

Normativa SEPAR

Normativa sobre el estudio de la hiperrespuesta bronquial inespecífica en el asma

Guidelines for the Study of Nonspecific Bronchial Hyperresponsiveness in Asthma

Miguel Perpiñá Tordera^{a,*}, Francisco García Río^b, Francisco Javier Álvarez Gutierrez^c,
 Carolina Cisneros Serrano^d, Luis Compte Torrero^a, Luis Manuel Entrenas Costa^e,
 Carlos Melero Moreno^f, María Jesús Rodríguez Nieto^g y Alfons Torrego Fernández^h

^a Servicio de Neumología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España

^b Servicio de Neumología, Hospital Universitario La Paz, IdiPAZ, Madrid, España

^c Servicio de Neumología, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España

^d Servicio de Neumología, Hospital Universitario de La Princesa, Madrid, España

^e Servicio de Neumología, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, España

^f Servicio de Neumología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España

^g Servicio de Neumología, Fundación Jiménez Díaz-Capio, Madrid, España

^h Servicio de Neumología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 5 de marzo de 2013

Aceptado el 13 de mayo de 2013

On-line el 26 de julio de 2013

Introducción

La primera normativa sobre los test de provocación bronquial inespecífica auspiciada por SEPAR fue publicada en 1987¹. Años después, en 2004, tuvo lugar una actualización de la misma bajo el formato de Manual de Procedimientos². Transcurrido ya un tiempo prudencial, el Comité Científico y de Investigación de nuestra Sociedad solicitó recientemente al Área de Asma la elaboración de una nueva puesta al día sobre el tema, procurando recoger lo que la práctica diaria y la experiencia acumulada han ido poniendo en valor. De acuerdo con ello, el presente documento tiene como propósito la descripción y la metodología del estudio de la hiperrespuesta bronquial asmática mediante la utilización de estímulos inespecíficos directos e indirectos centrándonos en los más utilizados en clínica: metacolina, adenosina, manitol, ejercicio, hiperventilación eucápnica y salino hipertónico. Pero antes de pasar a su relato pormenorizado conviene recordar brevemente algunos puntos generales y claves relacionados con la materia que nos ocupa.

Hiperrespuesta bronquial: consideraciones generales

Hiperrespuesta bronquial (HB) es el término con el que se define el estrechamiento excesivo de la luz aérea ante estímulos físicos o químicos que habitualmente solo provocan una reducción escasa o nula del calibre de la vía respiratoria³. Este comportamiento anómalo formaliza una de las singularidades significativas del asma pero no una característica exclusiva de ella^{3,4}. La HB también puede detectarse, de forma transitoria o permanente, acompañando a otras situaciones (exposición a polucionantes e irritantes medioambientales, infecciones víricas del tracto respiratorio, bronquitis crónica, rinitis, sarcoidosis, estenosis mitral, displasia broncopulmonar, etc.), o incluso en sujetos aparentemente sanos^{3,4}. De hecho, los trabajos epidemiológicos llevados a cabo sobre la población general han demostrado su existencia en el 16-30% de los niños y en el 10-16% de los adultos, indicando además que el grado de respuesta bronquial tiene una distribución continua unimodal log-normal; los asmáticos ocupan la porción extrema de la curva donde se observan los mayores niveles de hiperrespuesta⁵⁻⁷.

Aunque ese patrón de distribución podría hacernos pensar que la HB no constituye una condición patológica per se, la verdad es que la prevalencia de síntomas respiratorios resulta más elevada cuando aquella está presente^{8,9}, y que los individuos asintomáticos y con HB tienen un riesgo alto de desarrollar asma en el futuro,

* Coordinador y autor para correspondencia.

Correo electrónico: perpinya_mig@gva.es (M. Perpiñá Tordera).

Tabla 1

Comparación entre estímulos directos e indirectos en la prueba de provocación bronquial en el asma

	Directos	Indirectos
Función MLVA	++++	++
Calibre de la vía aérea	++++	±
Inflamación	++	++++
Dosis necesaria	Baja	Alta
Limitación de dosis	No	Sí
Sensibilidad	Alta	Baja
Especificidad	Mediana	Alta
Diagnóstico	Descartan	No descartan

MLVA: músculo liso de la vía aérea.

Modificada de Cockcroft y Davies¹⁸.

máxime si a la vez hay atopía⁹⁻¹³. Ahora bien, HB y atopía no son 2 sucesos invariablemente asociados (hay atopía sin HB e HB sin atopía), y ello sugiere que ambos poseen, al menos en parte, determinantes genéticos independientes⁹.

Tipos de estímulos

En cualquier caso, y a pesar de la falta de especificidad, es en el asma donde el análisis de la HB ha alcanzado un mayor desarrollo. Su evaluación supone, de cara a la práctica diaria, una herramienta de gran ayuda en el proceso diagnóstico de dicha entidad y permite monitorizar la respuesta terapéutica y el grado de control conseguido^{14,15}. El estudio se realiza en el laboratorio de exploración funcional utilizando sustancias que, como la metacolina o la histamina, causan broncoconstricción al actuar directamente sobre las células implicadas en la génesis de la limitación al flujo (músculo liso de la vía aérea [MLVA], endotelio vascular, células productoras de moco, etc.)^{14,15}. Pero la HB puede ser puesta de manifiesto por igual con agentes (alérgenos, adenosina, manitol, ejercicio, etc.) que ocasionan la reducción del calibre de la vía aérea de manera indirecta, estimulando inicialmente células inflamatorias o neuronales que, una vez activadas, generan los mediadores adecuados para provocar la disminución de la luz bronquial^{16,17}. Esta diferencia justifica que el grado de correlación entre estímulos directos e indirectos diste mucho de ser perfecto, y lo más importante: que la información aportada por cada uno de ellos proporciona visiones complementarias de las alteraciones existentes en el tracto respiratorio del paciente asmático^{14,15}. Los estímulos directos rastrean mejor el funcionalismo del MLVA, y los indirectos reflejan con mayor precisión la magnitud de la carga inflamatoria. Asimismo, y en contraste con los estímulos directos, el broncoespasmo inducido por los estímulos indirectos queda prevenido con la toma de cromonas, furosemida inhalada o heparina, y tras una segunda exposición el fenómeno de taquifilaxia resulta mucho más pronunciado y precoz¹⁶. A modo de resumen, la tabla 1 muestra las características que mejor diferencian a unos de otros¹⁸.

Dejando aparte su mecanismo de base (directo o indirecto), los estímulos que traslucen el estado de HB se clasifican tradicionalmente en específicos e inespecíficos. Los específicos solo dan resultados positivos en los individuos sensibles o intolerantes a ellos. Los inespecíficos directos (metacolina, histamina) e indirectos (adenosina, manitol, ejercicio, hiperventilación eucápnic, aerosoles iso-hipertónicos, etc.) denotan la hiperrespuesta en cualquier sujeto con HB, sea cual fuere la causa subyacente^{18,19}. El término inespecífico no implica que los efectos de un estímulo se correlacionen siempre con los inducidos por otro. Por ejemplo, algunos asmáticos, sobre todo los intolerantes a antiinflamatorios no esteroideos, son relativamente más sensibles a la metacolina que a la prostaglandina F_{2α}, y muchos pacientes con enfermedad pulmo-

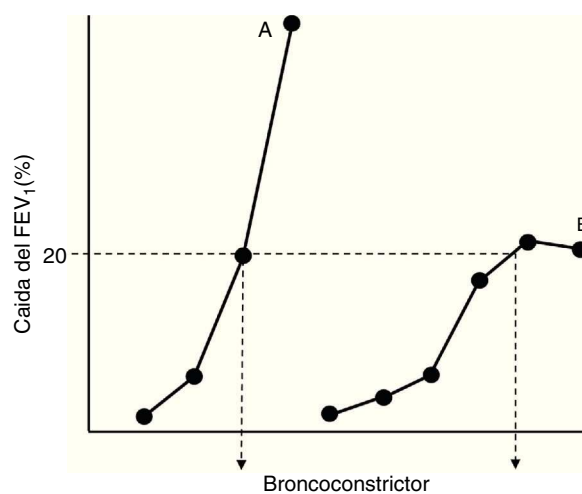


Figura 1. Representación simplificada de curvas dosis-respuesta a un agonista broncoconstrictor en un paciente asmático (A) y en un sujeto normal (B). El desplazamiento hacia la izquierda de la curva A y su mayor pendiente respecto a la curva B reflejan, respectivamente, una mayor hipersensibilidad e hiperreactividad. La dosis que ocasiona una caída del 20% en el volumen espirado forzado en el primer segundo (FEV₁) para ambas curvas (PD₂₀) se refleja en el punto de cruce con estas de la línea discontinua horizontal.

nar obstructiva crónica (EPOC) responden a la metacolina pero no a la hiperventilación¹⁹.

Patogenia de la hiperrespuesta bronquial en el asma

Todos los autores admiten que, a semejanza de lo que ocurre en los modelos in vitro de interacción fármaco-receptor, la HB es el corolario de 2 factores bien definidos: la hipersensibilidad y la hiperreactividad¹⁹⁻²¹. El aumento de la sensibilidad (contracción del reactivo farmacológico ante concentraciones de estímulo más bajas que en condiciones de normalidad) implica: a) modificaciones en el número y/o la afinidad de los receptores a contracturantes; b) cambios en la absorción o en el metabolismo de los mismos, o c) circunstancias locales que favorecen la accesibilidad del ligando a sus lugares de actuación. Por su parte, la hiperreactividad (el desarrollo de una mayor respuesta contráctil) está ocasionada por modificaciones en las propiedades y comportamiento del propio tejido excitable (más cantidad de músculo, presencia de factores que facilitan su acortamiento y disfunciones en la maquinaria contráctil)¹⁹⁻²¹. La hipersensibilidad y la hiperreactividad son identificables en el laboratorio de exploración funcional si construimos curvas dosis-respuesta «completas» a un agonista broncoconstrictor en el sujeto normal y en el asmático y comparamos su posición a lo largo del eje de ordenadas y sus morfologías (fig. 1). La aparición de una meseta en el efecto máximo observado puede no manifestarse si el asma es moderada-grave, y su ausencia refleja una situación particular de estrechamiento excesivo de la vía aérea, con una mayor morbilidad²¹.

De igual modo, la mayoría de los autores coinciden a la hora de afirmar que, en el caso del asma, la génesis de la HB está ligada a la inflamación/reparación que experimenta la pared bronquial durante el curso de la enfermedad, coexistiendo aquí 2 formas de hiperrespuesta: una basal y bastante persistente y otra transitoria^{21,22}. La basal está presente en la mayoría de los pacientes con asma crónica, y la transitoria o variable acontece superpuesta a ella como producto de la exposición a factores medioambientales (alérgenos, infecciones del tracto respiratorio, agentes ocupacionales). El componente variable reflejaría la inflamación de la vía aérea en un momento dado, mientras que la HB basal guarda-

ría más relación con los cambios estructurales que acompañan al remodelado²².

Tomando como punto de partida estos postulados generales, a lo largo de los años se han propuesto un buen número de alternativas patogénicas concretadas en 3 grandes líneas de investigación, no excluyentes entre sí: a) la implicación de determinantes mecánicos; b) la disfunción del MLVA, y c) la pérdida de algún componente limitante de la contractilidad normal del MLVA. El lector interesado en el conocimiento pormenorizado de tales hipótesis puede consultar las referencias^{3,4,19,20,22-26}.

Pruebas de provocación bronquial con estímulos inespecíficos directos: metacolina

Fundamentos básicos

La metacolina y la histamina han sido las 2 sustancias tradicionalmente manejadas como estímulos inespecíficos directos, y en condiciones de medida similares consiguen efectos comparables^{27,28}. Sin embargo, la metacolina es hoy la más utilizada, ya que ofrece 2 grandes ventajas²⁷⁻²⁹: a) puede emplearse a concentraciones hasta 200 mg/ml sin efectos secundarios, mientras que concentraciones de histamina superiores a 32 mg/ml son capaces de ocasionar eritema facial, cefalea, náuseas, disfonía o incluso edema de glotis, y b) la reproducibilidad de las pruebas de provocación bronquial (PPB) con metacolina resulta ser mayor que con histamina. Por todo ello, se recomienda la elección como agente broncoconstrictor de metacolina en lugar de histamina.

La metacolina es un derivado sintético de la acetilcolina (acetil-β-metilcolina), sin acción nicotínica, que actúa sobre los receptores colinérgicos del árbol bronquial y es biotransformada, al igual que la acetilcolina, por la acetilcolinesterasa, pero a una velocidad menor²⁸. Esta circunstancia permite alargar en el tiempo sus efectos y facilita la medida de las respuestas. La metacolina clorhidrato está catalogada como de categoría C para el embarazo. Se desconoce si puede causar daño en el feto o si afecta a la fertilidad. Solo se administrará a mujeres embarazadas cuando sea claramente necesario y no debe utilizarse en madres lactantes, ya que se ignora si, vía inhalada, pasa a la leche materna.

La metacolina se presenta como sal cristalina en polvo (sales de cloro o bromo de acetil-metil-colina) y ha sido aceptada para su uso en humanos (ProvocholineTM, viales de 20 ml/100 mg)²⁸⁻³⁰. La metacolina en polvo es higroscópica y debe mantenerse en lugar seco y cerrado, elaborándose las diluciones a medida que vayan a ser utilizadas³⁰.

Direcciones de interés. Laboratorio distribuidor de metacolina: DIATER, S.A. Avda. Gregorio Peces Barba 2, Parque Tecnológico de Leganés, Leganés, 28918 Madrid, España. Teléfono de contacto: +349149660 13. Fax: +34914966012. Página Web: <http://www.diater.com>. Dirección electrónica de contacto: info@diater.com.

