



VNIVERSITAT
D VALÈNCIA

**UNIVERSITAT DE VALÈNCIA-FACULTAD DE
MEDICINA I ODONTOLOGIA
Programa de Doctorado de Medicina**

Determinación de las concentraciones de óxido nítrico exhalado en pacientes con tos crónica: Utilidad para identificar la respuesta favorable al tratamiento con esteroides inhalados y relación con la respuesta bronquial a agonistas broncoconstrictores directos e indirectos

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Anna Maria Ferrer Franco
Valencia, 2015

Director

Prof. Jesús Luis Prieto Andrés

Jesús Luis Prieto Andrés, Profesor Titular de Medicina de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia, CERTIFICA:

Que la tesis doctoral titulada **“Determinación de las concentraciones de óxido nítrico exhalado en pacientes con tos crónica: Utilidad para identificar la respuesta favorable al tratamiento con esteroides inhalados y relación con la respuesta bronquial a agonistas broncoconstrictores directos e indirectos”**, cuya autora es ANNA MARIA FERRER FRANCO, está finalizada y reúne todos los requisitos necesarios para su lectura y defensa pública para optar al título de doctora por la Universidad de Valencia.

Para que conste, firma el presente certificado en Valencia, 8 de julio de 2015.

Fdo. Jesús Luis Prieto Andrés

Director de la Tesis Doctoral

A Aitana

A mis padres

A Andrés

Agradecimientos:

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que, directa o indirectamente, han hecho posible la realización de este proyecto.

Al Profesor Jesús Luís Prieto, por su accesibilidad, sus continuas aportaciones, su esfuerzo, su dedicación, por ser una fuente constante de ideas y por su paciencia. Indudablemente no se entiende sin él nada de este trabajo.

Al Dr. Julio Palop, Jefe clínico del Servicio de Neumología del Hospital Dr. Peset de Valencia, por su amable colaboración en el reclutamiento de pacientes y en la realización de la pletismografía.

A los pacientes que participaron de forma altruista y desinteresada en el estudio, y se prestaron a ocupar parte de su tiempo para que este proyecto tuviera lugar.

A Carmen Pérez, por ser un referente para mí en lo profesional y por el gran afecto personal que le tengo. Sus consejos y su apoyo moral han sido para mí de gran ayuda durante los años en que se ha forjado esta tesis.

A Benito Salas y Adela Izquierdo, porque sin su constante ayuda y su apoyo logístico no hubiese obtenido el tiempo necesario para la elaboración y desarrollo de este proyecto.

A Belén Salvador y Mercedes Vandendorpe, por haber continuado creyendo que completaría mi periodo pre-doctoral.

A Andrés Salas Vallina, por aportar soluciones a mis problemas informáticos y de edición, por su constante apoyo, por su comprensión y, sobre todo, a mi hija Aitana, por haber cedido tiempo en común para que pudiera dedicarlo en la realización de esta tesis.

1.- INTRODUCCIÓN.....	3
1.1.- CONSIDERACIONES GENERALES	3
1.2. DEFINICION DE TOS CRÓNICA	4
1.3. MORFOMETRÍA DE LA VÍA AÉREA Y VALORES DE RESISTENCIA	5
1.4. HIPERREACTIVIDAD BRONQUIAL.	7
1.5. NEUROFISIOLOGÍA DEL REFLEJO DE LA TOS	13
1.6. CAUSAS DE TOS CRÓNICA	16
1.6.1. <i>Síndrome de tos de vía aérea superior</i>	16
1.6.2. <i>Asma bronquial</i>	18
1.6.3. <i>Reflujo gastroesofágico</i>	18
1.6.4. <i>Bronquitis eosinofílica y tos atópica</i>	19
1.7. TOS CRÓNICA E INFLAMACIÓN	25
1.8. ÓXIDO NÍTRICO EXHALADO E INFLAMACIÓN.....	28
1.8.1. <i>Métodos para la determinación del ENO</i>	32
1.8.2. <i>Factores que modifican la concentración de ENO</i>	34
1.9. VARIABILIDAD DEL FLUJO ESPIRATORIO MÁXIMO.....	37
1.10. PUNTUACIONES DE SÍNTOMAS DE TOS.....	39
1.11. EFICACIA DE LOS CORTICOIDES EN LOS PACIENTES CON TOS CRÓNICA.....	39
1.12. ENO Y RESPUESTA A CORTICOIDES INHALADOS EN PACIENTES CON TOS.....	43
2. HIPÓTESIS DE TRABAJO	50
3. OBJETIVOS	52
4. PACIENTES	53
5. DISEÑO DEL ESTUDIO.....	56
5.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	58
6. MÉTODOS	61
6.1. ESPIROMETRÍA Y PRUEBA BRONCODILATADORA.....	61
6.2. DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA Y LA CONDUCTANCIA	61
6.3. DETERMINACIÓN DE LA RESPUESTA BRONQUIAL A METACOLINA.....	62
6.4. DETERMINACIÓN DE LA RESPUESTA BRONQUIAL A AMP	63
6.5. PRUEBAS CUTÁNEAS CON AEROALÉRGENOS COMUNES EN NUESTRO MEDIO	63
6.6. DETERMINACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO EN EL AIRE EXHALADO.....	64
6.7. DETERMINACIONES DE FLUJO ESPIRATORIO MÁXIMO (FEM):.....	67
6.8. ESCALA ANALÓGICA VISUAL PARA LA TOS	68
6.9. PUNTUACIONES DE SÍNTOMAS	69
7. RESULTADOS.....	70
7.1. UTILIDAD DE LA DETERMINACIÓN DE ENO PARA PREDECIR LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON ESTEROIDES INHALADOS.	70
7.2. DIFERENCIAS EN CARACTERÍSTICAS BASALES Y RESPUESTA AL TRATAMIENTO ENTRE PACIENTES CON ENO NORMAL E INDIVIDUOS CON ENO ELEVADO	73
7.2.1. <i>Punto de corte para ENO de 30 ppb</i>	73
7.2.2. <i>Punto de corte para ENO de 20 ppb</i>	82
7.3. PREVALENCIA DE HIPERRESPUESTA BRONQUIAL A METACOLINA Y A AMP EN PACIENTES CON TOS CRÓNICA.	87
7.4. RELACIÓN ENTRE LA INTENSIDAD DE LA RESPUESTA BRONQUIAL A CADA AGONISTA Y LA VARIABILIDAD CIRCADIANA DEL FEM.	87
7.5. RELACIÓN ENTRE EL ÍNDICE DE REACTIVIDAD Y LA CONCENTRACIÓN DE ENO.....	89
7.6. RELACIÓN ENTRE EL ÍNDICE DE REACTIVIDAD Y LA INTENSIDAD DE LOS SÍNTOMAS DE TOS	89
7.7. DIFERENCIAS ENTRE PACIENTES CON TOS CRÓNICA RESPONDEDORES Y NO RESPONDEDORES AL TRATAMIENTO CON PROPIONATO DE FLUTICASONA INHALADA.....	90

8. DESARROLLO ARGUMENTAL Y DISCUSIÓN	93
9. CONCLUSIONES FINALES.....	114
10. APÉNDICE.....	115
10.1. ÍNDICE DE TABLAS	115
10.2. ÍNDICE DE FIGURAS	116
10.3. ÍNDICE DE ABREVIATURAS EMPLEADAS.....	118
11. BIBLIOGRAFÍA	120

1. INTRODUCCIÓN

GENERAL

1.- INTRODUCCIÓN

1.1.- CONSIDERACIONES GENERALES

La tos crónica es un problema de salud habitual tanto en atención primaria, donde en algunas áreas de Estados Unidos es el motivo de consulta más frecuente¹, como en atención especializada. El síntoma tos tiene una prevalencia estimada del 10 al 30%.²

En un estudio epidemiológico británico reciente³, el 85% de individuos con tos crónica habían consultado a su médico de atención primaria y habían seguido tratamiento por este motivo. El 61% de los individuos habían consultado a uno o más especialistas por su problema de tos, y el 69% de ellos habían sido vistos por un especialista del aparato respiratorio.

En las últimas décadas la entidad tos crónica sigue siendo objeto de interés para los investigadores, pues tanto el número de publicaciones como el de citas muestra un progresivo incremento, como puede observarse en la Figura 1.

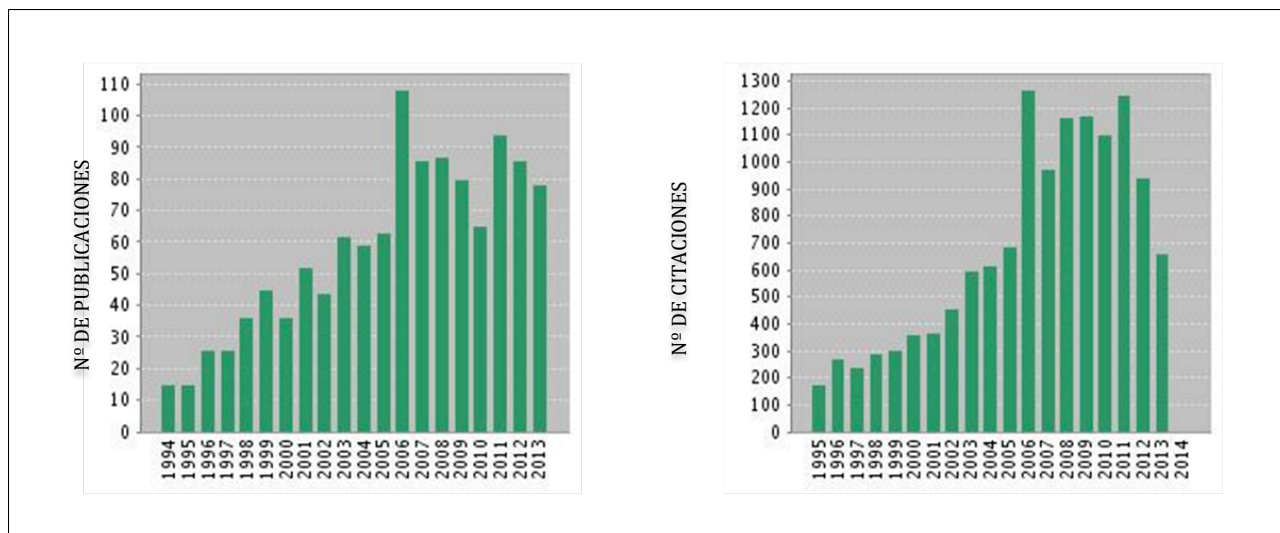


Figura 1. Número de publicaciones y de citaciones en cada año para tos crónica. Fuente ISI Web of knowledge.

1.2. DEFINICION DE TOS CRÓNICA

En primer lugar, puesto que el tema fundamental que nos ocupa es la tos crónica, empezaremos por definir a qué llamamos tos crónica.

No existe una clasificación consensuada para la tos, y durante años este proceso se ha clasificado en tos aguda (aquella que tiene una duración menor de 3 semanas) y tos crónica (aquella que tiene una duración mayor de 3 semanas)⁴.

El American College of Chest Physicians (ACCP)⁵ ha propuesto clasificar la tos en aguda (aquella que dura menos de 3 semanas), sub-aguda o post-infecciosa (duración entre 3 y 8 semanas) y tos crónica (> 8 semanas de evolución). Esta clasificación elimina del diagnóstico de tos crónica a la tos post-infecciosa, que cede en un período máximo de 8 semanas⁶. En el momento actual, se acepta que tos crónica es aquella que tiene una duración igual o mayor de 8 semanas y a esto nos referiremos cuando hablemos más adelante de tos crónica.

1.3. MORFOMETRÍA DE LA VÍA AÉREA Y VALORES DE RESISTENCIA

Los cambios en la morfometría de la vía aérea se relacionan con cambios en la resistencia, la conductancia y la elastancia pulmonar, medibles mediante pletismografía⁷.

La pletismografía basa sus mediciones en la Ley de Boyle, que postula que, bajo condiciones isotérmicas, cuando una masa constante de gas es comprimida y descomprimida, el volumen de gas decrece o aumenta y cambia la presión, puesto que el producto de volumen por presión en cada momento permanece constante⁸.

Así, la pletismografía mide todo el volumen de gas intratorácico. Una vez el volumen absoluto de gas es conocido, los diferentes componentes que lo integran pueden medirse a través de los cambios en el volumen producidos por maniobras respiratorias específicas.

La medición de la resistencia de la vía aérea (R_{aw}) comprende un procedimiento en dos pasos: la medición de la resistencia específica (sR_{aw}) a través del registro del flujo de aire y el volumen pletismográfico durante la respiración a volumen corriente y posteriormente la medición del volumen de gas torácico (thoracic gas volume o TGV) a través del registro del volumen pletismográfico y la correspondiente presión en la boca, mientras el sujeto realiza una respiración a volumen corriente jadeante en contra de un obturador cerrado. La R_{aw} se calcula como la ratio de sR_{aw}/TGV .

Es decir:

$$Raw = \frac{sRaw}{TGV}$$

La sRaw y su recíproca, la conductancia específica (sGaw), son una medida de los efectos de la compresión de la vía aérea sobre el volumen pulmonar. Reflejan de forma global las dimensiones de la vía aérea, incluido el efecto de la expansión pulmonar sobre el calibre de la misma⁹.

Puesto que la sRaw es el producto de la Raw por el TGV, este parámetro no puede discernir si los cambios en sus valores se deben a cambios en uno u otro parámetro. Sin embargo, cualquier aumento en la Raw o en el TGV resulta en un aumento de la sRaw y una sRaw normal es indicativa de que ambos parámetros muestran valores normales. Por tanto, la sRaw es el parámetro más dinámico, como lo muestran estudios realizados comparando sujetos asmáticos y sanos¹⁰.

Los factores de los que dependen los valores de la resistencia y la elastancia pulmonar son los siguientes:

1. Geometría de la vía aérea.
2. Propiedades físicas de la pared de la vía aérea y del gas contenido en la misma.
3. Conectividad del árbol bronquial.
4. Propiedades viscoelásticas del tejido pulmonar.

El aumento de la resistencia y la elastancia con la frecuencia respiratoria puede comprometer la mecánica pulmonar. Además, puesto que las vías periféricas se obstruyen de

forma más precoz que las centrales (por su mayor compliance), y dado que la resistencia y la elastancia son mucho más sensibles a la constricción de la vía aérea periférica, estos datos nos pueden aportar información de forma más precoz que la aportada por las pruebas funcionales respiratorias espirométricas. De este modo, a partir de estos datos de resistencia y elastancia podríamos inferir, al menos teóricamente, el estado estructural de la vía aérea⁷.

1.4. HIPERREACTIVIDAD BRONQUIAL.

La hiperreactividad bronquial (HRB) se define como el incremento de la capacidad de las vías aéreas para disminuir su calibre en respuesta a diferentes estímulos. Estos estímulos pueden incluir mediadores químicos inhalados como la histamina, la metacolina o la adenosina 5'-monofosfato (AMP), estímulos físicos como el ejercicio o la hiperventilación con aire frío/seco y agua destilada nebulizada ultrasónicamente, o alérgenos o sustancias sensibilizantes de bajo peso molecular.

Si el estímulo que produce la reacción es un alérgeno, se le llama estímulo específico. El resto son denominados estímulos inespecíficos.

Entre las sustancias capaces de inducir una disminución del calibre de la vía aérea, existen estímulos broncoconstrictores agonistas directos, como la histamina y la metacolina, e indirectos, como AMP o ejercicio. Esta diferenciación se debe al mecanismo de acción de cada uno de ellos. Los agonistas directos (histamina y metacolina) actúan específicamente sobre receptores específicos localizados en el músculo liso bronquial, mientras que los agonistas indirectos inducen la liberación de mediadores por parte de determinadas células inflamatorias de la vía aérea, los

cuales estimularán a su vez al músculo liso bronquial¹¹. La broncoconstricción inducida por AMP se produce predominantemente de forma indirecta, mediante la estimulación de los receptores A2b para adenosina presentes en los mastocitos, lo que genera la liberación de mediadores broncoconstrictores (histamina, cisteinil-leucotrienos, prostaglandinas) por parte de estas células.

La tabla 1 enumera las ventajas e inconvenientes más importantes de ambos tipos de broncoconstrictores.

Tabla 1. Ventajas e inconvenientes de metacolina y AMP.

Agonista	Ventajas	Inconvenientes
Metacolina	Alta sensibilidad	No identifica a todos los pacientes con AIE.
	Excluye asma sintomática	FEV ₁ debe ser normal
	Aprobada para uso en humanos	Poca especificidad
	Métodos estandarizados.	Maniobras de inhalación profunda disminuyen la sensibilidad
AMP	Provocación dosis-respuesta	No aprobado para uso en humanos
	Correlaciona con eosinófilos en esputo y sangre periférica	Concentraciones muy altas pueden alterar la estabilidad del nebulizador
	Sensible al efecto de las modificaciones de la carga alérgica	Dificultad para solubilizar concentraciones altas
	Sensible al efecto de corticoides inhalados.	

AIE: Asma inducida por el ejercicio.

El hallazgo de hiperrespuesta bronquial frente a un estímulo broncoconstrictor no es diagnóstico de asma, como se creía hace unos años. La obstrucción al flujo aéreo se asocia a respuestas positivas a estímulos agonistas broncoconstrictores directos que reflejan alteraciones de la geometría de la vía aérea y no significan asma¹². Así pues, la hiperrespuesta bronquial es condición sine qua non para el diagnóstico de asma (GINA), pero también está presente en otras

patologías pulmonares como la EPOC¹³, la sarcoidosis¹⁴, la fibrosis quística¹⁵, la insuficiencia ventricular izquierda y la estenosis mitral¹⁶, el pulmón del granjero¹⁷, la eosinofilia tropical¹⁸, la poliposis nasal¹⁹, la rinitis alérgica²⁰, las infecciones respiratorias víricas en individuos sanos²¹ e incluso puede identificarse en individuos sanos asintomáticos²² y sin procesos infecciosos intercurrentes.

En la práctica clínica, la hiperrespuesta bronquial se puede determinar mediante pruebas de provocación por vía inhalada, utilizando diferentes estímulos directos e indirectos. La respuesta se expresa mediante el parámetro PC₂₀, que representa la concentración de agonista que induce un deterioro del FEV₁ del 20% con respecto al valor de FEV₁ basal.

Los métodos directos reflejan la función del músculo liso bronquial (incluido el calibre de la vía aérea) de forma más fiel que la inflamación bronquial¹². A pesar de ello, la presencia y severidad de la hiperrespuesta bronquial a agonistas broncoconstrictores directos como histamina o metacolina se ha correlacionado con el número y estado de activación de las células inflamatorias en la vía aérea^{23,24}.

Chatkin y colaboradores⁴⁵ encontraron que los pacientes con tos crónica e hiperreactividad bronquial a metacolina tenían concentraciones de óxido nítrico en aire exhalado mayores que aquellos sin hiperreactividad bronquial. De manera similar Dupont y colaboradores²⁵ encontraron una correlación significativa entre la hiperreactividad bronquial a un agonista directo, como la histamina, y las concentraciones de óxido nítrico exhalado, en pacientes con asma leve no tratados con corticoides, con parámetros de función pulmonar (FEV₁, FVC) dentro del rango de la normalidad.

En la vida real, los estímulos que inducen broncoconstricción en el asma actúan por mecanismos indirectos, por lo que se ha postulado que los agonistas indirectos podrían reflejar mejor los cambios en el control o en la gravedad del asma¹².

Se ha visto que la hiperrespuesta bronquial a agonistas indirectos como AMP, ofrece una información diferente de la aportada por los agonistas broncoconstrictores directos, sobre todo en cuanto a que es capaz de detectar con mayor sensibilidad modificaciones de la intensidad de la inflamación²⁶, así como de su respuesta a los esteroides inhalados^{27,28}. Esta mayor capacidad de AMP para identificar cambios en el grado de inflamación bronquial se deriva del mecanismo que genera la broncoconstricción en respuesta a este agonista. Como se ha indicado previamente, AMP induce broncoconstricción mediante la estimulación directa de células inflamatorias (mastocitos y basófilos) con la consiguiente liberación de mediadores por parte de las mismas.

Uno de los argumentos fundamentales para sustentar la asociación entre la intensidad de la hiperrespuesta bronquial a AMP y el grado de inflamación ha sido la significativa relación entre las modificaciones de estos dos parámetros inducidas por la exposición alérgica o por el tratamiento antiinflamatorio^{29,30,31}. Por ejemplo, Benckhuijsen y colaboradores demostraron que la respuesta a AMP -pero no la respuesta a metacolina- mejoraba al cabo de un período de un mes de evitación alérgica³².

En contraste con la metacolina, la respuesta a AMP se asocia con los marcadores indirectos de inflamación bronquial, como óxido nítrico en aire exhalado (ENO), eosinofilia periférica y en esputo, proteína catiónica del eosinófilo (ECP)^{33,34} y aumento de histamina en plasma y en lavado broncoalveolar^{35,36}. Además, Polosa³⁷ y colaboradores mostraron que, en pacientes con rinitis alérgica, la eosinofilia en esputo se correlacionaba con la hiperreactividad bronquial (HRB) a AMP pero no con la hiperreactividad bronquial a metacolina. Esto sugiere que, al menos en pacientes

con rinitis alérgica, la respuesta a AMP se relaciona más estrechamente con la inflamación bronquial que la respuesta a metacolina.

Van den Toorn y colaboradores³⁴ hallaron valores de ENO elevados y una mayor hiperrespuesta bronquial a agentes broncoconstrictores directos e indirectos en sujetos con asma en remisión, comparado con controles sanos. En cambio, al analizar los resultados de acuerdo con los valores de PD₂₀ (dosis de agonista broncoconstrictor capaz de inducir una caída del FEV₁ del 20% con respecto al valor basal), los valores de ENO se correlacionaban significativamente con la PD₂₀ AMP, pero no con la PD₂₀ metacolina.

Prieto y colaboradores³⁸, en un estudio realizado en asmáticos monosensibilizados a polen de parietaria, encontraron resultados similares, puesto que los valores de ENO en este grupo de pacientes se correlacionaban con la respuesta a AMP de forma significativa, pero no con la respuesta a metacolina.

En cuanto a la función pulmonar, las respuestas más intensas a AMP han demostrado estar asociadas con una mayor variabilidad de flujo espiratorio máximo (FEM) y una mayor puntuación de los síntomas, mientras que el tratamiento antiinflamatorio reducía la HRB a AMP en pacientes con asma en mayor medida que la HRB a la metacolina^{25, 39}. También se ha observado que los corticoides inhalados inducen una mejoría más notable y duradera de la respuesta a AMP que de la respuesta a metacolina^{40,41} en asmáticos.

En línea con estos hallazgos, De Meer⁴² y colaboradores, al estudiar los determinantes de la respuesta a metacolina y AMP en una población de adultos jóvenes (la mayoría asintomáticos), encontraron que la PD₁₅ metacolina (dosis de metacolina que induce un deterioro del FEV₁ del

15% respecto al FEV₁ basal) se asociaba con un FEV₁ basal más bajo, pero no con la sensibilización a alérgenos. Por el contrario, la PD₁₅ AMP se asociaba con síntomas de rinitis y conjuntivitis alérgica y asma alérgica, así como con sensibilización alérgica y eosinofilia, mientras que no se asociaba con un menor nivel de función pulmonar basal. Estos resultados se han confirmado en un estudio realizado en escolares con asma⁴³. En un grupo de 120 pacientes con asma leve a moderada, Van Den Berge⁴⁴ y colaboradores encontraron una correlación inversa entre el porcentaje de eosinófilos en esputo y tanto la PC₂₀ metacolina como la PC₂₀ AMP. No obstante, el FEV₁ (% del teórico) fue el factor más importante para la intensidad de la respuesta a metacolina y, aunque este factor influía también significativamente sobre la PC₂₀ AMP, la mayor contribución a la intensidad del valor de PC₂₀ AMP se derivó del porcentaje de eosinófilos en esputo, reflejo una vez más de la relación más estrecha entre la inflamación en la vía aérea y la respuesta a AMP. En cambio, otros parámetros de inflamación de la vía aérea como el ENO no se correlacionaron en este estudio ni con la respuesta a AMP ni con la respuesta a metacolina.

Existen estudios que relacionan el síntoma tos crónica (como manifestación sobre todo de un asma bronquial) con la presencia de hiperreactividad bronquial, especialmente a agonistas directos¹²⁸. Algunos autores han encontrado, en este grupo de pacientes, unas concentraciones de óxido nítrico en aire exhalado elevadas⁴⁵ y estos niveles se correlacionaban con la presencia de eosinofilia en la vía aérea, medida en muestras de esputo o de lavado broncoalveolar^{46,47}. Por este motivo se ha postulado que quizá la determinación de óxido nítrico en aire exhalado pudiera identificar a aquellos pacientes que presentan eosinofilia bronquial, sin necesidad de someterlos a una inducción de esputo, que es una técnica más laboriosa y difícil de realizar en la práctica clínica de rutina.

1.5. NEUROFISIOLOGÍA DEL REFLEJO DE LA TOS

Se han realizado numerosos estudios en animales con el fin de dilucidar la anatomía y neurofisiología del reflejo de la tos⁴⁸. Los resultados de estos estudios proporcionan evidencias que sugieren que el reflejo de la tos está mediado por fibras C (que pueden actuar como activadoras o inhibidoras del reflejo de la tos) y receptores rápidamente adaptables (RARs) que conducen la información al sistema nervioso central mediante nervios aferentes vagales. Existen evidencias de un 'receptor de la tos' diferente a los anteriormente mencionados, que podría jugar un importante papel regulador en este reflejo, aunque todavía no se ha identificado definitivamente.

Los nervios aferentes vagales que inervan otras vísceras, así como los nervios somatosensoriales que inervan la pared torácica, el diafragma y la musculatura abdominal pueden jugar un papel accesorio importante en la regulación de la tos.

Además existe una modulación extrapulmonar conocida de este reflejo a nivel del esófago, la faringe, el oído (reflejo de Arnold), así como un alto control cortical del reflejo, evidenciado por la capacidad para anularlo voluntariamente o con el uso de anestésicos locales o generales. En las figuras 2 y 3 se observa el esquema de este reflejo.

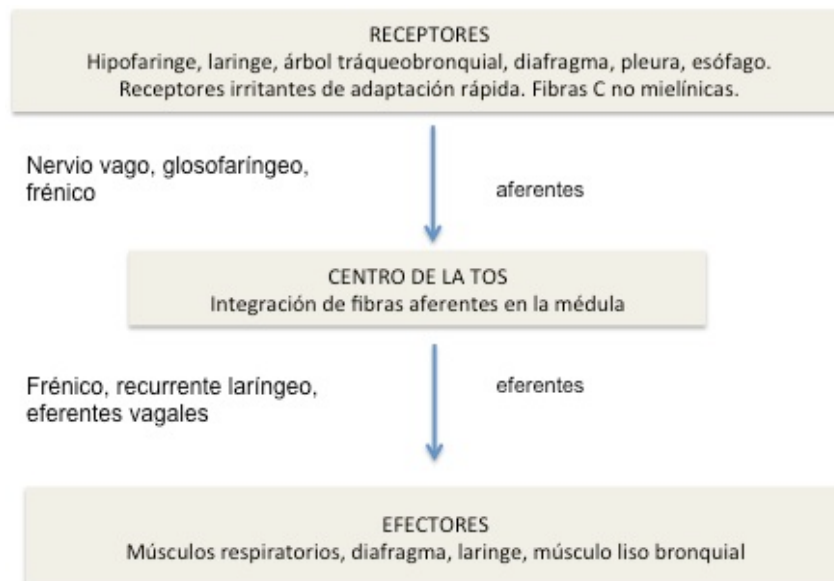


Figura 2. Esquema del reflejo de la tos.

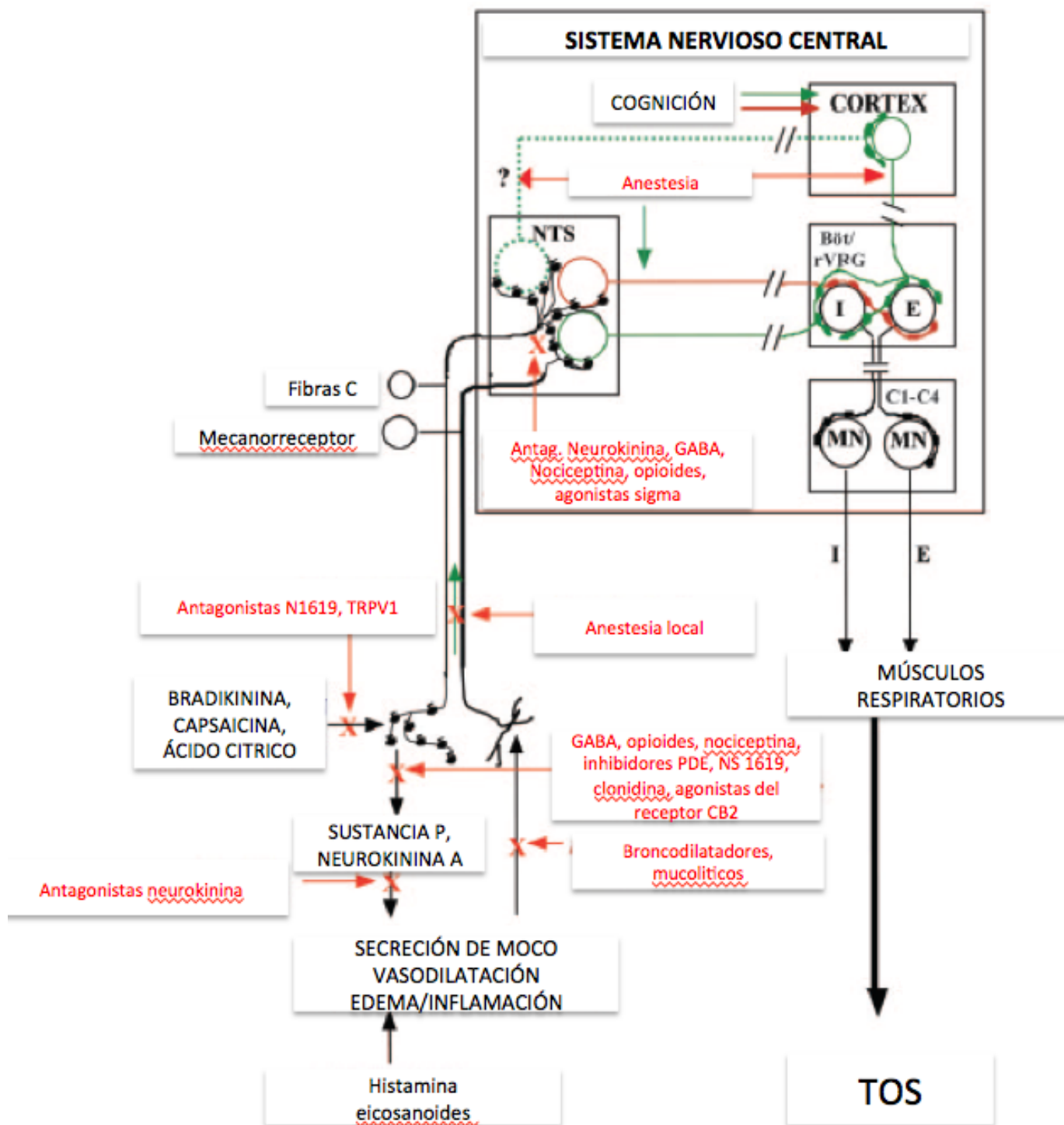


Figura 3. Interacciones y potenciales acciones de los nervios aferentes vagales que median el reflejo de la tos. Probablemente los mecanorreceptores y las fibras C sensibles a capsaicina jueguen un importante papel como reguladores de este reflejo. Las fibras C podrían iniciar el reflejo de la tos de forma secundaria a la activación de Receptores Rápidamente Adaptables (RARs) dependiente del reflejo axonal, así como actuando de forma sinérgica con RARs u otros nervios aferentes a nivel central. Aparentemente la tos mediada por fibras C es muy sensible a la acción de la anestesia general y no el reflejo mediado por activación de RARs. En efecto, es la activación de las fibras C durante el proceso anestésico lo que inhibe los reflejos iniciados por activación de RAR. Las líneas cortadas indican las vías potenciales y los mecanismos regulatorios de la tos para los que existen evidencias limitadas. Los caracteres en rojo indican potenciales

sitios de acción para los agentes antitusígenos. En verde se señalan las vías activadoras del reflejo de la tos. Las vías inhibitoras se destacan en rojo. Böt/rVRC=Bötzing complex/pre-Bötzing complex/ grupo rostral ventral respiratorio; C1-C4 = médula espinal cervical ; CB=cannabinoide; E= relacionado con la expiración; GABA= Ácido gamma-aminobutirico; I= relacionado con la inspiración; MN= motoneurona; PDE= fosfodiesterasa (vg teofilina). Tomado de *BJ Canning. Chest 2006; 129: 36-47*

1.6. CAUSAS DE TOS CRÓNICA

Desde que en 1977 Irwin et al⁴⁹ propusieran un protocolo para el diagnóstico de tos crónica, basado en las localizaciones anatómicas de los receptores y vías aferentes del reflejo de la tos, muchos autores han asumido este protocolo⁵⁰, con ligeras variaciones.

En el momento actual se acepta que el 95% de casos de tos crónica en pacientes no fumadores, inmunocompetentes, con radiografía de tórax normal y que no siguen tratamiento con inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECAs), son debidos a una o varias de estas tres causas:

- Goteo postnasal de secreciones (llamado síndrome de tos de vía aérea superior⁵¹).
- Asma bronquial (en su forma clásica y tos equivalente de asma).
- Reflujo gastroesofágico.

