

R 19255

T.D.
C/105

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA, PEDIATRIA Y RADIOLOGIA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

42

156

El Jefe del Departamento de Tesis,

Sergio Cruz Granados

VALORACION DE LA RESPUESTA BRONQUIAL INESPECIFICA CON
METACOLINA EN NIÑOS Y ADOLESCENTES

Trabajo de investigación realizado por
M^a Sergia Cruz Granados para optar al
Grado de Doctor en Medicina por la
Universidad de Sevilla.

Sevilla 1993



Servicio Andaluz de Salud.
HOSPITAL UNIVERSITARIO
"VIRGEN MACARENA"
SEVILLA

JOSE CONDE HERNANDEZ, Profesor Titular de Patología General y Propedéutica Clínica del Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla y MARTIN NAVARRO MERINO, Profesor Titular de Pediatría del Departamento de Farmacología, Pediatría y Radiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla,

C E R T I F I C A N :

Que Dña MARIA SERGIA CRUZ GRANADOS, Licenciada en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo su dirección el trabajo "VALORACION DE LA RESPUESTA BRONQUIAL INESPECIFICA CON METACOLINA EN NIÑOS Y ADOLESCENTES", y que reúne todos los requisitos necesarios para ser presentado y defendido como Tesis Doctoral.

Sevilla, diecinueve de Abril de mil novecientos noventa y tres.

Prof. Jose Conde Hernández

Prof. Martín Navarro Merino

A mis padres,
porque esta Tesis Doctoral es uno de los
mejores regalos que les puedo ofrecer.

A Jose Diego, por su amor.

AGRADECIMIENTOS

Al Profesor D. Jose Conde Hernández, mi maestro desde los años en que inicié la Residencia, porque gracias a su apoyo constante e inestimables consejos ha contribuido a hacer realidad este deseo.

Al Profesor D. Martín Navarro Merino, por su estímulo, orientación y por haber puesto a mi alcance todos los medios necesarios para el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

A todo el Servicio de Alergia del Hospital Universitario Virgen Macarena, y en especial al Dr. Delgado, a la Dra Gonzalo, a la Dra Navarro, a la Dra Gómez y a la Dra Alvarado.

A todo el Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Virgen Macarena, y en especial a la Dra Pérez.

A mi familia y a mis amigos, que me han animado en todo momento.

A todos los pacientes asmáticos y niños sanos que aceptaron participar en este estudio, por su valiosa colaboración, gracias a la cual pudo llevarse a cabo este trabajo.

INDICE

I.- INTRODUCCION	1
1.- ASMA	2
1.1.- CONCEPTO. DIAGNOSTICO	2
1.2.- PREVALENCIA	10
2.- HIPERREACTIVIDAD BRONQUIAL (HB)	13
2.1.- RECUERDO HISTORICO	13
2.2.- CONCEPTO	15
2.3.- MECANISMOS	20
2.3.1.- Disminución del calibre basal de las vías aéreas	20
2.3.2.- Cambios en el músculo liso del árbol bronquial	22
2.3.3.- Alteraciones en el control autonómico de las vías aéreas	23
2.3.4.- Alteración en la regulación de la con- centración intracelular de calcio	31
2.3.5.- Inflamación de las vías aéreas y lesión del epitelio bronquial	33
2.4.- HB E INFECCION VIRAL	50
3.- METODOS DE EVALUACION DE LA HB. TESTS DE PROVOCA- CION BRONQUIAL (TPB)	55
3.1.- CONCEPTO	55
3.2.- TIPOS DE TPB: ESPECIFICOS E INESPECIFICOS ..	55
3.3.- ESTIMULOS BRONCOCONSTRICTORES INESPECIFICOS..	56
3.4.- NORMAS DE ESTANDARIZACION	65

3.5.- METODOS DE PROVOCACION	67
3.5.1.- Generación y administración del aerosol..	67
3.5.2.- Nebulizadores. Gasto y tamaño de las partículas	68
3.5.3.- Patrón respiratorio. Protocolos de PB. Comparación de protocolos	72
3.6.- PRUEBAS DE FUNCION PULMONAR	78
3.7.- MEDIDA DE LA RESPUESTA. EXPRESION Y ANALISIS DE LOS RESULTADOS	82
3.8.- FACTORES QUE ALTERAN LA RESPUESTA	86
3.9.- SENSIBILIDAD. ESPECIFICIDAD. PUNTOS DE CORTE.	93
3.10.- REPRODUCTIBILIDAD	97
3.11.- COMPARACION ENTRE TPB INESPECIFICOS	99
3.12.- PRECAUCIONES Y CONTRAINDICACIONES	102
3.13.- INDICACIONES	103
4.- ENFERMEDADES QUE CURSAN CON HB	106
5.- HB EN SUJETOS SANOS	107
II.- PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS	110
III.- MATERIAL Y METODOS	114
1.- PACIENTES ASMATICOS	115
1.1.- ORIGEN DE LOS PACIENTES	115
1.2.- CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION	115
2.- SUJETOS SANOS	116
2.1.- ORIGEN DE LA MUESTRA	116
2.2.- CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION	117

3.- METODOS	118
3.1.- CUESTIONARIO CLINICO	118
3.2.- TPB CON METACOLINA	120
3.2.1.- UTILLAJE	120
3.2.2.- METODOLOGIA	121
4.- METODOLOGIA ESTADISTICA	132
IV.- RESULTADOS	134
1.- CARACTERISTICAS DE LAS MUESTRAS	135
2.- CUESTIONARIO CLINICO	135
3.- FUNCION PULMONAR EN SITUACION BASAL	137
4.- SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA PB CON METACO-	
LINA. PUNTO DE CORTE PARA LA PC ₂₀	138
5.- INFLUENCIA DE LA EDAD Y EL SEXO EN LA RESPUESTA	
A LA METACOLINA	140
6.- REPRODUCTIBILIDAD DE LA PB CON METACOLINA	142
7.- CALIBRE BASAL Y RESPUESTA A LA METACOLINA	142
8.- SEVERIDAD DEL ASMA E HB	143
V.- TABLAS Y FIGURAS DE LOS RESULTADOS	145
VI.- DISCUSION	179
1.- JUSTIFICACION DEL METODO	180
2.- SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA PB CON METACO-	
LINA. PUNTO DE CORTE PARA LA PC ₂₀ . INFLUENCIA DE	
LA EDAD Y EL SEXO	182

3.- REPRODUCTIBILIDAD DE LA PB CON METACOLINA	193
4.- CALIBRE BASAL Y RESPUESTA A LA METACOLINA	196
5.- SEVERIDAD DEL ASMA E HB	199
VII.- CONCLUSIONES	204
VIII.- RESUMEN	208
IX.- BIBLIOGRAFIA	213

I .- INTRODUCCION

1.- ASMA

1.1.- CONCEPTO. DIAGNOSTICO.

El asma es una de las enfermedades clásicas descritas por Hipócrates hace unos 2000 años, y a pesar de ello, aún siguen siendo en la actualidad sus mecanismos etiopatogénicos, motivo de numerosos trabajos de investigación. Más que una enfermedad o entidad nosológica en el sentido estricto del término, en la que se puedan establecer unas causas concretas, unas alteraciones funcionales y unas lesiones en los tejidos perfectamente identificadas, el asma es un síndrome complejo, caracterizado por la diversidad de su sintomatología, de su patogénesis y, presumiblemente también de su etiología. Sus manifestaciones clínicas van a ser consecuencia de una respuesta broncoconstrictora exagerada de las vías aéreas ante diferentes estímulos. Se dice, por tanto, que las vías aéreas de los pacientes asmáticos son hiperreactivas.

El conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos del asma, ha cambiado drásticamente en el transcurso de los últimos veinticinco años, si bien antes se consideraba el asma como una enfermedad de la musculatura lisa de las vías aéreas, posiblemente condicionada por un desequilibrio en el control neurovegetativo, actualmente se le concede una importancia primordial a los procesos inflamatorios que a través de diferentes mecanismos, en parte aún poco

conocidos, conducen a una Hiperreactividad de las vías aéreas y a un deterioro de la función pulmonar. En consecuencia, también ha cambiado el enfoque terapéutico actual; se ha abandonado por completo la administración aislada de broncodilatadores como tratamiento a largo plazo, ya que éstos no ejercen ninguna influencia sobre los procesos que constituyen la base de la enfermedad, pretendiendo un tratamiento profiláctico, como es, evitar la exposición a irritantes específicos e inespecíficos, y administrar fármacos que reduzcan la Hiperreactividad bronquial (HB)¹.

Tradicionalmente el diagnóstico y el tratamiento del asma se han basado en la historia clínica y la exploración física, pero no podemos olvidar que la expresión clínica del asma es muy variable, y este "polimorfismo clínico" motivará a menudo dificultades diagnósticas, sobre todo en la población pediátrica². De la misma forma que "no todo lo que pita es asma", "no todo lo que es asma pita necesariamente". Aunque su manifestación más típica sea en forma de episodios de dificultad respiratoria y sibilancias, a veces una tos aislada, episódica o persistente, sin sibilancias asociadas, puede ser la única expresión del asma³⁻⁵. El diagnóstico en estos casos es difícil en base sólo a la historia clínica y exploración física, e incluso apoyado en una exploración funcional respiratoria, ya que ésta puede ser normal. La demostración de la existencia de una hiperreactividad de

las vías aéreas, mediante una Provocación bronquial inhalatoria con agentes colinérgicos, tales como: Histamina o Metacolina, ha sido útil en estos pacientes⁶, permitiendo hacer un diagnóstico correcto y ofrecerles un tratamiento específico adecuado.

La Hiperreactividad bronquial (HB) está presente y se puede demostrar en prácticamente la totalidad de los pacientes asmáticos sintomáticos y en un alto porcentaje de asmáticos estabilizados, que tuvieron síntomas en un pasado; de tal manera, que algunos autores⁷, han llegado a afirmar que la medida de la HB resulta más valiosa para el diagnóstico que los datos referentes a la historia clínica o los hallazgos de la exploración física; e, incluso, Woolcock⁸ sugiere, que puesto que la HB es tan característica del sujeto asmático, su estudio es tan esencial para el diagnóstico y tratamiento del asma como la prueba de la tolerancia a la glucosa lo es para la diabetes.

Desde su introducción en la clínica a mediados de los años sesenta⁹⁻¹¹, las pruebas de provocación bronquial inhalatorias se han convertido, a lo largo de la última década, en una técnica muy extendida, tanto con fines diagnósticos como de investigación¹².

Una de las indicaciones clínicas más importantes, es la identificación de un asma atípico u oculto, que se

presenta como tos^{3.4.13.14}, con o sin disnea, y con unas pruebas funcionales respiratorias normales; por ello, Myers et al¹⁵ han propuesto que en los pacientes con síntomas respiratorios inexplicados, se considere la provocación inhalatoria con metacolina antes de llevar a cabo procedimientos diagnósticos más agresivos. En base a la gran utilidad de la Provocación bronquial con metacolina, en el diagnóstico y control evolutivo de los pacientes asmáticos, el Comité Americano de la Asociación Médica para Trabajos Científicos la ha considerado como un test fisiológico con utilidad clínica¹⁶.

La medida de la respuesta de las vías aéreas a estímulos de diversa naturaleza, físicos, químicos y farmacológicos, nos ha ayudado al reconocimiento de una alteración básica en el asma, estrechamente ligada a la sintomatología. Clínicamente, la Hiperreactividad de las vías aéreas se va a expresar mediante una variación diurna excesiva en el calibre de las vías aéreas, que va a dar lugar a síntomas nocturnos y matutinos, episodios de broncoconstricción provocados por factores ambientales (frío, humedad, polución atmosférica), y asma inducido por ejercicio.

Aunque la presencia de hiperreactividad de las vías aéreas se puede poner de manifiesto demostrando un cierto grado de reversibilidad de la obstrucción bronquial, tras la administración de drogas broncodilatadoras^{17.18}, o

recogiendo las grandes variaciones diarias en el calibre de las vías aéreas con un medidor del pico de flujo espiratorio (PEFR)^{18,19}, también, un gran número de pacientes con obstrucción crónica al flujo aéreo, experimentan una variación significativa en su grado de obstrucción bronquial con la medicación broncodilatadora²⁰. Pero, a pesar de ser el test broncodilatador fácil de realizar, no peligroso para el paciente y, para algunos²¹, muy específico (prácticamente no da lugar a falsos positivos); su sensibilidad, en cambio, es baja en relación a los tests de provocación, y además, no se ha podido precisar una cifra mínima de variabilidad que establezca con seguridad el diagnóstico de asma bronquial. Por todo ello, la mayoría de autores conceden un mayor valor a las pruebas de provocación.

Es importante resaltar, que aunque más del 80% de los sujetos con historia de asma en el pasado y el 98-100% de los asmáticos con síntomas actuales, tienen incrementada la reactividad de las vías aéreas^{9,22-24}, esta hiperrespuesta no es un hallazgo exclusivo del asma, y por tanto, no puede considerarse como patognomónica de los pacientes asmáticos.

Se ha demostrado una hiperreactividad en otras enfermedades (bronquitis crónica, enfisema, sarcoidosis, etc), aunque es en el asma donde representa un hallazgo cardinal, y donde existe una más estrecha correlación entre

el grado de respuesta y la gravedad del asma^{10,24}, necesidades terapéuticas del paciente^{25,26} y las variaciones diurnas de la función ventilatoria¹⁰.

También se ha comprobado la existencia de HB en familiares de pacientes asmáticos y en personas sanas sin antecedentes familiares de asma^{23,24,27,28}, aunque éstos suelen responder a concentraciones más altas que los pacientes asmáticos, y la máxima constricción alcanzada puede ser mucho menor²⁹; es decir, la diferencia entre vías aéreas asmáticas y no asmáticas, no consiste simplemente en la presencia o ausencia de broncoconstricción, sino más bien en la potencia del estímulo requerido para producirla, por lo que es necesario establecer una delimitación entre Provocación positiva/Provocación negativa, o lo que es lo mismo, Asmático/Sano. Sabemos que no existe una dosis absoluta de fármaco broncoconstrictor, a la cual, todos los asmáticos respondan, y los no asmáticos no respondan³⁰; ya que estudios realizados en grandes grupos de población, han demostrado que como la mayoría de los procesos biológicos, la HB tiene una distribución unimodal³¹.

Comparando una población adulta de asmáticos sintomáticos con otra de sujetos sanos²⁴, se ha delimitado una escala de hiperreactividad que, al parecer, ha logrado una buena diferenciación entre ambos grupos^{32,33}. Los trabajos publicados sobre HB en niños, consideran como límite de positividad el mismo que en adultos; pero,

recientemente, algunos autores³⁴ han planteado que el punto de corte en una población infantil podría ser diferente. En nuestro país, no disponemos de ningún trabajo que haga referencia a este tema, y a nivel internacional la mayoría de los trabajos publicados sobre HB, es en adultos³⁵, a pesar de que la provocación bronquial con metacolina es útil para determinar el grado de reactividad o excitabilidad de las vías aéreas en personas de cualquier edad³⁶. Son muy escasos los datos sobre reproductibilidad del test en niños³⁷ y, fundamentalmente, sobre sensibilidad y especificidad de la provocación bronquial con metacolina³⁸.

A pesar de la mayor facilidad para el diagnóstico del asma y de su elevada morbilidad, tanto en adultos como en niños, sigue siendo infradiagnosticado e infratratado^{39,40}.

La dificultad en su diagnóstico, en parte, puede tener su origen en las diferencias en cuanto a la terminología empleada y en el miedo a utilizar la palabra "asma", ya que ésta sugiere inmediatamente la clásica crisis de broncoconstricción con toda la angustia y respuesta emotiva asociada a este cuadro; como consecuencia de esto, algunos médicos se han resistido a utilizar el término asma, por miedo a transmitir una perspectiva demasiado pesimista a los padres y al propio paciente. En su lugar, se han utilizado eufemismos tales como:

"bronquitis espástica", "bronquitis disneizante", "bronquitis asmática" y otros muchos.

Otra dificultad diagnóstica estriba en la ausencia de un concepto claro y unificado de lo que es el asma. El problema de la definición, aún no resuelto, fue y sigue siendo un objetivo primordial, abordado por varios grupos de trabajo y comités de expertos^{27,41-49}. Uno de los rasgos que aparece en todas las definiciones es la HB, es decir, las vías aéreas de los asmáticos responden exageradamente a determinados estímulos.

El asma es una enfermedad heterogénea en la que parecen intervenir varios mecanismos patogénicos. En el momento actual el interés de las investigaciones está centrado en dilucidar detalladamente los mecanismos que conducen a la HB. Dos características que aparecen conjuntamente en todas las formas de asma, obstrucción e hiperreactividad de las vías aéreas, pueden ser consideradas como la expresión común de los diferentes mecanismos patogénicos, en los que estarían involucrados en mayor o menor grado, el aparato mucociliar, la musculatura lisa del árbol traqueobronquial, mecanismos nerviosos reflejos, mecanismos inmunológicos y fenómenos inflamatorios.

1.2.- PREVALENCIA

El asma continúa representando un problema sanitario importante. Estudios epidemiológicos realizados en diferentes países, muestran un aumento de su prevalencia en los últimos años, tanto en adultos como en niños. Así, Aberg⁴⁴ entre reclutas suecos observó, que en 1971 la prevalencia era de 1.9%, convirtiéndose en un 2.8% en 1981. Smith⁴⁵ entre niños escolares de Gran Bretaña, encuentra un 1.8% en 1956 y un 2.3% en 1968. En Nueva Zelanda y en Taiwan el incremento ha sido aún más pronunciado^{46,47}.

El asma en la infancia es una de las enfermedades más frecuentes, pero las estimaciones sobre su prevalencia varían ampliamente. Sobre estas diferencias en las tasas de prevalencia, es oportuno hacer dos consideraciones:

1. No existen cifras exactas de su frecuencia global en la población general, habiéndose obtenido los datos de que disponemos, de estudios realizados en grupos de población con amplias diferencias raciales, genéticas y socioculturales.

2. Los trabajos sobre prevalencia del asma han seguido una metodología muy dispar, al no existir unos criterios de definición ni de diagnóstico uniformes; de tal manera, que no son equiparables unos a otros. Unos, están basados en el diagnóstico de asma hecho por un médico general, otros, por especialistas y otros, en base a un cuestionario respondido por los propios pacientes.

Estudios realizados en habitantes indígenas de las regiones montañosas de Papúa (Nueva Guinea), en algunas tribus de indios norteamericanos, en esquimales canadienses y en campesinos de Gambia, indican una prevalencia muy baja de asma entre estas poblaciones⁴⁰; sin embargo, se ha podido comprobar que cuando estas comunidades se trasladan a zonas urbanas, el asma se hace más frecuente⁴⁹.

En otras poblaciones se registra una prevalencia de hasta un 25-30% (niños de la isla de Tokelau-Nueva Zelanda- o los habitantes de la isla de Tristán de Cunha)^{50.51}.

En países como Suecia, Reino Unido, o Francia, la prevalencia del asma infantil oscila entre el 0.7% y el 7.4%, y para los adultos, entre el 1.1% y el 9.9%⁴⁸. En Estados Unidos, se estima que un 5-10% de niños tiene en algún momento a lo largo de su infancia, signos y síntomas compatibles con el diagnóstico de asma⁵².

En nuestro país, Ojeda⁵³ señala una prevalencia de al menos un 5% en menores de 15 años, lo que significa que afectaría a casi 500.000 niños en España.

Como padecimiento crónico que es, el asma infantil puede tener serias repercusiones físicas, psíquicas y sociales, causando absentismo escolar e ingresos hospitalarios repetidos. Se ha comprobado que un diagnóstico y tratamiento correctos, realizados de forma

precoz, reduce en gran medida la morbilidad por asma⁵⁴, pero no sabemos si la tendencia a la remisión, con el paso del tiempo, que existe en el asma infantil, resulta influida por el tratamiento⁵⁵.

Los progresivos avances en el conocimiento del asma y en la tecnología, están permitiendo que el clínico tenga a su alcance unos medios de exploración muy útiles que proporcionan una información objetiva y detallada sobre el grado de afectación del paciente asmático. Las pruebas de provocación bronquial que determinan la HB se han convertido en una exploración complementaria de confianza para el diagnóstico de asma en casos dudosos, para medir su gravedad, para establecer su prevalencia y para monitorizar la eficacia del tratamiento.

2.- HIPERREACTIVIDAD BRONQUIAL (HB)

2.1.- RECUERDO HISTORICO

Se conoce la existencia de HB en asmáticos desde hace varias décadas. Ya en 1921, Alexander y Paddock⁵⁶ observaron que la inyección subcutánea de pilocarpina, producía disnea en los sujetos asmáticos, pero no en los sanos. Posteriormente, Weiss et al. demostraron que la histamina producía broncoconstricción en asmáticos⁵⁷ y también en sujetos sanos, aunque en éstos eran necesarias grandes dosis⁵⁸. Con anterioridad, en 1910, Dale y Laidlaw⁵⁹ habían observado "in vitro" que la histamina originaba una contracción del músculo liso bronquial en animales de experimentación.

Curry, a mediados de la década de los cuarenta, comienza a administrar la histamina en forma de aerosol⁶⁰ y estudia los efectos de la metacolina administrada por vía intramuscular en pacientes con asma, fiebre de heno y en sujetos sanos⁶¹, valorando la respuesta mediante las modificaciones en el FEV₁. Observó un descenso en los tres grupos, mayor en asmáticos que en el resto, siendo las diferencias significativas.

En 1948, Curry estudia los cambios en la capacidad vital⁶² tras la administración intravenosa (i.v) de metacolina e histamina, en 40 sujetos asmáticos, llegando a

las siguientes conclusiones:

- Los pacientes con asma severo respondieron con mayor intensidad a los dos fármacos, que los sujetos con asma leve.

- Aquellos pacientes que llevaban más de dos años sin síntomas, respondían con ligeros descensos en la capacidad vital, siendo éstos de mayor trascendencia en los que referían síntomas recientes.

- El sexo, la edad, la presencia de urticaria, eczema, o fiebre de heno en el sujeto o familiares del sujeto, no parecía influenciar su susceptibilidad a la metacolina e histamina.

La utilización de los tests de provocación bronquial inespecíficos como una prueba diagnóstica para el asma, parece tener su origen en Francia, en la década de los cuarenta⁶³, fundamentalmente gracias a los trabajos de Tiffeneau⁶⁴, quien puso de manifiesto que los asmáticos son mucho más sensibles que los sujetos sanos, a los efectos broncoconstrictores de la metacolina y otros agentes colinérgicos. En 1955, este mismo autor, llama la atención sobre la importancia del test para determinar la existencia de HB e intentó valorar la severidad del asma midiendo la dosis mínima de acetilcolina que causaba una respuesta significativa⁶⁵.

A partir de entonces, la medida de la HB inespecífica, tanto con fines clínicos como de investigación, se fue extendiendo por Europa y el resto del mundo⁶⁶. En los últimos 10-15 años, se demuestra un creciente interés por este tema; prueba de ello, es la progresiva aparición de artículos publicados a este respecto, lo que ha dado lugar también a que se haya ido creando una gran confusión, debido a la diferente metodología empleada.

2.2.- CONCEPTO

La hiperreactividad o hiperexcitabilidad bronquial, se puede definir como la capacidad de las vías aéreas para responder de modo exagerado a una amplia variedad de estímulos, físicos, químicos y farmacológicos, dando como resultado una broncoconstricción⁶⁷.

Al hablar de HB, hay que hacer una distinción entre HB inespecífica e HB específica. La HB Inespecífica es un hallazgo característico de todos los sujetos asmáticos, independientemente de cual sea el mecanismo o la causa de su asma.

Para estudiar la HB Inespecífica, se pueden utilizar estímulos de diversa naturaleza:

- Farmacológicos: histamina, carbacol, metacolina, PGF₂, PGD₂, LTC₄, LTD₄, adenosina.

- Físicos: ejercicio, hiperventilación isocápnica de aire frío.

- Irritantes: SO_2 , humo de tabaco, polvo de carbón, ácido cítrico, agua destilada nebulizada ultrasónicamente.

La HB Específica hace referencia a la respuesta que presentan determinados asmáticos a diferentes alérgenos o antígenos ocupacionales; por tanto, ésta va a ser característica sólo de los sujetos que estén sensibilizados a esas sustancias.

Todavía está en discusión si la HB es congénita (preexistente) o adquirida (inducida). Hay datos que apoyan una y otra hipótesis.

A favor de una BASE GENÉTICA existen trabajos que demuestran una HB inespecífica significativamente mayor en los familiares de primer grado de asmáticos, que en los controles sanos sin antecedentes familiares de asma^{59, 62, 65, 66}. Además, se ha comprobado que existe una mayor concordancia de HB a la metacolina en gemelos monocigotos que dicigotos⁶⁹. Resultados similares obtienen König y Godfrey⁷⁰, al estudiar la respuesta al ejercicio en gemelos idénticos y no idénticos.

Existen otros datos que apuntan la posibilidad de que la HB sea ADQUIRIDA. Así, en sujetos normales, las

infecciones víricas del tracto respiratorio producen una HB transitoria que se mantiene durante 6-8 semanas⁷¹. Del mismo modo, la inhalación de irritantes químicos tales como, ozono⁷², NO₂⁷³ y SO₂⁷⁴, pueden incrementar la reactividad de las vías aéreas. Finalmente, en algunos casos de asma ocupacional se ha estudiado la HB antes y después de la exposición a los agentes ocupacionales, comprobándose un aumento de la reactividad tras la inhalación de dichos agentes⁷⁵.

Las dos teorías, genética y adquirida, no son excluyentes, de tal manera, que sobre una HB ya preexistente, determinada genéticamente, pueden influir diversos factores externos (aire frío, infecciones víricas, polución atmosférica, etc.) actuando como moduladores, es decir, incrementándola o bien induciéndola "de novo".

Hargreave et al⁷⁶ exponían recientemente, en un trabajo de revisión, las posibles causas de hiperreactividad de las vías aéreas, y llegaron a la conclusión de que se trata de una propiedad adquirida que se desarrolla como consecuencia de estímulos ambientales, (alergenos inhalados, irritantes químicos, ozono, infecciones), existiendo simultáneamente una predisposición genética.

Se ha comprobado que no existe una diferencia significativa en la reactividad de las vías aéreas entre

asmáticos de etiología alérgica y asmáticos sin factor alérgico demostrado^{24,77}, lo cual confirma que la HB inespecífica es la base patogénica común del asma, independientemente de su etiología, aunque Tsai et al⁷⁸ demostraron que los asmáticos alérgicos son más sensibles a la metacolina que los asmáticos no alérgicos.

El concepto de HB es un concepto DINAMICO, ya que ésta se puede modificar por varios factores. Es variable en cuanto a su intensidad entre diferentes sujetos y en uno mismo a lo largo del tiempo. Entre los factores que pueden influir en la HB se encuentran:

- la exposición al alérgeno sensibilizante^{75,79}
- La provocación específica con antígeno^{80,81}
- La edad: en las edades extremas de la vida existe una mayor reactividad de las vías aéreas⁸²
- algunos fármacos⁸³
- las infecciones respiratorias de origen vírico, y la exposición a contaminantes ambientales, como ya comentamos anteriormente.

Estudios realizados a largo plazo sobre HB en pacientes con asma, ponen de manifiesto que en algunos asmáticos libres de síntomas durante años, siguen, sin embargo, presentando una hiperreactividad de las vías aéreas por períodos de tiempo indefinidos⁸², lo que pone de manifiesto su carácter PERSISTENTE, o al menos muy prolongado. En algunos casos de asma ocupacional, después

de una exposición continuada al alérgeno, la HB puede persistir, incluso durante años después de evitar el contacto con el alérgeno⁸⁴.

Otro aspecto controvertido es, si la presencia de una historia de atopia sin asma, puede tener influencia sobre la HB. Cockcroft et al⁸⁵ afirman que la atopia influye de manera significativa sobre la HB inespecífica. En idéntico sentido, se expresan las conclusiones de Hopp et al⁸⁵ al estudiar una población pediátrica. En cambio, otros autores no han encontrado ninguna asociación⁸⁶. En algunos tipos de asma ocupacional, tampoco existe relación entre atopia y una mayor susceptibilidad frente a los agentes que inducen HB⁸⁴. Por tanto, la interrelación entre atopia e HB, no está explicada por completo; igualmente, todavía queda por aclarar si estas condiciones son heredadas independientemente o en asociación.

En cuanto a la relación Tabaco-HB, repetidamente se ha demostrado, que los individuos sanos fumadores presentan un mayor grado de HB que los sujetos sanos no fumadores⁸⁷⁻⁸⁹ y, son menos, los que no han hallado ninguna relación entre consumo de tabaco e HB⁹⁰. Los niños podrían ser más susceptibles y verse afectados por el hábito tabáquico de los padres⁹¹. En un estudio realizado en 650 niños, se demuestra que el hábito tabáquico de las madres estaba en relación con la presencia de sibilancias en la población infantil⁹²; otros autores han comprobado que el tabaquismo

materno se asocia a tasas mayores de asma y a un aumento en las necesidades de medicación⁹³. También, se ha objetivado que la HB aparece más frecuentemente en niños fumadores pasivos, clínicamente sanos, en comparación con un grupo control⁹⁴.

2.3.- MECANISMOS

Durante los últimos veinte años, numerosos estudios han tenido como objetivo aclarar el o los mecanismos responsables de la HB. Las hipótesis que se han propuesto para explicar la HB son las siguientes:

- Disminución del calibre basal de las vías aéreas
- Cambios en el músculo liso del árbol bronquial
- Alteraciones en el control autonómico de las vías aéreas
- Alteración en la regulación de la concentración intracelular de calcio
- Inflamación y lesión del epitelio bronquial

2.3.1.- Disminución del calibre basal de las vías aéreas

El calibre de las vías aéreas, en condiciones basales, puede influenciar la respuesta subsiguiente a los agentes broncoconstrictores^{67,95}. Como la resistencia al flujo aéreo es inversamente proporcional a la cuarta potencia del radio, según la ley de Poiseuille de dinámica

de fluidos, cualquier reducción adicional en el diámetro de las vías respiratorias, ya parcialmente contraídas, producirá un aumento en la resistencia al flujo aéreo, proporcionalmente mayor que si el agente constrictor se administra a vías aéreas no contraídas. Sobre esta base, se ha sugerido que la hiperreactividad leve observada en pacientes con bronquitis crónica, es debida a la contracción parcial subyacente de las vías respiratorias⁶⁵ y, que en el asma, una disminución en la luz bronquial, por hipersecreción o por edema de su mucosa, podría contribuir a esa respuesta broncoconstrictora exagerada. Ahora bien, mientras que en algunos trabajos ha sido posible demostrar que la HB está relacionada con el calibre inicial de las vías aéreas^{66,67}, ésta no puede ser la única causa de HB, porque no explica la hiperreactividad observada en asmáticos en remisión, en los que el calibre de las vías aéreas se encuentra dentro de los límites de la normalidad^{68,69}, ni las diferencias encontradas en el grado de HB entre sujetos en los que los valores basales de resistencia a las vías aéreas eran similares^{70,71} y, tampoco justifica la hiperreactividad observada en sujetos sanos después de una infección viral⁷², o tras la exposición al ozono⁷³, sin alteraciones en el flujo aéreo basal. Por ello, se admite que el grado de obstrucción bronquial es un factor más que puede contribuir a aumentar la intensidad de la respuesta ante estímulos broncoconstrictores, pero no el único.

2.3.2.- Cambios en el músculo liso del árbol bronquial.

En los pacientes con asma, sobre todo en el asma cronificado, se produce una HIPERTROFIA e HIPERPLASIA del músculo liso de las vías aéreas¹⁰⁰. Este aumento de la masa muscular genera una mayor tensión, y en consecuencia, un mayor estrechamiento de las vías aéreas que si la masa muscular fuera menor. Este mecanismo podría tener un papel relevante en asmáticos de larga evolución, favoreciendo en ellos la hiperrespuesta de sus vías aéreas a diferentes estímulos⁶⁷. Sin embargo, no explicaría los incrementos de la reactividad bronquial observados transitoriamente en individuos normales, después de una infección viral del tracto respiratorio, o tras la exposición a contaminantes ambientales⁷², ya que la masa muscular no puede crecer en un período de tiempo tan corto.

Además de los cambios en la masa muscular, la HB puede ser el resultado de un AUMENTO EN LA CONTRACTILIDAD intrínseca de las células musculares, aunque estudios "in vitro" de preparaciones de músculo liso procedentes de las vías aéreas de sujetos con asma bronquial, no han podido demostrar un incremento de la respuesta contráctil del músculo liso como factor etiopatogénico de la HB^{101.102}. Se piensa que algunas alteraciones en el metabolismo del calcio, en las células musculares o en las fibras nerviosas, podrían originar cambios en la contractilidad, como veremos más adelante.

2.3.3.- Alteraciones en el control autonómico de las vías aéreas.

El control autonómico de las vías aéreas es mucho más complejo de lo que se había pensado en un principio, ya que además de los dos componentes clásicos del sistema nervioso autónomo, Parasimpático y Simpático, hoy se sabe, gracias a la aportación de diversos estudios, que el tracto respiratorio se encuentra además inervado por un tercer sistema No adrenérgico No colinérgico (NANC), siendo sus neurotransmisores diversos neuropéptidos¹⁰³.

La idea de que en el asma el control del SN autónomo podía ser anormal, ya fue sugerido en el año 1921 a partir de las observaciones de Alexander y Paddock⁵⁶, quienes observaron la aparición de disnea y sibilancias en sujetos asmáticos, pero no en sanos, tras la inyección subcutánea de pilocarpina (agonista colinérgico), revirtiendo estos síntomas mediante una inyección de epinefrina. A partir de aquí, se comenzó a especular sobre la existencia de una disregulación o desequilibrio entre el sistema nervioso adrenérgico y colinérgico como un defecto básico del asma. La falta de correlación entre la contracción del músculo liso "in vitro" y la respuesta a ese mismo agonista "in vivo"^{104,105} hace pensar que la HB se deba a una alteración del control nervioso del músculo liso, más que a una alteración del órgano diana.

Se han postulado como posibles causas de HB:

- a) Aumento de la actividad del Parasimpático
- b) Aumento de la actividad alfa adrenérgica
- c) Disminución de la actividad beta adrenérgica
- d) Alteración del sistema No Adrenérgico No Colinérgico (NANC)

a) Aumento de la actividad del parasimpático

La inervación parasimpática (PS) de las vías respiratorias es proporcionada por el nervio vago. Desde hace tiempo se viene afirmando que el sistema PS está, de alguna manera, implicado en la génesis de la HB. El primer indicio de que los mecanismos vagales participan en el asma, deriva del hecho de que la atropina, antagonista muscarínico, produce tanta broncodilatación como las drogas que relajan al músculo liso de las vías aéreas en forma directa¹⁰⁶, mientras que los agonistas de los receptores muscarínicos provocan una marcada broncoconstricción en estos pacientes¹⁰⁷. Se sabe además, que muchos de los estímulos que producen broncoconstricción en el asma, (inhalación de polvo, SO₂, aire frío), estimulan receptores vagales aferentes de las vías aéreas, originando un reflejo broncoconstrictor, lo que condujo a la hipótesis de que en el asma existiría una exagerada actividad vagal en el tracto respiratorio, que traería como consecuencia una broncoconstricción excesiva¹⁰⁸. Sin embargo, no parece probable que este sea el único mecanismo, ya que el asmático presenta también respuestas exageradas con

estímulos que no actúan a través de receptores colinérgicos¹⁰⁹ y se puede demostrar hiperreactividad a la metacolina aún después del bloqueo ganglionar con hexametonio¹⁰⁹.

b) Aumento de la actividad alfa adrenérgica

EL control adrenérgico de las vías respiratorias está mediado por beta adreno-receptores que tienen acción broncodilatadora y alfa adreno-receptores que producen broncoconstricción. El número de receptores alfa localizados en el músculo liso del árbol bronquial es escaso, y con un papel poco relevante¹⁰⁸, teniendo en cuenta los pobres resultados obtenidos por los fármacos alfa bloqueantes en el tratamiento del asma¹⁰⁸.

Después del pretratamiento con histamina, puede demostrarse un aumento de la actividad contráctil alfa adrenérgica¹¹⁰, pero es difícil valorar la contribución relativa de este fenómeno en la génesis de la HB, ya que el bloqueo alfa específico de las vías respiratorias no provoca broncodilatación ni reducción de la reactividad a la histamina¹¹¹.

c) Disminución de la actividad beta adrenérgica

En las vías respiratorias existe una alta concentración de beta adreno-receptores localizados en el

músculo liso, desde la tráquea hasta los bronquiolos terminales, células epiteliales y células mucossecretoras de las glándulas submucosas¹¹². A pesar de la presencia de receptores adrenérgicos, no existen pruebas fehacientes en el hombre de una inervación adrenérgica directa al músculo liso bronquial¹¹³. Los nervios simpáticos de las vías aéreas se distribuyen principalmente por los pequeños vasos, glándulas mucosas¹¹⁴ y por los ganglios autonómicos, donde su actividad puede modular el grado del tono parasimpático¹¹⁵, es decir la neurotransmisión colinérgica.

El papel del sistema simpático en la regulación del tono muscular en reposo, no está claro. Trabajos realizados en perros, sugieren que un cierto grado de actividad simpática broncodilatadora existe en las vías aéreas, ya que la sección de fibras nerviosas simpáticas torácicas o fibras simpáticas entre el ganglio estrellado y el nervio vago, origina un pequeño incremento en la resistencia de las vías aéreas¹¹⁶.

La posible actividad simpática broncodilatadora ha sido explorada, estudiando los efectos de agentes bloqueantes β adrenérgicos como el propranolol. Varios investigadores han estudiado el efecto del propranolol en sujetos sanos. La mayoría, no ha evidenciado broncoconstricción después de administrarlo vía sistémica¹¹⁷ o por inhalación¹¹⁸, pero otros, sí han observado una leve broncoconstricción¹¹⁹. Los asmáticos, en

cambio, pueden desarrollar una broncoconstricción severa tras su administración, la cual revierte con atropina. Esto hace pensar que la actividad parasimpática podría ser la causa de la broncoconstricción inducida por propranolol¹²⁰ e implicaría la presencia de beta receptores presinápticos en los ganglios de las vías aéreas que regularían el estímulo parasimpático¹²¹.

Szentivanyi¹²², en 1968, propuso la teoría de que la HB en el asma, estaría producida por un β -bloqueo o reducción en la función de los receptores β adrenérgicos de los músculos bronquiales, pudiendo afectar a otras muchas células de la economía. En contra de esta hipótesis está el hecho de que el tratamiento con un fármaco β -bloqueante, no induce HB o asma en un sujeto normal, como ya comentamos anteriormente; además, si existiera una situación de bloqueo parcial en los sujetos asmáticos, sería extraño que la toma de un β -bloqueante les produjera un gran efecto, lo que hace pensar que sus receptores β mantienen en condiciones normales un elevado nivel de actividad¹⁰³.

Existen, en cambio, algunas observaciones que apoyan esta hipótesis; varios trabajos han demostrado que los asmáticos en comparación con sujetos sanos, tienen una menor respuesta cardiovascular y metabólica tras la administración de β -agonistas¹²³ y sus leucocitos generan menos AMP cíclico¹²⁴. Además, se ha comprobado una reducción en el número de receptores beta en los linfocitos de asmáticos¹²⁵ y, estudios "in vitro", han puesto de manifiesto una menor respuesta del músculo liso bronquial

cambio, pueden desarrollar una broncoconstricción severa tras su administración, la cual revierte con atropina. Esto hace pensar que la actividad parasimpática podría ser la causa de la broncoconstricción inducida por propranolol¹²⁰ e implicaría la presencia de beta receptores presinápticos en los ganglios de las vías aéreas que regularían el estímulo parasimpático¹²¹.

Szentivanyi¹²², en 1968, propuso la teoría de que la HB en el asma, estaría producida por un β -bloqueo o reducción en la función de los receptores β adrenérgicos de los músculos bronquiales, pudiendo afectar a otras muchas células de la economía. En contra de esta hipótesis está el hecho de que el tratamiento con un fármaco β -bloqueante, no induce HB o asma en un sujeto normal, como ya comentamos anteriormente; además, si existiera una situación de bloqueo parcial en los sujetos asmáticos, sería extraño que la toma de un β -bloqueante les produjera un gran efecto, lo que hace pensar que sus receptores β mantienen en condiciones normales un elevado nivel de actividad¹⁰³.

Existen, en cambio, algunas observaciones que apoyan esta hipótesis; varios trabajos han demostrado que los asmáticos en comparación con sujetos sanos, tienen una menor respuesta cardiovascular y metabólica tras la administración de β -agonistas¹²³ y sus leucocitos generan menos AMP cíclico¹²⁴. Además, se ha comprobado una reducción en el número de receptores beta en los linfocitos de asmáticos¹²⁵ y, estudios "in vitro", han puesto de manifiesto una menor respuesta del músculo liso bronquial

al isoproterenol en asmáticos que en sujetos sanos¹²⁶.

Está en discusión, si la reducción en la función de los receptores beta, más que ser el origen de la HB, es un trastorno secundario debido a la propia medicación simpaticomimética, ya que se ha demostrado, que en sujetos normales la exposición repetida a los agonistas beta origina una disminución en la función de los β -receptores y en su densidad^{127,128}, siendo este fenómeno reversible; pero, también se ha encontrado una disminución de receptores β en los linfocitos de asmáticos que no recibían tratamiento con beta agonistas^{129,130}, por tanto, queda en duda si estos hallazgos son resultado de la terapéutica o un rasgo intrínseco de la enfermedad. El mecanismo que conduciría a una disminución de receptores β en el asma, se desconoce. Se ha pensado que podría ser debido a la presencia de autoanticuerpos frente a los receptores beta-2, pero sólo se han detectado en el suero de algunos pacientes asmáticos¹³¹, no en la mayoría, y también en algunos sujetos sanos, por lo que se duda mucho de su significado clínico.

En el momento actual, los datos de que disponemos sobre la importancia del bloqueo beta como mecanismo fisiopatológico de la HB no son concluyentes. Si este trastorno existe, es muy improbable que tenga un papel relevante, pues los asmáticos responden eficazmente a los broncodilatadores beta agonistas; el fracaso que puede

ocurrir en una exacerbación aguda del asma, no es real, ya que es más probable que se deba a una obstrucción de las vías aéreas por tapones de moco o edema de la mucosa, que a una disminución de los beta-receptores^{103,132}.

d) Alteración del sistema inhibidor NANC

Hay pruebas de que existe una inervación no adrenérgica no colinérgica en las vías aéreas¹¹³. De estos nervios, unos van a ser excitadores no colinérgicos, y otros, inhibidores no adrenérgicos. Al no existir una inervación adrenérgica directa al músculo liso bronquial, cabe pensar que este sistema inhibidor puede ser el principal mecanismo de relajación de las vías aéreas, y que su ausencia podría contribuir en la génesis de la HB.

El péptido intestinal vasoactivo (VIP) parece ser el neurotransmisor de los nervios inhibidores no adrenérgicos (NA), ya que se ha encontrado en las vías aéreas de animales de experimentación y en humanos; además, de todos los neuropéptidos aislados en el pulmón, es el que se halla en mayor concentración, y se sabe que es un poderoso relajante del músculo liso "in vitro"¹³³. Recientemente, se ha aislado otro péptido en las vías aéreas humanas con estructura similar al VIP, el péptido histidina metionina, (PHM)¹³⁴. Presenta una distribución idéntica al VIP, actúa a través de receptores específicos y es un potente broncodilatador "in vitro"¹³⁵. Es muy

probable que el PHM sea liberado con el VIP y sea también un neurotransmisor del sistema inhibitor NA de las vías aéreas¹⁰².