Fundamentos técnicos

Preparación de las diluciones

Las diluciones han de realizarse con cloruro sódico al 0,9% inyectable, usando viales vacíos y estériles de vidrio borosilicatado tipo I y agitando tras añadir el diluyente hasta la obtención de una solución límpida. La tarea es preferible que sea materializada por el Servicio de Farmacia del hospital. Diluciones de metacolina en suero salino isotónico superiores a 0,125 mg/ml, a 4 °C, mantienen la estabilidad durante 3 meses^{28,31}. Si el disolvente contiene un preservante (p.ej., 0,4% de fenol, a fin de inhibir el crecimiento bacteriano) la estabilidad se reduce, y conviene utilizarla como máximo en las siguientes

2 semanas desde su preparación. El pH de la metacolina en la solución salina resulta moderado o débilmente ácido, dependiendo de la concentración de la propia metacolina^{28,31}. Los viales reconstituidos deben almacenarse en condiciones de frío (4 °C), evitando la exposición a la luz solar, y utilizarse a temperatura ambiente. No hay que guardar ninguna precaución especial para la eliminación del producto sobrante³⁰. La [tabla 2](#) recoge los esquemas de diluciones a preparar.

Equipamiento

Sistemas de nebulización. Para la realización de la PPB cabe utilizar 2 métodos de inhalación: los sistemas de generación continua de aerosol y la técnica dosimétrica^{28,31}.

Los *sistemas de generación continua* emplean un nebulizador del tipo impactador de chorro dotado de válvula unidireccional (con entrada al nebulizador y salida provista de filtro al exterior) y acoplado a una fuente de aire comprimido cuyo flujo se ajusta buscando conseguir un débito constante entre 0,13 y 0,16 ml/min²⁸. El nebulizador ha de dispensar partículas con una mediana de masa aerodinámica de 1 a 3 μm; de esta forma, aproximadamente el 80% de ellas alcanzan los bronquios más periféricos^{28,31}. Aunque existen distintos procedimientos de calibración del nebulizador, por su disponibilidad y simplicidad se recomienda el método de la «doble pesada», que consiste en pesar el nebulizador antes y después de dispensar 3 ml de solución, durante 2 min, a temperatura ambiente y con un flujo de aire dado²⁸. La calibración resulta necesaria al empezar a utilizar cada dispositivo y después, a intervalos regulares, ya que el *output* cambia con el uso y la limpieza del mismo. El sistema de generación continua requiere, pues, un equipamiento bastante sencillo pero comporta algunas desventajas: a) la dificultad para conseguir que pacientes ansiosos inhalen la solución a volumen corriente, y b) la imposibilidad de conocer a ciencia cierta la cantidad de agonista inhalado (véase más adelante).

En el caso de la *técnica dosimétrica*, el aerosol se genera solo durante un periodo de la inspiración mediante una válvula solenoide activada de forma eléctrica cuando el paciente inhala a través del nebulizador²⁸. La utilización de dosímetros permite ajustar mejor la dosis administrada, que se determina en función del débito del nebulizador, la concentración del agonista, el tiempo de nebulización y el número de respiraciones. Además de la nebulización por pulsos, algunos dosímetros permiten la nebulización continua durante toda la inspiración, interrumpiendo automáticamente la administración del agonista una vez que se alcance la dosis programada. La técnica dosimétrica también plantea ciertos inconvenientes: a) mayor sofisticación del equipo; b) depósito significativo del agonista en la vía aérea superior si no se controlan los flujos inspiratorios, y c) posible efecto broncoprotector de la maniobra inspiratoria máxima^{28,31,32}. Los sistemas de dosímetro necesitan calibración periódica siguiendo las instrucciones del fabricante.

Finalmente, conviene tener presente: a) que los resultados y puntos de corte obtenidos por ambos métodos no son del todo comparables (el método dosimétrico podría infraestimar el grado de HB), y b) que para poder interpretar la PPB resulta imprescindible detallar las características del nebulizador y la utilización o no de dosímetro³². Pese a la validez de los distintos métodos referidos, con objeto de homogeneizar el procedimiento, esta normativa recomienda el uso de dosímetro.

Registro de la respuesta. La respuesta inducida por un estímulo broncoconstrictor se puede evaluar registrando los cambios detectados en diversos parámetros de función respiratoria, entre los que se incluyen el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁), el pico de flujo o la medida de la resistencia de las vías aéreas y de la conductividad específica³³. De todos ellos, el más usado en la práctica diaria es el FEV₁. Aun con ciertas limitaciones (requiere

Tabla 2

Esquema de las diluciones de metacolina a preparar para los 2 métodos recomendados

	Tomar	Añadir ClNa (0,9%)	Dilución obtenida
<i>A. Lista de soluciones, para el método de respiración continua durante 2 min, partiendo de un vial de 100 mg de la sal de metacolina</i>			
100 mg	100 mg	6,25 ml	A: 16 mg/ml
	3 ml de dilución A	3 ml	B: 8 mg/ml
	3 ml de dilución B	3 ml	C: 4 mg/ml
	3 ml de dilución C	3 ml	D: 2 mg/ml
	3 ml de dilución D	3 ml	E: 1 mg/ml
	3 ml de dilución E	3 ml	F: 0,5 mg/ml
	3 ml de dilución F	3 ml	G: 0,25 mg/ml
	3 ml de dilución G	3 ml	H: 0,0625 mg/ml
	3 ml de dilución H	3 ml	I: 0,031 mg/ml
<i>B. Esquema opcional de diluciones, para el método dosimétrico de 5 inhalaciones, partiendo de un vial de 100 mg de la sal de metacolina</i>			
100 mg	100 mg	6,25 ml	A: 16 mg/ml
	3 ml de dilución A	9 ml	B: 4 mg/ml
	3 ml de dilución B	9 ml	C: 1 mg/ml
	3 ml de dilución C	9 ml	D: 0,25 mg/ml
	3 ml de dilución D	9 ml	E: 0,0625 mg/ml

De Crapo et al.²⁸.

maniobras de espiración forzada capaces de inducir per se variaciones en el calibre de la vía aérea y no aporta información sobre el comportamiento de la vía aérea pequeña), se trata de una medida muy reproducible, con un coeficiente de variación bajo (<8%), de fácil realización y que no exige un equipo complejo³³. El espirómetro empleado y la obtención de la espirometría cumplirán los requisitos exigidos por las normativas correspondientes^{34,35}.

En niños pequeños o en sujetos poco colaboradores podría considerarse el uso de la presión transcutánea de oxígeno o de la oscilación forzada como alternativas para el registro de la respuesta²⁸. Estas solo deberían ser utilizadas ante la incapacidad para obtener espirometrías válidas y en laboratorios con experiencia en su realización e interpretación.

Procedimientos

Se mantienen 2 métodos de provocación clásicos: la respiración a volumen corriente y las 5 inspiraciones con dosímetro, aunque también se han incorporado diversos procedimientos dosimétricos simplificados.

Método de respiración a volumen corriente

Requiere la utilización de un nebulizador del tipo impactador de chorro, modelo Wright o similar³⁶. Una vez realizada la espirometría basal, se solicitará al paciente, sentado en una posición cómoda y provisto de pinza nasal, que respire relajado y tranquilo a través de una boquilla conectada al nebulizador. Como alternativa se puede considerar la utilización de una mascarilla, manteniendo también en este caso la pinza nasal. La prueba comienza con la inhalación del diluyente y continúa con la administración de concentraciones crecientes de metacolina (desde 0,03 mg/ml hasta 16 mg/ml) (tabla 3). En cada etapa de la prueba se colocan 3 ml de la concentración correspondiente en el nebulizador, que será inhalada de forma continua por el paciente mientras respira a volumen corriente durante 2 min. Acabada cada inhalación, el paciente se retirará del equipo y, transcurridos 30-90 s, efectuará una espirometría (no más de 3 maniobras durante los 3 min siguientes). Si el FEV₁ cae un 20% o más, la PPB queda concluida. De lo contrario, se pasará a la concentración siguiente hasta alcanzar ese descenso o completar el resto de las preparaciones^{27,28}. Para garantizar el efecto acumulativo de las dosis no deberán transcurrir más de 5 min entre la administración de una concentración y la siguiente. Por razones de seguridad, una vez finalizada la prueba se administrará siempre un agonista adrenérgico β_2 de acción corta (salbutamol o terbutalina), preferiblemente mediante cartucho presurizado, con el objeto de devolver al paciente a su situación basal.

El uso del diluyente sirve para familiarizar al sujeto con la técnica e identificar la existencia de labilidad bronquial. Una caída del FEV₁ superior al 10% después de la inhalación del diluyente indica respuesta positiva²⁸. El FEV₁ post-diluyente será el valor de referencia para la comparación tras la administración de las distintas concentraciones de metacolina.

Dado que el procedimiento íntegro consume bastante tiempo, se han propuesto modificaciones que permiten comenzar la PPB con dosis de agente broncoconstrictor superiores a las recomendadas en el protocolo original, de modo que la primera concentración a administrar se decide considerando la presencia de síntomas respiratorios, la medicación habitual, el FEV₁ basal y su caída tras la administración del diluyente (tabla 4)³⁶. Si después de la primera concentración de metacolina no se produce una caída significativa en el FEV₁ (disminución menor del 5% con respecto al valor de referencia) y no existen síntomas respiratorios, se puede hacer un salto de dosis y omitir la concentración inmediatamente posterior³⁷. Se recomienda que esta simplificación del protocolo solo sea realizada por técnicos expertos.

La principal limitación de este método radica en la dependencia del patrón respiratorio. De hecho, variaciones tanto en la frecuencia respiratoria como en la amplitud del volumen corriente pueden modificar la dosis administrada.

Método de 5 inspiraciones con dosímetro

Se emplea un nebulizador de chorro conectado a un dosímetro, programado para nebulizar durante los primeros 0,6 s de cada inspiración, generando un débito de $9 \mu\text{l} \pm 10\%$ en dicho periodo^{27,28}. Con este método se administra el diluyente y 5 dosis crecientes de metacolina (de 0,0625 a 16 mg/ml) (tabla 3)³⁸.

Al acabar una espiración a volumen corriente, en situación de capacidad residual funcional (FRC), el sujeto se conectará a la boquilla y hará una inspiración lenta (durante 5 s) hasta capacidad pulmonar total (TLC). Una vez alcanzada la inspiración máxima, mantendrá la apnea durante 5 s, para espirar lentamente a continuación. Con periodos intermedios de respiración tranquila se repetirá este procedimiento hasta completar 5 inhalaciones por cada concentración, en un periodo no superior a 2 min. No deben transcurrir más de 5 min entre las administraciones de cada nivel de concentración para que pueda producirse un efecto acumulativo^{27,28}. Entre los 30-90 s siguientes a la inhalación de cada concentración se realizará la espirometría. La secuencia de pasos a seguir hasta completar la prueba es idéntica a la descrita con anterioridad.

Se ha propuesto que las inspiraciones profundas y las fases de apnea que caracterizan este procedimiento pueden tener algún efecto broncoprotector en sujetos normales y pacientes con

Tabla 3
Principales protocolos de provocación bronquial con metacolina

Etapa	Concentración (mg/ml)	Tiempo nebulización (min)		
Método de respiración a volumen corriente³⁶				
<i>Flujo nebulizador: 0,13 ml/min ± 10%; débito nebulizador en cada etapa: 90 µl</i>				
1	0,03	2		
2	0,06	2		
3	0,125	2		
4	0,25	2		
5	0,50	2		
6	1	2		
7	2	2		
8	4	2		
9	8	2		
10	16	2		
Etapa	Concentración (mg/ml)	Inspiraciones (n)	Tiempo de nebulización (s)	
Método de cinco inspiraciones con dosímetro³⁸				
<i>Flujo del nebulizador: 0,009 ml durante 0,6 s ± 10%; débito nebulizador en cada etapa: 45 µl</i>				
1	0,0625	5	0,6	
2	0,25	5	0,6	
3	1	5	0,6	
4	4	5	0,6	
5	16	5	0,6	
Etapa	Concentración (mg/ml)	Inspiraciones (n)	Dosis (mg)	Dosis acumulada (mg)
Método dosimétrico de Chinn⁴²				
<i>Dosímetro Mefar; débito nebulizador en cada inspiración: 0,010 ml</i>				
Protocolo simplificado				
1	0,39	4	0,0156	0,0156
2	1,56	3	0,0468	0,0625
3	6,25	3	0,1875	0,25
4	12,5	6	0,750	1,0
5	12,5	8	1,0	2,0
Protocolo largo				
1	0,39	2	0,0078	0,0078
2	0,39	2	0,0078	0,0156
3	1,56	1	0,0156	0,0312
4	1,56	2	0,0312	0,0625
5	6,25	1	0,0625	0,125
6	6,25	2	0,25	0,25
7	12,5	2	0,25	0,5
8	12,5	4	0,5	1,0
9	12,5	8	1,0	2,0
Etapa	Concentración (mg/ml)	Nebulización	Dosis (mg)	Dosis acumulada (mg)
Método dosimétrico de Schulze⁴⁴				
<i>Dosímetro APS pro; débito del nebulizador: 160-240 mg/min</i>				
1	16	Por pulsos o continua	0,01	0,01
2	16	Por pulsos o continua	0,10	0,11
3	16	Por pulsos o continua	0,40	0,51
4	16	Por pulsos o continua	0,80	1,31
5	16	Por pulsos o continua	1,60	2,91

Tabla 4
Protocolo rápido para la realización de la prueba de provocación bronquial con metacolina

Variables a considerar	Dosis inicial (mg/ml)
<i>FEV₁/FVC > 80% y FEV₁ > 70% y caída del FEV₁ basal tras la inhalación de la solución salina < 10% y síntomas bien controlados con:</i>	
Corticoides inhalados u orales	0,125
Broncodilatadores diarios	0,25
Broncodilatadores ocasionales	1
Ninguna medicación	2
<i>FEV₁/FVC < 80% o FEV₁ < 70% y caída del FEV₁ basal tras la inhalación de la solución salina < 10% y síntomas bien controlados con:</i>	
Corticoides inhalados u orales	0,03
Cualquier otra medicación o ninguna medicación	0,125
<i>Caída del FEV₁ basal > 10% tras la inhalación de la solución salina o síntomas no controlados</i>	0,03 ^a

Modificada de Juniper et al.³⁶

La omisión de concentraciones posteriores solo se puede realizar si, tras la concentración previa, la caída del FEV₁ es menor del 5% y no han aparecido síntomas.

