

Test de provocación tusígena con capsaicina: resultados en una población sana

M.L. Nieto Cabrera, A. de Diego Damiá, M. Perpiñá Tordera, E. Martínez Pérez, L. Compte Torrero y V. Macián Gisbert

Servicio de Neumología. Hospital Universitario La Fe. Valencia.

OBJETIVOS: Es conocido el uso de agentes tusígenos en el estudio del reflejo de la tos, tanto en el campo de la investigación farmacológica como de la fisiología de dicho reflejo. Su aplicación clínica como una herramienta más en los algoritmos diagnósticos se ve limitada por la falta de uniformidad metodológica y de valores de referencia en sujetos sanos. El objetivo del presente estudio ha sido determinar el umbral tusígeno a la capsaicina en una muestra de sujetos sanos, evaluando la influencia de la edad, el sexo y el tabaquismo, así como analizando la fiabilidad y repetibilidad del test.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se incluyeron en el estudio 92 sujetos sanos a los que se les aplicó el test de provocación con capsaicina, cuyas concentraciones iban desde 0,49 a 500 μM . Se determinaron los valores de C_2 y C_5 , siendo éstas las concentraciones de capsaicina que provocan al menos dos y 5 toses, respectivamente. La prueba se repitió a los 3 días en una submuestra de 30 sujetos.

RESULTADOS: Ningún paciente presentó evidencia clínica ni funcional de broncoconstricción. Los valores medios obtenidos en la población de estudio fueron $\log C_2$: $1,5 \pm 0,69 \mu\text{M}$ y $\log C_5$: $2,1 \pm 0,4 \mu\text{M}$. La media geométrica para ambos valores fue: C_2 : 31,6 y C_5 : 134,8 μM . No se hallaron diferencias significativas para el sexo ni el tabaquismo. Sin embargo, la edad guardó una asociación significativa con el $\log C_5$. La repetibilidad del test de la capsaicina fue alta, con un coeficiente de correlación intraclase y un intervalo de confianza del 95% de 0,75 (0,53-0,87) y 0,88 (0,76-0,94) para C_2 y C_5 , respectivamente.

CONCLUSIÓN: El test de provocación con capsaicina ha resultado seguro, fácil de aplicar, con unos resultados reproducibles y nos ha permitido obtener unos valores de referencia en una población sana de nuestra área.

Palabras clave: Pruebas de provocación. Capsaicina. Tos.

(Arch Bronconeumol 2001; 37: 292-296)

Cough-inducing capsaicin challenge test in a healthy population

OBJECTIVE: Cough-inducing agents are used to study the cough reflex in both pharmacological and physiological research. Clinical use of cough challenge testing as a tool in diagnostic algorithms has been limited by the lack of either uniform methodology or reference values for healthy subjects. The objective of this study was to determine the cough threshold for capsaicin in a sample of healthy subjects, while also evaluating the influence of age, sex and smoking. We also assessed the reliability and repeatability of the test.

MATERIAL AND METHODS: Ninety-two healthy subjects were enrolled and given a capsaicin challenge test using concentrations from 0.49 to 500 mg. The concentrations of capsaicin that triggered two and five coughs, C_2 and C_5 respectively, were recorded. The test was repeated three days later in a sub-sample of 30 subjects.

RESULTS: No subject showed clinical or functional signs of bronchoconstriction. The mean values obtained for the study population were $\log C_2$: $1.5 \pm 0.69 \text{ mM}$ and $\log C_5$: $2.1 \pm 0.4 \mu\text{M}$. The geometric means were 31.6 and 134.8 μM for C_2 and C_5 , respectively. No significant differences were found for sex or smoking; however age was significantly related to $\log C_5$ (r : -0.27, p < 0.05). Repeatability of the capsaicin test was high, with intra-class correlation coefficients and 95% confidence intervals of 0.75 (0.53-0.87) and 0.88 (0.76-0.97) for C_2 and C_5 , respectively.

CONCLUSION: The capsaicin challenge test was safe and easy to administer, gave reproducible results and allowed us to obtain reference values for a healthy population in our community.

Key words: Challenge test. Capsaicin. Cough.

