



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

---

---

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

**INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS**

"ISMAEL COSÍO VILLEGAS"

**Determinar el grado de hiperreactividad  
bronquial en pacientes asmáticos y sanos del  
Instituto Nacional de Enfermedades  
Respiratorias.**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL GRADO DE SUB ESPECIALISTA EN  
INMUNOLOGÍA CLÍNICA Y ALERGIA**

Presenta:

**Lizzeth Lilian Juárez Martínez**

Asesores:

Dr. Luis Manuel Terán Juárez

Dra. María de la Luz García Cruz

Dr. Alfonso Fuentes Beltrán



México 2010



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

---

DR. JORGE SALAS HERNÁNDEZ  
DIRECTOR DE ENSEÑANZA  
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

---

DR. LUIS MANUEL TERÁN JUÁREZ  
JEFE DEL SERVICIO DE INMUNOLOGÍA CLÍNICA Y ALERGIA

---

DRA. MARÍA DE LA LUZ GARCÍA CRUZ  
MEDICO DE BASE DEL SERVICIO DE INMUNOLOGÍA CLÍNICA Y ALERGIA

## **DEDICATORIA**

### **A MIS PADRES**

Por haber sembrado en mí el deseo de seguir adelante, porque gracias a sus consejos me han ayudado en ser mejor persona, profesionista y mejor hija. Gracias por todos los sacrificios que hoy se ven culminados en una meta más cumplida que sin ustedes no habría podido finalizar... les estaré eternamente agradecida. Los amo

### **A MIS HERMANOS**

Por su apoyo y sus palabras de aliento cuando lo necesite.

### **A ROBERTO**

Por formar parte de este sueño de ser especialista, porque juntos finalizamos una etapa más de nuestras vidas y por el inicio de una nueva vida juntos. Todo mi respeto y amor infinito para ti. Te amo

### **A MIS PROFESORES**

Porque gracias a sus conocimientos y experiencias han formado una nueva especialista. Gracias en especial a Alfonso Fuentes Beltrán porque aunque no estés más en el Servicio dejaste huella en mi formación profesional y personal, gracias ante todo por ser mi amigo y aconsejarme. Dra. García muchas gracias por sus consejos y por sus enseñanzas.

### **A MIS COMPAÑEROS**

Por su apoyo y compañía a lo largo de estos 2 años gracias a Gandhi, Dulce, Pepe, Fer. Gracias a Rosario por tu apoyo. Gracias a Marce por los consejos durante la realización de este trabajo.

## INDICE

Resumen.....	5
Introducción.....	6
Planteamiento del Problema.....	8
Marco Teórico.....	9
Definiciones.....	9
Asma.....	9
Hiperreactividad Bronquial.....	13
Reto con Metacolina.....	15
Justificación.....	23
Objetivos.....	24
Material y Métodos.....	25
Población.....	25
Criterios de inclusión.....	25
Criterios de exclusión.....	25
Resultados.....	28
Discusión.....	29
Gráficas.....	32
Referencias.....	36

## **Grado de Hiperreactividad bronquial con reto de Metacolina en pacientes asmáticos y sanos del INER**

### **RESÚMEN**

#### **Objetivo:**

Estudio para evaluar el grado de Hiperreactividad con reto de metacolina en pacientes asmáticos y sanos de INER

#### **Métodos:**

Estudio de tipo experimental que se realizó en el servicio de Alergia e Inmunología clínica del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias en México con pacientes con diagnóstico de asma y sanos, a quienes se realizó prueba de reto bronquial con metacolina y se comparó con otros factores como niveles de IgE, pruebas cutáneas, tabaquismo, etc., mediante un análisis univariado y multivariado donde se calcularon frecuencias y prevalencias, con un intervalo de confianza del 95% y un valor  $p < 0.05$  con Ji cuadrada ( $X^2$ ) y un análisis de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de la prueba de reto bronquial con metacolina mediante la Curva de ROC.

#### **Resultados:**

Se analizaron 145 pacientes, 58 sanos (40%) y con diagnóstico de asma 87 (60%), referidos al servicio de Inmunología Clínica y Alergia, el 64.1% del sexo femenino, por rango de edad se reportaron menores de 18 años 28 (19.3%), de 19 a 25 años 20 (20.8%), de 26 a 50 años 83 (57.2%) y mayores de 50 años 14 (9.7%), con 90 pruebas de reto bronquial positivas para metacolina (62%), en pacientes con asma 77 (53.1%) y sanos 13 (9%), categorizadas según la Guía de Reto Bronquial con Metacolina de la American Thoracic Society (ATS) como: Normal ( $>$  de 16mg/ml) 6.9%, Límitrofe (de 4 a 6mg/ml) 22.1%, Leve Positivo (1 a 4 mg/ml) 15.9%; Moderada Severa ( $<$ 1mg/ml) 15.9% en pacientes asmáticos. La sensibilidad del reto bronquial con metacolina fue del 88%, una especificidad del 81% un valor predictivo positivo del 88% y un valor predictivo negativo de 77%. En el análisis de la curva de ROC el área bajo la curva mostró que con la prueba de reto con metacolina, el 85% de los pacientes fueron verdaderamente diagnosticados con asma o excluyendo este diagnóstico ( $p < 0.05$ ). El 20% de los sujetos sanos con reto negativo presentaron una caída del FEV1 entre 10 y 20% el alérgeno más frecuente fue *Dermatophagoides* (29.8%). Así mismo el 66.7% tuvo niveles séricos de IgE mayores a 500UI/ml; se observó mayor porcentaje de atopia en aquellos asmáticos con reto positivo en comparación a un reto negativo.

## **Conclusiones:**

Un gran porcentaje de pacientes con asma presentan HRB con valores de PC20 4 a 16 mg/ml, y una minoría con PC20 menor a 4 mg/ml. La severidad de la HRB no se modifica con el antecedente de tabaquismo pero si con pruebas cutáneas positivas y niveles altos de IgE. La sensibilidad del reto bronquial con metacolina fue alta con respecto a la especificidad y un 85% de probabilidad de hacer un diagnostico correcto entre los sujetos con asma y sanos.

## **Grado de Hiperreactividad bronquial con reto de Metacolina en pacientes asmáticos y sanos del INER**

### **INTRODUCCIÓN**

Es bien sabido que las enfermedades de origen alérgico representan un problema de salud importante a nivel mundial, ya que por lo menos el 25% de la población se encuentra afectada por esta patología. Las enfermedades alérgicas son de etiología multifactorial y se considera que la atopia es el factor de riesgo más importante para su desarrollo.

Se define como Atopia: es la predisposición genética a desarrollar enfermedad alérgica con producción excesiva de IgE posterior a la exposición a alérgenos específicos, es importante distinguir entre atopia y alergia debido a que no todos los pacientes con atopia desarrollan enfermedad alérgica. Alergia se define como la reacción exagerada del organismo tras la exposición a un alérgeno específico, manifestándose clínicamente con patologías tales como rinitis alérgica, asma, dermatitis atópica. Está bien establecido que el riesgo de desarrollar alergia en individuos atópicos es 10 a 20 veces mayor que en sujetos no atópicos. Asma es un proceso crónico inflamatorio de la vía aérea, que funcionalmente se caracteriza por la presencia de Hiperreactividad Bronquial y clínicamente se expresa por episodios recurrentes de sibilancias, opresión torácica, tos y disnea. La intensidad y frecuencia de los síntomas determina el grado de inflamación y obstrucción bronquial existente. Esta obstrucción es característicamente reversible. Esta enfermedad es común en la población infantil, y dentro de esta es más común en varones aunque en la pubertad esta diferencia se iguala. Aunque puede aparecer a cualquier edad es más frecuente en los primeros cinco años de vida comenzando el 25% de los casos en el primer año de vida. La prevalencia del asma convierte a esta enfermedad en la patología crónica más frecuente de la infancia y adolescencia. Con grandes variabilidades entre países, la media se estima en el 10% (es decir 10 de cada 100 niños tienen asma). Esta prevalencia parece ir en aumento, aunque existe discusión si se trata de un aumento real de la prevalencia o es que ahora se diagnostica más y mejor a los niños con asma. El asma es la primera causa de ingreso hospitalario en niños y primera causa de ausentismo escolar por enfermedad crónica. De ahí que debemos platearnos,

como una prioridad social y sanitaria, la mejora de la atención y cuidados a los niños que tienen asma.

Las pruebas de reto bronquial son utilizadas para confirmar el diagnóstico de Asma, y estos deben ser realizados por personal capacitado; estos retos son útiles cuando se sospecha en Asma ocupacional, diagnóstico incierto de Asma, o cuando una persona no muestra mejoría con el tratamiento de Asma. Estos retos se pueden realizar con histamina, metacolina, manitol, aire frío o bien solución salina hipertónica. Finalmente el término Hiperreactividad Bronquial (HRB) es la respuesta obstructiva de las vías aéreas ante estímulos farmacológicos como histamina y metacolina o bien estímulos físicos como el ejercicio o la exposición a ambientes fríos, que causan contracción del músculo liso de las vías aéreas.

El diagnóstico de atopia se basa en una buena historia clínica haciendo hincapié en los antecedentes familiares de la presencia de enfermedades alérgicas (Asma, Rinitis Alérgica, Conjuntivitis o Dermatitis) y exploración física, entre los principales métodos para determinar el diagnóstico se pueden realizar las pruebas epicutáneas de "Prick test" y las pruebas serológicas radioalergoabsorbentes in vitro o RAST, ambas determinan la presencia de anticuerpos IgE para un alérgeno específico, sin embargo, las pruebas cutáneas son más accesibles, económicas e incluso sensibles y específicas. La manera más frecuente de medir la Hiperreactividad bronquial es administrar un medicamento (metacolina, histamina, manitol) por vía inhalatoria en dosis crecientes y evaluar la obstrucción bronquial resultante mediante un índice del calibre de las vías aéreas tal es el caso del Volumen Espirado durante el primer segundo (FEV1), construyendo una curva dosis respuesta. La HRB también puede evaluarse con estímulos no farmacológicos como son el ejercicio o con aire seco o frío, así como con la administración controlada de alérgenos u otras sustancias a las cuales existe sensibilidad específica.

El aumento de la reactividad bronquial es una de las alteraciones más características en la patogenia del asma bronquial, ya que prácticamente todos los asmáticos sintomáticos la presentan. No obstante, es necesario tener presente que este trastorno no es específico, ya que una HRB de menor magnitud puede observarse en individuos normales durante las infecciones respiratorias virales y en diferentes enfermedades como Rinitis Alérgica, Tuberculosis Pulmonar y otras. De ahí el interés de tratar de identificar el grado de HRB en sujetos de familias nucleares con al menos un integrante alérgico.

