

Persistencia de la hiperreactividad bronquial inespecífica en niños con asma bronquial no IgE dependientes: Estudio farmacológico mediante test de Carbacol

M^a D VECORA NAVARRO*, G OLIVAN GONZALVO*, C COLAS SANZ**, J L ESCUER ALARMA** y F DUCE GRACIA**

* Unidad de Alergia. Departamento de Pediatría. ** Sección de Alergia. Servicio de Neumología. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza. Hospital Clínico Universitario «Lozano Blesa». Zaragoza.

Resumen.—Los autores revisan su experiencia preliminar con la prueba de provocación bronquial con carbacol en 50 niños de cinco a catorce años de edad con asma bronquial no IgE dependiente, que estuvieron asintomáticos durante el último año previo a la realización del test, con el objeto de evaluar clínicamente el asma, observar la evolución de la hiperreactividad bronquial inespecífica (HBI) respecto a la remisión clínica y determinar si la existencia de HBI se correlaciona con ciertos parámetros clínicos, epidemiológicos y analíticos (eosinofilia periférica, IgE total).

En 22 niños (44 por 100) la exploración funcional respiratoria fue normal durante todas las fases del test. En los 28 restantes (56 por 100) el estudio funcional respiratorio con carbacol mostró descensos espirométricos sugerentes de HBI, siendo los parámetros más significativos los descensos del FEV₁, PEF ($p < 0,001$) y FMEF ($p = 0,001$). Asimismo, los pacientes que presentaron HBI al test de carbacol se caracterizaron por haber presentado crisis de asma de más grave intensidad, asociadas con mayor frecuencia a infección aguda respiratoria y a valores inferiores de IgE total ($p < 0,05$), respecto del grupo sin HBI al test de carbacol. **PALABRAS CLAVE:** Asma bronquial no IgE. Hiperreactividad bronquial inespecífica. Test provocación. Carbacol.

PERSISTENCE OF NON-SPECIFIC BRONCHIAL HYPERREACTIVITY IN CHILDREN WITH NON-IgE DEPENDENT BRONCHIAL ASTHMA: PHARMACOLOGICAL STUDY THROUGH CARBACHOL TEST

Abstract.—The authors revise their preliminary experiment with the bronchial provocation test using carbachol in 50 children of 5 to 14 years with non-IgE dependent bronchial asthma who had been asymptomatic for one year prior to the test in order to make a clinical evaluation of asthma. The

Correspondencia:

M^a D Yecora Navarro.
Departamento de Pediatría.
Hospital Clínico Universitario.
Avda. San Juan Bosco, 15.
50009 Zaragoza.

Recibido: enero, 1988.

Aceptado: abril, 1988.

observe the evolution of the non-specific bronchial hyperreactivity (NSBH) with respect to the clinical remission and determine whether the persistence of NSBH is correlated to certain clinical, epidemiological and analytical parameters (peripheral eosinophilia, total IgE).

In 22 children (44 %) the functional respiratory examination was normal throughout each phase of the test. In the other 56 %, the functional respiratory study using carbachol showed exhalation reductions which suggested NSBH. The most significant parameters were the reductions in FEV₁, PEF ($p < 0,001$) and FMEF ($p = 0,001$). Thus the patients revealing NSBH in the carbachol test are characterised for having revealed acute asthma of higher intensity, more often associated with an acute respiratory infection and with lower values of total IgE ($p < 0,05$) with respect to the group without NSBH in the carbachol test. **KEY WORDS:** Non-IgE bronchial asthma. Non-specific bronchial hyperreactivity. Provocation test. Carbachol.

INTRODUCCION

Aunque la base fisiopatológica de la hiperreactividad bronquial inespecífica (HBI) permanece sin ser determinada, ésta se define como una respuesta exagerada de las vías aéreas ante estímulos físicos, químicos, farmacológicos o inmunológicos, que se manifiesta por obstrucción al flujo aéreo (1-6). Los mecanismos favorecedores son la disminución del calibre de la vía aérea, el daño epitelial, las alteraciones del músculo liso y las alteraciones del sistema nervioso autónomo (7).