1.6.1. Síndrome de tos de vía aérea superior

En la mayoría de estudios publicados, la causa más frecuente de tos crónica ha sido el goteo post-nasal o síndrome de tos de vía aérea superior (sola o en combinación)⁵¹. Podemos

encontrar estas alteraciones en pacientes con patología rinosinusal alérgica o no alérgica y en individuos sanos. Los criterios clínicos propuestos para sospechar la presencia de goteo posterior han sido la sensación de mucosidad faríngea, carraspeo, rinorrea y aspecto “empedrado” de la mucosa orofaríngea^{2, 52, 53, 54}.

Sin embargo, no existen características patognomónicas o específicas de esta entidad, y no se ha podido establecer una relación causal entre la tos y el goteo posterior. Se cree que el mecanismo reside en la estimulación del reflejo de la tos en la hipofaringe.

Si existe una causa aparente, debe tratarse. Algunos autores⁵⁴ ante la sospecha de síndrome de tos de vía aérea superior proponen el tratamiento empírico con antihistamínicos de primera generación asociados a un descongestivo nasal (pseudoefedrina), siendo la respuesta al mismo diagnóstica. Si la clínica persiste, se recomienda la administración de un esteroide tópico nasal. Si no hay respuesta, las guías americanas aconsejan realizar radiografía de senos para descartar patología sinusal paucisintomática, aunque su utilidad se restringe a los casos con sinusitis aguda que pueden beneficiarse de tratamiento antibiótico⁵⁵. En cambio, las recomendaciones europeas indican que la radiografía de senos no tiene ninguna utilidad, puesto que tiene un alto índice de falsos positivos y negativos. Si existe sospecha clínica de sinusitis aguda, debe tratarse. La prueba de imagen indicada sería la realización de una tomografía computarizada de los senos paranasales, pero se indicará en el caso de que el paciente presente signos o síntomas unilaterales o sugestivos de complicación⁵⁶.

1.6.2. Asma bronquial

Siempre se debe considerar la presencia de asma en pacientes con tos crónica, dada su frecuente asociación. Para su diagnóstico se utiliza el mismo algoritmo que en el caso de los pacientes con asma clásica, esto es, espirometría con prueba broncodilatadora y, si no resulta concluyente, confirmar la presencia de hiperreactividad bronquial a agonistas broncoconstrictores directos, como la histamina o la metacolina^{2,57}.

No obstante, existen evidencias de que no todos los pacientes con tos e hiperreactividad bronquial tienen asma^{11,10}, por lo que este diagnóstico sólo se aceptará tras observar una respuesta favorable al tratamiento con broncodilatadores solos o asociados a esteroides inhalados.

Recientemente la Guía Española para el Manejo del Asma (GEMA, 2009) ha propuesto que la identificación de concentraciones de óxido nítrico exhalado superiores a 35 ppb puede apoyar el diagnóstico de asma. Sin embargo, esta afirmación no tiene soporte experimental alguno y ha servido para realizar algunos falsos diagnósticos de asma.

1.6.3. Reflujo gastroesofágico.

El reflujo gastroesofágico es responsable de los síntomas de tos hasta en un 40% de los adultos con tos crónica⁵⁸, siendo en muchas ocasiones la única manifestación de la enfermedad digestiva.

La tos debida a enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) es de carácter no productivo y, al contrario de lo que podría suponerse, tiende a presentarse más durante el día y en la posición erecta⁵⁹.

Se cree que la sintomatología se produce como consecuencia de microaspiraciones del contenido gástrico a la vía aérea, o mediante reflejo vagal a nivel esófago-traqueo-bronquial (el esófago y la tráquea tienen un origen embrionario común y ambos tienen inervación vagal).

Para el diagnóstico de reflujo gastroesofágico en el momento actual se prefiere el esofagograma con bario, la monitorización del pH esofágico ambulatoria, la endoscopia digestiva alta o la medición combinada de pH e impedancia esofágica⁶⁰.

La respuesta al tratamiento es también diagnóstica en los casos de tos por reflujo gastroesofágico⁶¹, aunque en ocasiones en estos casos el tratamiento médico intensivo no resuelve el problema y debe establecerse un tratamiento quirúrgico, incluso en pacientes con escasa o nula sintomatología de reflujo y tos persistente⁶².

1.6.4. Bronquitis eosinofílica y tos atópica

Según las guías de práctica clínica del American College of Chest Physicians, otra de las causas frecuentes de tos, que debiera tenerse en cuenta ante un paciente con tos crónica, es la bronquitis eosinofílica⁵⁰.

La bronquitis eosinofílica sin asma como causa de tos crónica se describió por primera vez por Gibson y colaboradores⁶³ en 1989. Los resultados de los estudios revelan que esta entidad puede explicar entre el 10% y 15% de los casos de tos crónica⁶⁴.

Se caracteriza por tos crónica en individuos sin otros síntomas ni evidencia objetiva de obstrucción al flujo aéreo reversible y sin hiperreactividad bronquial a metacolina. La eosinofilia en el esputo es el hallazgo característico. Algunos autores consideran que se puede hacer el diagnóstico de bronquitis eosinofílica cuando el porcentaje de eosinófilos en esputo es superior al 3% (considerándose valores normales aquellos por debajo de 1.9%)⁶⁶. Además, este nivel de eosinofilia se asocia con una buena respuesta a los esteroides en sujetos con asma y bronquitis eosinofílica^{65,66}.

El hallazgo de inflamación bronquial eosinofílica es frecuente en pacientes con tos crónica que posteriormente serán diagnosticados como tos equivalente de asma, bronquitis eosinofílica sin asma o tos atópica⁶⁷.

La tos atópica fue descrita inicialmente por Fujimura y colaboradores⁶⁸ en 1992. Hasta el 80% de los casos tenían inflamación eosinofílica en la vía aérea, demostrada mediante lavado broncoalveolar (BAL), esputo inducido o biopsia. Las características patológicas de esta entidad incluyen la presencia de traqueobronquitis eosinofílica sin eosinofilia en lavado broncoalveolar (BAL) y sus características fisiológicas incluyen la existencia de hipersensibilidad del reflejo de la tos sin hiperreactividad bronquial.

Los criterios diagnósticos de tos atópica propuestos por la Japanese Cough Research Society son los siguientes⁶⁹:

- Tos no productiva de más de 8 semanas de evolución sin sibilantes ni disnea.
- Presencia de uno o más hallazgos indicativos de atopia, incluyendo antecedentes personales o complicaciones de enfermedades alérgicas excepto asma, eosinofilia periférica mayor del 6% o mayor de 400 eosinófilos/ μ l, IgE total sérica mayor de 200 UI/ml,

pruebas cutáneas positivas frente a aeroalérgenos, IgE específica positiva frente a aeroalérgenos y/o eosinofilia en esputo inducido >2,5%.

- Ausencia de reversibilidad bronquial, definida como un aumento en el FEV₁ menor del 10% tras la inhalación de 300µg de salbutamol o la perfusión intravenosa de 250 mg de aminofilina.
- Reactividad bronquial en límites normales (PC₂₀ metacolina >10 mg/ml).
- Aumento de la sensibilidad del receptor de la tos (concentración de capsaicina que produce 5 o más toses (C₅) <3,9 µmoles).
- Resistencia al tratamiento con broncodilatadores (clenbuterol oral 40 µg/día más procatamol inhalado o salbutamol por la noche y a demanda durante más de una semana).
- Radiografía de tórax sin hallazgos patológicos.
- Normalidad (valores >80% del teórico) para el FEV₁ y FVC, así como FEV₁/FVC >70%.

El tratamiento con corticoides y antihistamínicos es efectivo en estos pacientes. La tos atópica es un fenómeno más prevalente en Japón, donde los trastornos por RGE y goteo post-nasal son mucho menos frecuentes que en los países occidentales⁷¹. Estos criterios diagnósticos son, al menos en parte, difíciles de asumir en la práctica clínica en Europa.

Diversos estudios que evaluaron la existencia de eosinofilia bronquial utilizando el diagnóstico anatómico de la tos encontraron eosinofilia bronquial en pacientes con tos equivalente de asma, rinitis alérgica y reflujo gastroesofágico^{70,71}. Por todo ello, algunos autores afirman que parece probable que la evaluación del esputo inducido podría incluirse en el protocolo de diagnóstico anatómico de la tos crónica tras descartar la presencia de obstrucción variable al flujo aéreo⁷².

Sería interesante evaluar la utilidad de la medición de ENO en este tipo de pacientes por ser una evaluación más sencilla y rápida que el esputo inducido. En este sentido, algunos estudios muestran que los pacientes con tos inducida por asma o bronquitis eosinofílica tienen valores de ENO significativamente mayores que los encontrados en pacientes con otras causas de tos, con lo que la obtención de valores de ENO bajos podría excluir del algoritmo diagnóstico estas dos etiologías⁷³.

Recientemente algunos autores⁷⁴ especularon sobre una etiología multifactorial de la tos, en la que la 'sensibilización del reflejo de la tos', es decir, aquella condición en la que el reflejo de la tos es más fácilmente inducible, sería uno de los mecanismos causales fundamentales. Los estímulos que inducen esta 'sensibilización' incluyen las mismas patologías propuestas para el diagnóstico anatómico de la tos, a las que se sumarían el contacto con irritantes, agentes infecciosos y alérgenos, capaces de estimular las neuronas aferentes y disminuir la intensidad umbral del estímulo para inducir tos o perpetuar el reflejo ante estímulos de intensidad constante.

En esta línea, Morice⁷⁵ habla de un 'Síndrome de hipersensibilidad de la tos' que englobaría a todos los tipos de tos crónica independientemente de la causa de la misma, que se entenderían como diferentes expresiones fenotípicas de este síndrome.

El American College of Chest Physicians⁷⁶ ha propuesto un algoritmo diagnóstico-terapéutico para pacientes mayores de 15 años, inmunocompetentes, con tos crónica definida como aquella de más de 8 semanas de evolución. Este algoritmo se detalla en la figura 4.

Los autores que han propuesto estos protocolos han objetivado que el 95% de los pacientes mejoran clínicamente. No obstante, estas recomendaciones son empíricas y no han sido validadas

mediante estudios doble-ciego controlados con placebo, por lo que no están plenamente establecidas.

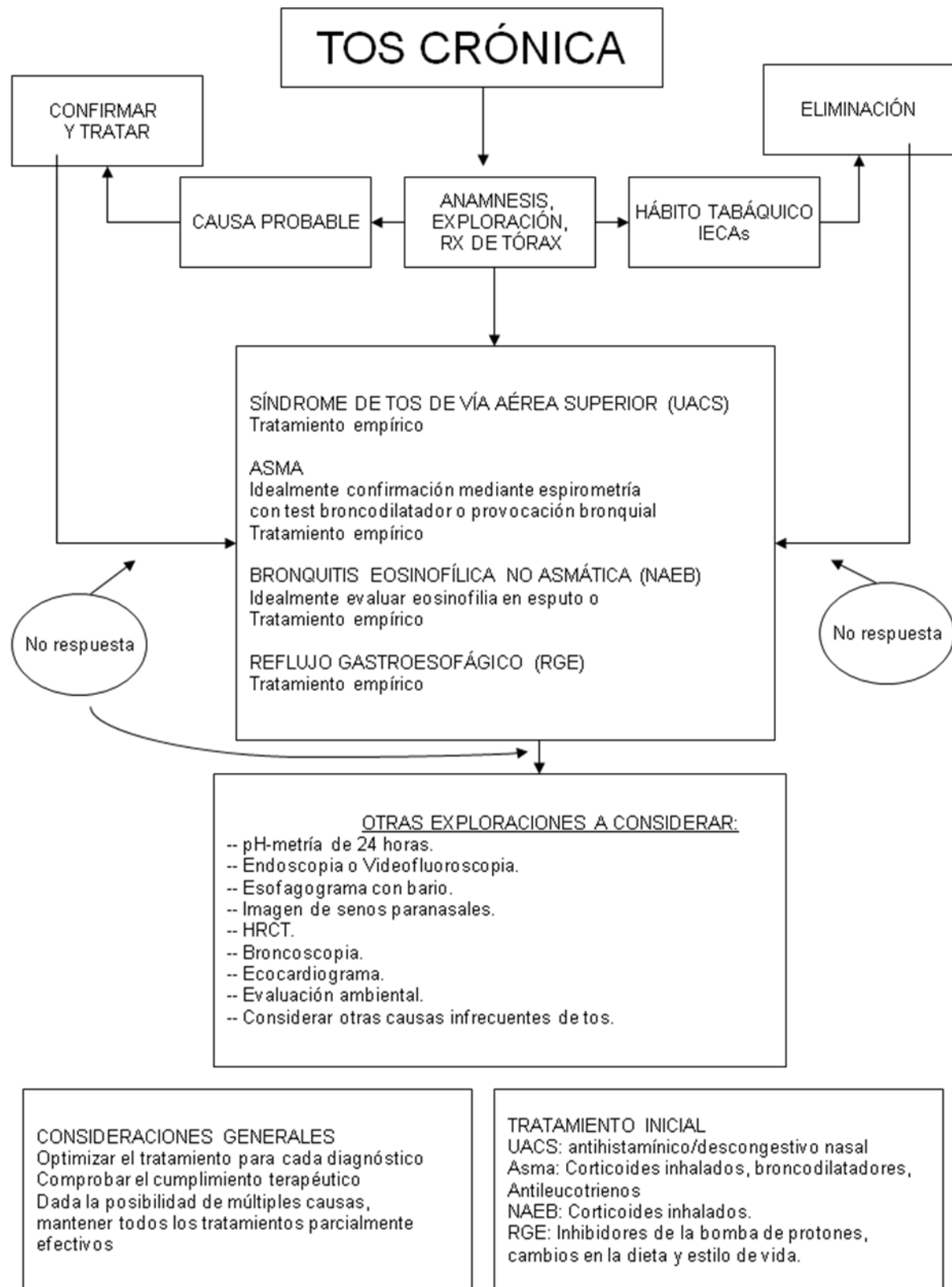


Figura 4. Algoritmo diagnóstico-terapéutico de la tos crónica.

1.7. TOS CRÓNICA E INFLAMACIÓN

Con estos antecedentes nos podemos plantear, ¿es la tos un mero reflejo mecánico o por el contrario podríamos entender la tos como un síntoma de diferentes entidades en las que subyace como sustrato común la inflamación de la vía aérea? Y si es así, ¿qué tipo de inflamación de la vía aérea es capaz de inducir el síntoma tos?.

En los últimos años algunos autores han planteado que la tos crónica en efecto se asocia con la presencia de inflamación bronquial. Así, Lee y colaboradores⁷⁷ encontraron, en 25 pacientes afectos de tos crónica sin una etiología conocida, inflamación bronquial eosinofílica o linfocitaria, identificada mediante broncoscopia y biopsia bronquial. Aquellos pacientes con inflamación eosinofílica fueron sometidos a una prueba de provocación bronquial con metacolina y los pacientes con hiperreactividad bronquial a este agente fueron diagnosticados de tos equivalente de asma, mientras que aquellos que no mostraron hiperrespuesta bronquial se etiquetaron de bronquitis eosinofílica. En aquellos pacientes con infiltrado linfocitario se concluyó que el diagnóstico era bronquitis linfocítica. Así pues, en este caso todos los pacientes con tos tenían una inflamación bronquial, que podría clasificarse según el tipo de célula predominante.

Birring y colaboradores⁷⁸ encontraron que los síndromes de tos crónica se asociaban a un incremento en las concentraciones de mediadores de mastocitos como histamina, prostaglandinas y cisteinil-leucotrienos, en las muestras de esputo inducido. En este estudio se analizaron muestras de esputo de pacientes con tos crónica idiopática, tos equivalente de asma, bronquitis eosinofílica y tos crónica no asmática, comparándolas con las obtenidas en un grupo control de sujetos sanos. Todos los grupos de pacientes con tos mostraron niveles de mediadores inflamatorios significativamente mayores que el grupo control, por lo que los autores concluyeron

que debía existir un sustrato inflamatorio común en los pacientes afectos de tos crónica, independientemente de la etiología de la misma.

Para dilucidar la importancia de la inflamación en el síntoma tos y la respuesta a tratamientos antiinflamatorios (clínica y parámetros de laboratorio) Chaudhuri y colaboradores⁷⁹ realizaron un estudio doble-ciego, cruzado con fluticasona 500 µg cada 12 horas versus placebo, durante 14 días, en pacientes con tos crónica. Identificaron la respuesta clínica mediante la mejoría en las pruebas de hiperreactividad bronquial con metacolina, en la función pulmonar y en los marcadores de inflamación en esputo inducido y en aire exhalado (ENO). Encontraron que, tras el tratamiento con fluticasona, los valores de proteína catiónica del eosinófilo (ECP) en esputo, ENO y monóxido de carbono (CO) disminuían significativamente, pero no se hallaron reducciones significativas en otros marcadores de inflamación en esputo [cisteinil-leucotrienos (Cys-LTs), leucotrieno B4 (LTB4), prostaglandina E2 (PGE2), interleuquina 8 (IL-8), factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), mieloperoxidasa (MPO)]. El número de eosinófilos y los valores de IL-8 en esputo sí que disminuyeron en los pacientes asmáticos y en los sujetos con bronquiectasias, respectivamente.

Los parámetros que predecían una buena respuesta al tratamiento con fluticasona fueron los niveles elevados de ENO, así como los valores altos de eosinófilos, ECP y Cys-LTs en esputo.

Otros autores, como McGarvey y colaboradores⁸⁰ argumentan que los cambios inflamatorios observados en la vía aérea de pacientes con tos crónica son secundarios al trauma producido por la tos, con lo que la inflamación identificada en este proceso sería una consecuencia y no una causa de tos.

En este sentido, Irwin y cols⁸¹ realizaron un estudio en pacientes con tos crónica de causa diversa (idiopática, producida por enfermedades pulmonares y extrapulmonares), y compararon

los hallazgos histopatológicos en estos tres grupos de pacientes con los obtenidos en un grupo de individuos sin tos. Encontraron que el trauma producido por la tos podía inducir cambios inflamatorios similares a los producidos por enfermedades que causan tos crónica y estos cambios no aportaban información suficiente para identificar la causa subyacente.

Numerosos estudios avalan la presencia de inflamación en las patologías que se han descrito como causas más frecuentes de tos crónica. En procesos como el asma clásica, la tos equivalente de asma y la bronquitis eosinofílica, se han hallado cambios estructurales en muestras de biopsia bronquial, como infiltrados de células inflamatorias, edema de la submucosa, engrosamiento de la membrana basal, hiperplasia de células y glándulas submucosas, hiperplasia e hipertrofia de la musculatura lisa bronquial, proliferación vascular y engrosamiento de la pared bronquial^{82,83,84,85,86}.

En la tos crónica sin asma se ha observado un infiltrado mononuclear, sin fibrosis submucosa asociada, aunque en el lavado broncoalveolar se ha encontrado aumento de los niveles de histamina y del número de mastocitos y eosinófilos^{87, 79}.

En un estudio publicado en el año 2005 se compararon muestras de biopsia bronquial de pacientes con tos crónica (con y sin hiperreactividad bronquial) y de individuos sanos sin tos. Estos autores encontraron que, en la tos crónica sin etiología asmática, había un aumento de mastocitos en la submucosa, pero no de eosinófilos ni neutrófilos. En los dos grupos de pacientes con tos crónica (asmáticos o no), existían evidencias de remodelado de la vía aérea con hiperplasia de células, fibrosis subepitelial y aumento de la vascularización. En cambio, se encontró un aumento en el área de músculo liso bronquial únicamente en los pacientes con tos crónica no asmática⁸⁸.

1. 8. ÓXIDO NÍTRICO EXHALADO E INFLAMACIÓN

En la última década, los esfuerzos de muchos autores se han dirigido a obtener métodos no invasivos para evaluar la inflamación de la vía aérea, que permitan el diagnóstico y manejo de enfermedades claramente asociadas con inflamación bronquial como son el asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y quizás la tos crónica.

Se han publicado numerosos estudios con diferentes marcadores en aire exhalado, en condensado de aire exhalado y en esputo inducido, pero el marcador que ofrece en el momento actual mayores perspectivas es la determinación de óxido nítrico en el aire exhalado.

El óxido nítrico (NO) es una molécula ubicua en el organismo, que actúa como mensajero de múltiples funciones biológicas⁸⁹. Es extremadamente lipofílica y difunde con rapidez a través de las membranas por un gradiente de concentración.

En 1991, Gustafsson y colaboradores⁹⁰ identificaron este marcador en el aire exhalado y posteriormente diversos estudios han demostrado que sus niveles estaban incrementados en el asma⁹¹. Además, estos niveles aumentaban durante las exacerbaciones asmáticas y disminuían tras el tratamiento con corticoides inhalados^{92,93}.

El NO endógeno se genera a partir de la L-arginina, en una reacción oxígeno y nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH)-dependiente, mediante la acción de la enzima sintasa del óxido nítrico (NOS). Esta enzima tiene tres isoformas: una inducible y dos constitutivas. Las enzimas constitutivas son la NOS I o neuronal y la NOS III o endotelial, que se expresan fundamentalmente en las neuronas y el endotelio respectivamente y tienen escasa participación

en la génesis del óxido nítrico que podemos encontrar en la vía aérea. En cambio, la NOS II o inducible es la enzima predominante en el aparato respiratorio. Su activación está regulada por fenómenos inflamatorios (citocinas, infecciones víricas, quimiocinas, alérgenos, endotoxinas...). Habitualmente es sensible al tratamiento con corticoides y su producción está significativamente aumentada en el asma sin tratamiento corticoideo⁹⁴.

Existe una vía alternativa no enzimática de producción de NO en la vía aérea que es pH-dependiente, en la que a partir de los S- nitrosotioles se produce NO a través de la protonación del nitrito, para la formación de nitroso a pH ácido. Esta vía parece estar implicada en los episodios agudos de asma, cuando el pH bronquial desciende⁹⁵(Figura 5).

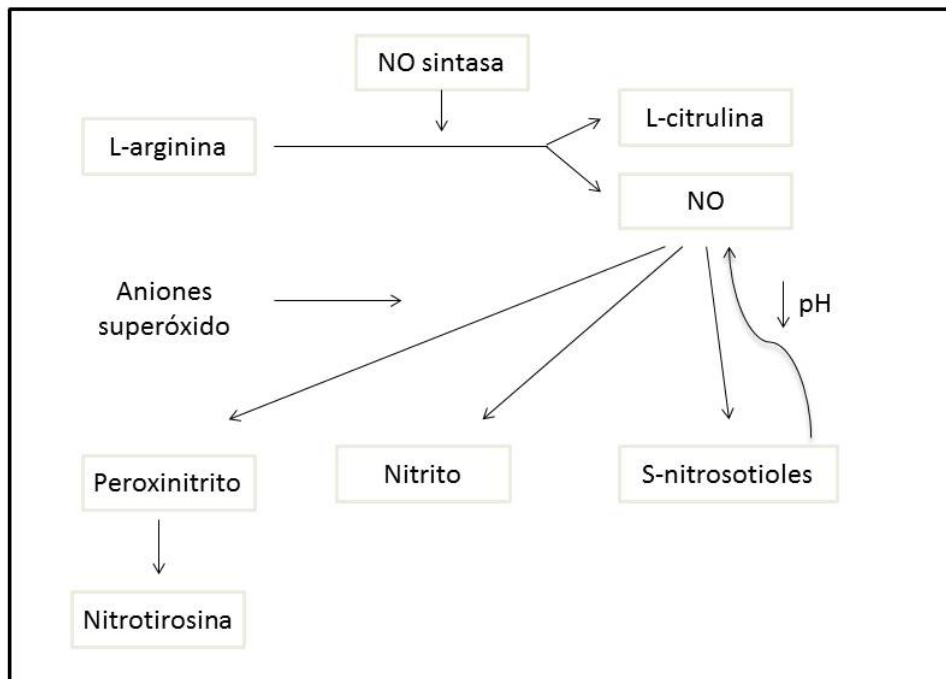


Figura 5. Producción de óxido nítrico. Modificada de Prieto⁹⁶

El NO se produce a lo largo de todo el aparato respiratorio, desde la nariz hasta los alvéolos. La concentración de NO en muestras de tráquea y bronquios principales y en cavidad bucal es muy similar, lo cual indica que una fracción de este NO exhalado proviene de las vías aéreas inferiores^{97,98}. La producción de NO de la mucosa nasal y senos paranasales es unas cien veces superior a la de las vías aéreas inferiores^{99,100}, por lo que es necesario, a la hora de medir el ENO, evitar la contaminación por NO nasal.

Para conocer la contribución relativa del árbol bronquial y del parénquima pulmonar a las concentraciones totales de ENO, se ha desarrollado un modelo bicompartimental^{101,102,103}, en el que el primer compartimento sería el alveolar y el segundo el bronquial (figura 6).

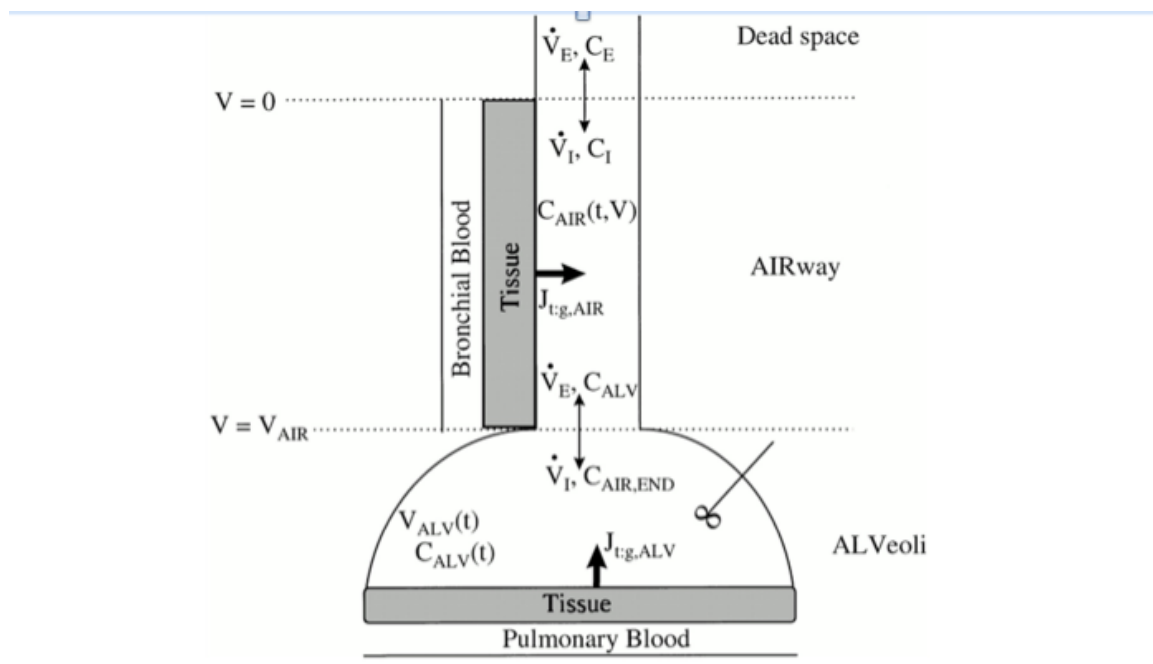


Figura 6. Esquema de modelo bicompartmental de intercambio de NO. El primer compartimento representa la vía aérea relativamente no expansible; el segundo representa los alvéolos. Cada compartimento contacta con tejido capaz de producir y consumir NO. En la parte externa de este tejido se encuentran los vasos sanguíneos de la circulación bronquial y pulmonares. V_E y V_I representan los flujos espiratorio e inspiratorio respectivamente; C_E y C_I , la concentración espiratoria e inspiratoria, respectivamente; C_{AIR} y C_{ALV} son la concentración en la vía aérea y en el alvéolo, respectivamente; V_{AIR} y V_{ALV} son el volumen en la vía aérea y en el alvéolo; $J_{t:g,AIR}$ y $J_{t:g,ALV}$, el flujo total de NO desde la pared bronquial y desde la pared alveolar, respectivamente; t es el tiempo; V el volumen. *Tomado de Tsoukias NM, George SC. J Appl Physiol 1998; 85:653-666.*

El NO en el aire alveolar es constante y con un valor bajo, debido a la gran reactividad del NO con la hemoglobina del lecho capilar pulmonar. En la luz de la vía aérea, la concentración de NO aumenta progresivamente conforme aumenta la distancia al alveolo, debido a la difusión del NO a través de la pared bronquial. Esta difusión se realiza, de acuerdo con la ley de Fick, por diferencia de gradiente entre la concentración de NO de la pared y en la luz bronquial. Así, en cada punto de la luz bronquial la concentración del NO en el aire exhalado depende del flujo de

aire desde el alveolo al punto en cuestión y de la capacidad de difusión del NO desde la pared bronquial hacia la luz. De esta manera, el valor final del NO en aire exhalado resulta de la suma del transporte longitudinal más la difusión lateral de NO a lo largo del tubo bronquial.

La difusión de NO (dNO) depende de la concentración de NO en la pared bronquial (C_w), resultado del equilibrio entre su producción y su eliminación. Por otra parte, es importante tener en cuenta que la velocidad del flujo de exhalación determinará qué compartimento contribuye más a la concentración de NO final. De este modo, flujos espiratorios altos (250 ml/s) reducen el tiempo de difusión de NO hacia la columna de aire, con lo que predominará el NO alveolar. En cambio, flujos menores aumentan el tiempo de difusión de NO, con lo que el NO resultante será principalmente el originado en los bronquios.

Además, la capacidad de difusión de NO (dNO) está influenciada por el grosor de la pared bronquial y la superficie de difusión, de manera que disminuciones en la superficie de difusión deberían disminuir la capacidad de difusión, como ocurre durante la broncoconstricción inducida por agonistas broncoconstrictores¹⁰⁴. Por el contrario, aumentos en la superficie de difusión, como los que tienen lugar en el asma, donde la inflamación se extiende hasta las vías aéreas pequeñas, producen un incremento en la misma.

1.8.1. Métodos para la determinación del ENO

La determinación del óxido nítrico exhalado (ENO) se realiza mediante trazadores de quimioluminiscencia y para ello se han postulado dos métodos: el método on line, en el que la concentración de ENO se determina directamente en tiempo real y el método off line, en el que el aire exhalado es almacenado para su posterior análisis.

En el método on line, el paciente inhala aire libre de NO hasta capacidad pulmonar total y posteriormente realiza una espiración a un flujo constante hasta alcanzar un *plateau*, momento en el que se realiza la determinación de NO.

Los fundamentos teóricos, las características de los equipos y la metodología de cada uno de los métodos pueden encontrarse en las normativas de la European Respiratory Society¹⁰⁵ y de la American Thoracic Society¹⁰⁶. La principal diferencia entre ambas normativas estriba en que mientras la normativa europea recomienda flujos espiratorios de 167 a 250 ml/s, la americana recomienda flujos de 45 a 50 ml/s. Dado que la tasa de flujo influye decisivamente en los valores de ENO obtenidos, esto hace que estudios que sigan una u otra normativa no sean comparables, puesto que los resultados obtenidos con diferentes flujos son distintos.

Se han publicado unos valores de referencia de ENO a 50 ml/s para adultos no fumadores¹⁰⁷, cuyo límite superior de la normalidad oscilaría entre 24 ppb y 53 ppb, dependiendo del peso y la edad. Por ejemplo, para una edad comprendida entre los 35 y los 44 años, el límite superior de la normalidad se situaría en 24.5 ppb en sujetos con estatura menor de 160 cm y en 42.5 ppb en sujetos con una estatura comprendida entre 180 y 189cm. Estos autores calcularon el rango de normalidad utilizando una fórmula que incluye la edad en años y la estatura en centímetros y una serie de constantes que varían según el sujeto sea o no atópico. Otros estudios¹⁰⁸ han propuesto cifras de ENO de 33 ppb como límite superior de la normalidad. La última edición de la guía española para el manejo del asma sitúa en 30 ppb el límite superior de normalidad y, de acuerdo con la opinión de estos expertos, valores iguales o mayores que éste son diagnósticos de asma¹⁰⁹. Recientemente un grupo de autores¹¹⁰ han clasificado los valores de ENO en niños y adultos como normales (<25 ppb), intermedios (entre 25 y 50 ppb) y altos (> 50 ppb).

Las vías aéreas altas, como se ha mencionado anteriormente, generan mucho más NO que las vías aéreas bajas, por lo que a la hora de medir el ENO es importante evitar la contaminación por el NO procedente de las vías aéreas superiores. Para ello se han utilizado varias técnicas, pero la más extendida es la de aumentar la presión en la boca (entre 5 y 20 cm de H₂O) realizando la exhalación frente a una resistencia, para conseguir elevar el velo del paladar y así cerrar la comunicación con la nasofaringe¹¹¹.

Puesto que el NO ambiental puede contaminar la muestra, los equipos de medición incorporan un sistema para reducir el NO inhalado a menos de 5 ppb¹⁰⁶.

La técnica on line se encuentra mejor estandarizada que la técnica off line y tiene un alto índice de reproductibilidad¹¹².

1.8.2. Factores que modifican la concentración de ENO

Existen diferentes factores que pueden modificar la concentración de ENO tanto en individuos sanos como en pacientes con diferentes patologías.

Se ha observado que las concentraciones de ENO aumentan progresivamente en los niños hasta la edad de 13 años, pero a partir de este momento se estabilizan¹¹³. Tsang¹¹⁴ y colaboradores encontraron menores concentraciones de ENO en mujeres que en hombres, al igual que Wong¹¹⁵ y colaboradores en población infantil china. Estos resultados no se han podido confirmar en otros estudios^{116,115,117}.

En sujetos sanos, las infecciones de vía respiratoria superior aumentan el ENO¹¹⁸. En un estudio de Murphy y colaboradores¹¹⁹, se demostró un aumento de ENO 8 días después de la inoculación de una cepa de virus influenza A en individuos sanos.

Otros factores que pueden modificar las concentraciones de ENO son la ingestión de espinacas o cafeína^{120,121} o la polución ambiental¹²². La influencia real de estos factores es controvertida, puesto que los resultados de diversos estudios ofrecen conclusiones dispares.

