla 27. Análisis múltiple de la varianza (MANOVA). Comparación de los coeficientes de la dosis y de la dosis al cuadrado entre los que han sufrido ataques de asma y los que no. Medias ajustadas por edad, sexo, VEMS basal, nivel de IgE y tabaquismo.....	94
Tabla 28. Porcentajes de caída sobre el VEMS inicial estimados para cada dosis. Ajustados por edad, sexo, VEMS basal, nivel de IgE y tabaquismo. ....	94
Tabla 29. Número de participantes que no responden (VEMS >80% posdiluyente) y que responden (VEMS < 80% posdiluyente) y grado de respuesta medida por la magnitud de la caída en cada dosis de metacolina. ....	98
Tabla 30. Modelo de regresión Weibull sobre la respuesta bronquial a la prueba de metacolina, en función de la presencia de ataques de asma en los últimos 12 meses, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Categoría de referencia: Varones, VEMS inicial <90% del predicho, IgE<20 UI/ml, no fumadores (g.l.: grados de libertad).....	100
Tabla 31. Percentiles: dosis a las que caería el percentil correspondiente de la población, en función de que la presencia (columna Sí) o ausencia (columna NO) de ataques de asma en los últimos 12 meses, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Percentiles relativos: cociente Sí / NO. Lim inf y Lim sup: límites inferior y superior del intervalo de confianza al 95% para los percentiles relativos.....	101
Tabla 32. Modelo de regresión Weibull sobre la respuesta bronquial a la prueba de metacolina, en función de la presencia de sibilancias, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Categoría de referencia: Varones, VEMS inicial <90% del predicho, IgE<20 UI/ml, no fumadores (g.l.: grados de libertad).....	103
Tabla 33. Percentiles: dosis a las que caería el percentil correspondiente de la población, en función de que la presencia (columna Sí) o ausencia (columna No) de sibilancias, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Percentiles relativos:	

	cociente Sí / No. Lim inf y Lim sup: límites inferior y superior del intervalo de confianza al 95% para los percentiles relativos.....	104
Tabla 34.	Modelo de regresión Weibull sobre la respuesta bronquial a la prueba de metacolina, en función de la presencia de rinitis, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Categoría de referencia: Varones, VEMS inicial <90% del predicho, IgE<20 UI/ml, no fumadores. ....	105
Tabla 35.	Percentiles: dosis a las que caería el percentil correspondiente de la población, en función de que la presencia (columna Sí) o ausencia (columna No) de rinitis, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Percentiles relativos: cociente Sí / No. Lim inf y Lim sup: límites inferior y superior del intervalo de confianza al 95% para los percentiles relativos. ....	106
Tabla 36.	Modelo de regresión Weibull sobre la respuesta bronquial a la prueba de metacolina, en función de la presencia de atopia, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Categoría de referencia: Varones, VEMS inicial <90% del predicho, IgE<20 UI/ml, no fumadores. ....	107
Tabla 37.	Percentiles: dosis a las que caería el percentil correspondiente de la población, en función de que la presencia (columna Sí) o ausencia (columna No) de atopia, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Percentiles relativos: cociente Sí / No. Lim inf y Lim sup: límites inferior y superior del intervalo de confianza al 95% para los percentiles relativos.....	108
Tabla 38.	Modelo de regresión Weibull sobre la respuesta bronquial a la prueba de metacolina, en función de la presencia de atopia, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Categoría de referencia: Varones, VEMS inicial <90% del predicho, IgE<20 UI/ml, no fumadores. ....	109
Tabla 39.	Percentiles: dosis a las que caería el percentil correspondiente de la población, en función de que la presencia (columna Sí) o ausencia (columna No) de bronquitis crónica, ajustado por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo. Percentiles relativos: cociente Sí / No. Lim inf y Lim sup: límites inferior y	

superior del intervalo de confianza al 95% para los percentiles relativos. ....	110
Tabla 40. Valores de los distintos índices que pueden utilizarse para resumir la curva dosis-respuesta a la prueba de metacolina, en función de que la prueba haya terminado con la máxima dosis y sin que se produzca una caída del 20% del VEMS (prueba completa) o de que se haya producido esta caída. ....	111
Tabla 41. Pruebas de normalidad para los distintos índices resumen, en función de que la prueba haya terminado con la máxima dosis y sin que se produzca una caída del 20% del VEMS (prueba completa) o de que se haya producido esta caída. ....	112
Tabla 42. Homogeneidad de la varianza de los distintos índices que resumen la curva dosis-respuesta, en función de la presencia o ausencia de ataques de asma, sibilancias, rinitis, atopia y bronquitis crónica. F: estadístico F experimental para la prueba de Levene. ....	117



## **9. ÍNDICE DE FIGURAS**





Figura 1. Curva dosis-respuesta a la metacolina. ....	11
Figura 2. Cálculo de la PD <sub>20</sub> .....	12
Figura 3. Cálculo de la pendiente por el método de O'Connor.....	13
Figura 4. Cálculo de la pendiente mediante regresión lineal.....	14
Figura 5. Cálculo del área bajo la curva.....	15
Figura 6. Diagrama de decisión para los criterios de realización de las pruebas de función pulmonar.....	45
Figura 7. Diagrama de decisión para los criterios de calidad de la espirometría basal.....	46
Figura 8. Diagrama de decisión: criterios para el comienzo de la prueba de provocación bronquial con metacolina. ....	47
Figura 9. Porcentaje de positividades a los diversos alérgenos.....	71
Figura 10. Distribución de la IgE inespecífica (transformación logarítmica).....	72
Figura 11. Medias de PD <sub>20</sub> en función de la presencia o ausencia de los distintos criterios.....	75
Figura 12. Medias de Pendiente de O'Connor en función de la presencia o ausencia de los distintos criterios.....	75
Figura 13. Medias de Pendiente obtenida mediante regresión lineal en función de la presencia o ausencia de los distintos criterios.....	76
Figura 14. Medias de área bajo la curva dosis-respuesta en función de la presencia o ausencia de los distintos criterios.....	76
Figura 15. Índices de discriminación (diferencia de medias / desviación típica conjunta) obtenidos con los diferentes criterios. OC: pendiente de O'Connor; LR: pendiente de regresión lineal; Area: área bajo la curva dosis-respuesta.....	88
Figura 16. Capacidad discriminativa (curvas ROC) de la PD <sub>20</sub> , pendiente de O'Connor (OC), pendiente de regresión lineal (LR) y área bajo la curva dosis-respuesta (Área) frente a los ataques de asma en los últimos 12 meses.....	88
Figura 17. Capacidad discriminativa (curvas ROC) de la PD <sub>20</sub> , pendiente de O'Connor (OC), pendiente de regresión lineal (LR) y área bajo la curva dosis-respuesta (Área) frente a los presencia de sibilancias.....	89

Figura 18. Capacidad discriminativa (curvas ROC) de la PD <sub>20</sub> , pendiente de O'Connor (OC), pendiente de regresión lineal (LR) y área bajo la curva dosis-respuesta (Área) frente a la presencia de rinitis .....	89
Figura 19. Capacidad discriminativa (curvas ROC) de la PD <sub>20</sub> , pendiente de O'Connor (OC), pendiente de regresión lineal (LR) y área bajo la curva dosis-respuesta (Área) frente a los presencia de atopia .....	90
Figura 20. Capacidad discriminativa (curvas ROC) de la PD <sub>20</sub> , pendiente de O'Connor (OC), pendiente de regresión lineal (LR) y área bajo la curva dosis-respuesta (Área) frente a los presencia de bronquitis crónica .....	90
Figura 21. Proporción de respuestas positivas a la prueba de metacolina en función de la edad.....	92
Figura 22. Proporción de respuestas positivas a la prueba de metacolina en función de los niveles de IgE.....	92
Figura 23. Proporción de respuestas positivas a la prueba de metacolina en función de la función pulmonar basal: porcentaje sobre el VEMS predicho.....	93
Figura 24. Medias esperadas de caída en el VEMS, en función de la presencia o no de ataques de asma en los últimos 12 meses, ajustadas por edad, sexo, VEMS basal, nivel de IgE y tabaquismo.....	95
Figura 25. Medias esperadas de caída en el VEMS, en función de la presencia o no de sibilancias en los últimos 12 meses, ajustadas por edad, sexo, VEMS basal, nivel de IgE y tabaquismo.....	95
Figura 26. Medias esperadas de caída en el VEMS, en función de la presencia o no de rinitis, ajustadas por edad, sexo, VEMS basal, nivel de IgE y tabaquismo. ....	96
Figura 27. Medias esperadas de caída en el VEMS, en función de la presencia o no de atopia, ajustadas por edad, sexo, VEMS basal, nivel de IgE y tabaquismo. ....	96
Figura 28. Medias esperadas de caída en el VEMS, en función de la presencia o no de bronquitis crónica, ajustadas por edad, sexo, VEMS basal, nivel de IgE y tabaquismo.....	97
Figura 29. Proporción de la población que cae a las distintas dosis, en función de la presencia o ausencia de ataques de asma, ajustada por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo .....	102

Figura 30. Proporción de la población que cae a las distintas dosis, en función de la presencia o ausencia de sibilancias, ajustada por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo .....	104
Figura 31. Proporción de la población que cae a las distintas dosis, en función de la presencia o ausencia de rinitis, ajustada por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo .....	106
Figura 32. Proporción de la población que cae a las distintas dosis, en función de la presencia o ausencia de atopía, ajustada por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo .....	108
Figura 33. Proporción de la población que cae a las distintas dosis, en función de la presencia o ausencia de bronquitis crónica, ajustada por edad, sexo, función basal, nivel de IgE y tabaquismo .....	110
Figura 34. Histograma correspondiente a la distribución de la PD <sub>20</sub> en los individuos que han caído por debajo del 20% del VEMS inicial.....	113
Figura 35. Histograma correspondiente a la distribución de la Pendiente de O'Connor en los individuos que no han caído por debajo del 20% del VEMS inicial .....	114
Figura 36. Histograma correspondiente a la distribución de la Pendiente de O'Connor en los individuos que han caído por debajo del 20% del VEMS inicial.....	114
Figura 37. Histograma correspondiente a la distribución de la pendiente obtenida mediante regresión lineal en los individuos que no han caído por debajo del 20% del VEMS .....	115
Figura 38. Histograma correspondiente a la distribución de la pendiente obtenida mediante regresión lineal en los individuos que han caído por debajo del 20% del VEMS inicial.....	115
Figura 39. Histograma correspondiente a la distribución del área bajo la curva dosis-respuesta en los individuos que no han caído por debajo del 20% del VEMS inicial.....	116
Figura 40. Histograma correspondiente a la distribución del área bajo la curva dosis-respuesta en los individuos que han caído por debajo del 20% del VEMS inicial .....	116



## **10. ANEXOS**



## 10.1. Anexo 1. Modelo de consentimiento informado

### ESTUDIO EUROPEO DE SALUD RESPIRATORIA Información para los voluntarios

Por favor, considere colaborar en nuestro proyecto.