Introducción

La estimulación mecánica o química de receptores neurosensoriales localizados principalmente en la laringe y el árbol traqueobronquial constituye el punto co-

mún de distintos reflejos originados en las vías aéreas: broncoconstricción, tos, apnea, etc. Hasta el momento se han descrito 5 tipos distintos de receptores, tres de los cuales (receptores de fibras C bronquial y pulmonar no mielínicos y receptores de adaptación rápida) están involucrados en la génesis del reflejo tusígeno¹. El desarrollo de técnicas de provocación específicas capaces de diferenciar la acción de cada uno de estos receptores ha permitido no sólo avanzar en la investigación farmacológica y fisiológica del arco reflejo de la tos, sino también ampliar el arsenal de herramientas que pueden

Financiado por becas FIS 99/0739 y SEPAR 99.

Correspondencia: Dra. M.L. Nieto. Servicio de Neumología. Hospital Universitario La Fe. Avda. Campanar, 21. 46009 Valencia.

Recibido: 17-10-00; aceptado para su publicación: 20-2-01.

ser útiles en la clínica. Uno de estos métodos utiliza como agente la capsaicina².

La capsaicina (8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide) es una sustancia extraída de la pimienta picante y pertenece al grupo de los vaniloides. Comenzó a ser utilizada en la alimentación por los indios de América Central hace cientos de años, pero no fue hasta el siglo XX cuando se descubrieron sus propiedades terapéuticas (p. ej., en la neuralgia postherpética) y sus aplicaciones diagnósticas. Administrada por vía inhalada, la capsaicina provoca tos a través de la estimulación de los receptores de las fibras C no mielínicas y posterior liberación de péptidos proinflamatorios³. La cuantificación de dicha respuesta permite conocer el umbral de sensibilidad tusígeno a esta sustancia. Su aplicación resulta sencilla y segura, a pesar de que algunas investigaciones iniciales evidenciaron un efecto broncoconstrictor mediado por un reflejo colinérgico⁴, hecho que no ha sido demostrado con posterioridad. Los efectos secundarios más comúnmente descritos son discretas molestias faríngeas sin signos objetivos de faringitis o laringitis⁵, ardor retrosternal, hipersalivación o un incremento en la tos habitual del paciente de escasa duración.

La utilidad de un test de provocación tusígena vendría determinada por su inclusión en el algoritmo diagnóstico de la tos crónica, o por su capacidad para monitorizar el efecto del tratamiento sobre distintas patologías que cursan con tos, entre otras. Sin embargo, la falta de uniformidad en la metodología empleada por los distintos autores ha condicionado la variabilidad de los resultados obtenidos hasta el momento, limitando así su uso. Además, la valoración clínica del umbral de sensibilidad tusígeno obtenido en pacientes con tos está dificultada por la falta de valores de referencia en la población sana.

El objetivo del presente estudio ha sido doble: *a*) determinar el umbral tusígeno a la capsaicina en una muestra de sujetos sanos, evaluando la influencia de la edad, el sexo y el tabaquismo, y *b*) analizar la fiabilidad y repetibilidad del test, así como su seguridad.

Material y métodos

Pacientes

Se estudiaron 92 sujetos sanos (55 mujeres, 37 varones), con edades comprendidas entre 18 y 70 años (edad media: 35,7 ± 9), seleccionados de forma voluntaria entre los trabajadores de nuestro hospital. Todos ellos cumplían los siguientes criterios tras la realización de la historia clínica, exploración física y espirometría: *a*) ausencia de patología o síntomas respiratorios, alérgicos, digestivos o del área otorrinolaringológica; *b*) ausencia de cardiopatía, enfermedad renal, neurológica, endocrina, tiroidea u otras que pudieran alterar los resultados del test, y *c*) espirometría con valores de normalidad según normativa SEPAR. Los criterios de exclusión fueron: *a*) presencia de infección respiratoria en las 6 semanas anteriores al estudio; *b*) antecedente de reflujo gastroesofágico o enfermedad respiratoria; *c*) incapacidad para la realización de la técnica, y *d*) embarazo. Se informó detalladamente a todos los sujetos de las pruebas a realizar, y se obtuvo su consentimiento. El estudio fue aprobado por el comité ético de nuestro hospital.

