


**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca>

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=es>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



**TESI DOCTORAL**

**TOS CRÒNICA I CANVAS**  
**(Cerebellar Ataxia with Neuropathy and**  
**Vestibular Areflexia Syndrome)**

**Doctoranda:**  
**Esther Palones Femenia**

**Director:**  
**Astrid Crespo Lessmann**

**Tutor:**  
**Vicente Plaza Moral**

**Programa de Doctorat en Medicina**  
**Departament de Medicina**  
**Universitat Autònoma de Barcelona**  
**Barcelona, 2024**



*A la meva família*

“The good physician treats the disease;  
the great physician treats the patient who has the disease”

*William Osler*



---

# AGRAÏMENTS

---

Voldria agrair a la meua directora de tesi i amiga, la Dra. Astrid Crespo, la seua ajuda i consells en la realització d'aquesta tesi doctoral. Al meu tutor, el Dr. Vicente Plaza, per la seua guia. A tot l'equip de pneumologia i al·lèrgia, gràcies per ser sempre tan propers i bons companys. Als meus amics de residència, Albert, Ana, Inés i Paula, pels moments compartits i el suport mutu en els dies més intensos. A Elena, per estar sempre disposada a ajudar amb un somriure. Als serveis de genètica, neurologia i digestiu, especialment a Dra. Pía Gallano, Dra. Lidia González, Alba Segarra, María José Rodríguez, Dr. Luis Querol i Dr. Federico Bertolletti, per la seua col·laboració i valuosa contribució a aquest projecte. Als pacients que han participat desinteressadament en els estudis.

Gràcies als meus pares, pel seu amor i suport incondicional en totes les etapes de la meua vida. Al meu germà, Kevin, per ser el meu company d'aventures i assessor informàtic personal. Al meu marit, Marc, gràcies per la teua paciència infinita, la teua comprensió constant i per creure amb mi inclús quan jo mateixa dubtava. A la meua família política, Albert, Eva, Eli, Xavier i Emma, per acollir-me des del primer dia. A les meues amigues de la Universitat de València, en especial a Rosa i Luna, la carrera i l'Erasmus no haguessin sigut tan divertits sense vosaltres.

Finalment, voldria agrair a totes les persones que d'una manera o altra han contribuït a que aquest somni es faci realitat. Aquest assoliment és el resultat d'un esforç col·lectiu i estic profundament agraïda per això.



---

# ABREVIATURES

---

(AAGGG)exp	Expansió del motiu repetitiu AAGGG
ACCP	<i>American College of Chest Physicians</i>
AOS	Apnea obstructiva de la son
ATP	Trifosfat d'adenosina
CANVAS	<i>Cerebellar Ataxia Neuropathy and Vestibular Areflexia Syndrome</i>
CE	Conformitat Europea
CSD	<i>Cough severity diary</i>
DE	Desviació estàndard
DEQ	<i>Discrete emotions questionnaire</i>
DTA	Dosis total acumulada
ERS	<i>European Respiratory Society</i>
EQ-5D-5L	<i>European Quality of Life –5 Dimensions –5 Levels</i>
EVA	Escala visual analògica
FDA	Administració d'aliments i fàrmacs
FEM	Flux expiratori màxim
FENO	Òxid nítric exhalat
FEV1	Volum expiratori forçat en el primer segon
FVC	Capacitat vital forçada
HBP	Hiperesposta bronquial
HACC	<i>The Hull Automatic Cough Counter</i>
IA	Intel·ligència artificial
IBP	Inhibidor de la bomba de protons
IECA	Inhibidor de l'enzim convertiu de l'angiotensina
LCM	<i>Leicester Cough Monitor</i>
LCQ	<i>Leicester Cough Questionnaire</i>
MPOC	Malaltia pulmonar obstructiva crònica
NaV	Canals de sodi dependents de potencial
OLI	Obstrucció laríngia inferior



PBD	Prova broncodilatadora
P2X	Receptors purinèrgics
RGE	Reflux gastro-esofàgic
<i>RFC1</i>	Subunitat 1 del complex factor de replicació
TAC	Tomografia axial computeritzada
TC	Tos crònica
TCI	Tos crònica inexplicada
TCR	Tos crònica refractària
TRP	Receptors de potencial transitori
TRPA1	Receptors de potencial transitori anquirina 1
TRPV1	Receptor de potencial transitori vanilloide 1

---

# ÍNDIX DE FIGURES I TAULES

---

<b>Figura 1:</b> Mapa que mostra la prevalença agrupada de tos crònica per país.....	23
<b>Figura 2:</b> Interaccions d'estímuls perifèrics del reflex de la tos.....	25
<b>Figura 3:</b> Vies neurals perifèriques (a) i centrals (b) en la tos crònica refractària i síndrome de hipersensibilitat de la tos.....	27
<b>Figura 4:</b> Escala visual analògica (EVA) representativa de 100mm per mesurar la gravetat de la tos.....	30
<b>Figura 5:</b> imatge del monitor <i>HACC</i> . .....	33
<b>Figura 6:</b> imatge del <i>Leicester Cough Monitor</i> . .....	33
<b>Figura 7:</b> imatges del monitor de tos VitaloJAK i de la seva col·locació.....	34
<b>Figura 8:</b> Característiques clíniques dels pacients amb CANVAS. ....	35
<b>Taula 1:</b> Resultats de l'estudi genètic de mutacions en <i>RFC1</i> . .....	73
<b>Taula 2:</b> Característiques clínic-funcionals i característiques de la tos en els pacients amb TC en funció de la presència o no de (AAGGG)exp en <i>RFC1</i> , tant bial·lèlica com monoal·lèlica. ....	74
<b>Taula 3:</b> Resultats de les proves complementàries realitzades per l'estudi etiològic de la tos. ....	76