^a No omitir ninguna concentración.

hiperrespuesta leve³⁹. Por tanto, y aunque en la mayoría de pacientes con asma no existen grandes diferencias entre estos 2 métodos, en sujetos con hiperrespuesta leve las inspiraciones profundas pueden ser causa de falsos negativos al utilizar el método del dosímetro con respecto a la respiración a volumen corriente^{40,41}.

Métodos dosimétricos simplificados

Minimizan el número de concentraciones a utilizar, disminuyendo así el trabajo del técnico y las posibles fuentes de error.

El método dosimétrico de Chinn fue diseñado para el *European Community Respiratory Health Survey II*, como protocolo abreviado (tabla 3)⁴². Se desarrolló para un dosímetro Mefar, que, programado para un tiempo de nebulización de 1 s, determina un débito de 0,01 ml de aerosol cada vez que es accionado⁴³. La secuencia de cada inhalación requiere que, una vez conectado a la boquilla en FRC, el paciente inspire lentamente hasta TLC, manteniendo la apnea durante 3 s, para desconectarse inmediatamente después de la boquilla. Se ha de procurar que la inspiración lenta y la apnea posterior sumen, al menos, 6 s. Una vez realizada la espirometría basal, se llevarán a cabo 3 inhalaciones del diluyente, repitiendo la espirometría a los 60 s. Si el FEV₁ disminuye > 10% después del diluyente, se seguirá el protocolo largo (tabla 3). En el protocolo simplificado, se emplearán 4 concentraciones para administrar 5 dosis, realizando la espirometría 60 s después de cada nivel de dosis e interrumpiendo la prueba si se registra una caída del FEV₁ ≥ 20% con respecto al post-diluyente^{42,43}. También en este caso, se administra un broncodilatador después de la última dosis.

El método dosimétrico de Schulze supone todavía una mayor simplificación, al utilizar una única concentración (16 mg/min) para generar 5 dosis crecientes (tabla 3) mediante dosímetros tipo APS, que permiten tanto la nebulización por pulsos como la continua⁴⁴⁻⁴⁶. Mientras que en adultos no existen diferencias entre ambos procedimientos, en niños se recomienda la nebulización continua por la mayor irregularidad del ciclo respiratorio⁴⁶. En este método, la nebulización se realiza mientras el paciente respira a volumen corriente, con visión directa de su trazado respiratorio. Para garantizar un mayor depósito del aerosol en las vías aéreas se aconseja que el flujo inspiratorio no supere 0,5 l/s⁴⁶. Dos minutos después de la administración de cada dosis se efectúa la espirometría, manteniendo las mismas características de realización y finalización que en el resto de protocolos.

Medida e interpretación de los resultados

El resultado de la PPB con metacolina se representa mediante una curva dosis-respuesta en la que el eje de abscisas refleja la dosis o la concentración acumulada de agonista inhalado y el de ordenadas, la modificación observada de la función pulmonar^{1,2,28,31,33}.

El parámetro más clásico a estimar es la PD₂₀, definida como la dosis acumulada de metacolina que reduce el FEV₁ en un 20% (PD₂₀FEV₁) respecto al valor obtenido tras la administración del disolvente^{1,2,28,31,33}. Para su cómputo recurriremos a la fórmula:

$$PD_{20}FEV_1 = (20 - R_1) \times (D_2 - D_1) / (R_2 - R_1)$$

donde R₁ es el porcentaje de FEV₁ inmediatamente anterior a la caída ≥ 20%, R₂ el porcentaje de caída de FEV₁ ≥ 20%, D₁ la dosis acumulada de metacolina inhalada en R₁, y D₂ la dosis acumulada de metacolina inhalada en R₂^{1,2,28,31,33,36}.

Los valores de PD₂₀ son únicamente calculables cuando se utiliza dosímetro. En los sistemas de generación continua, y al desconocer con seguridad la dosis administrada, se empleará la fórmula anterior sustituyendo D₁ y D₂ por la concentración acumulada de agonista previa (C₁) y la que induce la caída del FEV₁ ≥ 20% (C₂), respectivamente. El índice resultante se denominará PC₂₀. PD₂₀FEV₁ y PC₂₀FEV₁ pueden también identificarse mediante interpolación

Tabla 5

Clasificación de gravedad de la hiperrespuesta bronquial a la metacolina, en función de la dosis (PD₂₀) o de la concentración (PC₂₀) que provoca una caída del 20% en el FEV₁

	PC ₂₀ (mg/ml) ³⁶	PD ₂₀ (mg) ⁴⁵
Normal	> 16	> 1,0
Dudosa	4-16	0,6-1,0
Leve	1-4	0,3-0,6
Moderada-grave	< 1	< 0,3

directa desde la representación gráfica de los resultados^{28,36}. Tanto los valores de PD₂₀FEV₁ como los de PC₂₀FEV₁ permiten clasificar la gravedad de la HB a la metacolina (tabla 5)²⁸.

Otros parámetros de interés son la pendiente de la curva dosis-respuesta (que se obtiene aplicando un modelo de regresión lineal y nos informa sobre el grado de hiperreactividad bronquial) y la propia morfología de la curva, concretada por el valor de respuesta máxima o porcentaje de caída máxima del FEV₁ que no aumenta a pesar de la inhalación de dosis crecientes del agonista³¹. La respuesta máxima se expresa como la media de los descensos de FEV₁ que mantienen una variación inferior al 5% en 3 concentraciones crecientes de agonista.

En los últimos años se ha propuesto trabajar con otros índices adicionales: deltaFVC, el índice de reactividad bronquial y el índice continuo de respuesta. DeltaFVC representa el porcentaje de descenso de la capacidad vital forzada cuando el FEV₁ cae un 20% respecto a basal. DeltaFVC posiblemente diferencia mejor que PD₂₀FEV₁ o PC₂₀FEV₁ los niveles de gravedad del asma y refleja no solo la hipersensibilidad, sino también la afectación de la vía aérea pequeña y el atrapamiento aéreo⁴⁷. Por su parte, el índice de reactividad bronquial y el índice continuo de respuesta podrían resultar más útiles para discriminar entre pacientes con HB asociada a asma o EPOC⁴⁸, además de mantener una mejor relación con la calidad de vida relacionada con la salud de los asmáticos⁴⁹.

Indicaciones, contraindicaciones y precauciones generales

La indicación sustancial de las PPB inespecíficas en clínica es la de establecer o excluir el diagnóstico de asma, sobre todo cuando ni los síntomas ni la espirometría con broncodilatador permiten asegurar o descartar dicha contingencia. Ya se señaló líneas arriba que la PPB con estímulos directos resulta más útil para excluir asma (salvo en los casos de asma estacional u ocupacional sin exposición al agente causal), ya que tiene una mayor capacidad predictiva negativa que positiva^{18,28}. El valor predictivo negativo máximo para descartar asma de una PPB con metacolina negativa ocurre cuando las probabilidades previas de asma oscilan entre el 30 y el 70%^{28,50}. Las PPB inespecíficas mediante agentes inhalados sirven igualmente para monitorizar la respuesta terapéutica y el grado de control de la enfermedad, y es frecuente su utilización en estudios epidemiológicos, en ensayos clínicos controlados y en la valoración de enfermedades respiratorias de origen laboral (diagnóstico y seguimiento del asma ocupacional)²⁸. La ausencia de respuesta bronquial a la metacolina en un paciente que haya estado expuesto a su ambiente laboral en las últimas 2 semanas descarta el diagnóstico de asma ocupacional⁵¹. Por contra, los incrementos en la respuesta a metacolina, tras una exposición natural o provocada a un agente, sugieren su papel causal.

Establecida la indicación e informado de forma adecuada, el paciente ha de firmar el consentimiento correspondiente previa lectura del mismo y resolución de las dudas que se le presenten. Asimismo se le instruirá sobre la evitación de alimentos, bebidas estimulantes, medicamentos y otros factores susceptibles de modificar la respuesta broncomotora (tabla 6). En el momento de la prueba el paciente estará estable y libre de infecciones de la vía aérea durante las últimas 6 semanas^{1,2,28}.

Tabla 6

Factores que alteran la dinámica bronquial e indicación del tiempo mínimo que debe transcurrir entre la exposición a los mismos y la realización de una PPB

Factores que aumentan la hiperrespuesta bronquial	
Humo de tabaco	2 h
Contaminantes atmosféricos	1 semana
Vacunas con virus atenuados	3-6 semanas
Infecciones virales respiratorias	6 semanas
Sensibilizantes ocupacionales	3 meses
Ejercicio intenso	4 h
Factores que disminuyen la hiperrespuesta bronquial	
Betaadrenérgicos inhalados	
Acción rápida y corta	12 h
Acción prolongada	24 h
Betaadrenérgicos orales	
Bromuro de ipatropio	12 h
Bromuro de tiotropio	1 semana
Teofilinas (vía oral)	
De acción corta	24 h
De acción prolongada	48 h
Cromonas	
Antileucotrienos	24 h
Antihistamínicos H1	72 h
Terfenadina, ceterizina, loratadina	5 días
Astemizol	30 días
Alimentos: café, té, bebidas de cola, chocolate	Día del estudio

De Valencia Rodríguez et al.¹, Burgos Rincón y Casan Clará², y Crapo et al.²⁸

Nota: No se recomienda de forma rutinaria la suspensión previa de corticoides inhalados u orales (2-3 semanas), aunque su efecto antiinflamatorio puede disminuir la hiperrespuesta bronquial.

La PPB se llevará a cabo en una habitación bien ventilada y espaciosa y dispondrá de un equipo de resucitación cardiopulmonar en las inmediaciones. El diplomado/graduado en enfermería encargado de su realización contará con una formación de 6 meses en un laboratorio acreditado de función pulmonar, tendrá los conocimientos necesarios para detectar y ayudar a resolver una urgencia respiratoria y habrá realizado con anterioridad al menos 25 exploraciones supervisadas²⁸. El médico responsable del laboratorio permanecerá cercano al lugar donde se lleve a cabo la exploración para atender cualquier imponderable que pueda presentarse. El personal facultado no debe ser asmático.

En cuanto a las contraindicaciones, estas se subdividen en absolutas y relativas (tabla 7)^{1,2,28}. Algunos pacientes pueden presentar molestias faríngeas y tos seca. Los efectos son transitorios^{28,31}. La aparición de una respuesta broncoconstrictora excesiva solo se detecta en contadas ocasiones⁵², sobre todo con los protocolos abreviados, pero es posible su prevención si determinamos los niveles de óxido nítrico en el aire exhalado (FE_{NO}) antes

Tabla 7

Contraindicaciones para la realización de la prueba de provocación bronquial con metacolina

Absolutas	
Limitación al flujo aéreo importante (FEV ₁ < 50% del valor de referencia o < 1 l)	
Contraindicación o incapacidad, técnica o funcional, para realizar espiraciones forzadas reproducibles	
Infarto de miocardio o accidente vascular cerebral en los 3 meses previos	
Hipertensión arterial no controlada (sistólica > 200 o diastólica > 100 mmHg)	
Aneurisma de aorta	
Arritmias cardíacas con síntomas o insuficiencia cardíaca	
Epilepsia inestable	
Relativas	
Limitación al flujo aéreo moderada (FEV ₁ < 65% del valor de referencia o < 1,5 l)	
Embarazo o lactancia materna	
Utilización de medicación inhibidora de la colinesterasa	
Epilepsia o cardiopatía estables	

De Valencia Rodríguez et al.¹, Burgos Rincón y Casan Clará², y Crapo et al.²⁸

de realizar la PPB. Se ha señalado que valores de FE_{NO} inferiores a 19,5 ppb descartan con razonable seguridad el desarrollo de esta circunstancia (sensibilidad del 80%, especificidad del 77%, valor predictivo negativo del 88%)⁵³.

Pruebas de provocación bronquial con estímulos inespecíficos indirectos

Adenosina

Fundamentos básicos

La adenosina es un nucleósido endógeno implicado en numerosos procesos fisiológicos (control del tono vascular e intestinal, neurotransmisión, neurosecreción, etc.) y reacciones inflamatorias⁵⁴. La síntesis tiene lugar dentro de las células a partir de la hidrólisis de la adenosina 5'-monofosfato (AMP) por la 5'-nucleotidasa, o por el catabolismo de la 5-adenosinhomocisteína. Cuando la concentración intracelular de AMP aumenta (hipoxia, activación celular), pasa al exterior para ser recaptada por la propia célula o unirse a receptores citoplásmicos de membrana (receptores A)⁵⁴⁻⁵⁷. Se han detectado concentraciones elevadas de adenosina en el lavado broncoalveolar y en el condensado de aire exhalado de pacientes con asma y bronquitis crónica, comparado con el de individuos sanos, y modelos experimentales muestran que la adenosina se libera a la sangre como consecuencia de la provocación bronquial con alérgenos^{55,56}.

