

Hipersecreción bronquial en el asma

Autor

Astrid Crespo-Lessmann, Elena Curto

Servicio de Neumología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Institut d'Investigació Biomèdica Sant Pau. Barcelona, España

Correspondencia

Dra. Astrid Crespo Lessmann

Servicio de Neumología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

C. Mas Casanovas 90. 08041 Barcelona, España

Tel.: +34 93 556 59 72. Fax: +34 93 556 56 01

E-mail: acrespo@santpau.cat

Resumen

La hipersecreción mucosa bronquial de forma crónica, como una entidad clínica distinta, podría conducir a una mayor morbilidad y mortalidad del asma. Esta variable, insuficientemente caracterizada en los estudios de asma, se ha correlacionado con una mayor gravedad, un deterioro de la función pulmonar, un mayor número de exacerbaciones y una menor respuesta al tratamiento antiinflamatorio glucocorticoideo. Se han planteado diversos mecanismos fisiopatológicos como causa de la hipersecreción bronquial en los pacientes con asma. Entre estos se incluyen factores genéticos y diferencias en la expresión de mucinas y receptores *toll-like*, así como una asociación con variables como el tabaquismo, las infecciones respiratorias y el desarrollo de bronquiectasias. Sin embargo, lo cierto es que aún es necesaria una mayor investigación para dilucidar por qué algunos pacientes presentan hipersecreción bronquial y otros no y los mecanismos involucrados en el desarrollo de esta manifestación clínica.

Esta revisión aporta, de forma resumida y basada en las publicaciones más relevantes, una visión actualizada y objetiva de los diversos trabajos que han estudiado la hipersecreción bronquial y las características clínicas que presentan estos pacientes, así como sus posibles mecanismos fisiopatológicos.

Reconocer la hipersecreción bronquial como una entidad clínica distinta puede conducir a una terapia más efectiva e individualizada.

Introducción

El asma es una enfermedad inflamatoria crónica de las vías respiratorias que cursa con características (historia natural, fisiopatología, comorbilidad, nivel de gravedad y respuestas a tratamientos) muy heterogéneas. Estudios de necropsias realizadas en pacientes asmáticos que fallecieron tras una exacerbación mostraron que en la vía aérea respiratoria de estos pacientes existía una oclusión completa de los bronquios por una cantidad excesiva de moco¹. Si bien es sabido que la respuesta inmune de tipo 2 produce metaplasia de células caliciformes, hipersecreción de moco, infiltración de leucocitos (predominantemente eosinófilos) y depósitos de colágeno en las vías respiratorias, el fenotipo

inflamatorio bronquial y los mecanismos fisiopatológicos implicados en este tipo de pacientes siguen siendo desconocidos.

La hipersecreción de moco es una característica patológica destacada en pacientes con asma grave que en ocasiones se asocia al hábito tabáquico. Los pacientes refieren un moco más viscoso, abundante, difícil de expectorar, con frecuentes infecciones respiratorias y una baja respuesta terapéutica a los glucocorticoides. Aunque la información es insuficiente, algunas observaciones orientan a pensar que poseen un fenotipo inflamatorio neutrofílico. El papel de las mucinas y de los receptores *toll-like* o el hecho de ser portador de variantes genéticas, como polimorfismos de un solo nucleótido o SNP (*single-nucleotide polymorphism*), así como de mutaciones en el gen CFTR (*cystic fibrosis trans-*

membrane conductance regulator) son algunas de las hipótesis que se han planteado como posible explicación de esta característica clínica.