---

# ÍNDIX DE CONTINGUT

---

<b>RESUM</b>	13
<b>ABSTRACT</b>	17
<b>1. INTRODUCCIÓ</b>	21
1.1 TOS CRÒNICA	23
1.1.1 DEFINICIÓ I EPIDEMIOLOGIA	23
1.1.2 CLASSIFICIACIÓ I SIGNES D'ALARMA	24
1.1.3 MECANISME	25
1.1.4 CAUSES, DIAGNÒSTICS I TRACTAMENTS	27
1.1.5 AVALUACIÓ	30
1.2 CANVAS	35
1.2.1 DEFINICIÓ I CLÍNICA	35
1.2.3 HERÈNCIA	36
<b>2. HIPÒTESIS I JUSTIFICACIÓ</b>	39
2.1 HIPÒTESIS	41
2.2 JUSTIFICACIÓ	41
<b>4. OBJECTIUS</b>	43
3.1 OBJECTIU PRINCIPAL	45
3.2 OBJECTIUS SECUNDARIS	45
<b>5. COMPENDI DE PUBLICACIONS</b>	47
4.1 ARTICLE 1	49
4.2 ARTICLE 2	59
<b>5. RESUM GLOBAL DELS RESULTATS</b>	71
5.1 RESUM DELS RESULTATS DE L'ESTUDI 1	73
5.2 RESUM DELS RESULTATS ESTUDI 2	75

<b>6. RESUM GLOBAL DE LA DISCUSSIÓ</b>	<b>77</b>
6.1 RESUM DE LA DISCUSSIÓ DE L'ESTUDI 1	78
6.2 RESUM DE LA DISCUSSIÓ DE L'ESTUDI 2	80
6.3 LIMITACIONS	81
<b>7. CONCLUSIONS</b>	<b>83</b>
<b>8. LÍNIES DE FUTUR</b>	<b>87</b>
<b>9. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>91</b>
<b>10. ANNEXES</b>	<b>105</b>
10.1 COMUNICACIÓ ORAL	107
10.2 TREBALL DE DIVULGACIÓ	111
10.3 TREBALLS RELACIONATS	112
10.4 FINANCIACIÓ	113

---

# RESUM

---

La tos és un mecanisme de defensa que actua com reflex protector per prevenir l'aspiració i millorar la neteja de les vies aèries. No obstant, la tos excessiva i perllongada en el temps pot comportar efectes perjudicials als pacients, tant a nivell físic com psico-social, i es converteix en un motiu de consulta freqüent en pneumologia. La tos pot ser classificada en funció de la seva duració en tos aguda (3 setmanes), subaguda (3-8 setmanes) o crònica (>8 setmanes). La tos crònica (TC) també pot ser classificada en termes clínics com tos crònica inexplicada (TCI) quan no es troba la causa a pesar del seu estudi exhaustiu, tos crònica refractària (TCR) quan persisteix a pesar del seu tractament òptim o síndrome de hipersensibilitat tussígena que és una tos irritativa produïda per estímuls que habitualment no la produeixen (alotusia) o davant nivells baixos d'estímuls tèrmics, químics o mecànics (hipertusia).

El mecanisme d'aparició de la tos és complex, està format per un circuit central i un altre perifèric (nervis aferents i eferents). Diferents regions del còrtex cerebral formen part del circuit central, com les àrees corticals sensorials. Els nervis sensitius aferents del nervi vague formen part del circuit perifèric, diferenciant-se dos subtipus: 1) Fibres C, responsables d'activar i inhibir el reflex de la tos, habitualment, per estímuls irritants d'origen inflamatori; 2) Fibres A $\delta$ , responsables en la seva majoria d'activar el reflex de la tos per estímuls mecànics i àcids.

Entre les causes més freqüents de TC es troba el asma, les afeccions de la via aèria superior, el reflux gastro-esofàgic (RGE) i la iatrogènica (especialment els inhibidors de l'enzim conversiu d'angiotensina). Però a pesar d'un estudi exhaustiu i sistemàtic per especialistes, en un 40% dels casos no es troba la seua causa (TCI). Probablement alguns dels casos classificats com TCI podrien ser deguts a causes no conegudes fins ara o poc freqüents, com és el cas d'algunes malalties neurològiques ja descrites com el síndrome de Holmes-Adie i la neuropatia sensorial tipus 1B. Recentment també s'està postulant el *cerebellar ataxia with neuropathy and vestibular areflexia syndrome* (CANVAS) com una possible causa de TC.

El CANVAS és un procés neurodegeneratiu de curs lentament progressiu caracteritzat per atàxia cerebel·losa tardana, neuropatia sensitiva i areflèxia vestibular bilateral. Es tracta d'una malaltia rara, amb una prevalença estimada 1 : 20 000, i té una herència autosòmica recessiva deguda, generalment, a l'expansió bial·lèlica del motiu repetitiu AAGGG [(AAGGG)exp] en el intró 2 de la subunitat 1 del factor C de replicació (*RFC1*). Estudis recents descriuen que la TC podria ser un símptoma precoç del CANVAS apareixent diversos anys, o inclús dècades, abans de l'inici de qualsevol dels símptomes neurològics descrits prèviament.