La HBI, aunque no es exclusiva del asma, es el rasgo que con más consistencia separa las poblaciones asmáticas y normal. Su grado se correlaciona, además, con la severidad global del asma (8).

En la infancia, el mecanismo más importante que provoca obstrucción bronquial son las infecciones virales. Esta HB es transitoria, aunque generalmente se cree que por lo menos en un 20 por 100 o hasta más de un 30 por 100 de los casos desarrollarán posteriormen-

te un asma bronquial. En estudios a largo plazo sobre HB se ha visto que ésta puede persistir muchos años después de la desaparición de las manifestaciones clínicas (1, 9-11).

Existen una serie de pruebas para la medición de las respuestas de las vías aéreas ante los estímulos inespecíficos (1, 12, 13) como son los test farmacológicos (14-16) y los métodos físicos (17, 18).

El test de carbacol es un test farmacológico que ha sido usado por diversos autores para el estudio de la HBI (14, 15, 19, 20). El carbacol es un fármaco parasimpaticomimético que estimula los receptores colinérgicos de la vía aérea y su acción puede ser antagonizada por los fármacos atropínicos o por la inhalación β -2-adrenérgicos.

El objeto del trabajo es revisar nuestra experiencia preliminar con la prueba de provocación bronquial con carbacol para la evaluación clínica del asma, en cuanto a severidad, pronóstico y evolución de la HBI, respecto a la remisión clínica (21). También se intenta determinar si la existencia de HBI se correlaciona con ciertos parámetros clínicos, epidemiológicos y de laboratorio concernientes al asma bronquial.

ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL TEXTO

HBI: Hiperreactividad bronquial inespecífica.

HB: Hiperreactividad bronquial.

FVC: Capacidad vital forzada.

FEV₁: Volumen espiratorio forzado en el primer segundo.

FEV₁/FVC: Índice de Tiffenau.

FMEF o FEF 25-75: Flujo espiratorio forzado medio.

PEF: Pico máximo de flujo en espiración forzada o «Peak Flow».

MATERIAL Y METODOS

Se realizó prueba de provocación bronquial con carbacol a 50 niños con asma no IgE dependiente (23 varones y 27 hembras), de cinco a catorce años de edad ($x = 7,9 \pm 2,1$ años). En todos se descartó atopia mediante historia clínica, pruebas cutáneas, IgE total y específica por RAST. También se descartó la existencia de fibrosis quística, déficit inmunitario y déficit de α -1-antitripsina. Todos ellos estuvieron asintomáticos, sin precisar ningún tipo de medicación, durante el último año previo a la realización del test de carbacol y las espirometrías basales, realizadas durante ese año presentaron valores normales, respecto a los previstos para su sexo y talla. En todos los pacientes se obtuvo consentimiento para la realización de la prueba.

Los datos clínicos, epidemiológicos y de laboratorio del material humano se muestran en la tabla I (22).

Se siguió la normativa para los test de provocación bronquial inespecífica recomendada por la SEPAR (Sociedad Española de Patología Respiratoria) (23).

Mediante un flujo constante a partir de una fuente de oxígeno, el aerosol fue generado en forma continua en un nebulizador HUDSON núm. 1.270, con flujo de 7 l/min, que emite

TABLA I: DATOS CLINICOS, EPIDEMIOLOGICOS Y DE LABORATORIO (Material humano, n = 50)

	%	\bar{x}	DS
Sexo:			
— Varón.....	46	—	—
— Hembra.....	54	—	—
Intensidad de las crisis*:			
— Leve.....	14	—	—
— Moderada.....	56	—	—
— Fuerte.....	30	—	—
Crisis desencadenadas por infección aguda respiratoria.....	56	—	—
Crisis relacionadas con irritantes ambientales.....	50	—	—
Historia familiar de asma.....	26	—	—
Edad del comienzo de la primera crisis (años).....	—	2,30	2,14
Edad de la primera consulta al servicio de alergia (años).....	—	5,10	2,49
Edad de realización del test de carbacol (años).....	—	7,92	2,17
Número de crisis/año.....	—	8,68	4,82
Duración de las crisis (días).....	—	4,92	8,52
Eosinofilia periférica/mm ³	—	369,68	283,76
IgE total (UI).....	—	92,61	130,10

* Escala de Pearlman y Bierman (Leve < 6/año, moderada = 6-8/año, fuerte > 1/mes) (22).

partículas de 1,6 micras de diámetro (24). Se aplicó una pinza nasal, y el aerosol fue inhalado a través de una pieza bucal, durante tres minutos mediante respiración a volumen corriente.