Método

La elaboración de las distintas disoluciones de capsaicina se realizó en el servicio de farmacia de nuestro hospital según el método de Fujimura et al⁶, disolviendo la capsaicina (Laboratorio Guinama, Valencia, con una pureza superior al 95%) en suero fisiológico y utilizando etanol 96° y polisorbato 80 como cosolventes, para obtener una disolución madre de 0,01 M. Mediante disoluciones sucesivas con suero fisiológico, se obtuvieron 12 soluciones cuyas concentraciones iban desde 0,49 a 500 µM.

El test se efectuó en una habitación bien ventilada, con protección aérea frente a la tos generada por los sujetos y aplicando la técnica de la respiración única. En un nebulizador Sidestream (Medic-Aid) se colocaron 3 ml de cada solución, y mediante un dosímetro activado por la respiración (Optineb, Air Liquide Medicinal) cada sujeto realizó una maniobra inspiratoria lenta desde volumen residual hasta capacidad pulmonar total, inhalando en primer lugar la solución placebo y con posterioridad concentraciones progresivamente crecientes de capsaicina (desde 0,49 a 500 µM). Mediante la posición prefijada del dosímetro cada sujeto inhaló en cada movimiento inspiratorio una dosis de capsaicina de 5 µl y durante un tiempo de inhalación de 0,7 s. La mediana de la masa aerodinámica de las partículas (MMD, µm) de capsaicina generadas por el nebulizador, para las distintas concentraciones de capsaicina (tabla I), se calculó con anterioridad utilizando un método granulométrico.

Después de cada inhalación se procedió al recuento del número de toses emitidas en los primeros 30 s, obteniendo para cada sujeto los valores de C₂ y C₅, siendo éstas las concentraciones de capsaicina más bajas que producen al menos 2 y 5 toses, respectivamente (umbral de sensibilidad tusígeno a la capsaicina). El intervalo entre cada una de las inhalaciones fue de 2 min. La prueba se dio por concluida cuando, tras una dosis de capsaicina, se produjeron 5 o más toses, o cuando la concentración más alta de capsaicina fue administrada. Todos los sujetos realizaron una espirometría forzada antes del inicio del test de provocación (espirometría precapsaicina), repitiéndose ésta inmediatamente después de obtener el valor de C₅ (espirometría poscapsaicina). Para valorar la reproducibilidad del test, éste se repitió a los tres días en una submuestra de 30 sujetos.

Análisis estadístico

La normalidad de la distribución de los valores de C₂ y C₅ fue analizada por el test de Kolmogorov-Smirnov. Puesto que éstos no seguían una distribución normal, se procedió a una transformación logarítmica antes del análisis, y los datos se expresan como media ± desviación estándar ($\bar{X} \pm DE$). Para su aplicación y valoración clínica se obtuvo la media geométrica. Las diferencias de estos valores con respecto al sexo, la edad, el tabaquismo y la función respiratoria se estudiaron mediante el análisis de la variancia. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$. Para establecer la relación de

TABLA I
Mediana de la masa aerodinámica de las partículas (MMD) de la capsaicina nebulizada obtenida por método granulométrico

Dilución	MMD (µM)
Suero fisiológico 0,9%	3,63
Capsaicina 15,62 µM	3,26
Capsaicina 250 µM	3,11
Capsaicina 1.000 µM	2,82

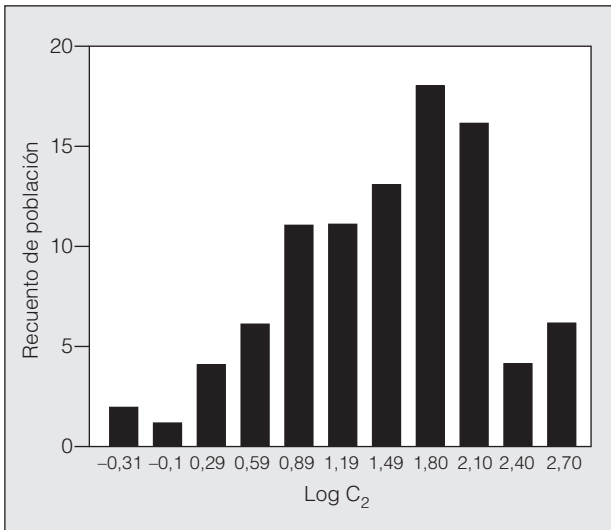


Fig. 1. Distribución logarítmica del umbral de sensibilidad tusígeno a la capsaicina (C₂) en una población sana.