L'objectiu principal d'aquesta tesi va ser conèixer la prevalença de (AAGGG)exp en *RFC1* en pacients amb TC que es trobessin en estudi per una unitat especialitzada, incloent tant pacients amb TCI, TCR i aquells amb TC resolta després d'un estudi i tractament dirigits. A més, es va valorar la utilitat del diapasó Rydel-Seiffer com a possible eina de cribratge per la detecció precoç d'alteracions en la sensibilitat vibratòria perifèrica. Aquests dos objectius van ser analitzats en un primer estudi descriptiu transversal on s'inclogueren pacients que es trobaven en estudi de TC en la nostra unitat especialitzada, sense símptomes neurològics sospitosos de CANVAS. En ells es van seguir les recomanacions de la *European Respiratory Society* (ERS) per l'estudi etiològic de la TC, es va realitzar l'estudi genètic per CANVAS mitjançant una mostra de sang perifèrica, es va realitzar el test del diapasó Rydel-Seiffer en la primera articulació metatarso-falàngica i es van realitzar quatre qüestionaris de qualitat de vida relacionada amb la tos (escala visual analògica, *cough severity diary*, *Leicester cough questionnaire*, *discrete emotions questionnaire*, *European quality of life-5 dimensions- 5 levels*). El segon estudi es va realitzar per conèixer les característiques clínic-funcionals, possibles causes i l'impacte en la qualitat de vida en relació a la TC en pacients amb CANVAS. Aquest va ser un estudi transversal descriptiu realitzat en pacients amb CANVAS confirmat genèticament que havien sigut derivats a la nostra consulta especialitzada per estudiar la TC.

Els resultats obtinguts van ser:

- **Estudi 1:** la prevalença bial·lèlica (AAGGG)exp en *RFC1* en els pacients amb TC estudiats va ser major a la esperada en la població general, sent de 2 : 33 enlloc de 1 : 20 000. El 22.2% dels pacients inclosos mostraren un resultat alterat en el test del diapasó Rydel-Seiffer, sent el 33.3% d'aquests pacients els que tingueren un resultat diagnòstic de CANVAS precoç en el test genètic.
- **Estudi 2:** la TC va ser de tipus no productiva en tots els pacients inclosos i va tenir un inici mig de 14.2 anys ( $\pm 7.9$ ) abans que del primer símptoma neurològic compatible amb CANVAS. Entre les causes de TC van destacar les alteracions en la motilitat esofàgica i la presència de RGE patològic. El qüestionaris mostraren un empitjorament de la seva qualitat de vida, especialment en l'esfera psico-social.

Les conclusions més rellevants son que l'estudi genètic (AAGGG)exp en *RFC1* deuria plantejar-se en les consultes especialitzades de TC, especialment en aquells pacients que presenten un resultat alterat en el test del diapasó Rydel-Seiffer. Aquesta sembla una bona eina de cribratge per identificar a quin subgrup de pacients amb TC hi ha més risc de presentar la mutació bial·lèlica (AAGGG)exp en *RFC1* i, per tant, de realitzar el diagnòstic de CANVAS. El diagnòstic precoç d'una malaltia rara, neurodegenerativa i hereditària és important per evitar múltiples visites i proves mèdiques innecessàries per a l'estudi de la TC associada a aquests pacients, a més de permetre l'assessorament genètic als pacients i als seus familiars.





---

# ABSTRACT

---

Cough is a defense mechanism that acts as a protective reflex to prevent aspiration and improve the cleaning of the airways. However, excessive and prolonged coughing can have detrimental effects on patients, both physically and psycho-socially, and it becomes a frequent reason for consultation in pneumology. Cough can be classified based on its duration into acute cough (3 weeks), subacute cough (3-8 weeks), or chronic cough (>8 weeks). Chronic cough (CC) can also be clinically classified as unexplained chronic cough (UCC) when the cause is not found despite exhaustive study, refractory chronic cough (RCC) when it persists despite optimal treatment, or cough hypersensitivity syndrome, which is an irritative cough caused by stimuli that usually do not produce it (allotusia) or in response to low levels of thermal, chemical, or mechanical stimuli (hypertusia).

The mechanism of cough onset is complex, consisting of a central circuit and a peripheral one (afferent and efferent nerves). Different regions of the cerebral cortex are part of the central circuit, such as sensory cortical areas. The sensory afferent nerves of the vagus nerve are part of the peripheral circuit, with two subtypes: 1) C fibers, responsible for activating and inhibiting the cough reflex, usually due to irritant stimuli of inflammatory origin; 2) A $\delta$  fibers, primarily responsible for activating the cough reflex to mechanical and acidic stimuli.

Among the most common causes of CC are asthma, upper airway conditions, gastroesophageal reflux disease (GERD), and iatrogenic (especially angiotensin-converting enzyme inhibitors). However, despite an exhaustive and systematic study by specialists, in 40% of cases, the cause is not found (UCC). Some cases classified as UCC could potentially be due to previously unknown or rare causes, such as certain neurological diseases like Holmes-Adie syndrome and type 1B sensory neuropathy. Recently, cerebellar ataxia with neuropathy and vestibular areflexia syndrome (CANVAS) is also being postulated as a possible cause of CC.