## MARCO TEÓRICO

**DEFINICIONES:** Será importante al iniciar este trabajo de investigación por definir ciertos términos como son:

**Atopia:** del griego *a*: sin y *topos*: lugar “sin lugar”, “desubicado” dicho término fue acuñado por Coca en 1923 para calificar a aquellas personas con predisposición familiar a producir anticuerpos IgE en respuesta a un alérgeno, expresando síntomas clínicos de Asma, Dermatitis, Rinitis Alérgica o Conjuntivitis con pruebas cutáneas positivas. Determinantes de atopia en edad temprana entre los cuales se incluyen marcadores genéticos de alergia, niveles de IgE.<sup>3,4</sup>

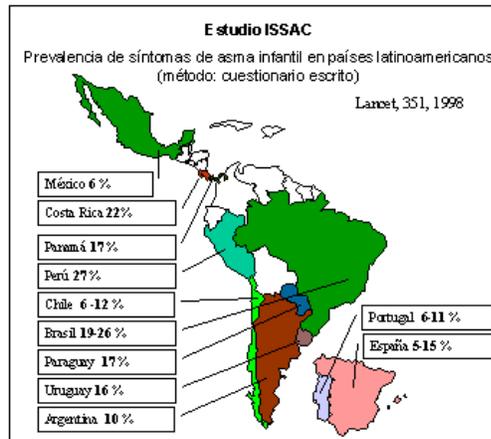
**Alergia:** del griego *allos* y *ergo*: “reacción retardada” es un concepto más amplio que fue introducido por Von Pirquet en 1906 para designar la respuesta anormal que se producía en determinados animales frente a sustancias concretas alérgenos tras una exposición previa.

**Asma:** definida según GINA (Global Initiative for Asthma) como una Enfermedad Inflamatoria Crónica de las vías aéreas, que se caracteriza por una obstrucción variable y reversible ya sea espontáneamente o con tratamiento que cursa con un aumento de la respuesta de la vía aérea frente a una gran variedad de estímulos: alérgenos, fármacos, ejercicio, aire frío, humo, llanto, etc<sup>1,2</sup>. Se trata por lo tanto de un trastorno episódico en el cual las exacerbaciones se intercalan con periodos asintomáticos; las características de la enfermedad son:

- Inflamación de las vías aéreas: es la respuesta producida por el aumento de la sensibilidad bronquial y provoca obstrucción. En muchas ocasiones es de origen alérgico. Produce un incremento de las secreciones y la contracción de la musculatura lisa bronquial.
- Hiperreactividad bronquial: tras la exposición a diversos estímulos (humos, gases, olores, tos, risa, etc.) los bronquios sufren contracción produciendo el estrechamiento de la vía aérea.
- Obstrucción bronquial: esta puede ser variable y es reversible

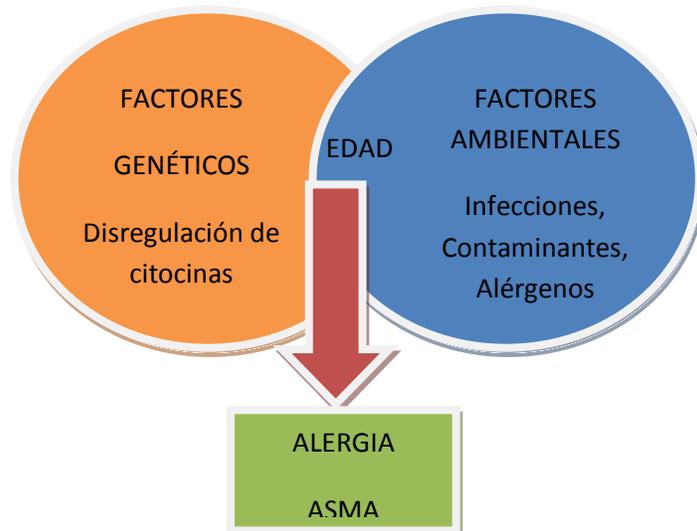
El asma es una de las enfermedades crónicas más frecuentes como causa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Existe evidencia en la que la prevalencia ha ido en aumento; especialmente en niños. En la actualidad el proyecto de mayor difusión es el ISAAC (The International Study of Asthma and Allergies in Childhood) que se está desarrollando en todo el mundo a través de 155 centros colaboradores de 56 países en los cinco continentes, que estudian la prevalencia utilizando el primer método (preguntar a niños y familias) a través de encuestas escrita. La primera fase (estudio de prevalencia) Se han estudiado a 463.801 niños y adolescentes en dos grupos de edad: 6-7 y 13-14 años. Las mayores prevalencias de síntomas de asma (mayores del 30%) se han dado en Reino Unido, Nueva Zelanda, Australia e Irlanda); y las más bajas en países como

Indonesia, Rusia o Albania. La segunda fase, investigación de factores de riesgo, también está concluida y empiezan a publicarse los primeros resultados. La tercera fase, repetición de la primera para comprobar si la prevalencia está en aumento, está en pleno desarrollo. Países en los cuales se ha desarrollado el estudio ISAAC es en Portugal, México, Chile y Argentina sitúan su prevalencia entre el 5-10%. Uruguay, Panamá y Paraguay entre el 15-20%. Por encima de este porcentaje aparecen Perú, Costa Rica y Brasil.



**Fig 1. Prevalencia de síntomas de asma infantil Estudio ISAAC. Lancet 351, 1998**

Se han realizado una amplia variedad de estudios en los cuales se determina como el factor genético junto con más factores ambientales son importantes para el desarrollo de la enfermedad; (fig 2) tal es el caso de estudios recientes por Suttner et al <sup>8,9,10</sup> en donde hablan de los aspectos genéticos que influyen en el desarrollo de asma en la niñez. Primero un estudio de variantes en genes de factores de transcripción homebox H.20 like homebox (HLX1) un regulador de la diferenciación de la respuesta inmune TH1 y supresión de TH2, en población alemana sugiere que los polimorfismos en HLX1 incrementa el riesgo de padecer Asma en la niñez. <sup>8,9</sup>



**Fig 2 Desarrollo de Asma y Alergia**

Un segundo estudio de genes variantes en células T específicas, factor de transcripción T box (TBX21) un factor que induce la diferenciación de TH1 y bloquea la respuesta TH2, junto con HLX1 indica que TBX21 y sus polimorfismos contribuyen al desarrollo de asma, potencialmente alterando la actividad promotora de TBX21.<sup>8,9</sup> y un tercer estudio de las variantes genéticas en el factor de transcripción GATA3 que es necesario para la diferenciación de células TH2 naive y también en el mantenimiento de la expresión de citocinas TH2 mostrando su asociación con alergia o los fenotipos del asma.<sup>7,8,9</sup> Bisgard et al<sup>11</sup> identifican que un Alto Índice de Masa Corporal (IMC) en recién nacidos y madres con antecedente de tabaquismo se asocia a una reducción de la función pulmonar. El Gen GPRA incrementa la susceptibilidad de Asma e HRB. Polimorfismos del gen de la desintegrina y metaloproteasa (ADAM33) también ha sido asociada a HRB. ADAM33 está expresado en los fibroblastos de pulmón y células de músculo liso bronquial e incluso se ha asociado a Asma severa.<sup>12</sup> Yemen y Gastón<sup>13</sup> investigaron acerca del antecedente de ingesta de acetaminofén por parte de la madre y la tendencia incrementada de padecer hiperreactividad bronquial. Neski Nisula et al<sup>14</sup> evaluaron la asociación entre infecciones intrauterinas tal es el caso de las infecciones secundarias a bacterias anaerobias y de la especie *Streptococo* al nacimiento se asocia con un riesgo incrementado de Asma a la edad de 15 a 17.<sup>14</sup> Upham et al<sup>15</sup> encontró que niños con antecedentes de historia familiar de atopia tienen una relativa deficiencia de células dendríticas durante la infancia y esto aparentemente aumenta el riesgo de desarrollar más frecuentemente y más severas Infecciones de vías aéreas superiores, silbido y un diagnóstico de Asma. Gergen et al<sup>16</sup> examinó la asociación entre los niveles de IgE y Asma, en donde encontraron que los niveles de IgE total están asociados con asma. El uso de antibióticos u otro tipo de medicación implica el desarrollo de asma Foliaki et al<sup>18</sup> identificaron la asociación del uso de antibióticos durante el primer año de vida y síntomas concomitantes de asma. Ha sido reconocido ampliamente que pacientes hospitalizados con diagnóstico de Bronquiolitis incrementa el riesgo de desarrollar asma en la infancia.

Se han descrito diferentes estudios en los cuales se describen los factores de riesgo para desarrollar Asma Bronquial<sup>20, 21, 22</sup> como son:

- Historia familiar de Asma Bronquial: estudios anteriores por Kuiper et al han demostrado que la historia familiar de Asma y Atopia son importantes en el desarrollo de Asma Bronquial
- Tabaquismo pasivo (prenatal y postnatal) la exposición al tabaco durante o después del embarazo provoca una disminución de la función pulmonar; así mismo se ha demostrado que el tabaquismo pasivo es un factor de riesgo para presentar sibilancias persistentes o recurrentes; además de que empeora el pronóstico del Asma Bronquial en la niñez.
- Prematuréz (incluyendo Infecciones Respiratorias de Vías aéreas superiores o inferiores)

- Infecciones respiratorias de vías aéreas superiores se ha asociado al VSR y la infección de vías aéreas en etapas tempranas como un factor de riesgo importante para desarrollo de sibilancias en edades mayores de 11 años
- Género masculino antes de los 14 años el género masculino ha demostrado ser factor de riesgo para asma, mientras que el género femenino es factor de riesgo para el asma en adultos.
- Anormalidades de la función pulmonar en etapas tempranas de la vida
- Constitución atópica

Las diferentes combinaciones posibles han permitido identificar varios fenotipos de asma:<sup>2,3</sup>

- Sibilancias transitorias precoces que no están asociadas a atopía, se inician de forma precoz en el primer año de vida y desaparecen antes de los 3-5 años de vida
- Sibilancias persistentes no atópicas, de características similares a las anteriores, tienden a persistir en toda la edad pediátrica, desapareciendo en la mayor parte de las ocasiones en la edad de 9 a 11 años
- Sibilancias Atópicas; también llamada Asma Atópica o IgE asociado, con presencia de inflamación eosinófila bronquial y buena respuesta a los antiinflamatorios. Se puede iniciar en cualquier momento de la edad pediátrica y es el asma que persistirá en la edad adulta.<sup>2,3</sup>

El diagnóstico inicial del asma es clínico: presencia de síntomas o historia de presencia de síntomas además estudios complementarios, la mayor parte de los componentes definitorios del asma: espirometría (obstrucción y reversibilidad), medición de óxido nítrico (inflamación eosinófila), estudio alérgico (atopía). Otros estudios (test de broncoprovocación con metacolina y/o adenosina, pletismografía, etc.)<sup>1,2,4</sup>

*Niños pequeños, no colaboradores:*

El diagnóstico de asma en niños pequeños se basa en la presencia de síntomas con el fin de identificar precozmente el fenotipo atópico resulta fundamental evaluar la atopía personal (presencia de eccema actual o pasado), la atopía en padres (asma, rinitis, eccema en padre o madre) y determinar la sensibilización a alérgenos alimentarios (indicador de atopía) y respiratorios (posible papel desencadenante). En edades precoces el único marcador biológico de atopía puede ser la sensibilización a alimentos (fundamentalmente huevo y leche), por lo que antes de los 6 años de vida, deben emplearse pruebas que evalúen ambos tipos de alérgenos, como el ImmunoCap o bien la determinación de IgE específicas frente a alérgenos prevalentes. En niños con evolución clínica inesperada o inexplicable, debe tenerse en cuenta la posible existencia de otras enfermedades que cursan con sibilancias.