La acción broncoconstrictora de la AMP inhalada es consecuencia de la liberación de histamina, interleucina-8, leucotrieno C4 y otros mediadores, a partir de los mastocitos, plaquetas, neutrófilos y células epiteliales, una vez activados sus receptores A_{2B}^{54,55}. Otros mecanismos, como los neurosensoriales, el reflejo axónico y el estímulo colinérgico, también parecen importantes^{54,55,58}.

Para la PPB, y por su mayor solubilidad en suero salino, se utiliza la sal disódica de AMP (adenosina 5'-monophosphate sodium salt, Sigma Chem, St. Louis, MO, EE. UU.), que se dispensa como polvo seco de aspecto cristalino. El grado de pureza del producto es del 99-100%². El preparado en polvo se mantiene almacenado en frigorífico con un desecante seco. La adenosina tiene la categoría de medicamento de clase C para el embarazo.

Direcciones de interés. Laboratorio distribuidor de la adenosina: Sigma-Aldrich Química, S.A. Calle Ronda de Poniente 3, 2. Tres Cantos. 28760, Madrid. Teléfono de contacto: +900101376. Fax: +900102028. Página Web: <http://www.sigmaaldrich.com/spain/acerca.html>. Dirección electrónica de contacto: esorders@sial.com.

Fundamentos técnicos

Preparación de las diluciones. La solución madre se prepara con el polvo de AMP y una solución de cloruro sódico al 0,9% estéril, obteniendo una concentración de AMP de 800 mg/ml^{2,58}. A partir de ella se habilitarán las diferentes concentraciones de AMP. Las recomendadas por la *European Respiratory Society* (ERS) son: 3, 12,5, 6,25, 12,5, 25, 50, 100, 200 y 400 mg/ml¹⁶. Otros autores utilizan concentraciones ligeramente diferentes (entre 0,03 y 256 mg/ml)². Las diluciones deben permanecer protegidas de la luz mediante frasco de topacio. Su estabilidad es de al menos 25 semanas si las conservamos en nevera (4 °C) y de menos de 10 días si quedan expuestas a temperatura ambiente⁵⁹. Por lo tanto, las diluciones se mantendrán siempre en frigorífico hasta 30 min antes de su utilización.

Equipamiento.

Sistemas de nebulización. Al igual que sucede con la metacolina, el test de adenosina puede ejecutarse mediante el sistema de generación continua o con la técnica dosimétrica, que es por la que se decanta la ERS¹⁶. Para las especificaciones generales de ambos métodos, véase el anterior párrafo «Sistemas de nebulización» en

el apartado «Pruebas de provocación bronquial con estímulos inespecíficos directos: metacolina».

Registro de la respuesta. El registro de la respuesta evocada por la adenosina se realiza habitualmente analizando los cambios en FEV₁ y sirven, por tanto, todos los comentarios generales realizados líneas arriba al exponer el registro de la respuesta cuando se recurre a la metacolina como agente broncoprovocador.

Procedimientos. El procedimiento a seguir con la PPB con AMP, ya sea con respiración espontánea del aerosol o con dosímetro, es superponible al descrito para la metacolina. El primer aerosol estará compuesto por suero salino fisiológico al 0,9% y, si no se constata un descenso del FEV₁ mayor del 20%, se iniciará la nebulización del AMP, en concentraciones dobles progresivas, desde la dosis inicial (3,125 mg/ml) hasta la máxima (400 mg/ml). Se medirá el FEV₁ 2 min después de cada dosis, y la mayor medida de 3 determinaciones reproducibles, con una variación menor de 100 ml, será recogida para crear la curva dosis-respuesta^{2,16,58}. La prueba quedará interrumpida cuando se observe una caída del FEV₁ mayor o igual al 20% respecto al diluyente, una vez alcanzada la dosis máxima permitida, o en caso de síntomas o signos de broncoespasmo^{2,16,58}.

Aunque este protocolo es el que con más éxito se ha practicado en niños y adultos, existe otra variante abreviada en la que se administran dosis cuádruples de la misma, consiguiendo idéntica reproducibilidad pero con un menor consumo de tiempo (25-30 min) y sin más efectos adversos⁶⁰.

Medida e interpretación de los resultados. Al igual que con la metacolina, se construirá una curva dosis-respuesta, considerando la caída del FEV₁ y la dosis de AMP. El resultado de la exploración se expresa mediante PC₂₀ o PD₂₀ obtenidos por interpolación lineal. Si el FEV₁ no desciende al menos un 20% tras la concentración máxima (400 mg/ml), se otorga un valor de PC₂₀ o PD₂₀ > 400 mg/ml^{16,58}. Ahora bien, los puntos de corte de PC₂₀ o PD₂₀AMP entre sanos y sujetos con HB son todavía arbitrarios (160-200 mg/ml), dado que aún carecemos de análisis poblacionales suficientemente amplios⁵⁸. El coeficiente de repetibilidad de la PPB con AMP oscila entre 1 y 1,2 dosis dobladas^{16,58} y los estudios publicados hasta la fecha coinciden en afirmar que se trata de un broncoconstrictor menos potente que la metacolina o la histamina tanto en asmáticos como en pacientes con EPOC o rinitis alérgica⁶¹.

Indicaciones, contraindicaciones y precauciones generales. Prácticamente todos los asmáticos, atópicos o no, responden con broncoconstricción a la inhalación de concentraciones de AMP ≤ 400 mg/ml, aunque este hallazgo se observa igualmente en algunos individuos sanos y en la EPOC o rinitis alérgica⁵⁸. Dicho de otro modo: la provocación con adenosina es mucho más específica que sensible: sirve para confirmar asma pero no descarta otras posibilidades diagnósticas. Más allá de ello, existen otros escenarios en los que su utilización puede estar bien justificada. Por ejemplo, la broncoconstricción observada tras inhalar AMP guarda una relación estrecha con la magnitud de la eosinofilia existente en el tracto respiratorio del asmático, refleja el estado de activación de los mastocitos y es un indicador de la carga y la actividad alérgica^{58,61}. También parece claro que la respuesta a la adenosina se modifica de forma más precoz, sensible e intensa tras corticoides inhalados que la de la metacolina^{58,61}.

Bajo tales premisas, no debe extrañar que la PPB con adenosina se haya planteado como una buena herramienta en 2 contextos concretos^{58,61,62}: a) para ensayos clínicos orientados a monitorizar la respuesta a corticoides, montelukast, omalizumab, evitación alérgica o inmunoterapia específica, y b) para identificar qué pacientes controlados con corticoides inhalados van a tolerar la

reducción/retirada del tratamiento sin desestabilizarse o conocer cuál es su mínima dosis efectiva.

No existe limitación específica alguna para la adenosina, salvo la hipersensibilidad demostrada al propio producto, y aquí se aplica el listado de contraindicaciones absolutas y relativas ya señaladas para la PPB con metacolina^{2,58,61}. Antes de la exploración con AMP se suspenderán antihistamínicos, agonistas β₂-adrenérgicos, anti-muscarínicos, teofilinas, cromonas y antileucotrienos, recordando además que la adenosina es extremadamente sensible al efecto de los glucocorticoides inhalados y que estos serán suprimidos 12 h antes. Los técnicos y los médicos encargados de la exploración estarán debidamente entrenados en las técnicas de provocación bronquial y capacitados para manejar crisis asmáticas graves.

Manitol

Fundamentos básicos

Esta sustancia es un alcohol hexahídrico de azúcar (C₆H₁₄O₆), de masa molecular 182,17 g/mol, esteroisómero del sorbitol^{63,64}. Hasta los años veinte del siglo pasado su fuente fue *manna*, un producto derivado del calentamiento de la corteza del árbol *Fraxinus ornus*. Actualmente es producido por hidrogenación de alta presión, pero la fabricación mediante fermentación está ya en camino^{63,65}. Provisto de propiedades osmóticas, el manitol se ha venido aprovechando durante decenios como aditivo alimentario (en alimentos dietéticos y goma de mascar), introduciéndose —también hace años— en el campo médico para aliviar la hipertensión intracraneal, sustituir al plasma sanguíneo o como diurético⁶³. Por vía inhalada, el manitol deshidrata la mucosa bronquial, y esa deshidratación se acompaña de un incremento de la osmolaridad en la mucosa y de liberación de mediadores inflamatorios desde los mastocitos, con un perfil muy similar al evocado por la adenosina^{17,64,66,67}. Su uso como agente de provocación bronquial fue aprobado en 2006 en Australia y posteriormente en los países de la Unión Europea (2007), Asia y Estados Unidos (2010). En nuestro país la autorización data de julio de 2008.

En el mercado español y para el análisis de la HB, el manitol está comercializado en forma de cápsulas con dosis prefijadas de polvo seco (Osmohale™).

Los datos de uso de Osmohale™ durante el embarazo son limitados. Los estudios en animales no sugieren efectos perjudiciales directos ni indirectos en términos de toxicidad para la reproducción. De todos modos, se desconocen los efectos de una posible reacción de hiperreactividad sobre la madre y/o el feto y, en consecuencia, no debería administrarse Osmohale™ a mujeres embarazadas⁶⁸. En cuanto a la lactancia, no se prevén efectos en neonatos lactantes, puesto que la exposición sistémica al manitol en madres en periodo de lactancia es insignificante. Los estudios con manitol por vía oral no sugieren tampoco efectos sobre la fertilidad⁶⁸.

Direcciones de interés. Laboratorio distribuidor de Osmohale™: Aldo-Unión, S.A. Baronesa de Maldá 73. 08950 Esplugues de Llobregat, Barcelona. Teléfono de contacto: +34933727111. Fax: +34933716198. Página Web: <http://www.aldo-union.com/>. Dirección electrónica de contacto: info@aldo-union.com. Información general sobre la prueba: <http://www.aridol.info/spain>.

Fundamentos técnicos, equipamiento y registro de la respuesta

La prueba del manitol exige menos equipamiento y es mucho más simple que los otros test indirectos (particularmente los relacionados con el ejercicio), aportando resultados razonablemente superponibles⁶³. El kit Osmohale™ lo componen 19 cápsulas (una sin producto activo, tres de 5, 10 y 20 mg, respectivamente, y 15 de 40 mg) acompañadas de dispositivo inhalador de polvo seco

(Inhalator™, Boehringer Ingelheim, Alemania). Para el registro de la respuesta se emplea por lo común el FEV₁⁶⁸.

Procedimientos

Los pasos a seguir son los siguientes⁶⁸: a) con el paciente cómodamente sentado, se le coloca una pinza en la nariz y se le dan instrucciones para que respire por la boca; b) se inserta la cápsula con 0 mg en el dispositivo y se perfora la cápsula presionando cuidadosamente los botones ubicados en los costados del dispositivo una sola vez, dado que una segunda perforación podría romperla; c) el paciente exhalará completamente fuera del inhalador, y a continuación inclinará ligeramente la cabeza hacia atrás, sosteniendo el dispositivo a 45° para realizar la maniobra de inspiración, que será profunda, rápida y corta; d) tras la inspiración, debe ponerse a funcionar un temporizador de 60 s; el paciente debe contener la respiración durante 5 s y exhalar por la boca antes de retirar la pinza nasal; e) pasados los 60 s se realiza una espirometría, midiendo el FEV₁ como mínimo por duplicado, con el fin de obtener 2 mediciones reproducibles; la lectura mayor será el valor basal del FEV₁; f) se inserta la cápsula de 5 mg en el inhalador y se procede según se ha indicado anteriormente, y g) las siguientes dosis a administrar serán: 10 mg, 20 mg, 40 mg, 80 mg (2 cápsulas consecutivas de 40 mg), 160 mg (4 cápsulas de 40 mg) y 160 mg (4 cápsulas de 40 mg); la prueba se detendrá cuando se alcance la dosis total de 635 mg o aparezca en algún momento una respuesta positiva.

Después de la inhalación de cada dosis, hay que comprobar que la cápsula está vacía. Si no se ha vaciado por completo, se realizará una segunda inhalación⁶⁸. Completada la prueba, se administrará una dosis estándar de un agonista β₂-adrenérgico de acción rápida. La duración del test es variable y depende, lógicamente, de si se detecta HB (17 ± 7 min) o no (26 ± 6 min)⁶⁹.

Medida e interpretación de los resultados

Se considera respuesta positiva cuando⁶⁸: a) se objetiva una caída del FEV₁ ≥ 15% respecto al valor basal (usando el valor del FEV₁ tras la administración de 0 mg como comparador) (PD₁₅), o b) aparece una disminución incremental del FEV₁ ≥ 10% entre 2 dosis consecutivas. Algunos estudios aconsejan utilizar el dintel de caída del 10% (PD₁₀) calculado por interpolación de la curva dosis-respuesta log-lineal y así clasifican la HB de los asmáticos en grave (0-75 mg), moderada (75-315 mg) o leve (315-635 mg)⁷⁰.

La repetibilidad de la prueba con manitol es similar o mejor que otras PPB que utilizan fármacos, tanto en adultos^{67,71} como en niños^{72,73}. Sin embargo, tras pruebas repetidas en un corto espacio de tiempo hay un período refractario (lo mismo que ocurre con la broncoconstricción inducida por el ejercicio) debido a un fenómeno de taquifilaxia en la respuesta del MLVA a los mediadores contracturantes liberados desde los mastocitos⁷⁴.