CANVAS is a neurodegenerative process with a slowly progressive course characterized by late-onset cerebellar ataxia, sensory neuropathy, and bilateral vestibular areflexia. It is a rare disease with an estimated prevalence of 1 : 20 000 and has an autosomal recessive inheritance generally due to biallelic expansion of the AAGGG repeat motif [(AAGGG)*exp*] in intron 2 of the replication factor C subunit 1 (*RFC1*). Recent studies describe that CC could be an early symptom of CANVAS, appearing several years or even decades before the onset of any previously described neurological symptoms.

The main objective of this thesis was to determine the prevalence of (AAGGG)*exp* in *RFC1* in patients with CC who were being studied by a specialized unit, including patients with UCC, RCC, and those with resolved CC after a targeted study and treatment. Additionally, the utility of the Rydel-Seiffer tuning fork as a potential screening tool for the early detection of peripheral vibratory sensitivity alterations was evaluated. These two objectives were analyzed in an initial cross-sectional descriptive study that included patients being studied for CC in our specialized unit, without neurological symptoms suspicious of CANVAS. In these patients, the recommendations of the European Respiratory Society (ERS) for the etiological study of CC were followed, genetic testing for CANVAS was performed using a peripheral blood sample, the Rydel-Seiffer tuning fork test was conducted on the first metatarsophalangeal joint, and four quality of life questionnaires related to cough were administered (visual analog scale, cough severity diary, Leicester cough questionnaire, discrete emotions questionnaire, European quality of life-5 dimensions-5 levels). The second study was conducted to determine the clinical-functional characteristics, possible causes, and quality of life impact related to CC in patients with CANVAS. This was a cross-sectional descriptive study performed on genetically confirmed CANVAS patients who had been referred to our specialized consultation to study CC.

The results obtained were:

- **Study 1:** The biallelic prevalence of (AAGGG)<sub>exp</sub> in *RFC1* in the studied CC patients was higher than expected in the general population, being 2 : 33 instead of 1 : 20.000. 22.2% of the included patients showed an altered result in the Rydel-Seiffer tuning fork test, with 33.3% of these patients having an early diagnostic result of CANVAS in the genetic test.
- **Study 2:** The CC was non-productive in all included patients and had an average onset of 14.2 years ( $\pm 7.9$ ) before the first neurological symptom compatible with CANVAS. Among the causes of CC, esophageal motility alterations and the presence of pathological GERD stood out. The questionnaires showed a deterioration in their quality of life, especially in the psycho-social sphere.

The most relevant conclusions are that the genetic study of (AAGGG)<sub>exp</sub> in *RFC1* should be considered in specialized CC consultations, especially in those patients who present an altered result in the Rydel-Seiffer tuning fork test. This seems to be a good screening tool to identify which subgroup of CC patients is at higher risk of presenting the biallelic (AAGGG)<sub>exp</sub> mutation in *RFC1* and, therefore, of diagnosing CANVAS. Early diagnosis of a rare, neurodegenerative, and hereditary disease is important to avoid multiple unnecessary medical visits and tests for the study of CC associated with these patients, as well as to allow genetic counseling for the patients and their families.