### *Niños colaboradores:*

La identificación de un patrón obstructivo y/o la constatación de una prueba de broncodilatación positiva, mediante espirometría, constituyen el patrón oro del diagnóstico de asma en atención primaria. La mayor parte de los niños con asma, en periodo asintomático, tienen espirometrías normales, sin que ello contradiga el diagnóstico de asma. El reto Bronquial con ejercicio es la prueba de provocación bronquial por excelencia en la atención primaria y debería realizarse siempre que el niño refiera síntomas relacionados con el ejercicio. El test de variabilidad se indicará si hay sospecha de síntomas continuos, en especial nocturnos y al despertar. Son pruebas aceptables el ImmunoCap, la determinación de IgE específicas frente a alérgenos prevalentes y la prueba cutánea a aeroalérgenos.

La medición de Óxido Nítrico exhalado (FENO) contribuye, en la fase diagnóstica, a identificar la inflamación eosinófila y, por tanto, el fenotipo de asma atópico.

En el grupo de pacientes con asma atópica es de ayuda utilizar el índice clínico predictivo de asma de Castro-Rodríguez. Este índice permite predecir con un 77% de certeza de que un niño que presenta más de 3 episodios de sibilancias en un año y tiene al menos un criterio mayor (Dermatitis atópica o antecedentes de asma en los padres) o dos criterios menores (rinitis alérgica, sibilancias no asociadas a Infecciones Virales y Eosinofilia periférica mayor o igual a 4% en los primeros 3 años de vida; presentará asma en la edad escolar. Por el contrario, si no cumple con estos requisitos permite asegurar con un 70% de certeza que los niños presentarán asma en edad escolar. A partir de los 3 años el diagnóstico de asma se hace progresivamente más definitivo y a partir de los 6 a 7 años, ya pueden aplicarse las definiciones fisiopatológicas más estrictas de los consensos.  
21, 22,23, 25

### INDICE CLÍNICO DE CASTRO RODRIGUEZ Et al 2000 para definir el riesgo de padecer Asma

CRITERIOS MAYORES	CRITERIOS MENORES
Asma Familiar	Rinitis Alérgica
Eczema	Sibilancias desencadenadas por temperatura fría (no asociadas a IVRS)
	Eosinofilia sérica de más de 4%

## **HIPERREACTIVIDAD BRONQUIAL (HRB):**

Definida como la respuesta obstructiva de las vías aéreas ante estímulos farmacológicos; como histamina, metacolina, adenosina y manitol que causan contracción del músculo liso de las vías aéreas. La manera más frecuente de medirla es administrar uno de estos fármacos por vía inhalatoria en dosis crecientes y evaluar la obstrucción bronquial resultante mediante un índice del calibre de las vías aéreas tal es el caso del Volumen Espirado durante el primer segundo (FEV1), construyendo una curva dosis respuesta.

La hiperreactividad también puede evaluarse con estímulos no farmacológicos como son el ejercicio o con aire seco o frío, así como con la administración controlada de alérgenos u otras sustancias a las cuales existe sensibilidad específica. El aumento de la reactividad bronquial es una de las alteraciones más características en la patogenia del asma bronquial, ya que prácticamente casi todos los asmáticos sintomáticos la presentan.<sup>26,27</sup>

No obstante debemos tener en cuenta que se puede observar hiperreactividad bronquial de menor magnitud en individuos normales durante infecciones respiratorias virales, en rinitis alérgica, tuberculosis pulmonar y otras.

La obstrucción bronquial que se observa durante una prueba de provocación bronquial se debe indudablemente a la contracción del músculo liso. En 1984 Woolcock y cols. hicieron notar que la curva de dosis respuesta tiene forma sigmoidea en individuos no asmáticos, con una máxima respuesta limitada por un Plateau, que se presenta con caídas de FEV1 de 20% en promedio. El concepto de HRB recién descrito cambió radicalmente durante el último decenio, ya que actualmente se considera que el aumento de la respuesta de las vías aéreas puede deberse a varios mecanismos, además de una eventual alteración del control autonómico, lo que ha traído como consecuencia un cambio del manejo del asma bronquial. Dicha entidad se caracteriza por:

- Acción del Sistema Nervioso Autónomo (SNA) parasimpático, secreción vagal, Eferencia vagal en el músculo liso bronquial
- Defectos intrínsecos del musculo liso bronquial
- Liberación de mediadores químicos del mastocito: histamina, leucotrienos C4, D4, E4 de acción directa sobre el músculo liso, glándulas y capilares sanguíneos. Los cisteinileucotrienos son potentes broncoconstrictores y vasoconstrictores, con efectos sobre la secreción de moco, la permeabilidad de la microcirculación, la migración de neutrófilos, coadyuvantes en la manifestación del edema en las vías respiratorias.

- Inflamación bronquial como respuesta a factores extrínsecos e intrínsecos. Estos factores poder ser como antes se comentó infecciones de vías aéreas superiores, alérgenos, factores estimulantes e irritantes de las vías aéreas, hiperventilación por el llanto o la risa, ejercicio, humo, olores, gases y desencadenantes emocionales.

Los síntomas que se acompañan en la HRB son disnea de grado variable, taquipnea, sibilancias. En años recientes se ha incrementado el interés por determinar las causas que favorecen la evolución y persistencia de asma en los adultos<sup>1,4,5</sup> desde hace mucho tiempo se ha reconocido que la atopia familiar aumenta el riesgo de asma en los niños; sin embargo no es claro el vínculo en los adultos<sup>1,2,3</sup> los resultados de algunos trabajos de investigación como los hechos por Kim, Jaakkola y Kay<sup>2,5</sup> muestran que las personas con antecedentes familiares de atopia son más susceptibles a padecer asma cuando se exponen a ciertos factores como el tabaco, determinados ambientes laborales<sup>3,4</sup>.

En diversos estudios como los de Bousquet y col. Se muestra el vínculo entre la rinitis alérgica y el asma, que sugiere que la primera constituye un factor de riesgo importante para el desarrollo de asma infantil y del adulto.<sup>4,5</sup>

Desde sus inicios se realizaron recomendaciones para la estandarización de los retos bronquiales tenemos reportes que desde 1985 se realizaron dichas pruebas de provocación bronquial hasta la fecha aún se continúan haciendo recomendaciones para mejorar dichas técnicas en los retos de provocación bronquial.<sup>1</sup>

Los retos de provocación bronquial se utilizan frecuentemente en la evaluación de pacientes con asma. Los estímulos utilizados para producir la obstrucción de las vías aéreas se pueden clasificar como directos o indirectos. Los broncoconstrictores directos actúan en los receptores de músculo liso de las vías aéreas para inducir broncoconstricción. Los broncoconstrictores indirectos participan en una vía intermedia, como la liberación de mediadores osmóticos o no osmóticos de células inflamatorias, la estimulación de nervios sensoriales, y tal vez otros.<sup>1</sup>

## **PRUEBA DE RETO BRONQUIAL CON METACOLINA**

La historia de la provocación bronquial comenzó en la década de 1940 con acetilcolina. Robert Tiffeneau desarrolló una nueva tecnología que permitió la medición de índices de flujo espiratorio y se utilizó ésta tecnología para realizar retos broncodilatador y broncoconstrictor, estos retos se dirigen a una reducción estándar del volumen espiratorio forzado en 1 segundo (VEF1) de 20% generalmente, el método utiliza dosis de incremento cautelosas, comienza con

una dosis baja por razones de seguridad, con pocos intentos para apuntar a una dosis estandarizada. El reto con metacolina es una técnica que en la actualidad es diagnóstica de Hiperreactividad Bronquial con una sensibilidad de 92% y especificidad de 89%. La confiabilidad de esta prueba es más útil para excluir el diagnóstico de asma que para confirmarlo, basado en su alto valor predictivo negativo comparado con su valor predictivo positivo. A continuación comentaré las indicaciones, contraindicaciones y la técnica de realización del reto bronquial con metacolina según las Guías de la American Thoracic Society (ATS) de 2009.<sup>2</sup>

#### INDICACIONES:

- Determinar el grado de severidad de HRB
- Evaluar la efectividad de la medicación en estados agudos o crónicos o de algún cambio en la modalidad terapéutica para la prevención y manejo de la HRB
- Síntomas que sugieran asma como la presencia de disnea, sibilancias y tos en cualquiera de las siguientes circunstancias:
  - Exposición al aire frío
  - Después del ejercicio
  - Durante un cuadro infeccioso de vías respiratorias
  - Seguimiento de inhalación por exposición laboral
  - Después de exposición a aeroalergenos

El reto de metacolina es más útil en excluir el diagnóstico de Asma ya que el valor predictivo negativo es más alto que el valor predictivo positivo, además es una herramienta útil en la evaluación de asma ocupacional, algunas veces se utiliza para determinar el riesgo relativo de desarrollar asma así como valorar la respuesta a la terapéutica utilizada<sup>10</sup>, el reto con metacolina tiene una excelente sensibilidad pero un valor predictivo positivo bajo Algunos otros padecimientos presentan hiperreactividad bronquial como son la tos crónica secundaria a la obstrucción de la vía aérea inducida por tabaquismo, (EPOC), Falla cardiaca congestiva, fibrosis quística, bronquitis y rinitis alérgica<sup>31,32,33</sup>

## CONTRAINDICACIONES:

Las contraindicaciones del reto de metacolina son condiciones que comprometen la calidad de la prueba o incrementan el riesgo o el malestar del paciente de ahí que se requiera realizar un pre-test para poder identificar posibles contraindicaciones.

- FEV1 bajo: caídas dramáticas de FEV1 pueden ocurrir durante el reto con metacolina, pruebas de función pulmonar bajas incrementan el riesgo de que el FEV1 caiga bruscamente sobre todo en pacientes con obstrucción severa de la vía aérea.<sup>34</sup>

Un FEV 1 basal de < de 1.5 lts o < del 60% del predicho en adultos es una contraindicación relativa para realizar el reto según Sterk y colaboradores<sup>1</sup> Half y colaboradores en un estudio consideran que FEV1 < de 70% del predicho es contraindicación de realizar el reto<sup>35</sup> el Segundo reporte del panel de Expertos en Asma usó un FEV1 < de 65% del predicho<sup>36,37</sup>

- Obstrucción de la vía aérea: Es difícil interpretar una prueba positiva de metacolina con una espirometría basal en la que se muestra obstrucción de la vía aérea (baja FEV1/FVC y baja FEV1) debido a que la hiperreactividad se relaciona fuertemente con el grado basal de obstrucción de la vía aérea en EPOC.
- Calidad de la espirometría un reto de metacolina aceptable depende de la habilidad del paciente de poder realizar adecuadamente una espirometría, lo anterior debido al esfuerzo adecuado de cada paciente.
- Problemas cardiovasculares: Una historia de cardiopatía puede ser contraindicación para el reto, el estrés cardiovascular adicional puede inducir broncoespasmo, o bien precipitar eventos cardiovasculares en pacientes con hipertensión no controlada o con antecedente de cardiopatía Isquémica reciente<sup>38,39</sup>
- Embarazo o lactancia La metacolina es una droga categoría C en el embarazo, lo que significa que en estudios reproducibles en animales no se sabe que se asocie a anomalías fetales<sup>39</sup>