Este proyecto es parte de un estudio internacional para determinar cuanta gente tiene enfermedades del pecho y si existe cualquier vínculo común que nos aporte alguna información sobre la causa de estas enfermedades. En España estamos estudiando gente de Barcelona, Bilbao, Oviedo, Albacete y Huelva, pero las mismas pruebas están siendo realizadas exactamente igual en otros centros de todo el mundo.

Es importante que estudiemos gente con y sin enfermedades del pecho. Nuestras pruebas pueden ser de interés para usted, ya que podemos darle los resultados a usted o a su médico. No obstante, nosotros no podremos darle consejo médico o tratamiento, cosa que depende de su propio médico.

Usted ya ha respondido algunas preguntas en relación a su salud. Nos gustaría que usted viniera al \_\_\_\_\_ para responder a algunas preguntas más detalladas sobre cualquier tipo de síntomas respiratorios o alérgicos que usted pueda tener. También le haremos algunas preguntas sobre su trabajo, su casa y su familia.

Después del cuestionario nos gustaría realizar las pruebas que le explicamos a continuación. Usted puede escoger tomar parte en todas o sólo en algunas de las pruebas. En cualquier momento y durante cualquier prueba usted puede pedir pararla sin tener que explicar el porqué.

#### Muestra de sangre para la prueba de alergia

Le será extraída sangre de una vena del brazo. Los técnicos que trabajan en el centro tienen gran experiencia en la extracción de sangre, pero si por cualquier motivo no pueden extraer sangre en el primer intento, ellos no lo intentarán de nuevo sin que usted dé su permiso.

#### Prueba cutánea para la alergia

Las pruebas cutáneas de alergia le serán efectuadas pinchando con una pequeña aguja la piel de la cara interna de su antebrazo varias veces en diferentes lugares. Esto no duele y el técnico le mostrará lo que va a ocurrir antes de empezar. Si es usted alérgico puede aparecer una pequeña marca roja y puede sentir picor en el brazo durante unos instantes. El técnico medirá el tamaño de la marca después de 20 minutos.

## Pruebas respiratorias

Mediremos cuánto aire cabe en sus pulmones y cuánto puede soplar de forma rápida. Esta prueba se hace con el equipo que le mostrará el técnico. A continuación nos gustaría realizar otra prueba. El técnico le pedirá que inhale el vapor de un fármaco llamado metacolina a través de una boquilla, y le medirá otra vez su capacidad respiratoria. El técnico puede pedirle hacer esto varias veces. La mayoría de individuos no reaccionan de ninguna forma a esta prueba. Algunos (alrededor de un 10%) notan que les hace toser o efectuar sibilantes o pitos. Si usted reacciona a esta prueba, nosotros le daremos 2 puffs de un inhalador (con salbutamol, el mismo fármaco que usan muchos asmáticos). La tos o los sibilantes o pitos desaparecerán en 5 minutos. Si la primera prueba muestra que usted tiene algún problema al exhalar el aire de sus pulmones, en vez de inhalar metacolina le daremos 2 puffs de salbutamol inhalado para ver si mejora sus registros.

## Recolección de orina (sólo hombres)

Le daremos un contenedor de plástico y nos gustaría que usted lo llenase con orina durante un período de 24 horas.

Toda la información obtenida en este estudio será tratada confidencialmente. Nosotros podemos enviar los resultados de algunas de las pruebas a su médico de cabecera si usted lo desea.

Si tiene cualquier problema durante estas pruebas usted puede ponerse en contacto con (jefe del estudio) o cualquier miembro de su equipo en (nombre del centro) por el teléfono (numero).



ESTUDIO EUROPEO DE SALUD RESPIRATORIA  
Carta para los voluntarios

Por favor, marque una casilla

Yo no deseo participar en el Estudio Europeo de Salud Respiratoria   
en \_\_\_\_\_, España.

Me gustaría asistir al centro de pruebas para participar en el Estudio Europeo de Salud Respiratoria en \_\_\_\_\_, España.

Pueden ponerse en contacto conmigo llamando al  
teléfono \_\_\_\_\_

en el intervalo horario entre \_\_\_\_\_ y \_\_\_\_\_

No tengo teléfono pero pueden concertar conmigo una cita por correo.

Nombre:  
\_\_\_\_\_

Dirección:  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Si decide que le gustaría participar en nuestro Estudio Internacional de Salud Respiratoria, mire por favor si usted puede realizar estas recomendaciones antes de su visita a nuestro centro de pruebas

Si normalmente toma algún inhalador para mejorar su respiración, por favor hágaselo saber a la persona que concierte su cita. Esta persona intentará citarle entre 4 y 8 horas después de su toma normal de inhalador. Entonces le pediremos no usar el inhalador antes de venir a la clínica. Por supuesto, si cree que no es posible, háganoslo saber por favor.

Si fuma, por favor no fume desde una hora antes de venir al centro de pruebas.

No beba por favor más de una taza de café en las 6 horas previas a la cita.

Asegúrese por favor de que ha concertado su cita sin padecer resfriado, tos o irritación de la garganta al menos desde hace una semana.

No ingiera por favor una comida copiosa inmediatamente antes de su visita al centro de pruebas.

ESTUDIO EUROPEO DE SALUD RESPIRATORIA  
Formulario de consentimiento voluntario

ACEPTO DE FORMA VOLUNTARIA TOMAR PARTE EN EL  
ESTUDIO DE SALUD RESPIRATORIA DE LA COMISION EUROPEA

Yo, \_\_\_\_\_  
De \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

por la presente plena y libremente acepto participar en el Estudio Europeo de Salud Respiratoria.

Comprendo y reconozco que el estudio está diseñado para incrementar los conocimientos médicos.

Advierto que puedo renunciar a este consentimiento en cualquier momento durante la realización de las siguientes pruebas.

Reconozco que el propósito de este estudio, los efectos y los riesgos de las pruebas y la naturaleza y propósito de las mismas me han sido completamente explicadas por:

\_\_\_\_\_  
y que he tenido oportunidad de discutir estos asuntos con el/ella.

Acepto participar en todas las pruebas que se me han descrito excepto

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

(dejar en blanco de otro modo)

He recibido explicación escrita de estos asuntos, una copia de la cual está adherida a este impreso.

Firmado,

Hago constar que he explicado al voluntario la naturaleza y efectos de las pruebas que el/ella llevará a cabo.

Firmado,

\_\_\_\_\_  
(Miembro del Equipo del Estudio Europeo de Salud Respiratoria)

Fecha \_\_\_\_\_ Lugar \_\_\_\_\_

## 10.2. Anexo 2. Cuestionario de síntomas

COMISIÓN EUROPEA
ESTUDIO DE SALUD
REPIRATORIA
CUESTIONARIO PRINCIPAL

Area n

Número personal

Muestra n

Fecha

DIA            MES            AÑO

**VOY A HACERLE ALGUNAS PREGUNTAS. LAS PRIMERAS SERAN MAYORITARIAMENTE SOBRE SU RESPIRACION SIEMPRE QUE SEA POSIBLE, INTENTE RESPONDER "SI" O "NO".**

### SILBIDOS Y OPRESION O TIRANTEZ EN EL PECHO

1. ¿Ha tenido silbidos o pitos en el pecho alguna vez en los últimos 12 meses? NO SI

SI "NO" PASAR A LA PREGUNTA 2, SI "Sí"

1.1 ¿Ha tenido falta de aire cuando estaban presentes los silbidos o pitos? NO SI

1.2. ¿Ha tenido estos silbidos o pitos cuando no estaba resfriado? NO SI

2. ¿Se ha despertado con una sensación de opresión o tirantez en el pecho alguna vez en los últimos 12 meses? NO SI

### FALTA DE AIRE

3. ¿Ha tenido algún ataque de falta de aire durante el día estando en reposo alguna vez en los últimos 12 meses? NO SI

4. ¿Ha tenido algún ataque de falta de aire después de hacer ejercicio físico en los últimos 12 meses? NO SI

5. ¿Se ha despertado por la noche a causa de un ataque de falta de aire alguna vez en últimos 12 meses? NO SI

**TOS Y ESPUTO DEL PECHO**

6. ¿Se ha despertado por un ataque de tos alguna vez en los últimos 12 meses? NO SI
7. ¿Tose habitualmente al levantarse por la mañana durante el invierno? NO SI  
   
**[SI DUDOSO, USAR LA PREGUNTA 8.1 PARA CONFIRMAR]**
8. ¿Tose habitualmente de día o de noche durante el invierno? NO SI  
   
**SI "NO" PASAR A LA PREGUNTA 9, SI "Sí":**
- 8.1. ¿Ha tenido esta tos la mayoría de los días al menos 3 meses cada año? NO SI
9. ¿Acostumbra a arrancar o sacar esputos al levantarse por la mañana durante el invierno? NO SI
10. ¿Acostumbra a arrancar o sacar esputos durante el día o la noche en invierno? NO SI
- SI "NO" PASAR A LA PREGUNTA 11, SI "Sí":**
- 10.1 ¿Arranca o espectoradora así la mayoría de los días al menos 3 meses cada año? NO SI

**RESPIRACIÓN**

11. ¿Tiene problemas con su respiración? NO SI
- SI "NO" PASAR A LA PREGUNTA 12, SI "Sí":**
- 11.1 Tiene este problema MARCAR SOLO UNA
- CASILLA
- |  |   |                          |
|--|---|--------------------------|
| a) continuamente, nunca respira totalmente bien ?    | 1 | <input type="checkbox"/> |
| b) a menudo, pero siempre se recupera completamente? | 2 | <input type="checkbox"/> |
| c) sólo de vez en cuando?                            | 3 | <input type="checkbox"/> |
12. ¿Tiene usted dificultad para caminar por una causa diferente a una enfermedad cardíaca o pulmonar? NO SI

SI "Sí": 12.0 CAUSA \_\_\_\_\_

Y PASAR A LA PREGUNTA 13

SI "NO":

12.1 ¿Se cansa por falta de aire cuando camina rápido en terreno llano o sube una pendiente suave?

