

MORFOLOGIA DE LA CURVA DOSIS-RESPUESTA A LA METACOLINA: DIFERENCIAS ENTRE SUJETOS ASMATICOS Y NORMALES

C. PELLICER CISCAR, M. PERPIÑA TORDERA, J.I. JORQUERA NIETO
y V. MARCO MARTINEZ

Servicio de Neumología. Hospital La Fe. Valencia.

El objetivo del presente estudio ha sido analizar la morfología y posición de las curvas dosis-respuesta (CDR) a la metacolina. Con este motivo, hemos construido en 17 sujetos con asma leve y 10 sujetos normales, CDR completas a metacolina, buscando su mejor adaptación a las funciones matemáticas: lineal, semilogarítmica, potencial y sigmoidea. En ambos grupos, el coeficiente de correlación más alto se obtuvo para la morfología sigmoidea, sin embargo, la posición de estas curvas en el eje de coordenadas fue distinta. El estudio de los diversos factores que determinan las diferencias existentes en las CDR entre sujetos normales y asmáticos, puede contribuir al mejor conocimiento de la patogenia de la hiperreactividad bronquial.

Arch Bronconeumol 1987; 23:128-135.

Introducción

Aunque en los últimos años, se ha conseguido cierta uniformidad en el método a seguir para la realización de las pruebas de provocación bronquial¹⁻³, se carece, sin embargo, de criterios unitarios sobre cuál es la mejor forma de análisis de las respuestas obtenidas^{4,5}.

Para el estudio de la broncomotricidad, durante algún tiempo se estimó suficiente la determinación de algún punto de la curva dosis-respuesta (CDR) vgr., la dosis que produce un 20% de descenso en el FEV₁ (PD₂₀), o bien el análisis de la pendiente de la línea de regresión trazada a partir de la dosis umbral⁶⁻⁸. Estos parámetros, aunque han aportado datos de interés en la detección de hiperreactividad bronquial, analizan sólo

The shape of the dose-response curve to methacholine: differences between asthmatic and healthy subjects

The aim of this study was to analyze the shape and position of the dose-response curves (CDR) to methacholine.

Complete dose-response curves to methacholine were built for 17 mild asthmatic and 10 healthy subjects, looking for the best possible fitting to one of the following mathematical models: lineal, semilogarithmic, potential and sigmoid. The highest correlation coefficient was obtained for sigmoid model in both groups. The curves showed however different positions when plotted in coordinate axis. The study of the several factors responsible for the differences of CDRs between asthmatic and healthy subjects may contribute to a better insight in the pathogenesis of bronchial hyperreactivity.

aspectos parciales de la relación dosis-respuesta (D-R), que pueden ser suficientes cuando la prueba de provocación bronquial se lleva a cabo con fines clínicos o epidemiológicos^{9,10}; sin embargo, cuando se pretende investigar los posibles mecanismos de la hiperreactividad bronquial o valorar la capacidad de diversos fármacos para atenuar la broncoconstricción inducida por agentes contracturantes, se precisan otros tipos de análisis que nos permitan estudiar la CDR de forma más detallada. En este sentido, diversos grupos de trabajo^{5,11,12} han sugerido la necesidad de conseguir el mayor número de puntos de la relación D-R con el fin de analizar la morfología global de la curva así obtenida. Esta forma de análisis, no sólo entraña una menor manipulación de los datos, sino que al mismo tiempo aporta una mayor información sobre el comportamiento de la vía aérea frente a los estímulos broncoconstrictores.

Recibido el 15-5-1986 y aceptado el 3-11-1986.



TABLA I
Exploración funcional basal

	FVC*	FEV ₁ *	\dot{V}_{50} *	SGaw (s ⁻¹ cmH ₂ O ⁻¹)
Asmáticos n = 17	95.2 ± 3.2	103.1 ± 2.4	95 ± 3.9	0.25 ± 0.08
Normales n = 10	99.9 ± 3.4	104.7 ± 2.9	102.7 ± 4.6	

FVC: Cap. vital forzada. FEV₁: Volumen máximo espirado en el primer segundo de la capacidad vital. \dot{V}_{50} : Flujo máximo espiratorio en el 50% de la capacidad vital. SGaw: Conductancia específica de la vía aérea. Datos*: Valores expresados como % del valor teórico ± SEM. Tablas de referencia^{13,15,16}.