Tras la determinación de espirometría basal, se inició la exploración con la inhalación de diluyente, seguida a intervalos de cinco minutos de las siguientes concentraciones de carbacol: 0,1, 1, 10 mg/ml. La exploración funcional respiratoria se realizó con un VITALOGRAPH TM PFT PRINTER, mediante el cual recogimos los siguientes parámetros: FVC, FEV₁, FEV₁/FVC, FMEF y PEF.

Tras cada inhalación, transcurridos cinco minutos se realizó una exploración funcional respiratoria. El test se daba por finalizado al presentarse una caída del FEV₁ del 20 por 100 respecto al valor obtenido tras la inhalación del diluyente (25), administrando en estos casos isoprenalina, 1 mg por inhalación y comprobándose la reversibilidad a los veinte minutos. Se tuvieron en cuenta varios factores técnicos y no técnicos que pueden influenciar la respuesta:

1. Mantenimiento del flujo del nebulizador en 7 l/min.
2. Todos los test se realizaron a la misma hora del día, de las 12,00 a las 14,00 horas, para evitar las horas de máximo o mínimo flujo.
3. La solución de carbacol se diluyó en solución salina tamponada, con un pH de siete, se almacenaba en nevera a 4° centígrados, renovándose cada dos meses, y se utilizó a temperatura ambiente (26).
4. No haber padecido infecciones respiratorias altas o bajas, ni recibido vacuna de virus vivo atenuado de *influenzae* en las seis semanas previas al test.
5. No haber realizado ejercicio físico dos horas antes del test.

ANALISIS DE DATOS

Para la comparación estadística de los resultados obtenidos se aplicó el test de normalidad, el análisis de

TABLA II: VALORES ESPIROMETRICOS DURANTE LA EXPLORACION FUNCIONAL RESPIRATORIA CON EL TEST DE CARBACOL. RESULTADOS

	Basal				p	Test de carbacol				p
	Grupo sin HBI (n = 22)		Grupo con HBI (n = 28)			Grupo* sin HBI (n = 22)		Grupo** con HBI (n = 28)		
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS		\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	
FVC.....	112	5,8	112,8	36,5	NS	105,7	5,2	91,5	21	0,005
FEV ₁	104,8	5,3	104,7	20,6	NS	99,5	5,2	79,5	18	< 0,001
FEV ₁ /FVC***	91,6	22	93,6	20,9	NS	70,7	14,2	70,2	22	NS
FMEF.....	92,7	8,7	92,6	20,7	NS	95,7	12,7	50,5	11	0,001
PEF.....	89,7	5,6	94,4	23,5	NS	87,4	7,7	58	12	< 0,001

* Valores medios obtenidos durante toda la exploración funcional con test de Carbacol.

** Valores medios obtenidos durante el momento en que el test fue positivo.

*** Z Estadística.

t: Test Student, grupos no apareados.

la hipótesis de contraste entre dos proporciones muestrales (Z estadística) y el test de la «t» de Student para valores no apareados.

RESULTADOS

La espirometría basal previa a la realización del test de carbacol fue normal en los 50 niños, presentando todos un FEV₁ > 80 por 100 y FEV₁/FVC > 70 por 100 del teórico para su sexo y talla. Tras la realización del test de carbacol, en 22 niños (seis varones y dieciséis hembras) la exploración funcional respiratoria fue normal durante todas las fases del test (grupo sin HBI).