NO	SI
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

SI "NO" PASAR A LA PREGUNTA 13, SI "Sí"

12.1.1 ¿Le falta el aire al andar en terreno llano con gente de su misma edad?

NO	SI
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

SI "NO" PASAR A LA PREGUNTA 13, SI "Sí"

12.1.1.1 ¿Tiene que parar a respirar cuando camina a su propio paso en terreno llano?

NO	SI
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**ASMA**

13. ¿Tiene o ha tenido alguna vez asma?

NO	SI
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

SI "NO" PASAR A LA PREGUNTA 15, SI "Sí":

13.1 ¿Ha sido confirmado por un médico?

NO	SI
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

13.2 ¿Qué edad tenía cuándo tuvo su primer ataque de asma?

AÑOS	
<input type="text"/>	<input type="text"/>
AÑOS	

13.3 ¿Qué edad tenía cuándo tuvo su último ataque de asma?

<input type="text"/>	<input type="text"/>
----------------------	----------------------

13.4.1-6 ¿En qué meses del año suele tener ataques de asma?

13.4.1 Enero/ Febrero

13.4.2 Marzo / Abril

13.4.3 Mayo / Junio

13.4.4 Julio / Agosto

13.4.5 Septiembre / Octubre

13.4.6 Noviembre / Diciembre

NO	SI
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

13.5 ¿Ha tenido algún ataque de asma en los últimos 12 meses? NO SI

SI "NO" PASAR A LA PREGUNTA 13.8, SI "SÍ":

13.6 ¿Toma actualmente alguna medicación (incluyendo inhaladores, aerosoles o pastillas) para el asma? NO SI

**OTRAS CONDICIONES**

14. ¿Tiene usted alguna alergia nasal, incluyendo rinitis? NO SÍ

NO SÍ

15. ¿Ha tenido alguna vez eczema u otro tipo de alergia en la piel?

16. ¿Es alérgico a las picaduras o mordiscos de insectos? NO SÍ

**SI LA RESPUESTA ES NO IR A LA P.17, SI LA RESPUESTA ES SÍ**

16.1 ¿A qué insecto? \_\_\_\_\_

17. ¿Ha tenido alguna vez dificultad al respirar después de tomar medicinas? NO SI

**SI LA RESPUESTA ES NO IR A LA P.18, SI LA RESPUESTA ES SÍ**

17.1 : ¿Qué medicinas? \_\_\_\_\_

**HÁBITO TABÁQUICO DE SUS PADRES**

18. ¿Fumaba su padre con regularidad durante su infancia? NO SI No Sabe

19. ¿Fumaba su madre con regularidad durante su infancia o antes de que usted naciera? NO SI No Sabe

**SI LA RESPUESTA ES NO O NO SABE, IR A LA P.20, SI LA RESPUESTA ES SÍ**

19.1 Cuando su madre estaba embarazada (en concreto de usted), ella:

- |  |   |  |
|--|---|--|
| A) dejó de fumar antes de quedar embarazada      | 1 |  |
| B) disminuyó o dejó de fumar durante el embarazo | 2 |  |
| C) siguió fumando igual durante el embarazo      | 3 |  |
| D) no sabe                                       | 4 |  |

**UN POCO MÁS SOBRE USTED**

20. ¿Cuándo nació?

Fecha 

--	--

--	--

--	--	--	--

DÍA      MES      AÑO

21. ¿En qué país nació?

--	--	--

23. ¿Es usted hombre o mujer?

HOMBRE MUJER

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------





### 10.3. Anexo 3. Secuencia para la realización de pruebas cutáneas

1. Colocar la rejilla de *tests* cutáneos en la superficie volar del antebrazo y fijarla con cinta adhesiva. Marcar la orientación de la rejilla sobre el brazo del individuo. No es necesaria ninguna limpieza cutánea antes de aplicar los Phazets.
2. Abrir el envoltorio de los Phazets por la línea perforada y extraer la lanceta sin tocar la punta revestida de alérgeno. Sostener el Phazet con los dedos pulgar e índice
3. Colocar la lanceta 90° sobre la piel y presionar contra la piel con el dedo índice al menos durante 1 segundo. Aplicar siempre la misma presión (la forma de la lanceta impide la penetración de más de 1 mm).
4. Extraer la lanceta con un movimiento de ascenso y desecharla
5. Retirar la rejilla.
6. Leer el resultado después de 15 minutos, repasando el perímetro del halo con un bolígrafo o rotulador fino. Repasar siempre en el mismo orden que la aplicación de los Phazets
7. Colocar un trozo de cinta transparente adhesiva sobre la piel y transferir las marcas a la rejilla de la hoja de anotaciones.
8. Medir el diámetro del halo (mm) en su punto de mayor amplitud y el segundo diámetro a 90° desde el punto medio del anterior, y registrar ambos diámetros en mm en las casillas más cercanas de la hoja de anotaciones, aproximando al milímetro más cercano: de 1,0 a 1,4 se anotaría como 1 mm, y de 1,5 a 1,9 como 2 mm.



### 10.4. Anexo 4. Hoja de anotaciones para las pruebas cutáneas

EC RESPIRATORY HEALTH SURVEY  
Skin prick test results

Área number

Personal number

Sample

Date

VOLAR LOWER ARM: Mark top  
And botton of grid on skin

e1	d1
m2	m6
+	g6
local 1	local 2
t9	-
t3	v21
v1	

e1 CAT

1st diam

2nd diam

16-19

d1 D. PTERONYSSINUS

1st diam

2nd diam

m2 CLADOSPORIUM

1st diam

2nd diam

24-27

m6 ALTENARIA

1st diam

2nd diam

POSITIVE CONTROL

1st diam

2nd diam

32-35

g6 TIMOTHY GRASS

1st diam

2nd diam

"LOCAL" ALLERGEN 1

1st diam

2nd diam

40-43

"LOCAL" ALLERGEN 2

1st diam

2nd diam

t9 OLIVE

1st diam

2nd diam

48-51

NEGATIVE CONTROL

1st diam

2nd diam

t3 BIRCH

1st diam

2nd diam

56-59

v21 PARIETARIA

1st diam

2nd diam

v1 COMMON RAGWEED

1st diam

2nd diam

64-67

blank

Fieldworker N°



### 10.5. Anexo 5. Cuestionario de función pulmonar

Número de área					
Número personal					
Muestra					
Fecha					
	DIA	MES	AÑO		

1. Cuántas veces se ha despertado por la noche por falta de aire durante las últimas **2 semanas**?

2. Durante las últimas **2 semanas**, su respiración ha estado (MARCAR SÓLO UNA CASILLA)

- |                            |          |                          |
|----------------------------|----------|--------------------------|
| (a) peor que lo habitual?  | <b>1</b> | <input type="checkbox"/> |
| (b) igual que siempre?     | <b>2</b> | <input type="checkbox"/> |
| (c) mejor que lo habitual? | <b>3</b> | <input type="checkbox"/> |

**ANTES DE INCIAR ESTE CUESTIONARIO POR FAVOR PREGUNTE LAS SIGUIENTES CUESTIONES**

	SI	NO
¿Ha fumado algún cigarrillo durante la última <b>hora</b> ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

	SI	NO
¿Ha usado algún inhalador (spray) durante la última <b>hora</b> ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**SI 'SI' RETRASAR LAS PRUEBAS FUNCIONALES HASTA QUE TRANSCURRA UNA HORA TRAS EL ULTIMO CIGARRILLO O TRAS LA TOMA DEL INHALADOR. (ESTAS RESPUESTAS NO DEBEN SER INCLUIDAS EN LA BASE DE DATOS)**

	NO	SÍ
3. ¿Ha tenido alguna infección respiratoria <u>durante las últimas 3 semanas</u> ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**SI NO PASAR A P.5**

**SI "SI" Y EL INDIVIDUO ACEPTA A REGRESAR, PARAR Y CITAR PARA LA PROXIMA SEMANA; SI NO PASAR A P.10.1**

4. Cuántos días hace que acabó? DIAS

5. Ha usado algún inhalador en las últimas **24 horas**? NO    SÍ

**SI 'NO' PASAR A P.6, SI 'SI' :**

5.1 Qué inhalador(es) usó y cuántas horas hace que lo(s) tomó?

	DROGA	HORAS
_____	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/>
_____	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/>
_____	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/>
_____	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/>

**SI EL SUJETO HA UTILIZADO UN INHALADOR EN LAS ÚLTIMAS 4 HORAS, CONSIDERAR LAS SIGUIENTES POSIBILIDADES:**

a) **ESPERAR HASTA QUE HAYAN PASADO 4 HORAS DESDE LA ÚLTIMA UTILIZACIÓN**

b) **QUEDAR PARA OTRO DÍA**

**SI LO HACE, RECUERDE EMPEZAR CON UNA NUEVA HOJA**

6. Ha tomado alguna otra medicina (incluyendo píldoras, cápsulas o supositorios) para mejorar su respiración en la últimas 24 horas?

NO	SÍ
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

SI 'NO' PASAR A P.7, SI "SI":

6.1 Qué medicina tomó y cuántas horas hace que la(s) tomó?

	DROGA	HORAS				
_____	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>			<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>		
_____	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>			<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>		
_____	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>			<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>		
_____	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>			<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>		

**SI LA RESPUESTA A LA PREGUNTA 6.1 ES INFERIOR A 8 HORAS, CONSIDERAR LAS SIGUIENTES POSIBILIDADES:**

- a) ESPERAR HASTA QUE HAYA PASADO EL TIEMPO SUFICIENTE
- b) QUEDAR PARA OTRO DÍA

SI LO HACE, RECUERDE EMPEZAR CON UNA NUEVA HOJA

7. ¿Ha tomado algún antihistamínico o medicinas contra la tos durante el último mes?