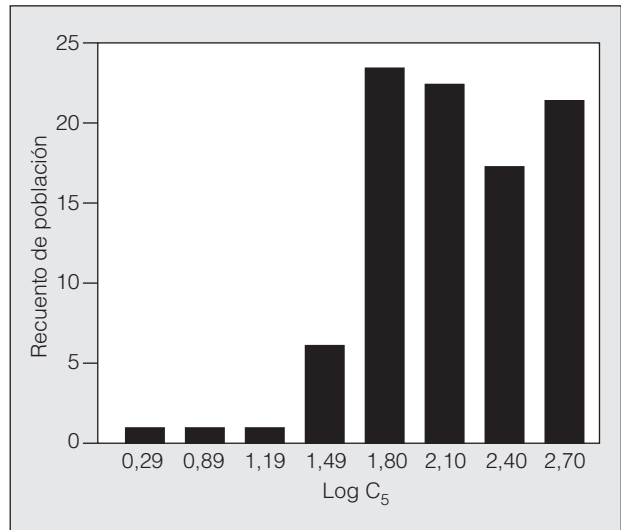


Fig. 2. Distribución logarítmica del umbral de sensibilidad tusígeno a la capsaicina (C₃) en una población sana.

la edad con los valores de C₂ y C₃ se aplicó un análisis de regresión lineal. Finalmente el cálculo de la repetibilidad se llevó a cabo aplicando el cálculo del coeficiente de correlación intraclase⁷.

Resultados

Todos los sujetos realizaron el test de provocación sin complicaciones importantes, y sólo tres de ellos presentaron leves molestias faríngeas que desaparecieron en los siguientes 10 a 15 min. Los valores de la espirometría basal (FVC: 4,48 ± 0,97 l, y FEV₁: 3,59 ± 0,90 l) no experimentaron modificación significativa alguna cuando se repitió la exploración inmediatamente después de obtener C₅ (FVC: 4,54 ± 1,05 l, y FEV₁: 3,59 ± 0,92 l). En ninguno de ellos se observó evidencia clíni-

ca de broncoconstricción ni cambios significativos en el FEV₁ tras la administración de capsaicina, siendo el descenso medio del FEV₁ del 0,1 ± 2,6% y la mayor caída objetivada en la espirometría poscapsaicina del 6,6%.

Los valores medios obtenidos en la población de estudio fueron: log C₂: 1,5 ± 0,69 µM, y log C₃: 2,1 ± 0,4 µM (figs. 1 y 2). La media geométrica para ambos valores fue: C₂: 31,6, y C₃: 134,8 µM.

El análisis del umbral de sensibilidad por sexos no objetivó diferencias significativas para log C₂ (varones: 1,5 ± 0,7 µM frente a mujeres: 1,51 ± 0,6 µM) ni para log C₃ (2,10 ± 0,4 µM frente a 2,19 ± 0,38 µM; p = 0,5). De igual manera no se detectaron diferencias entre fumadores (log C₂: 1,51 ± 0,7 µM, y log C₃: 2,11 ± 0,35 µM) y no fumadores (log C₂: 1,49 ± 0,6 µM y log C₃: 2,14 ± 0,48 µM) (tabla II). Sin embargo, el análisis por grupos de edad evidenció que eran los individuos más jóvenes los que presentaban una menor sensibilidad a la capsaicina. En el estudio de regresión lineal múltiple, sólo la edad guardó una asociación significativa con los valores de log C₃ (r = -0,27; p < 0,05) (fig. 3).

Los valores de C₂ y C₃ obtenidos a los 3 días en una submuestra de 30 sujetos fueron: log C₂: 1,6 ± 0,65 µM, y log C₃: 2,14 ± 0,3. La repetibilidad del test de la capsaicina fue alta, con un coeficiente de correlación intraclase y un intervalo de confianza del 95% de 0,75 (0,53-0,87) y 0,88 (0,76-0,94) para C₂ y C₃, respectivamente.