En cuanto a la influencia de diversas enfermedades respiratorias sobre los niveles de ENO, se han publicado numerosos estudios en los que se ha observado un aumento de ENO en el asma¹²³, las bronquiectasias o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)¹²⁴.

En enfermedades congénitas, como la discinesia ciliar primaria o la fibrosis quística, los niveles de ENO están significativamente reducidos a pesar de la gran inflamación que producen. Estos niveles tan bajos de ENO y NO nasal han hecho que se haya propuesto este marcador para screening en la discinesia ciliar primaria¹²⁵.

Se ha demostrado que los niveles de ENO están aumentados en pacientes con rinitis alérgica respecto a los valores obtenidos en sujetos sanos¹²⁶ y que además estos niveles se correlacionaban con el grado de exposición al alérgeno^{127,128} y eran más altos que los detectados en individuos con rinitis de etiología no alérgica¹²⁹.

En pacientes con poliposis nasal se han detectado niveles de ENO significativamente mayores que en sujetos sanos, aún cuando estos pacientes no estaban sensibilizados a aeroalérgenos¹³⁰.

Las tablas 2 y 3 resumen los factores que pueden modificar la concentración de ENO.

Tabla 2. Factores que modifican el ENO en individuos sanos.

INCREMENTO DE ENO	REDUCCIÓN DE ENO
L-Arginina ^{131,132}	Maniobras espirométricas ^{133,134}
Enalapril ¹³⁵	Ejercicio físico ¹³⁶
Lechuga o espinacas ^{137,138}	Ciclo menstrual ¹³⁹
Formaldehído ¹⁴⁰	Reducción de Temperatura ¹⁴¹
Infecciones respiratorias ^{118,119}	Hábito tabáquico
NO ₂ ambiental ¹²²	Exposición pasiva al humo del tabaco
Salbutamol ¹³⁴	Ingesta de alcohol ¹⁴²
	Oximetazolina(NO nasal) ¹⁴³
	Inducción de esputo ¹⁴⁴
	Altitud ¹⁴⁵

Tabla 3. Procesos que modifican la concentración de ENO.

INCREMENTO DE ENO	REDUCCIÓN DE ENO
Asma ⁹¹	Tos crónica sin hiperreactividad bronquial ⁴⁶
Rinitis alérgica ^{127,128}	Fibrosis quística ¹²⁵
Infecciones respiratorias víricas ^{118,119}	Esclerosis sistémica con hipertensión pulmonar ¹⁴⁶
Poliposis nasal ¹³⁰	Discinesia ciliar primaria ¹²⁵
Bronquiectasias ¹²⁵	Hipertensión pulmonar primaria ¹⁴⁷
Tos crónica con hiperreactividad bronquial ⁴⁶	Distrés respiratorio del adulto ¹⁴⁸
Bronquiolitis obliterante ¹⁴⁹	
Esclerosis sistémica sin hipertensión pulmonar intersticial ^{150,151}	
Fibrosis pulmonar idiopática ¹⁵²	
Tuberculosis pulmonar ¹⁵³	
Cáncer pulmonar ¹⁵⁴	

1.9. VARIABILIDAD DEL FLUJO ESPIRATORIO MÁXIMO.

En la práctica clínica para el diagnóstico y monitorización del asma bronquial y de otras enfermedades respiratorias se utilizan medidas de función pulmonar, junto con la historia clínica y la exploración física del paciente. En enfermedades en las que existe una gran variabilidad de la obstrucción de la vía aérea como es el asma, esta variabilidad hace probable que dicha obstrucción pueda no estar presente en el momento en el que se realiza el estudio funcional respiratorio. Esto, unido a que algunos estudios evidenciaron un diagnóstico insuficiente del asma, especialmente en niños y ancianos^{155,156} ha motivado que algunos autores recomienden la determinación de la variabilidad del flujo espiratorio máximo (FEM) en el manejo clínico del proceso e incluso en su diagnóstico.

La variación circadiana del flujo espiratorio máximo en los pacientes con asma es más alta que la identificada en los sujetos sanos¹⁵⁷. No obstante, hay que tener en cuenta que la determinación del flujo espiratorio máximo es altamente dependiente del esfuerzo que realiza el paciente, por lo que en muchos casos, sobre todo en aquellos en los que el paciente realiza la medición en su domicilio sin supervisión de personal sanitario, las medidas obtenidas podrían valorar erróneamente el grado de obstrucción.

Algunos estudios han mostrado una pobre relación entre los valores obtenidos mediante medición de flujo espiratorio máximo y los identificados mediante espirometría, cuando se compara por ejemplo los parámetros que indican broncodilatación y broncoconstricción¹⁵⁸. Por este motivo se considera más adecuado realizar el diagnóstico de asma mediante espirometría y reservar la determinación de flujo espiratorio máximo para monitorizar y realizar el seguimiento del paciente.

A la hora de valorar la reversibilidad de la obstrucción mediante la determinación del flujo espiratorio máximo, se ha considerado que un incremento del mismo de 60 l/min tras el tratamiento indica una mejoría clínicamente significativa¹⁵⁹.

En un estudio realizado por Thiadens y colaboradores¹⁶⁰, en pacientes con tos de al menos dos semanas de evolución, en los que no existía un diagnóstico previo de asma o EPOC, se observó una pobre relación entre el flujo espiratorio máximo y los valores del FEV₁ a la hora de evaluar la obstrucción bronquial y la respuesta broncodilatadora. Al analizar los resultados de acuerdo con el porcentaje del valor teórico ajustado a los parámetros de edad, sexo, raza, altura y peso, se obtuvieron valores menores de flujo espiratorio máximo que de FEV₁ en un gran número de pacientes. La sensibilidad para evaluar la obstrucción bronquial de una determinación baja de flujo espiratorio máximo en relación a un FEV₁ bajo fue de 83.3% y la especificidad de 76%, con un valor predictivo positivo de 46.5% y un valor predictivo negativo de 94.4%.

En un estudio más reciente se encontró que los factores que afectaban más directamente a la variabilidad circadiana del flujo espiratorio máximo, en individuos mayores de 65 años, eran la altura y la raza. Tras excluir a los individuos con asma, la variabilidad circadiana media del flujo espiratorio máximo era del 12% en los individuos de raza caucásica y del 15% en aquellos de raza negra. En este mismo estudio se identificaron otras características que predecían una elevada variabilidad del flujo espiratorio máximo, entre las que se incluyen la tos crónica, la dificultad respiratoria, las sibilancias en el año previo, las sibilancias evidenciadas en decúbito supino o los valores basales del FEV₁ disminuidos¹⁶¹.

La determinación domiciliaria del flujo espiratorio máximo se ha utilizado para controlar la respuesta al tratamiento, así como para el diagnóstico del asma ocupacional, donde la exposición o no exposición al agente broncoconstrictor es determinante. Este método se utiliza también en escalas ya validadas por guías de práctica clínica internacionales (GINA, ERS guidelines, NHLBI) como medida adicional al control clínico en pacientes con asma y en el estudio de pacientes con tos crónica.

1.10. PUNTUACIONES DE SÍNTOMAS DE TOS.

Existen puntuaciones de síntomas de tos validadas, que han sido utilizadas por varios autores¹⁶², aunque en estos estudios cuando se comparan los resultados obtenidos con el registro objetivo de la tos, sólo se encuentra una correlación débil entre ambos parámetros y esta correlación es diferente en cada uno de los estudios¹⁶³.

Estas puntuaciones de síntomas se utilizan tanto para cuantificar la intensidad de la tos, como para evaluar la afectación de las actividades de la vida diaria y del descanso nocturno que esta produce en el paciente.

1.11. EFICACIA DE LOS CORTICOIDES EN LOS PACIENTES CON TOS CRÓNICA.

Hay multitud de estudios que se han ocupado de determinar la respuesta al tratamiento con corticoides inhalados en pacientes con tos crónica.

La tabla 4 resume los principales estudios que vamos a comentar posteriormente.

AUTORES	MOLÉCULA	DOSIS	MEJORÍA	OBSERVACIONES
Ribeiro M et al.	Beclometasona	1500 mcg/día	Sí	Los que no mejoran: prednisona oral 20 mg
Chaudhuri et al.	Fluticasona	1000 mcg/día	Si	14 días de tratamiento.
Pizzichini et al.	Budesonida	800 mcg/día	No	No eosinofilia bronquial
Davies et al.	Fluticasona	2000 mcg/día	Si	
Ponsoen et al.	Fluticasona	1000 mcg/día	Si	Tos>2 semanas

Tabla 4. Estudios que evalúan la respuesta al tratamiento con corticoides inhalados en pacientes con tos crónica.

Una revisión¹⁶⁴ ha incluido un total de 13 estudios en los que se investigaba la respuesta terapéutica en pacientes con tos equivalente de asma. No obstante, solamente 2 de estos estudios incluían como tratamiento los esteroides inhalados (beclometasona). Además, el número de pacientes tratados era pequeño, la respuesta terapéutica escasa y sólo uno de los estudios analizados incluía un grupo control de pacientes tratados con placebo. A la vista de esto, los autores concluyen que los argumentos científicos para recomendar la utilización de los esteroides inhalados en los pacientes con tos equivalente de asma son escasos.

Varios estudios se han propuesto como objetivo determinar la eficacia del tratamiento con corticoides inhalados en pacientes con tos crónica, así como el efecto de este tratamiento sobre células y marcadores de inflamación en la vía aérea. Así Chaudhuri⁷⁹ y colaboradores, en pacientes con tos crónica de más de un año de evolución en los que encontraron signos de inflamación (elevación de ENO, aumento de la celularidad y de la proporción de neutrófilos en esputo y una correlación de los niveles de ENO con la proporción de eosinófilos en esputo), evaluaron la eficacia de la administración de propionato de fluticasona inhalada (a razón de 1000 mcg al día)

durante 14 días. Estos autores encontraron una mejoría significativa tanto de la clínica (medida mediante escala analógica visual) como de los marcadores de inflamación bronquial [disminución de proteína catiónica del eosinófilo (ECP) en esputo, así como de ENO y monóxido de carbono (CO) en aire exhalado]. En aquellos pacientes con diagnóstico de tos equivalente de asma, encontraron una disminución del número de eosinófilos en esputo y una media de ENO de 12,6 ppb. Los parámetros considerados como predictores de la respuesta al tratamiento fueron los niveles de ENO, el número de eosinófilos, los valores de ECP en esputo y los niveles de IgE total en suero.

Pizzichini y colaboradores¹⁶⁵ por su parte demostraron que, tras analizar las características de los sujetos con tos crónica y excluir a aquellos con diagnóstico de asma, síndrome de la tos asociada a patología de vía respiratoria superior (UACS) y enfermedad por reflujo gastroesofágico (RGE), ningún paciente tenía eosinofilia bronquial ni se detectaba respuesta a corticoides inhalados. Según estos estudios, la respuesta a corticoides en estos pacientes con tos depende de la existencia de inflamación eosinofílica y por tanto las patologías responsables de la tos asociadas a este tipo de inflamación son aquellas que pueden beneficiarse del tratamiento con esteroides inhalados.

Otros autores como Ribeiro¹⁶⁶ y colaboradores sostienen que es posible que la tos de menor duración responda mejor a corticoides y que alargar el tiempo de tratamiento y la dosis de corticoides puede aumentar el número de respondedores. Para demostrar esta hipótesis realizaron un estudio en pacientes con tos crónica, definiendo como variable principal la disminución de las puntuaciones de los síntomas diarios de tos durante un periodo de tratamiento de 14 días con 1500 mcg al día de beclometasona.

Obtuvieron una resolución completa de la tos en el 82% de los pacientes que habían sido tratados con beclometasona y en el 15% de pacientes que habían recibido placebo. Al comparar ambos grupos, encontraron que aquellos pacientes tratados con beclometasona habían mejorado significativamente las puntuaciones de síntomas y los valores de la escala analógica visual (VAS) respecto al grupo control, sin encontrarse relación entre la hiperrespuesta bronquial y la respuesta al tratamiento.

En los pacientes pertenecientes al grupo activo que no mejoraron con beclometasona inhalada, se administró un tratamiento con 20 mg al día de prednisona oral durante 15 días y la mayoría mejoraron sustancialmente (84%). A los pacientes restantes se les administró de nuevo el curso terapéutico con idénticas dosis de prednisona oral asociando omeprazol 20 mg oral a diario durante 12 semanas y la tos desapareció en todos los pacientes. A la luz de estos resultados los autores concluyen que el tratamiento con beclometasona a altas dosis es muy efectivo para tratar a pacientes con tos crónica y que las resoluciones parciales pueden mejorarse aumentando la dosis y el tiempo de tratamiento con esteroides.

Dos autores más han encontrado mejoría en las puntuaciones de síntomas en pacientes con tos crónica en tratamiento con altas dosis de propionato de fluticasona inhalada. Ponsioen¹⁶⁷ y colaboradores, en adultos no fumadores a los que administraban 500 mcg de propionato de fluticasona cada 12 horas durante dos semanas, y Davies¹⁶⁸ y colaboradores en población pediátrica tratada con propionato de fluticasona a dosis de 1 mg cada 12 horas durante tres días y posteriormente 500 mcg cada 12 horas durante 11 días. En este último estudio, a pesar de que en el grupo activo se encontró una mejoría significativamente mayor que en el grupo placebo, al final del tratamiento el grupo placebo experimentó una mejoría muy notable y este hecho sugiere a los autores que probablemente la propia evolución de la tos es hacia la mejoría independientemente

del tratamiento administrado. Por tanto, no estaría justificado el uso de corticoides a dosis altas, habida cuenta de los efectos secundarios que puede tener en el desarrollo normal del niño.

En resumen, parece que el tratamiento con corticoides pudiera ser de utilidad en un porcentaje amplio de pacientes con tos crónica, independientemente de la causa de la misma.

1.12. ENO Y RESPUESTA A CORTICOIDES INHALADOS EN PACIENTES CON TOS.

Una de las presumibles utilidades de la determinación del ENO pudiera ser la capacidad para predecir la respuesta a la terapia con corticoides orales¹⁶⁹ e inhalados¹⁷⁰ en pacientes con asma. Se ha postulado que un valor de ENO >35 ppb, en un paciente que nunca ha tomado corticoides y que presenta síntomas respiratorios, es compatible con asma¹⁷¹. No obstante, no hay datos experimentales que soporten esta afirmación.

Con el fin de ahondar en la utilidad de la determinación de ENO para el control del asma, Malerba¹⁷² y colaboradores realizaron un estudio diseñado para evaluar la utilidad de la titulación del tratamiento antiasmático de acuerdo con los niveles de ENO y eosinófilos en esputo inducido en lugar de guiarse mediante síntomas y función pulmonar; el estudio se proponía también valorar si estos dos parámetros (inflamación versus clínica y función) tenían cinética similar, es decir, si sus resultados eran intercambiables.

Se evaluaron 14 pacientes con asma persistente leve o moderada, a los que se les realizó espirometría, prueba de provocación bronquial con metacolina, determinación de ENO y estudio citológico de esputo inducido. Los pacientes evaluaron además la intensidad de los síntomas de asma mediante una puntuación estandarizada. La variable principal era la incidencia de las exacerbaciones de asma y los cambios en las puntuaciones de síntomas a lo largo de un año de seguimiento. Encontraron que había un menor número de exacerbaciones de asma, una

disminución en las puntuaciones de síntomas y una disminución de la HRB a metacolina en el grupo en el que el ajuste de dosis se realizaba con ENO y esputo inducido. Además había una disminución paralela de ENO y eosinófilos en esputo. No obstante, la dosis de corticoides que se administró a los pacientes con esta estrategia era mayor que con la estrategia de control del asma convencional, lo que sugiere que es necesario abundar en el tratamiento antiinflamatorio una vez alcanzada la estabilidad clínica, puesto que para mejorar los parámetros inflamatorios bronquiales se necesita una mayor dosis de corticoides que para lograr el control sintomático. Por otra parte, se confirmó una correlación directa entre ENO y eosinófilos en esputo antes y durante el tratamiento con esteroides inhalados. A pesar de ello, la disminución de ENO y de eosinófilos en esputo exhibieron distinta cinética (el ENO disminuía de forma mucho más precoz). Así pues, se concluyó que al monitorizar únicamente los niveles de ENO, su disminución hasta valores normales (definido por los autores por un punto de corte de 20 ppb) debía interpretarse como un reflejo de una supresión de la inflamación eosinofílica de la vía aérea, sólo si se mantenía durante un periodo superior a 3 meses.

Otros autores han realizado estudios para dilucidar si la determinación del ENO podría identificar causas de tos como asma o bronquitis eosinofílica. Con esta finalidad Oh¹⁷³ y colaboradores reclutaron 117 pacientes con tos de >3 semanas de duración (subaguda y crónica), no fumadores, con FEV₁ normal y sin alteraciones en la radiografía de senos paranasales y tórax, ni sibilantes, ni uso de broncodilatadores o corticoides. El objetivo era evaluar si la determinación de ENO era útil para diagnosticar bronquitis eosinofílica sin asma (NAEB) en pacientes con tos crónica. A este grupo de individuos les realizaron un cuestionario de síntomas, analítica básica, radiografía de tórax y senos paranasales, pruebas intra-epidérmicas frente a neuroalérgenos comunes, provocación bronquial con metacolina, esputo inducido y determinación de ENO.

Obtuvieron valores de ENO y porcentajes de eosinófilos en esputo inducido significativamente mayores en los pacientes con NAEB o asma que en el grupo de pacientes con 'otras causas de tos'. Además, los valores de eosinófilos y de ENO se correlacionaban, en estos grupos de pacientes. La mejor sensibilidad y especificidad se obtuvo con un punto de corte de 31.7 ppb (tanto para pacientes con una duración de la tos menor de 8 semanas como para aquellos con tos de más de 8 semanas de duración). Con este punto de corte, la determinación mostraba sensibilidad del 86%, especificidad del 76%, valor predictivo positivo del 47% y valor predictivo negativo del 95%. Según los autores, el aumento de ENO no es suficiente para diagnosticar una NAEB por su baja sensibilidad y valor predictivo positivo, pero los valores bajos de ENO sí que podrían descartarla.

Otros dos estudios demostraron niveles de ENO elevado en pacientes con bronquitis eosinofílica^{174,175} y parece que en estos pacientes se encuentra aumentada también la eosinofilia en el lavado broncoalveolar (BAL), a diferencia de lo que ocurre en pacientes con tos atópica.

Con el fin de encontrar rasgos diferenciales entre pacientes con tos atópica, tos equivalente de asma y asma clásica, en pacientes seleccionados con tos crónica de más de 8 semanas de duración, Fujimura¹⁷⁶ y colaboradores realizaron determinación de ENO, test de capsaicina, espirometría con prueba broncodilatadora, esputo inducido, lavado broncoalveolar (BAL), prueba de provocación bronquial con metacolina y evaluación de características de atopia. Se obtuvieron niveles de ENO significativamente menores en los pacientes con diagnóstico de tos atópica que en los pacientes con tos equivalente de asma (CVA) o asma clásica. A la luz de estos resultados, los autores concluyen que probablemente el ENO refleje la inflamación eosinofílica de la vía aérea periférica y no de la central, donde se localiza la eosinofilia en la tos atópica (a diferencia de lo que ocurre en la bronquitis eosinofílica sin asma).

Por otra parte, Smith¹⁷⁷ y colaboradores, evaluaron la capacidad del ENO para predecir qué pacientes con síntomas respiratorios inespecíficos responderían favorablemente al tratamiento con corticoides inhalados. En este estudio simple ciego, cruzado, controlado con placebo, se evaluaron 52 pacientes con síntomas respiratorios inespecíficos (no se excluyeron a los fumadores). Estos sujetos fueron tratados durante 4 semanas con placebo y durante otras 4 semanas con propionato de fluticasona inhalada a dosis de 250 mcg cada 12 horas. Del total de individuos, 27 tenían asma, 13 síndrome de tos de vía aérea superior (UACS), 4 bronquitis, 4 ERGE, 2 hiperventilación, 1 bronquiectasias y 1 disfunción del ventrículo izquierdo. El punto de corte óptimo para el ENO se marcó en 47 ppb, puesto que los pacientes que superaban estos valores tenían mayor deterioro de los parámetros de función pulmonar y mayor reversibilidad tras salbutamol. El tratamiento con propionato de fluticasona se asociaba también con una mejoría más marcada del FEV₁, FEM matutino, síntomas, concentraciones del ENO e hiperrespuesta bronquial a AMP en el grupo de pacientes que mostraban concentraciones elevadas de ENO basalmente. La capacidad predictiva mayor se conseguía interpretando conjuntamente las concentraciones de ENO y el grado de hiperrespuesta bronquial a AMP (sensibilidad del 82% y especificidad del 91%). Estos resultados son concordantes con los comunicados por otros autores al respecto de la capacidad predictiva de estos parámetros para predecir la estabilidad del asma tras reducir la dosis de esteroides inhalados en asmáticos¹⁷⁸.

Hahn¹⁷⁹ y colaboradores realizaron recientemente un estudio similar al anterior en pacientes con tos crónica. Se trata de un estudio retrospectivo, en 64 pacientes adultos con tos de más de 8 semanas de evolución, que iban a iniciar tratamiento con corticoides inhalados para controlar la tos o que ya llevaban tratamiento con corticoides inhalados, pero se decidió aumentar

la dosis de los mismos por ineficacia. Se consideró que los sujetos habían respondido satisfactoriamente al tratamiento con corticoides inhalados si el médico había reflejado una mejoría clínica significativa en la historia clínica (no se utilizaron otras medidas objetivas de mejoría, ni se solicitaron más estudios diagnósticos) y no se cambió la dosis de corticoides inhalados. Los autores consideraron un valor de 35 ppb como punto de corte óptimo para ENO. Entre los pacientes que respondieron al tratamiento había más asmáticos (68%) y más pacientes con bronquitis eosinofílica (21%). Se obtuvieron valores medios de ENO superiores en pacientes respondedores al tratamiento con corticoides (51.25 vs 26 ppb). Además, se encontró que aquellos pacientes que ya tomaban corticoides inhalados y tuvieron que incrementar su dosis, tenían niveles basales de ENO mayores. Con el punto de corte de 35 ppb, los autores obtuvieron un valor predictivo positivo (VPP) de 90% y un valor predictivo negativo (VPN) de 85% para identificar buena respuesta al tratamiento con esteroides inhalados.

En el año 2013 Hsu y colaboradores¹⁸⁰ realizaron un estudio en pacientes con tos crónica a los que se trataba de forma empírica siguiendo los pasos recomendados por las guías de práctica clínica y se les realizaba un estudio diagnóstico que incluía radiografía de tórax, pruebas de función pulmonar, determinación de respuesta bronquial a metacolina, citología en esputo inducido e identificación de valores de ENO. La necesidad de tratamiento con corticoides inhalados (Fluticasona 250 mcg cada 12 horas durante dos semanas) venía determinada por las concentraciones de ENO encontradas. Así, según la respuesta al tratamiento y los resultados de las pruebas diagnósticas los pacientes se clasificaron en asmáticos, tos equivalente de asma, bronquitis eosinofílica, RGE y síndrome de la tos asociada a patología de vía respiratoria superior. Estos autores encontraron que los valores de ENO elevados (el punto de corte óptimo en este estudio se fijó en 33,9 ppb) eran capaces de predecir buena respuesta al tratamiento con fluticasona inhalada. En este estudio es destacable además el hecho de que, aunque el porcentaje

de pacientes con aumento de ENO entre la muestra de pacientes con tos crónica fue alto (50%), el número de pacientes con cifras de ENO elevadas con una alteración obstructiva en los parámetros de función pulmonar fue muy reducido (2,5%).

A pesar de las limitaciones de estos estudios, en ellos se refleja la utilidad del ENO para predecir la respuesta a los corticoides inhalados en pacientes con tos crónica, que mayoritariamente son diagnosticados de enfermedades con una base inflamatoria fundamentalmente eosinofílica y en los que es esperable que el tratamiento con corticoides mejore los síntomas y los parámetros de inflamación, como son el asma bronquial (en su presentación clásica y en su versión de tos equivalente de asma) y la bronquitis eosinofílica. No obstante, disponemos de métodos sensibles y específicos para el diagnóstico de estos procesos en la práctica clínica habitual y, en consecuencia, es difícil imaginar que la información adicional obtenida de la determinación de ENO pueda resultar relevante.

En cambio, existe un porcentaje de pacientes en los que no es posible encontrar una causa evidente para la tos o en los que la realización de las pruebas diagnósticas supone un problema logístico y de recursos, como en la bronquitis eosinofílica, o una molestia para el paciente, como la realización sistemática de pHmetrias esofágicas para descartar reflujo o pruebas diagnósticas seriadas para descartar otras causas menos frecuentes de tos. Un porcentaje de estos pacientes podrían responder favorablemente al tratamiento con corticoides inhalados y sería interesante disponer de una herramienta que facilite la identificación de estos casos, para simplificar el manejo de estos pacientes y evitar tratamientos empíricos que a menudo retrasan o complican el control de la tos y pueden favorecer la aparición de efectos adversos secundarios al mismo tratamiento.

En cuanto a la relación de la tos crónica con la hiperreactividad bronquial, la mayoría de estudios versan sobre pacientes con diversos grados de asma bronquial, en los que la tos es una manifestación más de esta patología y en los que se encuentra también relación de éste parámetro funcional con parámetros de inflamación de la vía aérea. Sería pues conveniente conocer qué grado de hiperreactividad bronquial (si la hubiere) podemos esperar en pacientes con tos crónica sin un diagnóstico claro y si esta hiperrespuesta puede ayudarnos a tomar decisiones terapéuticas.

El resto de parámetros de función pulmonar incluida la variabilidad del FEM aunque han demostrado tener una utilidad limitada en el seguimiento de los pacientes con obstrucción bronquial, parece que pueden resultar de ayuda en el diagnóstico de pacientes con tos, aunque la sensibilidad de estas pruebas sigue siendo bastante pobre.

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Puesto que la tos crónica continúa siendo un motivo de consulta frecuente en un porcentaje alto de pacientes y su tratamiento requiere en ocasiones tandas escalonadas de diversos fármacos administrados de forma empírica, siguiendo los criterios diagnósticos anatómicos, sería interesante tener alguna herramienta que nos permitiera predecir qué pacientes se van a beneficiar de un tratamiento u otro.

Como se ha indicado previamente, en algunos pacientes con tos crónica puede identificarse inflamación bronquial eosinofílica. Esto ocurrirá predominantemente en circunstancias en las que la misma se haya generado como consecuencia de asma bronquial, bronquitis eosinofílica, tos atópica o enfermedades que afecten a la vía aérea superior, como la rinitis alérgica. Teniendo en cuenta la exquisita sensibilidad de la inflamación eosinofílica a los efectos beneficiosos de los esteroides inhalados, parece lógico postular que los pacientes con tos crónica e inflamación bronquial eosinofílica pudieran responder al tratamiento con esteroides inhalados, independientemente de la causa de la tos.

Por otra parte, se ha demostrado una correlación significativa entre la intensidad de la inflamación bronquial eosinofílica y los valores de óxido nítrico exhalado, tanto en los pacientes con asma como en los individuos con rinitis alérgica. En consecuencia, se ha postulado que la presencia de concentraciones elevadas de óxido nítrico en aire exhalado estaría identificando indirectamente la presencia de inflamación eosinofílica.

De acuerdo con estos razonamientos, nuestra hipótesis de trabajo fue que *las concentraciones elevadas de óxido nítrico exhalado podrían identificar a aquellos pacientes con tos crónica que responderían favorablemente al tratamiento con esteroides inhalados*

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

El objetivo principal del presente estudio fue determinar la utilidad de la determinación de las concentraciones de ENO para identificar a aquellos pacientes con tos crónica que responderán favorablemente al tratamiento con esteroides inhalados.

Los objetivos secundarios fueron:

- Determinar la utilidad de la determinación de la presencia de hiperrespuesta bronquial a metacolina y de hiperrespuesta bronquial a AMP para identificar a los pacientes que responderían favorablemente al tratamiento con esteroides inhalados.
- Determinar la prevalencia de hiperrespuesta bronquial a AMP en pacientes con tos crónica.
- Identificar diferencias en la variabilidad circadiana del FEM entre pacientes con tos crónica que presentaban hiperrespuesta bronquial a AMP y los que presentaban respuesta normal al agonista broncoconstrictor.
- Determinar la relación entre las concentraciones de ENO, la respuesta a AMP, la intensidad de la tos y la variabilidad circadiana del FEM.
- Analizar la relación entre los valores de la Raw o sGaw tanto con las concentraciones de ENO, como con la respuesta a los dos broncoconstrictores farmacológicos.

4. PACIENTES

4. PACIENTES

En el presente estudio se incluyeron pacientes adultos mayores de 18 años, no fumadores, con tos crónica (más de 8 semanas de duración), inmunocompetentes, en los que se había descartado infección respiratoria en el mes previo, con radiografía de tórax y radiografía de senos paranasales normales, que no tomaban fármacos inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECAs), sin diagnóstico de reflujo gastroesofágico y que nunca habían sido tratados con corticoides inhalados ni broncodilatadores.

Estos pacientes se seleccionaron de manera consecutiva entre los evaluados por manifestaciones clínicas de tos crónica en la consulta ambulatoria de Neumología (Centro de Especialidades de Monteolivete) y en la consulta externa de Alergología del Hospital Universitario Dr Peset de Valencia.

Se consideró que un paciente podía ser incluido en el presente estudio únicamente si era mayor de 18 años, tenía un diagnóstico de tos crónica, definida mediante una persistencia de la misma a lo largo de un período mayor de 8 semanas, si nunca había sido tratado con esteroides inhalados, cromoglicato disódico, nedocromil sódico ni esteroides sistémicos (indicados para el tratamiento de la tos) y si en las 4 semanas previas no había sido tratado con antitusivos de cualquier tipo, β -adrenérgicos de acción prolongada (salmeterol, formoterol) o de acción corta, antagonistas de cisteinil-leucotrienos (zafirlukast, montelukast), bromuro de ipratropio, teofilina, antihistamínicos H_1 orales o tópicos nasales, esteroides nasales tópicos, antihistamínicos H_2 (ranitidina, cimetidina) o inhibidores de la bomba de protones (omeprazol, etc). Además se comprobó en estos pacientes que las pruebas de imagen radiológicas de tórax y senos paranasales

fueran normales y que no hubiesen tenido manifestaciones clínicas de rinosinusitis infecciosa (rinorrea purulenta). Todos los pacientes incluidos presentaban unos valores de función pulmonar dentro del rango de normalidad, con valores de $FEV_1 \geq 80\%$ del teórico, $FVC \geq 80\%$ del teórico y $FEV_1/FVC \geq 70\%$, durante la visita de selección.

Todos los pacientes otorgaron su consentimiento para ser incluidos en el estudio.

Se excluyeron del estudio a las mujeres embarazadas o que estuviesen realizando lactancia materna, los individuos con alteraciones relevantes en la radiología simple de tórax [áreas de atelectasia, bronquiectasias, derrame pleural, masas pulmonares, nódulo(s) pulmonar(es), lesiones específicas antiguas, TBC, cardiomegalia, condensaciones agudas o crónicas] o con sinusitis radiológica (opacificación o nivel hidroaéreo en alguno de los senos paranasales). Tampoco se incluyeron en el estudio los pacientes que habían sufrido infecciones respiratorias durante las 4 semanas previas, los fumadores o ex – fumadores que hubieran abandonado el hábito tabáquico menos de 6 meses antes del inicio del estudio, los pacientes inmunocomprometidos (VIH+, tratados con inmunosupresores, inmunodeficiencias congénitas, etc.), los pacientes en tratamiento con IECAs o β -bloqueantes durante las 8 semanas previas y los pacientes diagnosticados, en algún momento de su vida, de asma. Con el fin de excluir pacientes con sospecha de asma, tampoco se incluyeron aquellos pacientes con antecedentes de episodios de disnea, sibilancias u opresión torácica o pacientes con manifestaciones sospechosas de asma inducida por el esfuerzo. Asimismo, se eliminaron también aquellos individuos con respuesta positiva al broncodilatador inhalado, identificada mediante una mejoría del FEV_1 de al menos un 12% y 200 ml (ver más adelante).

Los pacientes con diagnóstico de reflujo gastroesofágico o con diagnóstico de tos por reflujo o con alteraciones de la función pulmonar fueron también excluidos del estudio.

Finalmente, se excluyeron aquellos individuos con clínica compatible con bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquiectasias, hipertensión arterial no controlada, diabetes mellitus insulino-dependiente, hepatopatías crónicas, nefropatías, hipo-hipertiroidismo, enfermedades cardio-vasculares, procesos convulsivos, procesos malignos o individuos con alcoholismo, drogo-dependencias, enfermedades mentales o factores que pudieran limitar su capacidad de colaboración.