La estimulación de los receptores del VIP produce una activación de la adenilciclase, aumentando el contenido de AMP cíclico en los pulmones y en la tráquea¹²⁶, siendo este efecto similar a la activación por los β -agonistas. Por ello, se ha postulado que una deficiencia de los receptores VIP en las vías aéreas de los pacientes asmáticos puede ser uno de los mecanismos de producción del asma. En animales de experimentación, el VIP inhalado protege frente a la broncoconstricción inducida por histamina¹²⁷ y la infusión de VIP revierte la broncoconstricción inducida por serotonina en gatos¹²⁷; en cambio, en el hombre, cuando se administra vía inhalatoria no tiene efecto broncodilatador y protege muy poco frente a la broncoconstricción inducida por histamina en comparación a los β -agonistas¹²⁸. Además, por vía intravenosa, tiene escaso efecto broncodilatador en asmáticos leves, y en el asma severo su efecto broncodilatador es menos marcado que el de los β -agonistas¹²⁸. Por todos estos motivos, existen dudas de que realmente juegue un papel destacado en el asma. Parece poco probable que un defecto primario en esta inervación o en sus receptores específicos sean factores primordiales en la patogenia de la HB; pero sí es posible que se originen alteraciones funcionales en este sistema broncodilatador, secundarias a los fenómenos inflamatorios

que tienen lugar en las vías aéreas de los asmáticos¹⁰⁸.

Las células inflamatorias identificadas en las vías aéreas de asmáticos, tales como neutrófilos, eosinófilos y mastocitos, pueden liberar varias peptidasas que podrían degradar rápidamente al VIP y al PHM, lo que supondría una pérdida del mecanismo de freno sobre los nervios colinérgicos y una respuesta broncoconstrictora exagerada¹⁴⁰.

2.3.4.- Alteración en la regulación de la concentración intracelular de calcio.

Hoy en día, nadie pone en duda la importancia vital que posee el ión calcio, no sólo en procesos de acoplamiento excitación-contracción, sino también en múltiples facetas de la biología de muchos sistemas celulares. Este papel de segundo mensajero es posible gracias a su distribución asimétrica en la membrana, y a la presencia de mecanismos celulares específicos para la entrada y salida, movilización y secuestro del calcio. Puesto que el calcio inicia el proceso contráctil y es responsable del mantenimiento del tono muscular liso bronquial, es lógico predecir que las alteraciones de la homeostasis del mismo, condicionan un estado de hiperreactividad de las vías aéreas. Además de la contracción de la fibra muscular lisa traqueobronquial, la liberación de mediadores desde los mastocitos, la secreción

de glucoproteínas y electrolitos desde las glándulas mucosas y la neurotransmisión vagal, son todos procesos calcio-dependientes¹⁴¹. Esto ha hecho pensar que la HB en el asma, podría ser consecuencia de una alteración en el metabolismo del calcio, concretamente de un aumento en la concentración intracelular de este catión¹⁴².

El aumento en la concentración intracelular de calcio puede ser secundario a un aumento en el flujo de entrada en la célula, a un aumento en la liberación de calcio intracelular y/o a una menor capacidad de las organelas intracelulares para regular la concentración de calcio intracelular.

Para comprobar esta hipótesis, se han realizado diferentes trabajos en animales de experimentación y en pacientes asmáticos con antagonistas del calcio (Nifedipina, Verapamil), ya que estos fármacos inhiben la entrada de calcio a través de los canales de calcio de la membrana. Los estudios hasta ahora realizados, demuestran que la Nifedipina sublingual es efectiva en el asma inducido por el ejercicio¹⁴³⁻¹⁴⁶, así como el Verapamil inhalado¹⁴⁷, pero no alteran el tono basal bronquial y existen grandes variaciones interindividuales en los resultados obtenidos. La eficacia del Verapamil parece ser similar a la del Cromoglicato disódico (CGDS) en el asma inducido por ejercicio¹⁴⁷.

Nifedipina y Verapamil también son efectivos en prevenir la broncoconstricción inducida por hiperventilación con aire frío¹⁴⁸. En cambio, no ejercen ninguna influencia sobre la broncoconstricción inducida por histamina o metacolina¹⁴⁹⁻¹⁵² y existe una gran variabilidad en los resultados obtenidos con antagonistas del calcio en las provocaciones específicas con antígeno¹⁵³⁻¹⁵⁵.

Estos hallazgos tan dispares hacen suponer, que los antagonistas del calcio no van a ser fármacos de primera línea en el tratamiento del asma y, que la alteración en el metabolismo del calcio no ocupa un papel primordial en la fisiopatología de la HB.

2.3.5.- Inflamación de las vías aéreas y lesión del epitelio bronquial.

De entre todas las hipótesis que se barajan para explicar el origen de la HB, la inflamación y lesión en el epitelio bronquial, es sin duda, la que ha despertado un mayor interés en los últimos años.

Diversos trabajos clínicos y experimentales han demostrado que el desarrollo de HB se asocia con fenómenos inflamatorios en las vías aéreas¹⁵⁶. Desde hace tiempo se sabe que las vías aéreas de pacientes fallecidos por una agudización grave del asma, presentan fenómenos

inflamatorios y alteraciones estructurales en el epitelio bronquial¹⁰⁰, habiéndose observado posteriormente en biopsias bronquiales de pacientes con asma leve, e incluso, en situación estable, cambios epiteliales característicos y un infiltrado inflamatorio constituido fundamentalmente por eosinófilos¹⁵⁷⁻¹⁵⁹. También, en el lavado broncoalveolar de pacientes asmáticos, se ha demostrado un aumento en el número de células inflamatorias, especialmente eosinófilos, incrementándose aún más tras la provocación alérgica¹⁶⁰.

Es posible que algunos mediadores inflamatorios intervengan en el desencadenamiento de la HB. Esta hipótesis tiene su fundamento en una serie de observaciones, como es el hecho de que estímulos, tales como, la inhalación de SO₂, exposición al ozono, humo del tabaco, infecciones virales y la inhalación de antígenos o alérgenos ocupacionales, que originan una hiperreactividad de las vías aéreas, dan lugar a un acúmulo de células inflamatorias y a diversas alteraciones del epitelio bronquial^{158,159}. Así, en perros, se ha observado que el inicio de la HB, inducida por ozono, es paralelo a la infiltración de la luz broncoalveolar y de la pared bronquial por leucocitos polinucleares neutrófilos^{161,162}. Pauwels¹⁶³, en un trabajo con modelos de asma experimental en ratas, observa que tras la exposición de éstas a un aerosol de endotoxina, se producía un rápido aumento de neutrófilos en las vías aéreas y una o dos horas después de la exposición, un aumento en la reactividad de las vías

aéreas a la 5-hidroxi-triptamina.

Las CELULAS y los MEDIADORES implicados son varios:

MASTOCITOS.— Durante años se ha considerado a los mastocitos como las células primordiales en la patogénesis del asma bronquial. No obstante, estudios recientes muestran que los mastocitos no juegan un papel fundamental en la respuesta tardía tras la provocación con alérgenos, ni en la subsiguiente HB¹⁶⁴. Se ha comprobado que el CGDS es un estabilizador de la membrana de los mastocitos de rata, y esto podría justificar su capacidad para prevenir la respuesta inmediata y tardía al alérgeno. Sin embargo, otros fármacos más potentes, como estabilizadores de los mastocitos (oxatomida, por ejemplo), no han mostrado una clara utilidad clínica en el asma. Aunque algunos de estos fármacos son capaces de inhibir la respuesta inmediata al alérgeno, no protegen frente a la respuesta tardía ni disminuyen la HB⁴⁰.

Además, los beta-2 agonistas, que son potentes estabilizadores de los mastocitos humanos, no inhiben la respuesta tardía ni reducen la HB^{164.165}, lo cual, sí se consigue con los corticoides, a pesar de que no tienen una acción directa sobre los mastocitos pulmonares humanos. Por todo ello, se piensa que aunque los mastocitos están implicados en la respuesta inmediata a alérgenos y posiblemente en el asma inducido por ejercicio, no parecen tener un papel esencial en la patogenia de la HB.

En la actualidad existe un mayor interés por otras células inflamatorias: eosinófilos, macrófagos, plaquetas, neutrófilos y linfocitos.

EOSINOFILOS.- La infiltración eosinofílica es un hallazgo característico de las vías aéreas de asmáticos, y diferencia el asma de la obstrucción de las vías respiratorias asociada con bronquitis crónica, tabaquismo u otras causas; por ello, el asma se ha considerado como una " bronquitis crónica descamativa eosinofílica"⁴⁰.

En un estudio de Durham y Kay¹⁶⁶, la fase tardía, pero no la inmediata aislada, se acompañó de eosinofilia sanguínea y hubo una correlación entre el recuento de eosinófilos y el grado de hiperreactividad bronquial inespecífica medida por la $PC_{20}FEV_1$ de metacolina.

Se ha observado en el lavado broncoalveolar, durante las reacciones de fase tardía inducida por el alérgeno, un acúmulo de eosinófilos y sustancias derivadas de ellos, proteína básica mayor (PBM), proteína catiónica eosinofílica (ECP) y neurotoxina eosinofil-derivada^{167,168}. Datos similares se recogen en el asma por cedro rojo: tras la inhalación de ácido plicático, se obtiene eosinofilia junto con descamación de células del epitelio bronquial en el lavado broncoalveolar (LBA)¹⁶⁹.

En un estudio doble ciego controlado frente a placebo, se demostró que el CGDS inhibía el acúmulo local de eosinófilos en el moco bronquial y en el líquido del (LBA) y, que esta reducción de los eosinófilos pulmonares,

se relacionaba con la mejoría clínica¹⁷⁰.

Los eosinófilos liberan diversos mediadores: Leucotrieno C₄ (LTC₄), Factor activador de las plaquetas (PAF), radicales oxidantes y proteínas básicas, tales como, (ECP), (PBM) y neurotoxina derivada de los eosinófilos, que son tóxicas para el epitelio de las vías aéreas¹⁷¹.

Asmáticos con HB comprobada, con una PC₂₀FEV₁ menor de 4 mg/ml, tienen elevaciones significativas del recuento de eosinófilos y de la concentración de PBM en el líquido del LBA¹⁷². Aún eran más marcadas estas anomalías, al comparar los asmáticos con HB con personas cuyas vías aéreas eran normorreactivas. Este trabajo y, también, el realizado por Lam et al¹⁶⁹, apoyan con claridad la asociación de HB con el incremento de eosinófilos y de sus proteínas en las vías aéreas. También coincide esto, con la sugerencia de que la HB es secundaria al daño de la célula epitelial mediada por los productos de los gránulos de los eosinófilos. Sin embargo, tal sugerencia presupone que la HB está causada por el daño epitelial y que los eosinófilos tienen una particular capacidad para inducir esta lesión.

Los eosinófilos son muy sensibles a los corticoides, éstos producen una disminución a nivel tisular y en sangre periférica, pero no se afectan por los Beta-agonistas¹⁷³.

Las señales quimiotácticas que atraen los eosinófilos a las vías aéreas, aún, se desconocen. El PAF parece ser el único mediador que selectivamente atrae los

eosinófilos humanos¹⁷⁴, originando un infiltrado de eosinófilos en las vías aéreas; también, activa a los eosinófilos para que éstos liberen proteínas básicas, tales como la peroxidasa¹⁷⁵. Lo que todavía no ha encontrado una explicación satisfactoria, es el mecanismo de reclutamiento de los eosinófilos desde la circulación bronquial, después de su adhesión a las células endoteliales, hacia las vías aéreas.

MACROFAGOS.- La mayoría de las células existentes en el líquido del LBA, tanto en individuos normales como en asmáticos, son macrófagos. Estas células tienen receptores funcionales para la IgE¹⁷⁶, lo que implica que pueden ser activadas por un mecanismo IgE dependiente, además, tienen capacidad de producir una serie de mediadores: tromboxano, prostaglandinas y PAF¹⁶⁰.

Al contrario de lo que ocurre con los mastocitos, la liberación de mediadores por los macrófagos alveolares se inhibe por los corticoides, pero no se afecta por los Beta-2 agonistas¹⁷⁷.

Por todo esto, sería sorprendente que este tipo de células no participase en la respuesta de las vías aéreas a los alérgenos inhalados, y además, los macrófagos pueden ser activados por estímulos no alérgicos⁴⁰.

NEUTROFILOS.- Hay controversias en cuanto a la evidencia de que los neutrófilos por sí mismos, desarrollen un papel importante en la HB. De una parte, los estudios en

animales de experimentación, aportan datos convincentes que sugieren la capacidad de los neutrófilos para alterar las funciones de las vías aéreas^{161,170}; sin embargo, su papel en el asma bronquial humano es incierto. Así, en sujetos sensibilizados a diisocianato de tolueno, tras la provocación con el alérgeno, se observó un aumento en el número de neutrófilos en el LBA durante la reacción de fase tardía, así como de eosinófilos y linfocitos, que se inhibía con la administración previa de prednisolona¹⁷⁹. Por el contrario, la neutrofilia en el líquido del LBA no fue un hallazgo característico de las reacciones tardías, provocadas por el ácido plicático, en el asma por cedro rojo¹⁶⁹.

La frecuencia con que se obtienen neutrófilos en el LBA de pacientes asmáticos¹⁷⁰ y, la presencia de neutrófilos en cortes de tejidos de las vías aéreas de asmáticos¹⁵⁷ nos hace pensar que participan en la patogénesis del asma. Ahora bien ¿en qué medida participan en las alteraciones funcionales propias del asma?. Esta es una cuestión que permanece aún sin aclarar.

PLAQUETAS.— Las plaquetas tienen receptores para el fragmento Fc de la IgE, por lo que pueden ser activadas por mecanismos IgE dependientes¹⁸⁰. En conjunto, no hay evidencias en cuanto a que las plaquetas tengan un papel esencial en el asma humano, ni de que estén directamente relacionadas con la HB. Las observaciones sugerentes de que las plaquetas tengan algún papel, obliga a plantearse

importantes preguntas acerca del posible mecanismo por el cual podrían intervenir. Parece altamente probable la participación de las plaquetas en las reacciones inflamatorias, en general, y en la de las vías aéreas en particular, teniendo en cuenta que estas células pueden liberar mediadores químicos que contribuirían en el proceso inflamatorio, y que son capaces además de inducir broncoespasmo, como son: serotonina, tromboxano y leucotrienos. Si migran por sí mismas al interior de los tejidos, representarían una adición importante de células potencialmente inflamatorias, pero esto necesita ser formalmente demostrado.

LINFOCITOS.- Un área de considerable interés en la actualidad, es la investigación sobre la función que tienen los linfocitos en la regulación y expresión de la inflamación asociada con la alergia y con el asma. Las linfocinas derivadas de las células T, IL-4, IL-5 e interferón-gamma, están íntimamente implicadas en la regulación de la producción de IgE¹⁰¹. Algunas linfocinas actúan controlando la producción de eosinófilos por la médula ósea (IL-5, IL-3) y en la regulación de la diferenciación de los mastocitos; otras, tienen actividad quimiotáctica para los granulocitos neutrófilos, eosinófilos y basófilos, así como para los monocitos, y pueden activar o degranular estas células efectoras. Además, el examen post-mortem de las vías aéreas de asmáticos, mostró la existencia de gran cantidad de

linfocitos¹⁰⁰. También, en un estudio morfológico ultraestructural de muestras de biopsia bronquial, obtenidas de sujetos con asma leve, se encontró un gran número de linfocitos atípicos intraepiteliales¹⁰², que probablemente sean células T activadas. Todos estos hechos hablan a favor de la participación de los linfocitos T en la perpetuación de la respuesta inflamatoria en el asma bronquial.

CELULAS EPITELIALES.- Hasta hace poco, las células epiteliales de las vías aéreas se consideraban como un simple revestimiento físico inerte que las tapizaba. En la actualidad, es evidente que tienen un importante papel en la defensa de las vías aéreas, y probablemente en los procesos inflamatorios, ya que cuando son estimuladas bajo ciertas condiciones, generan productos derivados del ácido araquidónico por la vía de la lipooxigenasa¹⁰³ como LTB₄ y ácido 15-HETE que son quimiotácticos para los neutrófilos, originando por tanto, una infiltración de neutrófilos en las vías aéreas. El ácido 15-HETE estimula a su vez la liberación de mediadores de los mastocitos¹⁰⁴. Sin embargo, su importancia en el desarrollo del asma bronquial es controvertida, ya que la ausencia del epitelio y las consecuencias que esto conlleva es más importante en la HB.

DAÑO EPITELIAL.- La hipótesis de que la lesión del epitelio de las vías aéreas está relacionada con el desarrollo de la HB está avalada por estudios realizados en

animales de laboratorio, los cuales desarrollaron broncoconstricción, tras la exposición a varios agentes conocidos, por dañar la mucosa de las vías aéreas. En sujetos sanos, la inhalación de dióxido de nitrógeno y ozono^{72,161} y, en asmáticos leves, la inhalación de antígenos¹⁶⁷ y sustancias químicas como el diisocianato de tolueno¹⁸⁵ que lesionan el epitelio bronquial, contribuyen en la patogénesis de la HB. Además, sabemos que, entre otros factores, las infecciones virales respiratorias causan inflamación y descamación del epitelio de las vías aéreas¹⁸⁶, especulándose que este daño epitelial está relacionado con la HB transitoria que originan en sujetos sanos.

La pérdida de epitelio es un hallazgo casi constante en las vías respiratorias de los asmáticos. Los exámenes post-mortem de pacientes asmáticos muestran una extensa descamación del epitelio¹⁰⁰ que, incluso, es evidente en individuos con asma leve¹⁵⁷.

El daño epitelial puede ser debido a la acción de las proteínas básicas derivadas del eosinófilo y de radicales oxidantes liberados por otras células inflamatorias. En estas circunstancias, las vías por las que se puede generar un aumento en la reactividad bronquial son diversas. Se ha señalado, por ejemplo, que la lesión en el epitelio bronquial aumentaría la permeabilidad de la mucosa, con lo que se facilitaría el acceso de los estímulos contracturantes a sus órganos diana (músculos,

glándulas, etc.)^{67,76}, o que en tales condiciones quedarían al descubierto los receptores alfa irritantes de las vías aéreas cuya activación daría lugar a una broncoconstricción mediada por el vago^{103,157}. También es posible, que debido a la descamación epitelial, las terminaciones nerviosas aferentes no mielínicas, que recientemente se han descrito en el epitelio de las vías aéreas, sean estimuladas por sustancias originadas desde las células inflamatorias; ello pondría en marcha un reflejo axónico local con la subsiguiente liberación de neuropéptidos, sustancia P, Neurokinina A, capaces de causar contracción muscular, hipersecreción bronquial y edema¹⁰³. Otros autores afirman que algunos de los mediadores incrementarían, per se, la sensibilidad del músculo liso frente a los estímulos contracturantes y/o que facilitarían la contracción en general al degradar los neurotransmisores del sistema inhibitor no adrenérgico^{76,103}.

Por último, se ha sugerido que, como en condiciones normales el epitelio de la vía aérea es capaz de modular el grado de respuesta del músculo liso subyacente mediante la liberación de un factor relajante, el deterioro del epitelio respiratorio conduciría en el asma a una menor producción de esta sustancia y, por tanto, a la disminución de los mecanismos locales que tienden a oponerse a toda broncoconstricción¹⁸⁷.

MEDIADORES INFLAMATORIOS.-

Una gran cantidad de mediadores han sido implicados en la fisiopatología del asma: PAF, histamina, prostaglandinas y leucotrienos, entre otros. De todos ellos, el PAF es el que está recibiendo una mayor atención en los últimos años.

PAF.- El PAF se considera actualmente como un elemento clave en la génesis y exacerbación del asma bronquial.

El PAF produce broncoespasmo, inflamación, con un infiltrado predominantemente eosinofílico en las vías aéreas, e HB sostenida, es decir, reproduce todas las características clínicas del asma bronquial¹⁹⁰⁻¹⁹¹. Otros mediadores inflamatorios como la histamina, prostaglandinas y leucotrienos, producen broncoconstricción inmediata, pero no HB mantenida.

El PAF es un compuesto derivado de los fosfolípidos de la membrana celular, sintetizado de novo tras la acción de diferentes estímulos. Al igual que las prostaglandinas y leucotrienos es sintetizado por la acción de la fosfolipasa A2 sobre los fosfolípidos de la membrana. La estimulación celular produce un aumento del calcio intracelular y activación de la fosfolipasa A2. La activación de esta enzima metaboliza los fosfolípidos de la membrana originando ácido araquidónico y liso-PAF, precursor del PAF

carente de actividad biológica. Por acción de la acetiltransferasa se convierte el liso-PAF en PAF activado (PAF acéter)¹⁷².

El PAF puede ser sintetizado y liberado por diversas células: neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos, plaquetas, células endoteliales y por los macrófagos alveolares¹⁷³, pero no por los mastocitos humanos¹⁷².

El eosinófilo es la principal fuente celular de PAF. Una vez liberado de las células productoras, el PAF activa a través de sus receptores citoplasmáticos específicos muchas otras células mediadoras de la inflamación, las cuales, a su vez son una fuente productora de PAF, cerrándose de esta manera un círculo vicioso.

Los efectos principales del PAF son broncoconstricción, quimiotaxis y activación de eosinófilos, aumento de la permeabilidad microvascular, edema de la pared bronquial y disminución del aclaramiento mucociliar¹⁷¹. In vitro, el PAF es un potente agente quimiotáctico para los eosinófilos humanos, pero muy débil frente a los neutrófilos¹⁷⁴. Esta atracción selectiva hacia los eosinófilos, podría explicar como el PAF origina un incremento prolongado en la HB, ya que además, lesionan y dañan el epitelio. Como ellos mismos son una fuente importante de PAF, pueden atraer más eosinófilos, los cuales al ser activados por el PAF a través de sus receptores específicos, pueden liberar proteínas básicas

que lesionan el epitelio.

Administrado por vía endovenosa o en aerosol es un potente espasmógeno en animales de experimentación y en el hombre¹⁹⁴. Inhalado es el único mediador capaz de producir HB tanto en pacientes asmáticos como en individuos sanos. El efecto máximo se observa entre los tres o cuatro días y puede persistir más de cuatro semanas¹⁹⁵. Su vida media tan corta, 30 segundos, induce a pensar que el incremento prolongado en la HB es consecuencia de los cambios inflamatorios que origina, ya que tiene algunas propiedades que pueden ser relevantes en el asma. Aumenta la permeabilidad vascular por efecto directo sobre las células endoteliales, favoreciendo así la producción de edema.

Otros mediadores inflamatorios como, la histamina, prostaglandinas y leucotrienos, contraen el músculo liso bronquial, aumentan la permeabilidad vascular, aumentan la secreción mucosa y atraen y activan células inflamatorias, que a su vez liberan mediadores secundarios. No obstante, ninguno de ellos es capaz de producir HB.

HISTAMINA.— La histamina que tiene efectos que son característicos del asma bronquial, no aumenta la HB⁴⁰. Así, potentes antihistamínicos que ejercen una acción beneficiosa en la respuesta broncoconstrictora inmediata a alérgenos, mediada por los mastocitos, carecen de utilidad clínica en el tratamiento del asma crónico.

PROSTAGLANDINAS.- La PGD_2 , liberada por los mastocitos humanos, es un potente constrictor de las vías aéreas humanas, y potencia la respuesta broncoconstrictora de la histamina y de los agonistas colinérgicos en pacientes con asma. Sin embargo, este efecto es transitorio y tiene poca relevancia en el mantenimiento de la HB¹⁹⁵.

LEUCOTRIENOS.- Los leucotrienos LTC_4 , LTD_4 y LTE_4 son potentes broncoconstrictores, pero como ya mencionamos anteriormente son incapaces de producir HB sostenida.

A nivel bronquial ejercen un efecto broncoconstrictor mucho más potente que el producido por la histamina. Entre sus acciones destaca también la vasoconstricción y el incremento en la producción de moco. Para poder evaluar bien su papel en la HB y en el asma clínico es necesario disponer de antagonistas o inhibidores potentes de la 5-lipooxigenasa, pues hasta ahora con los antagonistas utilizados no se ha obtenido una acción beneficiosa en la provocación con alérgeno¹⁹⁶, ni en el asma severo¹⁹⁷.

El LTB_4 es un factor quimiotáctico para los neutrófilos y produce un incremento de la HB en perros¹⁹⁸. Dado que la infiltración de neutrófilos no es tan característica como el infiltrado de eosinófilos en las vías aéreas de asmáticos, se piensa que su papel sea más bien secundario, y por acción sinérgica con otros mediadores.

TROMBOXANO A₂.— El TxA₂ es un potente constrictor del músculo liso, fundamentalmente del músculo liso vascular, y produce agregación plaquetaria. Parece ser un importante mediador de la HB en perros; y también hay datos que implican al TxA₂ en la patogénesis de la HB, tras la provocación inhalatoria con alérgenos en el hombre¹⁹⁹, aunque otros trabajos no confirman estas observaciones. Así, Kirby et al²⁰⁰ comprobaron que el pretratamiento con indometacina no inhibía la respuesta inmediata ni la tardía tras la provocación con el alérgeno; pero sí inhibía el desarrollo de HB en esos sujetos. Además, un inhibidor de la tromboxano sintetasa, disminuye la HB a la acetilcolina en asmáticos estables²⁰¹; por tanto, puede ser un mediador importante en la patogénesis de la HB en el asma estable y tras la provocación con alérgenos.

Actualmente se acepta que diversas células inflamatorias y mediadores químicos están implicados en la patogénesis de la hiperreactividad de las vías aéreas, pero no es posible establecer la importancia de cada tipo de célula en particular. Lo más probable es que actúen conjuntamente en una compleja cascada. No se conoce la dinámica de todo este proceso, falta precisar con exactitud las células y mediadores que intervienen en la reacción inflamatoria, la secuencia de la migración celular y el mecanismo por el que finalmente se genera el aumento en la reactividad de las vías aéreas. Además, teniendo en cuenta la complejidad y heterogeneidad del asma, existe la

posibilidad de que algunas células y mediadores puedan tener una mayor relevancia en algunas formas de hiperrespuesta que en otras y en diferentes momentos de su historia natural.

Una vez expuestas todas estas teorías, podemos concluir que no son excluyentes y probablemente todas o casi todas puedan producirse simultáneamente teniendo una acción complementaria como se ha demostrado en el caso de la HB inducida por infecciones virales.

2.4.- HB E INFECCION VIRAL

La relación entre infecciones virales e inducción de crisis asmáticas comenzó a ser estudiada en 1967 por McIntosh et al²⁰². De estos trabajos se deduce, que el 42% de los episodios asmáticos agudos en los niños había sido el resultado de infecciones víricas. El germen más frecuente fue el virus sincitial respiratorio (VSR), seguido de los virus parainfluenza e influenza. No se encontró vinculación causal con microorganismos bacterianos.

En otras investigaciones realizadas con niños algo mayores, el 40% de las crisis asmáticas se asoció con virus respiratorios. En estos pacientes y en los adolescentes predominaron los rinovirus, los virus de la influenza A y el mycoplasma^{203,204}.

Los estudios prospectivos centrados en las exacerbaciones agudas del asma en el adulto demuestran un papel menos marcado, pero aún significativo de las virasis respiratorias. Sugieren que el 10-20% de los episodios pueden atribuirse a virasis agudas, en especial del tipo influenza A, rinovirus y parainfluenza^{205,206}. La conclusión de todos estos trabajos fue, que las infecciones virales precipitan crisis asmáticas con mucha mayor frecuencia en niños que en adultos, en tanto que las infecciones bacterianas no guardan relación. Además, los niños y adultos en función de su edad, van a ser más susceptibles a unos virus que a otros; así en niños

pequeños y en niños hasta la edad escolar, el VSR es el principal causante de las exacerbaciones del asma. A partir de los 6-7 años y hasta los 15 años, los rinovirus y el mycoplasma pneumoniae ocupan el primer lugar, seguidos de los virus influenza. En adultos son los rinovirus y los influenza los más frecuentes.

También es posible que las infecciones virales no solamente precipiten crisis asmáticas, sino que además pueden ser las causantes de la iniciación del asma contribuyendo en la hiperreactividad de las vías aéreas.

Mc Intosh, en el año 1976, fue uno de los primeros autores que hicieron referencia a la presentación de asma bronquial en niños después de un primer brote de bronquiolitis por VSR. Con el seguimiento durante más de cinco años de estos niños, confirmó que hasta en un 50%, la bronquiolitis inicial se sigue de crisis recurrentes de asma²⁰⁷.

Trabajos más recientes^{208,209}, confirman de nuevo este hecho, aumentando el porcentaje de aparición de asma hasta en un 71% de los niños bien controlados, durante los 5 años posteriores al primer brote de bronquiolitis que ocurrió en los primeros doce meses de vida.

Otros autores citan cifras algo menores; Gurwitz et al²¹⁰ realizaron una prueba de provocación bronquial con metacolina a 48 niños, hasta 10 años después de haber estado hospitalizados por infección por VSR; de ellos, el 57% presentó hiperreactividad bronquial en la prueba de

provocación.

La dificultad respiratoria que aparece en el brote inicial de bronquiolitis, se explica muy bien por el efecto citopático del virus sobre el árbol respiratorio del lactante. Durante el primer año de vida el calibre de los bronquios es pequeño en comparación con la superficie alveolar, el cartílago es blando y hay un número de glándulas mucosas mayor que a otras edades; esta situación favorece la fácil oclusión de las vías aéreas por fenómenos mecánicos. A ello hay que sumar la acción del virus que destruye células epiteliales mucosas, produce inflamación y descamación del epitelio bronquial, y aumento de detritus que taponan los finos bronquios del niño. Como resultado de la necrosis celular y descamación epitelial quedan al descubierto los receptores vagales, que al ser estimulados condicionan la aparición de broncoespasmo y disnea por un reflejo vagal. Este mismo mecanismo ha sido implicado en la producción de HB en sujetos sanos tras sufrir infecciones respiratorias de vías altas⁷¹, teoría que viene avalada por el hecho de que la administración de atropina puede prevenir esta hiperreactividad. Todos estos fenómenos explican bien la disnea en la fase aguda de la bronquiolitis, pero continúa sin estar clara la relación entre la bronquiolitis viral aguda, presumiblemente debida a la infección por VSR y el asma posterior.

El VSR produce inflamación de la mucosa bronquial, cuyos efectos pueden persistir 6-7 semanas aún después de

la curación del primer episodio. Este epitelio inflamado y denudado, es terreno predispuesto para futuras reinfecciones virales de menor gravedad, pero que cursarán con disnea por irritación de los receptores vagales al descubierto. La inflamación producida por cualquier mecanismo (VSR, rinovirus, parainfluenza, inhalación de ozono) es capaz de alterar las uniones intercelulares del epitelio mucoso bronquial, lo que condiciona una mayor facilidad para la penetración de irritantes que estimulan los receptores vagales y originan broncoespasmo²¹¹.

En la inflamación de cualquier origen acuden al foco células, como los leucocitos polimorfonucleares y macrófagos, que al ser activados, liberan in situ radicales oxidantes, proteasas y metabolitos del ácido araquidónico, que tienen la propiedad de lesionar el epitelio bronquial, con lo cual dejan más fácilmente al descubierto los receptores vagales.

La infección por VSR produce, además, otros efectos a largo plazo. Durante semanas o meses persisten las lesiones inflamatorias y el aumento de la sensibilidad de los receptores vagales; pero también se ha atribuido el desarrollo de hiperreactividad de las vías aéreas al bloqueo de los receptores beta adrenérgicos por el propio VSR y otros virus, como se ha comprobado en los cultivos de granulocitos con virus respiratorios²¹².

Otra teoría explicativa de la HB inducida por virus se basa en la liberación de mediadores químicos por los

mastocitos, con la subsiguiente atracción de células que amplifican y mantienen la inflamación del epitelio bronquial, tras la unión del antígeno viral con los anticuerpos IgE específicos existentes en la superficie de los mastocitos bronquiales, dado que Welliver et al, han demostrado que el VSR y el virus parainfluenza provocan una respuesta de anticuerpos IgE específicos frente a antígenos virales^{213,214}.

La idea más generalizada y aceptada, hoy por hoy, es que la bronquiolitis por VSR constituye un factor de riesgo para el desarrollo posterior de HB. Algunos autores^{215,216} afirman que este riesgo aumenta en los niños con antecedentes personales o familiares de atopia; y sugieren, que es la presencia de un factor heredado, (HB heredada o atopia), lo que predispone al desarrollo de una bronquiolitis aguda y que ésta actúa como un desencadenante en la iniciación del asma.

Sea como sea, lo que sí está claro es que aunque no exista un mecanismo único que pueda explicar el asma inducida por virus, un hecho de enorme trascendencia en la relación HB-virus, es la capacidad de los virus respiratorios para causar inflamación o potenciarla.

3.- METODOS DE EVALUACION DE LA HB. TESTS DE PROVOCACION BRONQUIAL (TPB)

3.1.- CONCEPTO

Las técnicas para la cuantificación de la HB tienen como base la exposición del sujeto a un estímulo irritante para valorar la respuesta broncoconstrictora mediante diversos tests de función pulmonar. A estas pruebas se las denomina tests de provocación bronquial (TPB).

3.2.- TIPOS DE TPB: ESPECIFICOS E INESPECIFICOS.

Los TPB se engloban en dos grandes grupos: TPB específicos, que se realizan con alérgenos o agentes ocupacionales y producen broncoconstricción sólo en los individuos sensibilizados a estas sustancias, por lo que servirán para estudiar la HB específica determinándonos el grado de sensibilidad frente a neuroalérgenos inhalados e inhalantes profesionales²¹⁷; y los TPB inespecíficos que se utilizan para valorar el grado de HB inespecífica, por tanto, producirán broncoconstricción en la inmensa mayoría de los individuos asmáticos, independientemente de cual sea el mecanismo o etiología de su asma; en éstos, los estímulos empleados son muchos y de distinta naturaleza, como veremos más adelante.

3.3.- ESTIMULOS BRONCOCONSTRICTORES INESPECIFICOS.

Los estímulos broncoconstrictores inespecíficos^{21e} están reflejados en la tabla I. Los utilizados con mayor frecuencia en las PB inespecíficas, tanto en la práctica clínica como en trabajos de investigación, son los farmacológicos, en especial la histamina y metacolina. Estos fármacos se administran en forma de aerosol y el sujeto los inhala por la boca. El empleo de estas dos sustancias nos ofrece algunas ventajas:

- son fármacos seguros y fáciles de administrar
- las provocaciones con estos fármacos son las que presentan una mejor estandarización
- se pueden obtener fácilmente curvas dosis-respuesta

Estos aspectos son muy importantes y hay que tenerlos en cuenta si queremos minimizar la influencia que múltiples factores, (tipo de estímulo, dosificación del mismo y medida de los resultados, entre otros,) puedan tener en la evaluación de la HB. Además, estos agentes se diferencian de otros estímulos inespecíficos, en que tanto los individuos sanos como los asmáticos responden a ellos, pero los asmáticos lo hacen con dosis más bajas que los sujetos sanos^{22.23.41}.

En niños, también la mayor parte de la experiencia con pruebas de provocación inhalativas se ha obtenido con la histamina y la metacolina; aunque el método de la

TABLA I.- Estímulos broncoconstrictores inespecíficos
(Modificado de Pauwels)²¹⁸

1.- Físicos

Aire frío
Aire seco
Ejercicio
Hiperventilación isocápnic

2.- Fisicoquímicos

Soluciones hipertónicas
Soluciones hipotónicas
Ozono
Agua destilada

3.- Químicos

SO₂
ClK
NO₂
Humo de tabaco
Acido cítrico

4.- Farmacológicos

Histamina
Acetilcolina
Carbacol
Metacolina
Prostaglandinas
Bradikinina
Leucotrienos
Serotonina
Adenosina
Propranolol

hiperventilación isocápnic se ha aplicado con éxito en los niños²¹⁹, y también se han realizado provocaciones bronquiales con agua destilada y suero salino inhalados^{220,221}.

A continuación haremos una breve revisión de algunos de los estímulos broncoconstrictores empleados en la evaluación de la HB inespecífica, extendiéndonos un poco más en la histamina y la metacolina.

HISTAMINA.-

La histamina es uno de los agentes farmacológicos más comunmente usados en los TPB inhalativos. Es una amina primaria imidazólica ampliamente distribuida en la naturaleza.

Produce contracción del músculo liso bronquial por un doble mecanismo: a través de la estimulación de los receptores H₁, y por vía vagal refleja. Su efecto se bloquea con la administración previa de hexametonio¹⁰⁹, clorfeniramina²²² y otros antihistaminicos H₁²²³ y su acción remite rápidamente tras la inhalación de agonistas β ₂ adrenérgicos²²⁴.

La atropina y otras sustancias anticolinérgicas parecen tener un efecto protector variable, siendo efectivas en algunos sujetos estudiados²²⁵ y totalmente inefectivas en otros²²⁶.

La histamina administrada por vía inhalativa comienza su acción de forma inmediata, alcanza su máxima intensidad en 1-2 minutos manteniéndola por término medio unos 17 minutos (rango de 4-37 minutos) y los efectos desaparecen alrededor de los 42 minutos²²⁵. Debido a su pequeña vida media, las dosis administradas sucesivamente no tienen un carácter acumulativo²²⁶.

Concentraciones inferiores a 8 mg/ml pueden producir ocasionalmente tos y prurito faríngeo, y superiores a 16 mg/ml, cefalea, sensación de calor y eritema facial²²⁶.

Su potencia broncoconstrictora es similar a la de la metacolina²²⁶. La histamina está disponible comercialmente en forma de polvo, y se recomienda para ser reconstituída, utilizar una solución salina estéril, tamponada²²⁷ para mantener el pH alrededor de 7. La solución, una vez preparada, se debe conservar en frigorífico a 4°C; la estabilidad de las soluciones de histamina no está bien definida²²⁷, por lo que algunos autores aconsejan que se preparen a diario²²⁸.

METACOLINA Y OTROS AGENTES COLINERGICOS.-

La metacolina (acetil-betametilcolina) y el carbacol son drogas parasimpaticomiméticas de síntesis, análogas a la acetilcolina, que actúan estimulando los receptores muscarínicos postgangliónicos del músculo liso

bronquial, produciendo la contracción del mismo.

La broncoconstricción puede ser bloqueada o marcadamente disminuída por la administración previa de atropina, bromuro de ipratropio y teofilina, y revierte rápidamente tras la inhalación de $\beta 2$ adrenérgicos²²⁹. Sin embargo, el hexametonio, que bloquea la transmisión ganglionar, no interfiere con la acción de estos agentes colinérgicos, lo que indica que su acción es por vía colinérgica postganglionar, con escasa importancia de la vía vagal refleja en su mecanismo de acción¹⁰⁹.

Otro agente parasimpaticomimético que se ha utilizado es la acetilcolina¹¹⁹, pero su utilidad en la clínica es escasa, ya que es hidrolizada rápidamente por la acetilcolinesterasa y su efecto es muy fugaz. Sin embargo, la metacolina también es metabolizada por la colinesterasa, pero lentamente, y el carbacol es resistente a esta enzima, por ello, la vida media de la metacolina es más prolongada que la de la histamina, y las sucesivas dosis administradas a lo largo del TPB tienen un carácter acumulativo, siempre que los intervalos de tiempo entre las mismas sean cortos²²⁶.

La metacolina, administrada por vía inhalativa, comienza a ejercer su acción inmediatamente, alcanzando el máximo a los 2 minutos por regla general, con un rango entre 1 y 4 minutos. Este efecto máximo lo mantiene durante unos 75 minutos y desaparece por completo a las 2 horas²²⁵.

La metacolina es bien tolerada, incluso a altas dosis, (concentraciones superiores a 25 mg/ml), no presenta los efectos secundarios que pueden ocurrir con la histamina²²⁶.

Está comercialmente disponible en forma de polvo²²⁷. Este polvo es altamente higroscópico, y debe ser conservado en un recipiente hermético. Se disuelve en solución salina tamponada con fosfatos (PBS), a diferentes concentraciones según la técnica que se emplee. Se aconseja, una vez preparadas las diluciones, sean conservadas en frigorífico a 4°C. En estas condiciones, según MacDonald²²⁸, pierden solamente un 10% de su potencia al cabo de 4 meses. En un trabajo posterior, Pratter et al²²⁹ afirman que las soluciones de metacolina hechas con ClNa al 0.9% sin tamponar, desde 1.25 a 20 mg/ml, conservadas, bien a temperatura ambiente (15-25°C) o refrigeradas a 4°C, conservan su actividad durante más de 4 meses.

La metacolina ha sido el primer fármaco broncoconstrictor aprobado formalmente por la Food and Drug Administration (FDA) para la realización de provocaciones bronquiales inhalativas con el fin de determinar la presencia de hiperreactividad de las vías aéreas y se ha comercializado para este fin con el nombre de Provocholine.

En las PB inhalativas con metacolina responden,

tanto las vías aéreas de los asmáticos como las de los sanos^{229,235}.

PROSTAGLANDINAS, BRADIKININA Y LEUCOTRIENOS.-

Son mediadores que se liberan en el pulmón durante la provocación bronquial específica con alérgenos y, probablemente, también en otras provocaciones. Todos se han utilizado para TPB inespecíficos. No se conoce bien su mecanismo de acción. Parece que actúan a través de receptores específicos sobre el músculo liso bronquial.

Se han realizado trabajos con PGF₂ alfa utilizando diversas técnicas de inhalación, diferentes tests de función pulmonar y diferentes dosis²³²⁻²³⁴. Su potencia broncoconstrictora es superior a la de la histamina y metacolina. La respuesta es muy variable entre los sujetos asmáticos, y la mayoría de los sanos tienen una baja respuesta²³². Su efecto se bloquea con β 2 adrenérgicos, y la atropina tiene un efecto protector variable²³², por lo que se piensa que pueda actuar también por un mecanismo vagal reflejo.

Existen muy pocos trabajos realizados con bradikina y leucotrienos^{235,236}. En la actualidad, su interés está centrado casi exclusivamente en los trabajos de investigación.

AGUA DESTILADA.-

La inhalación de volúmenes altos de agua destilada en forma de aerosol, generado mediante un nebulizador ultrasónico, constituye otra forma de evaluar la HB inespecífica²²⁷. Los mecanismos de acción no se conocen, pero se piensa que podrían producirse cambios en la osmolaridad del líquido que tapiza el epitelio bronquial, provocando una degranulación de mastocitos²²⁷.

Su efecto broncoconstrictor puede ser bloqueado por agonistas β_2 adrenérgicos y cromoglicato disódico, mientras que la atropina tiene un efecto variable de unos sujetos a otros.

A pesar de ser un test sencillo y económico, sin embargo, tiene dos inconvenientes: la gran sensibilidad que presentan algunos pacientes asmáticos y el tiempo que se tarda en su realización²²⁸.

HIPERVENTILACION ISOCAPNICA.-

La evaluación de la HB inespecífica también se puede demostrar mediante pruebas de provocación con estímulos físicos, como la hiperventilación isocápnica con aire ambiente, aire seco o aire frío²²⁹. Ejercen su acción, principalmente, a través de la pérdida de calor y agua a lo largo del tracto respiratorio. Estos métodos físicos no se utilizan habitualmente en el estudio rutinario de la HB, debido a su costo, el aparataje que se precisa y la

complejidad en medir la respuesta.