NO	SÍ
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

SI 'NO' PASAR A P.8, SI "SI":

7.1 Qué medicina tomó y cuántas horas hace que la(s) tomó?

	DROGA	HORAS				
_____	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>			<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>		
_____	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>			<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>		
_____	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>			<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>		
_____	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>			<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table>		

8. Ha tomado alguno de los preparados de esta lista (preparados conteniendo fenotiazina o imipramina) durante el último mes

NO    SÍ

SI 'NO' PASAR A P.9, SI "SI":

8.1 Qué preparados tomó y cuántas horas hace que la(s) tomó?

	DROGA	HORAS
_____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
_____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
_____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
_____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

9. Ha tenido algún ataque del corazón en los últimos 3 meses?

NO    SÍ

10. Está actualmente tomando alguna medicina(s) para el corazón?

NO    SÍ

11. Está actualmente tomando alguna medicina(s) para la epilepsia?

NO    SÍ

12. Está actualmente tomando algún beta-bloqueador Incluyendo gotas para los ojos?

NO    SÍ

SI 'SI' A ALGUNA DE LAS PREGUNTAS 9-12 PROCEDA CON LA ESPIROMETRIA BASAL UNICAMENTE Y, NO HAGA LA PRUEBA DE BRONCOPROVOCACION.

**Solo para mujeres :**

13. Está embarazada?

NO    SÍ

14. Está dando al pecho?

NO    SÍ



SI 'SI' A ALGUNA DE LAS PREGUNTAS 13 o 14 PROCEDA CON LA ESPIROMETRIA BASAL UNICAMENTE Y, NO HAGA LA PRUEBA DE BRONCOPROVOCACION.

NO    SÍ

15.    Quiere que informemos a su médico de cabecera de los resultados de sus pruebas ?

FIN

NUMERO DEL ENTREVISTADOR



## 10.6. Anexo 6. Protocolo de Función Pulmonar

### Criterios de realización

#### Espirometría basal

Los criterios utilizados para la realización de la espirometría basal fueron los siguientes:

El objeto de la espirometría basal es registrar el Volumen Espirado Máximo en el primer segundo (VEMS) y la Capacidad Vital Forzada (FVC) para cada sujeto que asiste al centro.

Criterios de inclusión:

- Cualquier sujeto capaz de asistir al centro.

Criterios de exclusión:

- Si el sujeto fuma: Deberá realizarse la prueba de función pulmonar al menos una hora después de fumar el último cigarrillo.
- Si el sujeto ha utilizado un inhalador: Deberá realizarse la prueba de función pulmonar al menos una hora después del uso de cualquier inhalador.
- Si el sujeto ha utilizado un inhalador que no sea un beta-2-agonista o un inhalador anticolinérgico durante las últimas 1-4 horas: Se lleva a cabo la prueba de función pulmonar y se registran los datos.
- Si el sujeto ha utilizado un inhalador que contiene un beta-2-agonista de larga duración en las últimas 8 horas: Si el sujeto está dispuesto a volver en otra ocasión cuando no haya tomado el beta-2-agonista de larga duración, deberá concertarse otra cita. NO OBSTANTE: esto puede resultarle difícil, en cuyo caso deberá procederse a realizar la prueba y registrar la medicación utilizada.

- Si el sujeto ha utilizado un inhalador que es un beta-2-agonista o un inhalador anticolinérgico durante las últimas 1-4 horas: Si el sujeto está dispuesto a volver en otra ocasión para realizar la prueba de función pulmonar, deberá concertarse otra cita. Si el sujeto no puede o se muestra reticente a volver en otro momento, deberá procederse a realizar la prueba y registrar la medicación utilizada.
- Si el sujeto ha tomado un beta-2-agonista por vía oral o una teofilina o un antimuscarínico por vía oral dentro de las últimas ocho horas: Si el sujeto está dispuesto a volver en otra ocasión para realizar la prueba de función pulmonar, deberá concertarse otra cita. Si el sujeto no puede o se muestra reticente a volver en otro momento, deberá procederse a realizar la prueba y registrar la medicación utilizada.
- Si el sujeto ha tenido una infección de las vías respiratorias en las últimas tres semanas: Deberá concertarse otra cita a menos que el sujeto no esté dispuesto a regresar, en cuyo caso deberá procederse con la prueba. Deberá registrarse el número de días transcurridos desde el final de la infección respiratoria.
- Si después de un total de nueve intentos el sujeto es incapaz de producir una maniobra técnicamente satisfactoria, no se registrará ni el VEMS ni la FVC.

#### Valores de referencia del VEMS

Para los adultos, los valores de referencia del VEMS deberán calcularse mediante las siguientes ecuaciones:

Hombres:  $4,30 A - 0,029 E - 2,49$

Mujeres:  $3.95 A - 0,025 E - 2,60$

siendo:

A = altura en metros

E = edad en años (rango 25-44).

Estas ecuaciones son válidas solamente para sujetos mayores de 25 años de edad. En el caso de sujetos con edades comprendidas entre los 20 y 24 años, el VEMS previsto deberá calcularse como si su edad fuera de 25 años.

### **Prueba de provocación bronquial con metacolina**

El objetivo de la prueba de broncoprovocación con metacolina es que los sujetos inhalen concentraciones cada vez mayores de soluciones de metacolina y controlar cualquier cambio en el VEMS mediante pruebas espirométricas.

Calcularemos la dosis acumulada de metacolina que se requiere para producir una caída del 20% del VEMS (Posdiluyente) desde el nivel basal ( $PD_{20}$ ).

Criterios de aceptación:

Se acepta cualquier sujeto que cumple los tres criterios siguientes:

- ha podido realizar al menos 2 maniobras técnicamente satisfactorias durante la espirometría basal.
- ha firmado un impreso de autorización para la prueba de broncoprovocación con metacolina.
- no se encuentre entre las categorías de exclusión (ver más abajo).

Criterios de exclusión:

Se excluye de la prueba de estímulo con metacolina cualquier sujeto que cumpla cualquiera de los siguientes criterios:

- ha padecido un ataque cardíaco en los últimos tres meses.
- padece cualquier enfermedad coronaria por la que se está medicando.
- padece epilepsia por la que se está medicando.
- está embarazada.

- está en fase de lactancia.
- está tomando un betabloqueante por cualquier motivo (incluyendo colirios).

Estos criterios se valorarán mediante el Cuestionario de Función Pulmonar.

Además, se excluye cualquier sujeto que cumpla cualquiera de los siguientes criterios:

- tiene un VEMS de menos del 70% del valor previsto.
- tiene un VEMS inferior a 1,5 litros.

VEMS es el máximo valorado durante la espirometría de línea basal.

### **Prueba de broncodilatación**

Los valores de VEMS y FVC se medirán tras la administración de 400µg de salbutamol mediante inhalador de dosificación medida (MDI) vía cámara espaciadora Volumatic®.

Criterios de aceptación:

Se acepta cualquier sujeto que cumpla todos los criterios siguientes:

- ha producido maniobras VEMS y FVC técnicamente satisfactorias.
- se niega a someterse o queda excluido de la prueba de estímulo con metacolina.
- ha firmado un impreso de autorización para la prueba de estímulo con broncodilatador.
- no ha sido excluido a causa de los siguientes criterios de exclusión.

**Criterios de exclusión:**

Se excluye cualquier sujeto que cumpla cualquiera de los siguientes criterios:

- ha padecido un ataque cardíaco en los últimos tres meses.
- padece cualquier enfermedad coronaria por la que se está medicando.
- padece epilepsia por la que se está medicando.
- está embarazada.
- está en fase de lactancia.
- está tomando un betabloqueante por cualquier motivo (incluyendo colirios).

**Programación de la cita para la prueba**

Lo ideal es realizar la prueba de función pulmonar:

- más de cuatro horas después del uso del inhalador con beta-2-agonistas o anticolinérgicos.
- más de ocho horas después de inhalar beta-2-agonistas de larga duración, beta-2-agonista por vía oral o teofilina o antimuscarínico por vía oral.

Al programar la cita para la prueba de función pulmonar, el trabajador de campo deberá determinar si el sujeto está tomando cualquiera de las siguientes medicaciones:

- inhalador beta-2-agonista (de corta o de larga duración),
- inhalador anticolinérgico,
- beta-2-agonista oral,
- teofilina oral,
- antimuscarínico oral.

Si el sujeto está tomando cualquiera de estas medicaciones (o cualquier otro inhalador) deberá concertarse una cita de modo que interfiera lo menos posible con el horario de dosificación normal del sujeto.

Una forma sencilla de asegurar el cumplimiento de estas instrucciones es:

- Evitar citas a primera hora de la mañana para los sujetos que usan inhaladores.
- Concertar una hora y luego pedir al sujeto que tome la última dosis por inhalación y medicación oral cuatro y ocho horas, respectivamente, antes de la prueba. Pedir que eviten tomar el beta-2-agonista de larga duración si es posible.

El trabajador de campo deberá asegurar que el sujeto no ha padecido ninguna infección de las vías respiratorias durante las tres semanas anteriores a la prueba, y deberá advertir que el sujeto no fume durante una hora antes de acudir al centro de pruebas. Se recomienda enviar al sujeto una carta explicando estos extremos.

### **Sujetos que no han seguido las pautas**

Los que hayan fumado un cigarrillo durante la hora anterior a la prueba deberán esperar a hacer la prueba hasta que haya transcurrido una hora (la mayoría de los sujetos estarán en el centro durante al menos una hora).

Los que hayan administrado medicamento por inhalador en las últimas cuatro horas o por vía oral (o beta-2-agonista de larga duración) en las últimas ocho horas pueden incluirse dentro de una o más de las categorías siguientes:

- No entendió las instrucciones.



- Olvidó las instrucciones.
- No hizo caso de las instrucciones.
- Puede tener síntomas demasiado severos como para seguir las instrucciones.

Las pruebas de función pulmonar podrán todavía llevarse a cabo a menos que se excluya al sujeto por otros motivos, apuntando los medicamentos de uso reciente en el Cuestionario de Función Pulmonar.

### **Maniobra de espirometría forzada**

Todas las maniobras de espiración forzada se realizarán:

- Con el sujeto sentado.
- Con pinza en la nariz.
- Utilizando una boquilla de plástico o cartón sin refuerzo para los dientes.
- Las prendas de vestir apretadas deben soltarse.

En este protocolo se emplearán dos tipos de maniobras de espiración forzada:

- Durante la espirometría basal y la prueba broncodilatadora, se medirá la FVC y todos los sujetos deberán realizar la espiración completa.
- Durante la prueba de broncoprovocación con metacolina, sólo hace falta registrar el VEMS y el técnico puede interrumpir la exhalación cuando se haya alcanzado.  
(Recomendación de registrar 3 segundos)

Las maniobras técnicamente insatisfactorias (VEMS o FVC) se definen como:

- Inicio insatisfactorio de la espiración, caracterizado por una excesiva vacilación o falso inicio.
- Tos durante el primer segundo de la maniobra, afectando así el valor VEMS medido, o cualquier arrebato de tos que interfiera con la medición exacta de la FVC.
- Maniobra de Valsalva (cierre de glotis).
- Una fuga en el sistema o alrededor de la boquilla.
- Obstrucción de la boquilla, por ejemplo, con la lengua.