Asma con hipersecreción bronquial. Características clínicas

En la práctica clínica habitual no es infrecuente identificar pacientes con asma grave, con respuesta parcial al tratamiento esteroideo y un marcado componente de hipersecreción mucosa bronquial. Esta hipersecreción oscila desde formas leves, con tan solo criterios de bronquitis crónica, hasta otras más graves, con infecciones bronquiales de repetición y, en los casos extremos, con bronquielectasias y bronquiolitis infecciosas. A pesar de no ser reconocida en la actualidad como una variante de la enfermedad asmática, lo cierto es que aquellos pacientes que presentan hipersecreción bronquial tienen características clínicas diferenciadoras. Pocos estudios con clústeres en asma acostumbra a incluir dentro de las características a valorar “la hipersecreción bronquial”. Tan solo uno de ellos, el publicado por Wheaterall et al.², que evaluó pacientes respiratorios con obstrucción del flujo aéreo, sí que incluyó, junto a otras, dicha variable. Este estudio identificó cinco fenotipos y observó que los pacientes del fenotipo 5 compartían características de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y del asma (hiperrespuesta bronquial, elevación del FENO, rinitis, dermatitis y eosinofilia en sangre), junto con hipersecreción mucosa bronquial y una menor respuesta al tratamiento antiinflamatorio glucocorticoide (necesidad de mayor cantidad de tratamiento y frecuentes ingresos hospitalarios por exacerbación).

El estudio de Martínez-Rivera et al.³, prospectivo, con doce meses de seguimiento y realizado con un total de 142 asmáticos (21,8% de hombres, edad media de 49,8 años), demostró que la hipersecreción de moco es frecuente en pacientes con asma y se asocia con una mayor obstrucción de las vías aéreas, un peor control del asma y más exacerbaciones. Asimismo, el porcentaje de pacientes con rinitis grave, sinusitis, pólipos nasales y anosmia también fue significativamente mayor en los pacientes con hipersecreción bronquial.

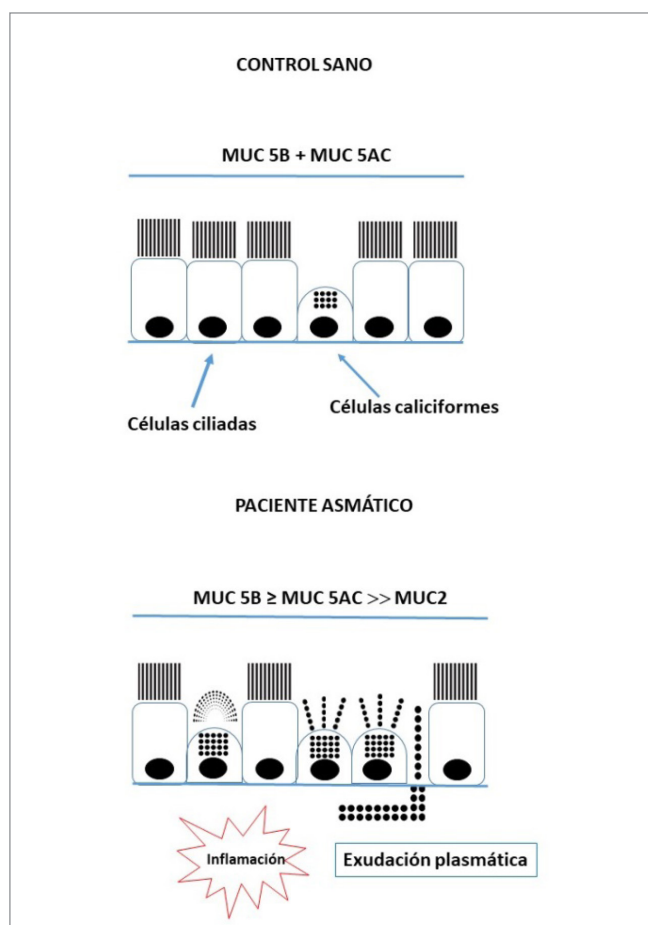
Otro estudio prospectivo, con nueve años de seguimiento, realizado sobre la salud respiratoria de la Comunidad Europea⁴, demostró que uno de los determinantes de la gravedad del asma al final del seguimiento fue la presencia de hipersecreción bronquial. Igualmente, el estudio de Lange et al., prospectivo, con 15 años de seguimiento, observó que los asmáticos hipersecretorios tenían una peor función pulmonar, independientemente de la presencia o no de tabaquismo, con un porcentaje de pacientes con hipersecreción bronquial del 63% en los varones y del 54% en las mujeres⁵.