EJERCICIO.-

El test de ejercicio es un procedimiento que permite objetivar cuantitativa y temporalmente la relación entre el ejercicio y la obstrucción de las vías aéreas. Desde hace tiempo se sabe que el ejercicio físico puede causar una obstrucción o estrechamiento bronquial en los sujetos asmáticos, por ello, se ha utilizado y se utiliza como una prueba para valorar la HB. Está indicada fundamentalmente en los jóvenes y en los niños por su mayor capacidad de esfuerzo, y además, es considerado como instrumento diagnóstico de elección cuando el sujeto tiene una historia de asma inducido por ejercicio (AIE).

En la actualidad se piensa que los mecanismos que inducen una broncoconstricción postesfuerzo son varios:

- pérdida de calor del árbol bronquial²⁴⁰
- pérdida de humedad del árbol bronquial²⁴¹
- y liberación de mediadores²⁴²

La prueba de provocación con ejercicio se puede llevar a cabo en una cinta rodante, una bicicleta ergométrica o mediante carrera libre. La carrera libre durante 6-8 minutos es una forma sencilla de estudiar el asma por ejercicio; sin embargo, si se pretende realizar estudios más controlados, hay que recurrir a la utilización

de técnicas más complejas con el fin de controlar la magnitud del esfuerzo, la ventilación y la temperatura y humedad del aire inspirado.

3.4.- NORMAS DE ESTANDARIZACION

A partir de la década de los setenta se empieza a insistir en la necesidad de estandarizar los TPB, para estudiar, tanto la HB inespecífica como la específica. La estandarización es necesaria para poder comparar los datos entre diferentes autores y mejorar la repetibilidad de los métodos²⁴³.

En 1975 un grupo de investigadores americanos bajo el patrocinio del Instituto Nacional de la Salud publicó un protocolo estandarizado para llevar a cabo la prueba de provocación por inhalación. En este documento se recoge una normativa para la provocación con antígeno, metacolina e histamina²⁴⁴.

En 1980, la Sociedad Americana del Tórax (ATS), publicó un artículo donde establecía una metodología para la realización de provocaciones bronquiales inhalativas con antígeno y agentes farmacológicos²²⁹. Tres años más tarde un grupo de trabajo sobre hiperreactividad bronquial, constituido por miembros de la Sociedad Europea de Fisiología Clínica Respiratoria (SECPR) publica una serie

de recomendaciones acerca de las provocaciones bronquiales con estímulos inespecíficos, sin considerar la prueba de provocación con ejercicio ni la hiperventilación isocápnic²⁴⁵.

Recientemente, en nuestro país, un grupo de trabajo de la Sociedad Española de Patología Respiratoria (SEPAR) ha publicado una normativa para los TPB inespecíficos incluyendo fármacos broncoconstrictores y agentes físicos²⁴⁶.

3.5.- METODOS DE PROVOCACION

Los diversos métodos de provocación que existen se van a diferenciar, por la forma de generar y administrar el aerosol, el tipo de nebulizador y la forma de medir y expresar los resultados.

3.5.1.- Generación y administración del aerosol.

Los sistemas de nebulización son muy numerosos, aunque la SECPR²⁴⁵ aconseja utilizar uno de los tres tipos que detallamos a continuación:

1) **Generación continua del aerosol e inhalación continua** respirando a volumen corriente durante un tiempo determinado²⁴. El sujeto inhala el aerosol mediante una mascarilla facial o boquilla, debiendo estar la nariz ocluida. Este método es el más simple, ya que no precisa de equipos sofisticados.

2) **El método con reservorio**²⁴⁷ lleva incorporado un depósito, que se llena con el aerosol generado por un nebulizador inmediatamente antes de usarlo. El sujeto inhala del reservorio un volumen fijo. El reservorio es la campana de un espirómetro de agua, lo que permite controlar el volumen de aire inhalado conteniendo el fármaco. La administración del aerosol al paciente se hace a través de un sistema valvular, de modo que al hacer la inspiración se

abre la válvula de entrada, cerrándose la de salida y, contrariamente, al espirar se cierra la de entrada y se abre la de salida.

Usando este circuito cerrado no hay pérdida de sustancia, y se puede tener una mayor garantía sobre la dosis administrada, aunque también hay que tener en cuenta que la evaporación y sedimentación de las partículas puede modificar de forma ligera las características del aerosol generado.

Este método se ha utilizado en niños, asmáticos y sanos, por autores españoles²⁴⁰, quienes afirman que es fácil de realizar, pero que requiere un tiempo de ejecución no despreciable.

3) Generación intermitente del aerosol con inhalaciones intermitentes. El sujeto realiza un número determinado de inspiraciones que van desde Capacidad Funcional Residual (CFR) hasta Capacidad Pulmonar Total (CPT). En este método se utiliza un dosímetro, el cual determina con exactitud la cantidad de sustancia inhalada, ya que consta de un dispositivo que se activa al inspirar el paciente, liberando el aerosol durante un período de tiempo determinado, habitualmente 0.6 segundos²⁴⁴.

3.5.2.- Nebulizadores. Gasto y tamaño de las partículas.

La respuesta a los fármacos broncoconstrictores es dosis-dependiente²⁴⁹. La dosis de aerosol inhalada va a

depender del nebulizador (tipo de nebulizador y gasto) y del tamaño de las partículas que genera²⁵⁰, el cual a su vez va a determinar el lugar de las vías aéreas donde se depositan.

Los nebulizadores que se utilizan habitualmente atomizan el líquido mediante un flujo de aire o por ultrasonidos.

El mayor depósito de las partículas a nivel pulmonar se alcanza cuando éstas tienen un diámetro medio de masa aerodinámica (MMAD) entre 3 y 4 micras²⁵¹. Por encima de 6-7 micras se depositan principalmente en la boca y nasofaringe. La mayor concentración de receptores en la tráquea inferior y en los bronquios subsegmentarios haría, presumiblemente, que el depósito en esas zonas se tradujera en un mayor efecto. Sin embargo, mientras que el tamaño de las partículas oscile entre 1.3 y 3.6 micras de MMAD, estas variaciones no son relevantes^{250,252}; del mismo modo, también se ha comprobado que el uso de boquilla o mascarilla para la inhalación del aerosol, no influye en los resultados²⁵³.

El flujo aéreo del generador de partículas no debe ser excesivo, ya que produciría un incremento del impacto en la faringe. Es éste un factor importante en determinar el gasto del nebulizador, por lo que es fundamental emplear siempre el mismo flujo de entrada ("input") para la alimentación del nebulizador; además, pueden existir variaciones entre aparatos de idéntica marca y modelo²⁵⁰,

aún utilizando el mismo flujo de entrada, por ello se recomienda regular con frecuencia el gasto del nebulizador que estemos usando. El gasto se puede medir fácilmente pesando el nebulizador, antes y después de haberlo hecho funcionar durante un período de tiempo determinado²⁵²

El volumen y la temperatura de la solución en el nebulizador y la presencia de depósitos o residuos en el mismo, también van a influir en el gasto del nebulizador^{249,254}. Por ello, se recomienda que se limpien cuidadosamente cada vez que se cambia la concentración de la sustancia nebulizada²⁵³ y colocar siempre el mismo volumen de líquido en el nebulizador²⁴⁵.

La mayoría de los nebulizadores que existen en el mercado, producen partículas entre 1 y 4 micras²⁴⁵, lo que supone una eficacia muy similar²⁵⁰.

En la Tabla II hemos recogido las características de algunos nebulizadores disponibles en el comercio.

Además del tipo de nebulizador, gasto del mismo y tamaño de las partículas que origina, el tiempo inspiratorio es otro factor que se ha considerado entre los que podrían influir en los resultados de la PB inespecífica.

Se ha podido comprobar que cuando el aerosol es generado de forma continua e inhalado mediante respiración

TABLA II.- Características de los Nebulizadores^{245,250}

Modelo	Flujo de entrada (L/min)	MMAD* (μ)
Monaghan	8	4.3
De Vilbiss 646	6	2.6
Wright	8	1.2
De Vilbiss 42	6	3.8
Hudson	7	1.6
Bennett Twin	7	3.6

MMAD* : Diámetro medio de masa aerodinámica.

a volumen corriente, no es necesario registrar el tiempo inspiratorio ni la tasa de flujo inspiratorio, ya que siendo constante la duración de cada inhalación (2 minutos), tanto la dosis depositada como la respuesta pulmonar son altamente reproducibles^{252,255}.

También se ha confirmado que cuando la dosis inhalada es administrada mediante un dosímetro, una variación en el tiempo inspiratorio de 1 a 5 segundos, no influye en la dosis pulmonar total, en la distribución que alcanza dentro del pulmón ni en la subsiguiente respuesta al agente farmacológico²⁵⁶; en cambio, cuando el aerosol es producido de forma continua y la inhalación se hace desde CFR hasta CPT, una reducción en el tiempo inspiratorio de 8 a 2 segundos, origina una disminución en la dosis pulmonar total y una menor respuesta bronquial²⁵⁰.

3.5.3.- Patrón Respiratorio. Protocolos de PB. Comparación de protocolos.

El patrón respiratorio empleado en la inhalación puede ser de dos tipos:

- respiración a volumen corriente durante un tiempo determinado
- o bien, una o múltiples inspiraciones desde CFR hasta CPT.

Según el patrón respiratorio y el sistema de

aerosolización, existen varios protocolos para realizar TPB inhalativos con agentes farmacológicos. A continuación describimos aquellos que están bien estandarizados:

A) Método de Cockcroft²⁴: se administran dosis progresivas de histamina o metacolina "al doble" entre 0.03 y 16 mg/ml. Cockcroft utilizó un nebulizador Wright que genera un aerosol continuo con un gasto de 0.13-0.16 ml/min. Este aerosol es inhalado por el sujeto mediante una mascarilla o pieza bucal, respirando a volumen corriente durante 2 minutos. En primer lugar se determina la función pulmonar basal del paciente, registrando la Capacidad vital forzada (FVC), Volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV_1) y/o la Conductancia específica de las vías aéreas ($sGaw$), asegurándonos de que estos parámetros tienen una buena reproductibilidad. A continuación, se administra el diluyente, respirando conectado al nebulizador durante 2 minutos, y a los 30 y 90 segundos se determina, por ejemplo el FEV_1 , si es éste el parámetro escogido para detectar la obstrucción de las vías aéreas. Si no ha descendido más de un 10% se continúa con la provocación, administrando las sucesivas diluciones de histamina o metacolina durante 2 minutos y repitiendo tras cada concentración el FEV_1 . Los intervalos entre cada exposición son de 5 minutos, midiendo el FEV_1 a los 60 y 90 segundos de las mismas. La provocación finaliza cuando el FEV_1 desciende un 20% o más con respecto al valor basal, considerando como basal el obtenido tras el diluyente.

Los resultados se expresan como $PC_{20}FEV_1$, es decir, concentración de provocación en mg/ml, que origina un descenso en el FEV_1 de un 20%; más adelante veremos como se calcula.

B) **Método dosimétrico:** Inspiraciones desde CFR hasta CPT. Este método fue estandarizado y publicado por Chai, Rosenthal y Townley²⁴⁴, entre otros, en el año 1975. Se utiliza un dosímetro de Rosenthal-French acoplado a un nebulizador. El dosímetro actúa en inspiración y el intervalo de expulsión del aerosol es de 0.6 segundos. En este método las inspiraciones se realizan desde CFR hasta CPT. Después de realizar una exploración funcional respiratoria en condiciones basales y de administrar el diluyente, se administran diluciones crecientes de metacolina o histamina realizando un número determinado de inhalaciones (generalmente 5), a intervalos de 3 minutos, determinando los parámetros de función pulmonar entre 1 y 3 minutos, habitualmente al minuto y medio.

Los pacientes han de ser entrenados para que exista una sincronización entre la actuación del dosímetro y la maniobra de inhalación.

Las diluciones de metacolina que aconsejan utilizar son: 0.075, 0.15, 0.31, 0.62, 1.25, 2.5, 5, 10 y 25 mg/ml. Para la histamina, 0.03, 0.06, 0.12, 0.25, 1, 2.5, 5 y 10 mg/ml.

Más tarde, Rosenthal²⁵⁷ establece un protocolo más

abreviado que el propuesto originalmente por el Comité de Estandarización de los Institutos Nacionales de la Salud²⁴⁴, y reduce el número de diluciones de metacolina a 5: 0.025, 0.25, 2.5, 10 y 25 mg/ml; siendo también cinco el número de inhalaciones a realizar de cada dilución. Esto confiere una mayor rapidez a la prueba de provocación y existe una buena correlación entre las dos técnicas.

Tradicionalmente, para estos métodos se suele emplear la metacolina por atribuirse a las dosis administradas un carácter acumulativo. Se ha definido el término de una Unidad Inhalatoria (UI)²⁴⁴, como una inhalación de una solución de 1 mg/ml; de este modo, si se realizan 5 inhalaciones de esa solución se habrá alcanzado una dosis de 5 UI. Las nuevas unidades que se vayan administrando se suman a las ya dadas y pasan a llamarse unidades acumulativas (UA).

Al utilizar este método, los resultados se expresan en términos de $PD_{20}FEV_1$, expresando con ello, la dosis acumulativa de provocación que origina un descenso del 20% en el FEV_1 con respecto al valor basal.

Dentro de este patrón respiratorio desde CFR a CPT, hay descritos otros dos métodos, uno por Yan y otro por Chatham, que presentan algunas modificaciones con respecto al descrito originalmente por Chai y Townley²⁴⁴.

YAN et al²⁵⁸ en su método, utilizan un nebulizador

accionado manualmente de la marca de Vilbiss No 40, que se adapta a un bulbo de goma hueco, que al ser comprimido proporciona un chorro de aire adecuado para nebulizar el aerosol. No requiere, por tanto, ninguna fuente de aire comprimido para su funcionamiento. El aparato se hace funcionar al principio de la inspiración, de tal manera que el paciente inhala una cantidad concreta de agente broncoconstrictor, actuando de manera similar a un dosímetro. La inspiración ha de ser lenta (3-5 segundos), conteniéndose la respiración 2-3 segundos más. En este protocolo los autores utilizaron histamina como agente broncoconstrictor y comprobaron que tiene un efecto acumulativo siempre y cuando los intervalos entre las dosis no sean mayores de 3 minutos.

Los resultados los expresan como $PD_{20}FEV_1$ y la dosis de histamina en micromoles.

CHATHAM et al²⁵⁹ utilizan un método de provocación inhalativa con metacolina, abreviado, rápido y de bajo coste, con objeto de servir de screening para grandes grupos de población. Es en realidad una modificación del protocolo abreviado propuesto por Parker⁹ en 1965. Utiliza un nebulizador de Vilbiss, sin dosímetro y solamente dos concentraciones de metacolina: 5 y 25 mg/ml, aumentando progresivamente el número de inhalaciones que el sujeto realiza, desde CFR a CPT. Las inhalaciones se realizan a intervalos de 5 minutos y los resultados se expresan como $PD_{20}FEV_1$.

COMPARACION DE PROTOCOLOS.-

Se ha comprobado al realizar un estudio comparativo entre el método de Cockcroft y el método propuesto por Chai que los resultados que se obtienen son similares²⁵⁶, y presentan una buena correlación, a pesar de ser diferente la técnica de inhalación.

Cuando la $PD_{20}FEV_1$ del método manual de Yan, se comparó con la que se obtenía al utilizar un dosímetro, no se encontraron diferencias significativas²⁵⁶.

Por último, los resultados obtenidos con el método abreviado también ofrecen una muy buena correlación con los del protocolo estándar de Chai²⁵⁷.

3.6.- PRUEBAS DE FUNCION PULMONAR

Con objeto de poder cuantificar la obstrucción bronquial después de haber administrado el estímulo broncoconstrictor, es necesario realizar una exploración funcional respiratoria; disponemos de varios parámetros para ello, FEV₁, FVC, PEF, Flujo espiratorio forzado entre el 25 y 75% de la capacidad vital forzada (FEF₂₅₋₇₅), sGaw, etc. Lo ideal sería que el parámetro escogido cumpliera los siguientes requisitos: que exigiera poca colaboración por parte del paciente, que consumiera poco tiempo, que fuera de bajo coste y fácil de determinar, pero sobre todo que sea reproducible, sensible y específico. Ninguno de los parámetros de que disponemos cumplen todos esos requisitos, cada uno tiene sus ventajas e inconvenientes.

En la Tabla III indicamos la Reproducibilidad y los cambios mínimos aceptados como significativos para diversos índices de función pulmonar^{229,245}.

Los parámetros más recomendables son la sGaw y el FEV₁. La medida de la conductancia específica de las vías aéreas requiere un aparataje sofisticado y costoso, aunque posee una gran sensibilidad, mayor que el FEV₁, pero ofrece una gran variabilidad intraindividual (10-20%). También, las modificaciones en el calibre de la glotis pueden influir en este resultado²⁴⁵.

TABLA III.- Reproducibilidad de las pruebas de función pulmonar y cambios mínimos aceptados como significativos para cada parámetro^{229,245}.

Parámetros	Coefficiente de variación intraindividual (%)	Cambios significativos (%)
CV	0.3-11	- 10
FEV ₁	0-8	- 20
PEF	6	- 25
FEF ₂₅₋₇₅	-	- 25
V max 50	5-14	- 25
sGaw	9-20	- 35 a - 40
Raw	10-20	+ 35 a + 40

CV: capacidad vital; FEV₁: volumen espirado máximo en el primer segundo; PEF: pico de flujo espiratorio; FEF₂₅₋₇₅: flujo espiratorio forzado entre el 25 y 75% de la capacidad vital forzada; V max 50: flujo máximo al 50% de la capacidad vital; sGaw: conductancia específica; Raw: resistencia de las vías aéreas.

El FEV₁ es, en parte, esfuerzo dependiente y requiere la colaboración del paciente; pero, en cambio, ofrece una buena reproductibilidad y el aparataje que precisa es simple. Además, se ha demostrado que es preferible a la sGaw porque disminuye la zona de superposición entre la población sana y asmática, diferenciándolas mejor²⁶⁰. Sin embargo, las maniobras de espiración forzada tienen el inconveniente de que la propia inspiración profunda puede modificar el tono bronquial. Los individuos sanos y aquellos con rinitis alérgica experimentan una broncodilatación transitoria, durante menos de 2 minutos, con dicha maniobra²⁶¹; mientras que en los asmáticos, la respuesta es variable²⁶², pudiendo presentar broncodilatación, o con más frecuencia, broncoconstricción, siendo este efecto mayor, cuanto mayor es la dosis administrada. Por este motivo, algunos autores recomiendan la práctica de una sola espirometría tras cada dosis administrada²⁶³. Esto puede originar pequeños errores, pero, en conjunto, la buena reproductibilidad de los tests de provocación usando el FEV₁, sugiere que cualquiera de esos efectos son de pequeña cuantía²⁶⁴.

Otros parámetros propuestos son, el volumen de cierre, el volumen a isoflujo y la compliancia dependiente de la frecuencia, pero la interpretación de los resultados es controvertida y su reproductibilidad se desconoce²⁴⁵.

Puesto que la mayoría de los criterios de

reactividad dependen de las modificaciones en las variables de función pulmonar, cuando se realizan los tests de provocación bronquial en niños, éstos han de ser lo suficientemente mayorcitos como para poder llevar a cabo fácilmente una espirometría. Matthys et al²⁶⁵ en una publicación que hace referencia a la estandarización de las pruebas de provocación y respuesta bronquial en niños, insisten, sobre todo, en los diferentes tests de función pulmonar, sus ventajas e inconvenientes, y aconsejan medir la resistencia de las vías aéreas (Raw) mediante pletismografía, o medir la resistencia respiratoria total mediante la oscilometría forzada (Ros), ya que requiere poca colaboración para el paciente y, según ellos, son mejor aceptadas por los niños. Pero, como mencionamos anteriormente, esto requiere una tecnología que es cara, además, la técnica de la oscilometría forzada tiene un inconveniente puesto que mide la resistencia total, siendo la resistencia de las vías aéreas sólo un componente de la resistencia total. En la actualidad, esta técnica no ha sido bien evaluada como para poder recomendarla en el uso rutinario de los tests de provocación bronquial.

Recientemente, esta técnica de oscilometría forzada, ha sido aplicada con éxito en niños en edad preescolar²⁶⁶.

En conclusión, según la SECPR²⁴⁵ el FEV₁, a pesar de sus inconvenientes es un parámetro adecuado para los estudios clínicos y epidemiológicos, mientras que la

utilización de la sGaw es más recomendable para trabajos de investigación sobre los mecanismos que intervienen en la HB.

3.7.- MEDIDA DE LA RESPUESTA. EXPRESION Y ANALISIS DE LOS RESULTADOS

Continúa siendo un tema controvertido cual es la mejor medida y método de cálculo para expresar la respuesta al agente broncoconstrictor. La propia ATS²²⁹ ha indicado que cuando el principal propósito de la prueba de provocación es determinar si el sujeto tiene HB, puede medirse la modificación del parámetro prefijado. De esta forma se confirma o se descarta la presencia de HB, aunque no podamos saber la dosis exacta con la que se consigue el cambio significativo. Este método ahorra tiempo y da suficiente información si la prueba se ha realizado con fines diagnósticos.

Los resultados se expresan generalmente como la concentración o dosis de provocación que produce una disminución determinada en el parámetro de función pulmonar elegido previamente (generalmente el FEV₁, o bien la sGaw). Así, veremos los resultados expresados como PC₂₀FEV₁²⁴, PD₂₀FEV₁⁶, PC₂₅sGaw o PD₂₅sGaw²⁴⁴. Si se utiliza el método de Cockcroft los resultados se expresan como PC (concentración de provocación), si es el método de las unidades inhalativas, como PD (dosis de provocación). Las

dos formas de expresar los resultados son igualmente útiles y tienen una buena reproductibilidad²⁴⁵.

Estos índices se obtienen fácilmente por interpolación a partir de las correspondientes curvas dosis-respuesta, las cuales, se hacen representando las sucesivas dosis administradas en abscisas y los cambios que se producen en los parámetros de función pulmonar en ordenadas. (Figura 1). Si se toman logaritmos en abscisas se facilita la representación, dado el amplio margen de respuesta de los diferentes individuos. Algunos autores han demostrado, que cuando se usan dosis dobles respirando a volumen corriente, la interpolación entre los dos últimos punto de la curva puede ser hecha, linealmente o logarítmicamente, sin influir apenas en los resultados²⁶⁷.

La PC 20 y la PD 20, habitualmente, se expresan en mg/ml, pero, según Woolcock²⁶⁴, con objeto de comparar los efectos entre sustancias de diferente peso molecular, los resultados se pueden expresar en micromoles (μmol), los cuales se calculan, multiplicando el volumen inhalado por la concentración y dividiéndolo por el peso molecular.

Además de valorar la respuesta mediante un sólo punto en la curva dosis-respuesta, se puede obtener la denominada Sensibilidad y Reactividad bronquial²⁶⁸. La denominada sensibilidad se asocia al concepto de valor umbral, definido arbitrariamente como la concentración del

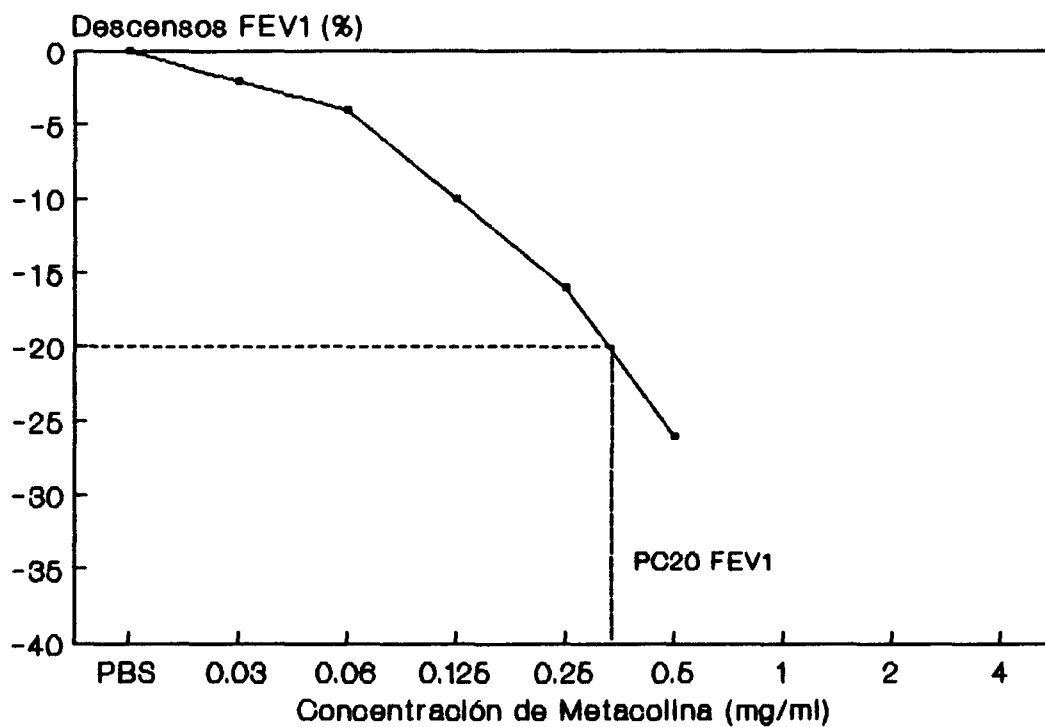


Figura 1.- Curva dosis-respuesta y obtención de la $PC_{20}FEV_1$

agente broncoconstrictor que produce un descenso en la sGaw del 25%; el concepto de reactividad se asocia al valor de la pendiente de la curva dosis-respuesta, de forma que a mayor pendiente mayor reactividad.

Según los trabajos de Orehek²⁶⁸, es este dato el que mejor separa la población sana de la asmática, la cual posee mucha mayor pendiente. Sin embargo, Cockcroft et al²⁶⁹ han comparado este valor con la $PC_{20}FEV_1$, en un total de 40 individuos, (30 asmáticos, 6 con rinitis y 4 sanos), con respuesta a la histamina incrementada y obtienen una fuerte correlación negativa entre ambos parámetros, concluyendo que, después de la complejidad que implican estos cálculos para determinar la pendiente de la curva dosis-respuesta, aporta pocos datos en la práctica clínica.

Otra forma más compleja de expresar los resultados del test de provocación bronquial, consiste en calcular el área comprendida debajo de la curva parabólica obtenida con la curva dosis-respuesta, mediante el método de los mínimos cuadrados²⁷⁰, pero su cálculo es complejo y no se ha establecido su reproductibilidad, por lo que su uso está limitado a trabajos de investigación.

3.8.- FACTORES QUE ALTERAN LA RESPUESTA

Además de los factores técnicos comentados en apartados anteriores que podían influir en la respuesta (tipo de nebulizador, débito del mismo, tamaño de las partículas generadas y técnica de administración del aerosol), existen otros factores no técnicos que hay que tener en cuenta a la hora de llevar a cabo la provocación. Los más importantes son:

- a) el uso reciente de medicación
- b) la exposición reciente a agentes sensibilizantes, (alergenos, inhalantes ocupacionales), y a contaminantes ambientales²⁵²
- c) las infecciones del tracto respiratorio
- d) el calibre basal de las vías aéreas
- e) otros (hora del día, edad, etc)

En las Tablas IV y V están representados, respectivamente, los fármacos y otros factores que pueden alterar la respuesta broncoconstrictora inespecífica y los periodos de tiempo estimados de influencia.

a) **Uso reciente de medicación:** sería deseable que el paciente no estuviera tomando ninguna medicación a la hora de realizar el test, pues potencialmente, múltiples fármacos aún no estudiados podrían influirlo. En la Tabla IV están representados algunos de los que han sido evaluados.

TABLA IV.- Intervalo de tiempo recomendado entre la última toma de medicación y la provocación bronquial^{229,245}.

Fármaco	Intervalo de tiempo (horas)
Broncodilatadores Inhalados	
- Isoproterenol	4
- Metaproterenol	8
- Terbutalina	12
- Salbutamol	12
- Anticolinérgicos	12
Broncodilatadores Parenterales	
- Adrenalina	4
- Terbutalina	12
Broncodilatadores Orales	
- Teofilina de acción corta	18
- Aminofilina	18
- Teofilina de acción intermedia	24
- Terbutalina	24
- Teofilina retardada	48
Antihistamínicos	48
- Hidroxicina	96
- Astemizol	15 días
Cromoglicato sódico	48

TABLA V.- Factores no farmacológicos que influyen en la respuesta broncoconstrictora inespecífica^{243,252}.

Factor	Intervalo recomendado
Tabaco	2 horas
Infección respiratoria	6-8 semanas
Vacuna antigripal	3-6 semanas
Provocación específica con Antígeno y con respuesta tardía	1 semana (mayor si la respuesta tardía fue severa o duró más de 24 horas)
Sensibilizantes ocupacionales	3 meses
Contaminantes atmosféricos	1 semana

Entre los múltiples fármacos que pueden alterar la cuantificación de la HB se encuentran, lógicamente, los broncodilatadores. Debido a su acción, neutralizan, en parte, el efecto de los estímulos broncoconstrictores inespecíficos, disminuyendo la respuesta del sujeto. Xantinas, betaadrenérgicos y anticolinérgicos han de ser retirados, según su período de influencia como se indica en la Tabla IV. También se han de tener en cuenta las xantinas ingeridas en la dieta (café, chocolate, té), evitándolas 6 horas antes del test.

Los antihistamínicos y antidepresivos tricíclicos, así como el ketotifeno, inhiben selectivamente el broncoespasmo inducido por histamina, pero no por metacolina. Las inhibiciones farmacológicas de los antiH1 y antidepresivos tricíclicos, no necesariamente quiere decir que esos fármacos tengan relevancia en el tratamiento del asma.

El CGDS parece ser, aunque no hay unanimidad en los trabajos publicados^{229,270}, que no modifica el grado de HB cuando se administra en dosis única antes de la prueba de provocación con histamina o metacolina. Tampoco modifica significativamente el broncoespasmo inducido por histamina inhalada, después de un tratamiento a largo plazo²⁷¹. Sin embargo, se ha comprobado que la inhalación de CGDS inhibe, tanto la fase inmediata como la fase tardía de la respuesta tras ejercicio²⁷².

La SECPR²⁴⁵ recomienda su supresión 8 horas antes

de la provocación bronquial inespecífica y la ATS 48 horas antes²²⁹.

En cuanto a los esteroides, su efecto sobre la HB es un tema controvertido. Algunos autores han observado una disminución significativa de la HB a la histamina en la mayoría de sus pacientes después de un tratamiento entre 1 y 5 meses con beclometasona²³. Otros, no han encontrado una modificación significativa en el broncoespasmo inducido por metacolina, después del tratamiento con beclometasona durante 4 semanas^{273,274}, pero sí con budesonida en tratamientos a largo plazo²⁷⁵.

Por el momento, no se aconseja la supresión de esteroides, previa a la evaluación de la HB²⁴⁵.

b) La exposición a aquellos alérgenos, a los que el sujeto está sensibilizado^{75,79} y la provocación específica con antígeno^{80,81}, pueden incrementar la reactividad bronquial inespecífica, así como los polucionantes ambientales, ozono, NO₂ y SO₂⁷²⁻⁷⁴.

c) Infecciones del tracto respiratorio: como mencionamos anteriormente, en el apartado sobre Infección viral e HB, se sabe que las infecciones víricas del tracto respiratorio se asocian con un incremento transitorio de la HB que persiste de 6 a 8 semanas⁷¹, por lo que antes de transcurrido ese intervalo de tiempo, la determinación de la HB puede no ser valorable. En niños, también se ha

demonstrado que después de sufrir episodios de crup y bronquiolitis presentan un incremento en la HB^{210,276}.

d) **Calibre basal de las vías aéreas:** El calibre de las vías aéreas, teóricamente, podría afectar la respuesta bronquial a los agentes broncoconstrictores^{67,95}. Este tema ha sido y sigue siendo motivo de preocupación para muchos investigadores. Prácticamente todos los trabajos publicados, se han llevado a cabo en adultos, asmáticos y sanos, en cambio, en la edad pediátrica se le ha prestado muy poca atención.

En adultos, por un lado, hay autores que han demostrado una relación entre el grado de obstrucción al flujo aéreo en condiciones basales y el grado de HB, tanto en pacientes asmáticos^{24,96,277,278}, como en sujetos sanos^{22,279,280}, en cambio, otros no han encontrado ninguna correlación^{24,98,99,281}.

En niños asmáticos, Amaro-Galvez et al²⁸² no encuentran correlación entre el grado de obstrucción de las vías aéreas en condiciones basales, valorado por el FEV₁ y la sensibilidad a la metacolina.

Se ha visto que los sujetos con HB y asma clínico, de leve a moderado, generalmente tienen un calibre basal normal y que, en estos casos, la obstrucción de las vías aéreas no es un determinante de su respuesta bronquial a la

metacolina¹⁹. Se piensa, por consiguiente, que la inflamación de las vías aéreas asociada a un asma severo, puede tener una mayor repercusión sobre la respuesta a la provocación. Esto hace que la mayoría de autores recomienden que la PB no se haga si el FEV₁ es inferior a 1.5 litros o al 80% de su valor teórico^{245,252}.

e) Otros factores: La hora del día en que se realiza la PB parece que puede influir en los resultados¹⁹. Se ha descrito un ritmo circadiano para la HB, apareciendo más acentuada por la noche⁶⁶, aunque no hay cambios apreciables si se realizan las PB entre las 9 a.m y las 4 p.m.

También, en las edades extremas de la vida, niños y ancianos, algunos investigadores han comprobado que existe un ligero aumento en la respuesta a la metacolina con respecto al resto de la población^{22,22}.

3.9.- SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD Y PUNTOS DE CORTE.

Ya mencionamos anteriormente, que la diferencia entre vías aéreas asmáticas y no asmáticas, no consiste simplemente en la presencia o ausencia de broncoconstricción tras la exposición a diversos estímulos, sino más bien, en la potencia del estímulo requerida para producirla, por lo que, a efectos prácticos y de utilidad clínica, se plantea la necesidad de establecer una delimitación entre provocación positiva / provocación negativa, o dicho de otra manera, asmático / sano. Sabemos que no existe una dosis absoluta de fármaco broncoconstrictor, a la cual, todos los asmáticos respondan y los sujetos sanos no respondan, ya que se ha podido observar un cierto solapamiento en el grado de HB entre ambas poblaciones^{20.222}; y estudios realizados en grupos amplios de población han demostrado que la HB tiene una distribución unimodal²¹.

Teniendo en cuenta estas consideraciones previas, y puesto que habrá individuos sanos que no responderán al test, parece más apropiado tabular los resultados obtenidos en términos de sensibilidad, especificidad, tasa de falsos negativos y tasa de falsos positivos^{222.224}.

Hay trabajos, en los que al comparar una población adulta de asmáticos sintomáticos con otra de sujetos sanos, sus autores han establecido una escala de hiperreactividad que, al parecer, ha logrado una buena diferenciación entre

ambos grupos^{24,22,22,225}. Afirman que una concentración de metacolina, en el primer trabajo, y de histamina en los restantes, de 8 mg/ml, separa a sujetos con reactividad normal y reactividad aumentada de sus vías aéreas, teniendo una gran sensibilidad y especificidad. Prieto²²¹, considerando un punto de corte para la $PC_{20}FEV_1$ de 9 mg/ml de metacolina, obtiene una sensibilidad de un 98%, y una especificidad de un 93%.

Otros autores, Chai²⁴⁴, Fish²²⁶ y Townley²², establecen unos puntos de corte para la $PD_{20}FEV_1$, en adultos, de 225, 50 y 200 unidades de metacolina respectivamente.

Los datos sobre el grado reactividad bronquial que podemos obtener en niños sanos son, en cambio, muy limitados²²:

1.- Parker² en 1965, realiza una prueba de provocación con metacolina a niños asmáticos y sanos, y después de administrar una dosis máxima de 125 unidades inhalatorias concluye, que existe una separación clara entre ambos grupos, con un ligero solapamiento entre ambas poblaciones. El método que utiliza para la provocación no se corresponde con ninguno de los protocolos estandarizados y propuestos por autores americanos²⁴⁴, canadienses²⁴ ni europeos²⁴⁵, por lo que estos resultados no se pueden comparar a los de otros trabajos.

2.- Lee²²⁷ en un trabajo realizado entre escolares de 7 años, afirma que una tercera parte de los niños asintomáticos, mediante una prueba de provocación bronquial con histamina, respondían por debajo de 16 mg/ml, y de ellos, algunos lo hacían a concentraciones muy bajas; sin embargo, no da una información detallada de las características de los sujetos estudiados ni de los resultados obtenidos en cada uno de ellos.

3.- Hopp²²⁴ estudia un total de 165 niños, 110 sanos y 55 con asma activo, con objeto de establecer la sensibilidad y especificidad de la provocación bronquial con metacolina, siguiendo el método descrito por Chai et al²⁴⁴. La mejor sensibilidad y especificidad (89% para cada una) la obtuvo con una PD₅₀FEV₁ de 100 unidades inhalatorias.

4.- Spiropoulos²²² al estudiar un grupo de niños sanos y otro con tos crónica, encuentra la mejor sensibilidad y especificidad (65% para cada una de ellas) con una PD₅₀ de 150 unidades inhalatorias. Para la realización de la provocación bronquial sigue el protocolo descrito por Chai²⁴⁴.

5.- Riedel et al²²⁹ estudian la sensibilidad bronquial a la histamina en 38 niños sanos y comparan su respuesta con un grupo similar de asmáticos, utilizando el método descrito por Cockcroft²⁴⁴. En sus resultados afirman

que el 79% de los niños sanos respondieron por debajo de 8 mg/ml, considerándose, por tanto, hiperreactivos si se aplican los mismos índices de positividad que para adultos. Hubo un solapamiento entre los dos grupos, y sugieren que una concentración de 1.75 mg/ml de histamina podría separar a los niños normorreactivos de los hiperreactivos.

6.- Recientemente, Backer et al²³⁰ han publicado un trabajo sobre sensibilidad y especificidad de la provocación bronquial con histamina para el diagnóstico de asma en niños y adolescentes. El protocolo de provocación se ajusta al descrito por Cockcroft²⁴. La mejor sensibilidad y especificidad la obtienen con un punto de corte para la PC₂₀FEV₁ de 8 mg/ml, siendo en este caso el valor predictivo positivo bajo (35%); en cambio, al considerar como punto de corte para la PC₂₀ una concentración más baja, 2.4 mg/ml, la sensibilidad disminuye, pero aumenta el valor predictivo positivo hasta un 60%.

7.- Y, por último, en nuestro país sólo hemos encontrado un trabajo publicado que haga referencia a la respuesta bronquial inespecífica con metacolina o histamina en niños sanos. Michavila et al²³¹ siguiendo un método similar al descrito por Cockcroft²⁴, realizan un test de metacolina a 40 niños, de los cuales, sólo 10 son controles sanos y sin antecedentes familiares de asma. Considerando como límite de positividad 8 mg/ml, obtienen una perfecta

diferenciación entre éstos y los niños asmáticos, pero no disponemos de grupos más amplios que corroboren estos hallazgos.

3.10.- REPRODUCTIBILIDAD

En reiteradas ocasiones, se ha hecho hincapié sobre la necesidad de realizar la provocación bronquial con agentes farmacológicos, según un método estandarizado, para que los resultados de diferentes estudios se puedan comparar^{245,250,252,292,293}, e incluso, hay quienes afirman que para poder interpretar los resultados, valorarlos adecuadamente y poder hacer comparaciones válidas entre las poblaciones estudiadas, la reproductibilidad o repetibilidad del test se debe establecer^{294,295}.

Tanto al emplear el método de Cockcroft, como el de Chai, se ha obtenido una buena reproductibilidad²⁵⁶.

En adultos, diversos autores^{226,256,292,296-301}, han estudiado la reproductibilidad de la provocación bronquial con metacolina o histamina, variando los resultados de unos a otros. La reproductibilidad de la $PC_{20}FEV_1$ comunicada en estos trabajos, oscila desde ± 1 concentración doble^{226,256,292,298,300} hasta ± 2.4 concentraciones dobles²⁹⁷. Para la $PD_{20}FEV_1$ la repetibilidad observada, también ha sido diferente, desde ± 1 dosis doble³⁰¹ hasta ± 2.5 dosis dobles²⁹⁹.

Los datos de que disponemos sobre reproductibilidad en niños son muy escasos^{27,295,302-304}. De estos trabajos publicados, ninguno corresponde a autores españoles. Unos hacen referencia a la reproductibilidad de la PC_{20} ^{302,303}, y otros a la de la PD_{20} ^{37,295,304}. Hay diferencias en los resultados de unos a otros; desde los que establecen una reproductibilidad muy alta al realizar los dos tests de provocación con un intervalo de 1 semana³⁷, 1 mes³⁷ y hasta 2 meses³⁰³, hasta los que encuentran una rápida disminución a las 24 horas³⁰². Por ello, hay quienes insisten²⁹⁹ en que cada laboratorio ha de valorar cuidadosamente este aspecto de la provocación ya que no sería correcto asumir los resultados obtenidos por otros.

3.11.- COMPARACION ENTRE TPB INESPECIFICOS

a) Comparación entre Histamina y Metacolina:

Tanto la histamina como la metacolina, se utilizan para cuantificar e identificar la presencia de hiperreactividad de las vías aéreas, aunque el mecanismo de acción, cuando se administran por vía inhalatoria, parece ser distinto; sin embargo, diversos investigadores han comparado la sensibilidad de los asmáticos y de personas sanas a la histamina y a la metacolina, y en general, han llegado a la conclusión de que existe una buena correlación.

Así, Townley et al¹⁰ en 1965 al comparar ambos fármacos en pacientes con asma y rinitis, encontraron resultados similares; igualmente, otros autores²⁰⁵ obtuvieron respuestas similares en asmáticos.

Juniper et al²²⁶ administraron histamina y metacolina a sujetos sanos y a asmáticos, y obtuvieron una buena correlación, aunque hubo un mayor número de efectos secundarios con la histamina y un pequeño efecto acumulativo con la metacolina pero, no con la histamina.

Aquilina²⁰⁶ encontró una buena correlación entre la concentración de histamina y metacolina para conseguir una PD_{20} igual.

Tanto la provocación bronquial con metacolina como con histamina, han presentado una utilidad similar para diferenciar la población asmática de la población

sana^{24.207}, aunque en otros trabajos⁷⁷, se ha demostrado que, a pesar de existir una buena correlación entre la sensibilidad a la histamina y a la metacolina, ésta ofrecía una mejor diferenciación entre asmáticos y sanos.

Bhagat et al²⁰⁸, en niños asmáticos, comprobaron que la metacolina es un indicador más sensible que la histamina de la reactividad de las vías aéreas.

b) Comparación entre fármacos inhalados y agentes físicos:

Aunque existen trabajos en los que al comparar la prueba de provocación con metacolina y ejercicio, encuentran, en general, una buena correlación^{77.209}, se ha podido demostrar que la metacolina ofrece una mayor sensibilidad^{208.210.211}, de manera, que ningún paciente con una prueba de metacolina negativa, dará una prueba de ejercicio positiva²¹²; por ello, se considera que en los hospitales donde pueda efectuarse una provocación inhalativa con metacolina, este método es más preciso que el test de esfuerzo en la valoración de la HB²¹³.

Mellis et al²¹⁴ al estudiar 50 niños asmáticos, concluyen que, cuando la prueba de provocación bronquial se hace con fines diagnósticos, la histamina es preferible al ejercicio por presentar una mayor sensibilidad.