---

# 1. INTRODUCCIÓ

---



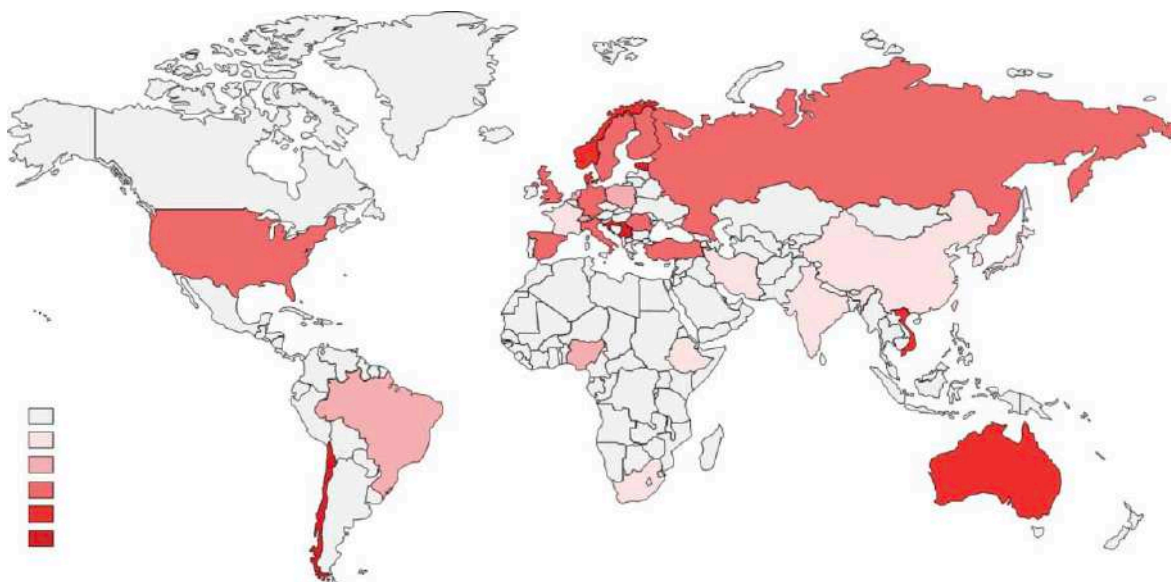
## 1.1 TOS CRÒNICA

---

### 1.1.1 DEFINICIÓ I EPIDEMIOLOGIA

La tos és un moviment convulsiu i motor de l'aparell respiratori<sup>1</sup>. Habitualment es tracta d'un mecanisme de defensa de l'organisme<sup>2</sup>, actua com un reflex protector evitant aspiracions i afavorint la eliminació de secrecions mucoses de les vies respiratòries. No obstant, la tos excessiva i perllongada en el temps pot perdre la seva funcionalitat i tenir efectes perjudicials tant a nivell físic (com síncope o fractures costals) com psico-social (com evitar anar al cinema o al teatre).

La tos crònica (TC) es aquella que té una duració >8 setmanes no relacionada en un procés agut (3 setmanes) ni subagut (3-8 setmanes)<sup>3</sup>, afecta al 3-12% de la població general<sup>4-6</sup> (figura 1) i suposa al voltant d'un 10% del motiu de consulta a pneumologia<sup>6</sup>. És més freqüent en fumadors<sup>7</sup>, persones exposades a contaminació ambiental<sup>7</sup> i en Europa i Amèrica que en Àfrica o en Àsia<sup>6</sup>.



**Figura 1:** Mapa que mostra la prevalença agrupada de tos crònica per país<sup>6</sup>.



### 1.1.2 CLASSIFICACIÓ I SIGNES D'ALARMA

La TC pot ser classificada en termes clínics com:

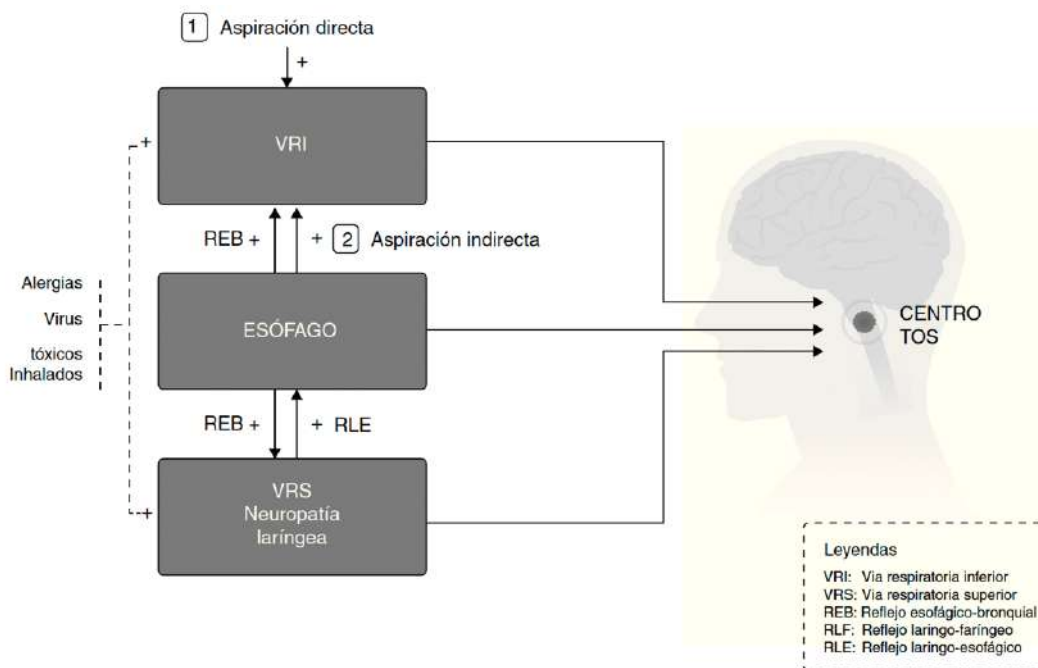
- **Tos crònica inexplicada (TCI):** després de realitzar un estudi protocol·litzat i exhaustiu, no es troba la causa de la TC<sup>8,9</sup>.
- **Tos crònica refractària (TCR):** a pesar del tractament òptim d'una possible causa subjacent, la TC persisteix<sup>9</sup>.
- **Síndrome de hipersensibilitat tussígena<sup>9,10</sup>:** síndrome clínic on la tos es desencadena per estímuls que habitualment no la produeixen, com nivells baixos d'exposició tèrmica, mecànica o química<sup>11</sup>. Aquest nou concepte manifesta els avenços que s'estan realitzant en la comprensió de la TC per la inflamació (neuroinflamació) de les vies neurals (en les vies respiratòries i el cervell) que condueix a un estat de sensibilització<sup>12</sup>.