5. DISEÑO DEL ESTUDIO

5. DISEÑO DEL ESTUDIO

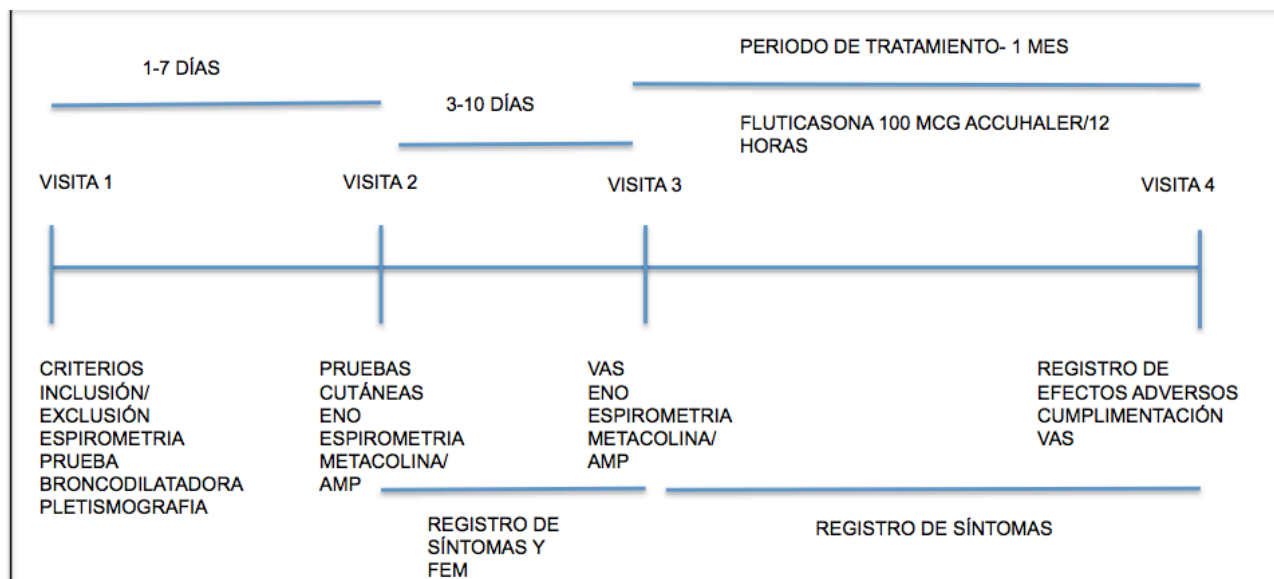


Figura 7. Diseño del estudio. Definición de abreviaturas: ENO= Óxido nítrico en aire exhalado. FEM= flujo espiratorio máximo

El estudio se realizó de acuerdo con un diseño prospectivo y abierto (figura 7). Cada paciente completó un total de 4 visitas:

En la *visita 1* o de selección se confirmó que los pacientes cumplían los criterios de inclusión/exclusión, se midió la resistencia de la vía aérea (Raw) y se realizó una espirometría basal con prueba broncodilatadora. En esta visita se recabó también información acerca de los antecedentes patológicos de interés y de los tratamientos de cada uno de los pacientes. Esta primera visita se realizó en el laboratorio de exploración funcional respiratoria del servicio de Neumología del Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia, mientras que todas las visitas posteriores se realizaron en las consultas externas de Alergología del Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia.

En la *visita 2* (realizada 1 a 7 días después de la anterior) se realizaron pruebas cutáneas con aeroalérgenos comunes en nuestro medio, según la batería estándar de la sección de Alergología del Hospital Dr. Peset de Valencia, utilizando el método de prick test (puntura intraepidérmica). Además, se determinaron los valores de ENO, se realizó una espirometría basal y, tras confirmar valores normales del FEV₁ y de FVC, una prueba de provocación bronquial con metacolina o AMP. El orden de realización de estas últimas exploraciones (en la visita 2 o en la visita 3) se implementó de manera aleatorizada.

Concluidas estas pruebas, se adiestró al paciente en la determinación del FEM con un medidor de flujo modelo Mini Wright. En esta visita, se entregó al paciente el Mini Wright junto con un diario para anotar los registros matutinos y nocturnos, durante 3 a 10 días. En este diario el paciente también debía anotar la puntuación para la intensidad de la tos durante el día y durante la noche, de acuerdo con una escala especificada previamente (ver métodos).

En la *visita 3* (realizada 3 a 10 días después de la anterior) se analizaron los registros de FEM y de la puntuación de los síntomas de tos durante este periodo y se solicitó al paciente que cumplimentase la escala analógica visual de la intensidad de la tos durante la semana previa. A continuación se determinó la concentración de ENO, se realizó una espirometría y finalmente una provocación bronquial con AMP o metacolina, según el orden de aleatorización.

A partir de este momento, todos los pacientes iniciaron tratamiento con propionato de fluticasona inhalada (Flixotide Accuhaler®, GlaxoSmithKline, Madrid) a dosis de 100 µg cada 12 horas, durante un periodo de cuatro semanas. Durante este periodo de tratamiento, los pacientes registraron la intensidad de los síntomas de tos por la mañana y por la noche. Al final de

este periodo (*visita 4*), cada paciente completó de nuevo la escala analógica visual para la intensidad de los síntomas de la tos, a la vez que se analizaron los diarios de síntomas. Además se valoró el grado de cumplimiento del tratamiento y los posibles efectos adversos del mismo. El grado de cumplimiento del tratamiento se evaluó mediante la diferencia entre las dosis teóricas prescritas y las dosis reales consumidas, de acuerdo con la lectura del contador de dosis del sistema Accuhaler.

5.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El tamaño de muestra para el presente estudio se calculó prefijando como clínicamente relevante una diferencia del 35% en la proporción de pacientes con buena respuesta al tratamiento con propionato de fluticasona entre los individuos con valores de ENO elevados y aquellos con valores normales. Una buena respuesta al tratamiento se definió como una disminución de la puntuación de síntomas para la tos de al menos un 50% como consecuencia del mismo.

De acuerdo con los datos publicados por Boulet y colaboradores⁸⁷, el 31% de los pacientes con tos crónica responden favorablemente (reducción de la intensidad de la tos >50%) al tratamiento con beclometasona inhalada.

Asumiendo las premisas anteriores, se estimó que serían necesarios 18 pacientes en cada grupo (sujetos con buena respuesta vs sujetos con mala respuesta al tratamiento) para que el estudio mostrase un poder del 80% con un error α del 5%.

A pesar de que en el momento en que el presente estudio fue diseñado no se disponía de información acerca de la prevalencia de concentraciones elevadas de ENO en pacientes con tos crónica, el número total de pacientes a incluir en el análisis para obtener 18 individuos con

concentraciones de ENO elevadas se estimó a partir de experiencias previas de nuestro grupo^{38,190} y de otros autores⁴⁶. Se estimó, de esta manera, que sería necesario incluir en el estudio 51 pacientes con tos crónica para obtener 18 con concentraciones elevadas de ENO.

En una alta proporción de pacientes estudiados (87% para metacolina y 95% para AMP), el FEV₁ cayó menos del 20% tras administrar la dosis más alta del agonista. Por este motivo y con el fin de obtener una estimación cuantitativa del grado de hiperrespuesta bronquial en cada paciente, la respuesta a cada agonista se expresó mediante el índice de reactividad bronquial (BRI), que se calculó mediante el cociente entre el porcentaje de caída del FEV₁ y el logaritmo de la última concentración del agonista administrada, expresada en miligramos por decilitro, de acuerdo con el método propuesto por Burrows y cols¹⁸¹.

Los valores de ENO no mostraban distribución normal (prueba de Kolmogorov-Smirnov) y, por este motivo, fueron transformados logarítmicamente antes de proceder a su análisis. Los valores para este parámetro se expresaron por tanto mediante la media geométrica y el intervalo de confianza del 95% (95% CI). Todas las restantes variables numéricas seguían distribución normal y se expresaron mediante la media aritmética y el 95% CI. Para el análisis estadístico de todas estas variables se utilizaron pruebas paramétricas (t de Student para muestras pareadas o independientes).

Se construyeron tablas de 2x2 con los valores de ENO(bajo/alto) versus la respuesta favorable al tratamiento con propionato de fluticasona (sí/no), utilizando como puntos de corte para ENO valores de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 ppb. Para cada uno de estos puntos de corte se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo. De esta manera se construyó una curva ROC (receiver operating characteristic curve) con el fin de seleccionar el mejor punto de corte. El valor óptimo del punto de corte se identificó como aquel

con índice de Youden más elevado. El índice de Youden se calculó mediante la diferencia entre la tasa de verdaderos positivos (sensibilidad) y la de falsos positivos (1- especificidad).

Las variables categóricas se compararon mediante la prueba exacta de Fisher. Para las correlaciones se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson o Spearman, dependiendo de la normalidad o no de las variables analizadas, respectivamente. Valores de $p < 0.05$ (dos colas) se consideraron estadísticamente significativos.

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó un paquete estadístico estándar (InStat para Windows versión 3.0, GraphPad Software Inc, San Diego, CA).

6. METODOLOGÍA

6. MÉTODOS

6.1. ESPIROMETRÍA Y PRUEBA BRONCODILATADORA

La espirometría basal y prueba broncodilatadora se realizaron en la unidad de exploración funcional respiratoria del Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia y en la Sección de Alergología del Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia.

Las exploraciones se realizaron según las directrices propuestas por la American Thoracic Society y la European Respiratory Society¹⁸², utilizando un neumotacógrafo calibrado (Jaeger MasterScope; Erich Jaeger GmbH; Würzburg, Alemania). Inicialmente, los pacientes se instruyeron hasta que fueron capaces de realizar maniobras técnicamente correctas y con FEV₁ repetible (variaciones <5% entre las tres mejores). Se eligió como mejor maniobra aquella que mostró valores del FEV₁ y de FVC más elevados.

Para determinar la respuesta broncodilatadora se repitió la espirometría 15 minutos después de la aplicación de 200 µg de salbutamol mediante cartucho presurizado y cámara espaciadora Volumatic®. La misma se consideró positiva cuando se detectó un incremento del FEV₁ ≥12% y ≥200 ml con respecto al basal. Aquellos pacientes seleccionados que mostraron prueba broncodilatadora positiva fueron excluidos del estudio.

6.2. DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA Y LA CONDUCTANCIA

La resistencia (Raw) y la conductancia específica (sGaw) de la vía aérea se determinaron mediante pletismografía utilizando un pletismógrafo de volumen (Jaeger MasterScreen; Erich Jaeger GmbH; Würzburg, Alemania) en la unidad de exploración funcional respiratoria del Servicio

de Neumología del Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia. La realización de la prueba se hizo siguiendo las directrices de las guías de la American Thoracic Society¹⁸³.

6.3. DETERMINACIÓN DE LA RESPUESTA BRONQUIAL A METACOLINA

La exploración con metacolina se realizó mediante la técnica dosimétrica descrita por Chai et al¹⁸⁴ y actualizada por la American Thoracic Society¹⁸⁵. Tanto la solución salina como las concentraciones de metacolina se generaron por medio de un nebulizador Mefar calibrado, activado por un dosímetro MEFAR Markos MB3 (Mefar, Brescia, Italia).

El nebulizador calibrado para la prueba de provocación con metacolina mostraba un débito de 10 +/- 1,5 µl tras cada activación de un segundo. Antes de iniciar la exploración, se adiestró al paciente hasta que fue capaz de realizar las maniobras de inhalación correctamente. El paciente realizó una espiración hasta su capacidad residual funcional y, tras adaptar la boca a la boquilla del nebulizador, realizó una inspiración lenta y profunda, hasta su capacidad inspiratoria. A continuación y sin período de apnea en inspiración, retiró el nebulizador de la boca y respiró aire ambiental normalmente. Esta fase de adiestramiento se utilizó también para ajustar la sensibilidad del termistor del dosímetro, de manera que se disparase al inicio de la inspiración. Durante el período de inhalación, el paciente mantuvo la nariz ocluida mediante una pinza nasal.

Antes de realizar la exploración con metacolina se suspendieron los siguientes fármacos: Corticoides tópicos nasales (2 semanas), esteroides sistémicos (4 semanas), antihistamínicos H₁ orales (3 días), azelastina tópica nasal (24 horas), levocabastina tópica nasal (24 horas).

Tras realizar 5 inhalaciones de salino se nebulizaron concentraciones dobles (5 inhalaciones) de metacolina entre 0.095 y 25 mg/ml. Después de la inhalación de salino y de cada concentración de metacolina (entre 60-90 segundos después) se realizó una única espirometría, a

no ser que la maniobra se considerase técnicamente incorrecta o el paciente sufriera tos durante los dos primeros segundos de la espiración. De esta manera se trató de evitar el efecto de las maniobras inspiratorias repetidas sobre el FEV_1 ¹⁸⁶.

6.4. DETERMINACIÓN DE LA RESPUESTA BRONQUIAL A AMP

La exploración con AMP se realizó de manera similar a la descrita con la metacolina, utilizando el mismo espirómetro y administrando las concentraciones dobles de AMP con el mismo dosímetro MEFAR Markos MB3. En el caso de AMP, las concentraciones administradas oscilaban entre 1.56 mg/ml y 400 mg/ml. El tiempo de nebulización fue de 1 segundo y la pausa entre cada una de las 5 inhalaciones de cada dosis fue de 6 segundos. Este dispositivo liberaba partículas con un diámetro medio de 3.5 a 4 μm y un débito de aproximadamente 11 μl por activación.

En ambas determinaciones (respuesta a metacolina y a AMP), la exploración se suspendió cuando se identificaron caídas del $FEV_1 >20\%$ con respecto al valor post-salino o bien tras administrar la concentración más alta del agonista (25 mg/ml para metacolina y 400 mg/ml para AMP).

6.5. PRUEBAS CUTÁNEAS CON AEROALÉRGENOS COMUNES EN NUESTRO MEDIO

Las pruebas cutáneas se realizaron mediante la técnica del prick-test (o punción intraepidérmica), utilizando la batería de alérgenos inhalantes más relevantes en nuestro medio y

otros que pudiera sugerir la historia clínica. La respuesta a un alérgeno se consideró positiva cuando se obtuvo una pápula >3 mm, en ausencia de respuesta al diluyente. La lectura se realizó a los 15 minutos.

Las pruebas cutáneas se realizaron únicamente en aquellos pacientes que no habían sido sometidos a esta exploración durante los 12 meses previos.

6.6. DETERMINACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO EN EL AIRE EXHALADO

El óxido nítrico en aire exhalado (ENO) se determinó de acuerdo con un método estandarizado¹⁸⁷ utilizando un captador de quimioluminiscencia. Se siguieron las recomendaciones de la American Thoracic Society, utilizando una técnica de registro on-line con trazador de quimioluminiscencia (NiOX, Aerocrine, Solna, Suecia), que se adapta a los requerimientos técnicos de la American Thoracic Society¹⁸⁸ en lo que se refiere a presión en boca, flujo en boca, velocidad de toma de muestra, filtro para NO y ozono ambiental y ayuda visual para mantener un flujo uniforme (Tabla 5). Esta metodología se ha utilizado en estudios previos realizados en el Hospital Universitario doctor Peset de Valencia^{189, 190}.

El equipo ofrece una resistencia a la espiración, lo que asegura el cierre del velo del paladar y evita la contaminación de la muestra por óxido nítrico procedente de la nariz y senos paranasales, donde su concentración es muy superior.

PARAMETRO	VALOR
Sensibilidad	1.5 ppb
Precisión: 0-200 ppb 200-1000 ppb	±2.5 ppb <±1%
Rango: Modo clínico Modo investigación	0-200 ppb 0-1000 ppb
Tiempo demora	<0.8 seg
Frecuencia muestreo	20Hz

Tabla 5. Características del captador de quimioluminiscencia (NiOx; Aerocrine; Solna; Suecia).

ppb: partes por billón.

Inicialmente se prefijaron los siguientes parámetros en el trazador (criterios de las American Thoracic Society):

- Tiempo de espiración = 10 segundos.
- Espacio muerto (no analizable) = 0.7 L
- Flujo máximo medio = 0.055 L/s
- Flujo mínimo medio = 0.045 L/s.
- Flujo instantáneo mínimo = 0.0375 L/s.
- Flujo instantáneo máximo = 0.0626 L/s.
- Presión instantánea mínima = 5 cm H₂O.
- Presión instantánea máxima = 20 cm H₂O.
- Máxima desviación permitida en plateau NO = 5 ppb o 10%.
- Tiempo de demora mínimo entre dos determinaciones = 30 seg.
- Rango de la determinación para cálculo de plateau NO = 70- 100% de la maniobra espiratoria.

A continuación se explicó detalladamente al paciente como debía realizar las maniobras, ayudándose del feedback visual. La maniobra debía comenzar con una espiración hasta volumen residual (RV), sin conectarse al sistema. A continuación, el paciente adaptaba los labios a la boquilla del trazador y realizaba una inspiración máxima hasta TLC (el aire inhalado por el paciente estaba libre de NO y de ozono). Inmediatamente y sin período de apnea, realizaba una espiración manteniendo un flujo adecuado, para lo que se ayudaba del display visual.

Se indicó al paciente que debía realizar todas las maniobras sin respirar a través de la nariz aunque la misma no se ocluyó mediante pinza nasal.

Se realizaron mediciones de NO exhalado hasta obtener tres determinaciones que mostraban concentraciones repetibles (variaciones de $\pm 10\%$) y, entre las mismas, se respetó un período de al menos 30 segundos, durante el que el paciente respiraba aire ambiental a volumen corriente.

La señal luminosa detectada en la cámara de quimioluminiscencia del trazador (el NO reacciona con O_3 y la reacción libera un fotón) se transmitía a una computadora, que registraba además el flujo y la presión en la boca. La concentración de NO exhalado se determinó mediante el software apropiado, midiendo las concentraciones de NO durante la fase final del plateau de la curva. Además, durante el período de plateau debía mantenerse un flujo uniforme, sin variaciones importantes. Si no se conseguían estas condiciones, la maniobra se consideraba incorrecta por el software del sistema y los valores no se medían.

La concentración de NO exhalado se expresó mediante la media aritmética de tres determinaciones correctas, en ppb.

La determinación de NO exhalado se realizó siempre antes de la espirometría y de la prueba de provocación bronquial con cada uno de los broncoconstrictores.

6.7. DETERMINACIONES DE FLUJO ESPIRATORIO MÁXIMO (FEM):

Los registros de FEM se realizaron siguiendo las recomendaciones de la European Respiratory Society y de la American Thoracic Society¹⁸⁸ mediante un medidor de flujo pico (mini Wright) dos veces al día: por la mañana entre las 8 y las 9 horas y por la tarde, entre las 21 y las 22 h.

En cada uno de los momentos anteriores, el paciente realizó tres determinaciones y anotó en el cuaderno de registro de datos (CRD) el resultado de todas ellas. Para el análisis, se eligió el mejor de los tres valores registrados en cada momento.

Los pacientes fueron instruidos en el manejo del medidor de flujo pico y en la forma de realizar las lecturas. Además del adiestramiento verbal, se les entregaron instrucciones escritas, en las que se detallaba la forma de realizar las determinaciones y de anotar los resultados de las mismas.

La variabilidad circadiana del FEM se expresó mediante su amplitud con respecto a la media del día (Ampl % media), que se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\frac{FEM \text{ más alto del día} - FEM \text{ más bajo del día}}{FEM_{\text{medio}}} \times 100$$

A partir de los valores de cada día, se calculó la media aritmética de los días de registro.

6.8. ESCALA ANALÓGICA VISUAL PARA LA TOS

La escala analógica visual (VAS) es un instrumento que trata de medir una característica de un sujeto de estudio que es difícil de medir directamente por tratarse de un valor subjetivo, pero cuyo rango puede representarse como un continuum de valores. Habitualmente se utiliza para la medición del dolor. En el caso de la tos crónica se utilizó una línea horizontal de 100 mm de longitud, enmarcada entre dos puntos que representan la ausencia de tos y la máxima intensidad de tos posible. La escala analógica visual que los pacientes utilizaron para indicar la intensidad de la tos en nuestro estudio se representa en la figura 8.

El paciente realizó una marca que cortaba la línea horizontal en el punto que representaba su percepción de la intensidad de la tos durante el periodo previo al tratamiento y durante el periodo posterior al tratamiento con propionato de fluticasona. La puntuación de la VAS se determinó midiendo la distancia en milímetros desde el punto correspondiente a la ausencia de tos hasta la marca vertical indicada por el paciente.

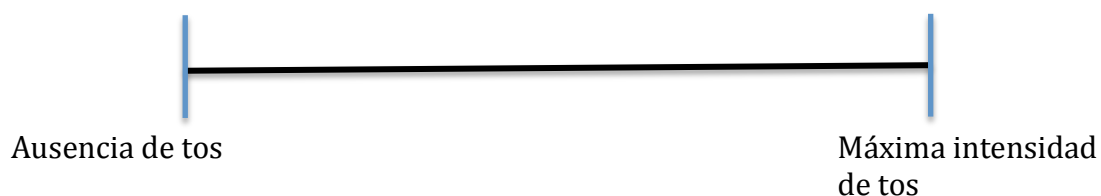


Figura 8. Escala analógica visual (VAS) para evaluar la intensidad de la tos.

6.9. PUNTUACIONES DE SÍNTOMAS

La puntuación de síntomas diurnos y nocturnos que se utilizó en el estudio se muestra en la tabla 6.

Síntomas diurnos	Síntomas nocturnos
0= Ausencia de tos durante el día	0= ausencia de tos durante la noche
1= tos durante un periodo corto de tiempo	1=tos al despertarse
2=tos durante dos o más periodos de tiempo	2=tos que le despertó una vez o hizo que se despertara antes del sueño.
3=tos frecuente, que no interfirió con la actividad diaria	3=tos que le despertó dos o más veces
4=tos frecuente, que interfirió en la actividad diaria	4=tos la mayor parte de la noche
5=tos la mayor parte del día, que le impidió realizar las actividades habituales.	5=tos toda la noche, que le impidió conciliar el sueño

Tabla 6. Puntuaciones de síntomas diurnos y nocturnos para la tos.

7. RESULTADOS

7. RESULTADOS

Un total de 53 pacientes fueron incluidos inicialmente en el estudio, pero la determinación de ENO únicamente se realizó en 43 de ellos. Por tanto, esos 43 pacientes integraron el grupo de estudio para la variable principal. Algunas de las variables secundarias se analizaron en el total de 53 pacientes estudiados. La determinación de ENO no pudo realizarse en todos los pacientes seleccionados debido a que, durante algunos periodos de tiempo, el equipo de quimio-luminiscencia presentó problemas técnicos que dificultaron decisivamente la realización de la exploración con garantías.

Por otra parte, se encontró hiperrespuesta bronquial a metacolina (valores de $PC_{20} \leq 8$ mg/ml) en sólo 4 de los pacientes con tos crónica. La presencia de hiperrespuesta bronquial a AMP (valores de $PC_{20} \leq 400$ mg/ml) se identificó en sólo 2 de los pacientes estudiados. Este pequeño número de pacientes con hiperrespuesta bronquial hizo imposible el análisis de la utilidad del estudio de hiperrespuesta bronquial para identificar la respuesta al tratamiento con propionato de fluticasona.

El estudio se realizó entre los meses de mayo del 2004 y junio del 2006.

7.1. UTILIDAD DE LA DETERMINACIÓN DE ENO PARA PREDECIR LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON ESTEROIDES INHALADOS.

En la tabla 7 se señalan las características basales de los 53 pacientes reclutados para el estudio.

Características	Datos
Pacientes	53
Edad, años	48 (43-52)
Hombre/Mujer	22/31
Prick test positivo (si/no)	19/34
FEV ₁ % teórico	113 (109-118)
FEV ₁ /FVC, %	81 (80-83)
FEM (Amplitud de la media %)	7 (5-9)
ENO, ppb	23.62 (19.05-28.19)
HRB AMP (si /no)	2/51
HRB Metacolina (si/no)	4/49

Tabla 7. Características basales de los pacientes del estudio. Los datos se presentan como número o media (95% CI).

El análisis de la curva ROC construida con la capacidad de diferentes puntos de corte de ENO para identificar la respuesta o ausencia de respuesta al tratamiento con propionato de fluticasona, con el mayor grado de sensibilidad y especificidad se muestra en la figura 9. Puede observarse que el punto de corte de 20 ppb es el que muestra mejor capacidad predictiva. No obstante, algunos estudios han propuesto un punto de corte de 30 ppb para diferenciar asmáticos de individuos sanos y, por este motivo, hemos analizado también la capacidad discriminativa de este segundo punto de corte en nuestros pacientes con tos crónica.

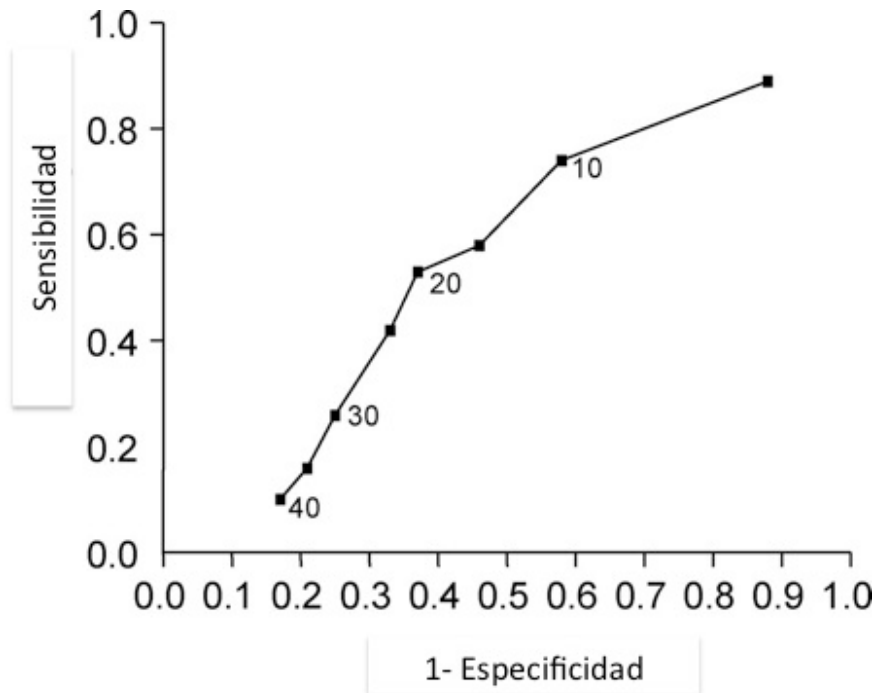


Figura 9. Curva ROC (Receiver Operating Characteristic) para la capacidad de ENO para identificar la respuesta al tratamiento con corticoides inhalados.

Como se ha indicado previamente, se consideró que los pacientes presentaban una buena respuesta al tratamiento con propionato de fluticasona cuando, al final de las 4 semanas de tratamiento, se identificaba una disminución en la puntuación de los síntomas de tos de al menos un 50% con respecto al valor basal.

La capacidad discriminativa de los dos puntos de corte analizados para diferenciar respondedores y no respondedores al tratamiento con propionato de fluticasona se detalla en la tabla 8.

	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
ENO >20 ppb	53	63	53	63
ENO >30 ppb	26	75	45	56

ENO: óxido nítrico en aire exhalado; VPP: valor predictivo positivo; VPN : valor predictivo negativo.

Tabla 8. Capacidad discriminativa del ENO (punto de corte de 20 ppb y de 30 ppb) para identificar buena respuesta al tratamiento con fluticasona en los pacientes con tos crónica.

Es evidente que, aunque ambos puntos de corte muestran una capacidad discriminativa muy deficiente, esta es mejor para el punto de corte de 20 ppb.

7.2. DIFERENCIAS EN CARACTERÍSTICAS BASALES Y RESPUESTA AL TRATAMIENTO ENTRE PACIENTES CON ENO NORMAL E INDIVIDUOS CON ENO ELEVADO

7.2.1. Punto de corte para ENO de 30 ppb

Las características basales de cada uno de los dos grupos de pacientes se detallan en la tabla 9. Puede observarse que no se identificaron diferencias entre los pacientes con ENO elevado y los que mostraban ENO normal, ni en las características antropométricas y clínicas evaluadas, ni en los parámetros de función pulmonar o prevalencia y grado de hiperrespuesta bronquial al agonista directo o indirecto. Tampoco se observaron diferencias entre los dos grupos en la intensidad de la tos en situación basal.

	ENO ALTO	ENO NORMAL	P
Sexo (hombre/mujer)	6/5	12/20	0.48
Edad	45 (36.29-53.8)	48.5 (43-53)	0.50
Atópicos (sí/no)	4/7	13/19	1
FEV₁ (%)	116 (108-124)	111 (105-118)	0.43
FVC (%)	118 (109-127)	114 (107-121)	0.54
FEV₁/FVC (%)	82 (79-85)	81(79-83)	0.77
HRB AMP (sí/no)	0/11	2/30	1
HRB METACOLINA (sí/no)	2/9	2/30	0.26
PUNTUACIÓN DE LA TOS DIURNA	1,46 (0,60-2,32)	2,03 (1,63-2,43)	0.16
PUNTUACIÓN DE LA TOS NOCTURNA	0.98 (0.01-1.96)	1.10 (0.80-1.41)	0.73
VARIABILIDAD DEL FEM (AMPLITUD DE LA MEDIA%)	5.48 (2.67-8.29)	7.05 (4.86-9.23)	0.42
VAS (mm)	36.09 (20.84-52.97)	35,93 (29.32-42.54)	0.88
IR METACOLINA, % / log mg/dl	3.06 (0.62-5.50)	3.58 (2.61-4.55)	0.61
IR AMP, % / log mg/dl	2.46 (1.10-3.82)	2.21 (1.20-3.21)	0.78

Tabla 9. Características de los pacientes del estudio según niveles de ENO (punto de corte 30 ppb). IR= Índice de reactividad; VAS= Escala analógica visual; HRB= hiperreactividad bronquial.

Un total de 6 de los 11 pacientes con ENO elevado (54%) y 10 de los 32 pacientes con ENO normal (31%) presentaron una buena respuesta al tratamiento con propionato de fluticasona. Las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p=0.69$).

En el grupo de pacientes con valores basales de ENO elevados, se observaba una reducción de la intensidad de los síntomas nocturnos de tos al final del período de tratamiento con propionato de fluticasona, comparado con los valores basales (Tabla 10, Figura 10). Sin embargo, las diferencias no alcanzaron la significación estadística ($p=0.18$). Las modificaciones de los síntomas nocturnos de tos en los pacientes con ENO normal tampoco fueron estadísticamente significativas ($p=0.28$). Además, las reducciones de la puntuación de síntomas nocturnos de tos fueron cuantitativamente similares en ambos grupos, con una media para las diferencias de -0.31 (95% CI, -0.84 a 0.6 , $p=0.73$).

La puntuación de síntomas de tos durante el día no cambiaba significativamente como consecuencia del tratamiento en los pacientes con ENO elevado (Tabla 10; Figura 11). Por el contrario, se observaba una disminución significativa de estos síntomas durante el periodo de tratamiento en el grupo de pacientes con concentraciones de ENO normales. No obstante, la diferencia en las modificaciones de los síntomas durante el día entre los dos grupos no fue estadísticamente significativa, con una diferencia media (95% CI) de $-0,57$ ($-1,38$ a $0,23$, $p=0,16$).

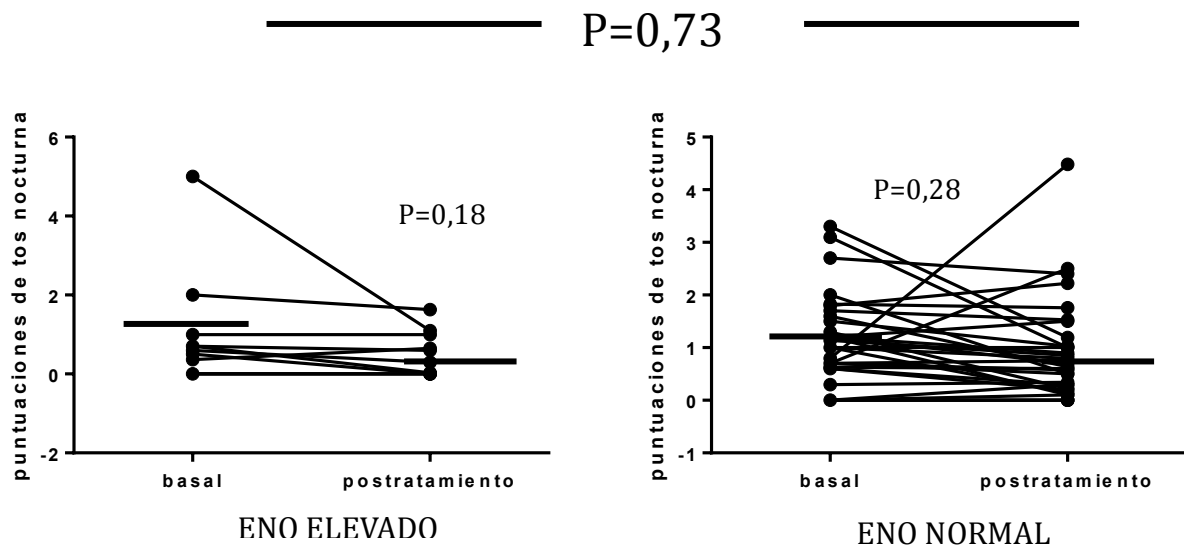


Figura 10. Cambios individuales en las puntuaciones de síntomas de tos nocturnos en pacientes con ENO elevado y normal. Punto de corte= 30ppb. Las líneas horizontales representan la media aritmética.

	Basal	Tras tratamiento	P
<i>Punto de corte = 20 ppb</i>			
Puntuación de tos diurna			
ENO aumentado	1.58 (1.04-2.12)	1.34 (0.84-1.85)	0.22
ENO normal	2.13 (1.64-2.62)	1.38 (0.96-1.80)	0.008
Puntuación de tos nocturna			
ENO aumentado	0.94 (0.33-1.54)	0.44 (0.21-0.68)	0.04
ENO normal	1.92 (0.86-1.52)	1.09 (0.66-1.52)	0.64
<i>Punto de corte = 30 ppb</i>			
Puntuación de tos diurna			
ENO aumentado	1.46 (0.60-2.32)	1.36 (0.70-2.02)	0.73
ENO normal	2.03 (1.63-2.43)	1.37 (0.99-1.74)	0.002
Puntuación de tos nocturna			
ENO aumentado	0.99 (0.02-1.96)	0.48 (0.10-0.86)	0.18
ENO normal	1.11 (0.80-1.42)	0.91 (0.57-1.25)	0.28

Los valores son medias (95% CI); Los valores de P son por comparación con los valores basales en cada grupo.

Tabla 10. Puntuación de síntomas de la tos basal y tras 4 semanas de tratamiento con propionato de fluticasona en sujetos con niveles de ENO normales y elevados.