Otras relaciones han sido descritas con la hipersecreción bronquial, como por ejemplo la infección respiratoria por gérmenes atípicos como la *Chlamydomphila pneumoniae*⁴ y un elevado porcentaje de eosinofilia en muestras de lavado broncoalveolar⁶, así como de eosinofilia sanguínea⁷.

Mucinas y receptores toll-like

Diversos estudios han demostrado que el moco de los pacientes asmáticos es más viscoso que el de los pacientes con EPOC y fibrosis quística (FQ)⁸⁻⁹; se plantea que esta diferencia radica en que tienen un perfil de mucinas diferentes (MUC2, MUC5B > MUC5A, MUC5AC)^{8,9,10} (Figura 1).

Figura 1. Distribución del perfil de mucinas en el moco bronquial de pacientes asmáticos y controles sanos



Las mucinas (MUC) son unas glicoproteínas que forman parte del moco de la vía aérea; son las que le dan las propiedades viscoelásticas y cumplen un importante papel antimicrobiano y antiinflamatorio al actuar como primera barrera inmunológica de defensa¹¹. Las MUC están compuestas por subunidades alfa y beta y forman un heterodímero complejo. La subunidad alfa cumple funciones de adhesión celular y la beta, de señalización celular. Cada vez más se relaciona la subunidad beta con la activación de los denominados *receptores toll-like* (TLR). Los TLR son una familia de proteínas transmembrana responsables del reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP: *pathogen-associated molecular patterns*), moléculas características de microorganismos como los lipopolisacáridos, las flagelinas, los mananos o los ácidos nucleicos de virus y bacterias. Este reconocimiento conlleva una rápida producción de citocinas, lo que proporciona una respuesta adaptativa y duradera contra el patógeno¹². Existen TLR que se expresan en la superficie celular (TLR 1, 2, 4, 5, 6 y 10) y TLR que se expresan intracelularmente (TLR 3, 7, 8 y 9). En general, los que se ex-

presan en la superficie celular juegan un papel importante en la respuesta inmune contra bacterias y los que se expresan intracelularmente reconocen los ácidos nucleicos de virus. Diversos estudios realizados con mucinas y activación de los TLR muestran una relación directa de la inmunidad innata y las infecciones respiratorias con la hipersecreción bronquial.

Es sabido que la hipersecreción mucosa bronquial conduce a un deterioro del *clearance* mucociliar y a una implantación bacteriana anormal, y que favorece los tapones de moco en las vías respiratorias¹³. Morinaga et al. y Kraft et al. relacionaron las infecciones con la hipersecreción bronquial, al demostrar una mayor producción de mucina (MUC5AC) en cultivos de células epiteliales de pacientes asmáticos estimuladas por *Chlamydia* y *M. pneumoniae*^{14,15}. Así mismo, demostraron que la producción de mucinas disminuía cuando se exponían las células epiteliales bronquiales a macrólidos¹⁵ y que el efecto (en el caso de la infección por *M. pneumoniae*) desaparecía cuando se añadía un inhibidor del TLR2 y del NF-KB¹⁶. Este hecho implica a los TLR2 como responsables de la respuesta inflamatoria inicial para las exacerbaciones por asma producidas por *M. pneumoniae* y relaciona a los TLR con las mucinas^{16,17}. En este mismo sentido, otro estudio demostró recientemente que específicamente la MUC1 juega un papel antiinflamatorio durante la infección bacteriana de la vía aérea, no solo debido a la supresión de la señal TLR5¹⁸, sino porque implica a otros TLR, como 2, 3, 4, 7 y 9¹⁸. Se sospecha que la MUC1, además de suprimir la activación del NF-KB (a nivel del TRAF6-TAK1 complex), puede estimular la señal TLR¹⁹.