## CONTRAINDICACIONES DEL RETO CON METACOLINA

CONTRAINDICACIONES ABSOLUTAS	CONTRAINDICACIONES RELATIVAS
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Limitación severa del flujo de aire (FEV1 &lt; de 50% del predicho o &lt;1L)</li> <li>• Cardiopatía isquémica o Infarto al miocardio en los últimos 3 meses</li> <li>• Hipertensión no controlada TAS &gt; de 200 mmHg TAD &gt; de 100 mmHg</li> <li>• Aneurisma aórtico no conocido</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Limitación del flujo de aire moderado (FEV1 &lt; de 60% del predicho o &lt;de 1.5L)</li> <li>• Espirometría con mala técnica</li> <li>• Embarazo y lactancia</li> <li>• Uso de inhibidores de colinesterasa (Miastenia Gravis)</li> </ul>

## FACTORES QUE DISMINUYEN LA HIPERREACTIVIDAD BRONQUIAL

FACTOR MEDICAMENTOS	INTERVALO MINIMO DE TIEMPO ANTES DEL ESTUDIO
Broncodilatadores de larga acción <ul style="list-style-type: none"> <li>• Isoproterenol, metaproterenol, albuterol y terbutalina</li> </ul>	8 hrs
Broncodilatadores de mediana acción <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ipratropio</li> </ul>	24 hrs
Broncodilatadores de larga acción <ul style="list-style-type: none"> <li>• Salmeterol, formoterol, tiotropio</li> </ul>	48 hrs 1 semana
Broncodilatadores orales <ul style="list-style-type: none"> <li>• Teofilina líquida</li> <li>• Teofilina de acción intermedia</li> <li>• Teofilina de larga acción</li> <li>• Agonistas b 2 tabletas</li> <li>• Agonistas b 2 de larga acción</li> </ul>	12 hrs 24 hrs 48 hrs 12 hrs 24 hrs
Cromolin de sodio	8 hrs
Nedocromil	48 hrs
Hidroxicina, cetirizine	3 días
Modificadores de leucotrienos	24 hrs
ALIMENTOS	El día del estudio
Café, té, chocolate y refresco	

## FACTORES QUE INCREMENTAN LA HIPERREACTIVIDAD BRONQUIAL

FACTOR	DURACIÓN DEL EFECTO
Exposición a antígenos ambientales	1 a 3 semanas
Factores ocupacionales	Meses
Infección de Vías aéreas	3 a 6 semanas
Contaminantes	1 semana
Humo de cigarro	Desconocido
Irritantes químicos	Días a meses

### SEGURIDAD:

La metacolina causa broncoconstricción, la seguridad del paciente y del técnico que realiza dicho reto debe ser considerada en el diseño del estudio.

**PRECAUCIONES PARA LA SEGURIDAD DEL PACIENTE:** Contar con equipo necesario y suficiente para el manejo de broncoespasmo agudo, contar con medicamentos necesarios para el manejo de broncoespasmo severo como son epinefrina y atropina subcutánea, Salbutamol e ipratropio, oxímetro, oxígeno disponible, nebulizador, baumanómetro y estetoscopio.<sup>34,36</sup>

Miles de retos se han realizado en laboratorios sin mostrar efectos adversos severos, síntomas transitorios incluyen disnea, tos. En un estudio multicentrico de 1,000 participantes con EPOC se reportaron 25% con tos, 21% con disnea, 10% con dificultad respiratoria, 6% mareo, 2% cefalea, y 2 terceras partes no reportaron síntomas<sup>35</sup> respuestas tardías al uso de metacolina son muy raras. Si bien nosotros no tenemos registros de muertes con el uso de metacolina a dosis habituales el potencial de desarrollar broncoespasmo severo está presente<sup>40</sup>

**PRECAUCIONES PARA EL TECNICO:** Se deben de tomar medidas para la inhalación de metacolina utilizando filtros de exhalación, campana de laboratorio e incluso el uso de dosímetros reduce la exposición a metacolina<sup>41</sup>

### PREPARACIÓN DEL PACIENTE:

- Explicar la prueba: el paciente debe conocer los síntomas y debe conocer que los síntomas severos pueden aparecer
- Firmar consentimiento informado del hospital
- evaluar si existen contraindicaciones para la realización de la prueba, y revisar la medicación que utiliza el paciente

## PRUEBA:

- El paciente debe conocer el procedimiento así como saber realizar maniobras espirométricas confiables
- El paciente debe estar cómodo durante la realización de la prueba
- Un breve examen físico puede ser útil.

La evaluación pre-test puede alertar sobre algunos puntos como son la presencia de contraindicaciones para realizar el procedimiento, infecciones virales recientes que puedan incrementar temporalmente la reactividad de la vía aérea y sean causa de falsos positivos<sup>42</sup>

## ELECCIÓN Y PREPARACIÓN DE METACOLINA

Agente elegido para el reto ya que la FDA aprueba a la metacolina, el comité prefiere que se utilice la salina sin fenol como diluyente ya que se reduce potencialmente la contaminación bacterial<sup>43</sup> la mezcla se debe realizar mediante técnica estéril, debe ser mantenido a temperatura de 4°C<sup>44</sup>.

## PROTOCOLOS DE DOSIS:

Se han utilizado varios protocolos de dosis cada uno con sus ventajas y desventajas:

1. El método de la inhalación de los 2 minutos
2. El método de dosímetro 5 inhalaciones

## MÉTODO DE DOSÍMETRO 5 INHALACIONES

La FDA aprobó el método basado en las 5 inhalaciones y un esquema de dosis de metacolina usando concentraciones de metacolina desde 0.025, 0.25, 2.5, 10 y 25mg/ml<sup>1</sup>.

Cuatro métodos en dicha prueba son utilizados:

- Dosis durante la inhalación profunda usando el tubo en Y ocluido por el pulgar,
- 5 respiraciones con una duración determinada, usando un dosímetro al inicio de la inhalación profunda
- Un nebulizador activado durante la inhalación

Un nebulizador continuo mientras se realiza respiraciones por 2 minutos<sup>45,46,47</sup>

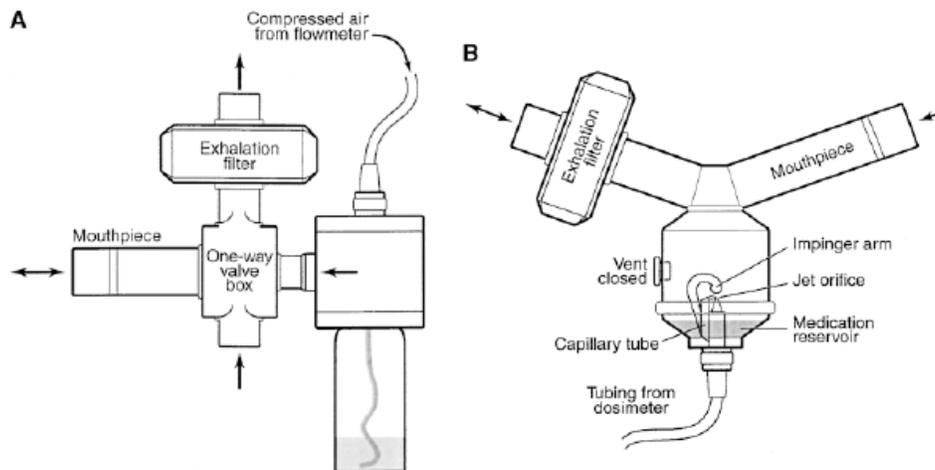


Figura 5. Nebulizador

INTERPRETACIÓN:

La prueba se considera positiva si hay una caída mayor o igual al 20% del VEF1 con una PC20 menor o igual a 16mg/dl. Se debe realizar el cálculo de la PC20 de acuerdo a la ecuación recomendada por la ATS para categorizar la severidad de la respuesta bronquial. la interpretación de la prueba de metacolina está dada por el resultado dela prueba (grado de HRB según el PC20) y a la probabilidad clínica pre-test. Debido a la alta sensibilidad y valor predictivo negativo de la prueba de provocación con metacolina, un resultado negativo es de mayor utilidad en descartar el diagnóstico de asma.<sup>47</sup>

$$PC_{20} = \text{antilog} \left[ \log C_1 + \frac{(\log C_2 - \log C_1)(20 - R_1)}{R_2 - R_1} \right] \quad (2)$$

where

- $C_1$  = second-to-last methacholine concentration (concentration preceding  $C_2$ ).
- $C_2$  = final concentration of methacholine (concentration resulting in a 20% or greater fall in FEV<sub>1</sub>)
- $R_1$  = percent fall in FEV<sub>1</sub> after  $C_1$
- $R_2$  = percent fall in FEV<sub>1</sub> after  $C_2$

## CATEGORIZACIÓN DE LA RESPUESTA BRONQUIAL

PC20 (mg/ml)	INTERPRETACIÓN
> de 16	Hiperreactividad Bronquial Normal
4.0 – 16	HRB limítrofe
1.0 a 4.0	HRB leve
< 1	HRB Moderada a Severa

Alrededor del 15 al 45% de las personas asintomáticas con HRB pueden desarrollar asma en los subsecuentes 2 a 3 años de seguimiento<sup>48, 49</sup>

En pacientes con diagnóstico de asma existe una correlación entre el grado de hiperreactividad bronquial y la severidad clínica del asma es significativa, pero no lo suficientemente fuerte para que se categorice la severidad del asma en pacientes de forma individual.<sup>50, 51, 52</sup>

Recientes exposiciones que causan inflamación de las vías aéreas o los efectos residuales de la terapia anti inflamatoria (esteroides sistémicos o inhalados en las vías aéreas) pueden cambiar fácilmente el grado de respuesta de la vía aérea de modo que el PC20 no revela la gravedad del asma.

Es difícil interpretar el significado de una PC20 baja en un paciente con obstrucción de vías aéreas de base tal es el caso de la mayoría de los pacientes con EPOC relacionado con el tabaquismo y con obstrucción de leve a moderada<sup>53</sup>. en los cuales no hay ninguna respuesta al broncodilatador<sup>54,55</sup> Es aún más difícil de interpretar el significado de un cambio en la PC20, cuando también se ha producido un cambio en el FEV1 basal (que a menudo este cambio se produce después del éxito de la terapia.<sup>54, 55</sup>

Existen varios estudios en los cuales hacen la asociación entre atopia y el grado de HRB, tal es el caso de Jansen y colaboradores mostraron que la Eosinofilia y las pruebas cutáneas (PC) positivas ambas eran significativas asociadas a HRB con Histamina pero los niveles de IgE no lo eran (OR=1.29, 95% CI= 0.81 a 2.03). Sin embargo esta asociación significativa entre PC e HRB hacían referencia a sujetos sintomáticos únicamente; independientemente de la Eosinofilia y los niveles altos de IgE. En contraste la relación entre la Eosinofilia periférica y la HRB fue la misma en sujetos asintomáticos y sintomáticos. Estos hallazgos sugieren que las pruebas cutáneas y el nivel total de IgE y la Eosinofilia representan diferentes características del fenotipo atópico, con Eosinofilia existe una asociación más fuerte con HRB.<sup>58</sup>

Crimi y colaboradores evaluaron la relación entre HRB y el número y tipo de células inflamatorias en esputo, lavado bronco alveolar y biopsias de pacientes con asma leve a moderada e hipersensibilidad a Dermatophagoides y epitelio de animales, en este estudio no se encontró asociación entre HRB y la presencia de células inflamatorias como eosinófilos, neutrófilos, linfocitos y macrófagos en las vías aéreas.<sup>59</sup>

## **JUSTIFICACIÓN**

El asma es un problema de salud pública con una morbilidad en aumento desde hace 30 años, es la enfermedad crónica más importante en la infancia y en la edad adulta, El reto bronquial con metacolina que reporta una caída del FEV1 entre 10 y 20% podría predecir en un futuro la aparición de datos clínicos de asma además, la identificación del grado de HRB proporcionaría información para dirigir el tratamiento, de ahí la necesidad de llevar a cabo este estudio con el objetivo conocer el grado de hiperreactividad en pacientes asmáticos; además de abrir líneas de investigación que aporten más datos en este rubro.