La classificació de TC idiopàtica actualment està desaconsellada, es recomana utilitzar el terme TCI per emfatitzar la necessitat d'un estudi exhaustiu i complet de les possibles causes<sup>9</sup>. Durant la classificació de la TC es necessari valorar la presència de signes d'alarma que puguin suggerir una causa subjacent potencialment mortal com<sup>7,13</sup>:

- Hemoptisi.
- Fumador >15 anys amb tos d'inici recent, canvis en la tos o canvis coexistents en al veu i/o ronquera.
- Adults de 55-80 anys que tinguin una dosi total acumulada (DTA) de 30 paquets-any i fumadors actius o que ho hagin abandonat en els últims 15 anys.
- Dispnea important, sobretot si està present en repòs o durant la nit.
- Producció important d'esput o pneumònies recurrents.
- Síntomes sistèmics com febre, pèrdua de pes i edemes perifèrics amb augment de pes.
- Malaltia per reflux gastro-esofàgic (RGE) amb pèrdua de pes, anèmia, hematèmesi, disfàgia o nul·la resposta al tractament dirigit.
- Disfàgia de sòlids i/o líquids, vòmits.
- Exploració física respiratòria i/o radiografia de tòrax anormal.

### 1.1.3 MECANISME

El mecanisme de la tos és complex, està format per un circuit central i un altre perifèric amb nervis aferents (sensitius) i eferents (motors). A més, des del seu inici intervenen estímuls que poden interactuar entre ells (figura 2)<sup>7</sup>.



**Figura 2:** Interaccions d'estímuls perifèrics del reflex de la tos<sup>7</sup>.

La part aferent del circuit perifèric està formada pel nervi vague i té receptors de la tos en el timpà, canal auditiu, laringe, àrea supralaríngia, tràquea, bronquis, esòfag, pleura, pericardi i diafragma. El circuit central està format per diferents regions de l'escorça cerebral com la circumvolució del cíngol, insular i orbitofrontal, a més de les àrees corticals sensorials<sup>14</sup>. El circuit perifèric eferent està format pels nervis vague, motor espinal i frènic que innerven la laringe, tràquea, bronquis, músculs respiratoris i diafragma.

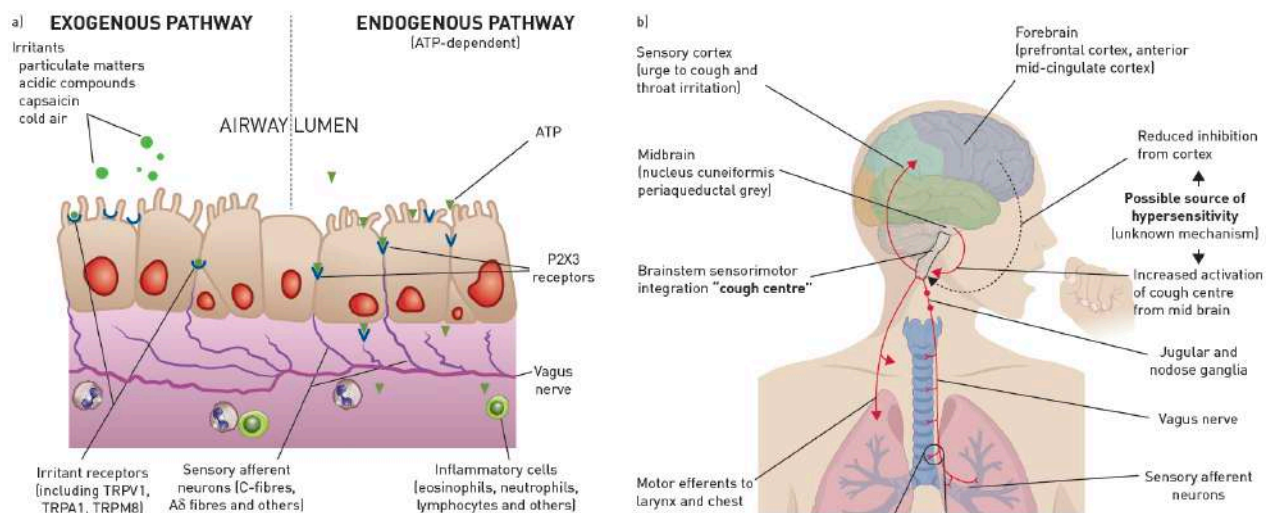
El nervi vague té els cossos cel·lulars en dos ganglis vagals anatòmicament i embriològicament diferents, els ganglis jugular (superiors) i els ganglis nodosos (inferiors), ambdós contenen poblacions heterogènies de neurones sensorials que controlen una ampla gamma de modalitats sensorials, fisiològiques i nocives<sup>15</sup>. Està compost per dos subtipus de fibres:

- **Fibres C:** no mielinitzades (de conducció lenta), tenen el cos cel·lular en el gangli jugular, son responsables d'activar i d'inhibir el reflex de la tos. En la seva majoria son activades per estímuls irritants d'origen inflamatori<sup>16</sup>. Son fibres quimiorreceptores (nociceptores) insensibles a l'estirament pulmonar i, per tant, generalment quiescents en el sistema respiratori sa però que s'activen en resposta a la irritació o inflamació dels teixits<sup>15</sup>. S'activen de forma selectiva amb la capsaïcina, la bradicinina i activadors de receptors de potencial transitori anquirina 1 (TRPA1)<sup>16</sup>.
- **Fibres Aδ:** mielinitzades (de conducció ràpida), tenen el cos cel·lular en el gangli nodós i son responsables en la seva majoria d'activar el reflex de la tos per estímuls mecànics i àcids<sup>17</sup>. Son fibres mecanoreceptores de llindar baix.