Recientemente nuestro equipo²⁰ definió el fenotipo inflamatorio de los asmáticos hipersecretores, comparó el tipo de mucina presente en el esputo inducido (EI) de los pacientes con y sin hipersecreción bronquial de moco y determinó la expresión de los TLR 2 y 4 en el EI y en la sangre periférica de los asmáticos con y sin hipersecreción bronquial. Dentro de los resultados se observó que los asmáticos con hipersecreción bronquial crónica cursaban con una mayor gravedad y peores control y calidad de vida, así como con un fenotipo inflamatorio no alérgico. Dentro de los mecanismos que involucran estas diferencias no se observaron diferencias significativas entre las mucinas y la expresión de los TLR 2 y 4 entre los pacientes con y sin hipersecreción bronquial. Sin embargo, dentro de las limitaciones de este estudio hay que mencionar que solo se estudiaron dos tipos de TLR y que el método que se utilizó fue la citometría de flujo. Otros receptores no estudiados en este trabajo pueden estar involucrados en perpetuar una respuesta inflamatoria en estos pacientes.

Genética en la hipersecreción bronquial

No existe en la literatura una definición exacta de “asmático hipersecretor”. Se ha relacionado el concepto con la definición clínica de *bronquitis crónica*: presencia de tos productiva de más de tres meses de duración durante más de dos años consecutivos. Diversos estudios usan cuestionarios basados en este concepto para definir la hipersecreción de moco crónica²¹⁻²⁴

o cuantifican el esputo por escalas (nada, ocasional o frecuente) o tipo de expectoración²⁵. La mayoría de estos estudios asocian la hipersecreción crónica de moco con una mayor frecuencia de infecciones respiratorias, un declive de la función pulmonar y un aumento de las tasas de hospitalización y mortalidad en la población general. Esta variable se ha relacionado clásicamente con el tabaquismo o con la presencia de bronquiectasias. Sin embargo, en el caso del tabaco solo una minoría de fumadores desarrolla esta sintomatología. Una explicación plausible para este fenómeno es una constitución genética predisponente, por lo que este tema ha despertado el interés en buscar la interpretación de este aspecto desde un posible origen genético. El grupo de trabajo de Dijkstra et al.²⁶ realizó un estudio de asociación genómica amplia (GWA) de 2.704 sujetos con hipersecreción bronquial de moco y 7.624 sin ella, todos fumadores habituales o exfumadores (≥ 20 paquetes/año), y observó una fuerte asociación de esta hipersecreción bronquial con rs6577641 ($p = 4,25 \times 10^{-6}$, OR = 1,17), localizada en el intrón 9 del locus de proteína 1 de unión a la secuencia rico en AT (SATB1) en el cromosoma 3 en todos los estudios de cohortes realizados. Asimismo, el alelo de riesgo se asoció con una mayor expresión de ARNm de SATB1 ($4,3 \times 10^{-9}$) en el tejido pulmonar, y la presencia de hipersecreción bronquial de moco se asoció con una mayor expresión de ARNm de SATB1 en biopsias bronquiales de pacientes con EPOC.

Otro aspecto genético que fue planteado hacia los años noventa con la hipersecreción bronquial y el asma fue correlacionar el ser portador de mutaciones para la FQ con un aumento del riesgo de presentar asma y un mayor deterioro de la función pulmonar, en comparación con pacientes asmáticos no portadores de alguna mutación para la FQ^{27,28}. Esta relación “asma / portador de fibrosis quística” no era una novedad²⁷; durante varios años, los trabajos realizados entre 1998 y 2008 fueron debatidos, puesto que algunos estudios no encontraban una sobreexpresión de asma en los portadores de FQ con la mutación $\Delta F508$, aunque sí un mayor deterioro en la función pulmonar en los asmáticos portadores de FQ^{29,30}. Se describieron varias limitaciones posteriores para intentar justificar las discrepancias entre los resultados de estos estudios, entre las cuales destacaron el hecho de no realizar un diagnóstico correcto de asma en algunos de los estudios, utilizar bases de datos de registros en urgencias, realizar la detección de una única mutación en el gen CFTR y analizar poblaciones diferentes con una comparación no equitativa en cuanto al sexo y edad de los pacientes^{29,30}.