Por otro lado, se ha demostrado una correlación

entre la respuesta de las vías aéreas a la hiperventilación isocápnica con aire a temperatura ambiente y con aire frío y la respuesta a la histamina y a la metacolina^{299,306,307}.

Al comparar la prueba de provocación con metacolina, agua destilada y solución salina hipertónica en la evaluación de la HB, la primera ofrece una mayor sensibilidad, pero menor especificidad que los estímulos no farmacológicos^{315,316}.

3.12.- PRECAUCIONES Y CONTRAINDICACIONES

a) **Precauciones:** Generalmente la exposición a la metacolina se tolera bien, pero, a veces, pueden surgir problemas. En ocasiones, los pacientes más jóvenes y niños experimentan gran ansiedad y respiran tan mal como si se les hubiese provocado el broncoespasmo, por lo que es preciso ofrecerles seguridad²⁰.

Se debe disponer de medicación broncodilatadora con el fin de revertir el broncoespasmo que pueda aparecer²⁴⁵ y, se aconseja que el espacio físico donde se realiza la prueba esté bien ventilado.

b) **Contraindicaciones:** Según Pratter et al²⁵¹, constituyen contraindicaciones absolutas para la prueba de provocación con metacolina, la urticaria colinérgica o hipersensibilidad específica a ella, y contraindicaciones relativas las siguientes:

- obstrucción de las vías aéreas en condiciones basales ($FEV_1 < 1.5$ litros); en este caso estaría indicado establecer la existencia o no de reversibilidad mediante un test broncodilatador

- historia de urticaria y/o angioedema sin filiar
- cardiopatías con situación clínica inestable
- embarazo

La SEPCR²⁴⁵ es más estricta y aconseja un FEV_1 del 80% con respecto a su valor de referencia. También

considera contraindicada la prueba si hay una respuesta positiva al diluyente.

3.13.- INDICACIONES

Existen discrepancias entre diversos autores sobre cuando se debe de realizar una provocación con metacolina o histamina. A continuación detallamos algunas situaciones en las que se ha propuesto como de interés:

- En el diagnóstico de asma: puesto que más del 80% de los sujetos que tuvieron asma en el pasado y el 98-100% de los asmáticos con síntomas en la actualidad tienen incrementada la reactividad de las vías aéreas²²⁻²⁴, aunque hay otras situaciones, como veremos después, en las que se puede demostrar la existencia de HB, la indicación de los tests de provocación bronquial está ampliamente aceptada^{229,231,245,217}. En base a la utilidad para el diagnóstico y control evolutivo de los pacientes asmáticos, el Comité Americano de la Asociación Médica para Trabajos Científicos, la ha considerado como un test fisiológico con utilidad clínica¹⁶.

La valoración de la HB tiene aún mucha mayor trascendencia cuando el asma se presenta con manifestaciones atípicas^{2-6,12-15} y la exploración física y exploración funcional respiratoria es normal.

- En la monitorización de la eficacia de diversos agentes terapéuticos²¹⁰.

- Existen otras cuatro indicaciones no aceptadas de forma generalizada²⁴⁵:

1a: En la evaluación de la severidad del asma: la relación entre nivel de HB y el grado de expresión clínica del asma, está sometida a debate. Algunos investigadores han encontrado una buena correlación entre el grado de HB y la severidad del asma^{10,23,24,26,252,319,320,321} (valorada a través de la frecuencia de las crisis, nº de hospitalizaciones, etc.) y las necesidades terapéuticas del paciente^{24-26,319}. Según el valor de la PC_{20} , se ha clasificado la HB en alta, moderada o baja²⁴, como indicamos a continuación:

ALTA, si la $PC_{20}FEV_1$ es menor de 0.125 mg/ml

MODERADA, entre 0.125 y 1 mg/ml

BAJA, entre 1 y 8 mg/ml

Para la PD_{20} se ha establecido la siguiente graduación²²:

ALTA, si la $PD_{20}FEV_1$ es menor de 50 unidades acumulativas (UA)

MODERADA, entre 50 y 200 UA

BAJA, entre 200 y 800 UA

Por otro lado, hay autores que no han encontrado una correlación significativa^{220.221.222} y otros que observan un gran solapamiento en el grado de HB entre asmáticos de diferente severidad²²³.

2a: Como parte del seguimiento y control evolutivo de un paciente asmático²⁴⁵.

3a: En el diagnóstico de asma ocupacional^{245.224} cuando el agente específico no puede ser identificado, las modificaciones ostensibles en la HB que experimentan los pacientes con asma ocupacional en relación con la exposición y retirada del ambiente laboral, son de gran ayuda para el diagnóstico.

4a: Por último, también el test de provocación bronquial se ha utilizado en estudios epidemiológicos sobre prevalencia y diagnóstico del asma en grandes poblaciones^{209.204.224-227}.

4.- ENFERMEDADES QUE CURSAN CON HB

La HB, aunque es un hallazgo muy característico de los sujetos asmáticos, no es exclusivo de ellos, por tanto, no puede considerarse como patognomónica del asma bronquial.

Se ha demostrado la existencia de HB en algunos pacientes con otras enfermedades pulmonares como, fibrosis quística²²⁸, bronquitis crónica^{229,230}, enfisema²³¹, sarcoidosis²³², pulmón de granjero²³³ y eosinofilia tropical²³⁴.

También se ha observado un aumento de la reactividad de las vías aéreas en sujetos con rinitis alérgica y no alérgica^{22,24,25,263,264,235,236} y en la poliposis nasal²³⁷.

5.- HB EN SUJETOS SANOS

Se ha demostrado, que los individuos sanos fumadores presentan un mayor grado de HB que los sujetos sanos no fumadores⁸⁷⁻⁸⁹. Otros autores no han hallado ninguna relación entre consumo de tabaco e HB⁹⁰. También, algunos sujetos, adultos y niños, fumadores pasivos, pueden presentar una hiperrespuesta al test de provocación con histamina o metacolina^{91,94,99}.

Además, se ha comprobado la existencia de un aumento de la reactividad de las vías aéreas en familiares de pacientes asmáticos⁹⁵. Por último, también existe un porcentaje de individuos sanos, sin antecedentes familiares de asma, no fumadores, que presentan una hiperrespuesta al test de provocación bronquial con histamina o metacolina^{22-24,27,28,32,33,35,38,201,203,209,229}, aunque éstos suelen responder a concentraciones más altas que los pacientes asmáticos.

El porcentaje de sujetos sanos que son hiperreactivos, varía de unos autores a otros, y está representado en la tabla VI para adultos y en la tabla VII para niños.

TABLA VI.- Hiperreactividad bronquial en Adultos Sanos.

Autor	Fármaco	HB (%)	Indice de positividad
Cockcroft ²⁴	Histam.	3	PC 20 < 8 mg/ml
Malo ²²	Metac.	3	PC 20 < 8 mg/ml
Parker ⁹ (*)	Metac.	0	< 125 UA
Prieto ²⁰¹	Metac.	6	PC 20 < 18 mg/ml
Townley ²²	Metac.	10.5	PD 20 < 200 UA
Fish ²⁰⁶	Metac.	0	PD 20 < 50 UA
Cockcroft ²³	Histam.	4.5	PC 20 < 8 mg/ml

Todos estos autores valoraron el descenso del FEV1 para determinar la Presencia o no de Hiperreactividad bronquial (HB).

UA: Unidades acumulativas.

(*): Valoró el porcentaje de descenso en el FEV1 sin calcular PC 20 ni PD 20.

TABLA VII.- Hiperreactividad bronquial en Niños Sanos.

Autor	Fármaco	HB (%)	Indice de positividad
Riedel ²⁰⁰⁹	Histam.	79	PC 20 < 8 mg/ml
Lee ²⁰⁰⁷	Histam.	33	PC 20 < 16 mg/ml
Michavila ²⁰⁰¹	Metac.	0	PC 20 < 8 mg/ml
Hopp ²⁰⁰⁴	Metac.	12	PD 20 < 100 UA
Parker ⁹ (*)	Metac.	0	< 125 UA
Spiropoulos ²⁰⁰⁰	Metac.	29	PD 20 < 150 UA
Backer ²⁰⁰⁹	Histam.	10.8	PC 20 < 8 mg/ml

Todos estos autores valoraron el descenso del FEV1 para determinar la presencia o no de HB, aunque Riedel en algunos niños también valoró la sGaw.

UA: Unidades acumulativas

(*): Valoró el porcentaje de descenso en el FEV1 sin calcular PC 20 ni PD 20.

II.- PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

El test de PB con metacolina es un procedimiento diagnóstico de gran utilidad clínica en la edad pediátrica⁶, bien tolerada por los niños y fácil de realizar, sobre todo si se utiliza el método del volumen corriente²⁴, ya que así no es necesario una sincronización entre la actuación del dosímetro y la maniobra de inhalación. Como hemos visto en la introducción, son muy escasos los trabajos publicados^{9,204,227-230} sobre el grado de HB que se puede encontrar en niños sanos, y de ellos sólo uno corresponde a autores españoles²³¹, sobre el cual hemos de hacer algunas consideraciones: primera, el número tan reducido de niños sanos sin antecedentes familiares de asma ni atopia incluidos en este estudio y, segunda, no establecen el valor predictivo de esta técnica diagnóstica. Además, entre esos estudios, hemos comprobado que los resultados son muy dispares y algunos diferentes a los obtenidos en adultos, incluso a pesar de haber utilizado la misma metodología. Por todo ello, creemos que es necesario disponer de unos datos o valores de referencia que nos permitan establecer una diferenciación entre niños normorreactivos e hiperreactivos, comparando para ello la respuesta bronquial a la metacolina entre un grupo de niños asmáticos y otro de niños sanos.

Hasta ahora, los estudios epidemiológicos publicados sobre prevalencia de HB en niños y adolescentes, no han tenido en cuenta este aspecto y han considerado como límite de positividad el mismo que en adultos^{91,209,204,225-227,229}, sin embargo, coincidimos con

otros autores²⁴⁰ en que una separación o punto de corte, aunque sea arbitrario, entre normorreactivos e hiperreactivos, ha de establecerse antes de que la prevalencia de la HB pueda ser determinada; ya que si de lo que se trata es de identificar a aquellos individuos que son hiperreactivos, primero tendremos que saber cuáles son éstos.

Por otra parte, como hemos visto en la introducción, de manera insistente, se aconseja que cada laboratorio establezca la reproductibilidad del test, ya que ésta puede variar de unos a otros investigadores.

Además, también hemos comprobado que existen cuestiones acerca de la PB con metacolina sin una respuesta concreta, que siguen siendo motivo de preocupación para algunos, como son, la influencia que puede tener el calibre basal de las vías aéreas en el grado de HB y, la utilidad de la PB con metacolina para valorar la severidad clínica del asma y las necesidades de medicación.

Por todo ello, los objetivos que nos hemos planteado en el presente trabajo son los siguientes:

- 1.- Analizar la utilidad de la PB con metacolina para el diagnóstico de asma en niños y adolescentes, es decir, pretendemos evaluar el grado de reactividad bronquial en un grupo de niños sanos y adolescentes y comparar su respuesta con un grupo similar de niños asmáticos, determinando la concentración de metacolina

(punto de corte) con la que se obtiene una mayor sensibilidad y especificidad para poder diferenciar ambas poblaciones.

2.- Establecer la reproductibilidad de la PB con metacolina, tanto en asmáticos como en sanos.

3.- Estudiar la posible influencia del calibre basal de las vías aéreas en la respuesta bronquial a la metacolina. Para ello, analizaremos si existe correlación entre los valores del FEV₁ y el FEF₂₅₋₇₅ en condiciones basales y el grado de HB.

4.- Determinar la importancia que otros factores, como la edad y el sexo, pueden tener sobre el nivel de HB.

5.- Estudiar en los niños asmáticos si existe una relación entre la severidad clínica del asma, valorada mediante una serie de criterios clínicos, terapéuticos y funcionales, y el grado de HB.

III.- MATERIAL Y METODOS

1.- PACIENTES ASMATICOS

1.1.- ORIGEN DE LOS PACIENTES

Fueron elegidos inicialmente para este estudio 126 pacientes, con edades comprendidas entre 6 y 15 años, diagnosticados de asma bronquial⁴², con asma activo en ese momento, que procedían de las consultas externas de Alergia y de Pediatría del Hospital Universitario "Virgen Macarena" de Sevilla, para realizarles un test de PB con metacolina.

1.2.- CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION

Para considerarlos asmáticos activos, se exigió que cumpliesen, al menos, uno de estos dos requisitos:

- haber sufrido, como mínimo, 3 episodios de broncoespasmo en el último año²²⁴

- haber presentado disnea, tos o sibilancias desencadenadas por el ejercicio físico, como mínimo en tres ocasiones, que precisara tratamiento broncodilatador en el último año.

Se descartaron aquellos que hubieran fumado y/o en tratamiento con corticoides inhalados durante más de 2 meses.

De los 126 niños y adolescentes, fueron excluidos 42 por los siguientes motivos:

- * 19 por presentar un patrón obstructivo en condiciones basales.

* 4 por presentar un descenso del FEV₁ mayor del 10% tras la administración del diluyente

* 12 por falta de colaboración en la realización de las maniobras respiratorias

* 7 por otros motivos

Teniendo en cuenta estos criterios de selección, la muestra definitiva de asmáticos activos, quedó constituida por 84 niños, 55 varones y 29 hembras, con una edad media de 10.11 ± 2.42 años (rango entre 6 y 15 años). De ellos, 81 habían sido diagnosticados de asma bronquial extrínseco por hipersensibilidad a diferentes neumoalergenos, ácaros, hongos, pólenes, y 3 de asma bronquial intrínseco, por no existir hasta la fecha unos factores causales conocidos⁴¹.

El test de PB con metacolina, en los niños con asma bronquial extrínseco, se realizó durante períodos de exposición ambiental al antígeno⁷⁹.

2.- SUJETOS SANOS

2.1.- ORIGEN DE LA MUESTRA

Se eligieron un total de 94 niños sanos de edades comprendidas entre 6 y 15 años. La mayoría procedía de centros escolares de nuestra ciudad y, el resto, de las consultas externas de Pediatría a las que habían acudido por presentar diversa sintomatología, en ningún caso eran

síntomas respiratorios y, que por presentar una evolución favorable y estar asintomáticos, estaban dados de alta. Todos se presentaron voluntariamente a la prueba.

2.2.- CRITERIOS DE INCLUSION Y DE EXCLUSION

Exigimos para poder incluirlos en el grupo de niños sanos, los siguientes requisitos:

- No presentar historia de asma, rinitis, episodios frecuentes de tos, mucoviscidosis o broncopatía crónica.

- Carecer de antecedentes familiares de asma y de historia personal y/o familiar de atopia (incluyendo familiares de dos generaciones).

Bajo estas condiciones, la muestra definitiva de sujetos sanos quedó constituida por 77 niños, al ser excluidos 17 por los siguientes motivos:

- * 2 por presentar un patrón obstructivo leve en condiciones basales

- * 10 por no realizar correctamente las maniobras respiratorias

- * 5 por otros motivos

3.- METODOS

3.1.- CUESTIONARIO CLINICO

Realizamos a todos los pacientes asmáticos un cuestionario detallado y recogimos los siguientes datos de sus historias clínicas:

1.- **Datos de filiación:** nombre, edad, sexo, Nº de historia, dirección y teléfono.

2.- **Diagnóstico:** precisando si se trataba de un asmático intrínseco o extrínseco, en este último caso señalábamos los neumoalergenos responsables.

3.- **Tiempo de evolución de los síntomas** (edad de comienzo)

4.- **Tratamiento** que venían realizando en los tres últimos meses para un buen control de sus síntomas: betaadrenérgicos, ketotifeno, CGDS, Teofilinas, Nedocromil sódico, corticoides, etc.

5.- **Antecedentes personales**

6.- **Antecedentes familiares**

7.- **Síntomas respiratorios predominantes**

8.- Patrón de los síntomas (perennes, estacionales)

9.- Factores que precipitan o agravan los síntomas:
catarros, ejercicio, risa, llanto, frío, etc.

10.- Frecuencia de las crisis (referidas al último año), duración de las mismas y fecha de la última crisis.

11.- Severidad clínica del asma: la severidad del asma se valoró mediante un sistema de puntuación o "score" en el que consideramos una serie de criterios clínicos, terapéuticos y funcionales que detallamos a continuación, indicando la puntuación asignada a cada respuesta entre paréntesis:

a) **Nº de crisis:** menos de 6 episodios al año (0), de 6 a 10 episodios al año (1), más de 10 episodios al año (2).

b) **Necesidad de un tratamiento de urgencia:** no necesitó (0), sí (1), sí y con ingresos hospitalarios (2).

c) **Tolerancia al ejercicio físico:** buena (0), disminución de la tolerancia (1), muy mala tolerancia (2).

d) **Descanso nocturno:** No interrumpido (0), se despierta esporádicamente (1), se despierta frecuentemente (2).

e) **Síntomas fuera de las crisis:** asintomático (0), síntomas leves (1), síntomas moderados o graves (2).

f) **Absentismo escolar:** buena asistencia a clase

(0), pierde días de colegio a veces (1), escolarización irregular (2)

g) Necesidad de medicación: broncodilatadores a demanda exclusivamente (0), broncodilatadores más tratamiento profiláctico entre episodios (1), necesidad de corticoides (2).

h) Función pulmonar: FEF_{25-75} basal mayor del 65% del teórico (0), FEF_{25-75} entre el 50 y el 65% (1) e inferior al 50% (2).

Según la puntuación obtenida, establecimos 3 categorías clínicas: **Asma Leve** si la puntuación era menor de 3, **Asma Moderado** entre 3 y 8 y **Asma Grave** entre 9 y 16.

A los sujetos sanos, además de una anamnesis dirigida al cumplimiento de los criterios de selección, interrogábamos con especial hincapié sobre posibles infecciones previas por VSR.

3.2.- TEST DE PROVOCACION BRONQUIAL (TPB) CON METACOLINA

3.2.1.- UTILLAJE

Para la realización de las pruebas de función pulmonar utilizamos un neumotacógrafo Pneumoscreen II de Erich Jaeger.

La metacolina empleada, era metacolina en polvo de

Sigma, y el diluyente PBS, es decir, una solución salina tamponada con fosfatos a pH 7.2

Disponíamos siempre de fármacos broncodilatadores, salbutamol y en otras ocasiones terbutalina, en aerosol, para administrarlos en aquellos casos en que se producían descensos importantes del FEV₁.

Utilizamos 2 nebulizadores Hudson 1720, (Temecula, Cal, USA; dist España Boc Medishield) para aerosolizar la metacolina y, la energía necesaria para ello, fue suministrada a partir de una fuente de oxígeno con un manómetro para ajustar el caudal necesario.

También utilizamos una balanza de precisión para calcular el débito de los nebulizadores, unas pinzas nasales y boquillas unidas al nebulizador para inhalación oral.

Para el procesamiento estadístico de los datos recogidos se ha utilizado un paquete estadístico comercializado en un PC compatible.

3.2.2.- METODOLOGIA

En primer lugar, tuvimos en cuenta una serie de factores que pueden originar modificaciones en la

respuesta^{227,245,252}, respetando los intervalos de tiempo durante los cuales se estima su influencia; de este modo, se indicó la suspensión de los betaadrenérgicos y anticolinérgicos en aerosol 12 horas antes de la exploración, las teofilinas rápidas 18 horas antes, los betaadrenérgicos orales 24 horas antes, las teofilinas de acción retardada, CGDS y Ketotifeno, 48 horas antes, los antihistamínicos 48 horas antes, excepto hidroxicina 96 horas y astemizol 15 días antes.

No indicábamos la suspensión de los corticoides, ya que no existe unanimidad de criterios en este sentido y, en la mayoría de los trabajos revisados, sus autores continúan con su administración^{27,226,222,224,229}. Además, por el momento, la SECPR²⁴⁵ no aconseja su supresión antes de evaluar la HB. De todas formas, en nuestro estudio no fueron incluidos pacientes que llevaran más de dos meses con corticoides inhalados.

También era imprescindible que los sujetos no hubieran padecido infecciones respiratorias altas o bajas, ni recibido la vacuna antigripal en las 6 semanas previas al test.

Comenzábamos dando las instrucciones necesarias y explicándoles detalladamente el método e intentamos, siempre que fue posible, realizar la exploración en grupos de 2 o 3 con objeto de establecer una relación competitiva entre ellos y lograr así la máxima colaboración.

La maniobra respiratoria consistía, primero, en respirar con normalidad, tranquilamente y después realizar una inspiración máxima, a continuación, unos segundos de apnea y después una espiración forzada hasta su volumen residual, realizada a la mayor velocidad posible. La posición de los niños para realizar esta exploración fue siempre de pie, con la nariz tapada, el tronco erecto y el cuello extendido^{241,242}. (Figura 2).

Una vez los considerábamos entrenados y capaces de realizar una maniobra de espiración forzada repetible y aceptable^{243,244}, procedíamos a la PB con metacolina.

Cada día, antes de iniciar las exploraciones, realizábamos la calibración del neumotacógrafo mediante jeringa de 1 litro exacto, teniendo en cuenta las condiciones meteorológicas de temperatura, presión atmosférica y porcentaje de humedad relativa.

Para la realización del test, se siguió un método similar al propuesto por Cockcroft et al²⁴, con algunas de las modificaciones adoptadas en nuestro país por Prieto et al^{229,237}.

Inicialmente, tras haber introducido los datos del niño referentes a edad, peso, sexo y talla, éste realizaba tres maniobras de espiración forzada, tal y como hemos detallado anteriormente, en el neumotacógrafo, que al estar

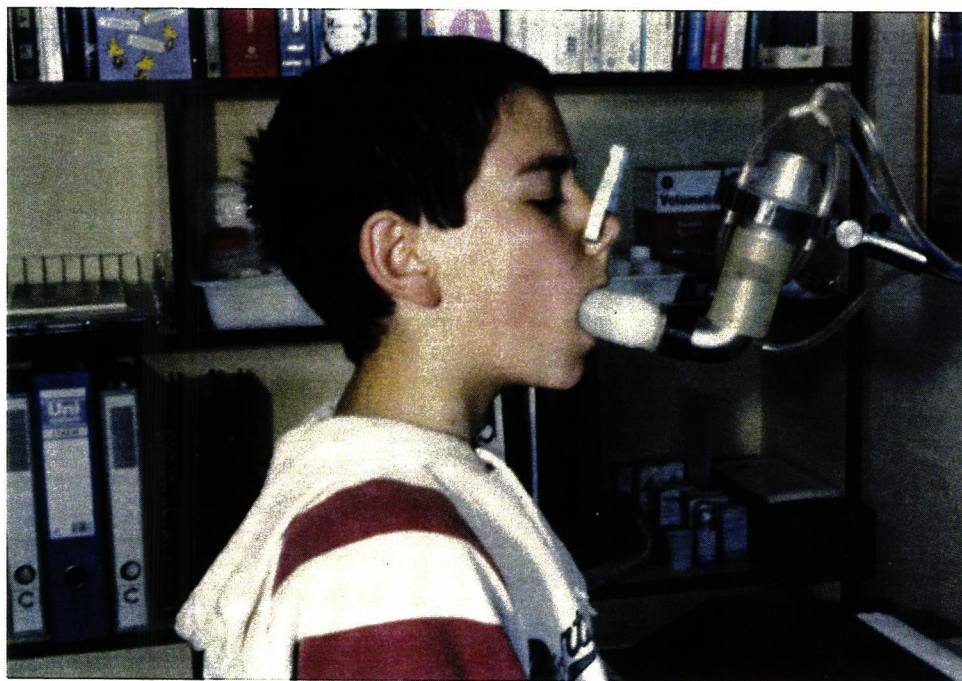


Figura 2.- Niño realizando maniobra de espiración forzada

controlado por un microprocesador nos garantizaba la estabilidad de las mediciones y su precisión, escogiendo la mejor de las tres curvas flujo-volumen bien realizadas por el sujeto. A continuación, quedaba reflejado en la pantalla del ordenador, la correspondiente curva flujo-volumen y la curva volumen-tiempo; así como los parámetros respiratorios del niño (FVC, FEV₁, PEF, FEV₁/FVC%, FEF₂₅, FEF₅₀, FEF₇₅ y FEF₂₅₋₇₅), tanto en valores absolutos como en porcentajes con respecto a su valor teórico, según un paquete de valores nominales de Zapletal²⁴⁵. Al no disponer ese paquete de valores de referencia para el FEF₂₅₋₇₅, utilizamos para este parámetro las tablas de Cobos²⁴⁶.

Se excluyeron del estudio los niños con un FEV₁²⁴⁵ y una FVC²⁴⁵ basales inferiores al 80% del valor teórico y un cociente FEV₁/FVC% menor del 75%²⁴⁷.

Después, comenzábamos administrando el diluyente (PBS) y a los 3 minutos se realizaba una nueva exploración funcional respiratoria. Aquellos niños en los que se objetivaba un descenso del FEV₁ superior al 10% con respecto al valor basal eran excluidos. En los restantes, continuábamos administrando a intervalos de 5 minutos las diferentes concentraciones de metacolina, empezando por 0.0375 mg/ml y duplicando las concentraciones hasta llegar a 25 mg/ml; por tanto, las concentraciones de metacolina administradas fueron las siguientes: 0.0375, 0.075, 0.15, 0.31, 0.62, 1.25, 2.5, 5, 10 y 25 mg/ml. Igualmente, a los

3 minutos de administrar cada concentración se realizaba una exploración funcional respiratoria. La provocación se daba por finalizada cuando ocurría un descenso en el FEV₁ de un 20% o mayor con respecto al valor basal (considerando como tal el obtenido tras inhalar el PBS), o tras administrar la concentración más alta de metacolina.

Los aerosoles se generaron en forma continua, utilizando 2 nebulizadores Hudson 1720, con 2 ml de la solución a administrar, y mediante una boquilla para inhalación oral, siendo activados por un flujo de oxígeno de 5 l/min, con lo cual, el gasto de los mismos era de 0.201 ± 0.015 ml/min.

Para calcular el gasto de nuestros nebulizadores recurrimos al método de la doble pesada²³⁰. Para esto, pesamos cada uno de ellos, antes y después de haberlos hecho nebulizar durante 2 minutos, con la cantidad de solución y flujo de oxígeno anteriormente señalados, repitiendo esta maniobra 8 veces con cada uno de ellos; con los valores obtenidos calculamos el gasto medio y la desviación típica.

Según el fabricante, el diámetro medio de masa aerodinámica (MMAD) de las partículas generadas por nuestro nebulizador era de 2 micras.

Las distintas concentraciones de metacolina las preparábamos a partir de una solución madre de 25 mg/ml, conseguida al mezclar 2.5 gr de metacolina en polvo con 100

ml de PBS. La solución de 25 mg/ml la guardábamos en frigorífico a 4°C, empleándola a temperatura ambiente y era renovada cada mes²²². Las otras soluciones eran preparadas a diario utilizando PBS como diluyente.

Los aerosoles, como dijimos anteriormente, eran inhalados a través de una pieza bucal, durante 2 minutos, mediante respiración a volumen corriente, manteniendo mientras tanto el niño la nariz tapada con una pinza nasal. (Figura 3).

Todas las provocaciones fueron realizadas siempre por la misma persona y por las mañanas, de 9 a 15 horas, para evitar las horas de máximo o mínimo flujo^{10.66}.

La respuesta al test se valoró mediante la $PC_{20}FEV_1$, que expresa la concentración de metacolina (en mg/ml) que produce un descenso del 20% del FEV_1 con respecto al valor obtenido tras inhalar el diluyente; para calcularla se construyó en un papel semilogarítmico la curva dosis-respuesta obtenida en cada sujeto, representando en el eje logarítmico las concentraciones de metacolina administradas y, en el eje aritmético, los descensos del FEV_1 en porcentaje con respecto al valor obtenido tras el diluyente. La $PC_{20}FEV_1$ se obtuvo interpolando entre la concentración de metacolina que producía un descenso mayor del 20% y la concentración previa²⁴. (Figura 4)

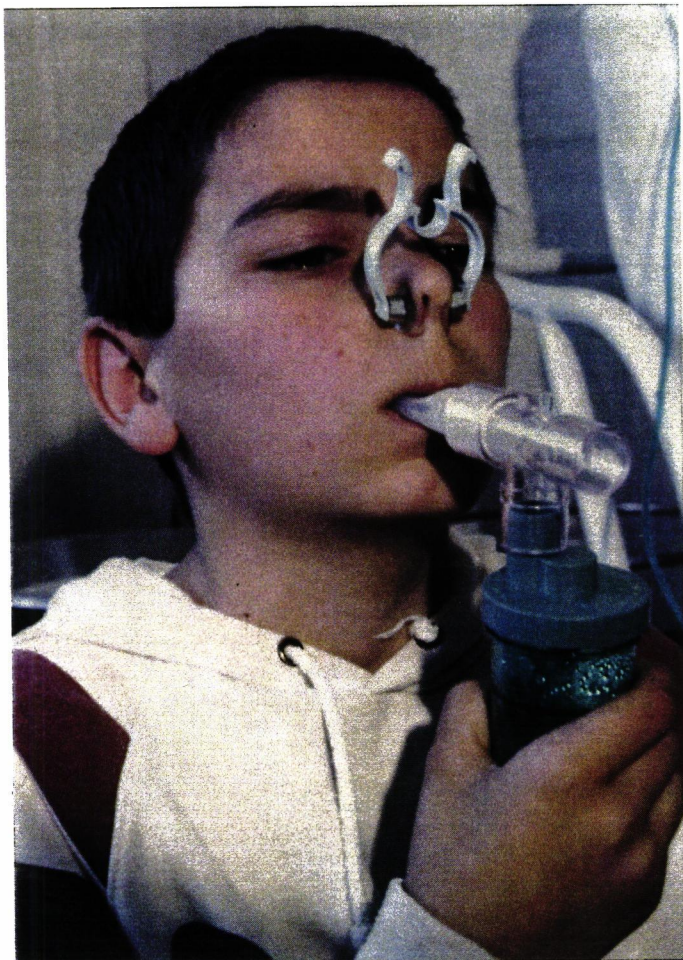


Figura 3.- Niño inhalando el aerosol generado por un nebulizador Hudson 1720.

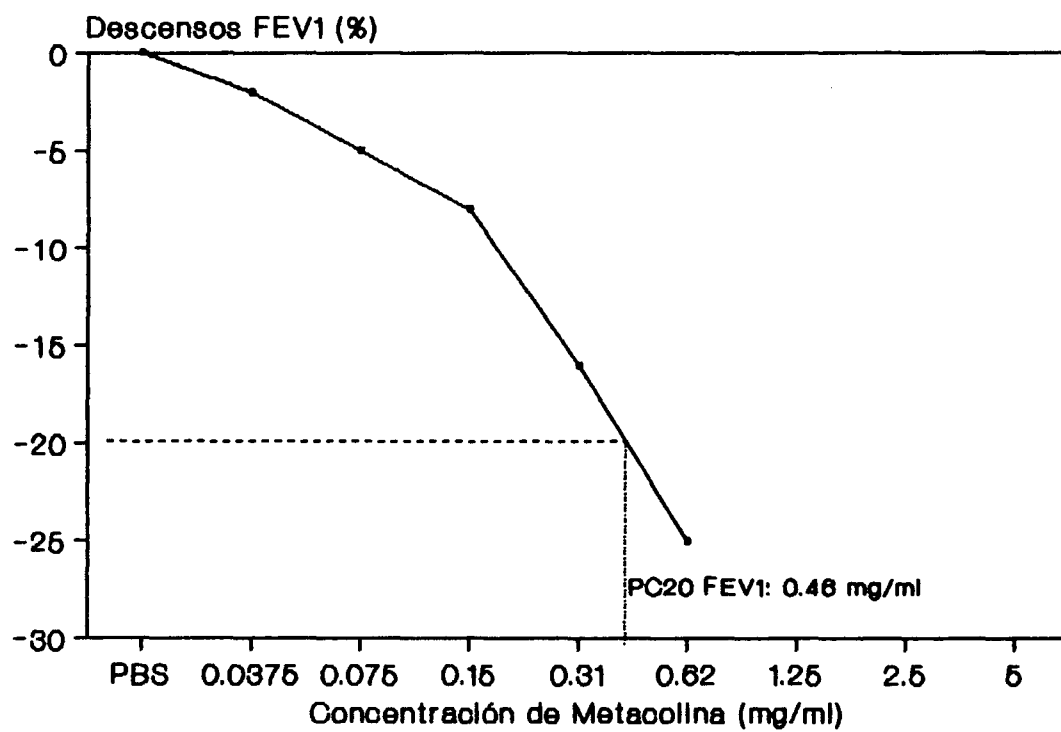


Figura 4.- Curva dosis-respuesta en un niño asmático.

Cuando la caída en el FEV₁ era superior al 20% después de administrar la primera concentración de metacolina, la PC₂₀ la calculábamos mediante la siguiente fórmula²⁴:

$$PC_{20}FEV_1 = \frac{\text{Concentración de metacolina} \times 20}{\text{Descenso FEV}_1 (\%)}$$

Aquellos niños, en los que tras administrar la concentración más alta de metacolina, el descenso en el FEV₁ era inferior a un 20% con respecto al basal, fueron calificados como no respondedores (Figura 5).

Una vez finalizada la prueba, a los niños que respondieron a la metacolina, les administrábamos salbutamol o terbutalina en aerosol para revertir la broncoconstricción provocada.

Con objeto de establecer la reproductibilidad de la provocación con metacolina, repetimos ésta a 10 niños asmáticos y a 10 niños sanos con un intervalo de 24 horas entre las dos exploraciones. El segundo test lo realizamos a la misma hora que el anterior, cumpliendo como requisito que el FEV₁ basal no variara más de un 10% con respecto al del día anterior²⁷.

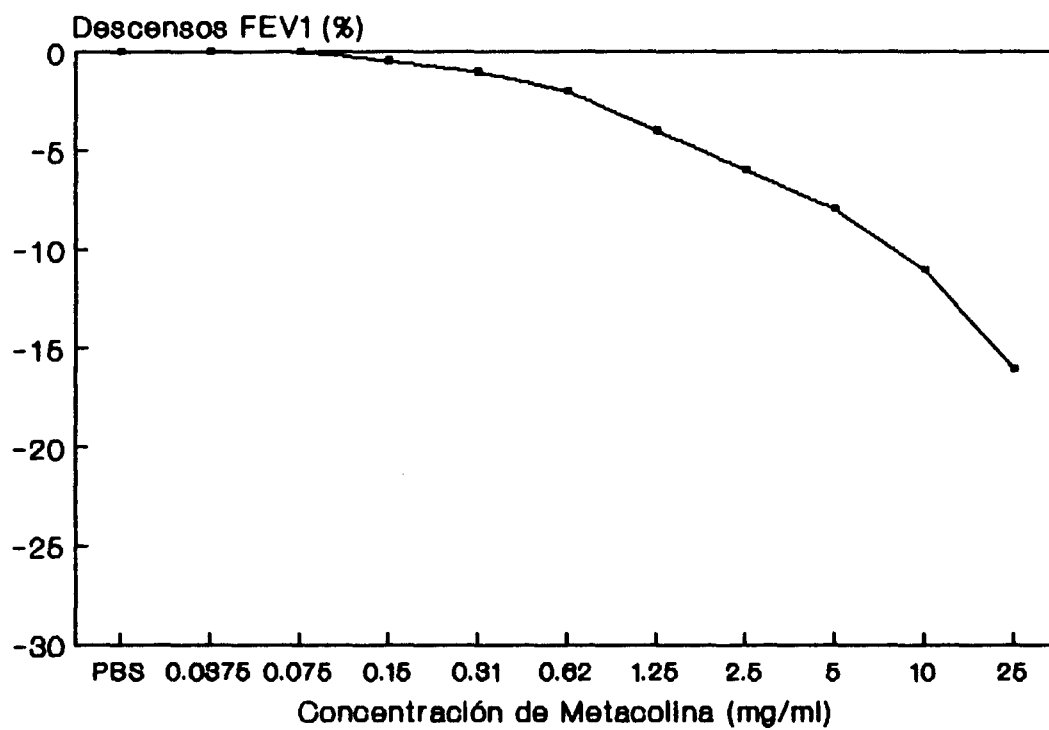


Figura 5.- Curva dosis-respuesta en un niño sano no respondedor.

4.- METODOLOGIA ESTADISTICA

Las variables medidas en la muestra utilizada han constituido la base de datos que se ha creado para analizarla mediante un paquete estadístico comercializado en un PC compatible.

Se ha realizado un estudio estadístico descriptivo de todas las variables; en las variables cuantitativas los datos obtenidos han sido la media, la desviación típica, el error standard y los valores máximo y mínimo^{34e}. Para las variables cualitativas hemos calculado la frecuencia, en valor absoluto y en porcentaje.

Para la comparación de variables cuantitativas se ha utilizado el test de la t de Student de comparación de medias y para las variables cualitativas el test de la chi cuadrado con la corrección de Yates en los casos en que ha sido necesario^{34e}.

La detección de relaciones entre las diferentes medidas con respecto a la $PC_{20}FEV_1$ se ha realizado utilizando el coeficiente de correlación lineal de Pearson, y también se ha usado para analizar la reproductibilidad del test.

Aplicamos un análisis de la varianza para detectar si existen diferencias entre las medias obtenidas en

diferentes grupos, continuando el estudio con los tests de comparación múltiple (prueba de Newman-Keuls) para efectuar una determinación particularizada de las diferencias entre las medias obtenidas²⁴⁸.

Por último, la determinación de la utilidad diagnóstica del test se ha realizado a través de los cálculos de sensibilidad y especificidad²⁴⁹ ajustando, posteriormente, la correspondiente curva característica operador-receptor (curva ROC)²⁵⁰.

IV.- RESULTADOS

En las Tablas VIII y IX están detalladas las características de los niños asmáticos y sanos respectivamente, referentes a edad, sexo, función pulmonar basal y $PC_{20}FEV_1$.

1.- CARACTERISTICAS DE LAS MUESTRAS

El grupo de pacientes asmáticos estaba constituido por 84 niños, de edades comprendidas entre 6 y 15 años, con una media y desviación típica de 10.11 ± 2.42 años. De ellos, 55 (65%) eran varones y 29 (35%) eran hembras.

El grupo de sujetos sanos estaba formado por 77 niños de edades comprendidas entre 6 y 15 años, siendo la media y la desviación típica de 10.2 ± 2.42 . En cuanto al sexo, 46 (60%) eran varones y 31 (40%) hembras.

En la Figura 6 está representada la distribución por edades de ambos grupos.

Comprobamos la homogeneidad de los dos grupos en las variables edad y sexo, no detectándose diferencias significativas.

En la Tabla X expresamos de manera resumida la edad y el sexo de los dos grupos.

2.- CUESTIONARIO CLINICO

Los resultados del cuestionario clínico en los niños asmáticos, están detallados en la Tabla XI.

De los 84 asmáticos, 81 estaban diagnosticados de asma bronquial extrínseco y 3 de asma intrínseco. De los 81 con asma extrínseco, 60 presentaban una sensibilización a ácaros, 3 a ácaros y a alternaria, 1 a alternaria, 1 a ácaros y epitelio de gato, 6 a ácaros y pólenes de gramíneas, 3 a ácaros y pólenes de gramíneas y olivo, 5 a pólenes de gramíneas y 2 a polen de olivo y pólenes de gramíneas.

Los resultados obtenidos en cuanto a Tiempo de evolución, Tratamiento que venían realizando, Frecuencia de las crisis y Severidad clínica del asma (Leve, Moderado, Grave) están reflejados en la Tabla XI.

Con respecto al Tiempo medio de evolución del asma en los 84 pacientes, fue de 6.04 ± 3.11 años, con un rango entre 1 y 13.5 años. El número de crisis que habían presentado en el último año oscilaba entre 3 y 26, con una media y desviación típica de 7.27 ± 5.99 .

En cuanto al tratamiento que venían realizando para un buen control de sus síntomas, de los 84 pacientes asmáticos estudiados, 24 (28.6%) estaban recibiendo solamente broncodilatadores en aerosol a demanda, 48 (57.1%) broncodilatadores a demanda más ketotifeno o CGDS y 12 (14.3%) broncodilatadores a demanda más ketotifeno o CGDS y corticoides inhalados (Tabla XII).

La evaluación de la severidad del asma (leve, moderado o grave) en base a la puntuación obtenida al

valorar diferentes criterios clínicos, terapéuticos y funcionales está reflejada la Tabla XIII. La mitad de nuestros pacientes (42) presentaban clínicamente un asma moderado, 33 (39.3%) un asma leve y 9 (10.7%) un asma grave.

En el interrogatorio no encontramos ningún niño sano que hubiese padecido bronquiolitis durante el primer año de vida.

3.- FUNCION PULMONAR EN SITUACION BASAL

Los parámetros respiratorios seleccionados fueron los siguientes: FVC, FEV_1 , FEF_{25-75} y $FEV_1/FVC\%$. Los resultados de la exploración funcional respiratoria en condiciones basales para asmáticos y sanos está detallada en las tablas VIII y IX respectivamente.

Tanto los niños asmáticos como los sanos tenían un FEV_1 y una FVC mayor o igual al 80% de su valor teórico y un cociente $FEV_1/FVC\%$ mayor o igual al 75%, ya que estos valores eran requisito imprescindible para la realización de test de PB con metacolina.

La FVC presentó valores similares en asmáticos y en sanos; en los primeros osciló entre un 80% y un 125% con una media y desviación típica de 96.7 ± 8.8 , y en los segundos entre un 80% y un 128% (96.7 ± 10.2).

Los valores del FEV_1 en condiciones basales presentaron un rango entre 80% y 119% (95.4 ± 8.4) en el

grupo de asmáticos y, entre 82% y 128% (100.3 ± 11.1) en los niños sanos.

El FEF_{25-75} , en el grupo de asmáticos osciló entre un 47% y un 145% (77.65 ± 17.06), y 20 (23.8%) de ellos, tenían un FEF_{25-75} inferior o igual al 65% del teórico.

En el grupo de sanos, los valores del FEF_{25-75} tenían un rango entre 64% y 148% (94.53 ± 17.59) y en todos, excepto dos, (uno con un 64% y otro con un 65%) era superior al 65% de su valor teórico.

Como vemos en la tabla XIV los valores de todos los parámetros, excepto para la FVC, eran significativamente más bajos ($p < 0.001$) en asmáticos que en sanos.

4.- SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA PB CON METACOLINA. PUNTO DE CORTE PARA LA PC_{20}

Los resultados de la PB con metacolina los expresamos como $PC_{20}FEV_1$ (concentración de metacolina que origina un descenso en el FEV_1 de un 20% con respecto al valor obtenido tras inhalar el diluyente. Aquellos niños en los que el descenso del FEV_1 fue inferior al 20% tras haber inhalado la máxima concentración de metacolina (25 mg/ml), fueron calificados como no respondedores.

Todos los niños asmáticos respondieron a la prueba excepto uno (1.2%); en cambio, en el grupo de sanos hubo 13 (16.9%) que no respondieron. De los 83 asmáticos respondedores, 64 (77%) presentaban una $PC_{20} < 1$ mg/ml; y

de los 64 sanos que respondieron, en 2 (3.12%) la PC_{20} era inferior a 1 mg/ml.

La PC 20-FEV₁ obtenida en cada individuo está detallada en la Tabla VIII para los niños asmáticos y en la Tabla IX para los sanos.