Les terminacions nervioses de les fibres C i Aδ probablement resideixin en la via respiratòria (laringe, tràquea i bronquis), encara que no es pot descartar el parènquima pulmonar<sup>14</sup>. Alguns estímuls nocius, com el líquid gàstric i el fum, son detectats a través de receptors i canals iònics localitzats en les terminacions nervioses aferents vagals de les vies respiratòries<sup>18</sup>. Aquests estímuls formen part de la via d'activació exògena, son majoritàriament estímuls físics i químics originats fora del pulmó. També hi ha una via d'activació endògena on intervé el trifosfat d'adenosina (ATP), el qual prové del mateix pulmó al ser alliberat per cèl·lules epitelials de la via respiratòria. Entre els receptors involucrats d'aquestes vies d'activació de la tos destaquen:

- **Canals de sodi dependents de potencial (NaV):** indispensables per l'excitabilitat neuronal i la conducció dels potencials d'acció<sup>19</sup>. Es diferencien 9 subtipus, sent NaV1.7, NaV1.8 i NaV1.9 expressats quasi exclusivament en les fibres C i A de les neurones sensorials<sup>20,21</sup>.
- **Receptors de potencial transitori (TRP):** importants per a la regulació sensorial en l'excitabilitat nerviosa<sup>19</sup>. En biòpsies bronquials de pacients amb TC s'ha objectivat una expressió elevada del receptor de potencial transitori vanilloide 1 (TRPV1), suggerint una possible relació<sup>22,23</sup>.
- **Receptors purinèrgics (P2X):** intervenen en la modulació per ATP de les vies sensorials i participen en la desregulació que connecta el camp receptor amb el sistema nerviós central<sup>24</sup>. El subtipus P2X3 està present en les vies respiratòries de les terminals nervioses sensibles i a través d'ells l'ATP impulsa la TCR<sup>25</sup>.

En el mecanisme d'aparició de la TCR sembla que hi ha una interacció entre les vies responsables de la tos. Hi ha una major activació de les neurones aferents de la via exògena (on intervenen TRPV1 i TRPA1, entre altres) i endògena (on intervenen els receptors P2X) i, a més, de la hipersensibilitat tusígena<sup>25</sup>. La causa d'aquesta hipersensibilitat podria implicar processos perifèrics i/o centrals que redueixin el llindar d'activació del reflex de la tos en resposta a estímuls aferents (figura 3)<sup>25</sup>.



**Figura 3:** Vies neurals perifèriques (a) i centrals (b) en la tos crònica refractària i síndrome de hipersensibilitat de la tos<sup>25</sup>.

### 1.1.4 CAUSES, DIAGNÒSTICS I TRACTAMENTS

Entre les causes específiques més freqüents associades a la TC es troben l'asma, la bronquitis eosinofílica, el RGE, les afeccions de la via aèria superior i la iatrogènica.

Es recomana realitzar un estudi sistemàtic i protocol·litzat de la TC, per exemple seguint les recomanacions de la *European Respiratory Society* (ERS)<sup>18</sup>. En primer lloc, sempre s'ha de realitzar una anamnesi, exploració física i investigació de la TC per detectar signes d'alarma, com l'hemoptisi o canvis en la tos / veu. També és important descartar la presència d'un cos estrany o la presa de medicaments causants de tos com l'inhibidor de l'enzim conversiu de l'angiotensina (IECA). Com a part de l'avaluació inicial es recomana tenir una espirometria y una radiografia de tòrax<sup>18</sup>. Posteriorment s'han de realitzar les proves complementàries en funció de la sospita de la causa específica de tos, com es detalla a continuació.

## Asma i bronquitis eosinofílica

Es diferencien tres subgrups de tos asmàtica:

- **Asma clàssica:** és una malaltia inflamatòria crònica de les vies respiratòries que cursa amb una hiperresposta bronquial (HRB) i una obstrucció variable al flux aeri. Es diagnostica per tenir, a més d'una clínica compatible (tos, dispnea, sibilants...), una prova de funció pulmonar compatible com una espirometria amb prova broncodilatadora (PBD) positiva, una prova de broncoconstricció positiva, una variabilitat diària del flux expiratori màxim (FEM) i/o un òxid nítric exhalat (FENO) elevat.
- **Tos com equivalent asmàtic:** caracteritzat per tenir com a únic símptoma la tos. A més, presenta HRB però no s'objectiva una variabilitat diària del FEM.
- **Bronquitis eosinofílica:** presenta clínica de TC associada a inflamació bronquial eosinofílica detectada, per exemple, en un esput induït o una broncoscòpia. Les proves de funció pulmonar no mostren HRB ni variabilitat diària del FEM. L'absència d'aquests dos trets necessaris en el diagnòstic de l'asma ha suggerit classificar la bronquitis eosinofílica com una patologia independent, però en la TC es recomana mantenir-la en l'espectre asmàtic donat la seva bona resposta a la teràpia antiinflamatòria de l'asma<sup>18</sup>.

El tractament en totes elles es centra en la teràpia antiinflamatòria, com glucocorticoides sistèmics o inhalats, i/o antileucotriens. Els antileucotriens semblen més efectius en els casos de tos com equivalent asmàtic<sup>26</sup>.

## Reflux gastro-esofàgic

La malaltia per RGE ha sigut associada a una gran variabilitat de manifestacions extra esofàgiques, sent la TC una d'elles<sup>27,28</sup>. La seva prevalença estimada és controvertida ja que varia del 0% a quasi el 100% en diferents estudis<sup>18</sup>.