En el presente estudio, se han construido CDR a metacolina en un grupo de sujetos normales y asmáticos con el fin de analizar la posición de las curvas en el eje de coordenadas y estudiar su morfología buscando la mejor adaptación a distintas funciones matemáticas.

Material y métodos

Sujetos. Hemos estudiado 10 sujetos normales, 4 mujeres y 6 hombres, no fumadores, con una edad media de 26,6 años (límites 18-32) que no referían antecedentes de patología respiratoria, y 17 sujetos no fumadores, con asma bronquial ligero (FEV₁ basal: 103,1 ± 9,8 % del valor de referencia¹³), y test broncodilatador positivo¹⁴, si bien, no requerían medicación broncodilatadora continuada; diez eran mujeres y siete eran hombres con una edad media de 29 años (límites 12-46). Basándonos en una historia clínica sugestiva de atopia con positividad de los test cutáneos y la determinación de valores elevados de IgE en suero, nueve pacientes fueron considerados portadores de un asma extrínseco mientras que ocho que no cumplían estos criterios, se consideraron intrínsecos. Ninguno de todos los sujetos estudiados refería clínica de infección respiratoria reciente. Todos conocían la mecánica de las pruebas farmacológicas de provocación bronquial y dieron su consentimiento previamente a la realización del test.

Procedimiento experimental. Las exploraciones se hicieron por la mañana con el sujeto en ayunas. En todos los casos, se realizó una exploración funcional respiratoria en situación basal que incluyó: un espirograma forzado y curvas flujo/volumen. En todos los pacientes asmáticos, se determinaron también los volúmenes, la resistencia de la vía aérea y la conductancia específica. Los valores medios se recogen en la tabla I. Posteriormente se procedió a la realización de la prueba broncoconstrictora según las recomendaciones de la American Thoracic Society³. Como agente contracturante se administró metacolina (Sigma, St. Louis, MD) por vía inhalatoria mediante la utilización de un nebulizador Hudson modelo 1720 (Temnecula, CA) y un compresor EEL 230 (Evans, Electroselenium, Essex) a un flujo de 10 l/m; de esta forma, el 75 % de las partículas que se generan tienen un tamaño entre 0,5 y 3 micras. Se utilizaron concentraciones crecientes de metacolina: 0,5; 1; 10 y 20 mg/ml, realizándose para cada dosis, cinco inhalaciones lentas desde capacidad residual funcional hasta capacidad pulmonar total. Estas tres últimas concentraciones fueron repetidas cada una entre dos y tres veces con el fin de conseguir un mejor control sobre el grado de broncoconstricción inducida y obtener un amplio número de puntos de la CDR. Dos a tres minutos después de cada dosis se registraron en un espirómetro seco OHIO 840 (arco, Wis), al menos, tres espirogramas forzados. Para determinar los cambios provocados por la medicación broncoconstrictora se seleccionó el FEV₁ más alto, siempre que el valor de FVC de dicho registro, no presentase cambios superiores al 5 % en relación a los demás espirogramas. La prueba finalizó

en los controles normales tras haber administrado 500 unidades inhalatorias de metacolina (una unidad inhalatoria es la cantidad de sustancia administrada con una inhalación de un aerosol que contiene una concentración de fármaco de 1 mg/ml), y en el grupo de asmáticos en las siguientes situaciones: a) cuando se hubo alcanzado el «efecto máximo»; consideramos obtenido éste, cuando tras haber superado la PD₂₀, la administración de 50 unidades inhalatorias más de metacolina, no provocaron descensos superiores al 5 % en el FEV₁, b) cuando el FEV₁ había descendido más del 40 %; y c) cuando se habían obtenido al menos 6 puntos de la CDR. Las CDR fueron construidas colocando en el eje de ordenadas el descenso porcentual del FEV₁, calculado a partir del valor obtenido tras la inhalación de suero fisiológico y en el eje de abscisas el logaritmo de las dosis acumulativas de metacolina administradas. Al finalizar la exploración, se les administró a todos los sujetos fenoterol (1,2 mg en aerosol).