La carga económica de la asistencia sanitaria es sumamente elevada. Un 70% del costo total del asma deriva del mal control de la misma por costos indirectos y directos (gastos de hospitalización, visitas a urgencias, etc.). Es necesario detectar a pacientes con asma severa con un riesgo elevado de recaídas, para tomar medidas de prevención y de esta forma reducir los costos.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La HRB es una alteración característica del asma, sin embargo no es exclusiva de esta entidad y su ausencia permite descartarla.

El reto con metacolina es una forma de medir la HRB, diversos estudios refieren una sensibilidad del 92% y especificidad 89%<sup>2</sup>, el valor predictivo positivo alto es inversamente proporcional al PC20. Una vez que se confirma la HRB, estratificar el grado de severidad es importante para la toma de decisiones terapéuticas, actualmente no hay evidencia científica de la magnitud en que se presenta y cómo influyen los factores coexistentes en el paciente.

Siendo un instituto nacional de enfermedades respiratorias y centro de referencia para asma surge la pregunta de investigar ¿Cuál es el grado de hiperreactividad bronquial en los pacientes con diagnóstico de asma?

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL:**

- Determinar el grado de hiperreactividad bronquial con reto de Metacolina en pacientes con asma en pacientes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS:**

- Conocer el grado de hiperreactividad bronquial en asmáticos y sujetos sanos
- Evaluar la gravedad de la reactividad bronquial en estos pacientes
- Conocer el alérgeno más prevalente en las población estudiada
- Conocer la relación entre la sensibilización a aeroalergenos ambientales y asma e HRB en sujetos de estudio.
- Determinar el grado de Hiperreactividad Bronquial y su relación con el tabaquismo.
- Evaluar la sensibilidad y especificidad del reto bronquial con metacolina en el diagnóstico de asma.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se trata de un estudio de tipo experimental en el servicio de consulta externa del departamento de Inmunología y Alergia, del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, se realizó entre los meses de febrero a agosto de 2010, se reclutaron pacientes con diagnóstico de asma así como sujetos al parecer sanos, miembros de familia.

### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN:**

Pacientes referidos a la consulta de Alergia e Inmunología por algún otro servicio con diagnóstico de Asma que tengan un esfuerzo respiratorio adecuado para la realización espirometrías, dentro del rango de edad de entre 10 y 60 años.

Sujetos sanos sin antecedente de atopia miembros de una familia nuclear

### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:**

- Familias extranjeras
- Familias que no incluyan dentro de su núcleo a un integrante con Asma
- Pacientes menores de 10 años y mayores de 60
- Sujetos que estén en tratamiento con antihistamínicos, antidepresivos tricíclicos y/o beta agonistas ya que impide la realización de pruebas cutáneas
- Pacientes que presenten dermatopatología como dermatografismo, eccema o urticaria.
- Mujeres embarazadas
- Pacientes que a la exploración se ausculten sibilancias o mencionen disnea
- Pacientes con uso de broncodilatadores o cromolin de sodio o que no lo hayan suspendido previo al estudio, según las indicaciones de las Guías de ATS

## **CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:**

- Personas con alteraciones cardiacas (Infarto al Miocardio reciente, Hipertensión Arterial no controlada, Arritmias cardiacas, Aneurisma conocido)
- Pacientes que no puedan realizar un adecuado esfuerzo respiratorio en las espirometrías y no puedan realizar FEV1 de más de 80% del predicho
- Familias en las que no sea posible reunir a todos sus integrantes (nuclear). Pacientes que no acepten participar en el estudio.

## **TAMAÑO DE LA MUESTRA:**

El tamaño de muestra fue calculado por medio del paquete estadístico Epi info en base a la prevalencia de asma según el estudio de ISAAC reclutando 210 pacientes con diagnóstico de asma y sanos.

## **DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO:**

- Se verificó que los pacientes captados cumplieran con los criterios establecidos y firmaron consentimiento informado
- Se realizó un interrogatorio directo a los pacientes mayores de edad y a los padres de los menores participantes
- Se realizó examen físico completo y determinación de IgE y biometría hemática para determinación de Eosinófilos.

## **DEFINICIÓN DE VARIABLES:**

**SANO:** Persona con reto bronquial de metacolina negativo, pruebas cutáneas negativas, niveles de IgE por debajo de 500 mg/dl, eosinófilos menores de 500, con espirometría sin reversibilidad

**HIPERREACTIVIDAD BRONQUIAL:** Definida como la respuesta obstructiva de las vías aéreas ante estímulos farmacológicos; como histamina y metacolina, que causan contracción del músculo liso de las vías aéreas. Se

**ASMA:** Enfermedad Inflamatoria Crónica de las vías aéreas, que se caracteriza por una obstrucción variable y reversible ya sea espontáneamente o con tratamiento que cursa con un aumento de la respuesta de la vía aérea frente a una gran variedad de estímulos: alérgenos, fármacos, ejercicio, aire frío, humo, llanto, etc<sup>1,2</sup>.

**PRUEBAS CUTÁNEAS:** Se realizaron pruebas cutáneas con alérgenos de la marca ALK-belló con la técnica de prick test se utilizó el kit básico de diagnóstico en el que se incluyen alérgenos como *Dermatophagoides Pteronisinus*, *Dermatophagoides Farinae*, epitelio de perro, gato, pólenes de arboles, malezas, pastos y algunos alimentos como soya, leche, huevo, fresa, manzana camarón; se utilizó como control negativo solución salina y control positivo histamina 10mg/ml la técnica consiste en aplicar en la piel sana una gota del alérgeno y posteriormente con una lanceta puncionar la piel con la finalidad de introducir en epidermis una cantidad mínima de alérgeno y al cabo de 15 minutos se realiza la lectura de la prueba considerando una prueba cutánea positiva con roncha mayor de 3 mm de diámetro con respecto al control negativo de solución fisiológica y se registraron tamaño de roncha y eritema de cada uno en la hoja de captura. No se realizaron pruebas a pacientes embarazadas, o que en el momento del estudio estuvieran tomando betas bloqueadores o antihistamínicos los cuales interfieren con la realización de las Pruebas Cutáneas.

**RETO CON METACOLINA:**

Las pruebas de broncoprovocación son empleadas en el diagnóstico o exclusión del asma, evaluar la severidad de la enfermedad y establecer la respuesta al tratamiento. Aunque hay una gran diversidad de agentes causantes de hiperreactividad bronquial solo algunos pocos son utilizados dentro de pruebas estandarizadas de utilidad clínica. Las pruebas de broncoprovocación más frecuentemente utilizadas son aquellas que emplean agentes químicos no selectivos de acción directa como la metacolina y las que emplean medios físicos como el ejercicio que induce broncoconstricción de manera indirecta.

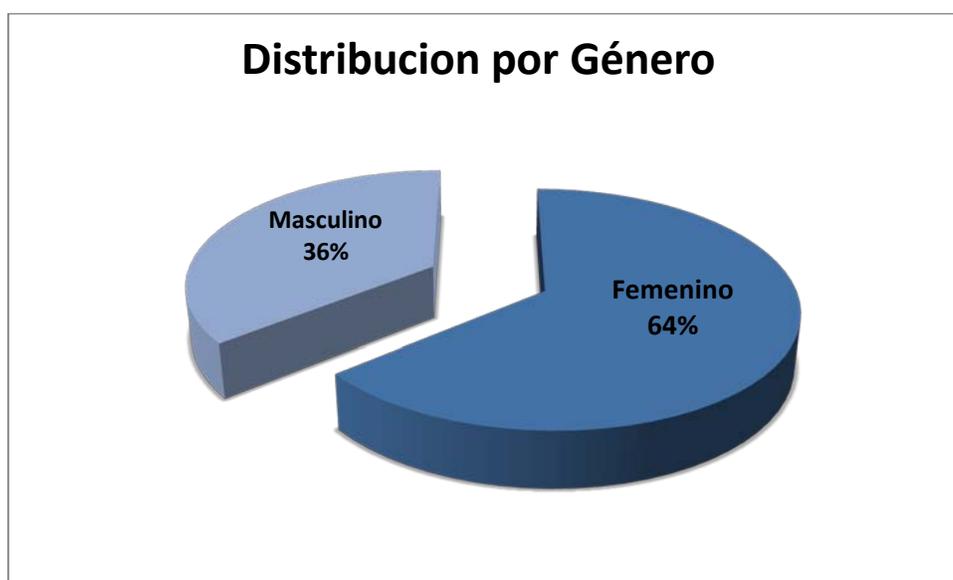
Se realizaron Pruebas de Reto bronquial con metacolina mediante la técnica descrita en las Guías de la American Thoracic Society ampliamente comentada con anterioridad.

**CATEGORIZACIÓN DE LA RESPUESTA BRONQUIAL**

PC20 (mg/ml)	INTERPRETACIÓN
> de 16	Hiperreactividad Bronquial Normal
4.0 – 16	HRB limítrofe
1.0 a 4.0	HRB leve
< 1	HRB Moderada a Severa

## RESULTADOS

Se reclutaron 210 individuos de edades entre 10 y 50 años, de los cuales se eliminaron 65 sujetos por no contar con prueba de reto bronquial. Por lo que se analizaron 145 pacientes, 58 sanos (40%) y con diagnóstico de asma 87 (60%), referidos al servicio de Inmunología Clínica y Alergia, el 64.1% del sexo femenino (Gráfica 1).



Gráfica 1. Distribución de la población por género.

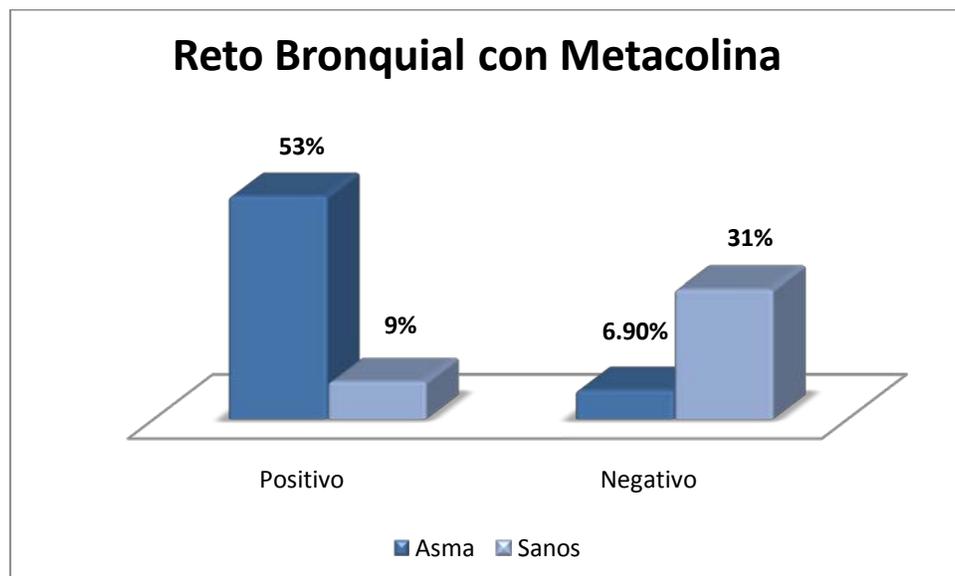
Por rango de edad se reportaron menores de 18 años 28 (19.3%), de 19 a 25 años 20 (20.8%), de 26 a 50 años 83 (57.2%) y mayores de 50 años 14 (9.7%). (Tabla 1).