Indicaciones, contraindicaciones y precauciones generales

La prueba con manitol traduce en buena medida la intensidad de la inflamación de la vía aérea asmática, se modifica por la acción de los corticoides inhalados y su PD₁₅ mantiene una estrecha asociación con: a) las respuestas evocadas por otros estímulos indirectos (adenosina, ejercicio, hiperpnea eucápnica y salino hipertónico), y b) la cantidad de eosinófilos en esputo y la FE_{NO}^{63,66}. La especificidad de manitol en el diagnóstico de asma está por encima del 95%, su sensibilidad en torno al 60% y sus valores predictivos dependen de la probabilidad pretest de asma^{63,66,75}. La sensibilidad aumenta hasta casi el 90% cuando se excluye a los pacientes con tratamiento esteroideo⁶⁹.

Así las cosas, la PPB con manitol se presenta como una herramienta de gran interés a la hora de evaluar la efectividad del tratamiento antiasmático y establecer el grado de control alcanzado e incluso monitorizar la evolución del asma ocupacional^{18,63,66,76}. Paralelamente, la técnica facilita la colección de secreciones bron-

Tabla 8

Efectos adversos del manitol inhalado

<i>Frecuentes (afecta a < 1 de cada 10 personas, pero ≥ 1 de cada 100 personas)</i>
Tos ^a
Cefalea
Nasofaringitis
Dolor laringofaríngeo
Rinorrea
Disnea
Náuseas, vómitos
Opresión torácica
<i>Poco frecuentes (afecta a < 1 de cada 10 personas pero ≥ 1 de cada 1.000 personas)</i>
Mareo
Irritación ocular
Ronquera
Epistaxis
Erotema, extremidades frías
Epigastalgia
Diarrea
Úlcera bucal
Prurito, hiperhidrosis
Dolor musculoesquelético
Fatiga, sensación de nerviosismo
Sed

Modificada de Ficha técnica Osmohale™ polvo para inhalación⁶⁸.

^a Definida como reacción adversa durante la prueba de provocación en caso de ocasionar la interrupción de la prueba.

quiales (que aumentan tras su realización), lo cual proporciona, si se quiere, una fuente adicional de análisis de la inflamación bronquial en un momento determinado⁷⁷.

Por último, y no menos importante, el test de manitol inhalado constituye una alternativa a considerar para el diagnóstico del asma de esfuerzo con una eficacia similar a la obtenida con la hiperventilación eucápnica^{63,78,79}. En este sentido, el Comité Olímpico Internacional ha aprobado su uso para el estudio de la HB en atletas de élite y para justificar el empleo de agonistas β₂-adrenérgicos antes de una competición deportiva⁶⁴.

Manitol resulta un compuesto seguro y los efectos secundarios más comúnmente observados son la tos (83%), que en algunas ocasiones puede llegar a motivar la interrupción de la prueba, y la cefalea^{68,69}. El efecto tusígeno está asociado al asma independientemente de la broncoconstricción y tiende a disminuir tras el tratamiento con esteroides inhalados. La cefalea suele aparecer con mayor frecuencia en los sujetos con una prueba negativa probablemente por el alto número de maniobras de espiración forzada realizadas^{68,69}. El listado completo de sus efectos adversos aparece en la **tabla 8**.

Para el test con manitol se deberán observar las precauciones generales relativas a la realización de espirometrías y PPB que ya han sido enumeradas *in extenso* en los apartados anteriores, incluidas precauciones adicionales en pacientes con hemoptisis de origen desconocido, neumotórax y cirugía abdominal o torácica reciente⁶⁸.

Ejercicio

Fundamentos básicos

El ejercicio físico provoca broncoespasmo en una proporción importante de pacientes asmáticos⁸⁰. Además, resulta el único desencadenante en un grupo de enfermos que practican deporte o que ejercen una profesión con alta demanda de esfuerzo físico, definiendo así la entidad conocida como asma inducido por el ejercicio (AIE). La prevalencia de AIE se ha estimado en el 40-90% de los asmáticos, en el 10-50% de los atletas de élite, en el 20-35% de los patinadores de hielo, en el 30-50% de los competidores en esquí nórdico, en el 15% de los corredores de fondo y en el 11-28% de los nadadores de competición⁸¹. Como factores predisponentes tiene especial relevancia la atopía (en particular en corredores de

fondo), la alta concentración de contaminantes procedentes de la ignición de combustibles fósiles en el aire inspirado y la inhalación de cloraminas en las piscinas. Si no se documenta la presencia de una obstrucción reversible, para el diagnóstico de AIE es necesario realizar una prueba de provocación bronquial por el ejercicio (PPBE) u otra provocación bronquial alternativa que esté adecuadamente acreditada para sustituirla^{28,81,82}.

El desarrollo del broncoespasmo inducido por el ejercicio (BIE) se ha justificado mediante 3 hipótesis patogénicas: la térmica, la osmolar y la capilar. La teoría térmica atribuye el broncoespasmo a un reflejo adrenérgico desencadenado por la pérdida de temperatura de las vías aéreas⁸³. La hiperventilación originada por el ejercicio también aumenta la osmolaridad periciliar, por la deshidratación del líquido de revestimiento de la superficie de las vías aéreas, lo que podría favorecer la desgranulación de mastocitos y la liberación de mediadores inflamatorios⁸⁴. Por último, la teoría hiperémica o capilar propone que la vasoconstricción microvascular debida al enfriamiento de la pared de las vías aéreas durante el ejercicio es seguida por un rápido recalentamiento en el periodo de recuperación, que determina hiperemia reactiva y edema de las vías aéreas⁸⁵. Dado que ninguna de estas teorías fisiopatológicas explica completamente el fenómeno, se plantea que el mecanismo patogénico puede ser diferente para cada individuo, tipo de ejercicio y condición ambiental.

El BIE tiene, en la mitad de los pacientes, un periodo refractario consistente en la disminución de la respuesta broncoconstrictora cuando el esfuerzo se repite en un intervalo inferior a 2 h⁸⁰. Este fenómeno, que puede ser cruzado entre diversos estímulos indirectos^{16,71}, se atribuyó a la depleción de los depósitos de mediadores inflamatorios por parte de los mastocitos¹⁶. Sin embargo, todavía se mantiene la controversia sobre su origen, e hipótesis más recientes consideran que puede ser debido a la ausencia de respuesta al estímulo hiperosmolar en el ejercicio repetido⁸⁶.

Fundamentos técnicos

Indicaciones, contraindicaciones y precauciones generales. Las principales indicaciones de la PPBE son⁸²: a) confirmar el diagnóstico de AIE, especialmente en sujetos con espirometría normal y prueba de broncodilatador negativa con alta sospecha clínica, por su mayor sensibilidad que la hiperventilación isocápnica con aire frío; b) estratificar la gravedad del asma; c) prevención en profesiones y deportistas en los que un BIE puede poner en riesgo la vida propia o ajena; d) control de la terapia antiinflamatoria, y e) estudios epidemiológicos. En la **tabla 9** se recogen las principales contraindicaciones de la prueba. Además de las recomendaciones habituales para la provocación bronquial inespecífica^{27,28}, no se debe realizar una PPBE en pacientes con isquemia cardiaca inestable, arritmias malignas o limitación ortopédica que impida la realización de un ejercicio de alta intensidad⁸⁷.

La PPBE debe ser directamente supervisada, tanto durante el ejercicio como en el periodo de recuperación, por un médico o un técnico experimentado suficientemente entrenados para detectar problemas respiratorios o cardiacos relacionados con el ejercicio. En este último caso debe garantizarse la rápida disponibilidad de un médico para el tratamiento de cualquier complicación. Se recomienda la realización previa de un electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones en pacientes mayores de 60 años o con cualquier trastorno cardiovascular conocido²⁸. A su vez, debe contarse con un carro de parada, suficientemente dotado, en la zona de realización de las pruebas de ejercicio.

Preparación del paciente y condiciones ambientales. El paciente no debe haber realizado ejercicio físico vigoroso en las 4 h previas al estudio, llevará ropa y calzado adecuados, habrá tomado una comida ligera con un tiempo de ayuno de 2 h previas al estudio y debe haber cumplido el intervalo libre de tratamientos

Tabla 9
Contraindicaciones de la provocación bronquial por ejercicio

Absolutas	Relativas
Limitación grave al flujo aéreo (FEV ₁ < 50% predicho o < 1,0 l)	Limitación moderada al flujo aéreo (FEV ₁ < 60% predicho o < 1,5 l)
Insuficiencia respiratoria	Estenosis coronaria principal izquierda o equivalente
Infarto de miocardio reciente (3-5 días) o angina inestable	Estenosis valvular moderada
Arritmia no controlada que provoca síntomas o compromiso hemodinámico	Hipertensión arterial grave no controlada (> 120/200 mmHg)
Síncope	Taquiarritmias, bradiarritmias o bloqueo auriculoventricular de alto grado
Endocarditis activa	Cardiomiopatía hipertrófica
Miocarditis o pericarditis aguda	Hipertensión pulmonar moderada-grave
Estenosis aórtica grave sintomática	Gestación avanzada o complicada
Insuficiencia cardiaca no controlada o edema pulmonar	Alteraciones electrolíticas
Embolismo pulmonar agudo, infarto pulmonar o trombosis venosa profunda	Trastorno ortopédico que comprometa la realización de ejercicio
Sospecha de aneurisma disecante	
Otro trastorno que puede afectar a la realización de ejercicio o ser agravado por el mismo (infección, insuficiencia renal, tirotoxicosis)	
Deterioro cognitivo que incapacite para colaborar en la realización de la prueba	

del asma. Es necesario tener presente que los corticosteroides inhalados e intranasales disminuyen la intensidad y la prevalencia del BIE, especialmente en niños⁸⁸. Aunque no supone una contraindicación formal, sería recomendable que, en situación basal, el paciente tenga un FEV₁ > 75% del predicho o > 80% del previo, con una variabilidad menor del 10%, y una saturación de oxihemoglobina (SpO₂) > 94%⁸⁰. También se recomienda que hayan pasado más de 6 semanas desde la última infección del tracto respiratorio y, en sujetos sensibilizados a pólenes, no hacer la prueba en época de polinización.

Un incremento de la humedad ambiental reduce el BIE⁸⁹, mientras que el frío lo incrementa⁹⁰. Por tanto, se recomienda registrar la humedad y la temperatura del aire inspirado en el momento de realizar la PPBE. Debe llevarse a cabo en condiciones ambientales de temperatura comprendida entre 20 y 25 °C y con una humedad relativa menor al 50% (10 mgH₂O/l). La realización de la prueba en una habitación con aire acondicionado, programado para las condiciones de temperatura indicadas, puede resultar suficiente para alcanzar estos requisitos. Si no es posible obtener estas condiciones, se recomienda la respiración de un reservorio de aire medicinal seco a través de una válvula a demanda o de un regulador⁹¹.

Procedimientos. El ejercicio debe durar de 6 a 8 min, o hasta 6 min en menores de 12 años²⁷. Además, se aconseja que los pacientes utilicen una pinza nasal, dado que la respiración nasal reduce la pérdida de agua desde las vías aéreas²⁸. Para la monitorización de la intensidad del ejercicio en niños pueden utilizarse la ventilación o la frecuencia cardiaca. En adultos se recomienda registrar la ventilación, dado que, además de ser el desencadenante del BIE, resulta menos variable que la frecuencia cardiaca y no tan dependiente del grado de entrenamiento⁹².

Para el registro de la ventilación es preferible una boquilla y una pinza nasal, aunque si se opta por una mascarilla nasobucal debería incluirse un oclisor nasal. La intensidad del ejercicio debe garantizarse que el paciente mantenga durante los últimos 4-6 min una ventilación superior al 40-60% de su máxima ventilación voluntaria (calculada como FEV₁ [l] × 35)²⁷. El control de la fre-

cuencia cardíaca debe realizarse de forma sistemática con un ECG de 3 derivaciones, o de 12 si hay riesgo de síndrome coronario²⁷. En caso de monitorización por frecuencia cardíaca, la intensidad del esfuerzo debe modularse para conseguir, en menos de 4 min, una frecuencia cardíaca diana entre el 80 y el 90% (en deportistas de alto nivel se recomienda en torno al 95%) de la máxima frecuencia cardíaca estimada (calculada como $208 - \text{edad en años} \times 0,7$). También se recomienda la monitorización de la SpO₂ durante todo el estudio, o al menos al inicio y al final del mismo²⁸.

Para la realización de una PPBE se puede emplear tanto un cicloergómetro como un tapiz rodante. El rendimiento de ambos sistemas resulta equivalente para niveles similares de intensidad de ejercicio⁹³. Si se dispone de ambos, debe emplearse el que mejor se adapte a la práctica deportiva desarrollada por el individuo estudiado. Con el tapiz rodante se adaptará la pendiente y la velocidad hasta lograr la ventilación o la frecuencia cardíaca dianas. Se comenzará aumentando la velocidad hasta un ritmo de marcha rápido pero cómodo y se irá incrementando progresivamente la pendiente durante los 2 o 3 primeros minutos hasta alcanzar la intensidad de ejercicio necesaria. Un protocolo típico es comenzar con una velocidad de 4,5 km/h con una pendiente del 2,5%⁸⁰. Para el cálculo de la carga de trabajo en cicloergómetro se propone utilizar: $53,76 \times \text{FEV}_1 [\text{l}] - 11,07$ ²⁸. El 60% de la potencia (vatios) así calculada deberá aplicarse en el primer minuto, el 75% en el segundo, el 90% en el tercero y el 100% en el cuarto²⁸. Cuando el sujeto alcance el nivel de ventilación necesario, se mantendrá la potencia durante los siguientes 4 min, aunque puede ser necesario reducirla ligeramente para lograr que soporte la ventilación diana durante 4-6 min.