Análisis de los datos. Con el fin de determinar la expresión matemática que mejor ajustase la relación D-R, se realizó un análisis de varianza de clasificación simple, modelo I¹⁷, que se completó con un estudio de regresión para las siguientes funciones: 1) lineal, definida por la ecuación $y = a + bx$ donde x representa la dosis administrada, y la respuesta obtenida, a el origen de la recta, y b la pendiente de ésta; 2) semilogarítmica, representada por la ecuación $y = a + b \log x$ en la cual a sitúa el nivel de colocación de la curva y el factor $\log x$ indica una progresión logarítmica de las dosis; 3) potencial, descrita por la ecuación $y = ax^b$; 4) sigmoidea, definida por la ecuación: $\log Y/M - Y = \alpha + \beta \log x$ donde Y expresa el descenso porcentual del FEV₁ obtenido con cada dosis de metacolina administrada (x) y M representa la respuesta máxima alcanzada. En aquellos casos en que ésta no pudo ser obtenida, para M , se consideró el valor 100. La condición de homogeneidad de varianzas, se comprobó con la prueba de la F max. Para el tratamiento informático de los datos, se utilizó software de diseño propio en un ordenador Hewlett-Packard modelo H-P 85.

Resultados

Construcción de las CDR. En dos sujetos asmáticos, no pudieron obtenerse más de cuatro puntos de la CDR al alcanzarse con pequeñas dosis de metacolina, un descenso en el FEV₁ del 50 % y presentar ambos pacientes clínica evidente de broncoconstricción. En todos los demás casos, se obtuvieron entre seis y diez puntos de cada curva. La CDR media para nuestro grupo de asmáticos y normales estudiados, puede verse en la figura 1.

Análisis de varianza. El análisis de varianza confirmó la existencia de una variación en las respuestas atribuidas a los efectos del agente contracturante administrado (Fs entre grupos) y que

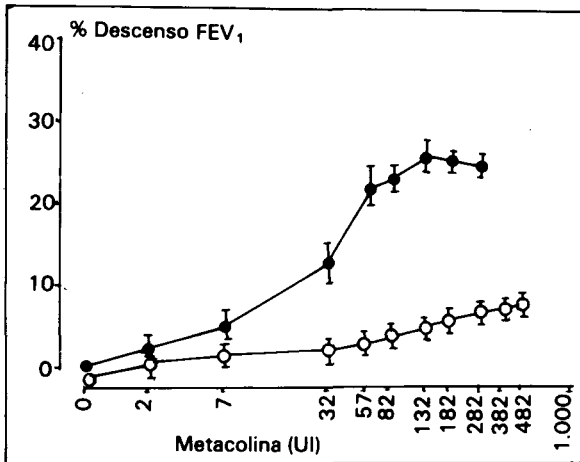
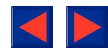


Fig. 1. Curva dosis-respuesta a metacolina en 17 asmáticos ligeros (●) y 10 sujetos normales (○). UI: Unidades Inhalatorias.

fue altamente significativa ($p < 0,001$) para cualquiera de los diversos ajustes matemáticos estudiados, tanto en asmáticos como en los sujetos control (tabla II).

Análisis de regresión. El análisis de regresión presentaba niveles de significación distintos para cada una de las morfologías estudiadas. Para el grupo de asmáticos (tabla II), el valor más alto de regresión correspondió a la transformación sigmoidea (Fs de regresión: 687,2). Se obtuvieron desviaciones de la regresión no significativas para las funciones semilogarítmica, potencial y sigmoidea, siendo en este último caso en donde se observó el valor más bajo (Fs desviaciones: 0,2) indicativo también del mejor ajuste y que se correspondía con el coeficiente de correlación más alto ($r = 0,80$). Por otro lado, la prueba de la F max, sólo permitió establecer la condición de homogeneidad de varianzas en el caso de la transformación sigmoidea. Los coeficientes de correlación obtenidos para esta transformación cuando se analizó cada paciente individualmente, oscilaron entre 0,90 y 0,99 con un nivel de significación de p entre $<$