Las maniobras con estas deficiencias son técnicamente insatisfactorias y rechazadas como intentos fallidos.

Criterios de cumplimiento deficiente:

- Variación superior al 5% del VEMS entre los diversos intentos
- Volumen extrapolado de FVC superior a 150 ml o 5%.
- Flujo máximo de espiración inferior a 85% del mejor registrado.
- Tiempo de espiración inferior a seis segundos.

En caso de observar estos extremos, los técnicos deberán alentar al sujeto a producir una mejor maniobra, pero no deben excluirse estos como intentos fallidos basándose exclusivamente en estos criterios.

Sólo debe rechazarse una maniobra por ser un intento fallido si resulta 'técnicamente insatisfactoria'. No deberán rechazarse las maniobras que sólo presenten signos de 'cumplimiento deficiente'.

### **Instrucciones para los sujetos**

Algunos de los sujetos nunca habrán realizado ninguna prueba de la función pulmonar, mientras que a otros les resultarán muy familiares.

Los técnicos deberán explicar al sujeto que el objetivo de la prueba es el de descubrir cuánto aire puede ser espirado de los pulmones y la fuerza con la que se puede espirar.

Se puede realizar pidiendo al sujeto que siga los pasos que se describen a continuación:

- Inspirar lo máximo posible para llenar los pulmones.
- Colocar la boquilla en la boca.
- Apretar los labios con fuerza alrededor de la boquilla.
- Soplar con fuerza por la boquilla hacia el espirómetro, expulsando el aire tan fuerte, rápida y plenamente como le sea posible.

El sujeto deberá continuar expulsando activamente el aire el máximo tiempo posible (maniobra FVC) o hasta que el técnico le diga que pare (maniobra VEMS). Durante este tiempo el técnico debe alentar al sujeto a que siga empujando para sacar más aire.

### **Espirometría basal**

- Asegurar que se produzcan las condiciones adecuadas para realizar las pruebas de función pulmonar.
- Demostrar la maniobra a todos los sujetos al menos una vez (en más ocasiones si el sujeto parece tener dudas).
- Pedir al sujeto que realice cinco maniobras FVC.
- Registrar el VEMS y la FVC y el *Peak Flow* (Pico de flujo espiratorio, en litros por segundo) de al menos dos de las cinco maniobras técnicamente satisfactorias.
- Si el sujeto no ha conseguido producir dos maniobras técnicamente satisfactorias después de cinco intentos, el técnico deberá mostrarle otra vez cómo realizar la maniobra y permitir que hagan cuatro intentos más.

- A cualquier sujeto que no sea capaz de producir dos maniobras técnicamente satisfactorias después de nueve intentos ya no se le deben realizar más pruebas y no deben registrarse los datos de VEMS / FVC.
- El número de intentos rechazados deberá registrarse según proceda en la Hoja de Recogida de Datos de Función Pulmonar.

### **Prueba de provocación bronquial con metacolina**

Durante la prueba con metacolina es posible que el sujeto tenga que realizar 30 maniobras de espiración o más, y para minimizar el cansancio la espiración forzada deberá abandonarse cada vez después de un segundo cuando haya sido registrado el VEMS.

- Deberán realizarse hasta cinco intentos para registrar un VEMS dos minutos después de inhalar del dosímetro.
- En cuanto se hayan realizado dos maniobras técnicamente satisfactorias, los valores correspondientes a éstas deberán registrarse. La próxima dosis se dará lo antes posible después de finalizar estas mediciones.
- Deberá abandonarse la realización de pruebas adicionales si el sujeto no es capaz de producir dos maniobras técnicamente satisfactorias en cinco intentos.

Si es preciso revertir la broncoconstricción, el procedimiento será el mismo que para la prueba con broncodilatador.

### **Prueba de broncodilatación**

A los sujetos que no realizaron la prueba de broncoprovocación con metacolina se les someterá a la prueba de estímulo con broncodilatador. A cualquier sujeto que registre una caída superior al 10% en VEMS desde la espirometría basal durante la prueba de metacolina se le deberá revertir la broncoconstricción

al final de la prueba y antes de abandonar el centro, empleando el mismo método.

Agitar el inhalador de salbutamol e insertarlo en la cámara espaciadora "Volumatic®". Activar una pulsación y pedir que el sujeto coloque los labios alrededor del Volumatic y que inspire y expire cinco veces. Activar otra vez el inhalador de salbutamol y realizar cinco inhalaciones / exhalaciones. El proceso deberá repetirse dos veces o más para que se administre un total de 400 microgramos de salbutamol. Los sujetos con historial de asma que estén familiarizados con el uso del Volumatic pueden autoadministrarse las dosis.

El VEMS y la FVC se miden 10 minutos después de la administración del broncodilatador. Durante la prueba de broncodilatación se emplearán maniobras de FVC completas. Pueden realizarse hasta nueve intentos para obtener dos registros técnicamente satisfactorios después de la inhalación del broncodilatador.

## **Soluciones de metacolina**

### **Provisión y suministro**

La metacolina (Provocholine) será suministrada por Hoffman La Roche en viales de 5 ml que contienen 100 mg de cloruro de metacolina en polvo.

### **Diluyente**

Se puede utilizar como diluyente una solución salina con tampón de fosfato para obtener pH fisiológico. No debe utilizarse el fenol como conservante debido a cuestiones acerca de su seguridad. Tampoco debe utilizarse el tampón de ácido cítrico / citrato. Deben evitarse los conservantes. Puede usarse la siguiente

fórmula para obtener diluyente fisiológico de metacolina con rango de pH de 7,2 a 7,4:

- 1000 ml salino normal (0,9 % NaCl)
- 3 ml solución fosfato sódico neutro

### Preparación de las soluciones de metacolina

Donde sea posible, se aconseja que las soluciones de metacolina sean preparadas por un farmacéutico, en condiciones asépticas o estériles. Si no, seguiremos el siguiente procedimiento para realizar las diluciones. Deben realizarse soluciones de metacolina con las siguientes dosis:

Negra	12,5	mg/ml
Roja	6,25	mg/ml
Amarilla	1,56	mg/ml
Azul	0,39	mg/ml
Verde	0,195	mg/ml

Pasos a seguir:

Nº	Acción	Concentración obtenida
1º	Añadir 4 ml de diluyente al vial que contiene 100 mg de metacolina, usando una pipeta de cristal graduada "Class A"	25 mg/ml
2º	Transferir 2 ml de la solución de 25 mg/ml a un vial con 2 ml de diluyente	12,5 mg/ml
3º	Transferir 2 ml de la solución de 25 mg/ml a un vial con 6 ml de diluyente	6,25 mg/ml
4º	Transferir 2 ml de la solución de 6,25 mg/ml a un vial con 6 ml de diluyente	1,56 mg/ml
5º	Transferir 2 ml de la solución de 1,56 mg/ml a un vial con 6 ml de diluyente	0,39 mg/ml
6º	Transferir 2 ml de la solución de 0,39 mg/ml a un vial con 2 ml de diluyente	0,195 mg/ml

Este procedimiento de dilución proporciona 0 ml de la solución de 25 mg/ml, 4 ml de la de 12,5 mg/ml, 6 ml de la de 6,25 mg/ml, 6 ml de la de 1,56 mg/ml, 6 ml de la de 0,39 mg/ml y 4 ml de la solución de 0,195 mg/ml. Escalar para obtener mayores volúmenes tantas veces como sea necesario.

En busca de una mayor precisión, debería ser usada una pipeta de vidrio "Class A" para la dilución inicial de metacolina, pero posteriormente pueden usarse pipetas Eppendorf. Todas las pipetas deben ser calibradas una vez al mes siguiendo las técnicas estándar

### **Almacenamiento y Caducidad**

Todas las soluciones deben ser mantenidas refrigeradas a 4° en contenedores sellados. Debe considerarse que las soluciones de metacolina caducan a las 6 semanas. No se deben reaprovechar los líquidos desde los nebulizadores a los contenedores, sino que se tirarán tras su uso.

### **Número de sesiones y orden durante cada sesión**

Se dice que una nueva sesión ha empezado cada vez que se llena un nebulizador con una nueva solución de metacolina. Cada sesión debe ser numerada secuencialmente. Cada sujeto dentro de cada sesión de prueba también debe ser numerado secuencialmente y debe ser registrado en la Hoja de Recogida de Datos de Función Pulmonar.

Todos los nebulizadores contendrán 3 ml de metacolina al principio de una sesión. Después de que se haya sometido la 6ª persona a la prueba, se desechará la solución de 12,5 mg/ml, se limpia y seca el nebulizador, y se añade 3 ml de solución nueva de la de 12,5 mg/ml. Se somete a la prueba de metacolina a seis sujetos más, numerándolos del 7 al 12. Después de que se haya sometido a prueba a la 12ª persona, se desechan todas las soluciones y se limpian los nebulizadores. La siguiente sesión empieza cuando se añaden nuevas soluciones. Se puede realizar una sesión de un día para el otro (es decir, realizar parte de la sesión un día y la otra parte al día siguiente), aunque sólo si se

colocan los nebulizadores con las soluciones de pie en el refrigerador, cubierto con "Parafilm®" .

### **El dosímetro MEFAR MB3**

El protocolo de la prueba de metacolina ha sido escrito asumiendo que cada inhalación suministra 0,01 ml de solución de metacolina a la boca.

Los nebulizadores Mefar están calibrados por el fabricante, pero a propósito de la exactitud de la calibración y por una posible reducción durante el período de la prueba, el flujo de los nebulizadores debe ser medido y registrado cada mes.

Cada nebulizador deberá codificarse por colores en función de la solución que contenga, del modo siguiente:

- |    |          |             |
|----|----------|-------------|
| 1) | NEGRO    | 12,5 mg/ml  |
| 2) | ROJO     | 6,25 mg/ml  |
| 3) | AMARILLO | 1,56 mg/ml  |
| 4) | AZUL     | 0,39 mg/ml  |
| 5) | VERDE    | 0,195 mg/ml |
| 6) | BLANCO   | Diluyente   |

### **Preparación del dosímetro Mefar**

Colocar 3 ml de solución de metacolina en el nebulizador adecuado. Debe usar una boquilla seca y esterilizada para cada nuevo sujeto.