En los 28 restantes (14 varones y 14 hembras) el estudio funcional respiratorio con carbacol mostró descensos espirométricos sugerentes de HBI, en ocho niños el test fue positivo, con concentración de carbacol de 0,1 mg/ml; en siete, con concentración de 1 mg/ml y en 13, con concentración de 10 mg/ml (grupo con HBI). El descenso medio del FVC fue del 21,36 por 100, el FEV₁ un 25,18 por 100, el FEV₁/FVC un 23,35 por 100, el FMEF un 42,18 por 100 y el PEF un 36,46 por 100.

En todos los pacientes de este grupo la reversibilidad fue satisfactoria tras la inhalación de isoprenalina, recuperándose todos los parámetros espirométricos a los veinte minutos hasta valores del 80 por 100 o más del valor basal, siendo el ascenso medio del FVC del 18,75 por 100, el FEV₁ un 23,25 por 100, el FEV₁/FVC un 11 por 100, el FMEF un 41,5 por 100 y el PEF un 27,5 por 100.

En la tabla II se muestran los valores espirométricos obtenidos en los dos grupos durante las fases del test. En ésta podemos observar como no existe diferencia significativa entre los dos grupos respecto a la espirometría basal, pero sí que existe diferencia altamente significativa respecto a los valores obtenidos del FEV₁ y PEF (p < 0,001) y FMEF (p = 0,001), durante la prueba de estimulación farmacológica, rasgo que distingue a los individuos con HBI. En las figuras 1 y 2 se representa gráficamente los resultados obtenidos en el grupo de pacientes, en los que resultó positiva la prueba, mostrando la concentración de carbacol en la que se produjo los descensos espirométricos.

El estudio estadístico entre las dos proporciones

muestrales (grupo sin HBI y grupo con HBI) para determinar si la existencia de HBI, estudiada mediante el test de carbacol, se correlacionaba con los parámetros clínicos, epidemiológicos y de laboratorio que presentaban los diferentes grupos de pacientes estudiados, demostró que los pacientes que presentaban HBI al test de carbacol se caracterizaban por haber presentado crisis de asma de más grave intensidad, asociadas con mayor frecuencia a infección aguda respiratoria, así como valores inferiores de IgE total (p < 0,05) respecto del grupo que no presentaba HBI mediante el test de carbacol (tabla III).

DISCUSION

La investigación de la HBI, además de contribuir al conocimiento de los mecanismos patogénicos del as-

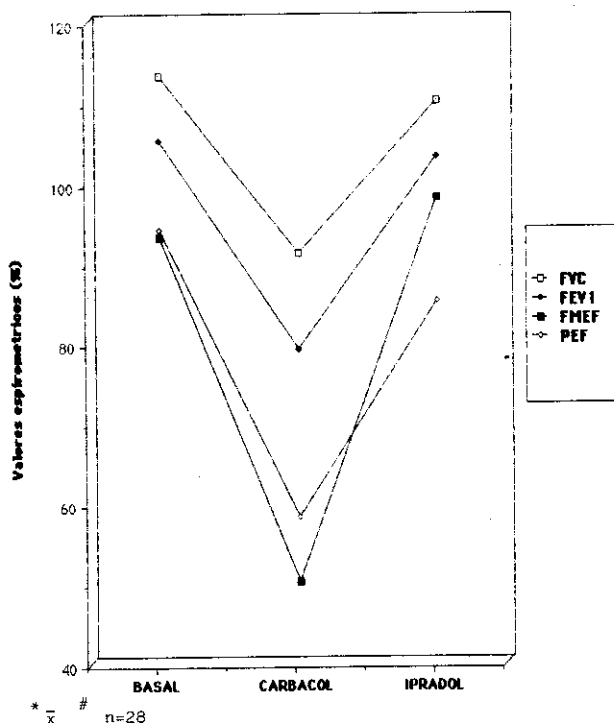


FIG. 1.—Valores espirométricos durante la exploración respiratoria en el grupo de niños con HBI.