Género	Grupos de edad				Total
	Menores de 18 años	19 a 25 años	26 a 50 años	Mayores de 50 años	
<b>Femenino</b>	16 (15.1%)	14 (9,7%)	56 (38,6%)	7 (4.8%)	93 (64.1%)
<b>Masculino</b>	12 (8.2%)	6 (4.1%)	27 (18.6%)	7 (4.8%)	52 (35.9%)
<b>Total</b>	28 (19.3%)	20 (13.8%)	83 (57.2%)	14 (9.7%)	145 (100%)

Tabla 1. Distribución por Grupo de edad y género de 145 sujetos con asma y sanos.

Valor  $p < 0.05$

Con 90 pruebas de reto bronquial positivas para metacolina (62%), en pacientes con asma 77 (53.1%) y sanos 13 (9%) (Gráfica 2 Tabla 2)



Grafica 2. Positividad a la prueba de reto con Metacolina en pacientes con asma y sanos.

Diagnóstico	Reto con Metacolina		
	Positivos	Negativos	Total
Sanos	13 (9%)	45 (31%)	58 (40%)
Total	90 (62.1%)	55 (37.9%)	145 (100%)

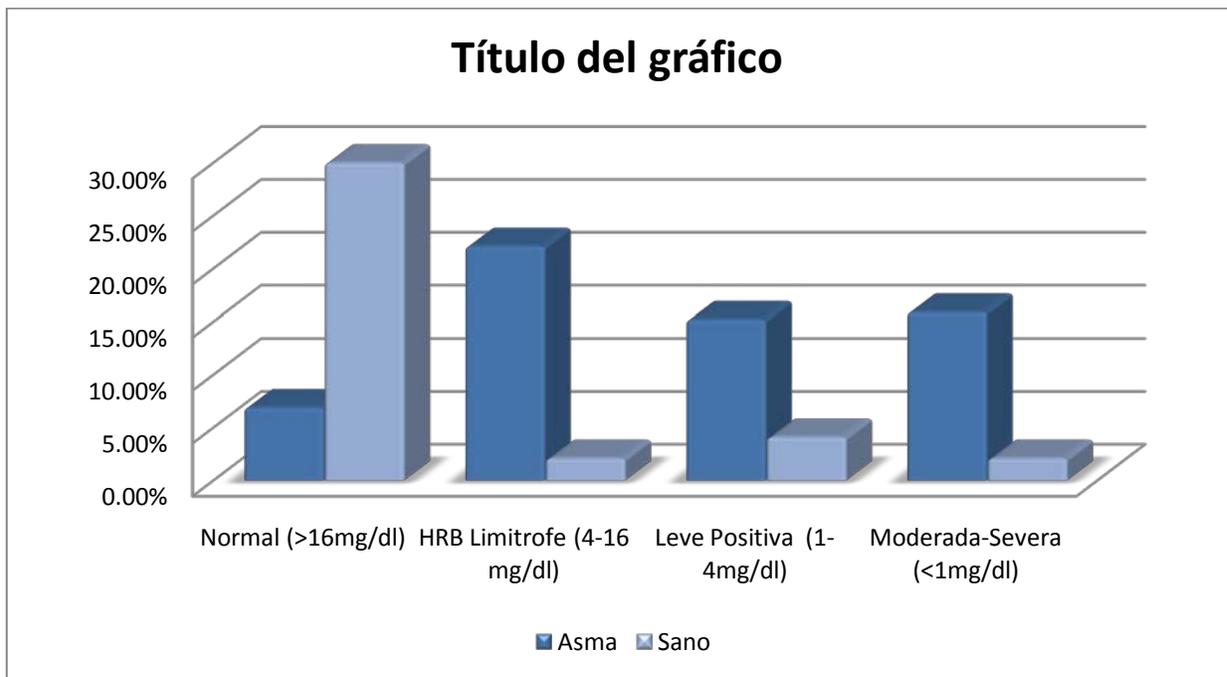
Tabla 2. Prueba de Reto Bronquial con Metacolina en sujetos con Asma y sanos.

Valor  $p < 0.05$

Categorizadas según la Guía de Reto Bronquial con Metacolina de la American Thoracic Society (ATS) como: Normal (> de 16mg/ml) 6.9%, Limítrofe (de 4 a 6mg/ml) 22.1%, Leve Positivo (1 a 4 mg/ml) 15.9%; Moderada Severa (<1mg/ml) 15.9% en pacientes asmáticos (Gráfica 5,Tabla 3).

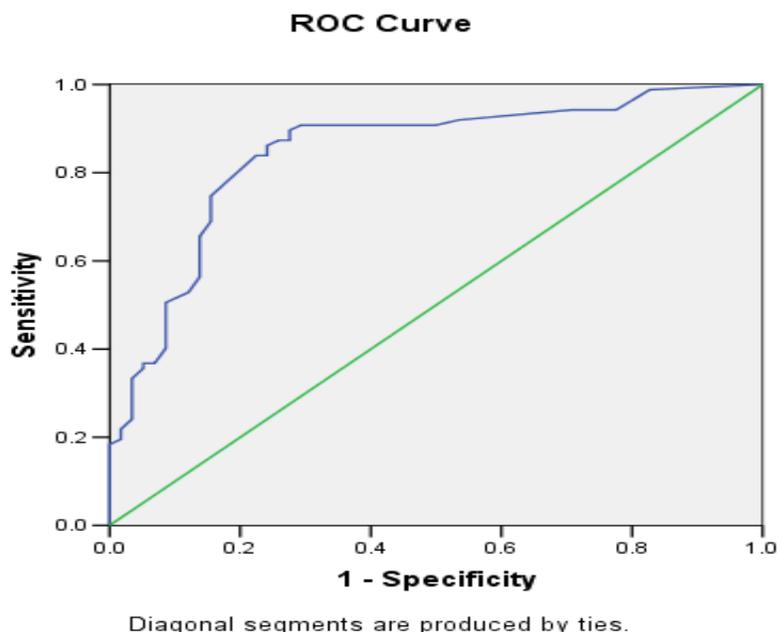
Diagnóstico	PC 20				Total
	Normal (>16mg/dl)	HRB Limitrofe (4-16 mg/dl)	Leve Positiva (1-4mg/dl)	Moderada-Severa (<1mg/dl)	
Asma	10 (6.9%)	32 (22.1%)	22 (15.2%)	23 (15.9%)	87 (60%)
Sano	46 (31.7%)	3 (2.1%)	6 (4.1%)	3 (2.1%)	58 (40%)
Total	56 (38.6%)	35 (24.1%)	28 (19.3%)	26 (17.9%)	145 (100%)

Tabla 3. Clasificación de la Gravedad de la Hiperreactividad Bronquial inducida con Metacolina en base a las Guías de la American Thoracic Society 2000 en sujetos sanos y con asma.



Gráfica 5. Grado de HRB en pacientes con asma de acuerdo a las Guías de la American Thoracic Society 2000.

La sensibilidad del reto bronquial con metacolina fue del 88%, una especificidad del 81% un valor predictivo positivo del 88% y un valor predictivo negativo de 77%. En el análisis de la curva de ROC el área bajo la curva mostró que con la prueba de reto con metacolina, el 85% de los pacientes fueron verdaderamente diagnosticados con asma o excluyendo este diagnóstico ( $p < 0.05$ )



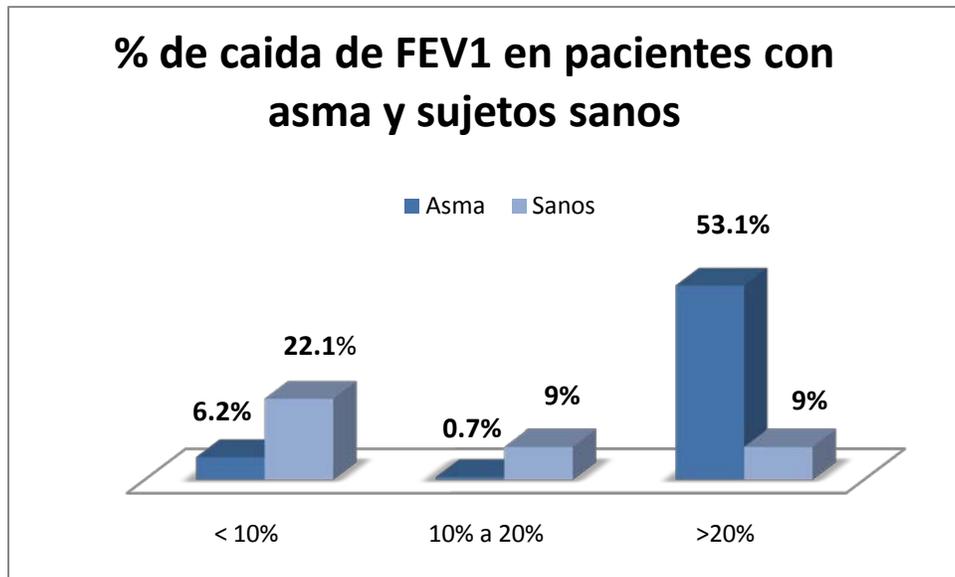
Grafica 6. El 85% de los pacientes con asma y sanos se encuentran bajo el área de la curva. Valor Predictivo Positivo 88% Valor Predictivo Negativo 77%  
Sensibilidad 88% Especificidad 81%.

De los sujetos con prueba de reto positivo el 75% fueron mujeres y el 28.8% hombres por grupo de edad en mujeres con mayor positividad del reto (43%) fue en el rango de 26 a 50 años, observando un incremento en la positividad del reto a mayor de edad y en mujeres. El 9% de los sujetos sanos con reto negativo presentaron una caída del FEV1 entre 10 y 20%. (Gráfica 3).