La FQ es la enfermedad hereditaria autosómica recesiva grave más frecuente en la raza blanca, con una incidencia estimada de 1/5.352 niños nacidos a término en España. Es una patología causada por mutaciones en el gen CFTR. Este gen está localizado en el brazo largo del cromosoma 7 y codifica para la proteína transmembrana CFTR, cuya función es actuar como canal del cloro en la superficie de las células epiteliales que se encuentran en una gran variedad de órganos. Esto conduce a que exista un amplio rango de manifestaciones clínicas de la FQ. Hasta la fecha se han descrito más de 1.900 variantes genéticas diferentes en el gen CFTR, siendo la mutación p.Phe508del (o $\Delta F508$, siguiendo la nomenclatura clásica) la más frecuente en la pobla-

ción caucásica. Para padecer de la enfermedad es necesario tener mutación en los dos alelos del gen CFTR; para ser portador se requiere tener solo un alelo afectado. Se estima que el 4-5% de la población general es portador de esta enfermedad. Hasta el momento, de las mencionadas 1.900 variantes genéticas del gen CFTR tan solo un máximo de veinte mutaciones tiene lugar con una frecuencia superior al 0,1% en todo el mundo. Por otra parte, el estudio rutinario que se realiza actualmente en la mayoría de los hospitales para el diagnóstico de la enfermedad incluye habitualmente el análisis de un máximo de cincuenta mutaciones mediante kits específicos o bien la secuenciación tradicional (método Sanger), que permite detectar cambios en las zonas analizadas del gen CFTR, pero que al ser un gen relativamente grande resulta ser un estudio costoso y muy laborioso. Estos métodos, a diferencia de los que actualmente se están implementando, como la secuenciación masiva o *next generation sequencing* (NGS), tienen como limitación que solo detectan algunas mutaciones y no estudian “el gen al completo”.

Un estudio realizado por nuestro equipo³¹, y actualmente en fase de redacción, determinó la presencia de variantes genéticas (mutaciones y/o polimorfismos) del gen CFTR en cien asmáticos, con o sin hipersecreción mucosa bronquial, a través de secuenciación masiva utilizando un equipo MiSeq de la plataforma Illumina, y caracterizó desde un punto de vista clínico, inflamatorio, funcional y genético el fenotipo de asma con hipersecreción mucosa bronquial. Dentro de sus resultados se obtuvo que: 1) El asma con hipersecreción bronquial cursa con mayor edad, mayor gravedad y peor control clínico. Asimismo, se caracteriza por tener un fenotipo inflamatorio no alérgico; 2) El asma con hipersecreción bronquial está asociada a un polimorfismo en el gen de la CFTR, específicamente al c.1680-870T>A. Estos hallazgos coinciden con Goodwin et al.³², que publicaron cuatro casos con asma e hipersecreción mucosa bronquial y que describían un fenotipo inflamatorio neutrofílico, con bronquiectasias, pansinusitis, infecciones respiratorias y la presencia de mutaciones y/o polimorfismos en el gen CFTR. Esta observación propone una interesante explicación: la superposición de asma y ser portador de alguna alteración genética en el gen de la FQ ocasionaría una combinación de asma y una forma atenuada de la FQ, que aportaría el componente de la hipersecreción mucosa bronquial. Sin embargo, lo cierto es que hasta la actualidad no quedan claros los mecanismos fisiopatológicos involucrados en el desarrollo de la hipersecreción bronquial, por lo que aún es motivo de investigación.

Existen otras condiciones asociadas para desarrollar hipersecreción bronquial, entre las cuales están la disquinesia ciliar primaria, la fibrosis quística (FQ), la fucosidosis (ausencia del gen para la alfa-L-fucosidasa en el cromosoma 1), la exposición a irritantes y al tabaco, bronquiectasias no debidas a FQ y la bronquitis plástica, entre otras. Estudios con tomografía computarizada han demostrado que la prevalencia de bronquiectasias en pa-

cientes con asma estable, excluida la aspergilosis broncopulmonar alérgica, varía desde un 3% hasta un 34% en función de la gravedad del asma³³. También se han postulado otros mecanismos que podrían influir en la presencia de BQ en el asma, como por ejemplo las microaspiraciones o el reflujo gastroesofágico.