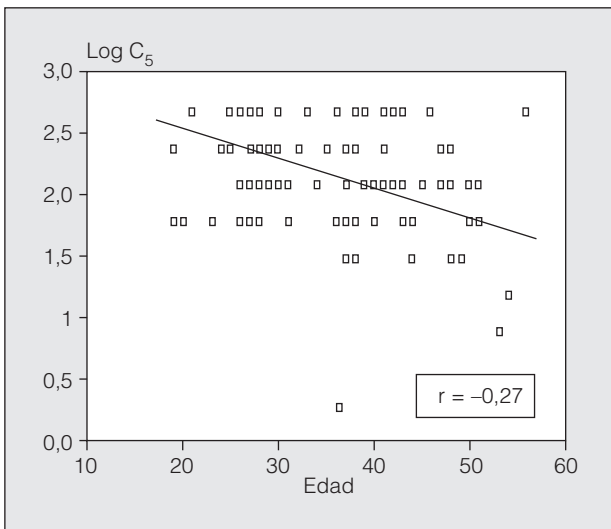


Fig. 3. Relación de edad con la sensibilidad a la capsaicina expresada como log C₃.

TABLA II
Valores medios de C₂ y C₃ en población sana (µM)

	Varones	Mujeres	Fumadores	No fumadores
C ₂	33 (21-56)	32 (21-49)	33 (22-45)	31 (20-57)
C ₃	141 (104-190)	158 (120-209)	131 (105-189)	144 (103-192)

Valores expresados como media geométrica e intervalo de confianza del 95%.

Discusión

Son varias las sustancias que se han utilizado como estímulos químicos para provocar tos: vapor de amoníaco, humo de tabaco, ácido cítrico, agua destilada nebulizada o capsaicina⁸. Es probable que los tres principales grupos de sustancias empleadas como agentes tusígenos (capsaicina y vaniloides; ácido cítrico u otros ácidos orgánicos, y agua destilada) provoquen tos por mecanismos distintos, no hallando correlación entre los umbrales tusígenos determinados para cada una de ellas^{5,9}. El uso de la capsaicina como agente tusígeno ofrece algunas ventajas con respecto a otras sustancias⁵. La técnica descrita ha demostrado ser de fácil aplicación, bien tolerada por los pacientes, y la preparación de la batería de las disoluciones de capsaicina es sencilla, aunque requiere una protección adecuada dadas las características irritantes del producto.

Un análisis inicial de los valores obtenidos nos permite apreciar una variabilidad en la respuesta tusígena, ya descrita por otros autores, y que creemos debida fundamentalmente a la propia sensibilidad individual frente a distintos estímulos irritantes, existiendo sujetos con una escasa o nula respuesta tusígena a la capsaicina, frente a otros que podríamos considerar con una «hipersensibilidad tusígena» a la misma.

El umbral de sensibilidad tusígeno a la capsaicina determinado en nuestra muestra es superior al obtenido en amplias series como la de Fujimura et al⁶, pero similar al obtenido por otros autores¹⁰. Los distintos valores obtenidos en sujetos sanos para log C₂ y log C₅ varían en la bibliografía, y las diferencias detectadas podrían explicarse por las siguientes circunstancias: por un lado, son escasos los trabajos realizados con capsaicina y las características antropométricas de los individuos de estudio varían ampliamente de unas series a otras; por otro, las características técnicas y metodológicas son muy variables: a) la capsaicina utilizada pertenece a distintos laboratorios, no hay indicación de su grado de pureza e incluso la forma de preparación de las distintas disoluciones varía de una a otra serie; b) el sistema de nebulización y la determinación de la MMD son características no especificadas en algunos trabajos y que van a condicionar la obtención de distintos valores para C₂ y C₅. El efecto que tiene el tamaño de las partículas aerosolizadas en el depósito en la vía aérea ya se ha analizado con anterioridad. Es conocido que, a mayor diámetro de las partículas inhaladas, mayor es el depósito e impactación en la vía aérea más central. Hansson et al¹¹ analizaron el efecto de la MMD de las partículas aerosolizadas de capsaicina sobre su depósito, confirmando que la lenta inhalación de partículas con MMD pequeña (3,2 μM) causaba un mayor depósito en las vías aéreas periféricas, disminuyendo el umbral de sensibilidad, y c) la técnica de inhalación elegida es distinta según los autores, aunque la más comúnmente usada es la de respiración única, y hay variación en los tiempos de inhalación para cada respiración.