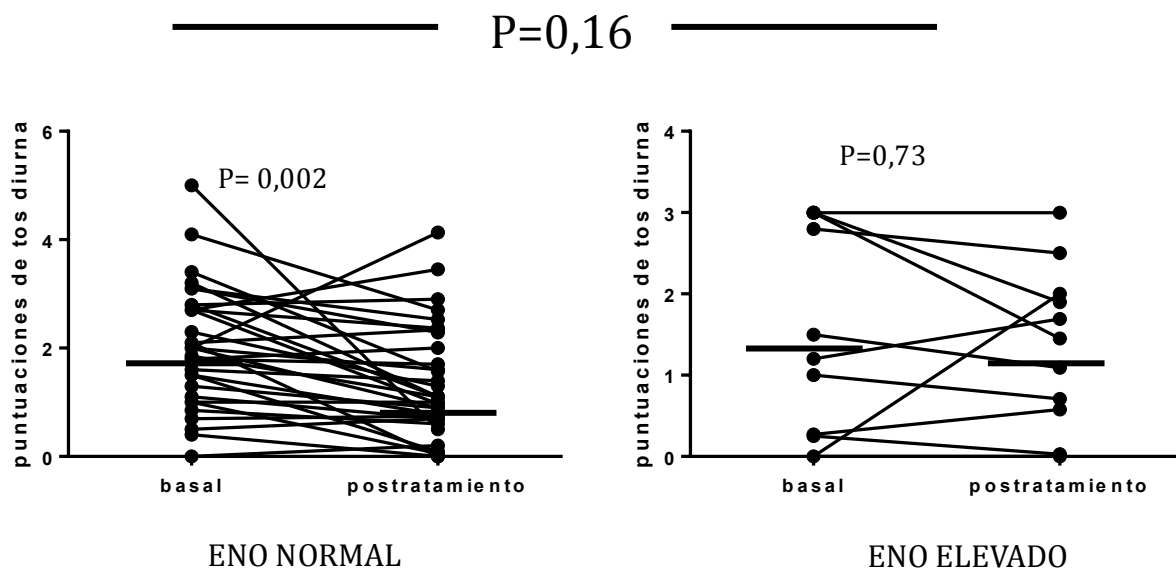


Figura 11. Cambios individuales en las puntuaciones de síntomas de la tos diurnos en pacientes con ENO elevado y normal (punto de corte= 30 ppb). Las líneas horizontales representan la media aritmética.

No se observaron modificaciones significativas de la escala analógica visual (VAS) para la tos como consecuencia del tratamiento con propionato de fluticasona inhalada, ni en el grupo de pacientes con ENO por encima de 30 ppb ni tampoco en el grupo con valores de ENO en rango normal (Tabla 11, Figura 12). La diferencia media (95% CI) para los cambios en este parámetro entre los dos grupos era de 3.84 mm (-9.14 a 16.84 mm, $p=0,55$) (Figura 13).

	Cambios medios	95% CI	Valor de p
VAS en pacientes con ENO\geq30 ppb	8.88	-3.59 a 21.37	p=0,13
VAS en pacientes con ENO<30 ppb	5.04	-1.85 a 11.93	p=0.14

Tabla 11. Cambios medios e intervalo de confianza del 95% para los mismos en la escala analógica visual (VAS) para evaluar la intensidad de la tos en los pacientes con valores de ENO elevado y en los sujetos con ENO normal. Punto de corte= 30 ppb.

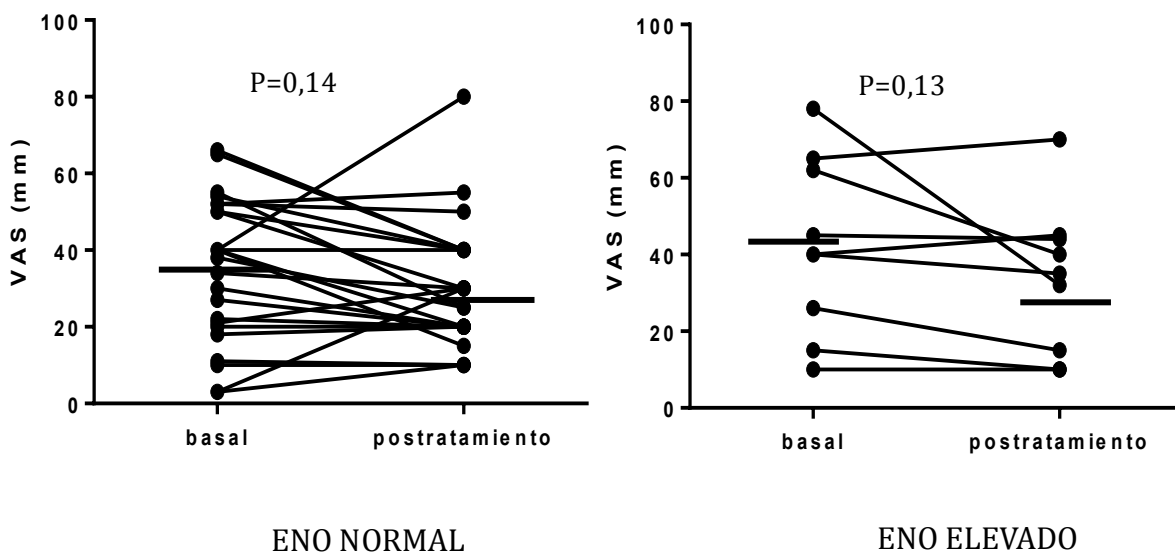


Figura 12. Cambios individuales en la escala analógica visual (VAS) tras tratamiento con propionato de fluticasona. Las líneas horizontales representan la media aritmética.

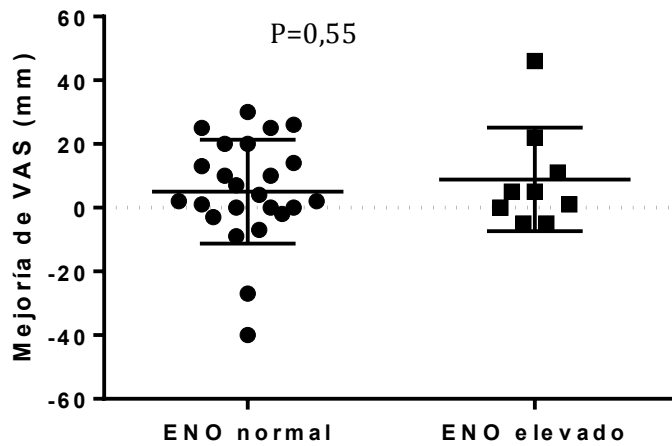


Figura 13. Cambios individuales en la escala analógica visual (VAS) en pacientes con ENO normal y sujetos con ENO elevado (punto de corte= 30 ppb). *Los puntos representan la diferencia entre el valor de VAS antes y después del tratamiento con propionato de fluticasona en cada paciente y las líneas horizontales la media aritmética y el 95% CI.*

No se encontraron diferencias significativas en los valores de función pulmonar, en lo que se refiere al FEV₁, la FVC, relación FEV₁/FVC, variabilidad circadiana del FEM, Raw y sGaw (Figura 14) entre los pacientes con valores de ENO elevados y aquellos que mostraban cifras normales para este marcador.

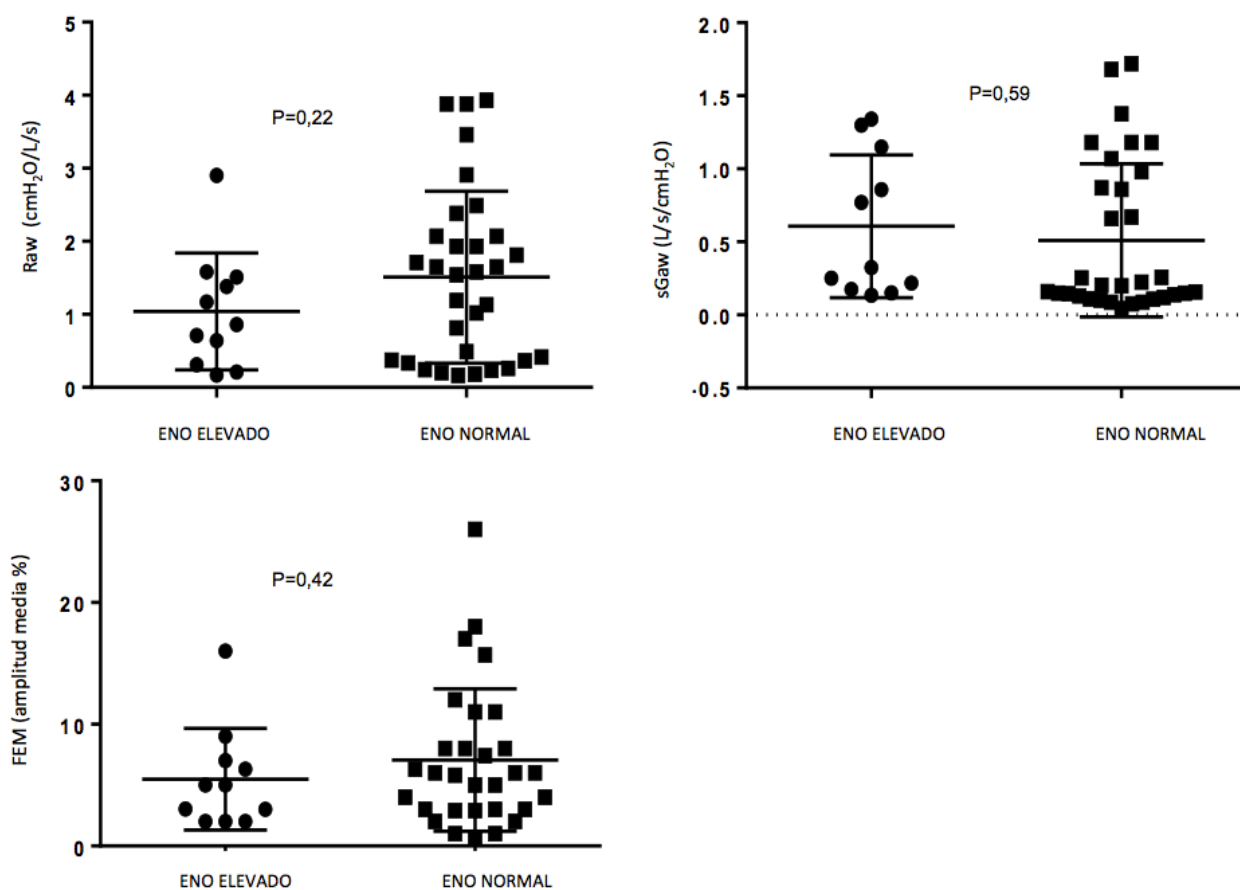


Figura 14. Variabilidad individual del FEM y valores de sGaw y Raw en pacientes con niveles de ENO elevado y normales (punto de corte= 30 ppb). Las líneas horizontales representan la media aritmética y el 95% CI.

Tampoco se observaron diferencias significativas entre ambos grupos de pacientes en lo que se refiere al incremento del FEV₁ o de la sGaw post-salbutamol (figura 15).

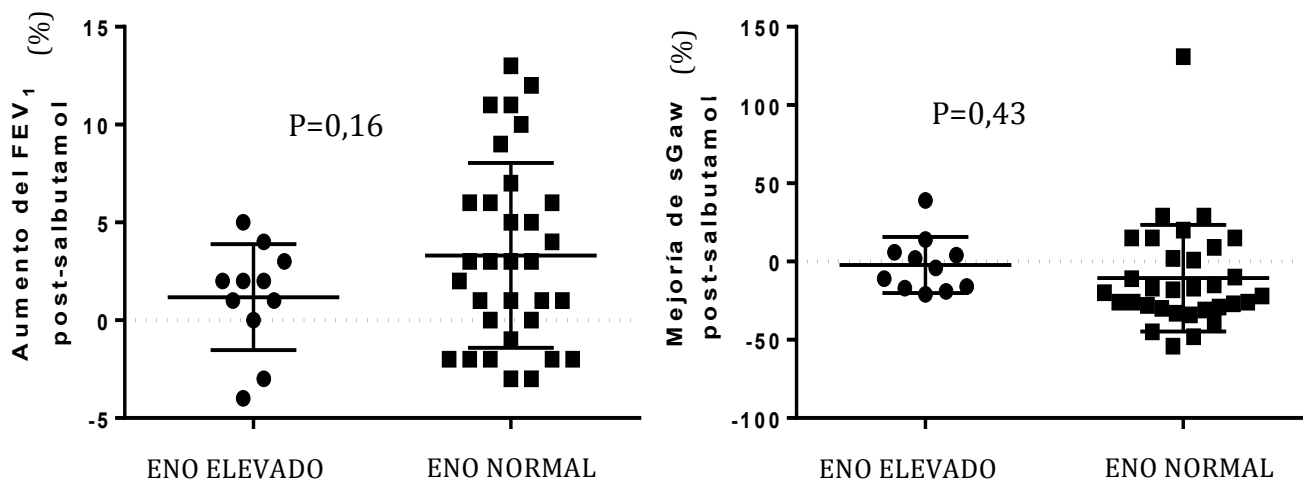


Figura 15. Aumento del FEV₁ y mejoría de sGaw tras salbutamol en pacientes con valores de ENO altos y normales (punto de corte= 30 ppb). Las líneas horizontales representan la media aritmética y el 95% CI.

7.2.2. Punto de corte para ENO de 20 ppb

Utilizando este punto de corte para el ENO, se observó una buena respuesta al tratamiento con propionato de fluticasona en 10 de los 19 pacientes con ENO elevado (52,6%) y en 9 de los 24 pacientes con ENO normal (37,5%). Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p=0,70$).

La puntuación de síntomas durante la noche se modificaba significativamente, en el grupo de pacientes con ENO elevado, como consecuencia del tratamiento con propionato de fluticasona, mientras que las modificaciones no fueron significativas en el grupo de pacientes con ENO normal (Tabla 10; Figura 16). A pesar de ello, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las modificaciones de este parámetro entre ambos grupos de pacientes, siendo la diferencia media (95% CI) para los cambios en este parámetro de -0,38 (-0,26 a 1,03, $p=0,23$).

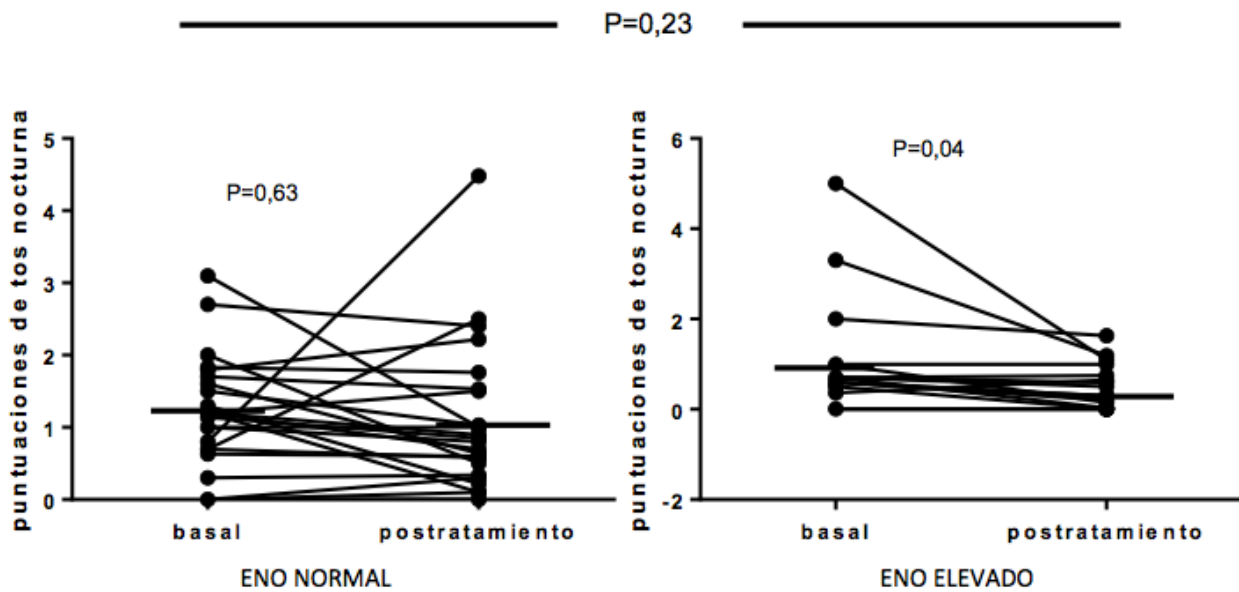


Figura 16. Cambios en las puntuaciones de los síntomas nocturnos en pacientes con ENO normal y elevado. Punto de corte= 20 ppb. Las líneas horizontales representan la media aritmética.

La puntuación de síntomas de tos durante el día no cambiaba significativamente como consecuencia del tratamiento en los pacientes con ENO elevado (Tabla 10; Figura 17). Sin embargo, se observaba una disminución significativa de estos síntomas durante el periodo de tratamiento en el grupo de pacientes con concentraciones de ENO normales. No obstante, la diferencia en las modificaciones de los síntomas durante el día entre los dos grupos no fue estadísticamente significativa, con una diferencia media (95% CI) de -0,51 (-1,17 a 0,15, p=0,12).

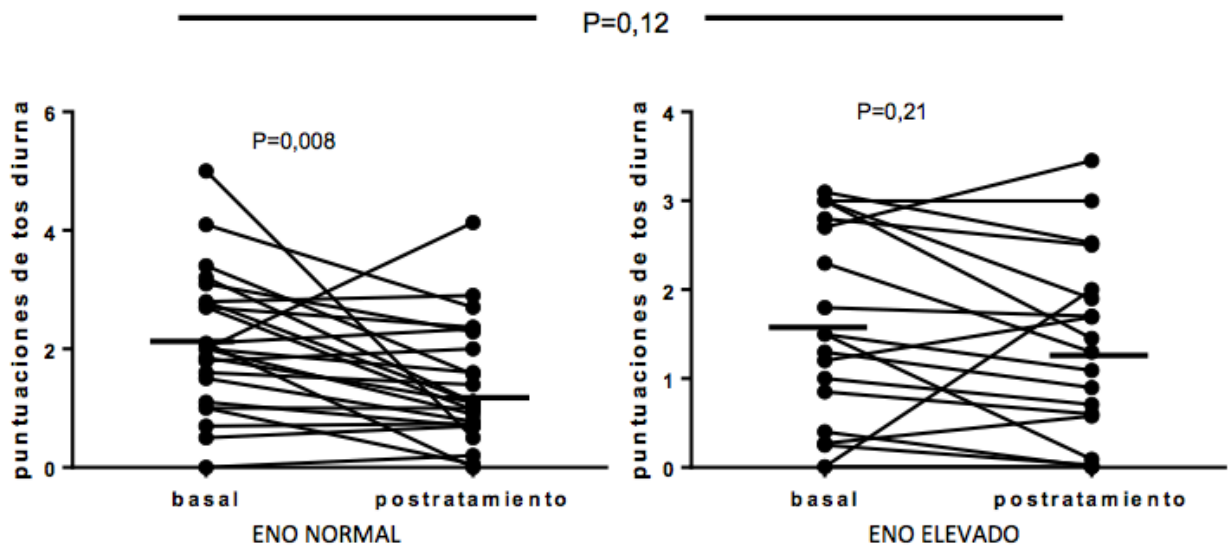


Figura 17. Cambios individuales en las puntuaciones de los síntomas diarios de tos en pacientes con ENO normal y elevado (punto de corte= 20 ppb). Las líneas horizontales representan la media aritmética.

En el grupo de pacientes con valores de ENO elevados, los cambios en la VAS inducidos por el tratamiento con propionato de fluticasona tendían a la significación estadística ($p=0.051$, tabla 12, Figura 18); por el contrario, estos cambios no eran significativos en el grupo de pacientes con valores de ENO normales. Sin embargo, las modificaciones de la VAS eran similares cuantitativamente en ambos grupos de pacientes, con una diferencia media (95% CI) entre ellos de 2,32 (-9,69 a 14,33 mm, $p=0,70$).

	Cambios medios	95% CI	Valor de p
VAS en pacientes con ENO \geq 20 ppb	8.26	-0.06 a 16.6	p=0,051
VAS en pacientes con ENO<20 ppb	5.94	-3.10 a 14.99	p=0.18

Tabla 12. Cambios medios (95% CI) en la escala analógica visual (VAS) en el grupo de pacientes con ENO elevado y en los sujetos con ENO normal. Punto de corte= 20 ppb.

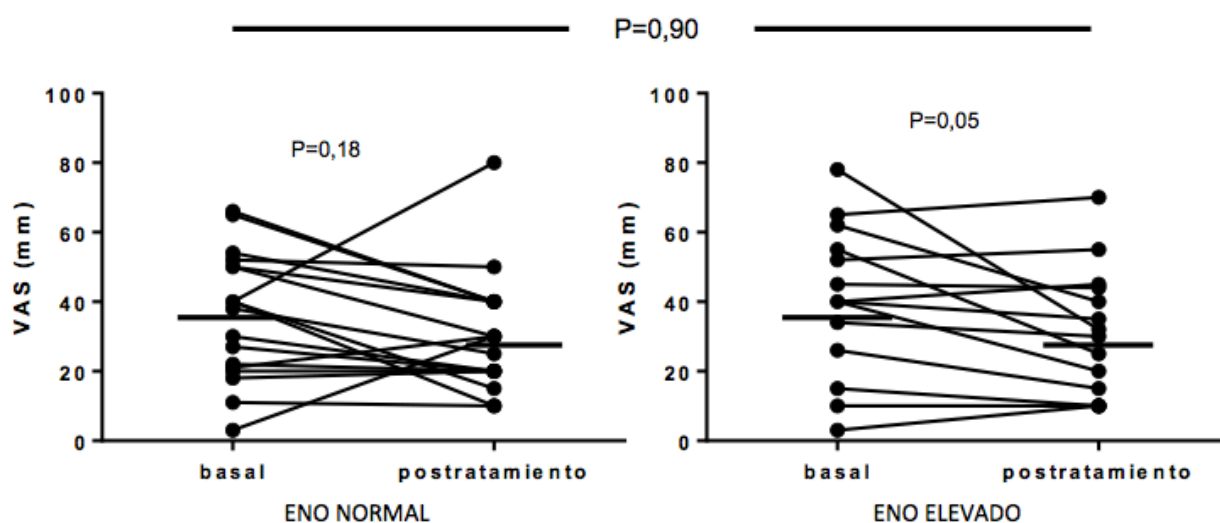


Figura 18. Valores individuales de la VAS antes y después del tratamiento con propionato de fluticasona en pacientes con ENO normal y elevado (punto de corte= 20ppb). Las líneas horizontales representan la media aritmética.

No se encontraron diferencias significativas en los valores de función pulmonar (figura 19), en lo que se refiere al FEV₁, la FVC, relación FEV₁/FVC, variabilidad circadiana del FEM, sGaw y Raw entre los pacientes con valores de ENO elevados y aquellos que mostraban cifras normales para este marcador.

Tampoco se observaron diferencias significativas entre ambos grupos de pacientes, en lo que se refiere al incremento de sGaw post-salbutamol (figura 19). No obstante, las mejorías del FEV₁ tras salbutamol fueron significativamente mayores en el grupo de pacientes con valores de ENO normales respecto a los pacientes con valores altos de este marcador ($p=0,03$), (Figura 19).

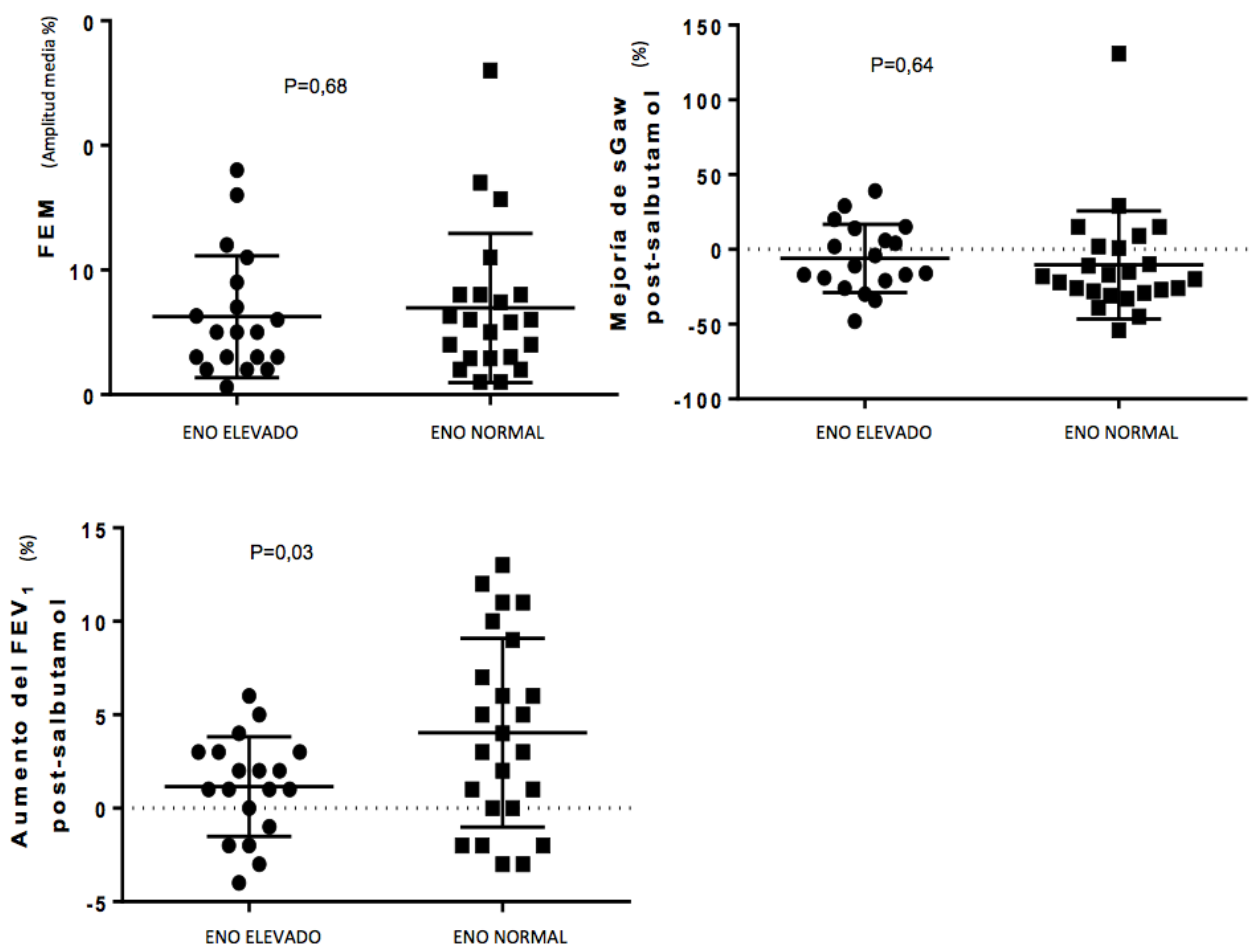


Figura 19. Variabilidad del FEM (amplitud media %) y mejoría del FEV₁ y de la sGaw post-salbutamol en pacientes con ENO elevado y normal. Punto de corte= 20 ppb. Las líneas horizontales representan la media aritmética y el 95% CI.

7.3. PREVALENCIA DE HIPERRESPUESTA BRONQUIAL A METACOLINA Y A AMP EN PACIENTES CON TOS CRÓNICA.

Un total de 4 de los 53 pacientes evaluados presentaban una PC20 metacolina ≤ 8 mg/ml. Por tanto, la prevalencia de hiperrespuesta bronquial a metacolina en nuestra población era del 7,5%. De los 53 pacientes, únicamente 2 presentaban PC20 AMP ≤ 400 mg/ml, por lo que la prevalencia de hiperrespuesta bronquial a AMP en nuestra población fue de 3,8%. Los dos pacientes con respuesta positiva a AMP presentaban también hiperrespuesta a metacolina.

7.4. RELACIÓN ENTRE LA INTENSIDAD DE LA RESPUESTA BRONQUIAL A CADA AGONISTA Y LA VARIABILIDAD CIRCADIANA DEL FEM.

Dado que el número de pacientes con hiperrespuesta bronquial frente a AMP y metacolina fue tan escaso (sólo 2 pacientes) para AMP y 4 para metacolina, no ha sido posible determinar si existen diferencias en la variabilidad circadiana entre pacientes con y sin hiperrespuesta bronquial a cada agonista. Por este motivo, hemos realizado el cálculo del Índice de reactividad, analizando los porcentajes de deterioro del FEV₁ en respuesta al agonista en relación con la concentración más alta del broncoconstrictor. Este índice nos aporta información numérica sobre la intensidad de la respuesta bronquial frente a cada agente broncoconstrictor. La relación entre el índice de reactividad a cada uno de los broncoconstrictores y la variabilidad circadiana del FEM pudo analizarse en sólo 49 de los 53 pacientes, pues 4 no realizaron registros aceptables del FEM. En este grupo, no pudo identificarse una correlación significativa entre estas variables, ni el caso de AMP ($r=0,12$, $p=0,40$) ni en el caso de metacolina ($r=0,26$, $p=0,07$) (Figuras 20 y 21).

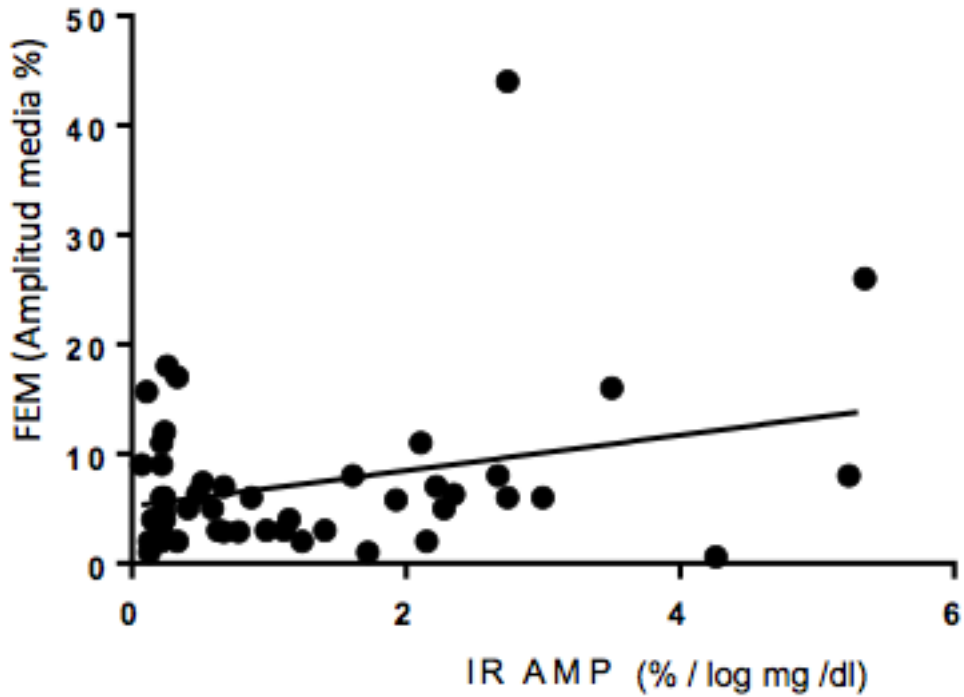


Figura 20. Relación entre el índice de reactividad (IR) a AMP y la variabilidad circadiana del FEM ($r=0.12$, $p=0.40$).

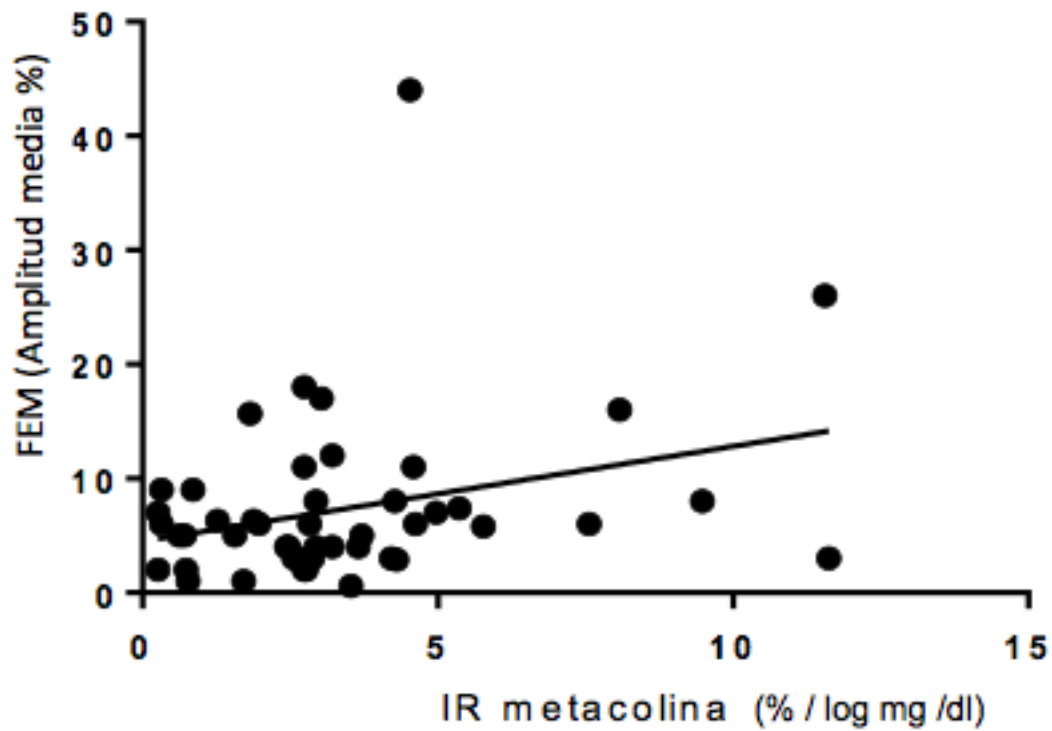


Figura 21. Relación entre el IR a metacolina y la variabilidad circadiana del FEM ($r=0.26$, $p=0.07$).