En asmáticos la PC 20 osciló entre 0.025 mg/ml y 6.5 mg/ml (0.71 ± 1.06) y en sanos entre 0.3 mg/ml y 20.5 mg/ml (9.32 ± 4.39).

El objetivo fundamental del estudio ha sido determinar la utilidad diagnóstica de la PB con metacolina en niños. Para ello, se ensayan diferentes puntos de corte con la variable $PC_{20}FEV_1$, estudiando la curva ROC (Figura 7), a través de los valores de sensibilidad y especificidad y determinando el máximo de dicha curva. Los valores de PC_{20} que se pueden considerar varían entre 0.3 y un máximo de 6.5 mg/ml (valores por debajo de 0.3 corresponden siempre a niños asmáticos y por encima de 6.5, corresponden siempre a niños sanos, según los datos de nuestro estudio). Tenemos, por tanto, la siguiente distribución de los valores de Especificidad y Sensibilidad para diferentes puntos de corte en la PC_{20} , que están reflejados en la Tabla XV.

El valor de PC_{20} donde conseguimos mejores resultados es el de $PC_{20}FEV_1 = 5$ mg/ml, según este punto de corte, la Sensibilidad de la prueba es de un 97.6%, la Especificidad de un 89%, la Tasa de Falsos Negativos = 2.4%, la Tasa de Falsos positivos = 11%, el Valor

Predictivo Positivo = 92% y el Valor Predictivo Negativo = 96.6% (Tabla XVI).

Si consideramos un punto de corte más bajo, por ejemplo, 1 mg/ml, en este caso la Sensibilidad es de un 77%, la especificidad de un 97%, el Valor Predictivo Positivo es un 97% y el Valor Predictivo Negativo un 76.5%.

5.- INFLUENCIA DE LA EDAD Y EL SEXO EN LA RESPUESTA A LA METACOLINA

Hemos estudiado la implicación que otros factores como el sexo y la edad pueden tener sobre la respuesta bronquial a la metacolina. Dicha influencia la estudiamos en la muestra de sujetos sanos para evitar que otras causas ajenas a las propias medidas distorsionen los resultados. Todos los niños sanos se encontraban en los percentiles normales de peso y talla para su edad y sexo.

Al analizar la relación entre la $PC_{20}FEV_1$ y el sexo, no se detecta una diferencia estadísticamente significativa de la media de la PC_{20} entre varones y hembras, con lo cual, podemos afirmar que la $PC_{20}FEV_1$ no está asociada con el sexo.

Al estudiar la correlación de la edad con la $PC_{20}FEV_1$ en niños sanos, vemos que sí existe una correlación significativa, $r=0.3$, siendo $p<0.05$. En la Figura 8 representamos la influencia de la edad en la PC_{20} . Además, es importante reseñar, que la edad media de los 13

niños sanos que no presentaron una respuesta a la metacolina (12.54 ± 1.55 años), era significativamente mayor ($p < 0.001$) que la edad media de los 63 niños restantes que sí respondieron (9.72 ± 2.27).

Según estos resultados, pensamos que era interesante analizar la utilidad diagnóstica de la PC_{20} separando entre 2 grupos de edades (niños hasta 10 años y niños mayores de 10 años), por si podía haber alguna diferencia con respecto al valor hallado en el total de niños. En la Tabla XVII detallamos los valores de Sensibilidad y Especificidad en ambos casos. Vemos que el punto de corte óptimo que se obtenía para la PC_{20} en el grupo general, se mantiene en ambos subgrupos, pero en los mayores de 10 años, obtenemos unos valores muy altos, tanto de Sensibilidad (97.22%) como de Especificidad (95.83%)

En el grupo de edad inferior, hay 6 niños (15%) que tienen una $PC_{20}FEV_1$ inferior a 5 mg/ml, mientras que solamente uno de los mayores de 10, es decir, el 4.16%, tiene una PC_{20} por debajo de 5 mg/ml.

En las Figuras 9 y 10 mostramos la respuesta a la metacolina, expresada mediante la $PC_{20}FEV_1$, en los dos grupos estudiados, asmáticos y sanos, separados por edades (niños hasta 10 años y niños mayores de 10 años). Como vemos, existe un mayor solapamiento entre sanos y asmáticos en los más pequeños.

6.- REPRODUCTIBILIDAD DE LA PB CON METACOLINA

La PB con metacolina mostró una buena reproductibilidad a corto plazo, tanto en niños asmáticos como en niños sanos. En ambos casos obtuvimos un buen coeficiente de correlación entre ambas mediciones de la $PC_{20}FEV_1$ ($r=0.86$, para los asmáticos, con una $p<0.01$ y un $r=0.90$ para sanos con $p<0.001$). En las Figuras 11 y 12 están representadas la reproductibilidad en niños asmáticos y sanos respectivamente. Como vemos, la respuesta se reproduce con un margen de ± 1 concentración doble de metacolina.

7.- CALIBRE BASAL Y RESPUESTA A LA METACOLINA

Hemos analizado la correlación existente entre el FEV_1 y el FEF_{25-75} , expresados en porcentajes con respecto a los valores teóricos, y la PC_{20} , tanto en asmáticos como en sanos.

En asmáticos, no hemos encontrado una correlación significativa entre los valores del FEV_1 basal y la PC_{20} ($r=0.14$). En cambio, sí hemos hallado una correlación significativa entre el FEF_{25-75} basal y la PC_{20} ($r=0.41$ y $p<0.001$). En la Figura 13 representamos esta correlación.

En el grupo de sanos, no hemos encontrado una correlación significativa entre el FEV_1 basal y la PC_{20} ($r=0.006$), así como tampoco entre el FEF_{25-75} basal y la PC_{20} ($r=0.04$).

8.- SEVERIDAD DEL ASMA E HB

Para completar este estudio hemos establecido, según la respuesta a la metacolina, varios grados de HB siguiendo la escala propuesta por Cockcroft et al²⁴, pero con algunas modificaciones adaptadas al punto de corte que hemos obtenido y a la reproductibilidad del test. Así, hemos considerado la HB del paciente como:

HB ALTA si la $PC_{20}FEV_1$ es < 0.125 mg/ml

HB MEDIA entre 0.125 y 1 mg/ml

HB BAJA entre 1 y 10 mg/ml

RESPUESTA NEGATIVA si la $PC_{20}FEV_1$ es > 10 mg/ml

En los asmáticos hemos estudiado y analizado una serie de parámetros clínicos, (Tiempo de evolución, Severidad del asma y necesidades de medicación) y su relación con el grado de HB, cuantificado por la PC_{20} .

En primer lugar, no hemos encontrado una correlación significativa entre el Tiempo de evolución y la $PC_{20}FEV_1$ ($r=-0.007$), ni diferencias significativas en el tiempo de evolución entre los pacientes con HB baja, media o alta (Tabla XVIII). En cambio, sí hemos obtenido una correlación inversa significativa con la Severidad del asma ($r=-0.36$ y $p<0.001$), valorada mediante un "score", aunque el valor de r es bajo. Como puede apreciarse en la Figura 14 existe una cierta dispersión en la puntuación de la severidad en relación con el grado de HB. De todos modos,

solamente en uno de nuestros pacientes asmáticos con HB alta ($PC_{20}FEV_1$ inferior a 0.125 mg/ml) el asma era clínicamente leve (puntuación inferior a 3 puntos), y en ninguno de los pacientes con asma grave (puntuación entre 9 y 16) la HB fue baja ($PC_{20}FEV_1$ superior a 1 mg/ml). Desde el punto de vista estadístico, la asociación entre categoría clínica (asma leve, moderado o grave) y el grado de HB (HB baja, media o alta) ha sido significativa (chi cuadrado=21.91 y $p<0.001$) (Figura 15). Mediante un análisis de la varianza no hemos detectado diferencias significativas entre los valores de las medias de la $PC_{20}FEV_1$ según las necesidades de medicación (Tabla XIX), pero sí encontramos diferencias significativas con $p<0.01$, entre los valores de la media de la PC_{20} , en función de la severidad del asma. Vemos, mediante el test de comparación múltiple, que existe una diferencia significativa del valor de la PC_{20} entre los grupos de asma leve y moderado ($p<0.05$) y entre los grupos de asma leve y grave ($p<0.05$), pero no entre los grupos de asma moderado y asma grave (Tabla XX).

Por último, en la Figura 16 representamos el rango de las diferentes $PC_{20}FEV_1$ obtenidas en los sujetos de cada uno de los grupos en función de la graduación clínica del asma. Como vemos, hay un solapamiento entre los niveles individuales de PC_{20} entre las tres categorías clínicas de asma: leve, moderado y grave.

**V.- TABLAS Y FIGURAS DE LOS
RESULTADOS**

TABLA VIII.- Características de los Niños Asmáticos: Edad y Sexo. Resultados de la Exploración Funcional Respiratoria en situación basal y de la Provocación Bronquial con metacolina (PC₂₀ FEV₁).

Nº	S	E	FVC	FEV₁	FEF₂₅₋₇₅	FEV₁/FVC%	PC₂₀
1	H	8	107	106	92	96	1.25
2	V	12	90	106	145	115	6.5
3	V	6	92	97	66	101	0.30
4	V	13	90	95	86	102	0.40
5	V	8	94	96	78	97	0.19
6	V	6	99	94	71	90	0.28
7	H	9	96	95	73	97	0.33
8	V	10	101	95	76	92	0.62
9	V	8	92	97	88	102	0.40
10	H	9	100	99	73	96	1.70
11	V	14	100	86	63	85	NR
12	V	8	92	89	58	92	2.15
13	V	10	99	99	87	97	1.20
14	V	8	94	97	86	99	0.59
15	V	12	107	102	75	92	0.36
16	H	13	91	88	73	96	0.70
17	H	12	99	98	82	97	0.25
18	H	12	90	94	90	103	2.10
19	H	10	88	80	51	80	0.15
20	H	11	105	109	103	103	1
21	H	9	91	90	68	96	0.68
22	H	12	99	94	73	93	0.035
23	V	8	84	94	103	108	0.60
24	V	10	111	106	73	92	0.05

TABLA VIII.- (continuación)

NO	S	E	FVC	FEV ₁	FEF ₂₅₋₇₅	FEV ₁ /FVC%	PC ₂₀
25	V	7	105	93	60	85	0.23
26	V	10	94	95	72	97	5.2
27	V	10	99	98	79	95	0.46
28	V	6	98	90	54	86	0.05
29	V	6	98	94	58	91	0.20
30	H	13	125	119	94	93	0.26
31	V	11	82	84	75	99	0.30
32	V	13	89	82	54	85	0.045
33	V	9	99	102	87	99	1.15
34	V	12	111	104	81	92	0.06
35	H	6	105	99	64	91	0.075
36	V	8	109	97	62	85	0.075
37	H	9	96	90	67	91	1.10
38	V	12	98	90	62	89	0.23
39	V	6	94	99	89	101	1.85
40	V	12	100	102	94	98	4.6
41	V	10	102	102	80	97	0.27
42	V	10	84	81	62	95	1.75
43	V	10	85	82	60	91	0.51
44	H	14	85	83	67	97	1.20
45	V	13	91	102	104	109	0.48
46	V	11	106	108	94	99	0.83
47	H	12	111	109	102	96	0.46
48	V	11	105	108	98	100	0.075
49	H	11	87	86	70	97	0.37
50	V	9	104	89	53	82	0.20

TABLA VIII.- (continuación)

Nº	S	E	FVC	FEV ₁	FEF ₂₅₋₇₅	FEV ₁ /FVC%	PC ₂₀
51	V	8	98	95	67	93	0.14
52	V	11	101	89	64	85	0.85
53	H	10	102	99	71	95	0.76
54	V	9	87	84	61	93	0.09
55	V	7	96	93	67	92	0.0375
56	H	11	89	87	73	97	1.05
57	V	14	105	103	89	95	0.54
58	H	9	80	80	65	99	0.23
59	V	9	98	108	118	105	1.45
60	V	8	84	81	62	93	0.25
61	H	9	81	80	62	96	0.45
62	V	11	91	89	71	95	0.48
63	V	12	105	99	72	91	0.03
64	H	14	108	107	92	98	0.025
65	V	8	88	93	72	102	0.62
66	H	13	102	107	107	103	1.15
67	V	7	86	92	80	102	0.23
68	H	13	108	101	72	92	0.03
69	H	14	102	102	82	99	0.14
70	H	9	89	92	70	101	1.10
71	V	7	114	108	76	91	0.62
72	H	6	87	93	81	98	0.14
73	V	10	95	82	47	83	0.045
74	H	11	85	86	67	99	0.23
75	V	9	88	98	98	105	0.50
76	V	11	82	82	75	97	0.11

TABLA VIII.- (continuación)

NO	S	E	FVC	FEV ₁	FEF ₂₅₋₇₅	FEV ₁ /FVC%	PC ₂₀
77	V	15	98	101	90	100	0.83
78	V	15	98	105	125	105	1.10
79	V	12	99	106	99	104	0.45
80	V	13	96	88	63	90	0.62
81	V	7	95	96	73	97	0.31
82	H	13	112	105	75	92	0.18
83	V	8	103	99	72	92	0.27
84	H	7	95	95	90	97	0.11

S, sexo; E, edad; H, hembra; V, varón; NR, no respondedor. Los valores de FVC, FEV₁, FEF₂₅₋₇₅ y FEV₁/FVC% están expresados en porcentajes con respecto al valor teórico. La PC₂₀ expresa la concentración de metacolina, en mg/ml, que produce un descenso de un 20% en el FEV₁.

TABLA IX.- Características de los Niños Sanos: Edad y Sexo. Resultados de la Exploración Funcional Respiratoria en situación basal y de la Provocación Bronquial con metacolina (PC_{20} FEV₁).

Nº	S	E	FVC	FEV₁	FEF₂₅₋₇₅	FEV₁/FVC%	PC₂₀
1	V	9	99	116	126	114	1.9
2	H	7	93	98	96	103	11.5
3	V	8	85	96	95	108	11.0
4	V	13	99	105	93	104	NR
5	V	12	98	108	148	108	10.9
6	V	8	111	110	87	96	10.4
7	V	13	105	101	90	95	12.7
8	H	15	125	124	98	98	10.4
9	V	12	94	86	77	89	NR
10	V	11	96	83	64	84	16.0
11	V	14	83	90	108	107	NR
12	V	8	94	104	103	105	1.92
13	V	12	95	99	90	101	13.8
14	H	15	115	116	91	99	NR
15	V	7	83	97	101	108	12.5
16	H	6	99	104	81	100	1.78
17	V	11	103	110	110	104	11.7
18	V	9	88	92	77	102	11.0
19	V	8	92	97	83	100	12.45
20	H	13	82	87	103	110	13.0
21	V	8	101	105	88	99	13.0
22	V	7	81	87	77	103	7.0
23	H	11	89	99	110	110	16.2
24	V	12	84	84	68	98	NR

TABLA IX.- (continuación)

NO	S	E	FVC	FEV ₁	FEF ₂₅₋₇₅	FEV ₁ /FVC%	PC ₂₀
25	V	13	108	109	98	98	14.8
26	V	12	92	95	102	101	10.5
27	V	10	94	101	89	104	12.3
28	V	11	80	88	80	107	18.4
29	H	10	88	89	74	101	13.2
30	H	10	80	82	75	104	14.4
31	V	10	107	122	122	110	11.2
32	H	14	103	114	119	110	NR
33	H	12	94	96	86	102	13.0
34	H	10	80	82	65	102	18.7
35	H	13	104	118	120	111	20.5
36	V	12	86	83	66	93	0.78
37	V	11	84	95	98	110	NR
38	V	12	80	82	93	110	12.0
39	H	9	95	92	67	95	6.1
40	H	11	87	91	99	102	10.5
41	H	9	88	99	119	109	5.3
42	H	8	96	108	112	109	13.8
43	H	7	93	99	96	104	13.2
44	V	10	95	99	88	99	15.5
45	H	6	83	88	71	102	10.3
46	H	6	88	91	77	99	5.1
47	V	9	82	89	85	104	11.7
48	V	11	128	128	104	96	10.3
49	H	12	91	95	95	104	NR

TABLA IX.- (continuación)

Nº	S	E	FVC	FEV ₁	FEF ₂₅₋₇₅	FEV ₁ /FVC%	PC ₂₀
50	V	12	113	121	126	104	15.6
51	V	8	91	92	84	97	11.0
52	V	10	97	107	104	105	2.85
53	H	13	98	113	116	114	NR
54	H	9	111	104	78	92	20.5
55	V	11	105	112	112	103	NR
56	H	8	115	127	123	107	10.5
57	V	10	89	91	84	102	13.6
58	V	13	104	117	125	110	NR
59	V	11	90	92	84	98	14.6
60	H	14	105	104	86	98	NR
61	H	8	101	105	89	101	6.2
62	H	7	102	111	103	105	11.0
63	V	6	92	103	83	107	10.8
64	H	12	96	99	99	102	14.0
65	V	9	101	104	96	99	NR
66	H	14	94	104	118	109	16.8
67	V	10	100	110	107	107	12.7
68	V	6	86	96	75	105	11.0
69	V	9	105	103	92	96	12.5
70	V	8	106	100	70	90	18.0
71	V	11	96	94	79	95	10.5
72	V	6	95	101	78	102	11.2
73	H	14	102	111	114	109	14.4
74	V	10	102	114	120	110	10.8

TABLA IX.- (continuación)

Nº	S	E	FVC	FEV ₁	FEF ₂₅₋₇₅	FEV ₁ /FVC%	PC ₂₀
75	H	10	95	100	91	102	0.30
76	V	12	93	94	77	98	5.75
77	H	7	87	95	102	107	1.82

S, sexo; E, edad; H, hembra; V, varón; NR, no respondedor. Los valores de FVC, FEV₁, FEF₂₅₋₇₅ y FEV₁/FVC% están expresados en porcentajes con respecto al valor teórico. La PC₂₀ expresa la concentración de metacolina, en mg/ml, que produce un descenso de un 20% en el FEV₁.

TABLA X.- Edad y Sexo de los dos grupos estudiados.

Grupo	Nº	Edad (años)*	Varones	Hembras
Asmáticos	84	10.11 ± 2.42	55	29
Sanos	77	10.2 ± 2.42	46	31

* Media ± desviación típica

TABLA XI.- Resultados del Cuestionario Clínico en los Niños Asmáticos.

Nº	E.Com	T.Ev	Nº Cr	Medicación	Severidad	º HB
1	7	1	5	BD+CG	Leve (2)	Baja
2	5	7	5	BD+KET	Leve (2)	Baja
3	3.5	2.5	3	BD+KET	Mode (3)	Media
4	2.5	10.5	12	BD+KET	Mode (4)	Media
5	2	6	14	BD+KET	Mode (8)	Media
6	0.5	5.5	16	BD+KET	Mode (8)	Media
7	6	3	12	BD+KET	Mode (6)	Media
8	1	9	5	BD+KET	Mode (4)	Media
9	4	4	20	BD+KET	Mode (5)	Media
10	1	8	4	BD	Leve (1)	Baja
11	9	5	3	BD	Leve (2)	NR
12	7	1	3	BD	Leve (1)	Baja
13	7	3	3	BD	Leve (1)	Baja
14	2	6	3	BD	Leve (1)	Media
15	11	1	24	BD+KET	Mode (8)	Media
16	2	11	4	BD	Leve (1)	Media
17	3	9	3	BD+CG	Leve (2)	Media
18	11	1	3	BD+CG	Mode (3)	Baja
19	1	9	15	BD+KET+COR	Grave (11)	Media
20	8.5	2.5	7	BD	Mode (3)	Baja
21	7.5	1.5	6	BD+KET	Mode (4)	Media
22	8	4	24	BD+CG+COR	Mode (8)	Alta
23	1	7	3	BD+KET	Mode (4)	Media
24	6	4	5	BD+KET	Mode (4)	Alta
25	2	5	4	BD+KET+COR	Mode (4)	Media

TABLA XI.- (continuación)

Nº	E.Com	T.Ev	Nº Cr	Medicación	Severidad	º HB
26	0.25	9.75	3	BD	Leve (1)	Baja
27	1	9	4	BD	Leve (1)	Media
28	1	5	11	BD+KET	Mode (8)	Alta
29	0.50	5.5	11	BD+KET	Mode (8)	Media
30	1	12	3	BD+KET	Leve (2)	Media
31	5	6	4	BD+KET	Mode (3)	Media
32	1	12	5	BD+CG	Mode (5)	Alta
33	3	6	4	BD	Leve (1)	Baja
34	6	6	6	BD	Mode (3)	Alta
35	1	5	18	BD+KET+COR	Grave(9)	Alta
36	1.5	6.5	18	BD+KET+COR	Grave(12)	Alta
37	6	3	5	BD	Leve (2)	Baja
38	4	8	3	BD	Leve (1)	Media
39	1	5	4	BD+KET	Leve (1)	Baja
40	4	8	4	BD+KET	Leve (1)	Baja
41	4	6	4	BD+KET	Leve (2)	Media
42	9	1	4	BD+KET	Mode (4)	Baja
43	1	9	6	BD+KET	Mode (5)	Media
44	12	2	12	BD+KET	Mode (6)	Baja
45	2	11	11	BD+KET+COR	Mode (8)	Media
46	4	7	4	BD	Mode (4)	Media
47	5	7	4	BD+KET	Leve (2)	Media
48	4	7	6	BD+KET	Mode (8)	Alta
49	10	1	16	BD+CG	Grave(9)	Media
50	0.5	8.5	3	BD+KET	Mode (5)	Media

TABLA XI.- (continuación)

Nº	E.Com	T.Ev	Nº Cr	Medicación	Severidad	º HB
51	0.5	7.5	5	BD	Leve (2)	Media
52	2	9	3	BD+CG	Mode (5)	Media
53	8	2	5	BD+KET	Mode (3)	Media
54	1	8	3	BD+KET	Mode (3)	Alta
55	4	3	26	BD+KET+COR	Grave(12)	Alta
56	4	7	3	BD	Mode (3)	Baja
57	1	13	4	BD	Leve (1)	Media
58	3	6	5	BD	Leve (2)	Media
59	2	7	5	BD+KET+COR	Mode (3)	Baja
60	3	5	3	BD	Mode (3)	Media
61	7.5	1.5	4	BD+KET	Leve (2)	Media
62	5	6	6	BD+KET	Mode (3)	Media
63	1	11	26	BD+CG+COR	Grave(12)	Alta
64	0.5	13.5	24	BD+KET+COR	Grave(10)	Alta
65	5	3	4	BD	Leve (2)	Media
66	11	2	5	BD+CG	Leve (2)	Baja
67	3	4	8	BD+KET	Mode (5)	Media
68	4	9	8	BD+KET	Mode (5)	Alta
69	8	6	6	BD+KET	Leve (2)	Media
70	2	7	8	BD+KET+COR	Mode (6)	Baja
71	3	4	4	BD	Mode (6)	Media
72	1	5	8	BD+KET+COR	Grave (9)	Media
73	4	6	4	BD+CG	Grave (9)	Alta
74	1	10	4	BD	Leve (1)	Media
75	1	8	3	BD+KET	Leve (1)	Media

TABLA XI.- (continuación)

Nº	E.Com	T.Ev	Nº Cr	Medicación	Severidad	º HB
76	7	4	3	BD	Leve (1)	Alta
77	6	9	4	BD+KET	Leve (2)	Media
78	4	11	3	BD+KET	Leve (1)	Baja
79	9	3	3	BD+KET	Leve (2)	Media
80	7	6	4	BD	Leve (2)	Media
81	3	4	5	BD+KET	Mode (4)	Media
82	6	7	9	BD+KET	Mode (6)	Media
83	4	4	5	BD+CG	Mode (3)	Media
84	4	3	12	BD+KET	Mode (8)	Alta

E.Com, edad de comienzo en años; T.Ev, tiempo de evolución en años; Nº Cr, Número de crisis al año; º HB, grado de HB; BD, broncodilatadores beta-2 adrenérgicos en aerosol; CG, cromoglicato disódico; KET, ketotifeno; COR, corticoides inhalados; NR, no respondedor; Mode, moderado. La cifra entre paréntesis expresa la puntuación obtenida en cada paciente según el score de síntomas.

TABLA XII.- Necesidades de medicación.

Fármaco	Nº Pacientes	(%)
BD	24	28.6
BD+KET / BD+CGDS	48	57.1
BD+KET+COR / BD+KET+COR	12	14.3

BD: Broncodilatadores (Beta-2 adrenérgicos en aerosol)

KET: Ketotifeno

COR: Corticoides inhalados

CGDS: Cromoglicato disódico

TABLA XIII.- Severidad del asma.

Grado Clínico	Nº Pacientes	(%)
Leve	33	39.3
Moderado	42	50
Grave	9	10.7

TABLA XIV.- Función pulmonar basal en los dos grupos estudiados.

Parámetro	Asmáticos(*)	Sanos(*)	Significación estadística
FVC	97 ± 9	97 ± 10	NS
FEV ₁	95 ± 8	100 ± 11	p < 0.001
FEF ₂₅₋₇₅	77 ± 17	94 ± 17	p < 0.001
FEV ₁ /FVC%	95 ± 6	102 ± 6	p < 0.001

* Valores en % del teórico. Media ± Desviación típica.
NS: No significativo.

TABLA XV.- Sensibilidad y Especificidad para diferentes Puntos de corte de la PC 20-FEV₁.

PC 20 mg/ml	Sensibilidad %	Especificidad %	Falsos -	Falsos +
0.3	42.16	100	57.84	0
0.5	63.85	98.43	36.15	1.57
1	77.10	96.87	22.9	3.13
2	93.95	90.60	6.05	9.40
5	97.60	89	2.4	11
6	98.70	84.37	1.3	15.63

TABLA XVI.- Utilidad diagnóstica de la Provocación bronquial con metacolina.

Punto de corte: 5 mg/ml

Sensibilidad	97.6%
Especificidad	89%
Tasa de falsos negativos	2.4%
Tasa de falsos positivos	11%
Valor predictivo negativo ...	96.6%
Valor predictivo positivo ...	92%

TABLA XVII.- Sensibilidad y Especificidad en los dos grupos de edad.

PC 20	Hasta 10 años		Mayores de 10 años	
	Sens. %	Esp. %	Sens. %	Esp. %
0.3	44.68	100	38.88	100
0.5	57.44	97.5	61.11	100
1	76.59	97.5	77.77	95.83
2	95.74	87.5	91.66	95.83
5	97.87	85	97.22	95.83
6	100	80	97.22	91.66

TABLA XVIII.- Tiempo de evolución del asma en función del grado de HB.

º HB	T.Ev.(*)	Desv.Típica	Rango	Nº pacientes
Baja	5.39	3.32	1-11	21
Media	6.35	2.92	1-13	46
Alta	6.69	3.12	3-13.5	16

Análisis estadístico: No Significativo (NS)

(*) Media del Tiempo de evolución expresada en años.

TABLA XIX.- Valores de la PC20-FEV₁ en cada grupo de pacientes según las necesidades de medicación.

Medicación	PC 20 media	Desv.T	Rango	Nºpac.
BD	0.90	1.05	0.06-5.2	23
BD+KET / BD+CG	0.72	1.13	0.03-6.5	48
BD+KET+COR /BD+CG+COR	0.32	0.45	0.02-1.4	12

Análisis Estadístico No Significativo (NS)

BD: Broncodilatadores (Beta-2 adrenérgicos en aerosol)

KET: Ketotifeno

CG: Cromoglicato disódico

COR: Corticoides inhalados

TABLA XX.- Valores de la PC20-FEV₁ en cada grupo de pacientes según la severidad clínica del asma.

Graduación del asma	PC 20 media	Desv.T	Rango	Nº pacientes
Leve	1.16	1.49	0.11-6.5	32
Moderado	0.50	0.47	0.03-2.1	42
Grave	0.10	0.11	0.025-0.37	9

Análisis Estadístico Significativo: $p < 0.01$

Comparación Múltiple de Medias

Graduación	Graduación	Nivel de Significación
Leve	Moderado	$p < 0.01$
Leve	Grave	$p < 0.01$
Moderado	Grave	NS

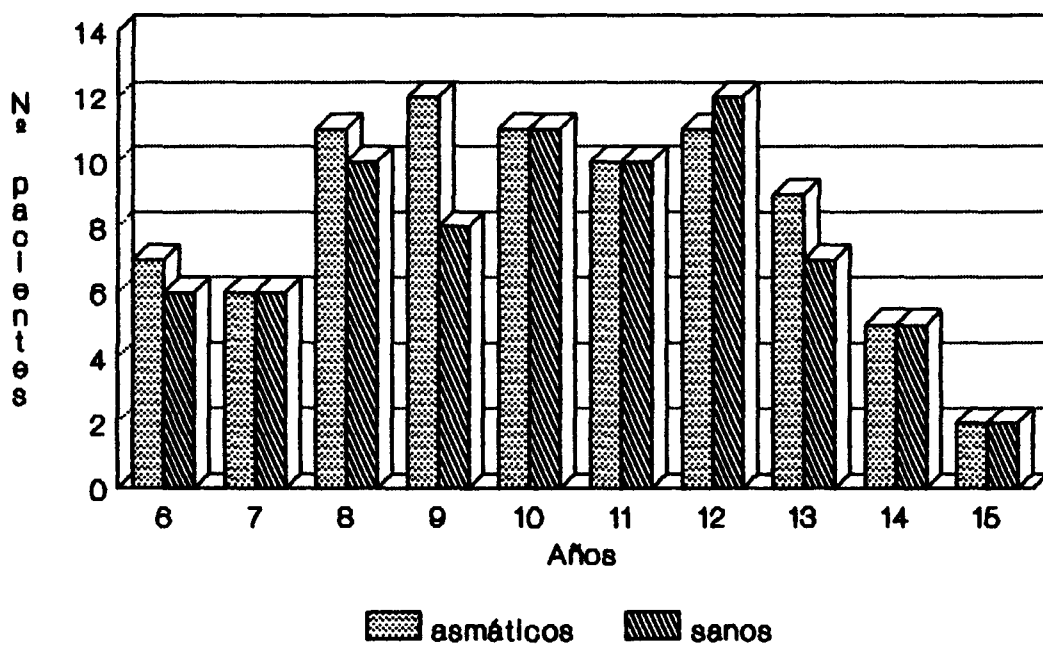


Figura 6.- Distribución de los niños asmáticos (n=84) y sanos (n=77) según su edad.

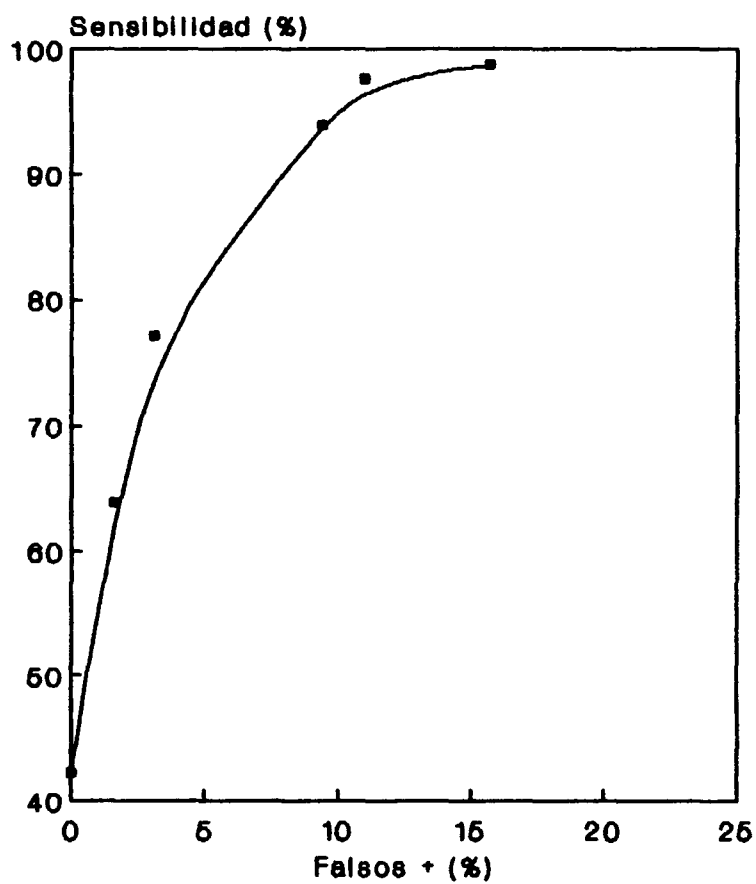


Figura 7.- Curva característica operador-receptor (curva ROC)

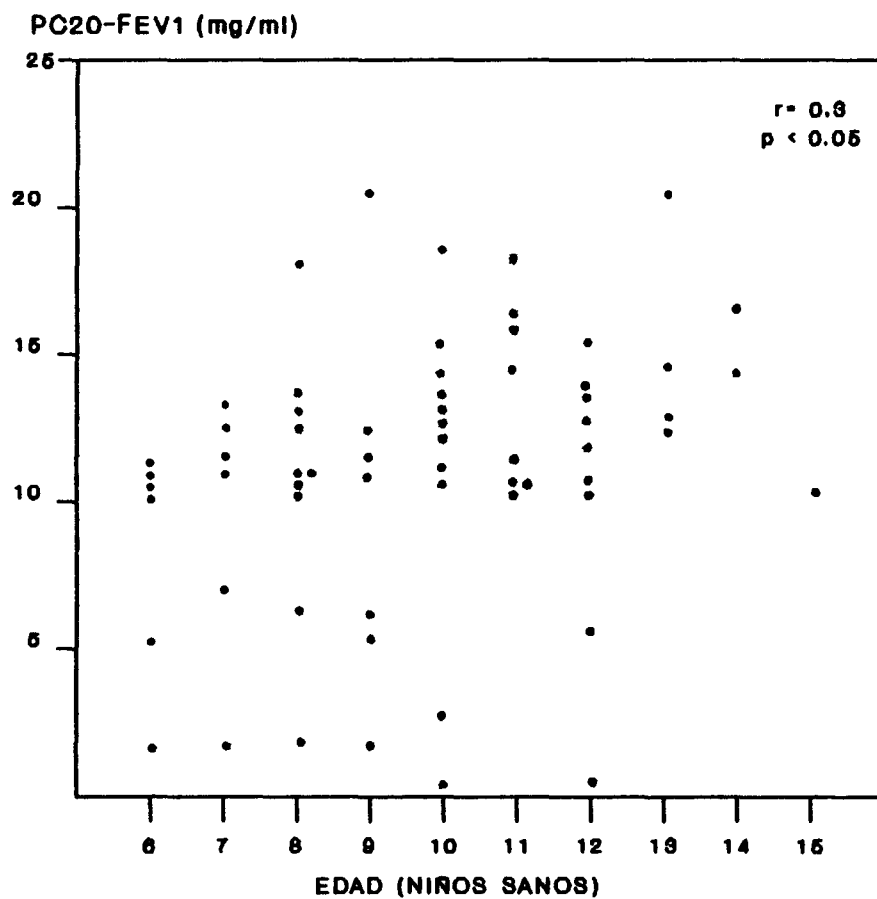


Figura 8.- Influencia de la edad en la PC₂₀FEV₁ (n=64).

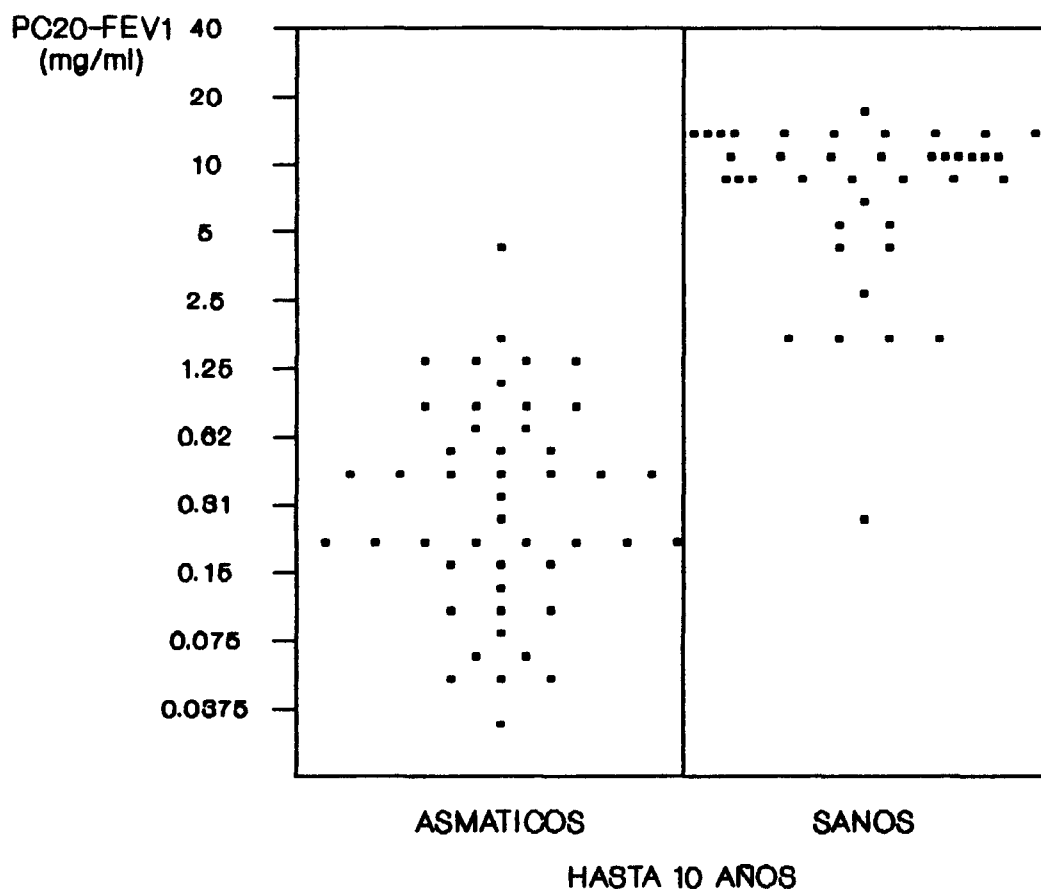


Figura 9.- Resultados de la PB con metacolina en niños asmáticos (n=47) y sanos (n=40) hasta 10 años de edad.

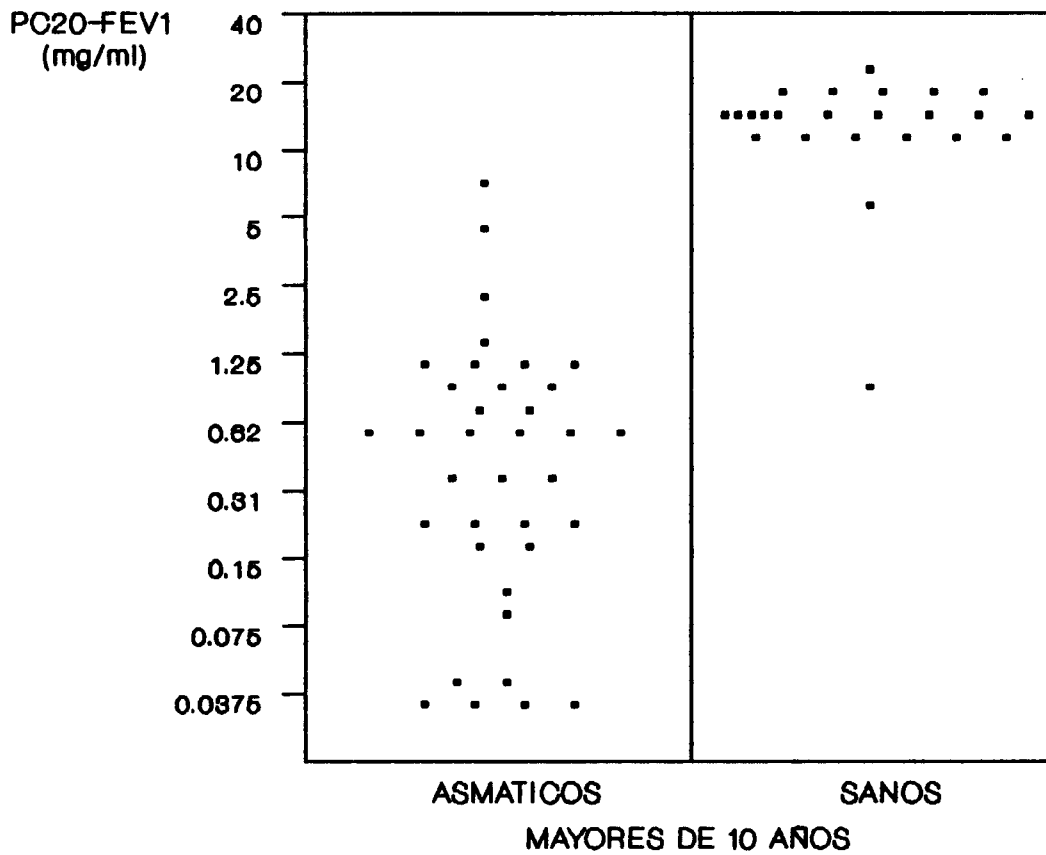


Figura 10.- Resultados de la PB con metacolina en niños asmáticos (n=36) y sanos (n=24) mayores de 10 años.

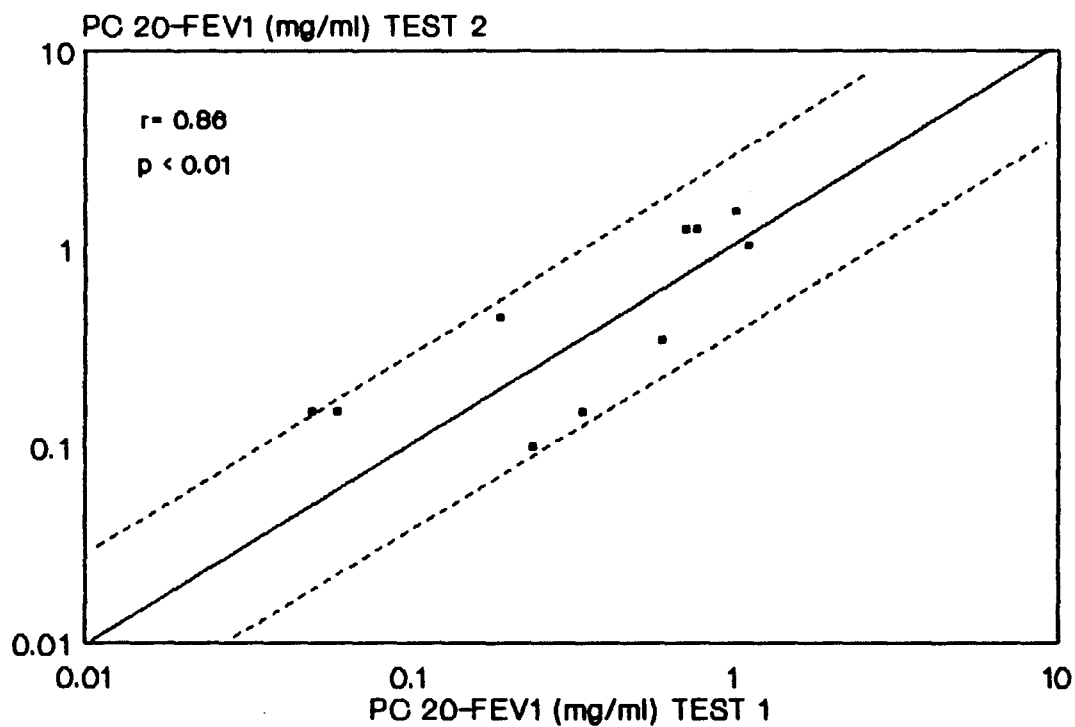


Figura 11.- Reproducibilidad de la $PC_{20}FEV_1$ en asmáticos ($n=10$). La línea continua representa la línea de identidad y las discontinuas delimitan el intervalo de ± 1 concentración doble de metacolina.