En opinión de algunos autores¹¹, las variaciones en el flujo inspiratorio determinarían, junto con la MMD de las partículas, un distinto depósito de éstas. Si bien ini-

cialmente se describió una relación negativa entre el flujo inspiratorio y el umbral tusígeno, estudios posteriores realizados en adultos y en niños¹⁰ han demostrado lo contrario: la inhalación a altos flujos podría provocar un incremento de los valores de C₂ y C₅.

Todas estas circunstancias pueden condicionar que la cantidad de capsaicina depositada en los distintos receptores tusígenos varíe en los individuos y series, lo que explica los distintos resultados obtenidos.

En nuestro trabajo hemos preparado las disoluciones siguiendo el método de Fujimura, con una capsaicina de riqueza superior al 95% y con una MMD de las partículas aerosolizadas aceptable; sin embargo, nuestros valores son superiores a los obtenidos por este autor, diferencia tal vez explicable por el empleo de un sistema de inhalación distinto. Aunque no hemos adaptado un sistema para controlar y regular el flujo inspiratorio, insuflamos a los pacientes en la técnica de la respiración a fin de obviar esta circunstancia, obteniendo unos resultados que serían concordantes con los comunicados por Chang et al¹⁰ al utilizar flujos inspiratorios del orden de 60 l/m.

No hemos hallado diferencias significativas en el umbral de sensibilidad tusígeno entre sexos en individuos sanos. La bibliografía no muestra uniformidad al respecto, pues si bien existen estudios^{6,12} en los que se demuestra que la sensibilidad para la tos es superior en las mujeres sanas, otros autores¹³ no han encontrado diferencias significativas en sus muestras. Fujimura et al, al analizar esta diferencia entre series, establecen que tal vez el distinto sistema de inhalación utilizado sea el responsable de la misma. En nuestro laboratorio, si bien usamos la técnica de la respiración única al igual que Choudry y Fuller¹³ y Dicipinigitis y Rauf¹², el tiempo de actuación del dosímetro y la cantidad de capsaicina liberada en cada movimiento inspiratorio son diferentes de los establecidos por estos últimos autores, lo cual podría explicar nuestras diferencias con ellos.

La relación de la edad con la sensibilidad a la capsaicina ha sido pobremente analizada en los distintos trabajos realizados. Aunque con un nivel de significación bajo, nuestros resultados demuestran que con el incremento de edad se va produciendo una disminución en el umbral de sensibilidad a la capsaicina. Estos hallazgos han sido descritos en el sexo femenino, avalando la hipótesis de influencias hormonales en el umbral sensitivo para la tos en mujeres⁶, pero no así en varones. Serán necesarios un mayor número de estudios y análisis por grupos de edad para poder establecer la verdadera relación existente entre estas variables.

En cuanto a la influencia del tabaco en la sensibilidad a la capsaicina, al igual que otros autores no hemos hallado diferencias entre fumadores y no fumadores, lo que podría explicarse por la falta de acción del tabaco sobre los receptores implicados en la producción de tos por efecto de la capsaicina. Un reciente trabajo¹⁴ pone de manifiesto que la sensibilidad tusígena en los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) fumadores es similar a la población normal, e implica en la génesis de la tos de esta patología otros receptores no estimulados por la capsaicina.

La repetibilidad de las curvas dosis-respuesta tras la inhalación de capsaicina ha sido bien establecida por distintos autores, como Collier, cuando el test se repite con un intervalo superior a 15 min, o como Fujimura, que establece el intervalo entre 30 min y 2 semanas. De igual manera, en nuestra muestra el análisis de la repetibilidad ofrece un buen índice de correlación intraclase (ICC), lo que concede a la técnica una validez para su aplicación clínica.