7.5. RELACIÓN ENTRE EL ÍNDICE DE REACTIVIDAD Y LA CONCENTRACIÓN DE ENO.

En los 46 pacientes en los que pudo analizarse (en 7 no fue posible realizar determinaciones de ENO), no se encontró correlación entre el IR con cada uno de los dos broncoconstrictores y los valores de ENO ($r=0.23$, $p=0.12$ para AMP y $r=-0.16$, $p=0.27$ para metacolina).

7.6. RELACIÓN ENTRE EL ÍNDICE DE REACTIVIDAD Y LA INTENSIDAD DE LOS SÍNTOMAS DE TOS

En los 43 pacientes en los que pudo analizarse, no se encontró relación significativa entre la puntuación de los síntomas de tos durante el día en periodo basal y el IR con cada uno de los broncoconstrictores ($r=0.15$, $p=0.34$ para AMP y $r=0.18$, $p=0.25$ para metacolina). Algo similar ocurría en el caso de la puntuación de los síntomas de tos durante la noche ($r=0.15$, $p=0.34$ para AMP y $r=0.15$, $p=0.34$ para metacolina).

Por otra parte, no hemos podido identificar una relación entre el IR para cada agonista y la intensidad de la tos evaluada mediante la VAS ($r=0.09$, $p=0.57$ para AMP y $r=0.10$, $p=0.52$ para metacolina).

7.7.DIFERENCIAS ENTRE PACIENTES CON TOS CRÓNICA RESPONDEDORES Y NO RESPONDEDORES AL TRATAMIENTO CON PROPIONATO DE FLUTICASONA INHALADA.

En nuestros pacientes con tos crónica, hemos intentado identificar características que estuvieran relacionadas con una buena respuesta al tratamiento con esteroides inhalados. Esto pudiera resultar de ayuda para identificar candidatos adecuados para este tratamiento.

Del total de 43 pacientes analizados 19 (44%) tuvieron una respuesta favorable al tratamiento con propionato de fluticasona inhalada. Como puede observarse en la tabla 13, estos sujetos mostraron una función pulmonar basal más deteriorada (tanto FVC como FEV₁ en porcentaje del teórico) y una menor respuesta a salbutamol inhalado que aquellos pacientes no respondedores (n=24).

No se encontraron diferencias significativas entre el grupo de pacientes con respuesta favorable al tratamiento y el grupo de no respondedores en el resto de características clínicas, presencia de atopia, niveles de ENO (figura 22), variabilidad del FEM y prevalencia o grado de hiperrespuesta bronquial a metacolina o AMP (Tabla 13).

Variables	Respondedores	No respondedores	P
Edad (años)	47 (40-55)	48 (42-54)	0.93
Hombre/mujer	8/11	10/14	0.99
Prick test positivo	9	8	0.53
FEV₁ % teórico	106.7(100.5-113.0)	118.3 (110.7-125.8)	0.02
FVC % teórico	107.7(100.9-114.4)	121.8 (113.9-129.8)	0.009
FEV₁/FVC%	82.7 (80.-84.8)	81.3 (79.0-83.5)	0.36
Incremento FEV₁ post-salbutamol	1.3 (-0.9-3.4)	3.9 (2.3-5.7)	0.04
Variabilidad del FEM (amplitud media %)	6.6 (3.5-9.7)	6.7 (4.6-8.8)*	0.96
HRB a metacolina (si/no)	1/18	3/21	0.62
HRB a AMP (si/no)	1/18	1/23	0.98
IR, % /log mg/dl metacolina	3.04 (1.58-4.51)	3.78 (2.58-4.98)	0.42
IR, % /log mg/dl AMP	2.25(0-96-3.54)	2.29 (1.21-3.38)	0.96
ENO ppb	23.2 (17.5-30.7)	18.6 (14.7-24.0)	0.25

Tabla 13. Características de los pacientes respondedores y no respondedores a propionato de fluticasona. Los datos se presentan como número o media aritmética, excepto en el caso de ENO en que los valores corresponden a la media geométrica (95% CI). HRB= hiperreactividad bronquial; AMP=adenosina 5'-monofosfato; IR= índice de reactividad bronquial; ENO= óxido nítrico exhalado. *sólo pudo analizarse en 23 pacientes.

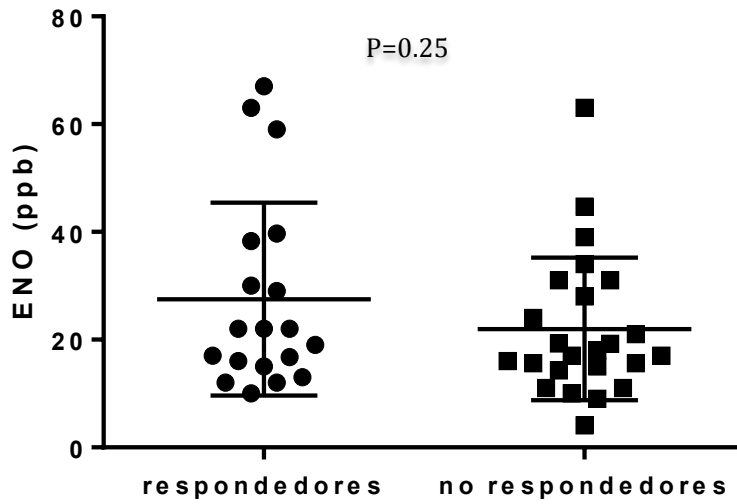


Figura 22. Valores de ENO en ppb en pacientes respondedores al tratamiento con propionato de fluticasona y en pacientes no respondedores. Las líneas horizontales representan la media geométrica y el 95% CI.

8. DESARROLLO ARGUMENTAL Y DISCUSIÓN

8. DESARROLLO ARGUMENTAL Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio confirman que el tratamiento con corticoides inhalados es efectivo en una proporción significativa de pacientes con tos crónica. No obstante, los resultados de nuestro estudio demuestran que la determinación de óxido nítrico en aire exhalado no es útil para identificar qué pacientes con tos crónica sin diagnóstico de asma bronquial ni de reflujo gastroesofágico responderán satisfactoriamente a este tratamiento. Del mismo modo, la identificación del grado de respuesta bronquial a broncoconstrictores directos e indirectos no resulta tampoco útil para identificar a los pacientes que mejorarán con el esteroide inhalado. De hecho, un porcentaje no despreciable de pacientes con respuesta normal a la provocación con metacolina y AMP mostraron una mejoría significativa de las puntuaciones de síntomas de la tos tras el tratamiento con propionato de fluticasona.

Algunas de las principales causas de tos crónica cursan con inflamación en la vía aérea, de predominio eosinofílico, como la tos equivalente de asma o la bronquitis eosinofílica sin asma. Ambas se han asociado a niveles aumentados de ENO y a respuesta favorable al tratamiento con corticoides inhalados. En algunos estudios se sugiere que los niveles de óxido nítrico en aire exhalado pueden servir de apoyo al diagnóstico de bronquitis eosinofílica – de tal modo que unos niveles altos no confirman el diagnóstico, pero unos niveles bajos lo podrían excluir¹⁷³. Estas conclusiones se apoyan en los hallazgos de niveles de óxido nítrico elevado en pacientes con diagnóstico de bronquitis eosinofílica obtenidos por algunos autores^{179,180} y en la comprobación de la existencia de una correlación positiva entre el recuento de eosinófilos obtenidos en muestras de esputo⁴⁸, inflamación eosinofílica en muestras de biopsia bronquial³⁴, eosinofilia en sangre periférica¹⁹¹ o en lavado broncoalveolar^{47,192} y los niveles de óxido nítrico en aire exhalado.

Los niveles de óxido nítrico exhalado que se han sugerido como punto de corte para detectar bronquitis eosinofílica son de 31,7 ppb, muy similares a los propuestos para el diagnóstico de asma. No obstante hoy en día el diagnóstico de bronquitis eosinofílica se realiza mediante la constatación de eosinofilia en esputo y de ausencia de hiperreactividad bronquial y no por los niveles detectados de óxido nítrico en aire exhalado. Además, los pacientes con esta patología responden favorablemente al tratamiento con corticoides inhalados, y de hecho la respuesta favorable a estos fármacos se considera diagnóstica. En nuestro estudio, cabría esperar que al menos un porcentaje de pacientes en torno al 10% pudiera sufrir una bronquitis eosinofílica y por tanto, podrían beneficiarse del tratamiento esteroideo. En nuestro estudio, no nos hemos propuesto como objetivo identificar a los pacientes con bronquitis eosinofílica, para lo que hubiera sido necesario realizar una determinación del número de eosinófilos en muestras de esputo inducido. No obstante, la bronquitis eosinofílica se caracteriza también por su buena respuesta al tratamiento con esteroides inhalados y por presentar concentraciones elevadas de NO en aire exhalado. Por tanto, mediante la utilización conjunta de estas dos características podría identificarse, de manera indirecta, la presencia de bronquitis eosinofílica. Un total de 11 de nuestros 43 pacientes evaluables presentaba concentraciones de ENO elevadas (≥ 30 ppb). Esto representa una prevalencia del 25%, muy superior a la prevalencia de bronquitis eosinofílica, comunicada en diferentes estudios, que se ha estimado en aproximadamente un 10%. La explicación de esta aparente discordancia pudiera residir en la imperfecta relación entre la intensidad de la inflamación eosinofílica y las concentraciones de ENO, sobre todo en los pacientes tratados con corticoides^{194,193}.

En uno de estos estudios, Payne y cols¹⁹⁴ objetivaron que esta correlación entre eosinofilia y niveles de ENO se observaba en pacientes con asma que permanecían con síntomas a pesar del tratamiento con corticoides, y no en aquellos con una buena respuesta terapéutica. Esto parece

sugerir que únicamente el asma clínicamente activo sería capaz de aumentar las concentraciones de ENO.

Existen otras patologías que pueden comportar una inflamación eosinofílica de la vía aérea como el reflujo gastroesofágico y que a diferencia de las anteriores, no mejoran con el tratamiento con corticoides y sí con el tratamiento con inhibidores de la bomba de protones. En más del 50% de estos pacientes no se encuentran síntomas clínicos de reflujo tales como pirosis, o dolor retroesternal¹⁹⁵. A pesar de ello, parece que la inflamación eosinofílica inducida por el reflujo gastroesofágico sería de una magnitud muy inferior a la que se observa en la bronquitis eosinofílica y en el asma bronquial y probablemente estaría por debajo del umbral necesario para producir una elevación en los niveles de óxido nítrico en aire exhalado¹⁹⁷.

Recientemente se ha publicado un estudio¹⁹⁶ que evaluaba la capacidad de ENO para discriminar entre pacientes con y sin inflamación eosinofílica de la vía aérea (fundamentalmente asma clásica, tos equivalente de asma y bronquitis eosinofílica). Encontraron un 60.3% de pacientes con reflujo gastroesofágico entre las causas de tos sin inflamación eosinofílica. Al analizar el punto de corte que presentaba mejor sensibilidad y especificidad para diferenciar procesos que cursaban con inflamación eosinofílica y otras situaciones, encontraron que el punto de corte para ENO de 33 ppb mostraba una sensibilidad del 60,5% y una especificidad del 100% únicamente en aquellos pacientes con inflamación eosinofílica que además tenían reflujo gastroesofágico. En contraste, en el grupo de pacientes con inflamación eosinofílica que no presentaban reflujo la especificidad de este punto de corte era únicamente del 28%. A la luz de estos resultados, los autores sugieren que habría que tener en cuenta la presencia o no de reflujo gastroesofágico a la hora de interpretar los valores de ENO en el diagnóstico de tos crónica asociada con inflamación esinofílica de la vía aérea.

En nuestros pacientes no hemos realizado un estudio exhaustivo para excluir RGE, por lo que cabe la posibilidad de que alguno de nuestros pacientes con inflamación eosinofílica (que podría traducirse en aumento de ENO) no respondan al tratamiento con corticoides inhalados por asociarse esta inflamación a la presencia de reflujo gastroesofágico y no ser únicamente expresión de una inflamación primaria de la vía aérea. En todo caso parece que, a pesar de la correlación entre eosinofilia y ENO, estos dos parámetros de inflamación no expresan aspectos idénticos de la inflamación de la vía aérea y por tanto, no serían parámetros intercambiables a la hora de diagnosticar o evaluar la respuesta al tratamiento en pacientes con clínica respiratoria secundaria a inflamación eosinofílica.

Por otra parte, la posibilidad de que una parte de nuestros pacientes pudieran presentar tos equivalente de asma plantearía la posibilidad de que la determinación de óxido nítrico fuera de gran ayuda para identificarlos. En estos pacientes, al igual que en pacientes con asma bronquial clásica, se identifica una inflamación bronquial, que habitualmente es de predominio eosinófilo. También en este grupo de pacientes, algunos estudios han encontrado niveles de óxido nítrico en aire exhalado más altos y una buena respuesta al tratamiento con corticoides inhalados¹⁸⁰. En nuestra población, la proporción de pacientes con hiperreactividad bronquial a metacolina es muy baja y menor aún en lo que se refiere a AMP. Esta escasa representación de la tos equivalente de asma en nuestra población es probablemente una consecuencia de nuestros criterios de selección y hace imposible evaluar la relación entre la presencia de tos equivalente de asma, las concentraciones de óxido nítrico exhalado y la respuesta al tratamiento.

Diferentes estudios han evaluado la utilidad de la determinación de óxido nítrico en aire

exhalado para predecir la respuesta al tratamiento con esteroides inhalados en pacientes con tos crónica.

En el estudio de Smith¹⁸¹ y colaboradores, el ENO resultó útil para predecir qué pacientes con síntomas respiratorios en las últimas 6 semanas respondían al tratamiento con fluticasona inhalada a dosis de 500 mcg al día durante 4 semanas. De los 52 pacientes que finalizaron el estudio, 27 fueron finalmente diagnosticados de asma – a diferencia de lo que sucede en nuestro estudio. Además, el punto de corte que se obtuvo como predictor de respuesta fue de 47 ppb, muy alejado de los 35 ppb que propugnan las guías y de los 20 y 30 ppb que nosotros hemos identificado como más adecuados en nuestro estudio. Los autores concluyen que la mejor estrategia para predecir una buena respuesta al tratamiento esteroideo estaría integrada por la combinación de ENO elevado e hiperrespuesta a AMP, con una sensibilidad del 82% y una especificidad del 91%. Las diferencias en el tiempo de evolución de los síntomas respiratorios, en la amplitud de síntomas aceptada como válida para incluir a los pacientes en el estudio y en la dosis de fluticasona inhalada son factores que podrían explicar las diferencias entre los hallazgos de este estudio y los encontrados en nuestra población.

Hahn y cols¹⁸³ también concluyeron que el ENO es útil para predecir respuesta a corticoides inhalados en pacientes con tos crónica. Este estudio tuvo un diseño retrospectivo, con lo que sus resultados no son estrictamente comparables con los nuestros. Además, entre los pacientes evaluados se incluyeron asmáticos que ya tomaban corticoides inhalados. Los autores encontraron que el punto de corte que predecía mejor la respuesta favorable a los corticoides inhalados era el de 38 ppb, aunque sostienen que el punto de corte de 35 ppb, recomendado por la ATS, tiene un alto VPP y VPN. Sin embargo, no encontraron diferencias en los niveles de ENO

entre pacientes respondedores y no respondedores a corticoides inhalados, en los pacientes que ya tomaban previamente corticoides inhalados para su tratamiento.

En el año 2013, Hsu y colaboradores ¹⁸⁴ publicaron los resultados de un estudio realizado en una población de pacientes con tos crónica originarios de Taiwan. Los pacientes fueron tratados de manera empírica y de acuerdo con la sintomatología predominante (síndrome de la tos de vía respiratoria superior, rinosinusitis). Tras excluir a los pacientes con diagnóstico de asma (mediante prueba broncodilatadora) realizaron una prueba de hiperrespuesta bronquial con metacolina y una determinación de ENO y dividieron a los pacientes según los niveles de ENO y según la respuesta al tratamiento recibido (corticoides inhalados en aquellos con niveles de ENO > 30 ppb y tratamiento para el RGE y otros a los pacientes con niveles inferiores de ENO). El punto de corte que mejor predijo la respuesta al tratamiento con fluticasona inhalada (250 mcg cada 12 horas durante 2 semanas) fue el de 33.9 ppb. Estos autores encontraron una respuesta terapéutica significativa en el grupo de pacientes con ENO elevado, incluso entre aquellos con hiperrespuesta bronquial a metacolina borderline (PC20 entre 4 y 16 mg/ml). En este estudio se realizó una terapia escalonada siguiendo los protocolos de las guías de práctica clínica (primero tratamiento de tos equivalente de asma y reflujo gastroesofágico, posteriormente si la respuesta no era completa en función de los niveles de ENO y de la HRB, se añadían corticoides inhalados sólo o con broncodilatadores o se intensificaba la terapia antireflujo). Encontraron que, en un gran porcentaje de pacientes (53%), se identificaban varias de las principales causas de tos crónica (al menos dos de ellas). Puesto que el estudio contempla el tratamiento de esta policausalidad es probable que los resultados en términos de mejoría en la clínica de la tos se vean influenciados por este tratamiento global y no sólo por el tratamiento con corticoides inhalados. En este sentido, esta aproximación sería la que más se ajustaría a la experiencia real de la práctica clínica

de rutina.

En general, la diferencia fundamental entre los estudios previamente citados y nuestro estudio estriba en los criterios de selección de pacientes, puesto que en la mayoría de estos estudios se incluyeron pacientes asmáticos que, como ya se ha comentado, tienen unos niveles de ENO elevados y suelen responder al tratamiento con esteroides. En nuestro estudio eliminamos de la muestra a pacientes con diagnóstico claro responsable de la tos (bien fuera asma, reflujo gastroesofágico, bronquitis eosinofílica, tos equivalente de asma). Cuando nos encontramos ante un paciente con tos crónica en la práctica clínica la realización de pruebas para el diagnóstico de asma bronquial es un procedimiento sencillo y al alcance de cualquier centro. En cambio, no todos los centros disponen de los recursos técnicos y humanos para realizar las pruebas diagnósticas necesarias para la evaluación de la inflamación en la vía aérea.

Como se ha indicado previamente, algunos estudios demostraron que los esteroides sistémicos mejoran la tos en la mayoría de los pacientes con tos crónica. Sin embargo, no parece razonable recomendar este tratamiento, a la vista de los efectos adversos asociados al tratamiento crónico con el mismo.

Se podría argumentar que la dosis de fluticasona que administramos a nuestros pacientes es demasiado baja para producir una mejoría. Los niveles de ENO se reducen con cantidades pequeñas de budesonida (200 mcg) y la mejoría puede ser exponencial hasta los 400 u 800 mcg¹⁹⁷. Asimismo, la mejoría de la respuesta a metacolina, tras tratamiento con corticoides inhalados, se obtiene de forma muy precoz y se mantiene en el tiempo con dosis relativamente pequeñas. Sería pues esperable que esas mismas dosis capaces de mejorar la inflamación y la hiperrespuesta

bronquial fueran suficientes también para inducir una mejoría clínica. En todo caso, una parte de los pacientes de nuestro estudio sí que encontraron una mejoría significativa de su tos crónica tras el tratamiento con fluticasona inhalada, aunque al analizar las características de los buenos respondedores, estos pertenecían predominantemente al grupo con bajas concentraciones de ENO (por debajo de 30 ppb).

Una reciente revisión de la Cochrane¹⁹⁸ acerca de la eficacia de los esteroides inhalados en los pacientes con tos subaguda y crónica ha concluido que no existen suficientes datos que apoyen el uso de tratamiento empírico con esteroides inhalados en la tos crónica de origen desconocido. En consecuencia, recomienda filiar, dentro de lo posible, la etiología de la tos antes de iniciar el tratamiento.

En nuestro conocimiento, no existen estudios previos que hayan determinado la prevalencia de hiperrespuesta bronquial a la inhalación de AMP en pacientes con tos crónica sin diagnóstico de asma. La prevalencia de hiperrespuesta bronquial a AMP en nuestros pacientes con tos crónica sin asma es del 3,8%, sensiblemente inferior a la encontrada en sujetos asintomáticos atópicos (16,4% de respuestas positivas)⁴³, en pacientes con diagnóstico de asma (80% de respuestas positivas en asmáticos atópicos y 30% de respuestas positivas en asmáticos no atópicos¹⁹⁹), EPOC (67% de respuestas positivas)²⁰⁰ o rinitis alérgica (del 36²⁰¹ al 67% de respuestas positivas²⁰²). Por otra parte, en nuestro estudio no hemos podido identificar una relación entre el grado de respuesta a la inhalación de AMP y las concentraciones de óxido nítrico en aire exhalado. Además, no se han podido identificar diferencias en este grado de broncoconstricción, inducido por el agonista indirecto, entre los pacientes con tos crónica que respondían favorablemente al tratamiento con esteroides inhalados y los que no respondían a

este tratamiento. Si se acepta que las concentraciones de ENO evalúan indirectamente el grado de inflamación bronquial, los resultados de nuestro estudio sugieren que, al menos en los pacientes con tos crónica, la respuesta a AMP no representa un método aceptable para medir indirectamente el grado de inflamación de la vía aérea. Estos datos contrastan con la buena relación que se ha identificado entre la respuesta a AMP y la concentración de ENO en los pacientes con asma^{34, 39}.

En nuestro estudio, la prevalencia de hiperrespuesta bronquial a metacolina es también baja (7,5%), lo que probablemente se debe al pequeño número de pacientes con tos equivalente de asma incluidos en nuestra serie. Seguramente esto es consecuencia, en gran parte, de nuestros criterios de selección.

Como hemos mencionado anteriormente, en otros estudios tampoco se encontraron porcentajes elevados de hiperrespuesta bronquial a metacolina entre los pacientes con tos crónica, ni siquiera en aquellos individuos en los que se identificó una mejoría significativa tras el tratamiento con corticoides inhalados²⁰⁰. Parece que la reactividad a AMP no identificaba adecuadamente la inflamación en la vía aérea, en nuestra población de estudio. Además, la respuesta a este agonista indirecto no se correlacionaba con la reactividad frente a un broncoconstrictor directo como la metacolina. En un estudio²⁰³ se ha demostrado que, al analizar la respuesta frente a estos broncoconstrictores en términos no sólo de la sensibilidad (PC_{20}), sino también de la presencia o no de respuesta máxima (meseta o *plateau*), tampoco se identificaba una correlación entre la respuesta a ambos agonistas. Probablemente esto indica que ambos agentes exploran aspectos diferentes de los cambios estructurales de la vía aérea. Además, en el mismo estudio²⁰³ no pudo identificarse tampoco una relación entre la presencia de respuesta máxima a cada agonista y los marcadores no invasivos de inflamación bronquial como el ENO o el pH del condensado de aire exhalado.

En nuestros pacientes con tos crónica y buena respuesta al tratamiento con fluticasona inhalada hemos encontrado valores del FEV₁ y de FVC significativamente más bajos que en los individuos que no respondían al tratamiento. Esto no puede atribuirse a diferencias en las características antropométricas o en la prevalencia de atopia entre las dos poblaciones (ver tabla 13) y una probable explicación pudiera ser un mayor tono del músculo liso bronquial en los pacientes con tos crónica que responderán favorablemente al tratamiento antiinflamatorio. Sin embargo, el mayor incremento del FEV₁ tras salbutamol en el grupo de no respondedores y el similar grado de variabilidad circadiana del FEM en ambos grupos, no parecen indicar que las diferencias en la respuesta al corticoide inhalado entre los dos grupos puedan atribuirse al tono del músculo liso bronquial en ambas poblaciones. Si se confirman en futuros estudios, esta afectación de la función pulmonar en los pacientes con tos crónica pudiera obedecer a alteraciones incipientes estructurales. Sin embargo, no se encontró una relación significativa de estas alteraciones de la función pulmonar con la variabilidad del FEM en los pacientes respondedores. En cambio, al analizar las diferencias en estos valores de función pulmonar según FEV₁ (% teórico), FVC (% teórico), relación FEV₁/FVC (%) y los valores pletismográficos de sGaw y Raw, entre el grupo de pacientes con niveles de ENO por debajo de 20 ppb o 30 ppb y el grupo de pacientes con niveles elevados de ENO, no se encontraron diferencias significativas. Teniendo en cuenta que se trata de pacientes sin asma ni EPOC, de acuerdo con los criterios de inclusión y que el porcentaje de pacientes en los que hemos demostrado hiperreactividad bronquial es muy bajo, estos resultados son concordantes con las características de nuestra muestra. En el estudio de Hsu y colaboradores previamente mencionado¹⁸⁴, los resultados obtenidos muestran que, a pesar de que la proporción de pacientes con tos crónica que presentan unos niveles de ENO elevados es alta, el porcentaje de pacientes en los que se encuentra hiperreactividad bronquial medida mediante pruebas de provocación bronquial con metacolina (PC20 <4 mg/ml) es bajo (2,5%). En

ninguno de los individuos de nuestro estudio se encontraron valores de función pulmonar (FEV1% teórico, FVC % teórico, FEV1/FVC%) inferiores al rango de normalidad.

Estudios epidemiológicos^{204,205} han relacionado los síntomas de tos con un deterioro de la función pulmonar o con una mayor reactividad bronquial frente a estímulos broncoconstrictores. Nuestros resultados, en cambio, no parecen confirmar estas afirmaciones, puesto que no hemos podido demostrar un aumento de la reactividad bronquial a agonistas broncoconstrictores (AMP y metacolina) en nuestros pacientes con tos. Algunos estudios²⁰⁶ han demostrado que en los pacientes con tos equivalente de asma se produce un engrosamiento de la pared bronquial que podría contribuir a esta hiperrespuesta bronquial y que también se encontraría, aunque en menor grado, en pacientes con tos crónica no asmática. Matsumoto y colaboradores²⁰⁷ en un estudio transversal realizado en pacientes con asma clásica y tos equivalente de asma encontraron una menor sensibilidad y una menor reactividad (entendida como la pendiente de la curva dosis-respuesta) a metacolina en pacientes con tos equivalente de asma comparado con pacientes con asma clásica. La sensibilidad a metacolina está más relacionada con la inflamación bronquial asociada al aumento del número y de la actividad de las células inflamatorias, con el daño en el epitelio o con un anormal control neural. En cambio, la reactividad bronquial se considera más estrechamente ligada a la contractilidad del músculo liso. Los hallazgos de este estudio podrían interpretarse de modo que, en los pacientes con tos equivalente de asma, predominaría más el componente de hiperrespuesta bronquial no asociado con inflamación ni con alteración del músculo liso. En el estudio de Hsu y colaboradores¹⁸⁴ se obtuvieron resultados similares en cuanto a la hiperrespuesta bronquial en pacientes no asmáticos con tos crónica, lo cual resulta sorprendente en tanto la tos equivalente de asma se considera una de las causas más frecuentes de tos crónica, tanto en niños como en adultos. Además, en nuestros pacientes encontramos una

muy pobre respuesta a la estimulación bronquial con AMP y esto, unido al escaso número de pacientes con ENO elevado entre aquellos respondedores, sugiere que la inflamación en estos pacientes (si la hubiere) pudiera no ser la causa última de los síntomas sino quizá, como sugieren algunos autores⁸³, la consecuencia de la tos.

Clásicamente la determinación de la variabilidad circadiana del FEM se ha propuesto como una herramienta diagnóstica de asma en pacientes con función pulmonar basal normal o incapaces de realizar una correcta maniobra espirométrica y como un método para evaluar el control del paciente asmático. En la última guía de práctica clínica de la National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI)²⁰⁸ desaparece el FEM como método de evaluación de la gravedad del asma y se mantiene como herramienta para monitorizar tendencias en el control del asma a lo largo del tiempo en pacientes con exacerbaciones graves, con asma persistente moderada o grave y en pacientes con pobre percepción de la obstrucción. Sin embargo, persiste la recomendación de la determinación del FEM para el diagnóstico de tos equivalente de asma. En nuestros pacientes con tos, la variabilidad circadiana del FEM no se relaciona ni con la respuesta a corticoides, ni con la reactividad frente a broncoconstrictores ni tampoco con los niveles de ENO. Gibson y colaboradores²⁰⁹, en un estudio realizado en niños con hiperrespuesta bronquial a metacolina, encontraron una variabilidad del FEM elevada y similar a la obtenida en los pacientes asmáticos. Además, la misma se correlacionaba con la PC20 metacolina. En este estudio, el cálculo de la variabilidad del FEM se hacía midiendo el FEM matutino y comparándolo con una determinación basal post-broncodilatador realizada 3 días después de la provocación bronquial con metacolina. Por tanto, los resultados de este estudio no pueden compararse con los nuestros.

Posteriormente otros estudios han demostrado una relación entre la variabilidad circadiana del FEM, en pacientes con rinitis alérgica y asma leve, y la reactividad frente a

metacolina. Esta relación es más evidente en aquellos pacientes en los que no se encuentra una meseta *-plateau-* en la curva dosis respuesta^{210,211}. Más recientemente, en un estudio que pretendía evaluar la utilidad diagnóstica de la variabilidad circadiana del FEM y de la respuesta al broncodilatador comparados con la hiperrespuesta bronquial a metacolina, en sujetos con sospecha de asma, no se encontraron correlaciones significativas entre estos parámetros. Además se identificó una pobre sensibilidad y una tasa alta de falsos negativos tanto para la variabilidad del FEM como para la espirometría post-broncodilatador²¹². Otro estudio²¹³ realizado en pacientes con tos equivalente de asma tampoco encontró una correlación entre la variabilidad circadiana del FEM y la respuesta a metacolina, sugiriendo que la determinación de la variabilidad del FEM no sería un buen marcador del grado de hipersensibilidad bronquial en este tipo de pacientes.

La determinación de la variabilidad del FEM puede ser una herramienta útil para detectar una obstrucción bronquial cuando no se dispone de espirometría, con una sensibilidad y especificidad mayor que los cuestionarios de síntomas, pero menor que las pruebas de función pulmonar convencionales²¹⁴. No obstante, esta prueba también tiene inconvenientes, puesto que depende del esfuerzo espiratorio del paciente y, cuando se realiza en casa sin supervisión médica, puede conducir a errores en la medición y en el registro de datos. En nuestros pacientes, no hemos encontrado una variabilidad significativa del FEM en ninguno de los dos grupos (con o sin ENO elevado) y esto es coherente con nuestro hallazgo de unos valores de función pulmonar normales. Además, el tamaño muestral en nuestro estudio se calculó para la variable principal y, debido a las características de la determinación del FEM, es probable que el número de sujetos analizables requerido para identificar diferencias significativas, sin incurrir en un error estadístico tipo II (β), pueda ser sensiblemente mayor.

Se ha sugerido²¹⁵ que la determinación de la sGaw es más sensible que el FEV₁ para identificar afectación de vías aéreas. Además. Este parámetro no depende del esfuerzo y no se afecta por las maniobras de inspiración y espiración forzadas. Sin embargo, es menos reproducible. Skinner et al²¹⁶ encontraron que la determinación de este parámetro era más sensible a los cambios post-salbutamol que el FEV₁ en sujetos sanos, mientras que en sujetos con obstrucción bronquial establecida, la sensibilidad era similar. Más recientemente se ha propuesto la determinación de la sRaw como parámetro más sensible que el FEV₁ para detectar hiperreactividad bronquial a metacolina inhalada²¹⁷. Además, Pelkonen y cols²¹⁸ han encontrado una mejoría en la sGaw a las 6 semanas de tratamiento con 400 mcg al día de budesonida inhalada, en niños con síntomas respiratorios. En el presente estudio no se encontraron diferencias significativas en la Raw ni en la sGaw entre los pacientes con tos crónica que presentaban valores de ENO elevados y aquellos que mostraban cifras normales de este marcador.

Hubiera resultado interesante poder evaluar los parámetros de función pulmonar relacionados con obstrucción extratorácica, sobre todo la determinación del flujo medio inspiratorio (FIF₅₀) y su relación también con los parámetros de hiperreactividad bronquial. En otros trabajos previos realizados en nuestra unidad de Alergología, el FIF₅₀ se planteó como un posible parámetro a evaluar para identificar hiperrespuesta bronquial extratorácica. No obstante, la variabilidad intrasujeto de este parámetro era muy alta y no conseguimos una adecuada reproducibilidad. En consecuencia, se desestimó su inclusión como variable evaluable en el presente estudio. En un estudio de Ribeiro²¹⁹ y cols, en el año 2008, se obtuvo una buena reproducibilidad en este parámetro cuando se evaluaba basalmente y también cuando se hacía durante la provocación bronquial con agonistas indirectos (AMP) y directos (metacolina). Otros

autores²²⁰ han evaluado este parámetro, pero con resultados poco reproducibles. Es posible que la determinación del FIF₅₀ pudiera aportar información adicional acerca de la presencia de hiperrespuesta faringo-traqueo-laríngea, no detectable con las pruebas funcionales estándar y fácil de determinar con los mismos equipos que se utilizan para la espirometría convencional. Los pacientes con hiperrespuesta localizada a este nivel es posible que no tengan una respuesta satisfactoria al tratamiento con corticoides inhalados y es muy probable que no manifiesten alteraciones en la determinación de parámetros de inflamación a nivel bronquial.

En el presente estudio, se ha encontrado que los pacientes con tos crónica que presentan concentraciones de ENO superiores a 20 ppb mejoran significativamente, en lo que se refiere a la intensidad de la tos nocturna, tras el tratamiento con propionato de fluticasona inhalada. Esto confirma resultados de otros estudios^{179, 181, 182} que demostraron una buena respuesta al tratamiento con esteroides inhalados en los pacientes con tos crónica y valores elevados de ENO. Sin embargo, la mejoría de la intensidad de los síntomas de la tos diurnos tras el tratamiento con corticoides inhalados, únicamente se observaba en el grupo con valores normales. La interpretación de este resultado es difícil y no tenemos explicación coherente para el mismo.