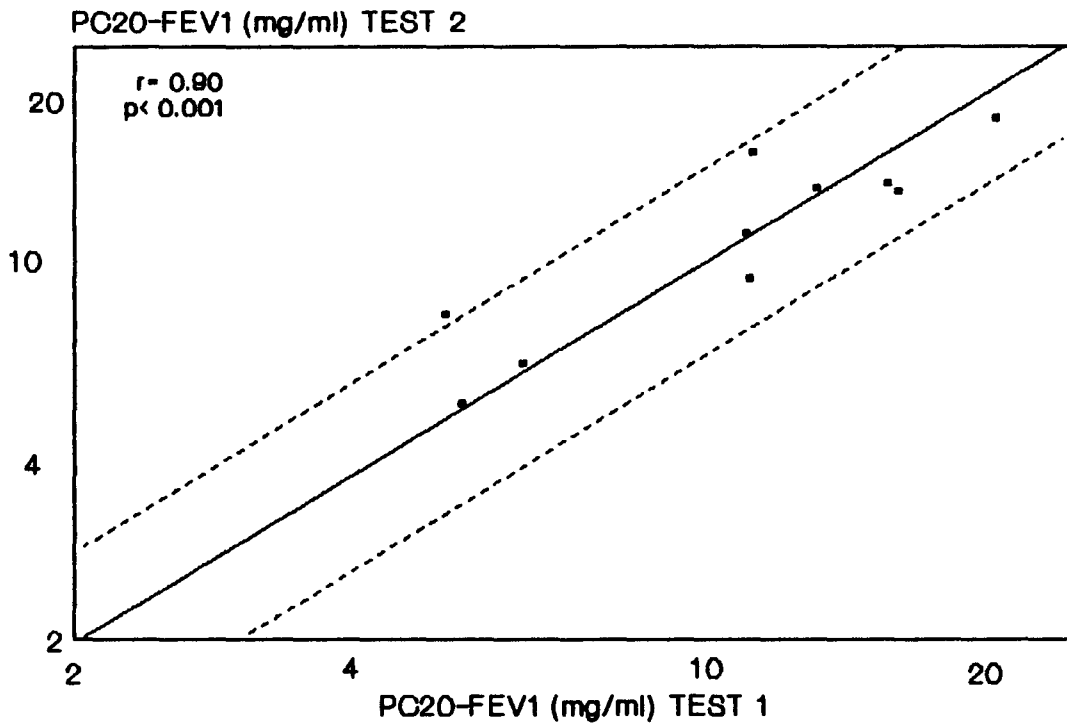


Figura 12.- Reproducibilidad de la $PC_{20}FEV_1$ en sanos ($n=10$). La línea continua representa la línea de identidad y las discontinuas delimitan el intervalo de ± 1 concentración doble de metacolina.

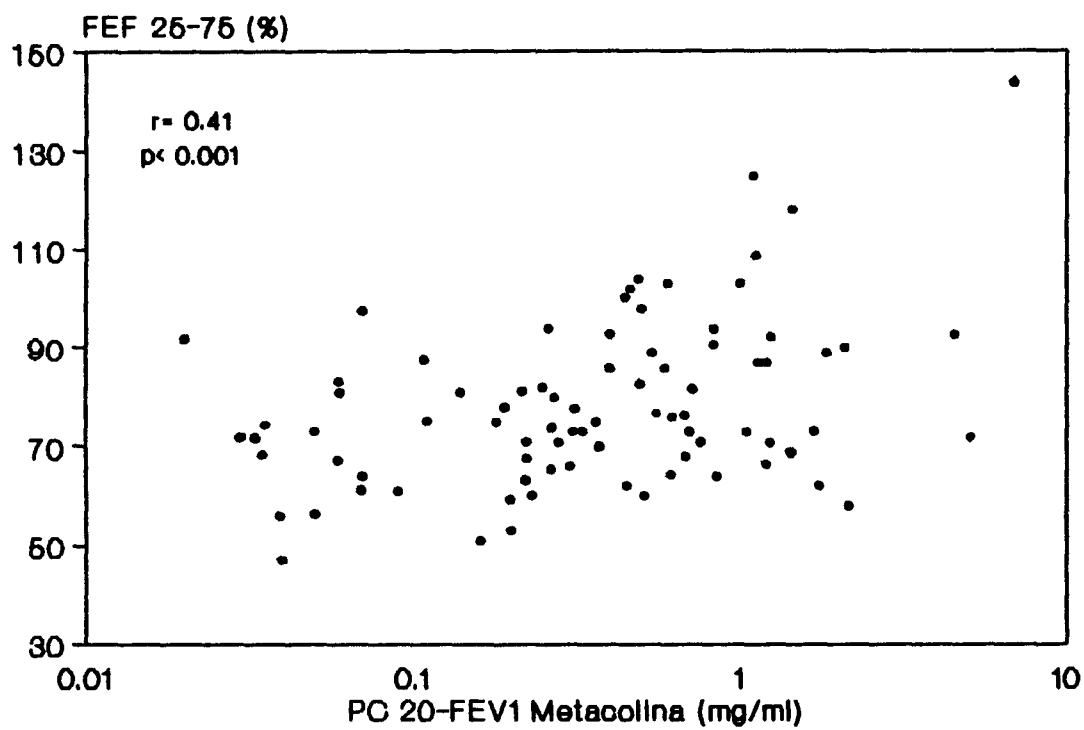


Figura 13.- Correlación entre el FEF_{25-75} basal y la $PC_{20}FEV_1$ en niños asmáticos (n=83).

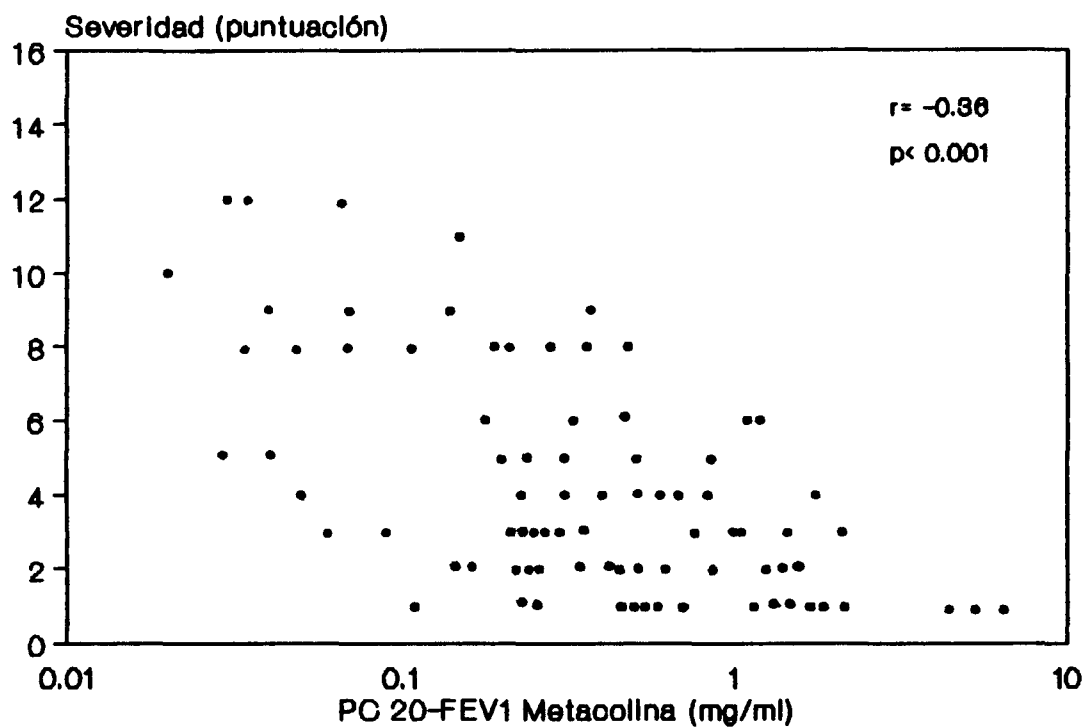


Figura 14.- Correlación entre la severidad del asma y la $PC_{20}FEV_1$ (n=83).

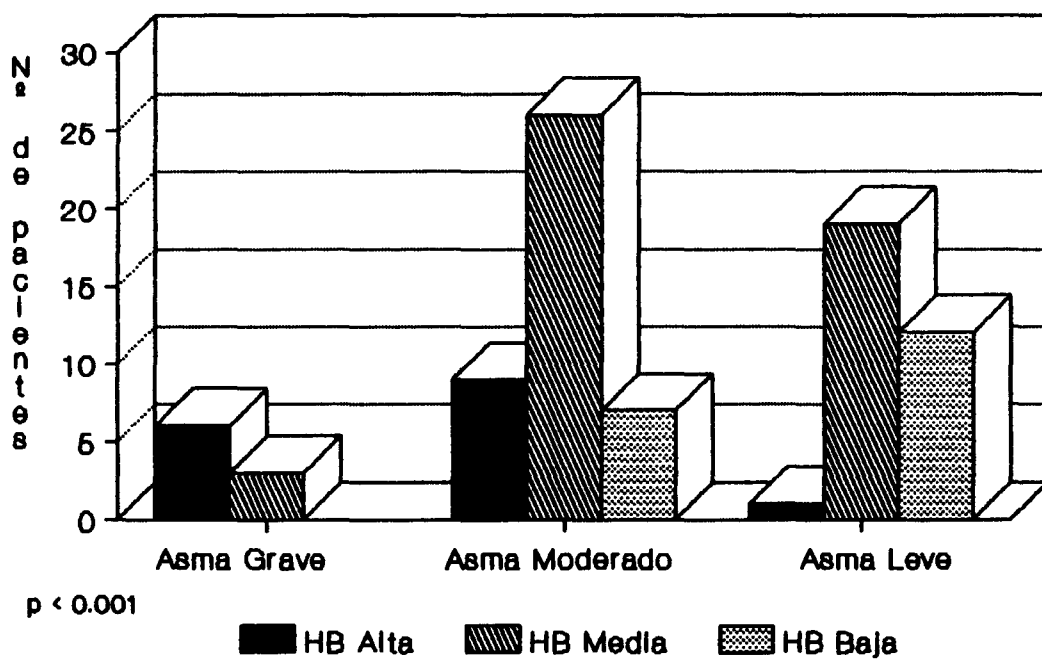


Figura 15.- Asociación entre categoría clínica y grado de HB.

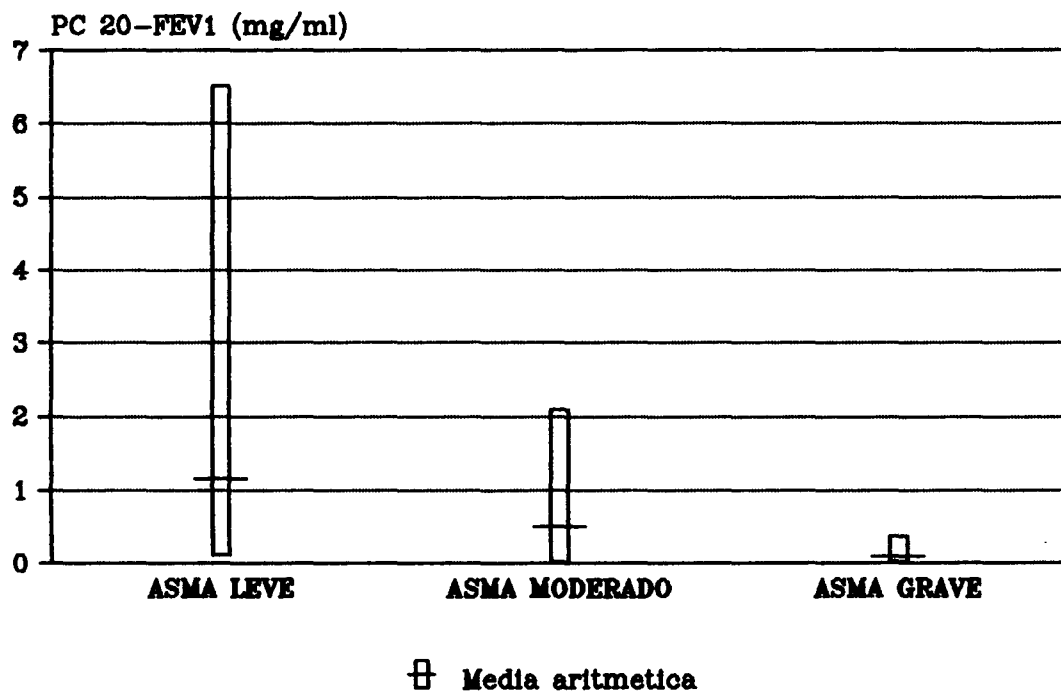


Figura 16.- Rango de las diferentes $PC_{20}FEV_1$ obtenidas en cada categoría clínica de asma.

VI .- DISCUSSION

1.- JUSTIFICACION DEL METODO

Una serie de factores metodológicos pueden afectar la respuesta broncoconstrictora a la metacolina, y en general a todos los estímulos inespecíficos que se utilizan para cuantificar el nivel de HB. Estos factores incluyen la naturaleza del estímulo empleado, la prueba de función pulmonar empleada para medir la respuesta y los fármacos utilizados antes de la provocación^{229,245,252}.

En cuanto a la naturaleza del estímulo broncoconstrictor, se ha demostrado que la histamina y la metacolina tienen una mayor sensibilidad y precisan una menor colaboración que otros estímulos, como el ejercicio^{302,310-312} y la hiperventilación isocápnic; además, pueden ser empleadas con medios técnicos a los que el clínico tiene fácil acceso.

Existe una buena correlación entre los resultados obtenidos con histamina y metacolina^{10,24,226,205-207}. Nosotros hemos preferido utilizar metacolina en lugar de histamina por varios motivos; primero, porque origina menos efectos secundarios que la histamina²²⁶ y en nuestro estudio este aspecto tenía una gran trascendencia ya que empleamos altas concentraciones con la finalidad de obtener el mayor número posible de sujetos respondedores en el grupo de niños sanos; segundo, porque parece ser un indicador más sensible de la reactividad de las vías

aéreas^{23,77,208}, puesto que puede poner de manifiesto la existencia de HB en algunos asmáticos que no responden a otros estímulos²¹⁰ y, tercero, por haber demostrado su inocuidad en niños^{6,227,209}. Con respecto a este último punto hemos de decir que coincidimos con esos autores, ya que no tuvimos ninguna complicación y la respuesta broncoconstrictora provocada revertía rápidamente con salbutamol o terbutalina en aerosol.

Como método de provocación hemos elegido la técnica de respiración a volumen corriente, método de Cockcroft²⁴, aunque sea más largo que la técnica de inhalación intermitente^{244,250,259}, pero es más fácil de realizar y exige menos colaboración por parte del paciente pediátrico, ya que no precisa de una sincronización entre la actuación del dosímetro y la maniobra de inhalación. Además es un método que está bien estandarizado, no requiere equipos costosos y es altamente reproducible²²⁶.

Para la valoración del test elegimos el FEV₁ porque es fácil de determinar, tiene una buena reproducibilidad²⁴⁵, no necesita equipos sofisticados y la finalidad de nuestro estudio era clínica. Además, el FEV₁ es preferible a la sGaw a pesar de tener ésta una mayor sensibilidad, porque disminuye la zona de solapamiento entre la población sana y la asmática^{260,251}.

2.- SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA PB CON METACOLINA. PUNTO DE CORTE PARA LA PC₂₀. INFLUENCIA DE LA EDAD Y EL SEXO.

En la década de los cuarenta se empezó a poner de manifiesto que los sujetos asmáticos eran más sensibles a los efectos broncoconstrictores de la metacolina que los sujetos sanos^{62,64}. La utilidad de la PB inhalativa con metacolina para establecer la presencia de HB ha quedado bien demostrada; diversos trabajos han puesto de manifiesto su alta reproductibilidad^{63,65}, especificidad y sensibilidad⁶³, pero predominantemente en la población adulta. Aunque se utiliza mucho menos en grupos de edad pediátrica, Shapiro et al⁶ fueron de los primeros en verificar su utilidad en la población infantil. Realizaron una PB con metacolina a 166 niños cuyas historias clínicas sugerían una HB a pesar de unos resultados normales en las pruebas de función pulmonar. Los pacientes referían diversa sintomatología: a) historia de sibilancias o asma con una exploración física dentro de la normalidad; b) historia de tos crónica o bronquitis recurrente, o c) historia de infecciones respiratorias frecuentes. Concluyen que la PB con metacolina puede diferenciar con precisión a aquellos niños que tienen una verdadera hiperreactividad de las vías aéreas de los otros pacientes que presentan síntomas similares.

En nuestro trabajo, intentamos determinar el nivel o grado de respuesta que se puede obtener en un grupo de

niños y adolescentes sanos, y otro grupo de asmáticos, y según éste, establecer el punto de corte que con una mayor precisión nos permita diferenciar a los niños hiperreactivos de los que no lo son. Para ello, hemos comparado la respuesta broncoconstrictora a la metacolina en un grupo de 84 niños que cumplían los criterios de la American Thoracic Society⁴² para ser diagnosticados de asma bronquial. Exigimos que fueran asmáticos activos, siguiendo para ello los criterios de Hopp et al²⁸⁴, es decir, que hubiesen presentado al menos tres episodios de broncoespasmo en el último año; aunque los asmáticos pueden continuar presentando una respuesta positiva a la metacolina durante varios años después de su última crisis²².

En el grupo de niños sanos, se excluyeron los que tenían una historia de rinitis, tos crónica, mucoviscidosis, broncopatía crónica, antecedentes familiares de asma y /o atopia e historia personal de atopia, para evitar la posible influencia de estos factores en el nivel de HB^{23.25.60.85}.

Los resultados que obtuvimos tras la PB con metacolina en niños sanos, probablemente refleje la variabilidad que podemos encontrar en niños de estas edades²⁸⁴.

El método utilizado para la PB con metacolina ha sido el de Cockcroft et al²⁴, descrito por estos autores en el año 1977 en sujetos adultos. Consiste en inhalar el

aerosol mediante respiración a volumen corriente, y está bien estandarizado, lo que implica que nuestros resultados se pueden comparar en teoría con los de otros autores.

Mediante este protocolo de provocación, hemos encontrado que el mejor punto de corte para poder identificar a la mayoría de los niños asmáticos y que al mismo tiempo tenga un grado aceptable de especificidad, es una $PC_{20}FEV_1$ menor o igual a 5 mg/ml; según este punto de corte, la Sensibilidad es de un 97.6% y la Especificidad de un 89%. En nuestro país, en el único trabajo publicado en niños sobre este aspecto de la PB inhalativa con metacolina²⁹¹, sus autores comparan la respuesta de 20 niños asmáticos con la respuesta de 10 niños sanos sin antecedentes personales ni familiares de asma ni enfermedades atópicas. El método utilizado fue también el de Cockcroft²⁴, aunque el tipo de nebulizador fue diferente al nuestro y al de Cockcroft²⁴. Se trataba de un modelo De Vilbiss 646, pero con un gasto de 0.13 a 0.16 ml/min, es decir, similar al de Cockcroft, pero inferior al nuestro (0.201 ± 0.015). Tomando como límite de positividad una concentración de metacolina de 8 mg/ml, encuentran una completa diferenciación entre los niños asmáticos y los niños sanos sin antecedentes familiares de asma ni de atopia. La sensibilidad y la especificidad fue del 100%. Resulta curioso que a pesar de ser una población infantil encuentren una especificidad tan alta, e incluso mayor que en adultos^{24,22,23,231,235}.

Nosotros, al introducir algunas modificaciones en

el protocolo de provocación con metacolina, hace que nuestros resultados no se puedan comparar, teóricamente, con los de estos autores²⁹¹. Nuestro nebulizador fue un modelo Hudson 1720 con un gasto mayor, de 0.186 a 0.216 ml/min, lo que pudo influir en que nuestro punto de corte fuera más bajo. En cambio, sí es comparable al trabajo de Prieto et al^{291,292} en adultos, puesto que hemos utilizado el mismo tipo de nebulizador y con un gasto similar. A pesar de ello, su punto de corte fue más alto, 9 mg/ml. Pensamos que la diferencia de edad⁹² entre los sujetos estudiados ha podido influir en estos resultados. Además, en nuestro caso, exigimos para llevar a cabo la PB con metacolina, que los sujetos no hubiesen padecido infecciones respiratorias en las 6 semanas previas a la realización del test, en lugar de 8 semanas, y según Empey et al⁷¹ a veces existe un aumento en la reactividad de las vías aéreas, hasta 8 semanas después de sufrir una infección del tracto respiratorio. Sin embargo, estudios posteriores, en grandes poblaciones^{252,253} y en individuos seleccionados²⁵⁴, no han encontrado una asociación entre HB e infecciones respiratorias recientes.

Coincidimos en la sensibilidad (98%), con la obtenida por Prieto et al²⁹¹, pero la especificidad en adultos fue más alta (93%), asimismo, nuestros valores predictivos positivo (92%) y negativo (97%) han sido similares a los suyos (94% y 98% respectivamente). Es extraño, como los propios autores comentan²⁹², que su punto de corte para la PC₂₀ fuera, incluso, más alto que el de

Cockcroft^{24,39,225}, a pesar de ser mayor el gasto de su nebulizador.

Muy recientemente, Backer et al²⁹⁰ han publicado sus resultados sobre sensibilidad y especificidad de la PB con histamina en niños y adolescentes, de 7 a 16 años de edad, estableciendo su punto de corte en 8 mg/ml, obteniendo una sensibilidad de un 100% y una especificidad igual a la nuestra, de un 89%. El hecho de que nuestro punto de corte sea más bajo puede ser por varios motivos: primero, el gasto de nuestro nebulizador era mayor (0.201 ± 0.015) que el de ellos (0.14 ± 0.015); segundo, la edad media de nuestros niños era inferior (10 años) a la de ellos (12 años); y tercero, a pesar de ser muy rigurosos en la selección del grupo de niños sanos, somos conscientes de que no realizamos determinación de los niveles séricos de IgE ni tests cutáneos para descartar la presencia de atopia^{25,25}, pero de lo que sí estamos seguros es de que ninguno de los niños sanos incluidos en el estudio tenía síntomas de atopia (rinitis, eczema, urticaria), y en este sentido, algunos²²⁹ han demostrado que no existe correlación entre el grado de HB y la elevación de IgE y/o tests cutáneos positivos, en niños que no presenten síntomas de atopia. Por último, otro factor que ha podido influir en que los puntos de corte sean diferentes, ha sido la forma de calcular la respuesta. Nosotros lo hicimos mediante el cálculo de la $PC_{20}FEV_1$, y para ello, interpolamos^{24,267} en la curva dosis-respuesta entre dos

puntos, uno por debajo y, otro, por encima del 20% de caída del FEV₁ y ellos, calculando la pendiente²⁶⁸ de la curva dosis-respuesta, no obstante, Cockcroft et al²⁶⁹ encontraron una fuerte correlación entre ambos parámetros.

Riedel et al²⁷⁰ estudiaron la sensibilidad bronquial a la histamina en 38 niños sanos no atópicos (de 8 a 15 años), y compararon su respuesta con un grupo similar de niños asmáticos, siguiendo el método descrito por Cockcroft²⁴. El 79% del grupo de niños sanos, presentaba una PC₂₀ inferior a 8 mg/ml con un gran solapamiento en las respuestas de ambos grupos. Sugieren que una concentración de 1.75 mg/ml de histamina, (más baja que la nuestra) podría servir de punto de corte para diferenciarlos, pero sin realizar cálculos de sensibilidad ni de especificidad. Estos autores concluyen, por tanto, que el índice de positividad no puede ser el mismo para adultos y niños. Uno de los motivos de esta cifra tan alta de prevalencia de HB en niños sanos, puede ser, como sus mismos autores reconocen, que algunos niños sanos fueran atópicos, ya que tampoco ellos realizaron tests cutáneos, y además, solamente dejaron un intervalo de 4 semanas antes de realizar la PB a aquellos niños que habían padecido alguna infección respiratoria. De todos modos, por sí solos, estos dos argumentos no nos parecen de suficiente peso para justificar esos resultados. Creemos que un factor muy importante, y no tenido en cuenta por estos autores en la discusión de sus resultados, es el gasto del nebulizador

que emplearon^{245,250}. Fue un nebulizador PARI con un gasto de 0.75 ml/min, es decir, mayor que el nuestro, y el de Cockcroft²⁴ y Backer²⁹⁰

Lee et al²⁹⁷ realizan en niños escolares de 7 años de edad, una PB con histamina, pero no especifica el tipo de nebulizador que utiliza ni el gasto. De 100 niños asintomáticos que testó, la tercera parte (33%) tenía una respuesta positiva a la histamina, considerando como tal, un descenso del 20% o más en el FEV₁ tras administrar una concentración de 16 mg/ml de histamina, e incluso, algunos de ellos, respondieron a dosis muy bajas, pero no da una información detallada de los resultados ni de las características de los sujetos estudiados (antecedentes familiares de asma, atopia, etc).

Aparte de estos trabajos que hemos comentado, tras revisar la literatura, no hemos encontrado ningún otro sobre sensibilidad y especificidad de la PB con metacolina o histamina en niños, con el método del volumen corriente. Los otros tres trabajos publicados en niños, utilizan el método de inhalación intermitente, por lo que los resultados los expresan en términos de unidades inhalatorias acumulativas (PD₅₀), lo que impide que podamos comparar nuestros resultados con ellos. Pero, a pesar de utilizar otra metodología, sí queremos resaltar alguna conclusión que se desprenden de ellos, como es el hecho de que la PB con metacolina en niños es sensible⁹, pero le

falta especificidad^{284.288}.

La especificidad de nuestro punto de corte (5mg/ml) es de un 89%, coincidiendo con otros estudios en niños^{284.290}. En cambio, es más baja que en adultos^{29.281.285}. Si consideramos un punto de corte más bajo, 1 mg/ml, la especificidad y el valor predictivo positivo llegan a alcanzar el 97%, es decir, que una PC₂₀ inferior a 1 mg/ml es casi diagnóstica de asma activo con una probabilidad de un 97%. Estos resultados son similares a los de Cockcroft en adultos jóvenes²⁸⁵. El valor predictivo negativo para nuestro punto de corte ha sido un 97%, lo que quiere decir que en un niño con una PC₂₀ mayor de 5 mg/ml, podemos descartar la presencia de asma con un 97% de probabilidades.

Según nuestro punto de corte, la prevalencia de la HB en la población sana es de un 9%, similar a la encontrada por otros autores^{284.227} en niños sanos sin antecedentes familiares de asma y/o otras enfermedades atópicas, pero superior a la encontrada en adultos^{24.22.281}. Las diferencias en la reactividad de las vías aéreas entre adultos y niños puede ser debido a que hay niños que tienen una HB asintomática de forma transitoria²⁵⁷.

En nuestro estudio, al igual que otros autores^{284.292.255}, hemos elegido sujetos que han sido seleccionados previamente y, la proporción de sujetos con

asma/ sujetos sanos, ha sido 1:1^{292,255}, o bien 1:2²⁸⁴, sin embargo, Backer²⁹⁰ estudia un total de 495 niños y adolescentes no seleccionados, donde la proporción asmáticos/no asmáticos era de 1:17, y en el trabajo de Cockcroft²⁸⁵ donde estudia una población randomizada de 500 adultos jóvenes la proporción era de 1:26. Esto hace que el valor predictivo positivo para sus puntos de corte (8 mg/ml), sea mucho más bajo (35%), ya que si recordamos la fórmula del VP+: $\frac{N^o \text{ de asmáticos con test positivo}}{\text{total de sujetos con test positivo}}$, en esas poblaciones hay un número pequeño de sujetos asmáticos y, casi dos tercios de los individuos con test positivo, son, en efecto, sujetos que no tienen asma, por lo que estos autores^{285,290} argumentan que el test de provocación con histamina o metacolina, debería utilizarse solamente en sujetos seleccionados. De hecho, la PB con metacolina o histamina, como test diagnóstico, generalmente está indicada en sujetos con sospecha de asma bronquial y síntomas, a menudo atípicos.

No es extraño que nuestro punto de corte sea más bajo que el de Prieto et al²⁹², a pesar de utilizar idéntica metodología, teniendo en cuenta que la respuesta broncoconstrictora a la histamina o metacolina depende de la edad. Se ha demostrado un mayor grado de reactividad bronquial en las edades extremas de la vida^{29,25,22}. Nuestros resultados coinciden con los de estos autores. Hemos realizado un PB con metacolina a niños y adolescentes

entre 6 y 15 años y, en este rango de edad, hemos encontrado una correlación significativa con la PC_{EO} (Figura 8). De los 7 niños sanos que presentaron una PC_{EO} inferior a 5 mg/ml, uno tenía 12 años y, en los otros seis, su edad oscilaba entre 6 y 10 años con una media de 8.33 ± 1.5 . También, Hopp⁸² encontró que la edad media de los 13 niños que respondieron por debajo de su punto de corte (100 UA), fue significativamente menor que la del resto.

Weiss et al⁸⁵⁶ valoraron la HB inespecífica mediante hiperventilación isocápnica con aire frío en adultos y niños, demostrando también un mayor grado de HB en estos últimos.

Al comprobar en nuestro estudio una correlación significativa entre la edad y la PC_{EO} , hemos analizado la utilidad diagnóstica de la PC_{EO} separando los niños sanos en dos grupos de edades (de 5 a 10 años y, de 11 a 15 años). En este caso el punto de corte óptimo sigue siendo 5 mg/ml en los dos grupos, la sensibilidad es similar en ambos (97%) pero, en cambio, la especificidad es menor en los niños más pequeños, existiendo, además, un mayor solapamiento en este grupo de edad.(Figura 9).

En la actualidad no se conoce la causa de esa mayor HB en los niños más pequeños, aunque existen varias hipótesis. No creemos, a pesar de lo que piensan otros autores⁸² que una de las causas estribe en la dificultad

para realizar la maniobra de espiración forzada, lo que les obligaría a realizar un mayor número de maniobras respiratorias, ya que los sujetos sanos experimentan broncodilatación con las maniobras repetidas²⁶².

La exposición al humo del tabaco puede influir en la respuesta bronquial. Los fumadores activos fueron eliminados del estudio, pero, la exposición pasiva al humo del tabaco también puede tener un efecto sobre el nivel de HB, sobre todo en los niños más pequeños^{21, 22, 24}.

Otra posibilidad que se ha apuntado para explicar la influencia de la edad en la respuesta a la metacolina, es el menor diámetro de las vías aéreas en los niños²². Sin embargo, la relación entre calibre basal de las vías aéreas e HB ofrece resultados contradictorios y, en nuestro estudio, como comentaremos en el apartado siguiente, no hemos detectado una correlación significativa en el grupo de niños sanos, entre FEV₁ y FEF₂₅₋₇₅ y la PC₂₀, por lo que esta explicación parece improbable.

Puede que el mayor grado de HB en los niños sea algo innato y específico de su edad. Esta mayor reactividad explicaría la tendencia en los niños a presentar sibilancias con mayor frecuencia cuando sufren infecciones respiratorias que los adultos. Esta HB que presentan algunos niños sanos, podría disminuir con la edad y, por ello, ocurre que en muchos niños al crecer disminuye su

tendencia a la tos y a las sibilancias, por lo que estudios de seguimiento a largo plazo podrían ser interesantes. En este sentido, Sears et al²⁵⁷ comprobaron que el 50% de los niños que a los 9 años tenían HB y eran asintomáticos, a los 11 años el nivel de HB era normal. Esto demuestra la importancia de los estudios longitudinales sobre HB en niños.

Nuestro método de provocación (inhalación del aerosol mediante respiración a volumen corriente), se ha demostrado recientemente²⁵⁸ que puede ser útil en estudios longitudinales y que el propio método en sí no influye en la variabilidad de la respuesta entre niños de diferentes edades, porque aunque el volumen minuto aumente con la edad, la fracción de aerosol inhalado que se deposita es relativamente independiente del volumen minuto²⁵⁹.

En cuanto al sexo y su relación con el nivel de HB, los valores de la $PC_{20}FEV_1$ fueron similares en varones y en hembras. Esto confirma los resultados obtenidos por otros autores^{22,22,22,222,256}.

3.- REPRODUCTIBILIDAD DE LA PB CON METACOLINA

En este trabajo hemos demostrado que la metodología empleada es capaz de originar respuestas a la metacolina que son altamente reproducibles. Esto es consecuencia de una cuidadosa estandarización del método, que incluye la

generación continua del aerosol, la inhalación mediante respiración a volumen corriente, la utilización del FEV₁ como índice de función pulmonar para medir la respuesta y el control riguroso de otra serie de factores no técnicos que pueden influir en la respuesta^{229,245,252}.

El gasto del nebulizador y el tamaño de las partículas son muy importantes; el gasto se ha de controlar, ya que puede variar entre diferentes tipos de nebulizadores y aún siendo del mismo modelo²⁵⁰. El tamaño de las partículas varía entre nebulizadores, aunque si éste se encuentra entre 1.3 y 3.6 micras no influye en la respuesta^{250,252}. Nosotros utilizamos 2 nebulizadores Hudson 1720 con un gasto de 0.201 ± 0.015 ml/min, controlado por el método de la doble pesada, que es aconsejado por diversos autores^{250,252}.

El MMAD de las partículas generadas por nuestros nebulizadores era de 2 micras, encontrándose, por tanto, dentro de los límites recomendados.

Este método de inhalación es sencillo, no requiere equipos técnicos complejos y está indicado en estudios clínicos, epidemiológicos y de investigación²²⁶.

Aunque la PB con metacolina cada vez se utiliza más en la población pediátrica^{6,25,22,222,224,208,215,223,222}, hemos encontrado muy pocos trabajos sobre reproductibilidad de la PB inhalativa en niños.

Según nuestros resultados, tanto los niños asmáticos como los sanos, reproducían la respuesta a la

metacolina con un margen de ± 1 concentración doble de metacolina, coincidiendo con los hallazgos encontrados por otros autores en adultos^{226,256,298,300} y en niños^{27,203,204}.

Sin embargo, en otros trabajos la reproductibilidad no fue tan buena, ni en adultos^{296,297,299,301} ni en niños^{295,302}, a pesar de que el intervalo de tiempo entre la realización de los dos tests fue inferior a 24 horas. Esto es debido, a la influencia que diversos factores tienen en los resultados de la PB. En primer lugar, se puede tratar de verdaderas fluctuaciones biológicas en la HB que cualquier sujeto puede presentar cuando hay un intervalo de tiempo entre la realización de los dos tests, además de los factores técnicos y no técnicos que ya hemos comentado anteriormente (exposición reciente a alérgenos, metodología empleada, hora del día a la que se realizan ambos tests^{10,66} y las características de los pacientes, es decir, si tienen un mayor o menor grado de severidad³⁰¹). Por ello, nosotros en los grupos de niños a los que repetimos el test, incluimos niños con un grado de HB muy variable, desde una HB baja hasta una HB alta.

Vemos, como empleando un protocolo que sigue unas normas de estandarización, en cuanto a forma de generar el aerosol, medida de la respuesta y controlando diversos factores no técnicos, pueden minimizarse todas esas variables.

4.- CALIBRE BASAL Y RESPUESTA A LA METACOLINA

No está claro el efecto que las variaciones de la función pulmonar con respecto a su nivel basal, pudieran tener sobre la respuesta bronquial a la metacolina o histamina. Los resultados de diversos trabajos realizados en adultos asmáticos y no asmáticos son contradictorios. Nosotros hemos estudiado la influencia que pueden tener algunos parámetros de función pulmonar, como el FEV₁ y el FEF₂₅₋₇₅, expresados en porcentaje con respecto a su valor teórico sobre el nivel de HB, (PC₂₀FEV₁), por un lado en los niños asmáticos y, por otro, en los niños sanos.

Debido a nuestros criterios de selección, todos los niños tenían un FEV₁ y un cociente FEV₁/FVC% dentro de la normalidad, ya que la PB con metacolina, con fines diagnósticos, generalmente será en estos individuos en los que estará indicada²⁵⁶. En los sujetos con obstrucción al flujo aéreo, estará indicado para poner de manifiesto la reversibilidad de la obstrucción, hacer una prueba broncodilatadora²⁴⁵. Es frecuente en asmáticos, adultos y niños, encontrar un FEV₁ normal y reducciones importantes en el FEF₂₅₋₇₅ que no siempre se modifican significativamente tras la administración de un beta adrenérgico en aerosol²⁶⁰, por lo que en estos casos, es evidente que la manera de objetivar el diagnóstico de asma es mediante la realización de una PB inespecífica.

En primer lugar, en los niños asmáticos hemos encontrado una correlación significativa entre el FEF_{25-75} y la PC_{20} , coincidiendo con otros autores^{210,261,262}. Una explicación a este hallazgo, podría ser que en aquellos niños en los que el calibre basal de las vías aéreas es menor, las partículas de aerosol inhaladas tienden a depositarse más centralmente, en las vías aéreas grandes^{263,264} y, como la resistencia al flujo aéreo reside primordialmente en los bronquios centrales²⁶⁵, pequeños cambios en el calibre de los bronquios centrales pueden tener un efecto mucho mayor sobre la resistencia total de las vías aéreas, que cambios proporcionalmente similares en las vías aéreas más pequeñas. Además, Ruffin et al²⁶⁶ demostraron que la histamina depositada en las vías aéreas centrales preferentemente, produce la misma respuesta que una cantidad 15 veces mayor depositada de forma más difusa, entre vías aéreas centrales y periféricas.

No hemos encontrado, en cambio, una correlación significativa en el grupo de niños asmáticos, entre el FEV₁ basal y la PC_{20} . Estos hallazgos son similares a los de otros estudios en niños asmáticos^{202,214}.

Es lógico pensar, que la obstrucción al flujo aéreo basal en los pacientes asmáticos, puede condicionar en cierta medida la magnitud de la respuesta broncoconstrictora a la metacolina, puesto que en esas condiciones se favorece el depósito de la metacolina en las vías aéreas centrales; sin embargo, nosotros no hemos encontrado una correlación significativa entre los valores

del FEV₁ basal y la PC₂₀FEV₁ en nuestros pacientes asmáticos. También es verdad, que todos ellos tenían un FEV₁ en situación basal mayor o igual al 80% con respecto al valor teórico. A pesar de ello, nuestros hallazgos coinciden con los de Amaro-Galvez et al²²², quienes sí incluyeron en su estudio a niños asmáticos con un FEV₁ basal inferior al 80%.

Según estos resultados, es posible por tanto, que el FEF₂₅₋₇₅, por correlacionarse significativamente con el nivel de HB sea un índice más útil que el FEV₁.

Otros trabajos realizados en adultos asmáticos, sí han encontrado una correlación entre el FEV₁ basal y la PC₂₀²⁴ así como entre la pendiente de la curva dosis-respuesta y la sGaw²⁷⁷. Pero, no todos los trabajos en adultos muestran unanimidad. Hay quienes no han encontrado una correlación significativa entre la función pulmonar basal y el grado de respuesta a la metacolina^{24, 28, 29}. El debate también existe en cuanto a la relación exacta entre el calibre basal y el grado de respuesta a otros estímulos broncoconstrictores. Así, diversos estudios han sido incapaces de demostrar una correlación entre la función pulmonar basal y el grado de broncoconstricción inducido por el ejercicio en niños asmáticos^{267, 268}.

En el grupo de niños sanos, entre los que respondieron a la metacolina, no hemos podido demostrar una correlación significativa entre el FEF₂₅₋₇₅ basal y la

PC_{20} , ni entre el FEV_1 basal y la PC_{20} . Revisando la literatura, no hemos encontrado ningún trabajo sobre esto en niños sanos, pero sí en adultos sanos, con resultados dispares. Malo et al³² no encuentran una correlación entre el FEV_1 y el FEF_{25-75} y la PC_{20} en 34 adultos sanos, en los que pudo obtener la PC_{20} ; al considerar solamente a los 8 sujetos que tuvieron una respuesta en el rango de los asmáticos activos, observa que 4 de ellos presentaban un FEF_{25-75} inferior al 75% del valor teórico; sin embargo, esta asociación no la han podido confirmar otros²⁰¹.

El hecho de que en nuestros pacientes asmáticos hayamos encontrado una correlación entre el FEF_{25-75} basal y la PC_{20} y, sin embargo, los niños sanos presentaran un nivel de HB independientemente de su función pulmonar basal, hace que nos cuestionemos cuál es la causa y cuál es el efecto, ya que la HB y la obstrucción al flujo aéreo tienden a aumentar cuando el asma es más severo, es igualmente plausible asumir que la HB incrementada causa una mayor obstrucción al flujo aéreo, más bien que viceversa. Además, se ha comprobado que cambios moderados en el flujo aéreo, si no se asocian a otros factores desencadenantes, no originan cambios ostensibles en la HB²².

5.- SEVERIDAD DEL ASMA E HB

El asma es una enfermedad cuya expresión clínica es de gran variabilidad²⁻⁵ y tiene un amplio espectro en

cuanto a su severidad²⁶⁹. Esta heterogeneidad del asma asociada a la gran variabilidad subjetiva en la percepción de los síntomas^{269,270} hace que, en ocasiones, la valoración de la severidad y la instauración del tratamiento adecuado, sea difícil. En el asma infantil, la historia clínica y la exploración física son, a menudo, los parámetros que más se utilizan como guía terapéutica y para evaluar la severidad; sin embargo, la evaluación clínica ha sido duramente criticada, siendo en muchas ocasiones la percepción del médico muy diferente de la situación real del paciente²⁷¹, por ello, al ser la PB con metacolina una prueba objetiva que pone de manifiesto la existencia de HB, desde hace muchos años, diversos investigadores han intentado establecer la utilidad de la misma en la evaluación de la severidad del asma, obteniendo diferentes resultados.

En nuestros pacientes asmáticos no hemos encontrado diferencias significativas en el tiempo de evolución entre los pacientes con HB baja, media o alta, al igual que otros autores²²², pero sí entre la severidad del asma, valorada mediante un score de síntomas y la $PC_{20}FEV_1$. Del mismo modo, Murray et al²²⁰ encontraron una correlación entre la severidad del asma en 78 niños asmáticos, valorada también según un score de síntomas y el nivel de HB. Nosotros, para la valoración de la severidad tuvimos en cuenta criterios clínicos, terapéuticos y funcionales. Según esto, le asignamos una puntuación a cada paciente, de esta forma,

los pacientes quedaron clasificados en 3 grupos: asma leve, asma moderado y asma grave. Obtuvimos una diferencia significativa en los valores medios de la PC_{20} entre los grupos de asma leve y asma grave y, entre los grupos de asma leve y asma moderado. Pero, como se ve en la Figura 16 existe un solapamiento entre los niveles individuales de los tres grupos. Este hallazgo es similar al de otros autores, quienes a pesar de obtener diferencias significativas en el nivel de HB entre los diferentes grupos de enfermos, (clasificados en función de su gravedad clínica o requerimientos terapéuticos), reconocen también un alto grado de solapamiento^{24,25,26,221,222}. Esto hace que el nivel de HB tenga una utilidad práctica limitada. Otros autores, en cambio, no han encontrado una correlación entre la severidad del asma y el nivel de HB^{20,29,222}.