Las directrices de seguridad y las causas de detención de la PPBE son las propias de las pruebas de esfuerzo⁸⁷. Aunque en algunos estudios epidemiológicos se ha utilizado la carrera libre como otra modalidad de provocación por ejercicio, alcanza una baja sensibilidad y especificidad para detectar BIE (60-67 y 47-67%, respectivamente)⁹⁴, por lo que no existe suficiente evidencia para recomendarla como procedimiento diagnóstico. Además, no permite monitorizar la intensidad del ejercicio ni controlar la seguridad del paciente durante la provocación.

Valoración de la respuesta. Se debe realizar una espirometría de referencia inmediatamente antes del ejercicio y repetirla a los 5, 10, 15, 20 y 30 min de su finalización²⁸. Si el FEV₁ ha retornado a su valor basal ($\pm 5\%$) a los 20 min, se puede evitar la espirometría de los 30 min post-ejercicio²⁸. En cada etapa del registro se obtendrán 2 maniobras reproducibles para la variable de medida (diferencia FEV₁ < 0,15 l) y se elegirá la que tenga el mayor FEV₁²⁸. Las maniobras espirométricas deben cumplir los criterios de aceptabilidad para el inicio de la maniobra³⁴, aunque no es preciso prolongar el tiempo espiratorio más allá de los 2-3 primeros segundos²⁸. La sospecha de disfunción de las cuerdas vocales constituye una excepción para esta recomendación. Ante la misma, es necesario obtener curvas flujo-volumen completas y lo antes posible después del ejercicio, para demostrar la existencia de limitación del flujo inspiratorio²⁷.

Las espirometrías seriadas post-ejercicio no se detendrán a menos que el paciente presente una caída del FEV₁ > 50%, en cuyo caso se administrarán broncodilatadores inhalados de forma inmediata. Ante la persistencia de una disminución del FEV₁ al concluir las mediciones, se administrará un agonista β_2 -adrenérgico de acción rápida y el paciente deberá permanecer en observación hasta que recupere el 95% de su valor basal^{27,28}. No se recomienda el registro de la potencial respuesta tardía, puesto que la interpretación de una caída en la función pulmonar a las 3-8 h de finalizado el ejercicio no es clara²⁷.

Medida e interpretación de los resultados. El resultado de la PPBE se expresa mediante una curva tiempo-respuesta, siendo la respuesta el porcentaje de caída del FEV₁ respecto al valor previo al ejercicio. Se considera que una PPBE es positiva cuando el FEV₁ disminuye más del 10% con respecto al basal²⁸. A su vez, el BIE se clasifica como leve cuando la caída del FEV₁ está comprendida entre el 10 y el 25%, moderado entre el 25 y el 50% y grave si es mayor del 50%⁹⁵. En estudios epidemiológicos puede resultar de utilidad expresar la intensidad de la respuesta mediante la determinación del área bajo la curva tiempo-respuesta, utilizando un procedimiento trapezoidal sobre la representación gráfica⁹⁵.

Siguiendo un protocolo estricto se logra asegurar generalmente una buena reproducibilidad en la caída del FEV₁ con un coeficiente de variación del 15% en una semana y del 21% en un mes⁹⁵. Para el diagnóstico de AIE, la PPBE aporta más especificidad que los estímulos directos, aunque es notablemente menos sensible^{16,58,96}. En niños, alcanza una elevada especificidad para la detección de BIE, aunque su sensibilidad es más discreta⁹⁷. En adultos, no aumenta la sensibilidad y la especificidad resulta menor que la obtenida en niños⁹⁸.

Hiperventilación voluntaria eucápnica

Fundamentos básicos

Los mecanismos anteriormente mencionados que desencadenan broncoconstricción en respuesta al ejercicio intenso se pueden simular realizando una hiperventilación eucápnica⁹⁹.

Fundamentos técnicos

Equipamiento. Se requiere que el sujeto hiperventile voluntariamente aire seco a temperatura ambiente (o frío) en un circuito de baja resistencia, que contiene un 5% de CO₂ para mantener una pCO₂ similar a la del esfuerzo. El aire inspirado debe ser seco y contener un 21% de O₂, 4,9-5,1% de CO₂ y resto balanceado de N₂. Lo más sencillo es disponer de una botella con esta mezcla de gases conectada a un reservorio (balón meteorológico o similar, de 120 l), del que respira el paciente a través de una válvula unidireccional de baja resistencia. Es posible añadir CO₂ al aire inspirado, pero esto requiere medir la fracción *end-tidal* de CO₂ para mantener la eucapnia, lo que añade complejidad a la prueba. También se puede enfriar el aire inspirado. En pacientes asmáticos, la respuesta a 4 min de hiperventilación con aire frío es equivalente a la obtenida tras una hiperventilación con aire ambiente durante 8 min¹⁰⁰.

Durante la prueba se debe medir el volumen minuto, preferiblemente con un espirómetro de turbina, para verificar que se alcanza la ventilación minuto marcada como objetivo. Como en otras PPB, se realizarán espirometrías seriadas para evaluar la respuesta. El equipamiento requerido es similar al propuesto para la realización de una espirometría estándar^{34,35}.

Procedimiento. La prueba es susceptible de provocar en el paciente una situación incómoda, por lo que deben explicársele los motivos que la indican, lo que se espera conseguir, así como pedirle su colaboración en mantener una ventilación máxima durante el tiempo requerido y en la realización de las espirometrías. Se valorará la existencia de factores conocidos capaces de modificar la respuesta a la hiperventilación (tabla 5)²⁸. Resulta de especial importancia indicar al paciente que no debe realizar ejercicio físico intenso en las 4 h previas a la prueba (o mejor, el día de la prueba), ya que puede aparecer refractariedad¹⁰¹. Los broncodilatadores β_2 -adrenérgicos de acción corta o larga y los anticolinérgicos pueden prevenir la respuesta a la hiperventilación¹⁰². También existe evidencia de que la administración de cromonas puede inhibir la respuesta a la hiperventilación isocápnica¹⁰³. Estudios con pocos pacientes también han demostrado que la administración de mon-

telukast 6 h antes de la prueba tiene un efecto protector frente a la hiperventilación¹⁰⁴. En cuanto a los corticoides inhalados, hay datos que muestran que la respuesta a la hiperventilación está disminuida, tanto con su uso crónico (6 meses) como agudo (4 h)^{99,105}.

Protocolos. Se dispone de un protocolo de paso único y otro de varias etapas.

Protocolo de paso único. Es el más utilizado, sobre todo para el estudio de atletas de élite con sospecha de AIE¹⁰⁶. Requiere que el sujeto realice una hiperventilación voluntaria durante 6 min manteniendo como objetivo una ventilación minuto mayor de $30 \times FEV_1$ (medido antes del comienzo de la prueba), que es equivalente al 85% de la máxima ventilación voluntaria (MVV). En algunos casos la prueba puede resultar positiva aun sin alcanzar este nivel de hiperventilación. Se llena inicialmente el balón meteorológico con 90 l de gas y después se mantiene un llenado a un ritmo próximo a la ventilación minuto que el sujeto debe mantener. El sujeto respira a través de una válvula unidireccional, inspirando de la bolsa que se utiliza como reservorio y espirando al aire de la habitación. Una vez comenzada la hiperventilación, se debe animar al sujeto para que mantenga el ritmo de la ventilación utilizando como referencia la inflación y deflación del balón.

Protocolo de varios pasos. Es más seguro y deber utilizarse cuando el FEV_1 basal sea menor del 75% o haya sospecha de asma moderada-grave¹⁰⁷. La tasa de ventilación se incrementa a lo largo de 3 pasos:

- Paso 1: 3 min al 30% de la MVV.
- Paso 2: 3 min al 60% de la MVV.
- Paso 3: 3 min al máximo de ventilación.

Después de cada paso se evalúa la respuesta con la medida del FEV_1 y, si resulta negativa, se realiza el siguiente paso.

La respuesta a una broncoprovocación con idéntica hiperventilación es reproducible cuando se realiza en días separados¹⁰⁸.

Medida e interpretación de los resultados. La broncoconstricción en respuesta a la hiperventilación se objetiva por el porcentaje de caída del FEV_1 . En el protocolo con un solo paso, la prueba se considera positiva si hay una caída del $FEV_1 \geq 10\%$ ¹⁰⁹. El estímulo se informa como la media de la ventilación minuto durante los 6 min de la prueba, expresada como porcentaje de la MVV teórica (que se calcula multiplicando el FEV_1 medido por 35). La ventilación máxima que alcanza una persona sana durante el ejercicio raramente excede el 60% de la MVV, y en el caso de atletas de elite, el 90%. La respuesta provocada por la hiperventilación se considera leve si el FEV_1 cae un 10-19,9% con una ventilación igual o mayor al 60% de la MVV, moderada si cae entre un 20-29,9% y grave si la caída es $\geq 30\%$ para cualquier grado de ventilación o si la caída es $> 10\%$ con una ventilación menor del 30% de la MVV¹⁰⁹.

En el protocolo por pasos, se evalúa la respuesta en los minutos 1, 3, 5, 7 y 10 después de cada paso. Si el FEV_1 desciende más del 15%, se detiene la prueba. Si no desciende o se alcanza una meseta con valores inferiores al 15% después del minuto 5, se pasa al siguiente nivel. Después del tercer paso, se realizan espirometrías seriadas a los 5, 10, 20 y 30 min o hasta que el FEV_1 del sujeto haya vuelto a su valor basal. La ventilación minuto que provoca un 10% de caída del FEV_1 (PVE_{10}) se calcula por interpolación lineal, utilizando la respuesta a cada nivel de ventilación, y se expresa como porcentaje de la MMV teórica del sujeto.

Indicaciones, contraindicaciones y precauciones generales. La PPB con hiperventilación voluntaria eucápnica está recomendada por el Comité Olímpico Internacional para el diagnóstico de AIE en atletas de élite. Constituye una alternativa a la PPBE, anteriormente descrita, que presenta falsos negativos por la dificultad de controlar

las condiciones ambientales en el laboratorio. La hiperventilación eucápnica ofrece la posibilidad de realizar la evaluación en el laboratorio, con unas condiciones ambientales controladas (aire seco a temperatura ambiente o frío). En estudios de campo ha mostrado mayor capacidad para identificar el AIE que la provocación con ejercicio¹¹⁰. Las contraindicaciones de la hiperventilación voluntaria eucápnica son las mismas que para la PPB con metacolina.

Como otras pruebas de broncoprovocación con estímulos indirectos, la hiperventilación eucápnica se correlaciona bien con la inflamación en la vía aérea y tiene una alta especificidad para el diagnóstico de asma. La hiperrespuesta a estímulos indirectos, que requiere la presencia de células inflamatorias en la vía aérea, se atenúa con el tratamiento con corticoides inhalados y, por tanto, puede utilizarse para medir el control de la inflamación¹¹¹.

La hiperventilación voluntaria eucápnica presenta una mayor rentabilidad que la metacolina para identificar atletas con AIE¹¹². En asmáticos no deportistas con síntomas de AIE existe una pobre concordancia entre ambas técnicas, con más resultados positivos al provocar mediante hiperventilación¹¹³.

Pruebas de provocación bronquial con salino hipertónico

Fundamentos básicos

La inhalación de aerosoles salinos no isotónicos puede ocasionar broncoconstricción por la liberación de mediadores endógenos que causan contracción del MLVA y edema¹⁷. Los cambios en la osmolaridad de las vías aéreas originados por este tipo de aerosoles favorecen la liberación de mediadores, como la histamina, los leucotrienos y las prostaglandinas^{114,115}, además de originar una alteración neural, con liberación de neuropéptidos y un incremento del tono parasimpático¹¹⁶. De hecho, fármacos que disminuyen la liberación de mediadores mastocitarios o que modifican la actividad neural no-colinérgica, como el nedocromil o la furosemida, desempeñan un papel protector frente a la HB por suero salino hipertónico²⁷, al igual que sucede con los corticosteroides inhalados¹¹⁷.

Fundamentos técnicos, equipamiento, procedimiento y medida e interpretación de los resultados

Para la PPB con suero hipertónico se recomienda utilizar suero salino al 4,5%, que deberá ser administrado mediante nebulizadores ultrasónicos, puesto que generan un aerosol más denso que los nebulizadores de chorro²⁷. Además, se requiere una válvula unidireccional de 2 vías y un tubo de conexión con el nebulizador, que debe tener las paredes internas lisas y con una longitud y diámetro constante. Resulta conveniente que la válvula disponga de un colector de saliva, dado que la prueba suele ocasionar una salivación profusa. El nebulizador ultrasónico empleado debe generar un flujo de aerosol de al menos 1,2 ml/min y disponer de una cubeta fácilmente desmontable con capacidad para 100-200 ml de solución. Los nebulizadores más empleados habitualmente (Mistogen y De Vilbis Ultraneb) proporcionan un flujo de 1,5-3 ml/min. En cualquier caso, se recomienda determinar el peso de la cubeta y la tubuladura antes y después de una nebulización. Una vez establecido el flujo del nebulizador es posible determinar la dosis administrada en un periodo de funcionamiento.

El incremento de la dosis de suero salino hipertónico se obtiene aumentando progresivamente los tiempos de nebulización. En la primera etapa se nebuliza durante 30 s, para seguir con 1, 2, 4 y 8 min en las siguientes etapas. La respuesta broncoconstrictora se mide a los 30-90 min mediante espirometría, y si la caída del FEV_1 supera el 10% con respecto al valor basal, se repite el último tiempo de exposición en lugar de pasar al siguiente²⁷. Se considera que la prueba es positiva cuando se produce una caída del $FEV_1 > 15\%$ ^{118,119}, interrumpiéndola en dicho momento. Tanto en

este caso como si se finaliza la prueba tras alcanzar la dosis máxima, se debe administrar un broncodilatador.