La principal limitación del presente estudio (característica que comparte con otros estudios mencionados que relacionan niveles de ENO y respuesta a corticoides inhalados) es que el periodo de tratamiento de los pacientes es corto. En los pacientes con tos crónica de años de evolución se pueden dar a largo plazo ciclos de mejoría parcial y otros de deterioro clínico importante, sin que ni el paciente ni el clínico puedan atribuir una u otra condición a una determinada intervención terapéutica. Al evaluar a los pacientes únicamente durante un periodo de un mes, pudiéramos haber detectado mejorías clínicas propias de esta variabilidad inherente de la intensidad de la tos

crónica y no inducidas por el tratamiento. Por este motivo, los resultados de nuestro estudio necesitan confirmarse en investigaciones diseñadas para evaluar la eficacia terapéutica durante un periodo de tiempo más prolongado.

En la práctica clínica es frecuente que, en los pacientes con tos crónica, coexistan varios factores que son responsables de estimular el reflejo de la tos (RGE, Síndrome de la tos de vía respiratoria superior, BE, etc). Por tanto, el tratamiento de uno sólo de estos factores pudiera mejorar sólo de forma parcial la sintomatología. En nuestro estudio, el tratamiento se redujo a los corticoides inhalados y es posible que utilizando un tratamiento concomitante para cubrir las otras etiologías frecuentes de la tos se pudiera obtener una mejoría más significativa. Las guías proponen utilizar de forma escalonada los tratamientos para las diferentes causas frecuentes de tos crónica, añadiendo tratamientos de forma empírica, según la sintomatología predominante, en el caso de que el tratamiento previo no alcance una mejoría suficiente de los síntomas clínicos.

Cabe la posibilidad de que, en nuestro estudio, el porcentaje de pacientes con Síndrome de la tos de vía respiratoria superior (anteriormente conocido como goteo retrorinal) que incluye también la inflamación local y la hiperrespuesta al reflejo de la tos, sea mayor del esperado, lo cual estaría en consonancia con los resultados de otros autores (que hablan de porcentajes en torno al 47%)¹⁷⁷. Este hecho explicaría (al menos en parte) la ausencia de hiperrespuesta bronquial a agonistas directos e indirectos encontrada en nuestra población de estudio (tanto entre los pacientes con ENO alto como entre los pacientes con ENO normal) y también la pobre respuesta al tratamiento con corticoides inhalados entre los pacientes con niveles de ENO más altos.

Es posible que el menor número de atópicos en nuestra muestra contribuyera también a la

ausencia de hiperrespuesta bronquial y a los menores niveles de ENO encontrados.

En pacientes con rinitis alérgica, se ha demostrado que los niveles de ENO y la hiperrespuesta a AMP aumentan significativamente durante el periodo de exposición polínica pero no se normalizan fuera de ella. Esto quizá es un reflejo de la interrelación entre la vía aérea superior y la inferior (siguiendo el concepto de 'única vía aérea') y parece sugerir que la exposición al alérgeno induce cambios inflamatorios que permanecen incluso al cabo de largos períodos de ausencia de exposición alérgica²²¹.

En nuestro estudio, no se ha contemplado la evaluación de la hiperrespuesta al reflejo de la tos para valorar la "hipersensibilidad del reflejo de la tos" que se produce como resultado del traumatismo generado por la propia tos y también de la hipersensibilidad del reflejo de la tos a nivel central. Recientemente se ha encontrado una mejoría en la calidad de vida y en la frecuencia y severidad de la tos, en pacientes con tos crónica refractaria al tratamiento convencional, sin alteraciones de la función pulmonar y con niveles de ENO en rango normal (media de ENO de 12,4ppb), tras 10 semanas de tratamiento con gabapentina oral²²². En este sentido, existen pruebas estandarizadas para medir de forma objetiva esta sensibilidad a nivel de las vías neuronales periféricas (como puede ser el test de capsaicina) y para valorar la respuesta terapéutica más allá de las puntuaciones de síntomas o de las escalas analógicas visuales que nosotros hemos utilizado. En cualquier caso, nuestro estudio se propuso evaluar la mejoría de la tos y de la afectación en la calidad de vida del paciente, pero no hemos investigado los mecanismos que generan la respuesta terapéutica. En consecuencia, no parece necesario evaluar la respuesta de los receptores de la tos para determinar el beneficio terapéutico en nuestros pacientes.

Aceptamos que la medición del ENO es expresión de la inflamación eosinofílica presente en la vía aérea. No obstante, este parámetro se influencia por otros aspectos de la inflamación más allá del número de eosinófilos y se modifica por un gran número de factores relacionados o no con la expresión clínica. Por esto, es posible que la interpretación del resultado de los niveles de ENO resulte algo mucho más complejo y que por tanto no pueda servir como única guía para una decisión diagnóstica o terapéutica. En efecto, se han encontrado niveles aumentados de ENO en pacientes con una inflamación persistente de la vía aérea que no sigue un patrón típicamente eosinofílico, como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Además este incremento en la EPOC era superior durante las reagudizaciones y en los estadios más graves y se correlacionaba inversamente con el FEV₁ en porcentaje del teórico, con lo que de confirmarse podría ser un marcador de progresión de la enfermedad¹²⁸.

Otra posibilidad sería que los niveles de ENO en nuestro estudio, se vieran influenciados por la exposición alérgica en los individuos atópicos y que si se hubiese tenido en cuenta el grado de exposición al alérgeno, los niveles de ENO pudieran haber sido bajos a consecuencia de una escasa exposición alérgica. Muchos estudios han encontrado, en sujetos alérgicos, una relación entre la exposición al alérgeno y los niveles de ENO^{131,132,191}. En sujetos asmáticos, se ha encontrado una mayor concentración media de ENO en los individuos atópicos que en aquellos sin sensibilización alérgica²²³. En pacientes con asma en remisión clínica durante los 12 meses previos, se observaron mayores niveles de ENO que en el grupo control de sujetos sanos³⁴, lo que parece indicar que es la presencia de sensibilización alérgica y no la actividad de la enfermedad la que produce la elevación de ENO. Simpson y colaboradores²²⁴, en pacientes sin tratamiento con corticoides inhalados, demostraron que existían mayores niveles de ENO entre aquellos sensibilizados y expuestos al alérgeno que entre aquellos alérgicos no expuestos. Otros autores encontraron, en pacientes polínicos, niveles aumentados de ENO durante el periodo de exposición

natural al alérgeno^{225, 226}. De la misma forma, se observaron valores disminuidos de ENO en pacientes alérgicos a ácaros del polvo doméstico, tras el traslado a un ambiente libre de ácaros²²⁷. Leuppi y colaboradores documentaron un incremento de los niveles de ENO asociado a la presencia de sensibilización a alérgenos perennes y no estacionales, aunque al analizar los datos de este estudio, la determinación de los niveles de ENO en pacientes con alergia estacional se realizó fuera de la estación polínica y esto podría haber influido decisivamente en los resultados²²⁸. Olin y cols²²⁹ encontraron que en sujetos sensibilizados que habían estado previamente expuestos al alérgeno se detectaba un incremento de los valores de ENO; en cambio en aquellos sujetos que no habían estado expuestos o que nunca habían experimentado síntomas de rinitis o asma, los resultados de ENO eran similares a la población sana.

Algunos estudios han comunicado que, en sujetos sanos sensibilizados a aeroalérgenos inhalantes, los niveles de ENO estaban incrementados, cuando se comparan con los obtenidos en sujetos sanos no atópicos, lo que sugiere que la exposición alérgica *per se* es suficiente estímulo para aumentar la concentración de óxido nítrico en aire exhalado. Estos incrementos pudieran obedecer a la existencia de inflamación subclínica en estos individuos^{230,231}.

A la luz de los estudios anteriores parece probable que el incremento del ENO relacionado con la sensibilización y la exposición alérgica pudiera ser un indicador de la presencia de alergia y no de la expresión clínica de la misma. Siguiendo este argumento, otros autores²³² demostraron una relación entre los niveles de IgE total en suero, las concentraciones de ENO y el número creciente de pruebas cutáneas intraepidérmicas positivas frente a aeroalérgenos inhalantes. Esto parece indicar que un valor alto de ENO puede obedecer a la presencia de atopia y no necesariamente ser la consecuencia de la presencia de inflamación bronquial.

Creemos que es poco probable que el hecho de no haber tenido en cuenta la exposición

alergénica en aquellos pacientes de nuestro estudio con sensibilización a aeroalérgenos pueda haber sesgado los resultados, puesto que el porcentaje de pacientes atópicos y de no atópicos era similar en ambos grupos, y porque al analizar los resultados bajando el punto de corte a 20 ppb, los mismos no diferían significativamente.

En conclusión, los resultados del presente estudio muestran que la determinación de la fracción de óxido nítrico en aire exhalado, en pacientes con tos crónica no asmática, no resulta de utilidad para predecir qué pacientes responderán al tratamiento con fluticasona inhalada a dosis de 100 mcg cada 12 horas durante un mes, por lo que no se recomienda introducir esta técnica en la práctica clínica de rutina. Revisando la literatura, esta técnica sería de ayuda en el caso de pacientes con asma bronquial, pero en ese supuesto el diagnóstico vendrá dado habitualmente por las exploraciones funcionales respiratorias. Además, la respuesta a corticoides, en ese grupo de pacientes, es bien conocida. En cualquier caso, la determinación de ENO supone una información adicional en el estudio del paciente con síntomas respiratorios, pero que debe valorarse de forma conjunta con el resto de exploraciones y que no sirve de forma aislada para confirmar un diagnóstico ni para evaluar la eficacia de una intervención terapéutica. Además, nuestros resultados apuntan a un menor porcentaje del esperado de pacientes con diagnóstico de tos equivalente de asma. Finalmente, ni los parámetros funcionales evaluados (resistencia de vía aérea, espirometría, prueba broncodilatadora, variabilidad circadiana del FEM), ni la prueba de provocación bronquial con agonistas broncoconstrictores directos o indirectos, resultan de ayuda para el diagnóstico ni tampoco para predecir la respuesta al tratamiento con corticoides inhalados en este grupo de pacientes. Esto resulta sorprendente, si se tiene en cuenta que, de forma convencional, son estos parámetros los que se han utilizado en la evaluación de individuos con tos crónica.

En el abordaje del paciente con tos crónica sin asma nuestros resultados apoyan el tratamiento empírico escalonado en lugar de la monitorización de parámetros de función pulmonar o inflamación de la vía aérea. Es posible que la investigación en esta patología deba centrarse más en los mecanismos neurofisiológicos subyacentes y en encontrar nuevos tratamientos que ayuden a atenuar este tipo de respuestas o en identificar otros marcadores que ayuden a clasificar mejor cada situación, con el fin de iniciar de forma más precoz el tratamiento adecuado.

9. CONCLUSIONES FINALES

9. CONCLUSIONES FINALES

- Cuando se excluye a los pacientes asmáticos, la determinación de ENO, en pacientes con tos crónica, no es útil para predecir la respuesta al tratamiento con dosis bajas de propionato de fluticasona inhalada.
- Un porcentaje significativo de pacientes con tos crónica muestran una mejoría tras tratamiento con fluticasona inhalada, y esto se relaciona con una menor función pulmonar basal y una menor respuesta a salbutamol inhalado, independientemente de los valores de ENO. Estos resultados sugieren que existe una inflamación de la vía aérea que es capaz de inducir la clínica de tos y que no se relaciona con la actividad de la sintasa del óxido nítrico.
- La determinación de la hiperrespuesta bronquial a AMP y metacolina no es útil para predecir qué pacientes con tos crónica responderán favorablemente al tratamiento con fluticasona inhalada a dosis de 100 mcg cada 12 horas. Estos resultados son congruentes con estudios recientes.
- Este es el primer estudio que determina la prevalencia de respuesta a AMP en pacientes con tos crónica. En nuestra población, la prevalencia de hiperrespuesta bronquial a AMP fue del 3,8%. Estos hallazgos resultan paradójicos, si se tiene en cuenta la proporción de pacientes con tos equivalente de asma que sería presumible encontrar en esta población.
- A la luz de nuestros resultados, no tenemos argumentos que permitan superar el tratamiento empírico y escalonado de la tos crónica que recomiendan las guías de práctica clínica.

10. APÉNDICE

10. APÉNDICE

10.1. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ventajas e inconvenientes de metacolina y AMP.....	8
Tabla 2. Factores que modifican el ENO en individuos sanos.....	36
Tabla 3. Procesos que modifican la concentración de ENO.....	36
Tabla 4. Estudios que evalúan la respuesta al tratamiento con corticoides inhalados en pacientes con tos crónica.....	40
Tabla 5. Características del captador de quimioluminiscencia.....	65
Tabla 6. Puntuaciones de síntomas diurnos y nocturnos para la tos.....	69
Tabla 7. Características basales de los pacientes del estudio.....	71
Tabla 8. Capacidad discriminativa del ENO (punto de corte de 20 ppb y 30 ppb) para identificar buena respuesta al tratamiento con fluticasona en los pacientes con tos crónica.....	73
Tabla 9. Características de los pacientes del estudio según niveles de ENO (punto de corte 30 ppb).....	74
Tabla 10. Puntuación de síntomas de la tos basal y tras 4 semanas de tratamiento con propionato de fluticasona en sujetos con niveles de ENO normales y elevados.....	77
Tabla 11. Diferencias medias e intervalo de confianza del 95% para las mismas en la escala analógica visual (VAS) para evaluar la intensidad de la tos entre los pacientes con valores de ENO elevados y sujetos con ENO normal. Punto de corte =20 ppb.....	79
Tabla 12. Diferencias en el cambio en la escala analógica visual (VAS) entre pacientes con ENO elevado y sujetos con ENO normal. Punto de corte=20 ppb.....	85
Tabla 13. Características de los pacientes respondedores y no respondedores a propionato de fluticasona.....	91

10.2. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Número de publicaciones y de citas en cada año para tos crónica.....	4
Figura 2. Esquema reflejo de la tos.....	14
Figura 3. Interacciones y potenciales acciones de los nervios aferentes vagales que median el reflejo de la tos.....	15
Figura 4. Algoritmo diagnóstico-terapéutico de la tos crónica.....	24
Figura 5. Producción de óxido nítrico.....	30
Figura 6. Esquema de modelo bicompartimental e intercambio de NO.....	31
Figura 7. Diseño del estudio.....	56
Figura 8. Escala analógica visual (VAS) para evaluar la intensidad de la tos.....	68
Figura 9. Curva ROC (Receiver Operating Characteristic) para la capacidad de ENO para identificar la respuesta al tratamiento con corticoides inhalados.....	72
Figura 10. Cambios individuales en las puntuaciones de síntomas de tos nocturnos en pacientes con ENO elevado y normal. Punto de corte =30 ppb.....	76
Figura 11. Cambios individuales en las puntuaciones de síntomas de la tos diurnos en pacientes con ENO elevado y normal (punto de corte=30 ppb).....	78
Figura 12. Cambios individuales en la escala analógica visual (VAS) tras tratamiento con propionato de fluticasona.....	79
Figura 13. Cambios individuales en la escala analógica visual en pacientes con ENO normal y sujetos con ENO elevado (punto de corte=30 ppb).....	80
Figura 14. Variabilidad individual del FEM y valores de sGaw y Raw en pacientes con niveles de ENO elevado y normales (punto de corte=30 ppb).....	81
Figura 15. Aumento del FEV₁ y mejoría de sGaw tras salbutamol en pacientes con valores de ENO altos y normales (punto de corte=30 ppb).....	82

Figura 16. Cambios en las puntuaciones de los síntomas nocturnos en pacientes con ENO normal y elevado. Punto de corte= 20 ppb.....	83
Figura 17. Cambios individuales en las puntuaciones de los síntomas diurnos de tos en pacientes con ENO normal y elevado (punto de corte=20 ppb).....	84
Figura 18. Valores individuales de la VAS antes y después del tratamiento con propionato de fluticasona en pacientes con ENO normal y elevado (punto de corte=20 ppb).....	85
Figura 19. Variabilidad el FEM (amplitud media %) y mejoría del FEV₁ y de la sGaw post-salbutamol en pacientes con ENO elevado y normal. Punto de corte=20 ppb.....	86
Figura 20. Relación entre el índice de reactividad (IR) a AMP y la variabilidad circadiana del FEM.....	88
Figura 21. Relación entre el IR a metacolina y la variabilidad circadiana del FEM.....	88
Figura 22. Valores de ENO en ppb en pacientes respondedores al tratamiento con propionato de fluticasona y en pacientes no respondedores.....	92

10.3. ÍNDICE DE ABREVIATURAS EMPLEADAS

- ACCP: American College of Chest Physicians.
- AIE: Asma inducida por el ejercicio.
- AMP: Adenosina 5'-monofosfato.
- BAL: Lavado broncoalveolar.
- BE: Bronquitis eosinofílica.
- Cols: colaboradores.
- CVA: Cough Variant Asthma (Tos equivalente de asma).
- cW: Concentración de NO en la pared bronquial.
- dNO: Difusión del NO hacia la luz bronquial.
- ECP: proteína catiónica del eosinófilo.
- ENO: Óxido nítrico en aire exhalado.
- ERGE: Enfermedad por reflujo gastroesofágico.
- FEM: Flujo espiratorio máximo.
- FEV₁: Volumen espiratorio forzado en el primer segundo.
- FEV₁/FVC%: Cociente entre FEV₁/FVC%
- FVC: Capacidad vital forzada.
- GEMA: Guía española para el manejo del asma.
- GINA: Global initiative for asthma
- HRB: Hiperrespuesta bronquial.
- CI: intervalo de confianza.
- iNOS: Sintasa del óxido nítrico inducible.
- IR: Índice de reactividad.

- NAEB: Bronquitis eosinofílica sin asma (“non asthmatic eosinophilic bronchitis”).
- NO: óxido nítrico.
- NOS: Sintasa del óxido nítrico.
- PC20: Concentración de agonista necesaria para inducir un deterioro del volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) del 20%.
- PD20: Dosis de agonista necesaria para inducir un deterioro del volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) del 20%.
- PD15: Dosis de agonista necesaria para inducir un deterioro del volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) del 15%.
- ppb: Partes por billón.
- RARs: Receptores rápidamente adaptables.
- Raw: Resistencia de la vía aérea.
- sRaw: Resistencia específica de la vía aérea.
- sGaw: Conductancia específica de la vía aérea.
- TGV: Volumen de gas torácico (“Thoracic gas volume”).
- UACS: Síndrome de la tos de vía aérea superior (“Upper airway cough syndrome”).
- VAS: Escala analógica visual.
- VPN: Valor predictivo negativo.
- VPP: Valor predictivo positivo.

11. BIBLIOGRAFÍA

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Irwin RS, Boulet L Ph, Cloutier MM, Gold PhM, Ing AJ, O'Byrne P, Prakash VBS, Pratter MR, Rubin BK. Managing cough as a defense mechanism and as a symptom. A consensus panel report of the American Collage of Chest Physicians. *Chest* 1998; 114 (2 Suppl Managing): 133S-181S.
2. Jason C, Chinn S, Jarvis D, Burney P. Determinants of cough in young adults participating in the European Community Respiratory Health Survey. *Eur Respir J* 2001; 18(4): 647-654.
3. Everett CF, Kastelik JA, Thompson RH, Morice AH. Chronic persistent cough in the community: a questionnaire survey. *Cough* 2007; 3:5.
4. Irwin RS, Corrao WM, Pratter MR. Chronic persistent cough in the adult: the spectrum and frequency of causes and successful outcome of specific therapy. *Am Rev Respir Dis* 1981; 123 (4 Pt 1): 413-417.
5. Irwin RS, Madison JM. The diagnosis and treatment of cough. *N Engl J Med* 2000; 343 (23): 1715-1721.
6. Braman SS. Postinfectious cough: ACCP Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2006; 129 (1 suppl): 138S-146S.
7. Lutchen KR, Gillis H. Relationship between heterogeneous changes in airway morphometry and lung resistance and elastance. *J Appl Physiol* 1997; 83 (4): 1192-1201.
8. Wanger J, Clausen JL, Coates A, Pedersen OF, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Crapo K, Enright P, van der Grinsen CP, Gustafsson P, Hankinson J, Jensen R, Johnson D, Macintyre N, McKay R, Miller MR, Navajas D, Pellegrino R, Viegi G. Standardisation of the measurement of lung volumes. *Eur Respir J* 2005; 26(3): 511-522.
9. Bisgaard H, Nielsen KG. Plethysmographic measurements of specific airway resistance in young children. *Chest* 2005; 128(1): 355-362.

-
10. Buhr W, Jörres R, Knapp M, Berdel D. Diagnostic value of body plethysmographic parameters in healthy and asthmatic young children is not influenced by breathing frequency. *Pediatr Pulmonol* 1990; 8(1): 23-28.
 11. Cockcroft DW (2009). Bronchial Challenge Testing, en Adkinson NF, Holgate ST, Bochner BS et al, Middleton's Allergy 7th edition, Volume 2, chapter 73 (1295-1308), Philadelphia: Elsevier. ISBN 978-0-323-05659-5
 12. Cockcroft DW, Davis BE. Diagnostic and therapeutic value of airway challenges in asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* 2009; 9(3): 247-253.
 13. Du Toit JI, Woolcock AJ, Salome CM, Sundrum R, Black JL. Characteristics of bronchial hyperresponsiveness in smokers with chronic air-flow limitation. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134(3): 498-501.
 14. Olafsson M, Simonsson BG, Hansson SB. Bronchial reactivity in patients with recent pulmonary sarcoidosis. *Thorax* 1985; 40(1): 51-53.
 15. Tepper RS, Eigen H. Airway reactivity in cystic fibrosis. *Clin Rev Allergy* 1991; 9(1-2): 159-168.
 16. Snashall PD, Chung KF. Airway obstruction and bronchial hyperresponsiveness in left ventricular failure and mitral stenosis. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144(4): 945-956.
 17. Freedman PM, Ault B. Bronchial hyperreactivity to methacoline in farmers' lung diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1981; 67(1): 59-63.
 18. Chhabra SK, Gaur SN. Airway hyperreactivity in tropical pulmonary eosinofilia. *Chest* 1988; 93(5): 1105-1106.
 19. Miles-Lawrence R, Kaplan M, Chang K. Methacholine sensitivity in nasal polyposis and the effects of polypectomy. *J Allergy Clin Immunol* 1962; 69(1): 102 (Abstract).
 20. Prieto L. Obstrucción al flujo aéreo e hiperexcitabilidad bronquial en la rinitis alérgica. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1990; 5: 57-69.

-
21. Hargreave FE, Dolovich J, O'Byrne PM, Ramsdale EH, Daniel EE. The origin of airway hyperresponsiveness. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78(5 Pt 1): 825-832.
 22. Cockcroft HA, Berscheid BA, Murdock KY. Unimodal distribution of bronchial responsiveness to inhaled histamine in a random human population. *Chest* 1983; 83(5): 751-754.
 23. O'Byrne PM, Hargreave FE. Non-invasive monitoring of airway inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150 (5 pt 2): S100-102
 24. Sont JK, Han J, van Krieken JM, Evertse CE, Hooijer R, Willems LN and Sterk PJ. Relationship between the inflammatory infiltrate in bronchial biopsy specimens and clinical severity of asthma in patients treated with inhaled steroids. *Thorax* 1996; 51 (5): 496-502
 25. Dupont LJ, Rochette F, Demedts MG, Verleden GM. Exhaled nitric oxide correlates with airway responsiveness in steroid naive patients with mild asthma. *Am J Respir Crit Care med* 1998; 157(3 Pt 1): 894-898.
 26. Van den Belzen E, Van den Bos JW, Benckhuijsen JA, van Essel T, de Bruijn R, Aalbers R. Effect of allergen avoidance at high altitude on direct and indirect bronchial hyperresponsiveness and markers of inflammation in children with allergic asthma. *Thorax* 1996; 51(6): 582-584.
 27. Ketchell RI, Jensen MW, Lumley P, Wright AM, Allenby MI, O'Connor BJ. Rapid effect of inhaled fluticasone propionate on airway responsiveness to adenosine 5'-monophosphate in mild asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110(4): 603-606.
 28. Lujik B, Kempford RD, Wright AM, Zanen P, Lammers JW. Duration of effect of single-dose inhaled fluticasone propionate on AMP-induced bronchoconstriction. *Eur Respir J* 2004; 23(4): 559-564.
 29. Ihre E, Zetterström O. Increase in non-specific bronchial responsiveness after repeated inhalation of low doses of allergen. *Clin Exp Allergy* 1993; 23(4): 298-305.

-
30. Van Rensen EL, Straathof KC, Veselic-Charvat MA, Zwinderman AH, Bel EH, Sterk PJ. Effect of inhaled steroids on airway hyperresponsiveness, sputum eosinophils, and exhaled nitric oxide levels in patients with asthma. *Thorax* 1999; 54 (5): 403-408.
31. Prieto L, Bertó JM, Lopez M, Peris A. Modifications of PC20 and maximal degree of airway narrowing to methacholine after pollen season in pollen sensitive asthmatic patients. *Clin Exp Allergy* 1993; 23(3): 172-178.
32. Benckhuijsen J, van den Bos JW, van Velzen E, de Bruijn R, Aalbers R. Differences in the effect of allergen avoidance on bronchial hyperresponsiveness as measured by methacholine, adenosine 5'-monophosphate, and exercise in asthmatic children. *Pediatr Pulmonol* 1996; 22(3): 147-153.
33. Van Velzen E, Van den Bos JW, Benckhuijsen JA, van Essel T, de Bruijn R, Aalbers R. Effect of allergen avoidance at high altitude on direct and indirect bronchial hyperresponsiveness and markers of inflammation in children with allergic asthma. *Thorax* 1996; 51(6): 582-584.
34. Van Den Toorn LM, Prins JB, Overbeeck SE, Hoogsteden HC, de Jongste JC. Adolescents in clinical remission of atopic asthma have elevated exhaled nitric oxide levels and bronchial hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162 (3 Pt 1): 953- 957.
35. Phillips GD, Ng WH, Church MK, Holgate ST. The response of plasma histamine to bronchoprovocation with methacholine, adenosine 5'-monophosphate, and allergen in atopic nonasthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141(1): 9-13.
36. Polosa R, Ng WH, Crimi N, Vancheri C, Holgate ST, Church MK, Mistretta A. Release of mast-cell-derived mediators after endobronchial adenosine challenge in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151 (3 Pt 1): 624-629.
37. Polosa R, Ciamarra I, Mangano G, Prosperini G, Pistorio MP, Vancheri C, Crimi N. Bronchial hyperresponsiveness and airway inflammation markers in nonasthmatics with allergic rhinitis. *Eur Respir J* 2000; 15(1): 30-35.

-
38. Prieto L, Gutierrez V, Uixera S, Bruno L. Concentrations of exhaled nitric oxide in asthmatic and subjects with allergic rhinitis sensitized to the same pollen allergen. *Clin Exp Allergy* 2002; 32(12): 1728-1733
39. Oosterhoff Y, Koëter GH, de Monchy JG, Postma DS. Circadian variation in airway responsiveness to methacholine, propanolol, and AMP in atopic asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147(3): 512-517.
40. Meijer RJ, Kerstjens HA, Arends LR, Kauffman HF, Koëter GH, Postma DS. Effects of inhaled fluticasone and oral prednisolone on clinical and inflammatory parameters in patients with asthma. *Thorax* 1999; 54(10): 894-899.
41. Weersink EJ, Douma RR, Postma DS, Koëter GH. Fluticasone propionate, salmeterol xinafoate, and their combination in the treatment of nocturnal asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155(4): 1241-1246.
42. De Meer G, Heederik D, Postma DS. Bronchial responsiveness to adenosine 5'-monophosphate (AMP) and methacholine differ in their relationship with airway allergy and baseline FEV1. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165(3): 327-331.
43. Barkitas A, Truktas I. Determinants of airway responsiveness to adenosine 5'-monophosphate in school-age children with asthma. *Pediatr Pulmonol* 2006; 41(6): 515-521.
44. Van den Berge M, Meijer RJ, Kerstjens HAM, de Reus DM, Koëter GH, Kauggman HF, Postma DS. PC20 adenosine 5'-monophosphate is more closely associated with airway inflammation in asthma than PC20 methacholine. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163(7): 1546-1550.
45. Chatkin JM, Ansarin K, Silkoff PE, McClean P, Gutierrez C, Zamel N, Chapman K R. Exhaled nitric oxide as a noninvasive assessment of chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159(6): 1810-1813.

-
46. Warke TJ, Fitch PS, Brown V, Taylor R, Lyons JDM, Ennis M, Shields MD. Exhaled nitric oxide correlates with airway eosinophils in childhood asthma. *Thorax* 2002; 57(5): 383-387
 47. Jatakanon A, Lim S, Kharitonov SA, Chung KF, Barnes PJ. Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacoline responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax* 1998; 53(2): 91-95
 48. Canning BJ. Anatomy and neurophysiology of the cough reflex: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2006; 129(1 Suppl): 33S-47S.
 49. Irwin RS, Rosen MJ, Braman SS. Cough. A comprehensive review. *Arch Intern Med.* 1977; 137(9): 1186-1191.
 50. Pratter MR. Overview of common causes of chronic cough: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2006; 129 (1 Suppl): 59S-62S.
 51. Pratter MR. Chronic upper airway cough syndrome secondary to rhinosinus diseases (previously referred to as postnasal drip syndrome): ACCP Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2006; 129(1 suppl): 63S-71S.
 52. Pratter MR, Bartter T, Akers S, DuBois J. An algorithmic approach to chronic cough. *Ann Int Med* 1993; 119(10): 977-983.
 53. Irwin RS, Curley FJ, Freuch CL. Chronic cough. The spectrum and frequency of causes, key components of the diagnostic evaluation, and outcome of specific therapy. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141(3): 640-647.
 54. Irwin RS, Madison TM. The persistently troublesome cough. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165(11): 1469-1474.
 55. Pratter MR. The role of sinus imaging in the treatment of chronic cough in adults. *Chest* 1999; 116(5): 1287-1291.
 56. Thomas M, Yawn BP, Price D, Lund V, Mullol J, Fokkens W; European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps Group. EPOS Primary Care Guidelines: European Position Paper

on the Primary Care Diagnosis and Management of Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2007 - a summary. *Prim Care Respir J*. 2008 Jun;17(2):79-89.

57. Dicpinigaitis PV. Chronic Cough due to Asthma ACCP Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2006; 129(1 Suppl): 75S-79S.

58. Palombini BC, Villanova CA, Araújo E, Gastal OL, Alt DC, Stolz DP, Palombini CO. A pathogenic triad in chronic cough: asthma, postnasal drip syndrome, and gastroesophageal reflux disease. *Chest* 1999; 116(2): 279-84.

59. De Diego Damià A, Perpiñá Tordera M. Estudio y diagnóstico de la tos crónica en el adulto. *Arch Bronconeumol* 2000; 36(4): 208-20.

60. Tutuian R. Update in the Diagnosis of Gastroesophageal Reflux Disease. *J Gastrointest Liver Dis* 2006; 15(3): 243-247.

61. Irwin RS. Chronic cough due to gastroesophageal reflux disease: ACCP Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2006; 129(1 suppl): 80S-94S.

62. Irwin RS, Zawacki JK, Wilson MM, French CT, Callery MP. Chronic cough due to gastroesophageal reflux disease. Failure to resolve despite total/near-total elimination of esophageal acid. *Chest* 2002; 121(4): 1132-1140.

63. Gibson PG, Dolovich J, Denburg J, Ramsdale EH, Hargreave FE. Chronic cough: eosinophilic bronchitis without asthma. *Lancet* 1989; 1(8651): 1346-1348.

64. Birring SS, Berry M, Brightling CE, Pavord ID. Eosinophilic Bronchitis: Clinical Features, Management and Pathogenesis. *Am J Respir Med* 2003;2 (2): 169-173.

65. Brightling CE, Ward R, Wardlaw AJ, Pavord ID. Airway inflammation, airway responsiveness and cough before and after inhaled budesonide in patients with eosinophilic bronchitis. *Eur Respir J* 2000; 15(4): 682-686.

-
66. Nelly MM, Leigh R, Jayaram L, Goldsmith CH, Parameswaran K, Hargreave FE. Eosinophilic bronchitis in asthma: A model for establishing dose-response and relative potency of inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117(5): 989-94.
 67. Gibson PG, Fujimura M, Niimi A. Eosinophilic bronchitis: clinical manifestations and implications for treatment. *Thorax* 2002; 57(2): 178-182.
 68. Fujimura M, Sakamoto S, Matsuda T. Bronchodilatador-resistive cough in atopic patients: bronchial reversibility and hyperresponsiveness. *Intern Med* 1992; 31(4): 447-452.
 69. Fujimura M, Ogawa H, Nishizawa Y, Nishi K. Comparison of atopic cough with cough variant asthma: is atopic cough a precursor of asthma? *Thorax* 2003; 58(1): 14-18
 70. McGarvey LP, Forsythe P, Heaney LG, McMahon J, Ennis M. Bronchoalveolar lavage findings in patients with chronic nonproductive cough. *Eur Respir J* 1999; 13(1): 59-65
 71. McGarvey LP, Heaney L, MacMahon J, Ennis M. Eosinophilic bronchitis is an important cause of chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161(5): 1763-1764
 72. Cockcroft DW. Eosinophilic bronchitis as a cause of cough. *Chest* 2000; 118(1): 277
 73. Oh M-J, Lee J-Y, Lee B-J, Choi D-C. Exhaled nitric oxide measurement is useful for the exclusion of nonasthmatic eosinophilic bronchitis in patients with chronic cough. *Chest* 2008; 134(5): 990-995.
 74. Tatar M, Plevkova J, Brozmanova M, Pecova R, Kollarik M. Mechanisms of the cough associated with rhinosinusitis. *Pulm Pharmacol Ther* 2009; 22(2): 121-126
 75. Morice A H. The cough hypersensitivity Syndrome: a novel paradigm for understanding cough. *Lung* 2010; 188 (Suppl 1): S87-S90
 76. Irwin RS, Baumann MH, Bolser DC, Boulet LP, Braman SS, Brightling CE, Brown KK, Canning BJ, Chang AB, Diczpinigaitis PV, Eccles R, Glomb BW, Goldstein LB, Graham LM, Hargreave FE, Kvale PA, Lewis SZ, McCool D, McCrory DC, Prakash UBS, Pratter MR, Rosen MJ, Schulman E, Shannon JJ, Hammond CS, Tarlo SM. Diagnosis and management of cough

executive summary: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2006; 129 (1 Suppl): 1S-23S.