0,01 y $< 0,001$. No se observaron diferencias significativas en el comportamiento entre el grupo de asmáticos extrínsecos e intrínsecos, siendo el coeficiente de correlación para la morfología sigmoidea $r = 0,73$ y $r = 0,89$, respectivamente. Para el grupo control, el coeficiente de correlación más alto, se obtuvo para la transformación sigmoidea ($r = 0,77$) aunque la adaptación a otras funciones matemáticas estudiadas, también fue significativa (tabla II). Los parámetros que definen en la curva sigmoidea su posición (α) y pendiente (β), fueron para el grupo de asmáticos $\alpha = -2,49$ y $\beta = 1,14$ y para el grupo control $\alpha = -2,71$ y $\beta = 1,89$.

Discusión

A diferencia de los estudios de broncomotricidad realizados «in vitro», la obtención del efecto máximo, representa uno de los principales inconvenientes técnicos y éticos en la construcción de CDR «in vivo» frente a agentes contracturantes, particularmente en la población asmática. Este límite máximo, ha sido definido por algunos autores¹⁸ como el máximo nivel de broncoconstricción que resulta seguro y confortable para el sujeto, aunque evidentemente, éste no puede ser considerado como el máximo teóricamente posible. Pese a estas limitaciones, sin embargo, es deseable también «in vivo», la obtención de CDR completas. El diseño utilizado en el presente estudio mediante la construcción de CDR acumulativas y la inducción de broncoconstricción lenta y progresivamente, nos ha facilitado la obtención de un amplio número de puntos de la CDR a metacolina permitiéndonos determinar no sólo la PD₂₀ de cada sujeto sino también, conocer el comportamiento de la curva hasta alcanzar el efecto máximo. Con esta metodología, en dos de nuestros pacientes asmáticos sólo pudieron conseguirse cuatro puntos de la CDR por presentar ambos una importante broncoconstricción. En el

TABLA II
Significación estadística de los datos obtenidos utilizando diferentes ajustes matemáticos para la curva dosis-respuesta

	Linear		Semilogarítmica		Potencial		Sigmoidea	
	Asmáticos	Normales	Asmáticos	Normales	Asmáticos	Normales	Asmáticos	Normales
F máx	29.2	6.21 (NS)	29.2	6.21 (NS)	75.6	22	4.8 (NS)	12.6 (NS)
Fs entre grupos	24.8*	10.4*	24.8*	10.4*	26.2*	8.22*	27.7*	24.8*
Fs regresión	20	40.1*	47.7	81.9*	191.2	275*	687.2*	38.5*
Fs desviaciones	5.1	1.9 (NS)	2.4	1 (NS)	0.7	0.3 (NS)	0.2 (NS)	4.3 (NS)
c.f. correlación (r)	0.71	0.66	0.74	0.70	0.77	0.67	0.80	0.77

NS: No significativo. cf: coeficiente.
*: $p < 0.001$



resto de la población estudiada, fue posible obtener más de seis puntos de la relación D-R y alcanzar en la mayor parte de ellos un «plateau» que representaba el efecto máximo, según los criterios establecidos en nuestro estudio.