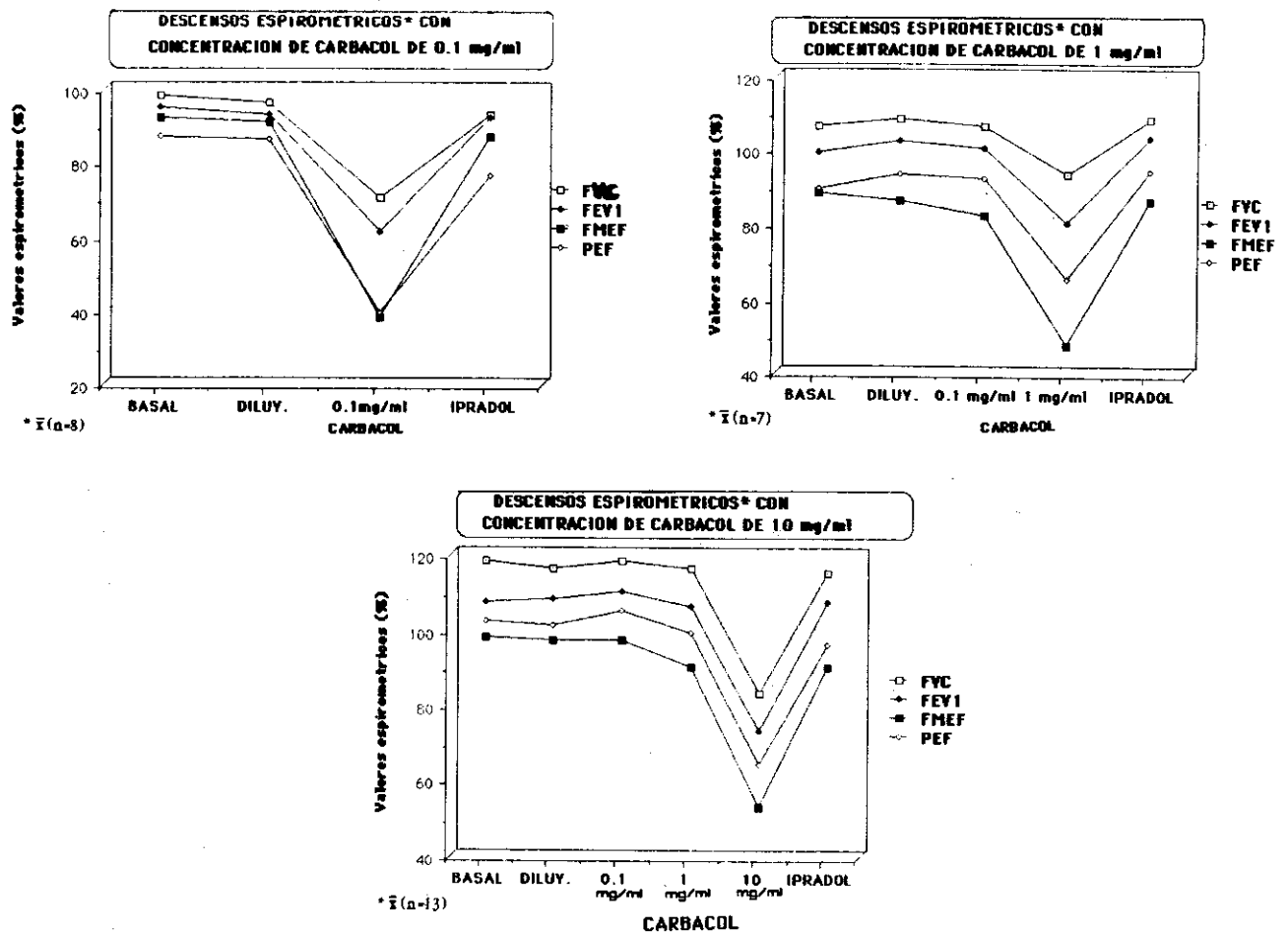


FIG. 2.