77. Lee SY, Cho JY, Shim JJ, Kim HK, Kang KH, Yoo SH, In KH. Airway inflammation as an assessment of chronic non productive cough. *Chest* 2001; 120(4): 114-120.

78. Birring SS, Parker D, Brightling CE, Bradding P, Wardlaw AJ, Pavord ID. Induced sputum inflammatory mediator concentrations in chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169(1): 15-19

79. Chaudhuri R, Mc Mahon AD, Thomson LJ, McLeod KJ, Mc Sharry CP, Livingston E, McKay A, Thomson NC. Effect of inhaled corticosteroids on symptom severity and sputum mediator levels in chronic persistent cough. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113 (6): 1063-1070

80. Mc Garvey LP, Forsythe P, Heaney LG, MacMahon J, Ennis M. Bronchoalveolar lavage findings in patients with chronic non-productive cough. *Eur Respir J* 1999; 13(1): 59-65

81. Irwin RS, Ownbey R, Cagle PT, Baker S, Fraire AE. Interpreting the histopathology of chronic cough: a prospective, controlled, comparative study. *Chest* 2006; 130(2): 362-370

82. Jeffery PK. Remodelling in asthma and chronic obstructive lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164(10 Pt 2): S28-38.

83. Ordoñez CL, Khashayar R, Wong HH, Ferrando R, Wu R, Hyde DM, Hotchkiss JA, Zhang Y, Novikov A, Dolganov G, Fahy JV. Mild and moderate asthma is associated with airway goblet cell hyperplasia and abnormalities in mucin gene expression. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163(2): 517-523.

84. Niimi A, Amitami R, Suzuki K, Tanaka E, Murayama T, Kuze F. Eosinophilic inflammation in cough variant asthma. *Eur Respir J* 1998; 11(5): 1064-1069.

85. Niimi A, Matsumoto H, Minakuchi M, Kitaichi M, Amitami R. Airway remodelling in cough-variant asthma. *Lancet* 2000; 356(9229): 564-565.

-
86. Brightling CE, Bradding P, Symon FA, Holgate ST, Wardlaw AJ, Pavord ID. Mast-cell infiltration of airway smooth muscle in asthma. *N Engl J Med* 2002; 346(22): 1699-1705.
87. Boulet LP, Milot J, Boutet M, St. Georges F, Laviolette M. Airway inflammation in non-asthmatic subjects with chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149(2 Pt 1): 482-489.
88. Niimi A, Torrego A, Nicholson AG, Cosio BG, Oates TB, Cheng KF. Nature of airway inflammation and remodeling in chronic cough. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116(3): 565-570.
89. Barnes PJ, Belvisi MG. Nitric oxide and lung disease. *Thorax* 1993; 48(10): 1034-1043.
90. Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, Wicklund NP, Moncada S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 181(2): 852-857.
91. Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J* 1993; 6(9): 1368-1370.
92. Baraldi E, Azzolin NM, Zanconato S, Dario C, Zacchello F. Corticosteroids decrease exhaled nitric oxide in children with acute asthma. *J Pediatr* 1997; 131(3): 381-385.
93. Kharitonov SA, Yates D, Robbins DA, Logan-Sinclair R, Shine-Bourne EA, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994; 343(8890): 133-135.
94. Saleh D, Ernst P, Lim S, Barnes PJ, Giaid A. Increased formation of the potent oxidant peroxynitrite in the airways of asthmatic patients is associated with induction of nitric oxide synthase: effect of inhaled glucocorticoid. *FASEB J* 1998; 12(11): 929-937.
95. Hunt JF, Fang K, Malik R, Snyder A, Malhotra N, Platts-Mills TA, Gaston B. Endogenous airway acidification: implications for asthma pathophysiology. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161(3 Pt 1): 694-699.
96. Prieto L. Determinación de las concentraciones de óxido nítrico exhalado en el asma. Aspectos técnicos y utilidad clínica. *Alergol Inmunol Clin* 2002; 17: 72-87.

-
97. Kharitonov SA, Chung FK, Evans D, O'Connor BJ, Barnes PJ. The elevated level of exhaled nitric oxide in asthmatic patients is mainly derived from the lower respiratory tract. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153(6 Pt 1): 1773-1780.
98. Massaro AF, Mehta S, Lilly CM, Kobzik L, Reilly JJ, Drazen JM. Elevated nitric oxide concentrations in isolated lower airway gas of asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153(5): 1510-1514.
99. Thomas SR, Kharitonov SA, Scout SF, Hodson ME, Barnes PJ. Nasal and exhaled nitric oxide is reduced in adult patients with cystic fibrosis and does not correlate with cystic fibrosis genotype. *Chest* 2000; 117(4): 1085-1089.
100. Lundberg JO, Weitzberg E. Nasal nitric oxide in man. *Thorax* 1999; 54(10): 947-952.
101. Silkoff PE, Silvester JT, Zamel N, Permutt S. Airway nitric oxide diffusion in asthma: role in pulmonary function and bronchial responsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161(4 Pt 1): 1218-1228.
102. Jörres RA. Modelling the production of nitric oxide within the human airways. *Eur Respir J* 2000; 16(3): 555-560.
103. Tsoukias NM, George SC. A two compartmental model of pulmonary nitric oxide Exchange dynamic. *J Appl Physiol* 1998; 85(2): 653-666.
104. De Gouw HWFM, Hendriks J, Woltman AM, Twiss MI, Sterk PJ. Exhaled nitric oxide is reduced shortly after bronchoconstriction to direct and indirect stimuli in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158(1): 315-319.
105. Kharitonov S, Alving K, Barnes PJ. Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. *Eur Respir J* 1997; 10(7): 1683-1693.
106. American Thoracic Society. Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurements of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160(6): 2104-2117.

-
107. Olin AC, Bake B, Toren K. Fraction of exhaled nitric oxide at 50ml/s: reference values for adult lifelong never-smokers. *Chest* 2007; 131(6):1852-1856
108. Taylor DR, Pijnenburg MW, Smith AD, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation. *Thorax* 2006; 61(9): 817-827.
109. Guía Española para el Manejo del Asma (GEMA 2009). www.gemasma.com.
110. Barnes PJ, Dweik RA, Gelb AF, Gibson PG, George SC, Graseman H, Pavord ID, Ratjen F, Silkoff PE, Taylor DR, Amenl N. Exhaled nitric oxide in pulmonary diseases: a comprehensive review. *Chest* 2010; 138(3): 682-692.
111. Silkoff PE, McClean PA, Slutsky AS, Furlott HG, Hoffstein E, Wakita s, Chapman KR, Szalai JP, Zamel N. Marked flow-dependence of exhaled nitric oxide using a new technique to exclude nasal nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155(1): 260-267.
112. Kharitonov SA, Gonio F, Nelly C, Meah S, Barnes PJ. Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *Eur Respir J* 2003; 21(3): 433-438.
113. Franklin PJ, Taplin R, Stick SM. A community study of exhaled nitric oxide in healthy children. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159(1): 69-73.
114. Tsang KW, Ip SK, Leung R, Tipoe GL, Chan SL, Shum IH, Ip MS, Yan C, Fung PC, Chan-Yeung M, Lam W. Exhaled nitric oxide: the effects of age, gender and body size. *Lung* 2001; 179(2): 83-91.
115. Wong GW, Liu EK, Leung TF, Yung E, Ko FW, Hui DS, Fok TF, Lai CK. High levels and gender difference of exhaled nitric oxide in Chinese schoolchildren. *Clin Exp Allergy*. 2005 Jul; 35(7):889-893.
116. Baraldi E, de Jongste JC; European Respiratory Society/American Thoracic Society (ERS/ATS) Task Force. Measurement of exhaled nitric oxide in children, 2001. *Eur Respir J* 2002; 20(1):223-237.

-
117. Olin AC, Rosegren A, Thelle DS, Lissner L, Bake B, Torén K. Height, age, and atopy are associated with the fraction of exhaled nitric oxide in a large adult general population sample. *Chest* 2006; 130(5): 1319-1325.
118. Kharitonov SA, Yeats D, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of normal human subjects with upper respiratory tract infections. *Eur Respir J* 1995; 8(2): 295-297.
119. Murphy AW, Platt-Mills TA, Lobo M, Hayden F. Respiratory nitric oxide levels in experimental human influenza. *Chest* 1998; 114(2): 452-456.
120. Bruce C, Yates DH, Thomas PS. Caffeine decreases exhaled nitric oxide. *Thorax* 2002; 57(4): 361-363.
121. Warke TJ, Shields MD, Finnegan J. Caffeine and exhaled nitric oxide. *Thorax* 2003; 58(3): 281.
122. Adamkiewitz G, Ebel S, Syring M, Slater J, Speizer FE, Schwartz J, Sub H, Gold DR. Association between air pollution exposure and exhaled nitric oxide in an elderly population. *Thorax* 2004; 59(3): 204-209.
123. Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J* 1993; 6(9): 1368-1370.
124. Maziak W, Loukides S, Culpita S, Sullivan P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157(3 Pt 1): 998-1002.
125. Horvath I, Loukides S, Wodehouse T, Csiszér E, Cole PJ, Kharitonov SA, Barnes PJ. Comparison of exhaled and nasal nitric oxide and exhaled carbon monoxide levels in bronchiectatic patients with and without primary ciliary dyskinesia. *Thorax* 2003; 58(1): 68-72.
126. Narang I, Ers. R, Wilson NM, Bush A. Nitric oxide in chronic airway inflammation in children: diagnostic use and pathophysiological significance. *Thorax* 2002; 57(7): 586-589.
127. Gratziou C, Rovina N, Lignos M, Vogiatzis I, Roussos CH. Exhaled nitric oxide in seasonal allergic rhinitis: influence of pollen season and therapy. *Clin Exp Allergy* 2001; 31(3): 409-416.

-
128. Henriksen AH, Sue-Chu M, Lingaas Comen T, Langhammer A, Bjermer L. Exhaled and nasal NO levels in allergic rhinitis: relation to sensitization, pollen season and bronchial hyperresponsiveness. *Eur Respir J* 1999; 13(2): 301-306.
129. Gratziou C, Lignos M, Dassion M, Roussos CH. Influence of atopy on exhaled nitric oxide in patients with stable asthma and rhinitis. *Eur Respir J* 1999; 14(4): 897-901.
130. Prieto L, Seijas T, Gutierrez V, Uixera S, Bruno L, Lopez R. Exhaled nitric oxide levels and airway responsiveness to adenosine 5'-monophosphate in subjects with nasal polyposis. *Int Arch Allergy Immunol* 2004; 134(4): 303-309.
131. Kharitonov SA, Lubec G, Lubec B, Hjelm M, Barnes PJ. L-arginine increases exhaled nitric oxide in normal human subjects. *Clin Sci* 1995; 88(2): 135-139.
132. Sapienza MA, Kharitonov SA, Horvath I, Chung KF, Barnes PJ. Effect of inhaled L-arginine on exhaled nitric oxide in normal and asthmatic subjects. *Thorax* 1998; 53(3): 172-175.
133. Deykin A, Massaro AF, Coulston E, Drazen JM, Israel E. Exhaled NO following repeated spirometry or repeated plethysmography in healthy individuals. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 261(4 Pt 1): 1237-1240.
134. Silkoff PE, Wakita S, Chatkin J, Ansarin K, Gutiérrez C, Caramori M, Mc Lean P, Slutsky AS, Zamel N, Chapman KR. Exhaled Nitric Oxide after β_2 -agonist Inhalation and Spirometry in Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999; 159(3): 940-944.
135. Sumino H, Nakamura T, Kanda T, Sato K, Sakamaki T, Takahashi T, Saito Y, Hoshino J, Kurashina T, Nagai R. Effect of enalapril on exhaled nitric oxide in normotensive and hypertensive subjects. *Hypertension* 2000;36(6):934-940.
136. Phillips CR, Giraud GD, Holden WE. Exhaled nitric oxide during exercise: site of release and modulation by ventilation and blood flow. *J Appl Physiol* 1996; 80(6):1865-1871.
137. McKnight GM, Smith LM, Drummond RS, Duncan CW, Golden M, Benjamin N. Chemical synthesis of nitric oxide in the stomach from dietary nitrate in humans. *Gut* 1997; 40(2): 211-214.

-
138. Olin AC, Aldenbratt A, Ekman A, Ljungkvist G, Jungersten L, Alving K, Torén K. Increased nitric oxide in exhaled air after intake of a nitrate-rich meal. *Respir Med* 2001; 95(2):153-158.
139. Kharitonov SA, Logan-Sinclair RB, Busset CM, Shinebourne EA. Peak expiratory nitric oxide differences in men and women: relation to the menstrual cycle. *Br Heart J* 1994; 72(3):243-5.
140. Franklin P, Dingle P, Stick S. Raised exhaled nitric oxide in healthy children is associated with domestic formaldehyde levels. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161(5):1757-1759.
141. Pendergast DR, Krasney JA, DeRoberts D. Effects of immersion in cool water on lung-exhaled nitric oxide at rest and during exercise. *Respir Physiol* 1999 ;115(1):73-81.
142. Yates DH, Kharitonov SA, Robbins RA, Thomas PS, Barnes PJ. The effect of alcohol ingestion on exhaled nitric oxide. *Eur Respir J* 1996; 9(6):1130-1133.
143. Holden WE, Wilkins JP, Harris M, Milczuk HA, Giraud GD. Temperature conditioning of nasal air: effects of vasoactive agents and involvement of nitric oxide. *J Appl Physiol* 1999;87(4):1260-1265.
144. Piacentini GL, Bodini A, Costella S, Vicentini L, Suzuki Y, Boner AL. Exhaled nitric oxide is reduced after sputum induction in asthmatic children. *Pediatr Pulmonol* 2000; 29(6):430-433.
145. Güzel NA, Sayan H, Erbas D. Effects of moderate altitude on exhaled nitric oxide, erythrocytes lipid peroxidation and superoxide dismutase levels. *Jpn J Physiol* 2000; 50(2):187-190.
146. Kharitonov SA, Cailles JB, Black CM, du Bois RM, Barnes PJ. Decreased nitric oxide in the exhaled air of patients with systemic sclerosis with pulmonary hypertension. *Thorax* 1997;52(12):1051-1055.
147. Kaneko FT, Arroliga AC, Dweik RA, Comhair SA, Laskowski D, Oppedisano R, Thomassen MJ, Erzurum SC. Biochemical reaction products of nitric oxide as quantitative markers of primary pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158(3):917-923.

-
148. Brett SJ, Evans TW. Measurement of endogenous nitric oxide in the lungs of patients with the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157(3 Pt 1):993-997.
149. Gabbay E, Walters EH, Orsida B, Whitford H, Ward C, Kotsimbos TC, Snell GI, Williams TJ. Post-lung transplant bronchiolitis obliterans syndrome (BOS) is characterized by increased exhaled nitric oxide levels and epithelial inducible nitric oxide synthase. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162(6):2182-2187.
150. Moodley YP, Lalloo UG. Exhaled nitric oxide is elevated in patients with progressive systemic sclerosis without interstitial lung disease. *Chest* 2001; 119(5):1449-1454.
151. Wuttge DM, Bozovic G, Hesselstrand R, Aronsson D, Bjermer L, Scheja A, Tufvesson E. Increased alveolar nitric oxide in early systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2010;28(5 Suppl 62):S5-9.
152. Paredi P, Kharitonov SA, Loukides S, Pantelidis P, du Bois RM, Barnes PJ. Exhaled nitric oxide is increased in active fibrosing alveolitis. *Chest* 1999;115(5):1352-1356.
153. Wang CH, Liu CY, Lin HC, Yu CT, Chung KF, Kuo HP. Increased exhaled nitric oxide in active pulmonary tuberculosis due to inducible NO synthase upregulation in alveolar macrophages. *Eur Respir J* 1998; 11(4):809-815.
154. Liu CY, Wang CH, Chen TC, Lin HC, Yu CT, Kuo HP. Increased level of exhaled nitric oxide and up-regulation of inducible nitric oxide synthase in patients with primary lung cancer. *Br J Cancer* 1998; 78(4):534-541.
155. Speight AN. Is childhood asthma being underdiagnosed and undertreated? *B Med J* 1978; 2(6133):331-332.
156. Jones K, Lane D, Holgate ST, Price J. Asthma: a diagnostic and therapeutic Challenge. *Family Pract* 1991; 8(1):97-99.
157. Enright PL, Lebowitz MD, Cockcroft DW. Physiologic measures: Pulmonary function tests. Asthma outcome. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149 (2 Pt 2): S9-S18.

-
158. Paggiaro PL, Moscato G, Giannini D, Di Franco A, Gherson G. Relationship between Peak expiratory flow (PEF) and FEV1. *Eur Respir J* 1997; 24 (Suppl): 39S-41S.
159. Dekker FW, Schrier AC, Sterk PJ, Dijman JH. Validity of Peak expiratory flow measurement in assessing reversibility of airflow obstruction. *Thorax* 1992; 47(3): 162-166.
160. Thiadens HA, De Bock GH, Van Houwelingen JC, Dekker FW, De Waal MW, Springer MP, Postma DS. Can Peak expiratory flow measurement reliably identify the presence of airway obstruction and broncodilator response as assessed by FEV1 in primary care patients presenting with a persistent cough? *Thorax* 1999; 54(12): 1055-1060.
161. Enright PL, McClelland RL, Buist AS, Lebowitz MD. Correlates of Peak Expiratory Flow Lability in Elderly Persons. *Chest* 2001; 120: 120(6): 1861-1868.
162. Decalmer SC, Webster D, Kelsell AA, McGuinness K, Woodcock AA, Smith JA. Chronic cough: how do cough reflex sensitivity and subjective assessments correlate with objective cough counts during ambulatory monitoring? *Thorax* 2007; 62(4): 329-334.
163. Smith J, Woodcock A. New developments in the objective assessment of cough. *Lung* 2008 186 (suppl 1): S48-S54
164. Dicipinigaittis PV. American College of Chest Physicians (ACCP). Chronic cough due to asthma: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2006; 129 (1 suppl): 75S-79S.
165. Pizzichini MM, Pizzichini E, Parameswaran K, Clelland L, Efthimiadis A, Dolovich J, Hargreave FE. Nonasthmatic chronic cough: No effect of treatment with an inhaled corticosteroid in patients without sputum eosinophilia. *Can Respir J* 1999; 6(4):323-330.
166. Ribeiro M, de Castro Pereira CA, Nery LE, Shigueomi Beppu O, Soares Silva CO. High-dose inhaled beclomethasone treatment in patients with chronic cough: a randomized placebo-controlled study. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007; 99(1): 61-68.
167. Ponsioen BP, Hop WCJ, Vermue NA, Dekhuijzen PNR, Bohnen AM. Efficacy of fluticasone on cough: a randomized controlled trial. *Eur Respir J* 2005; 25(8): 147-152.

-
168. Davies MJ, Fuller P, Picciotto A, McKenzie SA. Persistent nocturnal cough: randomised controlled trial of high dose inhaled corticosteroid. *Arch Dis Child* 1999; 81(1): 38-44.
169. Little SA, Chalmers GW, MacLeod KJ, Mc Sharry C, Thomson NC. Non-invasive markers of airway inflammation as predictors of oral steroid responsiveness in asthma. *Thorax* 2000; 55(3): 232-234
170. Szeffler S, Phillips BR; Martinez F, et al. Characterization of within-subject responses to fluticasone and montelukast in childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115(2): 233-242.
171. Lim KG, Mottram C. The use of fraction of exhaled nitric oxide in pulmonary practice. *Chest* 2008; 133(5): 1232-1242.
172. Malerba M, Ragnoli B, Radaeli A, Tantucci C. Usefulness of exhaled nitric oxide and sputum eosinophils in the long-term control of eosinophilic asthma. *Chest* 2008; 134(4): 733-739.
173. Oh M-J, Lee J-Y, Lee B-J, Choi D-C. Exhaled nitric oxide measurement is useful for the exclusion of nonasthmatic eosinophilic bronchitis in patients with chronic cough. *Chest* 2008; 134(5): 990-995.
174. Brightling CE, Symon FA, Birring SS, Bradding P, Wardlaw AJ, Pavord ID. Comparison of airway immunopathology of eosinophilic bronchitis and asthma. *Thorax* 2003; 58(6): 528-532
175. Berlyne GS, Parameswaran K, Kamada D, Efthimiadis A, Hargreave FE. A comparison of exhaled nitric oxide and induced sputum as markers of airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106(4): 638-644
176. Fujimura M, Ohkura N, Furusho S, Waseda Y, Ichikawa Y, Hara J. Exhaled nitric oxide levels in patients with atopic cough and cough variant asthma. *Respirology* 2008; 13(3): 359-364.
177. Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, Filsell S, MacLachlan C, Monti-Sheehan G, Herbison GP, Taylor DR. Exhaled nitric oxide a predictor of steroid response. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172(4): 453-459.

-
178. Prieto L, Bruno L, Gutiérrez V, Uixera S, Pérez-Francés C, Lanuza A, Ferrer A. Airway responsiveness to adenosine 5'-monophosphate and exhaled nitric oxide measurements: predictive value as markers for reducing the dose of inhaled corticosteroids in asthmatic subjects. *Chest* 2003; 124(4):1325-1333.
179. Hahn PY, Morgenthaler TI, Lim KG. Use of exhaled nitric oxide in predicting response to inhaled corticosteroids for chronic cough. *Mayo Clin Proc* 2007; 82 (11): 1350-1355.
180. Hsu J-Y, Wang C-Y, Cheng Y-W, Chou M-C. Optimal value of fractional exhaled nitric oxide in inhaled corticosteroid treatment for patients with chronic cough of unknown cause. *J Chin Med Assoc* 2013; 76 (1): 15-19.
181. Burrows B, Sears MR, Flannery EM, Herbison GP, Holdaway MD. Relations of bronchial responsiveness to allergy skin test reactivity, lung function, respiratory symptoms, and diagnoses in thirteen-year-old New Zealand children. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95(2): 548-556.
182. ATS/ERS Standardization of lung function testing. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005; 26(2): 319-338.
183. Wanger J, Clausen JL, Coates A, Pedersen OF, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Crapo K, Enright P, van der Grinsen CP, Gustafsson P, Hankinson J, Jensen R, Johnson D, Macintyre N, McKay R, Miller MR, Navajas D, Pellegrino R, Viegi G. Standardization of the measurement of lung volumes. *Eur Respir J* 2005; 26(3): 511-522.
184. Chai H, Farr RS, Froehlich LA, Mathison DA, McLean JA, Rosenthal RR, Sheffer AL, Spector SL, Townley RG. Standardization of bronchial inhalation challenge procedures. *J Allergy Clin Immunol* 1975; 56(4): 323-327.
185. American Thoracic Society. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing-1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161(1): 309-329.
186. Chapman DG, Berend N, King GG, McParland BE, Salome CM. Deep inspirations protect against airway closure in nonasthmatic subjects. *J Appl Physiol* 2009; 107(2): 564-569

-
187. Sato S, Saito J, Sato Y, Ishii T, Xintao W, Tanino Y, Ishida T, Munakata M. Clinical usefulness of fractional exhaled nitric oxide for diagnosing prolonged cough. *Respir Med* 2008; 102(10): 1452-1459.
188. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171(8): 912-930.
189. Prieto L, Gutiérrez V, Uixera S. Exhaled nitric oxide and bronchial responsiveness to adenosine 5'-monophosphate in subjects with allergic rhinitis. *Chest* 2002; 121(6): 1853-1859
190. Prieto L, Uixera S, Gutiérrez V, Bruno L. Modifications of airway responsiveness to adenosine 5'-monophosphate and exhaled nitric oxide concentrations after the pollen season in subjects with pollen-induced rhinitis. *Chest* 2002; 122(3): 940-947.
191. Lim S, Jatakanon A, John M, Gilbey T, O'connor BJ, Chung KF, Barnes PJ. Effect of inhaled budesonide on lung function and airway inflammation. Assessment by various inflammatory markers in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999 Jan;159(1):22-30.
192. Lim S, Jatakanon A, Meah S, Oates T, Chung KF, Barnes PJ. Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in mild to moderately severe asthma. *Thorax*. 2000 Mar;55(3):184-188.
193. Piacentini GL, Bordini A, Costella S, Vicentini L, Mazzi P, Sperandio S, and Boner AL. Exhaled nitric oxide and sputum eosinophil markers of inflammation in asthmatic children. *Eur Respir J* 1999 13(6):1386-1390
194. Payne DN, Adcock IM, Wilson NM, Oates T, Scallan M, Bush A. Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in children with difficult asthma, after treatment with oral prednisolone. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164(8 Pt 1):1376-1381.
195. McGarvey L, Heaney L, MacMahon J, Ennis M. Eosinophilic bronchitis is an important cause of chronic cough. Correspondence. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(5): 1763-1764.

-
196. Pacheco A, Faro V, Cobeta I, Royuela A, Molyneux I, Morice AH. Gastro-oesophageal reflux, eosinophilic airway inflammation and chronic cough. *Respirology* 2011; 16(6): 994–999.
197. Jatakanon A, Kharitonov S, Lim S, Barnes PJ. Effect of differing doses of inhaled budesonide on markers of airway inflammation in patients with mild asthma *Thorax* 1999;54(2):108-114.
198. Johnstone KJ, Chang AB, Fong KM, Bowman RV, Yang IA. Inhaled corticosteroids for subacute and chronic cough in adults (Review). *Cocharen Database os systematic review* 2013; 28: 3. CD009305.
199. Lúdvíksdóttir D, Janson C, Björnsson E, Stelenheim G, Boman G on behalf of the BHR study group. Different airway responsiveness profiles in atopic asthma, nonatopic asthma, and Sjögren ‘s síndrome. *Allergy* 2000; 55 (3): 259-265.
200. Rutgers SR, Timens W, Tzanakis N, Kauffman HF, Van der Mark TW, Koëter GH, Postma DS. Airway inflammation and hyperresponsiveness to adenosine 5'-monophosphate in chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Exp Allergy* 2000; 30 (5): 657-662.
201. Prieto L, Gutiérrez V, Liñana J, Marín J. Bronchoconstriction induced by inhaled adenosine 5'-monophosphate in subjects with allergic rhinitis. *Eur Respir J* 2001; 17 (1): 64-70.
202. Polosa R, Ciamarra I, Mangano G, Prosperini G, Pistorio MP, Vancheri C, Crimi N. Bronchial hyperresponsiveness and airway inflammation markers in nonasthmatics with allergic rhinitis. *Eur Respir J* 2000; 15 (1): 30-35.
203. Prieto L, Esnal S, Lopez V, Barato D, Rojas R, Marín J. Maximal response plateau to adenosine 5'-monophosphate in asthma: relationship with the response to methacholine, exhaled nitric oxide and exhaled breath condensate pH. *Chest* 2009; 135(6): 1521-1526.
204. Pattemore PK, Asher MI, Harrison AC, Mitchell EA, Rea HH, Stewart AW. The Interrelationship among Bronchial Hyperresponsiveness, the Diagnosis of Asthma, and Asthma Symptoms. *Am Rev Respir Disease* 1987; 135(6):1255-1260.

-
205. Peat JK, Salome CM, Berry G, Woolcock AJ. Relation of Dose-response Slope to Respiratory Symptoms in a Population of Australian Schoolchildren. *Am Rev Respir Dis.* 1991;144 (3 Pt 1):663-7.
206. Matsumoto H, Niimi A, Tabuena RP, Takemura M, Ueda T, Yamaguchi M, Matsuoka H, Jinnai M, Chin K, Mishima M. Airway Wall Thickening in Patients With Cough Variant Asthma and Nonasthmatic Chronic Cough. *Chest.* 2007;131(4):1042-1049.
207. Matsumoto H, Niimi A, Takemura M, Ueda T, Yamaguchi M, Matsuoka H, Jinnai M, Chin K, Mishima M. Features of cough variant asthma and classic asthma during methacholine-induced bronchoconstriction: a cross-sectional study. *Cough.* 2009; 5: 3.
208. EPR-3: Guidelines for the Diagnosis and Management of asthma-Report 2007. NHLBI.
209. Gibson PG, Mattoli S, Sears MR, Dolovich J, Hargreave FE Increased peak flow variability in children with asymptomatic hyperresponsiveness. *Eur Respir J* 1995; 8(10): 1731-1735.
210. Prieto L, Gutierrez V, Bertó JM, Tornero C, Camps B, Pérez MJ. Relationship between airway responsiveness and peak expiratory flow variability in subjects with allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1995 Sep;75(3):273-279.
211. Prieto L, Gutierrez V, Morales C, Perpiñan J, Inchaurreaga I. Variability of peak expiratory flow rate in allergic rhinitis and mild asthma: relationship to maximal airway narrowing. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998; 80(2): 151-158.
212. Goldstein MF, Veza BA, Dunsky EH, Dvorin DJ, Belecanech GA, Haralabatos IC. Comparisons of peak expiratory flow variation, postbronchodilator FEV1 responses, and methacoline inhalation challenges in the evaluation of suspected asthma. *Chest* 2001; 119(4): 1001-1010.
213. Kang H, Koh YY, Yoo Y, Yu J, Kim DK, Kim CK. Maximal airway response to methacholine in cough-variant asthma. Comparison with classic asthma and its relationship to peak expiratory flow variability. *Chest* 2005; 128(6):3881-2887.

-
214. Tian J, Zhou Y, Cui J, Wang X, Hu G, Tian Y, Jiang Y, Zheng J, Wang J, Zhong N, Ran P. Peak expiratory flow as a screening tool to detect airflow obstruction in a primary health care setting. *Int J Tuberc Lung Dis* 2012; 16(5): 674-680.
215. Cockcroft DW, Berscheid BA. Measurement of responsiveness to inhaled histamine: comparison of FEV1 and SGaw. *Ann Allergy* 1983; 51 (3): 374-377
216. Skinner C and Palmer KNV. Changes in specific airways conductance and FEV1 after a broncodilator in normal subjects and patients with airway obstruction. *Thorax* 1974; 29 (5): 574-577.
217. Nensa F, Marek W, Marek E, Smith HJ, Kohlhäufel M. Assessment of airway hyperreactivity: Comparison of forced spirometry and body plethysmography for methacholine challenge test. *Eur J Med Res* 2009; 14 (Suppl 4): 170-176.
218. Pelkonen AS, Malmström K, Malmberg LP, Sarna S, Turpeinen M, Kajosaari M, Haahtela T, Mäkelä MJ. Budesonide improves decreased airway conductance in infants with respiratory symptoms. *Arch Dis Child* 2009;94(7):536-541.
219. Ribeiro M, Pereira CA, Neru LE, Beppu OS, Silva CO. Methacholine vs adenosine on intra and extrathoracic airway hyperresponsiveness in patients with cough variant asthma. *Allergy* 2008; 63(5): 527-532.
220. Harrison TW, Tattersfield AE. Extra-thoracic airway dysfunction. *Lancet* 1995;346 (8978):786-787.
221. Prieto L, Uixera S, Gutiérrez V, Bruno L. Modifications of airway responsiveness to adenosine 5'-monophosphate and exhaled nitric oxide concentrations after the pollen season in subjects with pollen induced rhinitis. *Chest* 2002; 122(3): 940-947.
222. Ryan NM, Birring SS, Gibson PG. Gabapentin for refractory chronic cough: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2012; 380 (9853): 1583-1589

-
223. Frank TL, Adisesh A, Pickering AC, Morrison JF, Wright T, Francis H, Fletcher A, Frank PI, Hannaford P. Relationship between exhaled nitric oxide and childhood asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158(4): 1032-1036.
224. Simpson A, Custovic A, Pipis S, Adisesh A, Faragher B, Woodcock A. Exhaled nitric oxide, sensitization and exposure to allergens in patients with asthma who are not taking inhaled steroids. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160(1): 45-49.
225. Baraldi E, Carra S, Dario C, Azzolin N, Ongaro R, Marcer G, Zacchello F. Effect of natural grass pollen exposure on exhaled nitric oxide in asthmatic children. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159(1): 262-6.
226. Prieto L, Gutiérrez V, Torres V, Uixera S, Marín J. Effect of salmeterol on seasonal changes in airway responsiveness and exhaled nitric oxide in pollen-sensitive asthmatic subjects. *Chest* 2002; 122(3) : 798-805.
227. Piacentini GL, Del Giudice MJ, Bondini A, Costella S, Vicentini L, Peroni D, Boner AL. Exhaled NO reduced on allergen avoidance. *Allergy* 2001; 56(3): 251-252.
228. Leuppi JD, Downs SH, Downie SR, Marks GB, Salome CM. Exhaled nitric oxide levels in atopic children: relation to specific allergic sensitization, AHR, and respiratory symptoms. *Thorax* 2002; 57(6): 518-23.
229. Olin AC, Alving K, Torén K. Exhaled nitric oxide: relation to sensitization and respiratory symptoms. *Clin Exp allergy* 2004; 34(2): 221-6.
230. Horvath I, Barnes PJ. Exhaled monoxides in asymptomatic atopic subjects. *Clin Exp Allergy* 1999; 29 (9): 1276-80.
231. Moody A, Fergusson W, Wells A, Bartley J, Kolbe J. Increased nitric oxide production in the respiratory tract in asymptomatic Pacific Islanders: An association with skin prick reactivity to house dust mite. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105 (5): 895-9.

232. Ho LP, Wood FJ, Robson A, Innes JA, Greening AP. Atopy influences exhaled nitric oxide levels in adult asthmatics. *Chest* 2000; 118(5): 1327-31.