El análisis de la morfología de las curvas así obtenidas demuestra que en nuestro grupo de asmáticos ligeros, el incremento progresivo de las respuestas observadas describe preferentemente una morfología sigmoidea. Sin embargo, en el grupo de sujetos control, aunque se obtuvo el mejor coeficiente de correlación para la transformación sigmoidea, la adaptación de los datos a otras funciones matemáticas también fue significativa. Esta diferencia en el comportamiento entre ambos grupos, quizá pueda estar influenciada por el parámetro escogido como índice de broncomotricidad. Sterk et al¹⁹, han estudiado recientemente, en un grupo de sujetos normales, los factores que limitan la respuesta broncomotora a la metacolina utilizando el \dot{V}_{40p} (flujo al 40 % de la capacidad vital de una curva \dot{V}/V parcial), el \dot{V}_{40c} (flujo al 40 % de la capacidad vital de una curva \dot{V}/V completa) y el FEV₁. Estos autores señalaban, que la peor adaptación a la morfología sigmoidea se obtenía cuando el parámetro analizado era el FEV₁, sobre todo si el efecto máximo alcanzado era menor del 10 %. El FEV₁ es el parámetro de elección para la detección de hiperreactividad bronquial por su alta especificidad y reproducibilidad, pero es conocida su escasa sensibilidad²⁰. En nuestro estudio, los descensos máximos obtenidos en el grupo control fueron menores del 10 % situándose, por tanto, en los límites del coeficiente de variación señalado en la literatura para este parámetro. Probablemente, la escasa sensibilidad del FEV₁ sea más manifiesta cuando se estudian sujetos normales y sea ésta, la razón que le resta capacidad discriminativa para determinar la óptima función matemática que describe la CDR en este grupo de sujetos. Con independencia del parámetro de medida utilizado, se ha señalado el hecho de que los sujetos normales presentan, aún dentro de un amplio rango de variabilidad, una capacidad de respuesta broncoconstrictora limitada que los diferencia de los sujetos asmáticos^{12,19}. Los factores determinantes de esta protección, no son bien comprendidos, si bien se ha observado una relación inversa con la posición de la curva, de manera que, a medida que se requieren dosis mayores de agente contracturante para alcanzar el punto umbral, se limita más precozmente el efecto máximo obtenido¹⁹.

En nuestro estudio, aunque hemos analizado un grupo muy seleccionado tanto de asmáticos como de controles, los valores α y β (posición y pendiente de la curva sigmoidea respectivamente), nos permiten apreciar un desplazamiento hacia la derecha y un aplanamiento de la curva

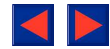
del grupo control en relación a los asmáticos. Estos resultados, confirman y amplían los obtenidos por Woolcock¹² que también observó valores de α y β que situaban las curvas de los sujetos normales desplazadas hacia la derecha. Desplazamientos similares, han sido detectados también por otros autores si bien, en la mayor parte de los casos sólo se han aportado descripciones individualizadas de algún sujeto aislado, destacando el aspecto sigmoideo de sus curvas, pero sin haber estudiado otras posibles adaptaciones matemáticas de su morfología²¹⁻²³.

A la vista de estos datos, parece concluirse que la morfología de las CDR en asmáticos y en normales es similar, y lo que les diferencia a unos y a otros, no es tanto su morfología como la posición de sus curvas en el eje de coordenadas.

En estudios previos realizados con un preparado de músculo liso de vía aérea periférica procedente de cobayo sensibilizado, se ha podido observar que las dosis eficaces EN 50 % de las CDR de diferentes agentes broncoconstrictores se encuentran, respecto a las obtenidas en reactivo de animal normal, desplazadas hacia el rango de concentraciones más bajas, estando asimismo incrementados los efectos máximos alcanzados²⁴. Este comportamiento ha sido interpretado como el reflejo de una hipersensibilidad postsináptica inespecífica²⁵. La complejidad de los diversos factores que median la obtención de una respuesta broncomotora «in vivo», hace que no puedan ser extrapoladas las conclusiones de los estudios realizados «in vitro»; sin embargo, la similitud en el comportamiento de las CDR en ambas situaciones, sugiere la necesidad de planificar estudios dirigidos a determinar qué factores delimitan la posición de las CDR en el eje de coordenadas en los distintos tipos de población estudiada así como a buscar los mecanismos responsables de la limitación para la broncoconstricción que muestran las CDR de los sujetos normales y cuya alteración pudiera, probablemente, desencadenar el desarrollo de hiperreactividad bronquial.

BIBLIOGRAFIA

1. Orehek J, Gayrard P. Les tests de provocation bronchique non-spécifiques dans l'asthme. Bull Europ Physiopath Resp 1976; 12:565-598.
2. Chai H, Farr RS, Froehlich LA et al. Standardization of bronchial inhalation challenge procedures. J Allergy Clin Immunol 1975; 56:323-327.
3. Cropp GJA, Berstein IL, Boushey HA et al. Guidelines for bronchial inhalation challenges with pharmacologic and antigenic agents. ATS News, Spring 1980; 11-19.
4. Eiser NM, Kerrebeijn KF, Quanjer PH. Guidelines for standardization of bronchial challenges with (nonspecific) bronchoconstricting agents. Bull Europ Physiopath Resp 1983; 19:495-514.
5. Eiser NM, McRae KD, Guz A. Evaluation and expression of bronchial provocation tests. Bull Europ Physiopath Resp 1981; 17:427-440.
6. Orehek J, Gayrard P, Smith AP, Grimaud C, Charpin J. Airway response to carbachol in normal and asthmatic subjects:



distinction between bronchial sensitivity and reactivity. *Am Rev Respir Dis* 1977; 115:937-943.