El Mefar deberá establecerse en:

- tiempo de inhalación: 1 segundo
- tiempo de pausa: 6 segundos



## **Inhalación estándar**

La secuencia de inhalación es:

1. Lenta espiración hasta capacidad residual funcional.
2. Colocar labios alrededor de la boquilla formando sello hermético.
3. Lenta inspiración hasta capacidad pulmonar plena.
4. Aguantar la respiración durante al menos tres segundos.
5. Retirar la boquilla y exhalar.

El procedimiento se repite después de seis segundos, hasta realizarse las suficientes inhalaciones para la dosis en cuestión. Las inhalaciones se pueden realizar consecutivamente si así se desea. Las pruebas espirométricas se llevan a cabo dos minutos después de la dosificación. La prueba continúa con la siguiente dosis en cuanto se hayan registrado dos maniobras VEMS.

## **Fin de la sesión de pruebas**

Los restos de solución en el nebulizador deben ser desechados, y en ningún caso deben devolverse a sus recipientes. Limpiar y secar todos los nebulizadores. Limpiar, esterilizar y enjuagar las boquillas a fondo para asegurar que en la superficie no queden restos de solución esterilizadora.

## **Protocolo de metacolina**

### **Instrucciones para la espirometría basal**

Realizar maniobras FVC completas según la descripción anterior para 'espirometría basal' (la maniobra de espiración forzada). Registrar el VEMS y la FVC iniciales. Calcular el mejor VEMS inicial como porcentaje del valor de referencia.

## **Medición de control (post-diluyente) VEMS**

El VEMS de control es el VEMS medido después de inhalar el diluyente. Se administrarán cuatro inhalaciones de diluyente (nebulizador blanco) según se describe en 'inhalación estándar'.

Realizar maniobras VEMS según se describe en 'prueba de broncoprovocación con metacolina' (maniobra de espiración forzada). Registrar el VEMS de control (post-diluyente). Calcular el mejor VEMS de control como porcentaje del mejor VEMS inicial.

La prueba de broncoprovocación con metacolina no se llevará a cabo si el mejor VEMS de control es inferior al 90% del mejor VEMS inicial. Deberá invertirse la broncoconstricción mediante la administración de 400 microgramos de salbutamol vía Volumatic y deberán repetirse las maniobras FVC completas.

Si el mejor VEMS de control se sitúa a menos del 10% del mejor VEMS inicial: calcular el 80% del mejor VEMS de control y el 90% del mejor VEMS de control. Podrá realizarse ahora la prueba de broncoprovocación con metacolina después de elegir el protocolo corto o el largo.

## **Programa de dosificación**

Elección de protocolo largo o corto:

A cada sujeto se le puede someter a la metacolina siguiendo el protocolo corto o largo. El protocolo largo se incrementa mediante la duplicación de dosis y el corto, mediante su cuadruplicación. Aquellos sujetos que presentan mayor probabilidad de reacción ante la metacolina deberán ser sometidos al protocolo largo. Aquellos sujetos que son inesperadamente reactivos y a los que les ha sido asignado el protocolo corto podrán pasar al protocolo

largo durante el estímulo con el fin de evitar una broncoconstricción severa. La elección del protocolo para cada sujeto será valorada a través del Cuestionario Principal. Se pueden decidir localmente las preguntas para encaminar a los sujetos al protocolo largo, pero se recomienda hacer las siguientes:

Los sujetos que respondieron 'Sí' a la pregunta 1, 2, 3, 5, 11 o 14 del Cuestionario Principal, es decir, cualquier sujeto que:

- ha padecido sibilancias o pitos durante los últimos 12 meses (P1)
- se ha despertado con opresión de pecho durante los últimos 12 meses (P2)
- ha padecido un ataque de falta de aliento, durante el día y en reposo, durante los últimos 12 meses (P3)
- se ha despertado a causa de un ataque de falta del aire durante los últimos 12 meses (P5)
- tiene problemas de respiración (P11)
- ha padecido asma en algún momento (P14)

Dosis	Concentración (mg/ml)	Nº de inhalaciones		Dosis acumulada (mg)
		LARGO	CORTO	
1	0,195	1		0,00195
2	0,195	1	2	0,0039
3	0,39	1		0,0078
4	0,39	2	3	0,0156
5	1,56	1		0,0312
6	1,56	2	3	0,0625
7	6,25	1		0,125
8	6,25	2	3	0,25
9	12,5	2		0,5
10	12,5	4	6	1,0

### Paso del protocolo largo al corto

Si durante el protocolo corto el VEMS cae un 10% o más por debajo del mejor VEMS de control, el sujeto deberá cambiar de

protocolo y recibir el siguiente nivel de dosificación del protocolo largo.

Por ejemplo: Si un sujeto sometido al protocolo corto muestra una caída del 10% después de la Dosis 4 (cuatro inhalaciones de 0,39 mg/ml), se le deberá administrar la Dosis 5 (una inhalación de 1,56 mg/ml) a continuación.

#### **Protocolo corto:**

Pasar al protocolo largo si el VEMS cae a menos del 90% del mejor VEMS de control. Pasar al siguiente nivel de dosificación del protocolo largo.

Detener el estímulo si el VEMS cae por debajo del 80% del mejor VEMS de control.

#### **Protocolo largo:**

Detener el estímulo si VEMS cae por debajo del 80% del mejor VEMS de control.

#### **Finalización de la prueba**

La prueba con metacolina se completa al alcanzar una dosis acumulada de 2 mg de metacolina.

Se detiene con anterioridad si:

- Se produce una caída superior al 10% en el VEMS a partir del mejor VEMS de línea basal tras la inhalación del diluyente.
- Se produce una caída superior al 20% en el VEMS a partir del mejor VEMS del diluyente tras la inhalación de cualquier concentración de solución de metacolina.

- El sujeto no es capaz de realizar dos maniobras técnicamente satisfactorias en cinco intentos después de cualquier nivel de dosificación.
- El sujeto no desea proseguir.

Los sujetos pueden quejarse de una ligera tirantez de pecho, tos o respiración jadeante, pero ello no sirve como indicación para detener la prueba si la función pulmonar no muestra una caída en el VEMS del 20%.

### **Prueba broncodilatadora**

Al sujeto se le administran cuatrocientos microgramos de salbutamol vía Volumatic (ver apartado anterior sobre la prueba broncodilatadora). Realizar maniobras FVC completas por espacio de 10 minutos después de la administración según se describe en el apartado 'Prueba con metacolina'.

Registrar el VEMS y la FVC post-broncodilatador.

Calcular el mejor VEMS post-broncodilatador como porcentaje del mejor VEMS inicial.

La prueba se da por finalizada si el mejor VEMS post-broncodilatador se sitúa por encima del 90% del mejor el VEMS inicial.



## 10.7. Anexo 7. Cálculo de la PD20

El cálculo de la PD<sub>20</sub> se realizó en el programa SPSS, a partir de las variables:

- Pudos: dosis previa a una caída superior al 20% del VEMS
- Udos: dosis posterior a una caída del 20% del VEMS
- Fevcm: VEMS inicial (posdiluyente)
- Pufev: VEMS previo a una caída superior al 20% del VEMS inicial
- Ufev: VEMS posterior a una caída superior al 20% del VEMS inicial
- Stop: Motivo por el que se terminó la prueba:
  - 1 'NEGATIVA'
  - 2 'POSITIVA'
  - 3 'NO CONSIGUE 2 MANIOBRAS CORRECTAS'
  - 4 'PIDE PARAR'
  - 5 'CAIDA 10% EN DILUYENTE'
  - 6 'SOLO ESP. BASAL'.

Y operando con la siguiente sintaxis:

```
SELECT IF (STOP=2).  
COMPUTE D1 = LG10(pudos).  
VARIABLE LABELS D1 'Dosis previa a PD20' .  
FORMATS D1 (F7.4).  
EXECUTE .  
COMPUTE D2 = LG10(udos) .  
VARIABLE LABELS D2 'Dosis tras PD20' .  
FORMATS D2 (F7.4).  
EXECUTE .
```

```
COMPUTE R1 = (fevcm - pufev) / fevcm * 100 .  
VARIABLE LABELS R1 'Caída % previa a PD20' .  
FORMATS R1 (F5.2).  
EXECUTE .
```

```
COMPUTE R2 = (fevcm - ufev) / fevcm * 100 .  
VARIABLE LABELS R2 'Caída % tras PD20' .  
FORMATS R2 (F5.2).  
EXECUTE.
```

```
COMPUTE PD20m = 0.  
IF (stop = 2) PD20m = 10 ** (D1 + (D2 - D1) * (20 - R1) / (R2 - R1)) .  
VARIABLE LABELS PD20m 'PD20'.  
FORMATS PD20m (F7.4).
```

EXECUTE .

\*\*\*\*\*Extrapolación a 8  $\mu$ moles\*\*\*\*\*.

COMPUTE c10 = 0.

IF (hiper = 1) c10 = LG10(D10).

VARIABLE LABELS c10 'Log de D10' .

FORMATS c10 (F7.4).

EXECUTE .

COMPUTE c11 = LG10(8) .

VARIABLE LABELS c11 'Log dosis 8  $\mu$ mol' .

FORMATS c11 (F7.4).

EXECUTE .

COMPUTE PD20m = 0.

IF (stop = 2) PD20m = 10 \*\* (c1 + (c2 - c1) \* (20 - r1) / (r2 - r1)) .

IF (hiper = 1) PD20m = 10 \*\* (c10 + (c11 - c10) \* (20 - pf10) / (pf11 - pf10)) .

VARIABLE LABELS PD20m 'PD20 con FEV mayor' .

FORMATS PD20m (F7.4).