TABLA III: CORRELACION ENTRE LOS DATOS CLINICOS, EPIDEMIOLOGICOS Y DE LABORATORIO. RESULTADOS

	Grupo sin HBI (n = 22)			Grupo con HBI (n = 28)		
	%	\bar{x}	DS	%	\bar{x}	DS
Sexo:						
— Varón.....	32	—	—	50	—	—
— Hembra.....	68	—	—	50	—	—
Intensidad de las crisis:						
— Leve.....	13,64	—	—	14,29	—	—
— Moderada.....	68,18	—	—	46,42	—	—
— Fuerte*.....	18,18*	—	—	39,29*	—	—
Crisis desencadenadas por infección aguda respiratoria*.....	22,73*	—	—	46,43*	—	—
Crisis relacionadas con irritantes ambientales.....	54,55	—	—	46,46	—	—
Historia familiar de asma.....	22,73	—	—	28,57	—	—
Edad del comienzo de la primera crisis (años).....	—	2,70	2,53	—	1,99	1,77
Edad de la primera consulta al servicio de alergia (años).....	—	5,73	2,60*	—	4,61	2,33*
Edad de realización del test de carbaccol (años).....	—	8,55	2,32	—	7,43	1,93
Número de crisis/año.....	—	9,50	5,58	—	8,04	4,12
Duración de las crisis (días).....	—	3,95	3,03	—	5,68	11,11
Eosinofilia periférica/mm ³	—	397,50	318,21	—	347,82	257,38
IgE total (UI)*.....	—	138,99	176,50*	—	56,17	57,97*

* p < 0,05 (Z Estadística).

ma bronquial, puede tener una utilidad clínica en una serie de supuestos, como son el establecer el diagnóstico de asma en casos clínicos poco claros, estimar la severidad del asma, junto con la historia, exploración y determinaciones periódicas de la función pulmonar y contribuir a la toma de decisión sobre el régimen farmacológico a utilizar.

La medida de la HBI en niños es extremadamente dificultosa, porque generalmente falta cooperación (27). Nosotros comenzamos a evaluarla a partir de los cinco-seis años de edad. Algunos autores han utilizado el test de carbacol en lactantes de tres-veinticuatro meses, para lo cual los sedaron con tiopental administrado rectalmente (15), procedimiento del que no somos partidarios.

De los 50 niños con asma bronquial no IgE dependiente, a pesar de haber estado durante un año asintomáticos clínicamente sin precisar medicación alguna, en 28 (56 por 100), se detectó la presencia de HBI tras la administración del principio activo.

Este grupo mostró que los parámetros espirométricos más altamente significativos de reactividad de las vías aéreas en la infancia son los descensos del FEV₁, PEF (p < 0,001) y FMEF (p = 0,001) (28). Las crisis asmáticas de estos niños en los que persistía HBI se habían caracterizado por ser de fuerte intensidad, motivo por el cual creemos que nos consultaron por primera vez a edad más temprana (p < 0,05), aunque no existe diferencia significativa con respecto a la edad de comienzo de las primeras crisis con el grupo de niños que no mostraron HBI. También asociaban con mayor frecuencia infección respiratoria aguda, como sucede en investigaciones previas (29, 30) y en conjunto presentaban niveles significativamente inferiores de IgE total (p < 0,05), aunque ambos grupos se encontraban dentro del rango admitido como normal para su edad (31).

La ausencia de HBI en el resto de los niños (44 por ciento) puede ser debida a que hubo cambios transitorios de la reactividad de las vías aéreas, como por ejemplo, después de infecciones respiratorias víricas (8). Estos sujetos o bien no reaccionan o lo hacen a concentraciones a dosis más altas de broncoconstrictor que los asmáticos. La mayor o menor diferenciación entre unos y otros dependerá del nivel del broncoconstrictor escogido como límite de positividad. Existe la posibilidad de que algunos de nuestros pacientes, en los que el test resultó negativo, respondan a concentraciones mayores que la utilizada, si bien éstos presentarían una HBI leve.

En nuestra casuística no encontramos diferencias significativas entre los dos grupos, respecto a los antecedentes familiares de asma bronquial, aunque numerosos estudios han demostrado que la HBI tiene base genética (32).

En resumen, este estudio permite afirmar que en un porcentaje elevado de asmáticos no atópicos, la HB persiste más allá del control clínico de su asma. Un seguimiento a largo plazo podría proporcionar una evidencia más definitiva del valor predictivo de dicho

resultado (33). A su vez se podría plantear la posibilidad de iniciar un régimen farmacológico; algunos autores han demostrado que el tratamiento con dipropionato de beclometasona tópica y salbutamol nebulizado (14), y el ketotifeno (34) disminuyen la HBI valorada con el test de carbacol, si bien otros autores no han encontrado estos resultados (35).