En resumen, la hipersecreción bronquial comienza a ser motivo de estudio por las características clínicas y las consecuencias que presentan los pacientes que la padecen. Los mecanismos involucrados en desarrollar o no esta manifestación clínica siguen siendo tema de debate. Deben continuar realizándose estudios para conducir a una terapia más efectiva e individualizada.

.....

Bibliografía

1. Carroll N, Carello S, Cooke C, James A. Airway structure and inflammatory cells in fatal attacks of asthma. *Eur Respir J*. 1996;9:709–15.
2. Weatherall M, Travers J, Shirtcliffe PM, Marsh SE, Williams MV, Nowitz MR, et al. Distinct clinical phenotypes of airways disease defined by cluster analysis. *Eur Respir J*. 2009;34:812–8.
3. Martínez-Rivera C, Crespo A, Pinedo-Sierra C, García-Rivero JL, Pallarés-Sanmartín A, Marina-Malanda N, et al. Mucus hypersecretion in asthma is associated with rhinosinusitis, polyps and exacerbations. *Respir Med*. 2018;135:22–8.
4. De Marco R, Marcon A, Jarvis D, Accordini S, Almar E, Bugiani M, et al.; European Community Respiratory Health Survey Therapy Group. Prognostic factors of asthma severity: a 9-year international prospective cohort study. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117:1249–56.
5. Lange P, Parner J, Vestbo J, Schnohr P, Jensen G. A 15-year follow-up study of ventilatory function in adults with asthma. *N Engl J Med*. 1998;339:1194–200.
6. Tanizaki Y, Kitani H, Okazaki M, Mifune T, Mitsunobu F, Soda R, et al. [Clinical features of bronchial asthma with mucus hypersecretion]. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi*. 1993;31:575–9.
7. Siroux V, Basagaña X, Boudier A, Pin I, Garcia-Aymerich J, Vesin A, et al. Identifying adult asthma phenotypes using a clustering approach. *Eur Respir J*. 2011;38:310–7.
8. Rogers FD. Airway mucus hypersecretion in asthma: an undervalued pathology? *Curr Opin Pharmacol*. 2004;4:241–50.
9. Jinnai M, Niimi A, Ueda T, Matsuoka H, Takemura M, Yamaguchi M, et al. Induced Sputum Concentrations of Mucin in Patients with Asthma and Chronic Cough. *Chest*. 2010;137:1122–9.