EXECUTE



## 10.8. Anexo 8. Cálculo de la pendiente de O'Connor

El cálculo de la pendiente de O'Connor se realizó mediante el programa SPSS, a partir de las variables siguientes:

- Udos: Última dosis administrada, por ser posterior a una caída del 20% del VEMS, o por finalización de la prueba
- Fevcm: VEMS posdiluyente
- Ufev: Último VEMS registrado, por ser inferior al 80% del inicial, o por finalización de la prueba

```
*****CONSTRUYE LOS ÍNDICES: O'Connor*****.
```

```
comp ufev=fev1m.
if (~sysmis(fev2m)) ufev=fev2m.
if (~sysmis(fev3m)) ufev=fev3m.
if (~sysmis(fev4m)) ufev=fev4m.
if (~sysmis(fev5m)) ufev=fev5m.
if (~sysmis(fev6m)) ufev=fev6m.
if (~sysmis(fev7m)) ufev=fev7m.
if (~sysmis(fev8m)) ufev=fev8m.
if (~sysmis(fev9m)) ufev=fev9m.
if (~sysmis(fev10m)) ufev=fev10m.
execute.

comp dosis=0.
if (~sysmis(fev1m)) dosis=(1 / 0.1957/2**9) .
if (~sysmis(fev2m)) dosis=(1 / 0.1957/2**8) .
if (~sysmis(fev3m)) dosis=(1 / 0.1957/2**7) .
if (~sysmis(fev4m)) dosis=(1 / 0.1957/2**6) .
if (~sysmis(fev5m)) dosis=(1 / 0.1957/2**5) .
if (~sysmis(fev6m)) dosis=(1 / 0.1957/2**4) .
if (~sysmis(fev7m)) dosis=(1 / 0.1957/2**3) .
if (~sysmis(fev8m)) dosis=(1 / 0.1957/2**2) .
if (~sysmis(fev9m)) dosis=2(1 / 0.1957/2**1) .
if (~sysmis(fev10m)) dosis=(1 / 0.1957) .
format dosis (f4.2).
execute.
var lab dosis 'Dosis en la que cae o termina la prueba (micromoles)'.
var lab ufev 'VEMS en la última dosis'.
execute.
compute pudosis=dosis/2.
format pudosis (f4.2).
execute.
```

```

comp pufev=fevcm.
if (~sysmis(fev2m) & ~sysmis(fev1m)) pufev=fev1m.
if (~sysmis(fev2m) & sysmis(fev1m)) pufev=fevcm.
if (~sysmis(fev3m) & ~sysmis(fev2m)) pufev=fev2m.
if (~sysmis(fev4m) & ~sysmis(fev3m)) pufev=fev3m.
if (~sysmis(fev4m) & sysmis(fev3m)) pufev=fev2m.
if (~sysmis(fev5m) & ~sysmis(fev4m)) pufev=fev4m.
if (~sysmis(fev6m) & ~sysmis(fev5m)) pufev=fev5m.
if (~sysmis(fev6m) & sysmis(fev5m)) pufev=fev4m.
if (~sysmis(fev7m) & ~sysmis(fev6m)) pufev=fev6m.
if (~sysmis(fev8m) & ~sysmis(fev7m)) pufev=fev7m.
if (~sysmis(fev8m) & sysmis(fev7m)) pufev=fev6m.
if (~sysmis(fev9m) & ~sysmis(fev8m)) pufev=fev8m.
if (~sysmis(fev10m) & ~sysmis(fev9m)) pufev=fev9m.
if (~sysmis(fev10m) & sysmis(fev9m)) pufev=fev8m.
execute.

```

```

compute oconnor=((fevcm-ufev)/fevcm)*100/dosis+1.9.
var lab oconnor "Pendiente de O'Connor".
compute loconnor= lg10(oconnor).
var lab loconnor "Pendiente de O'Connor (logarítmica)".
format loconnor (f4.2).
execute.

```

## 10.9. Anexo 9. Cálculo de la pendiente mediante regresión lineal

\*\*\*\*\*CONSTRUYE LOS ÍNDICES: PENDIENTE REGRESIÓN.\*\*\*\*\*.

USE ALL.

SELECT IF( ~ MISSING(alt) & stop < 3).

EXECUTE .

WRITE OUTFILE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\ADULTOS\Datos\Datos del estado\pendien.dat'

/1 ID 1-7 FP0 9-16 (4) D0 18-25 (4)

/2 ID 1-7 FP1 9-16 (4) D1 18-25 (4)

/3 ID 1-7 FP2 9-16 (4) D2 18-25 (4)

/4 ID 1-7 FP3 9-16 (4) D3 18-25 (4)

/5 ID 1-7 FP4 9-16 (4) D4 18-25 (4)

/6 ID 1-7 FP5 9-16 (4) D5 18-25 (4)

/7 ID 1-7 FP6 9-16 (4) D6 18-25 (4)

/8 ID 1-7 FP7 9-16 (4) D7 18-25 (4)

/9 ID 1-7 FP8 9-16 (4) D8 18-25 (4)

/10 ID 1-7 FP9 9-16 (4) D9 18-25 (4)

/11 ID 1-7 FP10 9-16 (4) D10 18-25 (4).

EXECUTE.

DATA LIST

FILE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\ADULTOS\Datos\Datos del estado\pendien.dat' FIXED

RECORDS=1 TABLE /1 ID 1-7

fev 9-16 d 18-25 (4).

EXECUTE.

SORT CASES BY ID.

SPLIT FILE BY ID.

REGRESSION

/MISSING LISTWISE

/STATISTICS COEFF R

/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)

/NOORIGIN

/DEPENDENT fev

/METHOD=ENTER d

/OUTFILE=COVB ('C:\Mis documentos\Jose\tesis\ADULTOS\Datos\Datos del estado\pendien.sav').

SPLIT FILE OFF.

\*GET

\* FILE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\ADULTOS\Datos\Datos del estado\pendien.sav'.

\*EXECUTE .

WRITE OUTFILE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\ADULTOS\Datos\Datos del estado\pendien.dat'

/1 ID 1-7 d 9-16 (4).

EXECUTE.

DATA LIST

FILE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\ADULTOS\Datos\Datos del estado\pendien.dat' FIXED

RECORDS=6

TABLE /1 ID 1-7 COV 9-16 (4)

/2 VAR 9-16 (4)

/3 B 9-16 (4)

/4 EEB 9-16 (4)

/5 SIGB 9-16 (4)

/6 DFE 9-16 (4).

EXECUTE.

SAVE OUTFILE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\ADULTOS\Datos\Datos del estado\pendien.sav'

/COMPRESSED.

EXECUTE.

GET

FILE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\ADULTOS\Datos\Datos del estado\función'+  
' pulmonarestado.sav'.

EXECUTE .

MATCH FILES /FILE=\*

/TABLE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\ADULTOS\Datos\Datos del'+  
' estado\pendien.sav'

/RENAME (cov dfe var = d11 d12 d13)

/BY id

/DROP= d11 d12 d13.

EXECUTE.

## 10.10. Anexo 10. Cálculo del área bajo la curva

El cálculo del área bajo la curva se realizó con el programa SPSS, con la siguiente sintaxis:

```
*****  
***** Cálculo del área bajo la curva a partir de pendiente.sav*****  
*Como la dosis se calcula en unidades del SI, en µmoles, dividiendo la dosis *acumulada en  
mg por la constante 0,001957 (µmoles/mg), al final la superficie se *corrige dividiéndola a su  
vez por 1/0,00195 = 5.10986203372509  
*****
```

RECODE

fevcm fev1m fev2m fev3m fev4m fev5m fev6m fev7m fev8m fev9m fev10m (0=SYSMIS) .

EXECUTE .

COMPUTE D0=0.

COMPUTE D1 = 0.00195 / 0.1957 .

VARIABLE LABELS D1 'Dosis 1 metacolina' .

COMPUTE D2 = 0.0039 / 0.1957 .

VARIABLE LABELS D2 'Dosis 2 metacolina' .

COMPUTE D3 = 0.0078 / 0.1957.

VARIABLE LABELS D3 'Dosis 3 metacolina' .

COMPUTE D4 = 0.0156 / 0.1957.

VARIABLE LABELS D4 'Dosis 4 metacolina' .

COMPUTE D5 = 0.0312 / 0.1957 .

VARIABLE LABELS D5 'Dosis 5 metacolina' .

COMPUTE D6 = 0.0625 / 0.1957 .

VARIABLE LABELS D6 'Dosis 6 metacolina' .

COMPUTE D7 = 0.125 / 0.1957 .

VARIABLE LABELS D7 'Dosis 7 metacolina' .

COMPUTE D8 = 0.25 / 0.1957.

VARIABLE LABELS D8 'Dosis 8 metacolina' .

COMPUTE D9 = 0.5 / 0.1957 .

VARIABLE LABELS D9 'Dosis 9 metacolina' .

COMPUTE D10= 1 / 0.1957.

VARIABLE LABELS D10 'Dosis 10 metacolina' .

COMPUTE FP0=100.

COMPUTE FP1=(fev1M - fevCM) / fevCM \* 100+100.

COMPUTE FP2=(fev2M - fevCM) / fevCM \* 100+100.

COMPUTE FP3=(fev3M - fevCM) / fevCM \* 100+100.

COMPUTE FP4=(fev4M - fevCM) / fevCM \* 100+100.

COMPUTE FP5=(fev5M - fevCM) / fevCM \* 100+100.

COMPUTE FP6=(fev6M - fevCM) / fevCM \* 100+100.

```

COMPUTE FP7= (fev7M - fevCM) / fevcM * 100+100.
COMPUTE FP8= (fev8M - fevCM) / fevcM * 100+100.
COMPUTE FP9= (fev9M - fevCM) / fevcM * 100+100.
COMPUTE FP10= (fev10M - fevCM) / fevcM * 100+100.
FORMAT FP0 TO FP10 (F8.4).
VARIABLE LABELS FP0 'FEV INICIAL (100%)'.
VARIABLE LABELS FP1 'Caída % en 1ª dosis'.
VARIABLE LABELS FP2 'Caída % en 2ª dosis'.
VARIABLE LABELS FP3 'Caída % en 3ª dosis'.
VARIABLE LABELS FP4 'Caída % en 4ª dosis'.
VARIABLE LABELS FP5 'Caída % en 5ª dosis'.
VARIABLE LABELS FP6 'Caída % en 6ª dosis'.
VARIABLE LABELS FP7 'Caída % en 7ª dosis'.
VARIABLE LABELS FP8 'Caída % en 8ª dosis'.
VARIABLE LABELS FP9 'Caída % en 9ª dosis'.
VARIABLE LABELS FP10 'Caída % en 10ª dosis'.
EXECUTE.
FORMAT D0 TO FP10 (F8.4).