La técnica es segura, y los efectos secundarios descritos en la bibliografía son mínimos. Los primeros trabajos realizados con capsaicina inhalada en humanos⁴ describieron que esta sustancia podía causar leve broncoconstricción de escasa duración, menor de 1 min. Sin embargo, estudios posteriores¹¹ no han corroborado estos hechos, observando que los valores de la espirometría no se modifican tras la aplicación de la capsaicina inhalada a las dosis habituales para la realización de este test de provocación tusígena. Nuestros hallazgos son concordantes con estos últimos; los valores de FEV₁ y FVC no se modificaron significativamente al determinarse inmediatamente después de la última disolución de capsaicina administrada, lo que apoya la hipótesis de que son distintas las vías implicadas en los mecanismos de la tos y la broncoconstricción. En esta línea, trabajos previos ya demostraron que la inhalación de bajas dosis de anestésicos locales podían inhibir la tos, pero no el reflejo de broncoconstricción¹⁴. La falta de correlación entre el umbral para la tos y la hiperrespuesta bronquial ha sido descrita no sólo en sujetos sanos, sino también en asmáticos^{15,16} y en pacientes con EPOC¹⁷.

Concluimos, pues, que el test de provocación de tos con capsaicina ha resultado seguro, fácil de aplicar y con unos resultados reproducibles. No obstante, y dado que no existe uniformidad en los distintos resultados obtenidos entre las distintas series publicadas, serán necesarios nuevos trabajos y una estandarización metodológica que permita la unificación de criterios para la posterior comparación de resultados. Mientras tanto, este estudio nos ha permitido obtener unos valores de referencia de una población sana de nuestra área y la es-

tandarización de la técnica, para su posterior comparación con umbrales de sensibilidad obtenidos en este mismo laboratorio en sujetos con tos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Widdicombe JG. Neurophysiology of the cough reflex. *Eur Respir J* 1995; 9: 1193-1202.
2. Morice AH. Inhalation cough challenge in the investigation of the cough reflex and antitussives. *Pulmonary Pharmacology* 1996; 9: 281-284.
3. Karlsson JA. The role of capsaicin-sensitive C-fibre afferent nerves in the cough reflex. *Pulmonary Pharmacology* 1996; 9: 315-321.
4. Fuller RW, Dixon CMS, Barnes PJ. Bronchoconstrictor response to inhaled capsaicin in humans. *J Appl Physiol* 1985; 58: 1080-1084.
5. Midgren B, Hansson L, Karlsson JA, Simonsson BG, Persson C. Capsaicin-induced cough in humans. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 347-351.
6. Fujimura M, Kasahara K, Yamio Y, Naruse M, Hashimoto T, Matsuda T. Female gender as a determinant of cough threshold to inhaled capsaicin. *Eur Respir J* 1996; 9: 1624-1626.
7. Prieto L, Lamarca R, Casado A. La evaluación de la fiabilidad en las observaciones clínicas: el coeficiente de correlación intraclase. *Med Clin (Barc)* 1998; 110: 142-145.
8. Morice AH. Inhalation cough challenge in the investigation of the cough reflex and antitussives. *Pulmonary Pharmacology* 1996; 9: 281-284.
9. Wong CH, Matai R, Morice AH. Cough induced by low pH. *Respir Med* 1999; 93: 58-61.
10. Chang AB, Phelan PD, Roberts RGD, Robertson CF. Capsaicin cough receptor sensitivity test in children. *Eur Respir J* 1996; 9: 2220-2223.
11. Hansson L, Wollmer P, Dahlbäck M, Karlsson JA. Regional sensitivity of human airway to capsaicin-induced cough. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 1191-1195.
12. Dicipinigitis PV, Rauf K. The influence of gender on cough reflex sensitivity. *Chest* 1998; 113: 1319-1321.
13. Choudry NB, Fuller RW. Sensitivity of the cough reflex in patients with chronic cough. *Eur Respir J* 1992; 5: 296-300.
14. Choudry NB, Fuller RW, Andersson N, Karlsson JA. Separation of cough and reflex bronchoconstriction of inhaled local anaesthetic. *Eur Respir J* 1990; 3: 579-583.
15. Fujimura M, Sakamoto S, Kamio Y, Matsuda T et al. Cough receptor sensitivity and bronchial responsiveness in normal and asthmatic subjects. *Eur Respir J* 1992; 5: 291-295.
16. Chang AB, Phelan PD, Robertson CF. Cough receptor sensitivity in children with acute and non-acute asthma. *Thorax* 1997; 52: 770-774.
17. Wong CH, Morice AH. Cough threshold in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999; 54: 62-64.