La respuesta bronquial al suero salino hipertónico se expresa mediante una curva dosis-respuesta que representa el cambio en el FEV₁ (porcentaje de caída con respecto al valor basal) frente a la dosis acumulada de aerosol administrado (en ml). Por interpolación lineal, se determinará la PD₁₅, que permite clasificar la gravedad de la HB en leve (PD₁₅ > 6 ml), moderada (PD₁₅: 2,1-6,0 ml) y grave (PD₁₅ < 2,0 ml)¹²⁰. Todavía no se dispone de suficiente información para recomendar la determinación sistemática de índices de reactividad bronquial^{117,121}.

La PPB con suero salino hipertónico puede resultar útil para el diagnóstico de asma, alcanzando una sensibilidad del 85% en adultos y del 75% en niños y una especificidad de prácticamente el 100%^{122,123}. La respuesta al suero hipertónico mantiene una notable relación con la presencia de síntomas respiratorios y el consumo de medicación de rescate^{117,124}. Además, en la detección de broncoespasmo inducido por el ejercicio podría alcanzar resultados similares a la provocación por el ejercicio¹²⁵, e incluso ligeramente superiores en niños⁷. No obstante, en muchos casos su utilización clínica puede verse comprometida con la introducción de la PPB por mani-
to.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Valencia Rodríguez A, Casan Clará P, Fernández Díaz M, Perpiñá Tordera M, Sebastián Gil MD. Recomendaciones SEPAR n.º 4. Normativa para los test de provocación bronquial inespecífica. Barcelona: Doyma; 1987.
- Burgos Rincón F, Casan Clará P, editores. Manual SEPAR de Procedimientos. Módulo 4. Procedimientos de evaluación de la función pulmonar II. Barcelona: Permanyer; 2004.
- Boushey HA, Holtzman MJ, Sheller JR, Nadel JA. Bronchial hyperreactivity. Am Rev Respir Dis. 1980;121:389-413.
- O'Byrne PM, Inman MD. Airway hyperresponsiveness. Chest. 2003;123:411S-6S.
- Cockcroft DW, Berscheid BA, Murdock KY. Unimodal distribution of bronchial responsiveness to inhaled histamine in a random human population. Chest. 1983;83:751-4.
- Burney PG, Britton JR, Chinn S, Tatterfield AE, Papacosta AO, Kelson MC, et al. Descriptive epidemiology of bronchial reactivity in an adult population: Results from a community study. Thorax. 1987;42:38-44.
- Woolcock AJ, Peat JK, Salome CM, Yan K, Anderson SD, Schoeffel RE, et al. Prevalence of bronchial hyperresponsiveness and asthma in a rural adult population. Thorax. 1987;42:361-8.
- Boezen HM, Postma DS, Schoutten JP, Kerstjens HA, Rijcken B. PEF variability, bronchial responsiveness and their relation to allergy markers in a random population (20-70 yr). Am J Respir Crit Care Med. 1996;154:30-5.
- Postma DS, Boezen HM. Rationale for the Dutch Hypothesis. Allergy and airway hyperresponsiveness as genetic factors and their interaction with environment in the development of asthma and COPD. Chest. 2004;126:96S-104S.
- Ulrik CS, Backer V. Increased bronchial responsiveness to exercise as a risk factor for symptomatic asthma: Findings from a longitudinal population study of children and adolescents. Eur Respir J. 1996;9:1696-700.
- Xu X, Rijcken B, Schouten JP, Weiss ST. Airways responsiveness and development and remission of chronic respiratory symptoms in adults. Lancet. 1997;350:1431-4.
- Brutsche MH, Downs SH, Schindler C, Gerbase MW, Schwartz J, Frey M, et al. Bronchial hyperresponsiveness and the development of asthma and COPD in asymptomatic individuals: SAPALDIA Cohort Study. Thorax. 2006;61:671-7.
- Rage E, Siroux V, Je Moul N, Pin I, Kauffmann F. Are asymptomatic airway hyperresponsiveness and allergy risk factors for asthma? A longitudinal study. Eur Respir J. 2009;33:218-9.
- Joos FG. Bronchial hyperresponsiveness: Too complex to be useful? Curr Opin Pharmacol. 2003;3:233-8.
- Busse WW. The relationship of airway hyperresponsiveness and airway inflammation. Airway hyperresponsiveness in asthma: Its measurement and clinical significance. Chest. 2010;138:4S-10S.
- Joos GF, O'Connor B, Anderson SD, Chung F, Cockcroft DW, Dahlén B, et al. ERS Task Force. Indirect airway challenges. Eur Respir J. 2003;21:1050-68.
- Anderson SD. Indirect challenge tests. Airway hyperresponsiveness in asthma: Its measurement and clinical significance. Chest. 2010;138:25S-30S.
- Cockcroft D, Davies B. Direct and indirect challenges in the clinical assessment of asthma. Ann Allergy Asthma Immunol. 2009;103:363-70.
- Perpiñá Tordera M. Hiperreactividad bronquial. Concepto y consideraciones generales. En: Perpiñá Tordera M, editor. Hiperreactividad bronquial inespecífica. Barcelona: Doyma; 1993. p. 1-14.
- Sterk PJ, Bel EH. Bronchial hyperresponsiveness: The need for a distinction between hypersensitivity and excessive airway narrowing. Eur Respir J. 1989;2:267-74.
- Barofio M, Barisione G, Crimi E, Brusasco V. Noninflammatory mechanisms of airway hyperresponsiveness in bronchial asthma: An overview. Ther Adv Respir Dis. 2009;3:163-74.
- Cockcroft DW, Davis BE. Mechanisms of airway hyperresponsiveness. J Allergy Clin Immunol. 2006;118:551-9.
- Wang L, McParland DE, Paré PD. The functional consequences of structural changes in the airways. Implications for airway hyperresponsiveness in asthma. Chest. 2003;123:356S-62S.
- Perpiñá Tordera M. Hiperrespuesta bronquial en el asma. Patogenia y medición. Arch Bronconeumol. 2004;40 Supl 5:8-13.
- O'Byrne PM, Gauvreau GM, Brannan JD. Provoked models of asthma: What have we learnt? Clin Exp Allergy. 2009;39:181-92.
- Bossé Y, Chapman DG, Paré PD, King GG, Salome CM. A "good" muscle in a "bad" environment: The importance of airway smooth muscle force adaptation to airway hyperresponsiveness. Respir Physiol Neurobiol. 2011;179:269-75.
- Sterk PJ, Fabbri LM, Quanjer PH, Cockcroft DW, O'Byrne PM, Anderson SD, et al. Airway responsiveness. Standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. Eur Respir J Suppl. 1993;16:53-83.
- Crapo RO, Casaburi R, Coates AL, Enright PL, Hankinson JL, Irvin CG, et al. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing-1999. Am J Respir Crit Care Med. 2000;161:309-29.
- Sherman CB, Kern DG, Corwin RW, Andrus B. A clinical and structural comparison of industrial methacholine and prochocholine. Chest. 1994;105:1095-7.
- Ficha técnica Provocholine™ 100 mg, polvo para inhalación. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad [consultado 16 Ago 2012]. Disponible en: <http://www.aemps.gob.es>
- Casan Clara P. Análisis y metodología de la hiperrespuesta bronquial mediante estímulos directos. En: Pino García JM, García Rio F, Perpiñá Tordera M, editors. Estudio de la función respiratoria. Hiperrespuesta bronquial. Madrid: Sanitaria 2000; 2006. p. 65-79.
- Cockcroft DW, Davis BE, Todd DC, Smycniuk JA. Methacholine challenge. Comparison two methods. Chest. 2005;117:839-44.
- Pellicer Ciscar C, Sánchez Aldas J. Prueba de provocación farmacológica bronquial. En: Perpiñá Tordera M, editor. Hiperreactividad bronquial inespecífica. Barcelona: Doyma; 1994. p. 99-115.
- Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. Eur Respir J. 2005;26:319-38.
- García-Río F, Calle M, Burgos F, Casan P, del Campo F, Gáldiz B, et al. Normativa SEPAR Espirometría. Arch Bronconeumol. 2013 (en prensa).
- Juniper EF, Cockcroft DW, Hargreave FE. Histamine and Methacholine Inhalation Tests: Tidal Breathing Method; Laboratory Procedure and Standardisation. 2nd ed. Lund: AB Draco; 1994.
- Cockcroft DW, Marciniuk DD, Hurst TS, Cotton DJ, Laframboise KF, McNAB BD, et al. Methacholine challenge: Test-shortening procedures. Chest. 2001;120:1857-60.
- Chai H, Farr RS, Froehlich LA, Mathison DA, McLean JA, Rosenthal RR, et al. Standardization of bronchial inhalation challenge procedures. J Allergy Clin Immunol. 1975;56:323-7.
- Scichilone N, Permutt S, Toggias A. The lack of the bronchoprotective and not the bronchodilatory ability of deep inspiration is associated with airway hyperresponsiveness. Am J Respir Crit Care Med. 2001;163:413-9.
- Allen ND, Davis BE, Hurst TS, Cockcroft DW. Difference between dosimeter and tidal breathing methacholine challenge. Contributions of dose and deep inspiration bronchoprotection. Chest. 2005;128:4018-23.
- Todd DC, Davis BE, Hurst TS, Cockcroft DW. Dosimeter methacholine challenge: Comparison of maximal versus submaximal inhalations. J Allergy Clin Immunol. 2004;114:517-9.
- Chinn S, Burney P, Jarvis D, Luczynska C, on behalf of the European Community Respiratory Health Survey (ECRHS). Variation in bronchial responsiveness in the European Community Respiratory Health Survey (ECRHS). Eur Respir J. 1997;10:2495-501.
- Siersted HC, Walker CM, O'Shaughnessy AD, Willan AR, Wiecek EM, Sears MR. Comparison of two standardized methods of methacholine inhalation challenge in young adults. Eur Respir J. 2000;15:181-4.
- Schulze J, Rosewich M, Riemer C, Dressler M, Rose MA, Zielen S. Methacholine challenge comparison of an ATS protocol to a new rapid single concentration technique. Respir Med. 2009;103:1898-903.
- Merget R, Jörres RA, Heinze E, Haufs MG, Taeger D, Brüning T. Development of a 1-concentration-4-step dosimeter protocol for methacholine testing. Respir Med. 2009;103:607-13.
- Schulze J, Smith HJ, Fuchs J, Herrmann E, Dressler M, Rose MA, et al. Methacholine challenge in young children as evaluated by spirometry and impulse oscillometry. Respir Med. 2012;106:627-34.
- Scichilone N, Battaglia S, Olivieri D, Bellia V. The role of small airways in monitoring the response to treatment: What is beyond FEV₁? Allergy. 2009;64:1563-9.