Pensamos que la prueba de provocación bronquial con carbacol es útil en el diagnóstico del asma y en la valoración objetiva de su severidad, con resultados altamente fiables y de gran utilidad en el estudio de la HBI en la infancia.

CITAS BIBLIOGRAFICAS

1. VON DER HARDT, H: «Specialities of asthma in childhood». *Atemwegs Lungen Krankh*, 1984, 10, 10: 522-525.
2. GUERREÑO, M, y VON DER HARDT: «Sensitivity of lung parameters for assessing bronchial hyperreactivity in childhood». *Prax Klin Pneumol*, 1984, 38, 7: 252-255.
3. NEJENS, H J; DUIVERMAN, E J, y KERREBIJN, K F: «Bronchial responsiveness in children». *Pediatr Clin N Am*, 1983, 30: 829-846.
4. BERDEL, D: «Hypersensitivity of the respiratory tract in childhood». *klin Pediatr*, 1986, 198, 2: 71-78.
5. BLEEKER: «Airways reactivity and asthma: Significance and treatment». *J Allergy Clin Immunol*, 1985, 75: 21-24.
6. BOUSHEY, H A; HOLTZMAN, M J; SELLER, J R, y NADEL, J A: «Bronchial hyperreactivity». *Am Rev Resp Dis*, 1980, 121: 389-413.
7. HOLTZMAN, M J: «Pathophysiology of asthma; on overview of mechanism of bronchial hyperreactivity». En Mosley, J (ed.): «Perspectives in asthma. I: Bronchial hyperreactivity». London: Academic Press, 1982, pp. 5-17.
8. RODRIGUEZ DE LA VEGA, A: «Hiperreactividad bronquial». *Allergol et Immunopathol*, 1986, 14: 363-367.
9. WEELLIVER, R C; WONG, D T, y MIDDLETON, E: «Role of parainfluenzae virus-specific IgE in pathogenesis of croup and wheezing subsequent to infection». *J Pediatr*, 1982, 101: 889-896.
10. CARLSEN, K; ORSTAVIK, I; LEEGAARD, J, y HOEG, H: «Respiratory virus infections and aeroallergens in acute bronchial asthma». *Arch Dis Child*, 1984, 59: 310-315.
11. PULLAN, C R; HEY, E N: «Dix years follow-up of respiratory syncytial virus chest infection in infancy». *Prog Respir Res*, 1981, 17: 252-253.
12. WOOLCOCK, A J; YAN, K, y SALOME, C: «Methods for assessing bronchial reactivity». *Eur J Resp Dis*, 1983, 64 (supl 128): 181-194.
13. KONING, J, y DEBELIC, M: «Comparative investigations of bronchial reactivity in children and adolescents with bronchial asthma». *Atemwegs Lungen Krankh*, 1984, 10, 10: 512-516.
14. KRAEMER, R, y SENNHAUSER, F: «Inhaled beclometasone and cromoglycate on bronchial hyperreactivity in asthmatic children». *Atemwegs Lungenkrankh*, 1986, 12, 3: 110-113.
15. GUTKOWSKI, P, y KOWALSKI, J: «Central respiratory regulation during bronchial provocation test in infants and toddlers with obstructive bronchitis». *Atemwegs Lungenkrankh*, 1984, 10, 10: 517-521.
16. MICHAVILA GOMEZ, A; MARTORELL ARAGONES, A; SOLE JOVE, A, y TORRO DOMENECH, M: «Test de metacolina para el estudio de la hiperreactividad bronquial inespecífica en la edad pediátrica». *An Esp Pediatr*, 1986, 25, 6: 411-416.
17. CHATHAM, M; BLEEKER, E; SMITH, P; ROSENTHAL, R; MASON, P, y NORMAN, P A: «Comparation of histamine, metacholine, and exercise. Airway reactivity in normal and asthmatic subjects». *Am Rev Resp Dis*, 1982, 126: 235-240.
18. TAL, A; PASTER KAM, P H; SERRETE, C; LEAHY, F, y CHERNICK, V: «Response to cold air hyperventilation in normal and in asthmatic children». *J Pediatr*, 1984, 104: 516-521.