En cuanto a las necesidades de medicación, no hemos encontrado diferencias significativas en el grado de HB entre los niños que sólo tomaban broncodilatadores ocasionalmente, y los que tomaban además ketotifeno o cromoglicato y/o corticoides inhalados. Esto significa, que la determinación de la $PC_{20}FEV_1$, exclusivamente, no tiene por qué ser un factor determinante de las necesidades de medicación en un niño asmático para un buen control de sus síntomas. Es probable que en algunos niños que tomaban corticoides inhalados, la PC_{20} fuera más baja por efecto mismo de la medicación²², aunque no incluimos en el estudio a niños con más de 2 meses en tratamiento con corticoides

inhalados. Nuestros resultados coinciden con los de algunos autores²²², pero difieren de los de otros^{24.25.219.222}, aunque sólo parcialmente, pues a pesar de que estos últimos obtienen diferencias significativas en el grado medio de HB entre diferentes grupos de enfermos atendiendo a sus necesidades terapéuticas, todos observan un gran solapamiento en los niveles individuales de HB.

Hemos observado que existe una gran diversidad en los valores de la $PC_{20}FEV_1$ dentro de cada grupo de pacientes, clasificados éstos en función de su severidad clínica como asma leve, moderado y grave. Esta variabilidad en la excitabilidad de las vías aéreas refleja la heterogeneidad del asma.

Somos conscientes de que no hemos tenido en cuenta la edad de nuestros pacientes en los diferentes grupos y, ésta influye en el nivel de HB^{23.22} como nosotros mismos hemos comprobado. Pero, a pesar de tener en cuenta esta variable, Amaro-Galvez et al²²³, al estudiar un grupo de niños y adolescentes de 6 a 19 años, obtuvieron resultados similares a los nuestros, es decir, persistía el solapamiento entre los diferentes grupos.

Pensamos, que conociendo el nivel de HB, sólo sabemos un dato parcial de las múltiples variables que determinan el grado de sintomatología de un paciente concreto. El nivel de HB refleja la facilidad con que el

broncoespasmo es provocado, sin embargo, un paciente con una marcada HB puede evitar el estímulo (aire frío, ejercicio, etc) que le desencadena una broncoconstricción y no desarrollar ningún síntoma y, por tanto, no requerir medicación. Además, como dijimos anteriormente, el nivel de percepción de cada individuo puede variar mucho de unos a otros^{269,270} y, también, la intensidad de la sintomatología va a depender de la potencia del estímulo broncoconstrictor²⁷², ya que un estímulo lo suficientemente intenso o aquel al que el sujeto está sensibilizado, podría ser capaz de provocar una obstrucción al flujo aéreo, incluso en ausencia de una HB medible²⁷².

En resumen, creemos que aunque existan diferencias significativas en el nivel medio de HB entre diferentes grupos de pacientes asmáticos, clasificados en función de su gravedad clínica, la determinación del nivel de reactividad bronquial frente a la metacolina en un enfermo concreto, no refleja con exactitud el grado de afectación clínica del mismo, ni las necesidades terapéuticas para su control, por lo que la PB con metacolina es una herramienta útil, pero no de forma aislada sino valorando conjuntamente la historia clínica del paciente.

VII.- CONCLUSIONES

1.- La PB con metacolina, realizada mediante el método de inhalación a volumen corriente, es una prueba segura, bien tolerada por los niños y fácil de realizar.

2.- El presente estudio es el primero que se realiza en nuestro país para establecer un valor de referencia que, con la mayor fiabilidad posible, nos permita una diferenciación entre niños hiperreactivos y normorreactivos.

3.- Siguiendo un protocolo estandarizado, el mejor punto de corte para la $PC_{20}FEV_1$ que obtenemos es una concentración de 5 mg/ml de metacolina, inferior al descrito en la literatura para adultos, en los que se empleó idéntica metodología.

4.- Los índices que definen la utilidad diagnóstica de este punto de corte son: Sensibilidad = 97.6%, Especificidad=89%, Tasa de falsos negativos=2.4%, Tasa de falsos positivos=11% Valor predictivo positivo = 92% y Valor predictivo negativo= 96.6%.

5.- La PB con metacolina, en el rango de edades de la población estudiada (6-15 años), tiene una mayor sensibilidad que especificidad, siendo ésta última, aún más baja en los niños menores de 11 años.

6.- El grado de HB depende de la edad, existiendo una mayor

respuesta broncoconstrictora a la metacolina en los niños más pequeños.

7.- El sexo no influye en la respuesta bronquial a la metacolina.

8.- Tanto en los niños asmáticos como en los sanos, hemos encontrado que la reproductibilidad de la $PC_{20}FEV_1$ con metacolina es de ± 1 concentración doble. Según esto, y teniendo en cuenta que el mejor punto de corte para la $PC_{20}FEV_1$ que hemos obtenido es una concentración de 5 mg/ml de metacolina, al realizar una PB con metacolina a niños con un rango de edad entre 6 y 15 años, podemos considerar hiperreactivos a aquellos que presenten una $PC_{20}FEV_1$ menor o igual a 10 mg/ml.

9.- En niños asmáticos, el FEF_{25-75} basal se correlaciona con el nivel de HB, pero no el FEV_1 .

10.- En la población sana, la función pulmonar basal no influye en la respuesta bronquial a la metacolina.

11.- La determinación del nivel de HB frente a la metacolina no tiene por qué ser un factor determinante de las necesidades de medicación en los niños asmáticos, ya que no hemos encontrado diferencias significativas en el grado de HB entre los pacientes que sólo tomaban broncodilatadores a demanda y los que tomaban, además,

ketotifeno o cromoglicato y/o corticoides inhalados.

12.- El nivel de HB puede ser un parámetro útil para la valoración de la gravedad del asma infantil, sin embargo, su consideración aislada puede resultar equívoca debido a la superposición de valores de la $PC_{20}FEV_1$, entre grupos de severidad clínica diferente, por lo que su utilidad práctica es limitada si se toma como parámetro exclusivo. Pensamos, que el nivel de HB nos informa sobre un aspecto parcial de las múltiples variables que determinan el grado de sintomatología de un paciente concreto.

VIII.- RESUMEN

El asma es una enfermedad cuya expresión clínica es de gran variabilidad. Este polimorfismo clínico puede motivar, a menudo, dificultades diagnósticas, sobre todo en la población pediátrica. Un hallazgo característico de los sujetos con asma es la hiperrespuesta o hiperexcitabilidad de sus vías aéreas a diferentes estímulos. Por tanto, el disponer de un test objetivo para determinar la presencia o ausencia de hiperreactividad bronquial (HB) en aquellos pacientes que presentan una clínica dudosa y/o una exploración funcional respiratoria normal, ha hecho que la provocación bronquial (PB) con metacolina sea considerada como un procedimiento diagnóstico de gran utilidad clínica. Pero, hemos de tener en cuenta, que no solamente son hiperreactivos los sujetos asmáticos, también, se ha comprobado la existencia de HB en familiares de pacientes asmáticos y en sujetos sanos sin antecedentes familiares de asma, aunque éstos suelen responder a concentraciones más altas que los pacientes asmáticos.

En la década de los cuarenta, se empezó a poner de manifiesto que los sujetos asmáticos eran más sensibles a los efectos broncoconstrictores de la metacolina que los sujetos sanos. La utilidad de la PB inhalativa con metacolina para establecer la presencia de HB ha quedado bien demostrada; diversos trabajos han puesto de manifiesto su alta reproductibilidad, sensibilidad y especificidad, pero fundamentalmente en sujetos adultos.

En nuestro país, no existe ningún trabajo publicado

sobre utilidad diagnóstica de la PB con metacolina en niños, definida por su Sensibilidad, Especificidad, Tasa de falsos negativos, Tasa de falsos positivos, Valor predictivo positivo y Valor predictivo negativo. En la literatura científica internacional, los trabajos que hay, además de ser escasos, se caracterizan por seguir metodologías diferentes, algunos, incluso, no emplean ninguno de los protocolos estandarizados, por lo que es imposible comparar los resultados.

Por todo ello, en el presente trabajo, hemos pretendido evaluar la respuesta bronquial a la metacolina en un grupo de niños y adolescentes sanos y en otro grupo de niños asmáticos y, según ésta, establecer la concentración de metacolina (Punto de corte), con la que se obtiene una mayor sensibilidad y especificidad para poder diferenciar ambas poblaciones. También, hemos estudiado cual es la reproductibilidad del test, según la metodología empleada, para conocer el margen de variabilidad en los resultados. Además, hemos intentado determinar la influencia que algunos factores como, la edad, el sexo y el calibre basal de las vías aéreas, pueden tener sobre el grado de HB. Asimismo, hemos querido investigar la relación entre la HB y la severidad del asma y valorar la posible utilidad práctica de la determinación del grado de HB como método de estimación clínica de la gravedad de la enfermedad.

Para ello, seleccionamos a 84 niños y adolescentes,

diagnosticados previamente de asma bronquial, con edades entre 6 y 15 años y, a 77 niños y adolescentes sanos, con edades entre 6 y 15 años, no atópicos y sin antecedentes familiares de asma y/o atopia. A los pacientes asmáticos les realizamos un cuestionario dónde recogíamos una serie de datos (sensibilización a neuroalergenos, tiempo de evolución de la enfermedad, tratamiento y valoración de la severidad clínica, según un score de síntomas).

A todos ellos los sometimos a una PB con metacolina, mediante el método de inhalación a volumen corriente (método descrito por Cockcroft), utilizando dos nebulizadores Hudson 1720 con un gasto de 0.201 ± 0.015 ml/min. Comenzábamos por una concentración de 0.0375 mg/ml e íbamos doblando las dosis hasta alcanzar 25 mg/ml u obtener un descenso del FEV₁ mayor o igual al 20%.

Los resultados de la PB los expresamos como PC₂₀FEV₁, es decir, concentración de metacolina que produce un descenso del 20% en el FEV₁. La PC₂₀FEV₁ se calculó interpolando este valor en la curva dosis-respuesta.

Mediante este protocolo de provocación, hemos encontrado que el mejor punto de corte, con una mayor sensibilidad y especificidad, es una PC₂₀FEV₁ menor o igual a 5 mg/ml; según el cual obtenemos una Sensibilidad del 97.6% y una Especificidad del 89%, siendo el Valor predictivo positivo y negativo, 92% y 96.6% respectivamente.

Repetimos la PB con metacolina a 10 niños asmáticos y a 10 sanos, con un intervalo de 24 horas entre las dos exploraciones, obteniendo una buena reproductibilidad en ambos casos (± 1 concentración doble de metacolina).

No hemos encontrado una asociación entre el sexo y la $PC_{20}FEV_1$, pero sí una correlación significativa entre el grado de HB (PC_{20}) y la edad. De los 7 niños sanos que presentaron una PC_{20} inferior a 5 mg/ml, uno tenía 12 años y en los otros 6, sus edades oscilaban entre 6 y 10 años (8.33 ± 1.5).

En la población sana no hemos encontrado ninguna correlación entre el FEV_1 y el FEF_{25-75} basal y el grado de HB; en cambio, en el grupo de niños asmáticos, el FEF_{25-75} basal se correlacionó con el nivel de HB, pero no el FEV_1 .

Por último, hemos encontrado diferencias significativas en el grado de HB entre los diversos grupos de pacientes asmáticos, clasificados en función de su severidad clínica, pero debido al solapamiento de valores de la $PC_{20}FEV_1$, creemos que la determinación del nivel de HB en un enfermo concreto, puede no reflejar con exactitud el grado de afectación clínica del mismo ni las necesidades terapéuticas para su control; por tanto, en el seguimiento de un paciente asmático, el resultado de la PB con metacolina no se puede interpretar de forma aislada.

IX.— BIBLIOGRAFIA

- 1.- BLEECKER ER. Airways reactivity and asthma: significance and treatment. J Allergy Clin Immunol 1985; 75: 21-4.
- 2.- CRUZ HERNANDEZ M. Asma bronquial infantil. En: Tratado de Pediatría. 5ª ed. Vol. I. ESPAXS. Barcelona 1983: 866-85.
- 3.- CORRAD WN, BRAMAN SS, IRWIN RS. Chronic cough as the sole presenting manifestation of bronchial asthma. N Engl J Med 1979; 300: 633-7.
- 4.- McFADDEN ER. Exertional dyspnea and cough as preludes to acute asthmatic attacks of bronchial asthma. N Engl J Med 1975; 292: 555-9.
- 5.- HANNAWAY PJ, DAVID G, HOPPER K. Cough variant asthma in children. JAMA 1982; 247:206-8.
- 6.- SHAPIRO GG, FURUKAWA CT, PIERSON WE, BIERMAN CW. Methacholine bronchial challenge in children. J Allergy Clin Immunol 1982; 69: 365-9.
- 7.- PRATTER MR, HINGSTON DM, IRWIN RS. Diagnosis of bronchial asthma by clinical evaluation. An unreliable method. Chest 1983; 84: 42-7.
- 8.- WOOLCOCK A. Airway reactivity. Mechanisms and clinical

relevance. In: Hargreave FE (ed): Proceedings of Symposium, McMaster University 1979. Missisauga, Ont. Astra Pharmaceuticals 1980: 230.

9.- PARKER CD, BILBO RE, REED CE. Methacholine aerosol as test for bronchial asthma. Arch Intern Med 1965; 115: 452-8

10.- TOWNLEY RG, DENNIS M, ITKIN IH. Comparative action of acetyl-beta methacholine, histamine and pollen antigens in subjects with hay fever and patients with bronchial asthma. J Allergy 1965; 36: 121-37.

11.- FELARCA AB, ITKIN IH. Studies with the quantitative inhalation challenge technique. I. Curve of dose-response to acetyl-betamethylcholine in patients with asthma of known and unknown origin, hay fever subjects and non atopic volunteers. J Allergy 1966; 37: 223-35.

12.- REBUCK AS. Methacholine and airway reactivity. Chest 1982; 82: 1-2.

13.- FARR RS, KOPETZKY MT, SPECTOR SL, HUREWITZ DS. Asthma without wheezing. Chest 1973; 63: 64-8.

14.- BENEDICTIS FM, CANNY GJ, LEVISM H. Methacholine inhalational challenge in the evaluation of chronic cough in children. J Asthma 1986; 23: 303-8.

15.- MYERS JR, CORRAO WM, BRAMAN SS. Clinical applicability of a methacholine inhalational challenge. JAMA 1981; 246: 225-9.

16.- COUNCIL ON SCIENTIFIC AFFAIRS. In vivo diagnostic testing and immunotherapy for allergy. Report I, Part I, of the allergy panel. JAMA 1987; 258: 1363-7.

17.- PRIDE NB. Practical use of pulmonary function tests. In: Clark TJH, Godfrey S (eds). Asthma. Philadelphia: Saunders, 1977; 48-51.

18.- RYAN G, LATIMER KM, DOLOVICH J, HARGREAVE FE. Bronchial responsiveness to histamine: relationship to diurnal variation of peakflow rate, improvement after bronchodilator and airway caliber. Thorax 1982; 37: 423-9.

19.- HETZEL MR, CLARK TJH. Comparison of normal and asthmatic circadian rhythms in peak expiratory flow rate. Thorax 1980; 35: 732-8.

20.- KANNER RE. The relationship between airways responsiveness and chronic airflow limitation. Chest 1984; 86: 54-7.

21.- CASAN P, GINER J, FEIXAS T, SANCHIS J. Sensibilidad y especificidad de la prueba broncodilatadora en la detección de hiperreactividad bronquial en pacientes con sospecha

clínica de asma. XX Congreso Nacional de la S.E.P.A.R. San Sebastián, 10-13 Junio, 1987.

22.- TOWNLEY RG, RYO UY, KOLOTKION BM, KANG B. Bronchial sensitivity to methacholine in current and former asthmatic and allergic rhinitis patients and control subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1975; 56: 429-42.

23.- TOWNLEY RG, BEWTRA AK, NAIR NM, BRODKEY FD, BURKE KM. Methacholine inhalation challenge studies. *J Allergy Clin Immunol* 1979; 64: 569-74.

24.- COCKCROFT DW, KILLIAM DN, MELLON JJA, HARGREAVE FE. Bronchial reactivity to inhaled histamine: a method and clinical survey. *Clin Allergy* 1977; 7: 235-43.

25.- JUNIPER EF, FRITH, HARGREAVE FE. Airway responsiveness to histamine and methacholine: relationship to minimum treatment to control symptoms of asthma. *Thorax* 1981; 36: 575-9.

26.- SPECTOR SL, FARR RS. A comparison of methacholine and histamine inhalations in asthmatics. *J Allergy Clin Immunol* 1975; 56: 308-16.

27.- REED CE, TOWNLEY RG. Asthma: classification and pathogenesis. In: Middleton E, Reed CE, Ellis EF (eds). *Allergy. Principles and practice*. 2^a ed. St. Louis. CV

Mosby Co. 1983: 811-32.

28.- ROSENTHAL RR. Section I. Inhalation challenge: procedures, indications and techniques. J Allergy Clin Immunol 1979; 64: 564-8.

29.- STERK PJ, DANIEL EE, ZAMEL N, HARGREAVE FE. Limited bronchoconstriction to methacholine using partial flow-volume curves in nonasthmatic subjects. Am Rev Respir Dis 1985; 132: 272-7.

30.- TOWNLEY RG, HOPP RJ. Measurement and interpretation of nonspecific bronchial reactivity. Chest 1988; 94: 452-4.

31.- COCKCROFT DW, BERSCHIED BA, MURDOCK KY. Unimodal distribution of bronchial responsiveness to inhaled histamine in a random human population. Chest 1983; 83: 751-4.

32.- MALO JL, PINEAU L, CARTIER A, MARTIN RR. Reference values of methacholine that cause 6% and 20% changes in forced expiratory volume in one second in a normal population. Am Rev Respir Dis 1983; 128: 8-11.

33.- COCKCROFT DW, BERSCHIED BA, MURDOCK KY, GORE BP. Sensitivity and specificity of histamine PC 20 measurements in a random population (Abst). J Allergy Clin Immunol 1985; 75: 142.

34.- BACKER V. The prevalence and predictors of bronchial hyperreactivity in children and adolescents. *J Asthma* 1990; 27: 197-205.

35.- HOPP RJ, BEWTRA AK, NAIR NM, WATT GD, TOWNLEY RG. Methacholine inhalation challenge studies in a selected pediatric population. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134: 994-8.

36.- ADINOFF AD, STRUNK RC. Methacholine inhalation challenge in young children: results of testing and follow-up (Abst). *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73: 124.

37.- WEISS ME, WHEELER B, EGGLESTON P, ADKINSON NF. A protocol for performing reproducible methacholine inhalation tests in children with moderate to severe asthma. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139:67-72.

38.- SHAPIRO GG. Pruebas de provocación bronquial con metacolina en niños. *N Engl Reg Allergy Proc (ed española)* 1990; 4 n^o2: 51-55.

39.- SPEIGHT APN, LEE DA, HEY EN. Underdiagnosis and undertreatment of asthma in childhood. *Br Med J* 1983; 286: 1253-5.

40.- BARNES PJ. New concepts in the pathogenesis of bronchial hyperresponsiveness and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 83: 1013-26.

- 41.- SCADDING JG. Definición y categorización clínica. En: Weiss EB, Segal MS, Stein M (eds). Asma bronquial. Mecanismos y Terapéutica. 2ª edición. IMESA (Intermédica España, SA), 1986: 3-13.
- 42.- CIBA FOUNDATION GUEST SYMPOSIUM. " Terminology, definitions and classification of chronic pulmonary emphysema and related conditions". Thorax 1959; 14: 286-99.
- 43.- AMERICAN THORACIC SOCIETY. Committee on Diagnostic Standards for Nontuberculous Respiratory Diseases. Definitions and classification of chronic bronchitis, asthma and pulmonary emphysema. Am Rev Respir Dis 1962; 85: 762-8.
- 44.- ABERG N. Asthma and allergic rhinitis in swedish conscripts. Clin Exp Allergy 1989; 19: 59-63.
- 45.- SMITH JM. The changing prevalence of asthma in school children. Clin Allergy 1971; 1: 57-61.
- 46.- MITCHELL EA. International trends in hospital admissions rates for asthma. Arch Dis Child 1985; 60: 376-8.
- 47.- EATON KK. The incidence of allergy - has it changed. Clin Allergy 1982; 12: 107-10.

- 48.- GREGG I. Epidemiology in asthma. In: Clark TJH, Godfrey S (eds). Asthma. Chapman and Hall. London 1977: 214-41.
- 49.- GODFREY RC. Asthma and IgE levels in rural and urban communities in the Gambia. Clin Allergy 1975; 5: 201-7.
- 50.- WAITE DA, EYLES EF, TONKIN SL, O'DONNELL TU. Asthma prevalence in Tokelauan children in two environments. Clin Allergy 1980; 10: 71-5.
- 51.- MANTLE J, PEPYS J. Asthma amongst Tristan da Cunha islanders. Clin Allergy 1974; 4: 161-70.
- 52.- ELLIS EF. Asthma in childhood. J Allergy Clin Immunol 1983; 72: 526-39.
- 53.- OJEDA JA. Asma infantil (I). Epidemiología, fisiopatología y etiopatogenia. En: Tratado de Medicina Interna. Medicine. 5ª ed, nº 80. IDEPSA. Madrid 1991: 29-40.
- 54.- COLVER AF. Community campaign against asthma. Arch Dis Child 1984; 59: 449-52.
- 55.- SMITH JM. Epidemiología e historia natural del asma, la rinitis alérgica y la dermatitis atópica (eccema). En: Middleton E, Reed ChE, Ellis EF, Adkinson NF, Yunginger JW

(eds). Alergia. Principios y práctica. 3ª edición, versión española. Salvat Editores, Barcelona 1992: 832-67.

56.- ALEXANDER HL, PADDOCK R. Bronchial asthma: response to pilocarpine and epinephrine. Arch Intern Med 1921; 27: 184-91.

57.- WEISS S, ROBB GP, BLUMGART HL. The velocity of blood flow in health and disease as measured by the effect of histamine on the minute vessels. Am Heart J 1929; 4: 664-91.

58.- WEISS S, ROBB GP, ELLIS LE. The systemic effects of histamine in man with special reference to the responses of the cardiovascular system. Arch Intern Med 1932; 49: 360-96.

59.- DALE HH, LAIDLAW PP. The physiological action of beta-aminazoly ethylamine. J Physiol 1910; 41: 318-44.

60.- CURRY JJ. The action of histamine on the respiratory tract in normal and asthmatic subjects. J Clin Invest 1946; 25: 785-91.

61.- CURRY JJ. Comparative action of acetyl-beta-methylcholine and histamine on the respiratory tract in normals, patients with hay fever and subjects with bronchial asthma. J Clin Invest 1947; 26: 430-8.

- 62.- CURRY JJ, LOWELL FC. Measurement of vital capacity in asthmatic subjects receiving histamine and acetyl-beta-methylcholine a clinical study. J Allergy 1948; 19: 9-18.
- 63.- DAUTREBANDE L, PHILIPPOT E. Crise d'asthme experimental par aerosols de carbaminoylcholine chez l'homme, traitée par dispersat de phénylaminopropane. Presse Méd 1941; 49: 942-6.
- 64.- TIFFENEAU R, BEAUVALLET M. Epreuve de bronchoconstriction et de bronchodilatation par aérosols. Bull Acad Med 1945; 129: 165-8.
- 65.- TIFFENEAU R. L'hyperexcitabilité acétylcholinique du poumon critère physio-pharmacodynamique de la maladie asthmatique. Presse Méd 1955; 63: 227-34.
- 66.- DE VRIES K, GOEI JT, BODY-NOORD H, ORIE NGM. Changes during 24 hours in the lung function and histamine hyperreactivity of the bronchial tree in asthmatic and bronchitic patients. Int Arch Allergy 1962; 20: 93-101.
- 67.- BOUSHEY HA, HOLTZMAN MJ, SHELLER JR, NADEL JA. Bronchial hyperreactivity. Am Rev Respir Dis 1980; 121: 389-413.
- 68.- KÖNIG P, GODFREY S. Prevalence of exercise-induced bronchial lability in families of children with asthma.

Arch Dis Child 1973; 48: 513-8.

69.- TOWNLEY RG, QUIRGIS HA, BEWTRA A. IgE levels and methacholine inhalation response in monozygous and dizygous twins. J Allergy Clin Immunol 1975; 55: 92-8.

70.- KÖNIG P, GODFREY S. " Exercise-induced bronchial lability in monozygotic (identical) and dizygotic (non identical) twins". J Allergy Clin Immunol 1974; 54: 280-7.

71.- EMPEY DW, LAITINEN LA, JACOBS L, GOLD WM, NADEL JA. Mechanisms of bronchial hyperreactivity in normal subjects after upper respiratory tract infection. Am Rev Respir Dis 1976; 113: 131-9.

72.- GOLDEN JA, NADEL JA, BOUSHEY MA. Bronchial hyperirritability in healthy subjects after exposure to ozone. Am Rev Respir Dis 1978; 118: 287-94.

73.- DREHEK J, MASSARI JP, GAYRARD P, GRIMAND C, CHARPIN J. Effect of short-term, low level nitrogen dioxide exposure on bronchial sensitivity of asthmatic patients. J Clin Invest 1976; 57: 301-7.

74.- FRANK NR, AMDUR NO, WORCESTER J. Effects of acute controlled exposure to sulfur dioxide on respiratory mechanics in healthy male adults. J Appl Physiol 1962; 17: 252-8.

- 75.- COCKCROFT DW, COTTON DJ, MINK JT. Nonspecific bronchial hyperreactivity after exposure to western red cedar. *Am Rev Respir Dis* 1979; 119: 505-10.
- 76.- HARGREAVE FE, DOLOVICH J, O'BYRNE PM, RAMSDALE EH, DANIEL EE. The origin of airway hyperresponsiveness. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78: 825-32.
- 77.- CHATHAM M, BLEEKER E, SMITH P, ROSENTHAL R, MASON P, NORMAN P. A comparison of histamine, methacholine and exercise. Airway reactivity in normal and asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126: 235-40.
- 78.- TSAI JJ, SHIH JT, LEE HL, WANG SR. Bronchoprovocation test in the normal and in asthmatics. *Clin J Microbiol Immunol* 1986; 119 (2): 118-23.
- 79.- BOULET LP, CARTIER A, THOMPSON NC, ROBERTS RS, DOLOVICH J, HARGREAVE FE. Asthma and increases in nonallergic bronchial responsiveness from seasonal pollen exposure. *J Allergy Clin Immunol* 1983; 71: 399-406.
- 80.- COCKCROFT DW, RUFFIN RE, DOLOVICH J, HARGREAVE FE. Allergen-induced increase in nonallergic bronchial reactivity. *Clin Allergy* 1977; 7: 503-13.
- 81.- BAR-SELA S, SCHLUETER DP, KITT SR, SOSMAN AJ, FINK JN. Antigen-induced enhancement of bronchial reactivity. *Chest*

1985; 88: 114-6.

82.- HOPP RJ, BEWTRA A, NAIR NM, TOWNLEY RG. The effect of age on methacholine response. J Allergy Clin Immunol 1985; 76: 609-13.

83.- CLARKE PS. The effect of beclomethasone dipropionate on bronchial hyperreactivity. J Asthma 1982; 19: 91-3.

84.- LAM S, WONG R, YEUNG M. Nonspecific bronchial reactivity in occupational asthma. J Allergy Clin Immunol 1979; 63:28-34.

85.- COCKCROFT DW, MURDOCK KY, BERSCHEID BA. Relationship between atopy and bronchial responsiveness to histamine in a random population. Ann Allergy 1984; 53: 26-9.

86.- BRYANT DH, BURNS MW. The relationship between bronchial histamine reactivity and atopic status. Clin Allergy 1976; 6: 373-81.

87.- TAYLOR DR, REID WD, PARE DD, FLEETHAM JA. Cigarette smoke inhalation patterns and bronchial reactivity. Thorax 1988; 43: 65-70.

88.- DOSMAN JA, BERGSTROM K, CLARCK K, KHALADKAR S. Peripheral airways function and unspecific airways reactivity in cigarette smokers. Chest 1986; 89: 45-8.

89.- BUCZCO GB, DAY A, VANDERDOELEN JL, BOUCHER R, ZAMEL N. Effects of cigarette smoking and short-term smoking cessation on airway responsiveness to inhaled methacholine. Am Rev Respir Dis 1984; 129: 12-4.

90.- BROWN NE, MCFADDEN ER, INGRAM RM. Airway responses to inhaled histamine in asymptomatic smokers and nonsmokers. J Appl Physiol 1977; 42: 508-13.

91.- MARTINEZ FD, ANTOGNONI G, MACRI F et al. Parental smoking enhances bronchial responsiveness in nine-year old children. Am Rev Respir Dis 1988; 138: 518-23.

92.- WEISS ST, TAGER IB, SPEIZER FE, ROSNER B. Persistent wheeze. Its relation to respiratory illness, cigarette smoking and level of pulmonary function in a population sample of children. Am Rev Respir Dis 1980; 122: 697-707.

93.- WEITZMAN M, GORTMAKER S, KLEINWALKER D, SOBOL A. Maternal smoking and childhood asthma. Pediatrics 1990; 85: 505-11.

94.- RIEDEL F, BRETTHAUTER C, RIEGER CHL. Influence of passive smoking on the bronchial hyperreactivity in the schoolchildren. Pneumologie 1989; 43: 164-8.

95.- BENSON MK. Bronchial hyperreactivity. Br J Dis Chest 1975; 69: 227-39.

96.- MAKINO S. Clinical severity of bronchial sensitivity to acetylcholine and histamine in bronchial asthma. *J Allergy* 1966; 38: 127-42.

97.- TOWNLEY RC, RYO UY, KANG B. Bronchial sensitivity to methacholine in asthmatic subjects free of symptoms for one to 21 years. *J Allergy* 1971; 47: 91-2.

98.- RUBINFELD AR, PAIN MCF. Relationship between bronchial reactivity, airway caliber and severity of asthma. *Am Rev Respir Dis* 1977; 115: 381-7.

99.- CADE JF, PAIN MCF. Role of bronchial reactivity in etiology of asthma. *Lancet* 1971; 2: 186-8.

100.- DUNNILL MS. The pathology of asthma, with special reference to changes in the bronchial mucosa. *J Clin Pathol* 1960; 13: 27-33.

101.- THOMSON NC. In vivo versus in vitro human airway responsiveness to different pharmacologic stimuli. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136: 558-62.

102.- CERRINA J, LADMIE ML, LABAT C, RAFFESTIN B, BAYOL A, BRINK C. Comparison of human bronchial muscle responses to histamine and isoproterenol agonists in vitro. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134: 57-61.

103.- BARNES PJ. Neural control of human airways in health and disease. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134: 1289-1314.

104.- VINCENT KS, BLACK J, YAN K, ARMOUR CL, DONNELLY PD, WOOLCOCK AJ. Comparison of in vivo and in vitro responses to histamine in human airways. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128: 875-9.

105.- ROBERTS JA, RAEBURN D, RODGER IW, THOMSON NC. Comparison of in vivo airway responsiveness and in vitro smooth muscle sensitivity to methacholine. *Thorax* 1984; 39: 837-43.

106.- CROPP GJA. The role of the parasympathetic nervous system in the maintenance of chronic airway obstruction in asthmatic children. *Am Rev Respir Dis* 1975; 112: 599-605.

107.- WIDDICOMBE JG. Role of the parasympathetic cholinergic system in normal and obstructed airways. *Respiration* 1986; 50 (suppl 2): 1-8.

108.- SIMONSSON BG, JACOBS FM, NADEL JA. Role of autonomic nervous system and the cough reflex in the increases responsiveness of airways in patients with obstructive disease. *J Clin Invest* 1967; 46: 1812-8.

109.- HOLTZMAN MJ, SELLER JR, DIMEO M, NADEL JA, BOUSHEY HA. Effect of ganglionic blockade on bronchial reactivity

in atopic subjects. Am Rev Respir Dis 1980; 122: 17-25.

110.- KNEUSSL MP, RICHARDSON JB. Alpha adrenergic receptors in human and canine tracheal and bronchial smooth muscle. J Appl Physiol 1978; 45: 307-11.

111.- BARNES PJ, IND PW, DOLLERY CT. Inhaled prazosin in asthma. Thorax 1981; 36: 378-81.

112.- BARNES PJ, BASHAUM CB, NADEL JA. Auto-radiographic localization of autonomic receptors in airways smooth muscle: marked differences between large and small airways. Am Rev Respir Dis 1983; 124: 758-62.

113.- RICHARDSON JB, BELAND J. Nonadrenergic inhibitory nervous system in human airways. J Appl Physiol 1976; 41: 764-71.

114.- RICHARDSON JB. Nerve supply to the lungs. Am Rev Respir Dis 1979; 119: 785-802.

115.- MANN SP. The innervation of mammalian bronchial smooth muscle: the localization of catecholamines and cholinesterases. Histochem J 1971; 3: 319-31.

116.- WOOLCOCK AJ, MACKLEM PT, HOGG JC, WILSON NJ. Influence of autonomic nervous system on airway resistance and elastic recoil. J Appl Physiol 1969; 26: 814-8.

117.- TATTERSFIELD AE, LEAVER DG, PRIDE NB. Effects of betaadrenergic blockade and stimulation on normal human airways. J Appl Physiol 1973; 35: 613-9.

118.- TOWNLEY RG, Mc GEADY S, BEWTRA A. The effect of beta-adrenergic blockade on bronchial sensitivity to acetyl-beta-methacholine in normal and allergic rhinitis subjects. J Allergy Clin Immunol 1976; 57: 358-66.

119.- DREHEK J, GAYRARD P, GRIMAUD CH, CHARPIN J. Effect of beta-adrenergic blockade on bronchial sensitivity to inhaled acetylcholine in normal subjects. J Allergy Clin Immunol 1975; 55: 164-9.

120.- GRIECO MH, PIERSON RN. Mechanism of bronchoconstriction due to beta adrenergic blockade. J Allergy Clin Immunol 1971; 48: 143-52.

121.- McCULLOCH MW, PROCTOR C, RAND MJ. Evidence for and adrenergic homeostatic bronchodilator reflex mechanism. Eur J Pharmacol 1967; 2: 214-23.

122.- SZENTIVANYI A. The beta-adrenergic theory of the atopic abnormality in bronchial asthma. J Allergy 1968; 42: 203-32.

123.- COOKSON DV, REED CE. A comparison of the effects of isoproterenol in the normal and asthmatic subjects. Am Rev

Respir Dis 1963; 88: 636-43.

124.- PARKER CW, SMITH JW. Alterations in cyclic adenosine monophosphate metabolism in human bronchial asthma. J Clin Invest 1973; 58: 1307-16.

125.- KARIMAN K. Beta-adrenergic receptor binding in lymphocytes from patients with asthma. Lung 1980; 158: 41-51.

126.- PATTERSON JW, LULICH KM, GOLDIE RG. The role of beta adrenoceptors in bronchial hyperreactivity. In: Morley J (ed). Bronchial Hyperreactivity. London Academic 1982: 19-38.

127.- NELSON HS, RAINE D, DONER HC, POSEY WC. Subsensitivity to the bronchodilator action of albuterol produced by chronic administration. Am Rev Respir Dis 1977; 116: 171-8.

128.- GALANT SP, DURISETI L, UNDERWOOD S, ALLRED S, INSEL PA. Beta adrenergic receptors of polymorphonuclear particulates in bronchial asthma. J Clin Invest 1980; 65: 577-85.

129.- KARIMAN K, LEFKOWITZ RJ. Decreased beta adrenergic receptor binding in lymphocytes from patients with bronchial asthma (Abstr). Clin Research 1977; 25: 503

- 130.- BROOKS SM, MCGOWAN K, BERNSTEIN L, ALTEMAN P, PEAGLER J. Relationship between numbers of beta adrenergic receptors in lymphocytes and disease severity in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1979; 63: 401-6.
- 131.- VENTER JC, FRASER CM, HARRISON LC. Autoantibodies to beta-2 adrenergic receptors: a possible cause of adrenergic hyporesponsiveness in allergic rhinitis and asthma. *Science* 1980; 207: 1361-3.
- 132.- NADEL JA, BARNES PJ. Autonomic regulation of the airways. *Ann Rev Med* 1984; 35: 451-67.
- 133.- SAID SI. Vasoactive peptides in the lung, with special reference to vasoactive intestinal polypeptide. *Exp Lung Res* 1982; 3: 343-8.
- 134.- ITOH N, OBATA K, YANAIHARA N, OKAMOTO H. Human vasoactive intestinal polypeptide contains a novel PHI-27-like peptide, PHM-27. *Nature* 1983; 304: 547-9.
- 135.- CHRISTOFIDES ND, YIANGOU Y, PIPER PJ et al. Distribution of peptide histidine isoleucin in the mammalian respiratory tract and some aspects of its pharmacology. *Endocrinology* 1984; 115: 1958-63.
- 136.- KITAMURA S, ISHIHARA Y, SAID SI. Effect of VIP, phenoxybenzamine and prednisolone on cyclic nucleotide

content of isolated guinea-pig lung and trachea. Eur J Pharmacol 1980; 67: 219-23.

137.- DIAMOND L, SZAREK JL, GILLESPIE MN, ALTIERE RJ. In vivo bronchodilator activity of vasoactive intestinal peptide in the cat. Am Rev Respir Dis 1983; 128: 827-32.

138.- IRVIN CG, MARTIN RR, MACKLEM PT. Non purinergic nature and efficacy of non adrenergic bronchodilation. J Appl Physiol 1982; 52: 562-9.

139.- MORICE AH. The role of vasoactive intestinal peptide (VIP) in asthma. In: Asthma, Clinical Pharmacology and Therapeutic Progress. Kay AB (ed). Blackwell Scientific Publications. London 1986: 91-100.

140.- BARNES PJ. Non adrenergic non cholinergic neural control of human airways. Arch Int Pharmacodyn Ther 1986; 280 (suppl): 208-28.

141.- MIDDLETON E. Antiasthmatic drugs therapy and calcium ions. Review of pathogenesis and role of calcium. J Pharma Sci 1980; 69: 243-51.

142.- TRIGGLE DJ. Calcium, the control of smooth muscle function and bronchial hyperreactivity. Allergy 1983; 38: 1-9.

- 143.- CERRINA J, DENJEAU A, ALEXANDER G, LOCKHART A, DURDOUX P. Inhibition of exercise-induced asthma by a calcium antagonist, nifedipine. *Am Rev Respir Dis* 1981; 123: 156-60.
- 144.- BARNES PJ, WILSON NM, BROWN MJ. A calcium antagonist, nifedipine, modified exercise-induced asthma. *Thorax* 1981; 36: 726-30.
- 145.- CORRIS PA, NARIMAN S, GIBSON GT. Nifedipine in the prevention of asthma induced by exercise and histamine. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128: 991-2.
- 146.- PATEL KR. The effect of calcium antagonists, nifedipine, in exercise-induced asthma. *Clin Allergy* 1981; 11: 429-32.
- 147.- PATEL KR. Sodium cromoglycate and verapamil alone and in combination in exercise-induced asthma. *Br Med J* 1983; 286: 606.
- 148.- HENDERSON AF, HEATON RW, COSTELLO JF. Effect of nifedipine on bronchoconstriction induced by inhalation of cold air. *Thorax* 1983; 38: 512-5.
- 149.- WILLIAMS DO, BARNES PJ, VICKERS H, RUDOLF M. Effects of nifedipine on bronchomotor tone and histamine reactivity in asthma (abstr). *Br Med J* 1981; 283: 348.

150.- PATEL KR. The effect of verapamil on histamine and methacholine induced bronchoconstriction. Clin Allergy 1981; 11: 441-7.

151.- WALTERS EH, BANKS J, FENNERTY A, DAVIES BH. Effects of calcium channel blockers on histamine induced bronchoconstriction in mild asthma. Thorax 1984; 39: 572-5.

152.- McINTYRE E, FITZGIBBON B, OTTO H, MINSON R, ALPERS J, RUFFIN R. Inhaled verapamil in histamine induced bronchoconstriction. J Allergy Clin Immunol 1983; 71: 375-81.

153.- HENDERSON AF, HEATON RW, DUNLOP LS, COSTELLO JF. Effects of nifedipine on antigen induced bronchoconstriction. Am Rev Respir Dis 1983; 127: 549-53.

154.- MIADONNA A, TEDESCHI A, LEGGIERI E, COTTINI M, RESTUCCIA M, BIANCHINI C. Effect of verapamil on allergen induced asthma in patients with respiratory allergy. Ann Allergy 1983; 51: 201-4.

155.- RUSSI EW, AHMED T. Calcium and calcium antagonists in airway disease. A review. Chest 1984; 86: 475-82.

156.- CHUNG KF. Role of inflammation in the hyperreactivity of the airways in asthma. Thorax 1986; 41: 657-62.

- 157.- LAITINEN LA, HEINO M, LAITINEN LA, KAVA T, HAAHTELA T. Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131: 599-606.
- 158.- BOUSHEY HA, HOLTZMAN MJ. Experimental airway inflammation and hyperreactivity. Searching for cells and mediators. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131: 312-3.
- 159.- O'BYRNE PM. Airway inflammation and airway hyperresponsiveness. *Chest* 1986; 90: 575-7.
- 160.- GODARD P, CHAINTRENIL J, DAMON M et al. Functional assesment of alveolar macrophages: comparison of cells from asthmatics and normal subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 70: 88-93.
- 161.- HOLTZMAN MJ, FABBRI LM, O'BYRNE PM et al. Importance of airway inflammation for hyperresponsiveness induced by ozone. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127: 686-90.
- 162.- NADEL JA. Inflammation and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73: 651-3.
- 163.- PAUWELS R. The relationship between airway inflammation and bronchial hyperresponsiveness. *Clin Exp Allergy* 1989; 19: 395-8.

164.- COCKCROFT DW, MURDOCK KY. Comparative effects of inhaled salbutamol, sodium cromoglycate, and beclomethasone dipropionate on allergen induced early asthmatic responses, late asthmatic responses and bronchial hyperresponsiveness to histamine. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 79: 734-40.

165.- KERREBIJN KF, VAN ESSEN ZANDULIET EEM, NEIJENS HJ. Effect of long-term treatment with inhaled corticosteroids and betaagonists on the bronchial responsiveness in children with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 79: 653-9.

166.- DURHAM SR, KAY AB. Eosinophils, bronchial hyperreactivity and late-phase asthmatic reactions. *Clin Allergy* 1985; 15: 411-8.

167.- DE MONCHY JGR, KAUFFMAN HF, VENGE P et al. Bronchoalveolar eosinophilia during allergen induced late asthmatic reactions. *Am rev Respir Dis* 1985; 131: 373-6.

168.- METZGER WJ, ZAVALA D, RICHERSON HB et al. Local allergen challenge and bronchoalveolar lavage of allergic asthmatic lungs. Description of the model and local airway inflammation. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 433-40.

169.- LAM S, LE RICHE J, PHILLIPS D, CHAN-YEUNG M. Cellular and protein lavage fluid after late asthmatic reaction in patients with red cedar asthma. *J Allergy Clin Immunol*

1987; 80: 44-50.

170.- DIAZ P, GALLEGUILLOS FR, GONZALEZ MC, PANTIN C, KAY AB. Bronchoalveolar lavage in asthma; the effects of DSCG on leucocyte counts, immunoglobulins and complement. J Allergy Clin Immunol 1984; 74: 41-8.

171.- FRIGAS E, GLEICH GJ. The eosinophil and the pathology of asthma. J Allergy Clin Immunol 1986; 77: 527-37.

172.- WARDLAW AJ, DUNNETTE S, GLEICH GJ, COLLINS JV, KAY AB. Eosinophils and mast cells in bronchoalveolar lavage in mild asthma; relationship to bronchial hyperreactivity. Am Rev Respir Dis 1988; 137: 62-9.