Variable		PC 20 del Reto Bronquial con Metacolina		
		< 10%	10% a 20%	>20%
Diagnostico*	Asma	9 (6.2%)	1 (0.7%)	77(53.1%)
	Sanos	32 (22.1%)	13 (9%)	13 (9%)
Niveles de IgE*	<100 mg/dl	19 (14.8%)	5 (3.9%)	36 (28.1%)
	101-500 mg/dl	11 (8.6%)	5 (3.9%)	34 (26.6%)
	>500 mg/dl	4 (3.4%)	2 (1.6%)	12 (9.4%)
Pruebas Cutaneas*	Negativas	31(21.4%)	10(6.9%)	52(35.9%)
	Positivas	10(6.9%)	4(2.8%)	38(26.2%)
Antecedente de Tabaquismo		10(6.9%)	2(1.4%)	12(8.3%)

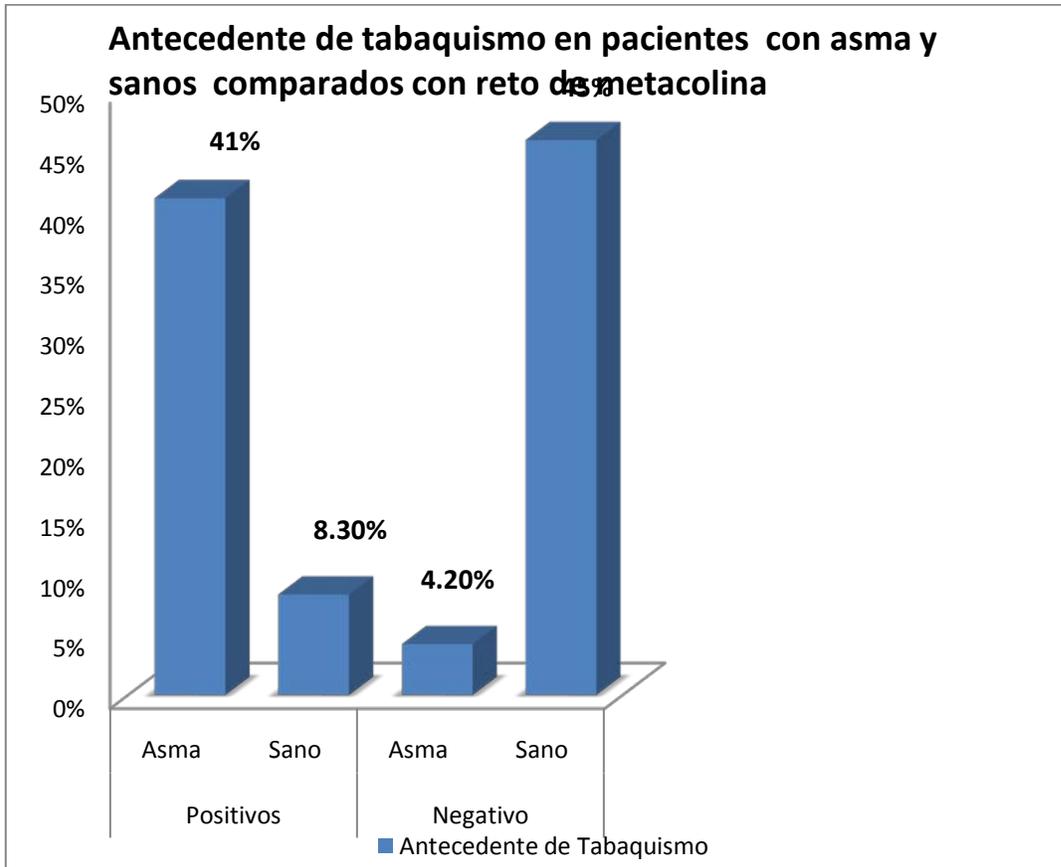
Tabla 5. Antecedentes de alergia y tabaquismo en sujetos con asma y sano según la PC 20

\*Valor p < 0.05



Grafica 3 PC 20 en pacientes con asma y sanos

De los pacientes con asma y reto bronquial positivos 10 individuos (41.7%) tenían antecedentes de tabaquismo positivo y sin este antecedente el 55.4%, de estos se reportó que el 63.5%,(Gráfica 4)



Grafica 4. Antecedente de tabaquismo en pacientes con asma y sanos comparado con prueba de reto bronquial

Tuvieron pruebas cutáneas positivas a aeroalergenos e intradomiciliarios ( $p < 0.05$ ). Así mismo el 66.7% tuvo niveles séricos de IgE mayores a 500UI/ml; se observó mayor porcentaje de atopia en aquellos asmáticos con reto positivo en comparación a un reto negativo. El 66.7% de los pacientes con reto bronquial positivo e IgE mayor 500 UI/L reportó caída de más del 20% del FEV1. El 42.2% de los retos bronquiales positivos tuvieron PC positivas. 7 pacientes con diagnóstico de asma reportaron PC positivas así como niveles elevados de IgE (>de 500UI/ml) y prueba de reto positivo. Ninguno de los sujetos sanos con pruebas cutáneas positivas, niveles de IgE alto tuvieron prueba de reto positiva.

## DISCUSIÓN

La Hiperreactividad bronquial (HRB) es una de las alteraciones más características en la patogenia del asma bronquial, ya que prácticamente todos los asmáticos sintomáticos la presentan.<sup>26</sup> para poner en evidencia la HRB contamos con diferentes tipos de retos bronquiales dentro de estos el reto con metacolina que se cataloga como método directo.

El 53% de los pacientes con diagnóstico de asma que estudiamos tuvieron reto bronquial con metacolina positivo, que es menor a lo reportado por la literatura publicada. Estudios hechos previamente de prevalencias del reto en pacientes con asma reportan que el reto es positivo en 85% de los pacientes.<sup>56</sup> En cuanto a la sensibilidad encontrada en la población estudiada fue ligeramente menor con respecto a lo reportado en la bibliografía la Sensibilidad en nuestra población fue de 88% vs 92% y Especificidad de 81% vs 89%<sup>24</sup>. Debido a la alta sensibilidad y valor predictivo negativo de la prueba de bronco provocación con metacolina, un resultado negativo es de mayor utilidad en descartar el diagnóstico de asma.<sup>24</sup>

En pacientes con diagnóstico de asma existe una correlación entre el grado de hiperreactividad bronquial y la severidad clínica del asma es significativa, pero no lo suficientemente fuerte para que se categorice la severidad del asma en pacientes de forma individual.<sup>50, 51, 52</sup> Los retos con metacolina en pacientes ya diagnosticados y en tratamiento a base de esteroides inhalados disminuye el valor de la PC20, así como también el nivel de FEV1, esto se ve representado en nuestro estudio ya que al evaluar el valor de FEV1 podemos observar el éxito o no del tratamiento; de ahí que se considere al reto bronquial con metacolina apropiado también para evaluar el tratamiento.<sup>50</sup>

El género más afectado con diagnóstico de asma y reto bronquial positivo fue el femenino lo que concuerda con la revisión realizada donde se comenta que el género masculino antes de los 14 años ha demostrado ser factor de riesgo para asma, mientras que el género femenino es factor de riesgo para asma en adultos<sup>25</sup> el tabaquismo y un reto bronquial con metacolina positivo en pacientes sanos no es factor agravante para inducir mayor caída de FEV1 o mayor PC20 a diferencia de lo reportado en la literatura, en donde se comenta que el tabaquismo pasivo provoca una disminución de la función pulmonar; así mismo se ha demostrado que el tabaquismo pasivo es un factor de riesgo para presentar sibilancias persistentes o recurrentes; además de que empeora el pronóstico del Asma Bronquial en la niñez sin embargo habrá que considerar este antecedente en cuanto a cantidad de cigarrillos fumados al día así como el tiempo previo de consumo de un cigarrillo y la realización del Reto Bronquial

La principal meta al identificar Asma Bronquial alérgica es definir el factor causal mediante la detección de IgE específica y la realización de pruebas cutáneas, en nuestro estudio determinamos que el alérgeno más común es el *Dermatophagoide*s; encontramos que retos bronquiales con metacolina positivos pueden encontrarse en pacientes sin asma; siempre y cuando los niveles de IgE son altos a determinados alérgenos como el DPT o algunos pólenes.

En los pacientes con PC20 baja tendríamos que descartar la presencia de EPOC, Fibrosis Quística o algún otro factor que provoque inflamación de la vía aérea tal es el caso de las infecciones virales, por lo que habrá que investigar con mayor detalle acerca del antecedente de exposición a humo de leña condición que pudiera ayudar a descartar que se trate de EPOC, así como realizar un interrogatorio estrictamente dirigido a la búsqueda de infecciones previas de vía aérea, en caso de presentarlas será importante identificar el inicio de la misma, la duración y el tratamiento datos que pudieran condicionar una alteración en la evaluación de la PC20.

## CONCLUSIONES

Alrededor del 15 al 45% de las personas asintomáticas con HRB pueden desarrollar asma en los subsecuentes dos a tres años de seguimiento por lo que será importante darle seguimiento a futuro a este estudio con la finalidad de determinar si esto se observa en nuestra población analizada. Además se comenta que en la realización de los retos bronquiales los sujetos que reportan caídas de FEV1 de entre 10 y 20% pudieran desarrollar asma en evaluaciones subsecuentes. El éxito de un buen diagnóstico consiste en identificar adecuadamente a los pacientes que por sus síntomas nos sugiera el diagnóstico de Asma como son la presencia de tos y disnea de forma intermitente, excluir a pacientes con patologías que pudieran darnos falsos positivos como son la Fibrosis Quística, EPOC o infecciones de tipo viral además de la correcta realización de la técnica, el manejo correcto de la metacolina, la preparación adecuada de las diluciones y que sea realizado por una persona validada en la realización de espirometrías.

El método de diagnóstico con reto de metacolina es una herramienta muy útil para excluir el diagnóstico de asma, sin embargo esta técnica tiene algunas limitantes en cuanto a que no se puede realizar en sujetos que no tengan esfuerzo respiratorio adecuado en la espirometría, o en población infantil no se pueden realizar espirometrías, y además el método que se pudiera utilizar en dicha población es el método auscultatorio, sin embargo esta técnica no está estandarizado ni validado como método diagnóstico en población infantil. Por lo que considero que deberíamos continuar reclutando pacientes para poder favorecer la validación de dicha técnica en población menor.