7. Dehaut P, Rachiele A, Martin RR, Malo JL. Histamine dose-response curves in asthma: reproducibility and sensitivity of different indices to assess response. *Thorax* 1983; 38:516-522.
8. Beaupre A, Malo JL. Histamine dose-response curves in asthma: relevance of the distinction between PC₂₀ and reactivity in characterising clinical state. *Thorax* 1981; 36:731-736.
9. Hargreave FE, Ryan G, Thomson NC et al. Bronchial responsiveness to histamine or methacholine in asthma: measurement and clinical significance. *J Allergy Clin Immunol* 1981; 68:347-355.
10. Pratter MR, Irwin RS. The clinical value of pharmacologic bronchoprovocation challenge. *Chest* 1984; 85:260-265.
11. Orehek J. Relations dose-réponse et tests pharmacologiques de provocation bronchique. *Bull Europ Physiopath Resp* 1981; 17:329-332.
12. Woolcock AJ, Salome CM, Yan K. The shape of the dose-response curve to histamine in asthmatic and normal subjects. *Am Rev Respir Dis* 1984; 130:71-75.
13. Morris JF, Koski A, Johnson LC. Spirometric standards for healthy nonsmoking adults. *Am Rev Respir Dis* 1971; 103:57-67.
14. Ries AL. Response to bronchodilators. En: Clausen JL, Powell Zarins L, ed. *Pulmonary function testing guidelines and controversies. Equipment, methods and normal values.* London, Grune Stratton 1984; 215-221.
15. Cherniack RM, Raber MB. Normal standards for ventilatory function using an automated wedge spirometer. *Am Rev Respir Dis* 1972; 106:38-46.
16. Cotes JE. *Lung function. Assesment and aplication in medicine.* 3 ed. Blackwell. Oxford, 1975.
17. Sokal RR, Rohlf FI. *Biometry, the principles and practice of statistics in biological research.* WH Freeman and Co, San Francisco, 1969.
18. Orehek J. Measurement of airway hyperresponsiveness in man. *Eur J Respir Dis* 1982; 63(suppl 117):42-58.
19. Sterk PJ, Daniel EE, Zamel N, Hargreave FE. Limited bronchoconstriction to methacholine using partial flow-volume curves in nonasthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:272-277.
20. Michoud MC, Ghezze H, Amyot R. A comparison of pulmonary function tests used for bronchial challenges. *Bull Europ Physiopath Resp* 1982; 18:609-621.
21. Felarga AB, Itkin IH. Studies with the quantitative inhalation challenge technique. I. Curve of dose-response to acetyl-beta-methylcholine in patients with asthma of known and unknown origin, hay fever subjects, and non atopic volunteers. *J Allergy* 1966; 37:223-235.
22. Townley RG, Ryo UY, Kolotkin BM, Kang B. Bronchial sensitivity to methacholine in current and former asthmatic and allergic rhinitis patients and control subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1975; 56:429-442.
23. Michoud MC, Leloir J, Amyot R. Factors modulating the interindividual variability of airway responsiveness to histamine. The influence of H₁ and H₂ receptors. *Bull Europ Physiopath Resp* 1981; 17:807-821.
24. Morcillo EJ, Perpiñá M, Esplugues J. Hyperresponsiveness to autacoides and autonomic drugs in lung parenchymal strips from sensitized guinea pigs. *Am Rev Respir Dis* 1984; 129:948-951.
25. Perpiñá M. *Análisis farmacológico de la responsividad a autacoides y fármacos autonómicos en la tira de parénquima pulmonar aislado de varias especies animales.* Tesis doctoral. Universidad de Valencia, 1981.