173.- YUKAWA T, CHANEZ P, DENT G et al. Bronchodilator agents do not inhibit oxygen-free radical release from guinea pig eosinophils (abstr). Am Rev Respir Dis 1988; 137: 27.

174.- WARDLAW AJ, MOQBEL R, CROMWELL O, KAY AB. Platelet activating factor: a potent chemotactic and chemokinetic factor for human eosinophils. J Clin Invest 1986; 78: 1701-6.

175.- KROEGEL C, YUKAWA T, DENT G, CHANEZ P, CHUNG KF, BARNES PJ. Platelet activating factor induced eosinophil peroxidase release from purified human eosinophils.

Immunology 1988; 64: 559-62.

176.- MELEWICZ FM, KLINE NE, COHEN AB, SPIEGELBERG HL. Characterization of Fc receptor for IgE on human alveolar macrophages. Clin Exp Immunol 1982; 41: 364-70.

177.- FULLER RW, KELSEY CR, COLE PJ, DOLLERY CT, MACDERMOT J. Dexamethasone inhibits the production of thromboxane B2 and leukotriene B4 by human alveolar and peritoneal macrophages in culture. Clin Sci 1984; 67: 653-6.

178.- O'BYRNE PH, WALTERS EH, GOLD BD et al. Neutrophil depletion inhibits airway hyperresponsiveness induced by ozone exposure. Am Rev Respir Dis 1984; 130: 214-9.

179.- BOSCHETTO P, FABBRI LM, ZOCCA E et al. Prednisone inhibits late asthmatic reactions and airway inflammation induced by toluene diisocyanate in sensitized subjects. J Allergy Clin Immunol 1987; 80: 261-7.

180.- JOSEPH M, AMIAULT C, CAPRON A, VORNG H, VIENS P. A new function for platelets; IgE dependent killing of shistosomes. Nature 1983; 303: 310-2.

181.- LEUNG DYM, GEHA RS. Regulation of the human IgE antibody response. Intern Rev Immunol 1987; 2: 75-91.

182.- JEFFERY PK, NELSON FC, WARDLAW AJ, KAY AB.

Quantitative analysis of bronchial biopsies in asthma (abstr). Am Rev Respir Dis 1987; 135: 316.

183.- HOLTZMAN MJ, AIZAWA H, NADEL JA, GOETZL EJ. Selective generation of leukotriene B4 by tracheal epithelial cells from dogs. Biochem Biophys Res Commun 1983; 114: 1071-7.

184.- PHILLIPS MJ, GOLD WM, GOETZL EJ. IgE dependent and ionophore induced generation of leukotrienes by dog mastocytoma cells. J Immunol 1983; 131: 906-10.

185.- MAPP CE, POLATO R, MAESTRELLI P et al. Time course of the increase in airway responsiveness associated with late asthmatic reactions to toluene diisocyanate in sensitized subjects. J Allergy Clin Immunol 1985; 75: 568-72.

186.- HERS FPH. Disturbances of the ciliated epithelium due to influenza virus. Am Rev Respir Dis 1966; 93: 162-71.

187.- VANHOUTE PM. Epithelium derived relaxing factor: myth or reality ? Thorax 1988; 43: 665- 8.

188.- BARNES PJ. Platelet activating factor and asthma. J Allergy Clin Immunol 1988; 81: 152-60.

189.- TOWNLEY RG, HOPP RJ, AGRAWAL D, BEWTRA AK. Platelet activating factor and airway reactivity. J Allergy Clin Immunol 1989; 83: 997-1010.

190.- PAGE CP. The role of platelet activating in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 81: 144-52.

191.- FRAJ J, HINOJOSA M, PUYANA J. El factor activador de las plaquetas en la fisiología del asma bronquial. *Med Clin (Barc)* 1991; 96: 30-4.

192.- O'FLAHERTY JTF, WYKLE RL. Metabolic origin and fate of platelet-activating factor. In: Schmitz-Schumann M, Menz G, Page CP (eds). *PAF, Platelets, and Asthma. Agents and Actions Supplements Vol. 21 (AAS 21)*. Birkhäuser Verlag Basel. Boston 1987: 59-66.

193.- BARNES PJ, CHUNG KF, PAGE CP. Platelet activating factor as a mediator of allergic disease. (Review). *J Allergic Clin Immunol* 1988; 81: 919-34.

194.- RUBIN AE, SMITH LJ, PATTERSON R. The bronchoconstricting properties of platelet activating factor in humans. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136: 1145-51.

195.- FULLER RW, DIXON CMS, DOLLERY CT, BARNES PJ. Prostaglandin D₂ potentiates airway responses to histamine and methacholine. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133: 252-4.

196.- BRITTON JR, HANLEY SP, TATTERSFIELD AE. The effect of an oral leukotriene D₄ antagonist L-649,923 on the response to inhaled antigen in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1987;

79: 811-6.

197.- LEE TH, WALPORT MJ, WILKINSON AH, TURNER-WARWICK M, KAY AB. Slow reacting substance of anaphylaxis antagonist FPL 55712 in chronic asthma. *Lancet* ii 1981: 304-5.

198.- O'BYRNE PM, LEIKAUF GD, AIZAWA H et al. Leukotriene B₄ induces airway hyperresponsiveness in dogs. *J Appl Physiol* 1985; 59: 1941-6.

199.- O'BYRNE PM, DANIEL EE, JONES GL, MANNING PJ. The pathogenesis of airway hyperresponsiveness in asthma. In: Hargreave FE, Hogg JC, Malo JL, Toogood JH. *Glucocorticoids and Mechanisms of Asthma. Clinical and Experimental Aspects. Proceedings of a symposium in Toronto, 18-19 November 1988.* Excerpta Medica. Amsterdam 1989: 197-212.

200.- KIRBY JG, HARGREAVE FE, O'BYRNE PM. Indomethacin inhibits allergen induced airway hyperresponsiveness but not allergen induced asthmatic responses (abstr). *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 312.

201.- FUJIMURA M, SASAKI F, NAKATSUMI Y, et al. Effects of a thromboxane synthetase inhibitor (OKY-046) and a lipoxigenase inhibitor (AA-861) on bronchial responsiveness to acetylcholine in asthmatic subjects. *Thorax* 1986; 41: 955-9.

202.- McINTOSH K, ELLIS EF, HOFFMAN LS, LYBASS TG, ELLER JJ, FULGINITIVA. The association of viral and bacterial respiratory infections with exacerbations of wheezing in young asthmatic children. *J Pediatr* 1973; 82: 578-90.

203.- MINOR TE, DICK EC, DE MED AN, QUELLETTE JJ, COHEN M REED CE. Viruses as precipitants of asthmatic attacks in children. *JAMA* 1974; 227: 292-8.

204.- ROLDAAN AC, MASURAL N. Viral respiratory infections in asthmatic children staying in a mountain resort. *Eur J Respir Dis* 1982; 63: 140-50.

205.- MINOR TE, DICK EC, BACKER JW, QUELLETTE JJ, COHEN M, REED CE. Rhinoviruses and influenza type A infections as precipitants of asthma. *Am Rev Respir Dis* 1976; 113: 149-53.

206.- LAMBERT HP, STERN H. Infective factors in exacerbations of bronchitis and asthma. *Br Med J* 1972; 3: 323-7.

207.- McINTOSH K. Bronchiolitis and asthma. Possible common pathogenic pathways. *J Allergy Clin Immunol* 1976; 57: 596-604.

208.- SCHROECKENSTEIN DC, BUSSE WW. Viral bronchitis in childhood: relationship to asthma and obstructive lung disease. *Semin Respir Infect* 1988; 3 (1): 40-8.

209.- SLY PD, HIBBERT ME. Childhood asthma following hospitalization with acute viral bronchiolitis in infancy. *Pediatr Pulmonol* 1989; 7 (3): 153-8.

210.- GURWITZ D, MINDORFF C, LEVISON H. Increased incidence of bronchial reactivity in children with a history of bronchiolitis. *J Pediatr* 1981; 98 (4): 551-5.

211.- COOPER JAD. Bronchoalveolar cell activation after inhalation of a bronchoconstricting agent. *J Appl Physiol* 1988; 64: 1616-23.

212.- BUSSE WN, ANDERSON CL, DICK EC, WARSHANER D. Reduced granulocyte response to isoproterenol histamine and prostaglandin E after in vitro incubation with rhinovirus AG. *Am Rev Respir Dis* 1980; 122: 641.

213.- WELLS RC, KAUL TN, OGRA PL. The appearance of cell-bound IgE in respiratory tract epithelium after respiratory syncytial virus infection. *N Engl J Med* 1980; 303: 1198-1202.

214.- WELLS RC, WONG DT, SUN M, MIDDLETON E, VAUGHAN RS, OGRA PL. The development of respiratory syncytial virus specific IgE and the release of histamine in nasopharyngeal secretions after infection. *N Engl J Med* 1981; 305: 841-6.

215.- ZWEIMAN B, SCHOENWETTER WF, PAPPANO, JE, TEMPEST B,

HILDRETH E. Patterns of allergic respiratory disease in children with a past history of bronchiolitis. *J Allergy* 1971; 48: 283-9.

216.- ROONEY JC, WILLIAMS HE. The relationship between proved viral bronchiolitis and subsequent wheezing. *J Pediatr* 1971; 79: 744-77.

217.- GOZALO F. Asma Bronquial. Diagnóstico y Tratamiento. En: Senent CJ, Gozalo F (eds). *Pregrado Alergología*. Madrid, Luzán S SA de Ediciones, 1985: 255-84.

218.- PAUWELS R, JOOS G, VAN DER STRAETEN M. Bronchial hyperresponsiveness is not bronchial hyperresponsiveness is not asthma. *Clin Allergy* 1988; 18: 317-21.

219.- TAL A, PASTERKAMP H, SERRETTE C et al. Response to cold air hyperventilation in normal and in asthmatic children. *J Pediatr* 1984; 104: 516-21.

220.- BABA Y, HAYASHIDA M, YASUNAMI J, TAKAMATSU I, ADACHI K, TOYOSHIMA K. Bronchoconstrictive effect of ultrasonic nebulized distilled water on asthmatic children. *J Asthma* 1989; 26: 299-307.

221.- ARAKI H, SLY PD. Inhalation of hypertonic saline as a bronchial challenge in children with mild asthma and normal children. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84: 99-107.

222.- WOENNE R, KATTAN M, ORANGE RP, LEVISON H. Bronchial hyperreactivity to histamine and methacholine in asthmatic children after inhalation of SCH 1000 and chlorpheniramine maleate. *J Allergy Clin Immunol* 1978; 62: 119-24.

223.- COCKCROFT DW, KILLIAN DN, MELLON JJA, HARGREAVE FE. Protective effect of drugs on histamine induced asthma. *Thorax* 1977; 32: 429-37.

224.- SALOME CM, SCHOEFFEL RE, WOOLCOCK AJ. Effect of aerosol and oral fenoterol on histamine and methacholine challenge in asthmatic subjects. *Thorax* 1981; 36: 580-4.

225.- CARTIER A, MALO JL, BEGIN P, SESTIER M, MARTIN RR. Time course of the bronchoconstriction induced by inhaled histamine and methacholine. *J Appl Physiol: Respir Environ Exercise Physiol* 1983; 54: 821-6.

226.- JUNIPER EF, FRITH PA, DUNNETT C, COCKCROFT DW, HARGREAVE FE. Reproducibility and comparison of responses to inhaled histamine and methacholine. *Thorax* 1978; 33: 705-10.

227.- SPECTOR S. Pruebas de Provocación Bronquial. En: Weiss EB, Segal MS, Stein M (eds). *Asma Bronquial Mecanismos y Terapéutica*. 2ª edición. IMESA (Intermédica España, SA), 1986: 358-84.

228.- PRATTER MR, WOODMAN TF, IRWIN RS, JOHNSON B. Stability of stored methacholine chloride solutions. Clinically useful information. Am Rev Respir Dis 1982; 126: 717-9.

229.- CROPP GJA, BERNSTEIN IL, BOUSHEY HS et al. Guidelines for bronchial inhalation challenges with pharmacologic and antigenic agents. ATS News 1980: 11-19.

230.- MacDONALD NC, WHITMORE CK, MAKOID MC et al. Stability of methacholine chloride in bronchial provocation tests solutions. Am J Hosp Pharm 1981; 38: 868-71.

231.- PRATTER MR, IRWIN RS. The clinical value of pharmacologic bronchoprovocation challenge. Chest 1984; 85: 260-5.

232.- PATEL KR. Atropine, sodium cromoglycate and thymoxamine in PG F2 alfa induced bronchoconstriction in extrinsic asthma. Br Med J 1975; 2: 360-2.

233.- MATHE AA, HEDQUIST P, HOLMGREN A, SVANBORG N. Bronchial hyperreactivity to prostaglandin F2 alfa and histamine in patients with asthma. Br Med J 1973; 1: 193-6.

234.- THOMPSON NC, ROBERTS R, BANDOUVAKIS J, NEWBALL H, HARGREAVE FE. Comparison of bronchial responses to prostaglandin F2 alfa and methacholine. J Allergy Clin

Immunol 1981; 68: 392-8.

235.- VARDNIER HS, PANZANI R. The effect of inhalations of bradykinin on healthy and atopic (asthmatic) children. Int Arch Allergy Applied Immunol 1968; 34: 293-6.

236.- HOLROYDE MC, ALTOUNYAN REC, COLE M, DIXON M, ELLIOT EV. Bronchoconstriction produced in man by leukotrienes C y D. Lancet 1981; 2: 17-18.

237.- ALLEGRA L, BIANCO S. Non specific bronchoreactivity obtained with an ultrasonic aerosol of distilled water. Eur J Respir Dis 1980; 61 (suppl 106): 41-9.

238.- COLAS C, GOZALO F, PELTA R. Aspectos técnicos de la evaluación de la hiperreactividad bronquial inespecífica. En: SEA e IC (ed). Tratado de Alergología e Inmunología Clínica. Tomo III. Alergología Clínica (I). Madrid, Luzán S SA de Ediciones, 1986; 419-36.

239.- O'BYRNE PM, RYAN G, MORRIS M et al. Asthma induced by cold air and its relation to nonspecific bronchial responsiveness to methacholine. Am Rev Respir Dis 1982; 125: 281-5.

240.- DEAL EC, McFADDEN ER, INGRAM RH, STRAUSS RH, JAEGER JJ. Role of respiratory heat exchange in production of exercise induced asthma. J Appl Physiol 1979; 46: 467-75.

241.- ANDERSON SD, SCHOEFFEL RE, FOLLET R, PERRY CP, DAVISKAS E, KENDALL M. Sensitivity to heat and water loss at rest and during exercise in asthmatic patients. Eur J Respir Dis 1982; 63: 459-71.

242.- LEE TH, BROWN MJ, NAGY L, CAUSON R, WALPORT MJ, KAY AB. Exercise induced release of histamine and neutrophil chemotactic factor in atopic asthmatics. J Allergy Clin Immunol 1982; 70: 73-81.

243.- MADSEN F, FROLUND L, NIELSEN NH, SVENDSEN UG, WEEKE B. Bronchial challenge: Ventilation during "tidal volume breathing" inhalation is not constant. Bull Europ Physiopath Resp 1986; 22: 517-22.

244.- CHAI H, FARR RS, FROEHLICH LA et al. Standardization of bronchial inhalation challenge procedures. J Allergy Clin Immunol 1975; 56: 323-7.

245.- EISER NM, KERREBIJN KF, QUANJER PH. Guidelines for standardization of bronchial challenges with (nonspecific) bronchoconstricting agents. Bull Europ Physiopath Resp 1983; 19: 495-514.

246.- VALENCIA RODRIGUEZ A, CASAN CLARA P, DIAZ FERNANDEZ M, PERPIÑA TORDERA M, SEBASTIAN GIL MD. Normativa para los tests de provocación bronquial inespecífica. Grupo de trabajo de la S.E.P.A.R. para la práctica de los tests de

provocación bronquial inespecífica. Ediciones Doyma SA. Barcelona 1987.

247.- OREHEK J, GAYRARD P. Les tests de provocation bronchique non spécifiques dans l'asthme. Bull Europ Physiopath Resp 1976; 12: 565-98.

248.- MUÑOZ LOPEZ F. Experiencia con el test de metacolina en niños. Propuesta de un método de valoración objetiva. XV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica. Madrid. Libro de Ponencias 1986: 38-41.

249.- COCKCROFT DW, BERSCHEID BA. Standardization of inhalation provocation tests. Dose vs concentration of histamine. Chest 1982; 82: 572-5.

250.- RYAN G, DOLOVICH MB, OBMINSKI C et al. Standardization of inhalation provocation test: influence of nebulizer output, particle size, and method of inhalation. J Allergy Clin Immunol 1981; 67: 156-61.

251.- HEYDER J. Mechanisms of aerosol particle deposition. Chest 1981; 80: 820-3.

252.- COCKCROFT DW. Bronchial inhalation tests. I. Measurement of nonallergic bronchial responsiveness. Ann Allergy 1985; 55: 527-34.

253.- JUNIPER EF, SYTY-GOLDA M, HARGREAVE FE. Histamine inhalation tests: inhalation of aerosol via a facemask versus a valve box with mouthpiece. Thorax 1984; 39: 556-7.

254.- MERCER TT. Production and characterization of aerosols. Arch Intern Med 1973; 131: 39-50.

255.- HIGENBOTTAN T, GODDEN D. Inhalation challenge testing for asthma. Role of bronchial provocation tests in clinical practice. Postgraduate Medicine 1984; 76: 165-74.

256.- RYAN G, DOLOVICH MB, ROBERTS RS et al. Standardization of inhalation provocation tests: two techniques of aerosol generation and inhalation compared. Am Rev Respir Dis 1981; 123: 195-9.

257.- ROSENTHAL RR. Metodología aprobada en las pruebas de provocación con metacolina. N Engl J Allergy Proc (ed española) 1990; 4 n22: 12-34.

258.- YAN K, SALOME C, WOOLCOCK AJ. Rapid method for measurement of bronchial responsiveness. Thorax 1983; 36: 760-5.

259.- CHATTAN M, BLEECKER ER, NORMAN P, SMITH P, MASON P. A screening test for airways reactivity. An abbreviated methacholine inhalation challenge. Chest 1982; 82: 15-18.

- 260.- COCKCROFT DW, BERSCHEID BA. Measurement of responsiveness to inhaled histamine: comparison of FEV1 and sGaw. *Ann Allergy* 1983; 51: 374-7.
- 261.- FISH JE, PETERMAN VJ, CUGELL DW. Effect of deep inspiration on airway conductance in subjects with allergic rhinitis and allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1977; 60: 41-6.
- 262.- OREHEK J, CHARPIN D, VELARDOCCHIO JM, GRIMAUD C. Bronchomotor effect of bronchoconstriction induced deep inspirations in asthmatics. *Am Rev Respir Dis* 1980; 121: 297-305.
- 263.- SCOTT GC, KÜNG M. How many spiograms for a histamine challenge? *Am Rev Respir Dis* 1985; 132: 268-71.
- 264.- WOOLCOCK AJ, YAN K, SALOME C. Methods for assessing bronchial reactivity. *Eur J Respir Dis* 1983; 64 (suppl 128): 181-94.
- 265.- MATTHYS H, KLEIN G, KÖHLER D. Standardization of bronchial responsiveness in children. *Prog Resp Res*, (Karger, Basel) 1981; 17: 155-66.
- 266.- DUIVERMAN EJ, KERREBIJN KF. Nonspecific bronchial hyperresponsiveness in young children. In: Melillo G, Norman PS, Marone G (eds). *Respiratory Allergy. Clinical*

Immunology Vol 2. Toronto 1990: 149-55.

267.- COCKCROFT DW, MURDOCK KY, MINK JT. Determination of histamine PC 20. Comparison of Linear and Logarithmic interpolation. Chest 1983; 84: 505-6.

268.- OREHEK J, GAYRARD P, SMITH AP et al. Airway response to carbachol in normal and asthmatic subjects distinction between bronchial sensitivity and reactivity. Am Rev Respir Dis 1977; 115: 937-43.

269.- COCKCROFT DW, BERSCHEID BA. Slope of the dose response curve: usefulness in assessing bronchial response to inhaled histamine. Thorax 1983; 38: 55-61.

270.- WOENNE R, KATTAN M, LEVISON H. Sodium cromoglycate induced changes in the dose response curve of inhaled methacholine and histamine in asthmatic children. Am Rev Respir Dis 1979; 119: 927-32.

271.- GOZALO REQUES F. Diagnóstico ante sintomatología imprecisa o episódica. Ayuda en la valoración de gravedad clínica y necesidades farmacológicas. Modificación terapéutica de la hiperreactividad bronquial. Nuevas técnicas. XV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica. Madrid. Libro de Ponencias 1986; 23-37.

272.- IIKURA Y, IMUI H, OBATA T et al. Efectos de los medicamentos sobre las respuestas tardías de asma inducido por ejercicio. N Engl Reg Allergy Proc (ed española) 1988; 2 n25: 19-23.

273.- BENNATI D, PIACENTINI GL, PERONI DG, SETTE L, TESTI R, BONER AL. Changes in bronchial reactivity in asthmatic children after treatment with beclomethasone alone or in association with salbutamol. J Asthma 1989; 26: 359-64.

274.- EASTON JG. Effect of an inhaled corticosteroid on methacholine airway reactivity. J Allergy Clin Immunol 1981; 67: 388-90.

275.- JUNIPER EJ, KLINE PA, VANZIELEGHEM MA, RAMSDALE EH, O'BYRNE PM, HARGREAVE FE. Effect of long-term treatment with an inhaled corticosteroid (budesonide) on airway hyperresponsiveness and clinical asthma in nonsteroid dependent asthmatic. Am Rev Respir Dis 1990; 142: 832-6.

276.- WEISS ST, TAGER IB, MUÑOZ A, SPEIZER F. The relationship of respiratory infections in early childhood to the occurrence of increased levels of bronchial responsiveness and atopy. Am Rev Respir Dis 1985; 131: 573-8.

277.- CHUNG KF, MORGAN B, KEYES SJ, SHUSHALL PP. Histamine dose response relationship in normal and asthmatic

subjects. The importance of starting airway caliber. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126: 849-54.

278.- BEAUPRE A, MALO JL. Histamine dose response curves in asthma: relevance of the distinction between PC 20 and reactivity characterising clinical state. *Thorax* 1981; 36: 731-6.

279.- SPARROW D, O'CONNOR G, COLTON T, BARRY CHL, WEISS ST. The relationship of nonspecific bronchial responsiveness to the occurrence of respiratory symptoms and decreased levels of pulmonary function. The normative aging study. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 1255-60.

280.- RIJCKEN B, SCHOUTEU JP, WEISS ST, SPEIZER FE, VAN DER LENDER R. The relationship between airway responsiveness to histamine and pulmonary function level in a random population sample. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137: 826-32.

281.- PRIETO L, MARIN J. Metodología del test de provocación con metacolina. II. Utilidad diagnóstica. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1991; 6: 153-9.

282.- AMARO-GALVEZ RA, McLAUGHLIN FJ, LEVISON H. The relationship between airway obstruction and bronchial hyperreactivity in childhood asthma. *Ann Allergy* 1987; 58: 45-7.

283.- PRIETO L. Obstrucción al flujo aéreo e hiperexcitabilidad bronquial en la rinitis alérgica. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1990; 5: 57-69.

284.- HOPP RJ, BEWTRA AK, NAIR NM, TOWNLEY RG. Specificity and sensitivity of methacholine inhalation challenge in normal and asthmatic children. J Allergy Clin Immunol 1984; 74: 154-8.

285.- COCKCROFT DW, MURDOCK KY, BERSCHIED BA, GORE BP. Sensitivity and specificity of histamine PC 20 determination in a random selection of young college students. J Allergy Clin Immunol 1992; 89: 23-30.

286.- FISH J, ROSENTHAL R, BATRA G et al. Airway responses in allergic and nonallergic subjects. Am Rev Respir Dis 1976; 113: 579-86.

287.- LEE DA, WINSLOW NR, SPEIGHT ANP, HEY EN. Prevalence and spectrum of asthma in childhood. Br Med J 1983; 286: 1256-8.

288.- SPIROPOULOS K, STEVENS J, EIGEN H, SPIROPOULOS A. Specificity and sensitivity of methacholine challenge test in children with normal and hyperreactive airways. Acta Paediatr Scand 1986; 75: 737-43.

289.- RIEDEL F, VON DER HARDT H. Bronchial sensitivity to

inhaled histamine in healthy, nonatopic children. *Pediatr Pulmonol* 1986; 2: 15-18.

290.- BACKER V, GROTH S, DIRKSEN A et al. Sensitivity and specificity of the histamine challenge test for the diagnosis of asthma in an unselected sample of children and adolescents. *Eur Respir J* 1991; 4: 1093-1100.

291.- MICHAVILA GOMEZ A, MARTORELL ARAGONES A, SOLE JOVE A, TORRO DOMENECH M, CERDA MIR J, ALVAREZ ANGEL N. Test de metacolina para el estudio de la hiperreactividad bronquial inespecífica en la edad pediátrica. *An Esp Pediatr* 1986; 25 (6): 411-6.

292.- BEWTRA A, TOWNLEY RG. Bronchoprovocative tests. Clinical usefulness and limitations. *Arch Intern Med* 1984; 144: 925-6.

293.- PRIETO L, MARIN J. Metodología del test de provocación bronquial con metacolina. I. Repetibilidad, definición de los Puntos de corte y métodos para calcular los resultados. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1991; 6: 103-11.

294.- EISER NM, MACRAE KD, GUZ A. Evaluation and expression of bronchial provocation tests. *Bull Europ Physiopath Resp* 1981; 17: 427-40.

295.- PEAT JK, SALOME CM, BAUMAN A, TOELLE BG, WACHINGER SL, WOOLCOCK AJ. Repeatability of histamine bronchial challenge and comparability with methacholine bronchial challenge in a population of Australian schoolchildren. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 338-43.

296.- MADSEN F, RATHLOU NHH, FROLUND L, GERNER SVENDSEN U, WEEKE B. Short and long term reproducibility of responsiveness to inhaled histamine R_t compared to FEV1 as measurement of response to challenge. *Eur J Respir Dis* 1985; 67: 193-203.

297.- BRITTON JR, MORTAGY A, TATTERSFIELD AF. Histamine challenge testing: comparison of three methods. *Thorax* 1986; 41: 128-32.

298.- LÖWHAGEN O, LINDHOLM NB. Short-term and long-term variation in bronchial response to histamine in asthmatic patients. *Eur J Respir Dis* 1983; 64: 466-72.

299.- HIGGINS BG, BRITTON JR, CHINN S et al. Comparison of histamine and methacholine for use in bronchial tests in community studies. *Thorax* 1988; 43: 605-10.

300.- IVERSEN M, HARVING H, PEDERSEN B. Measurement of PC 20 histamine with the use of two different nebulizers and measurement of FEV1 and PEF. *Allergy* 1991; 46: 213-6.

301.- TRIGG CJ, JHALLI N, HERDMAN MJ, CUNDELL DR, THOMAS JM, DAVIES RJ. The daily variability of bronchial responsiveness to methacholine. Eur Respir J 1990; 3: 867-71.

302.- HARIPARSAD D, WILSON N, DIXON C, SILVERMAN M. Reproducibility of histamine challenge test in asthmatic children. Thorax 1983; 38: 258-60.

303.- SEARS MR, JONES DT, HOLDAWAY MD et al. Prevalence of bronchial reactivity to inhaled methacholine in New Zealand children. Thorax 1986; 41: 283-9.

304.- ASHER MI, PATTEMORE PK, HARRISON AC et al. International comparison of the prevalence of asthma symptoms and bronchial hyperresponsiveness. Am Rev Respir Dis 1988; 138: 524-9.

305.- SALOME CM, SCHOEFFEL RE, WOOLCOCK AJ. Comparison of bronchial reactivity to histamine and methacholine in asthmatics. Clin Allergy 1980; 10: 541-6.

306.- AQUILINA AT. Comparison of airway reactivity induced by histamine, methacholine and isocapnic hyperventilation in normal and asthmatic subjects. Thorax 1983; 38: 766-70.

307.- HEATON RW, HENDERSON AF, COSTELLO JF. Cold air as a bronchial provocation technique. Reproducibility and

comparison with histamine and methacholine inhalation. Chest 1984; 86: 810-4.

308.- BHAGAT RG, GRUNSTEIN MM. Comparison of responsiveness to methacholine, histamine and exercise in subgroups of asthmatic children. Am Rev Respir Dis 1984; 129: 221-4.

309.- EGGLESTON PA. A comparison of the asthmatic response to methacholine and exercise. J Allergy Clin Immunol 1979; 63: 104-10.

310.- KIVILDOG J. Bronchial reactivity to exercise and methacholine in bronchial asthma. Scand J Respir Dis 1973; 54: 347-58.

311.- SHAPIRO GG. Methacholine challenge relevance for the allergic athlete. J Allergy Clin Immunol 1984; 73: 670-5.

312.- KIVILDOG J. The correlation between exercise induced bronchoconstriction and bronchial methacholine sensitivity in asthma. Pediatrics 1975; 56 (suppl): 908-9.

313.- PELTA FERNANDEZ R, GOZALO REQUES F, COLAS SANZ C. Asma inducido por ejercicio e hiperventilación. En: SEA e IC (ed). Tratado de Alergología e Inmunología Clínica. Tomo III. Alergología Clínica (I). Madrid, Luzán 5 SA de Ediciones, 1986: 315-29.

314.- MELLIS CM, KATTAN M, KEENS TG, LEVISON H. Comparative study of histamine and exercise challenges in asthmatic children. *Am Rev Respir Dis* 1978; 117: 911-5.

315.- GALDES-SEBALDT M, McLAUGHLIN FJ, LEVISON H. Comparison of cold air, ultrasonic mist, and methacholine inhalations as tests of bronchial reactivity in normal and asthmatic children. *J Pediatr* 1985; 107: 526-30.

316.- OLAGUIBEL JM, GARCIA BE, de la CUESTA CG, QUIRCE S, RODRIGUEZ A, TABAR AI. Provocación con salino hipertónico en la evaluación de la hiperreactividad en el asma bronquial. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1992; 7 (nº3): 53-62.

317.- ROSENTHAL RR, CHAI H, MATHISON DA, SPECTOR SL, TOWNLEY RG. Indications for inhalation challenge. *J Allergy Clin Immunol* 1979; 64: 603.

318.- DINHXUAN AT, LOCKART A. Use of nonspecific bronchial challenge in the assessment of antiasthmatic drugs. *Eur Respir Rev* 1991; 1: 19-24.

319.- HARGREAVE FE, RYAN G, THOMSON NC et al. Bronchial responsiveness to histamine or methacholine in asthma: measurement and clinical significance. *J Allergy Clin Immunol* 1981; 68: 347-55.

- 320.- MURRAY AB, FERGUSON AC, MORRISON B. Airway responsiveness to histamine as a test for overall severity of asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 1981; 68: 119-24.
- 321.- MOCHIZUKI H, MITSUHASHI M, TOKUYAMA K, TAJIMA K, MORIKAWA A, KUROUME T. Bronchial hyperresponsiveness in younger children with asthma. *Ann Allergy* 1988; 60: 103-6.
- 322.- OLAGUIBEL RIVERA JM, GARCIA FIGUEROA BE, QUIRCE GANCEDO S, RODRIGUEZ BARRERA A, TABAR PURROY AI. Provocación bronquial con metacolina de acuerdo a un método abreviado y su relación con la expresión clínica del asma. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1992; 7: 119-24.
- 323.- AMARO-GALVEZ R, McLAUGHLIN FJ, LEVISON H, RASHED N, GALDES-SEBALDT M, ZIMMERMAN B. Grading severity and treatment requirements to control symptoms in asthmatic children and their relationship with airway hyperreactivity to methacholine. *Ann Allergy* 1987; 59: 298-302.
- 324.- ROBINSON CB, PARSONS GH. Bronchial provocation tests with pharmacological agents. *Clin Rev Allergy* 1990; 8: 129-45.
- 325.- BRITTON WJ, WOOLCOCK AJ, PEAT JK, SEDGWICK CJ, LLOYD DM, LEEDER SR. Prevalence of bronchial hyperresponsiveness in children: the relationship between asthma and skin

reactivity to allergens in two communities. *Int J Epidemiology* 1986; 15: 202-9.

326.- PATTEMORE PK, ASHER MI, HARRISON AC, MITCHELL EA, REA HH, STEWART AW. Ethnic differences in prevalence of asthma symptoms and bronchial hyperresponsiveness in New Zealand schoolchildren. *Thorax* 1989; 44: 168-76.

327.- SALOME CM, PEAT JK, BRITTON WJ, WOOLCOCK AJ. Bronchial hyperresponsiveness in two populations of Australian schoolchildren. I. Relation to respiratory symptoms and diagnosed asthma. *Clin Allergy* 1987; 17: 271-81.

328.- MELLIS CM, LEVISON H. Bronchial reactivity in cystic fibrosis. *Pediatrics* 1978; 61: 446-50.

329.- RAMSDELL JW, NACHTWEY FJ, MOSER KM. Bronchial hyperreactivity in chronic obstructive bronchitis. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126: 829-32.

330.- BAHOUS J, CARTIER A, QUIMET G, PINEAU L, MALO JL. Nonallergic bronchial hyperexcitability in chronic bronchitis. *Am Rev Respir Dis* 1984; 129: 216-20.

331.- VERMA VK, COCKCROFT DW, DOSMAN JA. Airway responsiveness to inhaled histamine in chronic obstructive airways disease. Chronic bronchitis vs emphysema. *Chest*

1988; 94: 457-61.

332.- KOMIETZKO N, KRAFT J. Airway hyperreactivity in patients with sarcoidosis. Am Rev Respir Dis 1982; 126 (abstr): 943.

333.- FREEDMAN PM, AULT B. Bronchial hyperreactivity to methacholine in farmers lung disease. J Allergy Clin Immunol 1981; 67: 59-63.

334.- CHABRA SK, GAUR SN. Airway hyperreactivity in tropical pulmonary eosinophilia. Chest 1988; 93: 1105-6.

335.- BRAMAN SS, BARROWS AA, DE COTTIS BA, SETTIPANE GA, CORRAO WN. Airway hyperresponsiveness in allergic rhinitis. A risk factor for asthma. Chest 1987; 91: 671-4.

336.- RAMSDALE EH, MORRIS MM, ROBERTS RS, TECH M, HARGREAVE FE. Asymptomatic bronchial hyperresponsiveness in rhinitis. J Allergy Clin Immunol 1985; 75: 573-7.

337.- PRIETO L, PASTOR A, PALOP J, SALVADOR MD, CASTRO J. Hiperexcitabilidad bronquial en la poliposis nasal. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1987; 2: 415-9.

338.- COCKCROFT DW. Cigarette smoking, airway hyperresponsiveness, and asthma. Chest 1988; 94: 675-6.

339.- BACKER V, BACH-MORTENSEN N, DIRKSEN A. Prevalence and predictors of bronchial hyperresponsiveness in children aged 7-16 years. *Allergy* 1989; 44: 214-9.

340.- CLOUGH JB, DOW L. Epidemiological approach to bronchial responsiveness. *Clin Allergy* 1987; 17: 265-9.

341.- TAUSSIG LM, CHERNICK V, WOOD R, FARNELL P, MELLINS RB. Standardization of lung function testing in children. Proceedings and Recommendations of the GAP Conference Committee, Cystic Fibrosis Foundation. *J Pediatr* 1980; 97: 668-76.

342.- SLY PD, ROBERTSON CF. A review of pulmonary function testing in children. *J Asthma* 1990; 27 (3): 137-37.

343.- AMERICAN THORACIC SOCIETY. Standardization of spirometry 1987 Update. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136: 1285-98.

344.- ARMENGOD MONZON JE, PAYO LOSA F. La exploración de la función ventilatoria pulmonar. En: PAR. *Patología del Aparato Respiratorio. Tests de Función Pulmonar (I)*. Luzán 5 SA de Ediciones. Dic. 1990; nº 95: 13-26.

345.- ZAPLETAL A, PAUL T, SAMANEK M. Die Bedeutung heutiger Methoden der Lungenfunktionsdiagnostik zur Feststellung einer Obstruktion der Atemwege bei Kindern und

Ingendlichen. Z Erkrank Atm Org 1977; 149: 343-71.

346.- COBOS N, LIÑAN S. Estudio de la Función Pulmonar en: Síndrome obstructivo bronquial en la infancia. Monografía Sandoz S.A. Barcelona 1984: 97-106.

347.- WALL MA. Tests de función pulmonar en medicina ambulatoria. Clin Ped Nort Am (ed esp) 1984; 4: 757-69.

348.- CARRASCO JL. El método estadístico en la investigación médica. Editorial Ciencia 3 SA, 4ª ed, Madrid 1989.

349.- ROMAR A. Rentabilidad de pruebas alérgicas y biomatemáticas. XIV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica. Santiago de Compostela. Libro de Ponencias 1984: 151-64.

350.- MARTIN ANDRES A, LUNA DEL CASTILLO JD. Bioestadística para las Ciencias de la Salud. Ediciones Norma SA. 3ª ed. Madrid 1990.

351.- FISH JE, KELLY JF. Measurements of responsiveness in bronchoprovocation testing. J Allergy Clin Immunol 1979; 64: 592-6.

352.- WOOLCOCK AJ, PEAT JK, SALOME CM et al. Prevalence of bronchial hyperresponsiveness and asthma in a rural adult

population. Thorax 1987; 42: 361-8.

353.- BURNEY PFJ, BRITTON JR, CHINN S et al. Descriptive epidemiology of bronchial reactivity in an adult population: results from a community study. Thorax 1987; 42: 38-44.

354.- JENKINS CR, BRESLIN ABX. Upper respiratory tract infections and airway reactivity in normal and asthmatic subjects. Am Rev Respir Dis 1984; 130: 879-83.

355.- POPA V, SINGLETON J. Provocation dose and discriminant analysis in histamine bronchoprovocation: are the current predictive data satisfactory? Chest 1988; 94: 466-75.

356.- WEISS ST, TAGER IB, WEISS JW, MUÑOZ A, SPEIZER FE, INGRAM RH. Airways responsiveness in a population sample of adults and children. Am Rev Respir Dis 1984; 129: 898-902.

357.- SEARS MR, HOLDAWAY MD, HEWITT CJ, SILVA PA. Bronchial reactivity in children without asthma. Austr N J Med 1984; 14 (suppl 2): 542.

358.- BIRNIE D, SCHWARTZENBERG GW, HOP WCJ, ESSEN-ZANDVLIET EEM, KERREBIJN KF. Does the outcome of the tidal breathing and dosimeter methods of assessing bronchial responsiveness in children with asthma depend on age? Thorax 1990; 45:

199-202.

359.- MORROU PE. Deposition and retention models for internal dosimetry of the human respiratory tract. Health Phys 1966; 12: 173-207.

360.- NEWBALL HH. The unreliability of the maximal midexpiratory flow as an index of acute airway changes. Chest 1975; 67: 311-4.

361.- REDLINE S, TAGER IB, CASTILE RG, WEISS ST, BARR M, SPEIZER FE. Assessment of the usefulness of helium oxygen maximal expiratory flow curves in epidemiologic studies of lung disease in children. Am Rev Respir Dis 1987; 136: 834-40.

362.- VOTER KZ, HENRY MM, STEWART PW, HENDERSON FW. Lower respiratory illness in early childhood and lung function and bronchial reactivity in adolescent males. Am Rev Respir Dis 1988; 137: 302-7.

363.- DOLOVICH MB, SANCHIS J, ROSSMAN C, NEWHOUSE MT. Aerosol penetrance: a sensitive index of peripheral airways obstruction. J Appl Physiol 1976; 40: 468-71.

364.- LAUBE BL, SWIFT DL, WAGNER HN, NORMAN PS, ADAMS GK. The effect of bronchial obstruction on central airway deposition of a saline aerosol in patients with asthma. Am

Rev Respir Dis 1986; 133: 740-3.

365.- MACKLEM PT, MEAD J. Resistance of central and peripheral airways measured by a retrograde catheter. J Appl Physiol 1967; 22: 395-401.

366.- RUFFIN RE, DOLOVICH MB, WOLFF RK, NEWHOUSE MT. The effects of preferential deposition of histamine in the human airway. Am Rev Respir Dis 1978; 117: 485-92.

367.- SILVERMAN M, ANDERSON S. Standardization of exercise tests in asthmatic children. Arch Dis Child 1972; 47: 882.

368.- CROPP GJA. Grading, time course, and incidence of exercise induced airway obstruction and hyperinflation in asthmatic children. Pediatrics 1975; 56: 868-79.

369.- BURDON JGW, JUNIPER EF, KILLIAN KJ, HARGREAVE FE, CAMPBELL EJM. The perception of breathlessness in asthma. Am Rev Respir Dis 1982; 126: 825-8.

370.- RUBINFELD AR, PAIN MCF. Perception of asthma. Lancet 1976; 24: 882-4.

371.- SHIM CS, WILLIAMS MH Jr. Evaluation of the severity of asthma: patient versus physicians. Am J Med 1980; 68: 11-3.

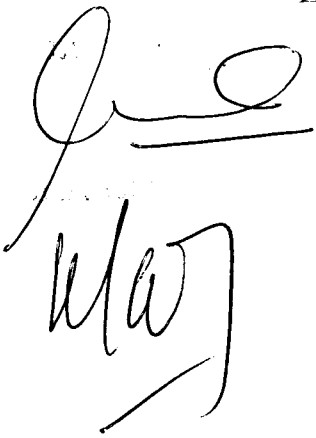
372.- COCKCROFT DW, RUFFIN RE, FRITH PA et al. Determinants of allergen induced asthma: dose of allergen, circulating IgE antibody concentration and bronchial responsiveness to inhaled histamine. Am Rev Respir Dis 1979; 120: 1053-8.

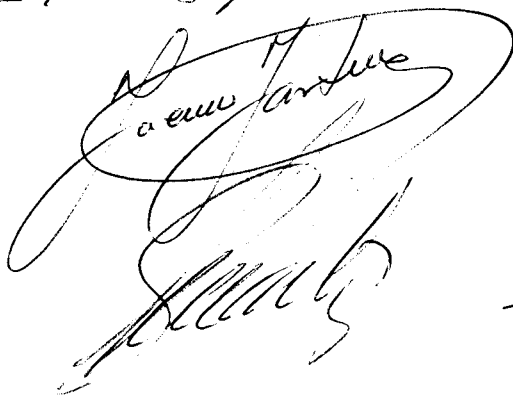
373.- JOSEPHS LK, GREGG I, MULLEE MA, HOLGATE ST. Nonspecific bronchial reactivity and its relationship to the clinical expression of asthma. A longitudinal study. Am Rev Respir Dis 1989; 140: 350-7.

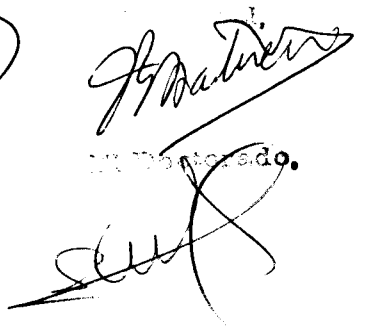
Dr. Maria Sergio Cruz Grauedo
Valoración de la Respuesta Bronquial
en pacientes con Metabolismo en niños y
adolescentes -

APTO CON CAUDE

24 Septiembre 93


MAG


a cargo de la
MAG


MAG