## REFERENCIAS

1. Sterk PJ, Fabbri LM, QuanjerPhH, *et al.* Airway responsiveness. Standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitising stimuli in adults. *EurRespir J* 1993;6(Suppl 16):53–83.
2. Cockcroft DW, Berscheid BA, Murdock KY. Measurement of responsiveness to inhaled histamine using FEV1: comparison of PC20 and threshold. *Thorax* 1983;38:523–6.
3. Kay AB, Gelfand EW, Natural history of asthma from childhood to adulthood, *Clin. Exp All Rev* 2002, 117-27
4. Jaakkola JK, Parental atopy and asthma in adults; *J ClinImmunol* 2002, 109; 784.8
5. LarsonML, Frisk M. Halstrom J. Environmental tobacco smoke exposure during childhood is associated with increased prevalence of asthma in adults. *Chest* 2001; 120, 717-20
6. Bousquet J. Vignola AM Demoly P. Links between rhinitis and asthma , *Allergy* 2003: 58;691, 706
7. Suttner K, Ruoss I, Rosenstiel P, Depner M, Pinto LA, Schedel M, *et al.* HLX1 gene variants influence the development of childhood asthma. *J Allergy ClinImmunol* 2009;123:82-8.
8. Suttner K, Rosenstiel P, Depner M, Schedel M, Pinto LA, Ruether A, *et al.* TBX21 gene variants increase childhood asthma risk in combination with HLX1 variants. *J Allergy ClinImmunol* 2009;123:1062-8.
9. Suttner K, Depner M, Klopp N, Illig T, Vogelberg C, Adamski J, *et al.* Genetic variants in the GATA3 gene are not associated with asthma and atopic diseases in German children. *J Allergy ClinImmunol* 2009;123:1179-81.
10. Bisgaard H, Loland L, Holst KK, Pipper CB. Prenatal determinants of neonatal lung function in high-risk newborns. *J Allergy ClinImmunol* 2009;123:651-7.
11. Yemen S, Gaston B. Lung function test results in normal infants: a COPSAC sequel. *J Allergy ClinImmunol* 2009;123:658-9.
12. Holgate S.T., Davies D.E., Rorke S., *et al.* ADAM 33 and its association with airway remodeling and hyperresponsiveness in asthma. *Clin Rev Allergy Immunol* 2004; 27:23-34
13. Cookson H, Granell R, Joinson C, Ben-Shlomo Y, Henderson AJ. Mothers' anxiety during pregnancy is associated with asthma in their children. *J Allergy ClinImmunol* 2009;123:847-53.
14. Keski-Nisula L, Katila ML, Remes S, Heinone S, Pekkanen J. Intrauterine bacterial growth at birth and risk of asthma and allergic sensitization among offspring at the age of 15 to 17 years. *J Allergy ClinImmunol* 2009;123:1305-11.
15. Upham JW, Zhang G, Rate A, Yerkovich ST, Kusel M, Sly PD, *et al.* Plasmacytoid dendritic cells during infancy are inversely associated with childhood respiratory infections and wheezing. *J Allergy ClinImmunol* 2009;124:707-13.
16. Gergen PJ, Arbes SJ, Calatroni A, Mitchell HE, Zeldin DC. Total IgE levels and asthma prevalence in the US population: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006. *J Allergy ClinImmunol* 2009; 124:447-53.
17. Farquhar H, Crane J, Mitchell EA, Evers S, Beasley R. The acetaminophen and asthma hypothesis ten years on: a case to answer. *J Allergy ClinImmunol* 2009; 124:649-51.

18. Foliaki S, Pearce N, Bjorkstein B, Mallol J, Montefort S, von Mutius E, et al. Antibiotic use in infancy and symptoms of asthma, rhinoconjunctivitis, and eczema in 6-7 year olds: ISAAC phase three. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:982-90
19. Tovey ER, Almqvist C, Li Q, Crisafulli D, Marks GB: Nonlinear relationship of mite allergen exposure to mite sensitization and asthma in a birth cohort. *J Allergy Clin Immunol* 2008, 122:114-118.
20. Sporik R, Holgate ST, Platts-Miles TAE, Cogswell JJ: Exposure to house-dust mite allergen (Der p I) and the development of asthma in childhood. *N Engl J Med* 1990, 323:502-507.
21. Strachan DP, Butland BK, Anderson HR: Incidence and prognosis of asthma and wheezing illness from early childhood to age 33 in a national British cohort. *Br Med J* 1996, 312:1195-1199.
22. Martinez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ, the Group Health Medical Associates: Asthma and wheezing in the first six years of life. *N Engl J Med* 1995, 332:133-138.
23. Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B, Björkstén B: Asthma and immunoglobulin E antibodies after respiratory syncytial virus bronchiolitis: a prospective cohort study with matched controls. *Pediatrics* 1995, 95:500-505.
24. Castro-Rodriguez JA, Wright AL, Taussig LM, Martinez FD. A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1403-1406.
25. American Thoracic Society. Guidelines for Methacholine and Exercise Challenge Testing. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:309-29.
26. Habib MP, Paré PD, Engel LA. Variability of airway responses to inhaled histamine in normal subjects. *J Appl Physiol: Respir Environ Exercise Physiol* 1979;47:51-8.
27. Cockcroft, D. W., and F. E. Hargreave. 1991. Airways hyperresponsiveness: definition, measurement and clinical relevance. In M. A. Kaliner, P. J. Barnes, and C. G. A. Persson, editors. *Asthma: Its Pathology and Treatment*. Marcel Dekker, N Y
28. Fish, J. E. 1993. Bronchial challenge testing. In E. Middleton, editor. *Allergy: Principles and Practice*, 4th ed. Mosby-Year Book, St. Louis, MO.
29. Postma, D. S., and H. A. Kerstjens. 1998. Characteristics of airway hyperresponsiveness in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 158(Suppl.):S187-S192.
30. Perpiña, M., C. Pellicer, A. deDiego, L. Compte, and V. Macian. 1993. Diagnostic value of the bronchial provocation test with methacholine in asthma: Bayesian analysis approach. *Chest* 104:149-154.
31. Dales, R. E., F. Nunes, D. Partyka, and P. Ernst. 1988. Clinical prediction of airways hyperresponsiveness. *Chest* 5:984-986.
32. Ramsdell, J. W., F. J. Nachtwey, and K. M. Moser. 1982. Bronchial hyperactivity in chronic obstructive bronchitis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 126:829-832.
33. Du Toit, J. I., A. J. Woolcock, C. M. Salome, R. Sundrum, and J. L. Black. 1986. Characteristics of bronchial hyperresponsiveness in smokers with chronic air-flow limitation. *Am. Rev. Respir. Dis.* 134:498-501.

34. Yan, K., C. M. Salome, and A. J. Woolcock. 1985. Prevalence and nature of bronchial hyperresponsiveness in subjects with chronic obstructive pulmonary disease. *Am. Rev. Respir. Dis.* 132:25–29.
35. Martin, R. J., J. S. Wanger, C. G. Irvin, B. B. Bartelson, R. M. Cherniack, and the Asthma Clinical Research Network (ACRN). 1997. Methacholine challenge testing: safety of low starting FEV1. *Chest* 112:53–56.
36. Tashkin, D. P., M. D. Altose, E. R. Bleecker, J. E. Connett, R. E. Kanner, W. W. Lee, R. Wise, and the Lung Health Research Group. 1992. The Lung Health Study: airway responsiveness to inhaled methacholine in smokers with mild to moderate airflow limitation. *Am. Rev. Respir. Dis.* 145:301–310.
37. Scott, G. C., and S. R. Braun. 1991. A survey of the current use and methods of analysis of bronchoprovocational challenges. *Chest* 100:322–328.
38. National Asthma Education and Prevention Program. 1997. Expert Panel Report 2: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma. U.S. Government Printing Office, Washington, DC. NHLBI Publication No. 97-4051.
39. Rodriguez-Roisin, R., A. Ferrer, D. Navajas, A. G. Agusti, P. D. Wagner, and J. Roca. 1991. Ventilation–perfusion mismatch after methacholine challenge in patients with mild bronchial asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* 144:88–94.
40. Roca, J., and R. Rodriguez-Roisin. 1992. Editorial: asthma, allergen challenge and gas exchange. *Eur. Respir. J.* 5:1171–1172.
41. Seatta, M., A. Di Stefano, G. Turato, R. De Caro, D. Bordignon, S. T. Holgate, and L. M. Fabbri. 1995. Fatal asthma attack during an inhalation challenge with ultrasonically nebulized distilled water. *J. Allergy Clin. Immunol.* 95:1285–1287
42. Lundgren, R., M. Söderberg, L. Rosenhall, and E. Norman. 1992. Case report: development of increased airway responsiveness in two nurses performing methacholine and histamine challenge tests. *Allergy* 47:188–189.
43. Shapiro, G. G., and R. A. Simon, for the American Academy of Allergy and Immunology Bronchoprovocation Committee. 1992. Bronchoprovocation committee report. *J. Allergy Clin. Immunol.* 89:775–778
44. Hayes, R. D., J. R. Beach, D. M. Rutherford, and M. R. Sim. 1998. Stability of methacholine chloride solutions under different storage conditions over a 9 month period. *Eur. Respir. J.* 11:946–948.
45. Kongerud, J., V. Soyseth, and B. Johansen. 1989. Room temperature influences output from the Wright jet nebulizer. *Eur. Respir. J.* 2:681–684.
46. Toelle, B. G., J. K. Peat, C. M. Salome, J. Crane, D. McMillan, J. Dermand, W. D'Souza, and A. J. Woolcock. 1994. Comparison of two epidemiological protocols for measuring airway responsiveness and allergic sensitivity in adults. *Eur. Respir. J.* 7:1798–1804.
47. Ryan, G., M. B. Dolovich, R. S. Roberts, P. A. Frith, E. F. Juniper, F. E. Hargreave, and M. T. Newhouse. 1981. Standardization of inhalation provocation tests: two techniques of aerosol generation and inhalation compared. *Am. Rev. Respir. Dis.* 123:195–199.

48. Beaupre, A., and J. L. Malo. 1979. Comparison of histamine bronchial challenges with the Wright nebulizer and the dosimeter. *Clin. Allergy* 9:575–583.
49. Zhong, N. S., R. C. Chen, M. O. Yang, Z. Y. Wu, J. P. Zheng, and Y. F. Li. 1992. Is asymptomatic bronchial hyperresponsiveness an indication of potential asthma? A two year follow-up of young students with bronchial hyperresponsiveness. *Chest* 102:1104–1109.
50. Laprise, C., and L. P. Boulet. 1997. Asymptomatic airway hyperresponsiveness: a three year follow-up. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 156:403–409.
51. Cockcroft, D. W., D. N. Killian, J. J. Mellon, and F. E. Hargreave. 1977. Bronchial reactivity to inhaled histamine: a method and clinical survey. *Clin. Allergy* 7:235–243.
52. Woolcock, A. J., J. K. Peat, C. M. Salome, K. Yan, S. D. Anderson, R. E. Schoeffel, G. McCowage, and T. Killalea. 1987. Prevalence of bronchial hyperresponsiveness and asthma in a rural adult population. *Thorax* 42:361–368.
53. Avital, A., N. Noviski, E. Bar-Yishay, C. Springer, M. Levy, and S. Godfrey. 1991. Nonspecific bronchial reactivity in asthmatic children depends on severity but not on age. *Am. Rev. Respir. Dis.* 144:36–38.
54. Ulrik, C. S. 1996. Factors associated with increased bronchial responsiveness in adolescents and young adults: the importance of adjustment for prechallenge FEV1. *J. Allergy Clin. Immunol.* 97:761–767.
55. Greenspon, L. W., and E. Gracely. 1992. A discriminant analysis applied to methacholinebronchoprovocation testing improves classification of patients as normal, asthma or COPD. *Chest* 102:1419–1425.
56. Tashkin, D. P., M. D. Altose, E. R. Bleecker, J. E. Connett, R. E. Kanner, W. W. Lee, R. Wise, and the Lung Health Research Group. 1992. The Lung Health Study: airway responsiveness to inhaled methacholine in smokers with mild to moderate airflow limitation. *Am. Rev. Respir. Dis.* 145:301–310.
57. Dodge R.R. Burrows B. The prevalence and incidence of asthma and asthma-like symptoms in a general population sample. *Am Rev Respir Dis* 1980; 122-567
58. Jansen DF, Rijcken B, Schouten JP, et al. The relationship of skin test positivity, high serum total IgE levels, and peripheral blood eosinophilia to symptomatic and asymptomatic airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159(3)924-31
59. Crimi E, Spanevello A, Neri M et al. Dissociation between airway inflammation and airway hyperresponsiveness in allergic Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157(1)4:9