10. Rogers FD. Physiology of airway mucus secretion and pathophysiology of hypersecretion. *Respir Care*. 2007;52:1134–49.
11. Voynow JA, Rubin BK. Mucins, mucus and sputum. *Chest*. 2009;135:505–12.
12. Crespo-Lessmann A, Juárez-Rubio C, Plaza-Moral V. Papel de los receptores toll-like en las enfermedades respiratorias. *Arch Bronconeumol*. 2010;46:135–42.
13. Wang K, Wen FQ, Xu D. Mucus hypersecretion in the airway. *Chin Med J (Engl)*. 2008;121:649–52.
14. Morinaga Y, Yanagihara K, Miyashita N, Seki M, Izumikawa K, Kakeya H, et al. Azithromycin, clarithromycin and telithromycin inhibit MUC5AC induction by *Chlamydomydia pneumoniae* in airway epithelial cells. *Pulm Pharmacol Ther*. 2009;22:580–6.
15. Kraft M, Adler KB, Ingram JL, Crews AL, Atkinson TP, Cairns CB, et al. *Mycoplasma pneumoniae* induces airway epithelial cell expression of MUC5AC in asthma. *Eur Respir J*. 2008;31:43–6.
16. Simpson JL, Grissell TV, Douwes J, Scott RJ, Boyle MJ, Gibson PG. Innate immune activation in neutrophilic asthma and bronchiectasis. *Thorax*. 2007;62:211–8.
17. Beckett EL, Phipps S, Starkey MR, Horvat JC, Beagley KW, Foster PS, et al. TLR2, but not TLR4, is required for effective host defence against *Chlamydia* respiratory tract infection in early life. *PLoS One*. 2012;6:e39460.
18. Kato K, Lu W, Kai H, Kim KC. Phosphoinositide 3-kinase is activated by MUC1 but not responsible for MUC1-induced suppression of toll-like receptor 5 signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2007;293:L686–92.
19. Ueno K, Koga T, Kato K, Golenbock D, Gendler S, Kai H. MUC1 mucin is a negative regulator of toll-like receptor signaling. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2008;38:263–8.
20. Crespo-Lessmann A, Mateus E, Torrejón M, Belda A, Giner J, Vidal S, et al. Asthma with bronchial hypersecretion: expression of mucins and toll-like receptors in sputum and blood. *J Asthma Allergy*. 2017;10:269–76.
21. Hofman A, Van Duijn CM, Franco OH, Ikram MA, Janssen HL, Klaver CC, et al. The Rotterdam Study: 2012 objectives and design update. *Eur J Epidemiol*. 2011;26:657–86.
22. Vestbo J, Anderson W, Coxson HO, Crim C, Dawber F, Edwards L, et al.; ECLIPSE investigators. Evaluation of COPD longitudinally to identify predictive surrogate end-points (ECLIPSE). *Eur Respir J*. 2008;31:869–73.
23. Cho MH, Castaldi PJ, Wan ES, Siedlinski M, Hersh CP, Demeo DL, et al.; ICGN Investigators; ECLIPSE Investigators; COPDGene Investigators. A genome-wide association study of COPD identifies a susceptibility locus on chromosome 19q13. *Hum Mol Genet*. 2012;21:947–57.
24. Grydeland TB, Dirksen A, Coxson HO, Pillai SG, Sharma S, Eide GE, et al. Quantitative computed tomography: Emphysema and airway wall thickness by sex, age and smoking. *Eur Respir J*. 2009;34:858–65.
25. Doherty MJ, Mister R, Pearson MG, Calverley PM. Capsaicin responsiveness and cough in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2000;55:643–9.
26. Dijkstra AE, Smolonska J, Van den Berge M, Wijmenga C, Zanen P, Luinge MA, et al.; LifeLines Cohort study. Susceptibility to Chronic Mucus Hypersecretion, a Genome Wide Association Study. *PLoS One*. 2014;9:e91621.
27. Dahl M, Tybjaerg-Hansen A, Lange P, Nordestgaard BG. DF508 heterozygosity in cystic fibrosis and susceptibility to asthma. *Lancet*. 1998;351:1911–3.
28. Dahl M, Nordestgaard BG, Lange P, Tybjaerg-Hansen A. Fifteen-year follow-up of pulmonary function in individuals heterozygous for the cystic fibrosis phenylalanine-508 deletion. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107:818–23.
29. De Cid R, Chomel JC, Lázaro C, Sunyer J, Baudis M, Casals T, et al.; French EGEA study. CFTR and asthma in the French EGEA study. *Eur J Hum Genet*. 2001;9:67–9.
30. Douros K, Loukou I, Doudounakis S, Tzetis M, Priftis KN, Kanavakis E. Asthma and Pulmonary Function Abnormalities in Heterozygotes for Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator Gene Mutations. *Int J Clin Exp Med*. 2008;1:345–9.
31. Crespo A, Bernal S, Del Río E, Baiget M, Martínez C, Marina Malanda N, et al. Asma e hipersecreción mucosa bronquial asociada al gen de la fibrosis quística. Caracterización clínica, inflamatoria y genética. Póster. Congreso SEPAR. Madrid, 2-7 de junio del 2017.
32. Goodwin J, Spitale N, Yaghi A, Dolovich M, Nair P. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene abnormalities in patients with asthma and recurrent neutrophilic bronchitis. *Can Respir J*. 2012;19:46–8.
33. Machado D, Pereira C, Teixeira L, Canelas A, Tavares B, Loureiro G, et al. Thoracic high resolution computed tomography (HRCT) in asthma. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2009;41:139–45.