```

```

compute f0=fp0.
compute f1=fp1.
IF (MISSING(fp1)) f1 = (fp0 + fp2) / 2 .
compute f2=fp2.
compute f3=fp3.
IF (MISSING(fp3)) f3 = (fp2 + fp4) / 2 .
compute f4=fp4.
compute f5=fp5.
IF (MISSING(fp5)) f5 = (fp4 + fp6) / 2 .
compute f6=fp6.
compute f7=fp7.
IF (MISSING(fp7)) f7 = (fp6 + fp8) / 2 .
compute f8=fp8.
compute f9=fp9.
IF (MISSING(fp9)) f9 = (fp8 + fp10) / 2 .
compute f10=fp10.
COMPUTE Área =
((d1 - d0) * (f0 + f1) / 2 +
(d2 - d1) * (f1 + f2) / 2 +
(d3 - d2) * (f2 + f3) / 2 +
(d4 - d3) * (f3 + f4) / 2 +
(d5 - d4) * (f4 + f5) / 2 +
(d6 - d5) * (f5 + f6) / 2 +
(d7 - d6) * (f6 + f7) / 2 +

```

```
(d8 - d7) * (f7 + f8) / 2 +  
(d9 - d8) * (f8 + f9) / 2 +  
(d10 - d9) * (f9 + f10) / 2)/(5.10986203372509).  
execute.
```

```
if (missing(fp10)) Área=  
((d1 - d0) * (f0 + f1) / 2 +  
(d2 - d1) * (f1 + f2) / 2 +  
(d3 - d2) * (f2 + f3) / 2 +  
(d4 - d3) * (f3 + f4) / 2 +  
(d5 - d4) * (f4 + f5) / 2 +  
(d6 - d5) * (f5 + f6) / 2 +  
(d7 - d6) * (f6 + f7) / 2 +  
(d8 - d7) * (f7 + f8) / 2 +  
(d9 - d8) * (f8 + f9) / 2 )/(5.10986203372509).  
execute.
```

```
if (missing(fp10)&missing(fp9)) Área=  
((d1 - d0) * (f0 + f1) / 2 +  
(d2 - d1) * (f1 + f2) / 2 +  
(d3 - d2) * (f2 + f3) / 2 +  
(d4 - d3) * (f3 + f4) / 2 +  
(d5 - d4) * (f4 + f5) / 2 +  
(d6 - d5) * (f5 + f6) / 2 +  
(d7 - d6) * (f6 + f7) / 2 +  
(d8 - d7) * (f7 + f8) / 2 )/(5.10986203372509).  
execute.
```

```
if (missing(fp10)&missing(fp9)&missing(fp8)) Área=  
((d1 - d0) * (f0 + f1) / 2 +  
(d2 - d1) * (f1 + f2) / 2 +  
(d3 - d2) * (f2 + f3) / 2 +  
(d4 - d3) * (f3 + f4) / 2 +  
(d5 - d4) * (f4 + f5) / 2 +  
(d6 - d5) * (f5 + f6) / 2 +  
(d7 - d6) * (f6 + f7) / 2 )/(5.10986203372509).  
execute.
```

```
if (missing(fp10)&missing(fp9)&missing(fp8)&missing(fp7)) Área=  
((d1 - d0) * (f0 + f1) / 2 +  
(d2 - d1) * (f1 + f2) / 2 +  
(d3 - d2) * (f2 + f3) / 2 +  
(d4 - d3) * (f3 + f4) / 2 +
```

```
(d5 - d4) * (f4 + f5) / 2 +  
(d6 - d5) * (f5 + f6) / 2 ) / (5.10986203372509).  
execute.
```

```
if (missing(fp10)&missing(fp9)&missing(fp8)&missing(fp7)&missing(fp6)) Área=  
((d1 - d0) * (f0 + f1) / 2 +  
(d2 - d1) * (f1 + f2) / 2 +  
(d3 - d2) * (f2 + f3) / 2 +  
(d4 - d3) * (f3 + f4) / 2 +  
(d5 - d4) * (f4 + f5) / 2 ) / (5.10986203372509).  
execute.
```

```
If (missing(fp10)&missing(fp9)&missing(fp8)&missing(fp7)&missing(fp6)&missing(fp5)) Área=  
((d1 - d0) * (f0 + f1) / 2 +  
(d2 - d1) * (f1 + f2) / 2 +  
(d3 - d2) * (f2 + f3) / 2 +  
(d4 - d3) * (f3 + f4) / 2 ) / (5.10986203372509).  
execute.  
SAVE OUTFILE='C:\doc\jose\tesis\NIÑOS\Área.sav'  
/keep ord Área /COMPRESSED.
```



## 10.11. Anexo 11. Construcción del modelo de regresión polinomial para calcular las respuestas medias ajustadas

\*\*\*\*\* COMPROBACIÓN PREVIA DE QUE EL MODELO CUADRÁTICO CONSIGUE MEJOR AJUSTE\*\*\*\*\*.

USE ALL.

COMPUTE filter\_\$=(id<5010100).

VARIABLE LABEL filter\_\$ 'id<50100100 (FILTER)'.  
'

VALUE LABELS filter\_\$ 0 'No seleccionado' 1 'Seleccionado'.  
'

FORMAT filter\_\$ (f1.0).

FILTER BY filter\_\$.

EXECUTE .

SORT CASES BY ID.

SPLIT FILE BY ID.

\* Curve Estimation.

TSET NEWVAR=NONE .

CURVEFIT /VARIABLES=fev WITH d

/CONSTANT

/MODEL=LINEAR QUADRATIC

/PLOT FIT.

split file off.

\*\*\*\*\*CONSTRUYE LA PENDIENTE REGRESIÓN POLINOMIAL (LDOSIS, LDOSIS CUADRADO)\*\*\*\*\*.

GET

FILE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\Datos\adultos\funcionestadopropia.sav'.

USE ALL.

SELECT IF( ~ MISSING(alt) & stop < 3).

EXECUTE .

COMPUTE D1 = lg10(1) .

VARIABLE LABELS D1 'Dosis 1 metacolina' .

COMPUTE D2 = lg10(2) .

VARIABLE LABELS D2 'Dosis 2 metacolina' .

COMPUTE D3 = lg10(4).

VARIABLE LABELS D3 'Dosis 3 metacolina' .

COMPUTE D4 = lg10(8).

```

VARIABLE LABELS D4 'Dosis 4 metacolina' .
COMPUTE D5 = lg10(16).
VARIABLE LABELS D5 'Dosis 5 metacolina' .
COMPUTE D6 = lg10(32) .
VARIABLE LABELS D6 'Dosis 6 metacolina' .
COMPUTE D7 = lg10(64) .
VARIABLE LABELS D7 'Dosis 7 metacolina' .
COMPUTE D8 = lg10(128).
VARIABLE LABELS D8 'Dosis 8 metacolina' .
COMPUTE D9 = lg10(256).
VARIABLE LABELS D9 'Dosis 9 metacolina' .
COMPUTE D10= lg10(511).
VARIABLE LABELS D10 'Dosis 10 metacolina' .
execute.
EXECUTE.
WRITE OUTFILE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\Datos\ADULTOS\lpendSHERRILL.dat'
/1 ID 1-7 PF1 9-16 (4) D1 18-25 (4)
/2 ID 1-7 PF2 9-16 (4) D2 18-25 (4)
/3 ID 1-7 PF3 9-16 (4) D3 18-25 (4)
/4 ID 1-7 PF4 9-16 (4) D4 18-25 (4)
/5 ID 1-7 PF5 9-16 (4) D5 18-25 (4)
/6 ID 1-7 PF6 9-16 (4) D6 18-25 (4)
/7 ID 1-7 PF7 9-16 (4) D7 18-25 (4)
/8 ID 1-7 PF8 9-16 (4) D8 18-25 (4)
/9 ID 1-7 PF9 9-16 (4) D9 18-25 (4)
/10 ID 1-7 PF10 9-16 (4) D10 18-25 (4).
EXECUTE.

DATA LIST
FILE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\Datos\ADULTOS\lpendSHERRILL.dat' FIXED
RECORDS=1 TABLE /1 ID 1-7
fev 9-16 d 18-25 (4).
EXECUTE.
COMPUTE D2=D*D.
EXECUTE.
SORT CASES BY ID.
SPLIT FILE BY ID.

REGRESSION
/MISSING PAIRWISE
/STATISTICS COEFF OUTS R ANOVA
/CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10)
/ORIGIN

```

```
/DEPENDENT fev
/METHOD=ENTER d d2
/OUTFILE=COVB('C:\Mis'+
' documentos\Jose\tesis\Datos\adultos\PENDSHERRILL.SAV') .
SPLIT FILE OFF.
```

```
GET
FILE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\Datos\ADULTOS\PENDSHERRILL.SAV'.
EXECUTE .
```

```
WRITE OUTFILE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\Datos\ADULTOS\PENDSHERRILL.DAT'
/1 ID 1-7 d 9-16 (4) d2 18-25 (4).
```

```
EXECUTE.
```

```
DATA LIST
```

```
FILE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\Datos\ADULTOS\PENDSHERRILL.DAT' FIXED
RECORDS=6
```

```
TABLE /1 ID 1-7 COV 9-16 (4)
```

```
/2 COV2 9-19 (4)
```

```
/3 B 9-16 (4) B2 18-25 (4)
```

```
/4 EEB 9-16 (4)
```

```
/5 SIGB 9-16 (4)
```

```
/6 DFE 9-16 (4).
```

```
EXECUTE.
```

```
SAVE OUTFILE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\Datos\ADULTOS\PENDSHERRILL.SAV'
KEEP ID B B2/COMPRESSED.
```

```
EXECUTE.
```

```
GET FILE ='C:\Mis documentos\Jose\tesis\Datos\ADULTOS\ADULTOS.SAV'.
EXECUTE .
```

```
MATCH FILES /FILE=*
```

```
/TABLE='C:\Mis documentos\Jose\tesis\Datos\adultos\PENDSHERRILL.SAV'
```

```
/RENAME b=bLDOS0 b2=BLDOS20
```

```
/BY id.
```

```
EXECUTE.
```

\*\*\*\*Segunda parte del análisis: Manova con los coeficientes de la dosis y dosis2\*\*\*\*\*.

MANOVA BLDOS0 BLDOS20 BY ASMA12 (1,2) with sexo edad35 fumador iger inir/Print=homogeneity /pmeans.

MANOVA BLDOS0 BLDOS20 BY P1 (1,2) with sexo edad35 fumador iger inir /Print=homogeneity /pmeans.

MANOVA BLDOS0 BLDOS20 BY ATO (1,2) with sexo edad35 fumador iger inir /Print=homogeneity /pmeans.

MANOVA BLDOS0 BLDOS20 BY P14 (1,2) with sexo edad35 fumador iger inir /Print=homogeneity /pmeans.

MANOVA BLDOS0 BLDOS20 BY PBC (1,2) with sexo edad35 fumador iger inir /Print=homogeneity /pmeans.