48. García-Río F, Mediano O, Ramirez M, Viñas A, Alonso A, Álvarez-Sala R, et al. Usefulness of bronchial reactivity analysis in the diagnosis of bronchial asthma in patients with bronchial hyperresponsiveness. *Respir Med.* 2004;98:199-204.
49. Cisneros C, García-Río F, Romera D, Villasante C, Girón R, Ancochea J. Bronchial reactivity indices are determinants of health-related quality of life in patients with stable asthma. *Thorax.* 2010;65:795-800.
50. Perpiñá M, Pellicer C, de Diego A, Compte L, Macián V. Diagnostic value of the bronchial provocation test with metacholine in asthma: Bayesian analysis approach. *Chest.* 1994;104:149-56.
51. Durham S, Graneek B, Hawkins R, Newman Taylor A. The temporal relationship between increases in airway hyperresponsiveness to histamine and late asthmatic responses induced by occupational agents. *J Allergy Clin Immunol.* 1987;79:398-406.
52. Troyanov S, Malo JL, Cartier A, Gautrin D. Frequency and determinants of exaggerated bronchoconstriction during shortened methacholine challenge tests in epidemiological and clinical set-ups. *Eur Respir J.* 2000;16:9-14.
53. Lloris Bayo A, Perpiñá Tordera M, Martínez Pérez E, Macián Gisbert V. Aportaciones del óxido nítrico exhalado a los procedimientos abreviados de las pruebas de provocación bronquial. *Arch Bronconeumol.* 2008;44:402-7.
54. Spicuzza L, di Maria G, Polosa R. Adenosine in the airways: Implications and applications. *Eur J Pharmacol.* 2006;533:77-88.
55. Brown RA, Spina D, Page CP. Adenosine receptors and asthma. *Br J Pharmacol.* 2008;153:S446-56.
56. Polosa R. Adenosine-receptor subtypes: Their relevance to adenosine-mediated responses in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J.* 2002;20:488-96.
57. Zhou Y, Schneider DJ, Blackburn MR. Adenosine signaling and the regulation of chronic lung disease. *Pharmacol Ther.* 2009;123:105-16.
58. García-Río F, Ramírez Prieto MT. Análisis y metodología de la hiperrespuesta bronquial mediante estímulos indirectos inespecíficos. En: Pino García JM, García Río F, Perpiñá Tordera M, editors. Estudio de la función respiratoria. Hiperrespuesta bronquial. Madrid: Sanitaria 2000; 2000. p. 81-105.
59. Martínez García MA, Perpiñá Tordera M, Vila V, Compte Torrero L, de Diego Damiá A, Macián Gisbert V. Analysis of the stability of stored adenosine 5'-monophosphate used for bronchoprovocation. *Pulm Pharmacol.* 2002;15:157-60.
60. De Meer G, Heederick DJJ, Brunekreff B, Postma DS. Repeatability of bronchial hyperresponsiveness to adenosin-5'-monophosphate (AMP) by a short dosimeter protocol. *Thorax.* 2001;56:362-5.
61. Gutierrez Vall de Cabres V. Agentes broncoconstrictores indirectos: monofosfato de adenosina (AMP). En: Delgado J, Quirce S, editores. Pruebas de función pulmonar e inflamación bronquial en el asma. Madrid: GSK; 2012. p. 75-91.
62. Spicuzza L, Bonfiglio C, Polosa R. Research applications and implications of adenosine in diseased airways. *Trends Pharmacol Sci.* 2003;24:409-13.
63. Sverrild A, Porsbjerg C, Backer V. The use of inhaled mannitol in the diagnosis and management of asthma. *Expert Opin Pharmacoter.* 2012;13:115-23.
64. Parkerson J, Ledford D. Mannitol as an indirect bronchoprovocation test for the 21st century. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2011;106:91-6.
65. Saha BC, Racine FM. Biotechnological production of mannitol and its applications. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011;89:879-91.
66. Porsbjerg C, Backer V, Joos G, Kerstjens HAM, Rodríguez-Roisín R. Current and future use of mannitol bronchial challenge in everyday clinical practice. *Clin Respir J.* 2009;3:189-97.
67. Anderson SD, Brannan J, Spring J, Spalding N, Rodwell NT, Chan K, et al. A new method for bronchial-provocation testing in asthmatic subjects using a dry powder of mannitol. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156:758-65.
68. Ficha técnica Osmohale™ polvo para inhalación. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Revisión texto ficha técnica: Ene 2013. [consultado 13 Ene 2013]. Disponible en: <http://www.aemps.gob.es>
69. Brannan JD, Anderson SD, Perry CP, Freedmartens R, Lassig AR, Charlton B, et al. The safety and efficacy of inhaled dry powder mannitol as a bronchial provocation test for airway hyperresponsiveness: A phase 3 comparison study with hypertonic (4.5%) saline. *Respir Res.* 2005;6:144.
70. Anderson WJ, Lipworth BJ. Relationship of mannitol challenge to methacholine challenge and inflammatory markers in persistent asthmatics receiving inhaled corticosteroids. *Lung.* 2012;190:513-21.
71. Brannan JD, Anderson SD, Gomes K, King GG, Chan HK, Seale JP. Fexofenadine decreases sensitivity to and montelukast improves recovery from inhaled mannitol. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163:1420-5.
72. Subbarao P, Brannan JD, Ho B, Anderson SD, Chan HK, Coates AL. Inhaled mannitol identifies methacholine-responsive children with active asthma. *Pediatr Pulmonol.* 2000;29:291-8.
73. Barben J, Roberts M, Carlin JB, Robertson CF. Repeatability of bronchial responsiveness to mannitol dry powder in children with asthma. *Eur Respir J.* 2001;18 Suppl 13:493.
74. Larson J, Perry CP, Anderson SD, Brannan JD, Dahlén SE, Dahlén B. The occurrence of refractoriness and mast cell mediator release following mannitol-induced bronchoconstriction. *J Appl Physiol.* 2011;110:1029-35.
75. Sverrild AM, Porsbjerg C, Thomsen S. Diagnostic properties of inhaled mannitol in the diagnosis of asthma: A population study. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124:928-32.
76. Leuppi JD, Salome CM, Jenkins CR, Anderson SD, Xuan W, Marks GB, et al. Predictive markers of asthma exacerbating during stepwise dose reduction of inhaled corticosteroids. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163:406-12.
77. Anderson SD, Brannan JD. Bronchial provocation testing and collection of sputum with inhaled mannitol. *Clin Exp Allergy.* 2010;40:193-6.
78. Brannan JD, Koskela H, Anderson SD, Chew N. Responsiveness to mannitol in asthmatic subjects with exercise and hyperventilation-induced asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158:1120-6.
79. Holzer K, Anderson SD, Chan HK, Douglass J. Mannitol as a challenge test to identify exercise-induced bronchoconstriction in elite athletes. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167:534-7.
80. Randolph C. Diagnostic exercise challenge testing. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2011;11:482-90.
81. Carlsen KH, Anderson SD, Bjermer L, Bonini S, Brusasco V, Canonica W, et al., European Respiratory Society, European Academy of Allergy and Clinical Immunology. Exercise-induced asthma, respiratory and allergic disorders in elite athletes: Epidemiology, mechanisms and diagnosis: Task Force of the European Respiratory Society (ERS) and the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI). *Allergy.* 2008;63:387-403.
82. Weiler J, Anderson SD, Randolph CC. Pathogenesis, prevalence, diagnosis and management of exercise-induced bronchoconstriction: A practice parameter. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2010;105:S1-48.
83. Deal EC, McFadden Jr ER, Ingram RH. Role of respiratory heat exchange in production of exercise-induced asthma. *J Appl Physiol.* 1979;46:467-75.
84. Anderson SD, Schoeffel RE, Follet R, Moston AR. Sensitivity to heat and water loss at rest and during exercise in asthmatic patients. *Eur J Respir Dis.* 1982;63:459-71.
85. McFadden Jr ER. Hypothesis: Exercise-induced asthma as a vascular phenomenon. *Lancet.* 1990;335:880-3.
86. Wilson BA, Bar Or O, O'Byrne PM. The effects of indomethacin on refractoriness following exercise both with and without a bronchoconstrictor response. *Eur Respir J.* 1994;7:2174-8.
87. ATS/ACCP Statement on Cardiopulmonary Exercise Testing. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167:211-77.
88. Kersten ET, van Leeuwen JC, Brand PL, Duiverman EJ, de Jongh FH, Thio BJ, et al. Effect of an intranasal corticosteroid on exercise induced bronchoconstriction in asthmatic children. *Pediatr Pulmonol.* 2012;47:27-35.
89. Stensrud T, Berntsen S, Carlsen KH. Humidity influences exercise capacity in subjects with exercise-induced bronchoconstriction (EIB). *Respir Med.* 2006;100:1633-41.
90. Stensrud T, Berntsen S, Carlsen KH. Exercise capacity and exercise-induced bronchoconstriction (EIB) in a cold environment. *Respir Med.* 2007;101:1529-36.
91. Anderson SD, Brannan JD. Methods for 'indirect' challenge test including exercise, eucapnic voluntary hyperpnea, and hypertonic aerosols. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2003;24:27-54.
92. Trümper C, Mätieler S, Vobejda C, Zimmermann E. Heart rate-based protocols for exercise challenge testing do not ensure sufficient exercise intensity for inducing exercise-induced bronchial obstruction. *Br J Sports Med.* 2009;43:429-31.
93. Carlsen KH, Eng G, Mork M. Exercise-induced bronchoconstriction depends on exercise load. *Respir Med.* 2000;94:750-5.
94. Dryden DM, Spooner CH, Strickland MK, Vandermeer B, Tjosvold L, Bialy L, et al. Exercise-induced bronchoconstriction and asthma. *Evid Rep Technol Assess.* 2010;189:1-154.
95. Anderson SD, Pearlman DS, Rundell KW, Perry CP, Boushey H, Sorkness CA, et al. Reproducibility of the airway response to an exercise protocol standardized for intensity, duration, and inspired air conditions, in subjects with symptoms suggestive of asthma. *Respir Res.* 2010;11:120.
96. Godfrey S, Springer C, Bar Yishay E, Avital A. Cut-off points defining normal and asthmatic bronchial reactivity to exercise and inhalation challenges in children and young adults. *Eur Respir J.* 1999;14:659-68.
97. Carlsen KH, Eng G, Mørk M, Schrøder E. Cold air inhalation and exercise-induced bronchoconstriction in relationship to metacholine bronchial responsiveness: Different patterns in asthmatic children and children with other chronic lung diseases. *Respir Med.* 1998;92:308-15.
98. Eliasson AH, Phillips YY, Rajagopal KR, Howard RS. Sensitivity and specificity of bronchial provocation testing. An evaluation of four techniques in exercise-induced bronchospasm. *Chest.* 1992;102:347-55.
99. Kippelen P, Larsson J, Anderson SD, Brannan JD, Delin I, Dahlen B, et al. Acute effects of beclomethasone on hyperpnea-induced bronchoconstriction. *Med Sci Sports Exerc.* 2010;42:273-80.
100. McFadden ER, Nelson JA, Skowronski ME, Lenner KA. Thermally induced asthma and airway drying. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;166:221-6.
101. Argiros GJ, Roach JM, Hurwitz KM, Eliasson AH, Phillips YY. The refractory period after eucapnic voluntary hyperventilation challenge and its effect on challenge technique. *Chest.* 1995;108:419-24.
102. McFadden ER, Gilber IA. Exercise-induced asthma. *N Engl J Med.* 1994;330:1362-7.
103. Kippelen P, Larsson J, Anderson SD, Brannan JD, Dahlén B, Dahlén SE. Effect of sodium cromoglycate on mast cell mediators during hyperpnea in athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2010;42:1853-60.
104. Rundell KW, Spiering BA, Baumann JM, Evans TM. Effects of montelukast on airway narrowing from eucapnic voluntary hyperventilation and cold air exercise. *Br J Sports Med.* 2005;39:232-6.
105. Vathenen AS, Knox AJ, Wisniewski A, Tattersfield AE. Effect of inhaled budesonide on bronchial reactivity to histamine, exercise and eucapnic dry air hyperventilation in patients with asthma. *Thorax.* 1991;6:811-6.

106. Anderson SD, Argyros GT, Magnussen H, Holzer K. Provocation by eucapnic voluntary hyperpnoea to identify exercise induced bronchoconstriction. *Br J Sports Med.* 2001;35:344–7.
107. Brannan JD, Koskela H, Anderson SD, Chew N. Responsiveness to mannitol in asthmatic subjects with exercise- and hyperventilation- induced asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158:1120–8.
108. Argyros GJ, Roach JM, Hurwitz KM, Eliasson AH, Phillips YY. Eucapnic voluntary hyperventilation as a bronchoprovocation technique: Development of a standardized dosing schedule in asthmatics. *Chest.* 1996;109:1520–4.
109. Hurwitz KM, Argyros GJ, Roach JM, Eliasson AH, Phillips YY. Interpretation of eucapnic voluntary hyperventilation in the diagnosis of asthma. *Chest.* 1995;108:1240–5.
110. Rundell KW, Anderson SD, Spiering BA, Judelson DA. Field exercise vs laboratory eucapnic voluntary hyperventilation to identify airway hyperresponsiveness in elite cold weather athletes. *Chest.* 2004;125:909–15.
111. Brannan JD. Bronchial hyperresponsiveness in the assessment of asthma control. *Chest.* 2010;138 Suppl 2:11S–7S.
112. Holzer K, Anderson SD, Douglas J. Exercise in elite summer athletes: Challenges for diagnosis. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;110:374–80.
113. Holley AB, Cohee B, Walter RJ, Shah AA, King CS, Roop S. Eucapnic voluntary hyperventilation is superior to methacholine challenge testing for detecting airway hyperactivity in nonathletes. *J Asthma.* 2012;49:614–9.
114. Finnerty JP, Holgate ST. Evidence for the roles of histamine and prostaglandins as mediators in exercise-induced asthma: The inhibitory effect of terfenadine and flurbiprofen alone and in combinations. *Eur Respir J.* 1990;3:540–7.
115. Rodwell LT, Anderson SD, Black JL. Inhaled clemastine, an H1 antihistamine inhibits airway narrowing caused by aerosols of non-isotonic saline. *Eur Respir J.* 1991;4:1126–34.
116. Umeno E, McDonald DM, Nadel JA. Hypertonic saline increases vascular permeability in the rat trachea by producing neurogenic inflammation. *J Clin Invest.* 1990;85:1905–8.
117. De Meer G, Marks GB, de Jongste JC, Brunekreef B. Airway responsiveness to hypertonic saline: Dose-response slope or PD15? *Eur Respir J.* 2005;25:153–8.
118. Smith CM, Anderson SD. Inhalational challenge using hypertonic saline in asthmatic subjects: A comparison with responses to hyperpnoea, methacholine and water. *Eur Respir J.* 1990;3:144–51.
119. Riedler J, Reade T, Dalton M, Holst D, Robertson C. Hypertonic saline challenge in an epidemiologic survey of asthma in children. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;150:1632–9.
120. Du Toit JI, Anderson SD, Jenkins CR, Woolcock AJ, Rodwell LT. Airway responsiveness in asthma: Bronchial challenge with histamine and 4.5% sodium chloride before and after budesonide. *Allergy Asthma Proc.* 1997;18:7–14.
121. Rodwell LT, Anderson SD, Seale JP. Inhaled steroids modify bronchial responsiveness to hypermolar saline. *Eur Respir J.* 1992;5:953–62.
122. Araki H, Sly PD. Inhalation of hypertonic saline as a bronchial challenge in children with mild asthma and normal children. *J Allergy Clin Immunol.* 1989;84:99–107.
123. Leuppi JD, Anderson SD, Brannan JD, Belousova E, Reddel HK, Rodwell LT. Questionnaire responses that predict airway response to hypertonic saline. *Respiration.* 2005;72:52–60.
124. Riedler J, Gamper A, Eder W, Oberfeld G. Prevalence of bronchial hyperresponsiveness to 4.5% saline and its relation to asthma and allergy symptoms in Austrian children. *Eur Respir J.* 1998;11:355–60.
125. Anderson SD. Exercise-induced asthma and the use of hypertonic saline aerosol as a bronchial challenge. *Respirology.* 1996;1:171–5.