19. MAESTRELLI, P; ROSSI, A; MAPP, C; POLATO, R, y FABRI, L: «Airway response to various non-specific agents in normal, atopic, rhinitic and asthmatic subjects. Abstracts of the work shops. XIth Congress of the European Academy of Allergology and clinical immunology». *Allergol Immunopathol.* 1980, 8, 4: 329.
20. OREHEK, P; GAYRARD, A; SMITH, P; GRIMAUD, C, y CHARPIN, J A: «Airway response to carbachol in normal and asthmatic subjects». *Am Rev Respir Dis.* 1977, 115: 937-943.
21. HARGREAVE, F; DOLOVICH, J, y BOULTE, L: «Inhalation provocation test». *Sem Resp Med.* 1983, IV: 224-236.
22. PEARLMAN, D S, y BIERMAN, C W: «Asthma (bronchial asthma, reactive disorder)». En «Allergic diseases in infancy, childhood and adolescence». Ed. Saunders, 1980, pp. 580-604.
23. VALENCIA RODRIGUEZ, A; CASAN CLARA, P; DIAZ FERNANDEZ, M; PERPINA TORDELA, M, y SEBASTIAN GIL, M^a D: «Normativa para los test de provocación bronquial inespecífica. Sociedad Española de Patología Respiratoria (SEPAR)». Barcelona: Doyma, S. A., 1987, pp. 6-25.
24. RYAN, G; DOLOVICH, M, y ROBERTS, R: «Standardization of inhalation provocations test: Influence of nebulizer output, particle size and method of inhalation». *J Allergy Clin Immunol.* 1981, 67: 156-161.
25. EISER, N M; KERREBIJN, K F, y QUANJET, Ph: «Guidelines for standardization of bronchial challenges with nonspecific bronchoconstricting agents». *Bull Europ Physiopath Resp.* 1983, 19: 495-514.
26. MERCK, N J: «The merck index», 9.^a ed, Rahway: Merck & Co, 1976.
27. MITSUHASHI, M; TAJIMA, K; TOKUYAMA, K, y cols.: «Application of a new direct-writing recorder device, the "astograph", to the evaluation of metacholine-induced bronchoconstriction in asthmatic children». *J Asthma*, 1984, 21, 2: 89-95.
28. COCKCROFT, D, y BERSCHIED, B: «Correlation of bronchial responsiveness to diluent and to histamine». *Ann Allergy.* 1982, 49: 139-141.
29. RACHELEFSKY, G S; KATZ, R M, y SIEGEL, S C: «Chronic sinus disease with associated reactive airway disease in children». *Pediatrics*, 1984, 73: 526-529.
30. OSTERGAARD, P A: «Asma no-IgE en los niños». *Acta Paediatr Scand.* 1985, 2: 785-791.
31. SENENT, C: «Inmunoglobulina». Senent, C, y Gozalo, F (editores): «Alergología», 1985, p. 40, n.º 5.
32. ELLIS, E: «Asthma in childhood». *J Allergy Clin Immunol.* 1983, 72: 526-539.
33. HOPP, R; BEWTRA, A; NAIR, N, y TOWNLEY, R: «Specificity and sensitivity of metacholine inhalation challenge in normal and asthmatic children». *J Allergy Immunol.* 1984, 74: 154-158.
34. MATTHYS, H; KLEIN, G; KOHLER, D, y cols.: «Effects of ketotifen on cholinergic induced airway obstruction». *Eur J Respir Dis.* 1983, 64, 7: 504-511.
35. COLAS, C; GOZALO, F, y PELTA, A: «Aspectos técnicos de la evaluación de la hiperreactividad bronquial inespecífica». En Luzán (ed.): «Tratado de alergología e inmunología clínica». Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica, 1986, páginas 419-436, 5.