Una vegada hi ha la sospita clínica de RGE (com cremor retroesternal, regurgitació i TC, especialment si és de predomini nocturn) s'utilitza, habitualment, la pHmetria esofàgica de 24h per verificar el seu diagnòstic. També es pot utilitzar la manometria esofàgica per objectivar alteracions en la motilitat esofàgica, com la motilitat esofàgica ineficaç.

En el tractament es recomanen mesures higièniques dietètiques, inhibidors de la bomba de protons (IBP) (com omeprazole), inhibidor dels receptors H<sub>2</sub> de la histamina (com famotidina), procinètics (com domperidona) i, en determinats casos, la cirurgia antireflux. Diverses revisions sistemàtiques no han mostrat evidència suficient per utilitzar els IBP en pacients amb TC associada a RGE, però sí sembla haver una bona resposta en els pacients que hi ha una relació temporal entre el RGE i la tos i en aquells on s'ha objectivat RGE patològic<sup>28</sup>.

### **Afeccions de la via aèria superior**

El síndrome de degoteig postnasal ha sigut substituït pel terme síndrome de la via aèria superior. Aquest canvi va ser proposat per la *American College of Chest Physicians* (ACCP) en el 2006 per emfatitzar que no està clar el seu mecanisme d'aparició<sup>3</sup>, sembla que podria ser per irritació directa o indirecta per inflamació dels receptors de la tos de la via aèria superior<sup>3,18</sup>. El tractament recomanat són els antihistamínics i els descongestionants.

Altres afeccions de la via aèria superior serien la obstrucció laríngea induïble (OLI) i la apnea obstructiva de la son (AOS). En la OLI es recomana la realització d'una laringoscòpia o broncoscòpia, i el tractament es centra en exercicis de logopèdia. En el AOS s'ha de realitzar un estudi de la son dirigit, com una poligrafia respiratòria o polisomnografia, i el tractament es centra habitualment amb la CPAP.

### **Iatrogènica**

Diversos medicaments s'han relacionat amb la TC, com IECA, bifosfonats, antagonistes del calci i prostanoides. Sempre s'ha d'investigar sobre el seu ús i, quan sigui possible, substituir-los.

### **Altres causes específiques**

La TC pot estar relacionada a la presència d'altres patologies respiratòries, com les malalties pulmonars intersticials, les bronquièctasis, la fibrosi quística... Altres factors també poden ser la causa de la TC, com l'hàbit tabàquic, la presència d'un cos estrany i sutures endobronquials, entre altres. A més, pot estar relacionada amb malalties neurològiques com el síndrome de Holmes-Adie<sup>29</sup>, la neuropatia sensorial tipus 1B<sup>30</sup> i el CANVAS (veure apartat 1.2).

### Tos crònica refractària o inexplicada

En alguns casos, a pesar del tractament dirigit a la causa subjacent detectada la TC persisteix (TCR) i en altres no s'arriba a identificar la causa (TCI). Al voltant del 40% dels casos son classificats com TCI a pesar d'un estudi exhaustiu i sistemàtic<sup>8,31</sup>.

El tractament de la TCR i TCI estava centrat en la via central de la tos, com el tractament conductual realitzat per fisioterapeutes i logopedes especialitzats<sup>32,33</sup>, els medicaments antiepilèptics com la pregabalina<sup>34-36</sup> i la gabapentina<sup>37-39</sup>, i els antidepressius com l'amitriptilina<sup>40</sup> i la morfina<sup>41,42</sup>. Recentment s'estan desenvolupant nous medicaments centrats en la via aferent, concretament en el receptor P2X3. D'aquests nous tractaments el gefapixant<sup>43-45</sup> ha sigut el primer en ser aprovat per la Agència Europea del Medicament (EMA) en juliol del 2023.

### 1.1.5 AVALUACIÓ

La TC es pot avaluar de forma subjectiva, mitjançant qüestionaris, i de forma objectiva, mitjançant monitors de la tos.

#### Forma subjectiva

L'avaluació subjectiva de la tos es basa en qüestionaris dirigits a l'avaluació dels símptomes, com son:

- **Escala visual analògica (EVA)**<sup>46,47</sup>: el pacient puntua la gravetat de la seva tos mitjançant una línia de 100mm, 0mm és absència de tos i 100mm la pitjor tos imaginable (figura 4). El pacient ha de marcar amb una creu el punt que representi la seva gravetat de la tos. Una reducció de la puntuació en la gravetat del EVA  $\geq 30$ mm pot discriminar canvis clínicament significatius en la gravetat de la TC en estudis clínics<sup>47</sup>.



**Figura 4:** Escala visual analògica (EVA) representativa de 100mm per mesurar la gravetat de la tos<sup>46</sup>.

- ***Cough severity diary (CSD)***<sup>48,49</sup>: diari elaborat per quantificar la gravetat de la tos en les últimes 24h. Està format per 7 preguntes centrades en tres dimensions: freqüència (3 preguntes), intensitat (2 preguntes) i interrupcions en activitats diàries (2 preguntes). Les respostes son tipus Likert amb una escala del 0 al 10, 0 és la millor puntuació possible i 10 la pitjor possible. La puntuació total es calcula realitzant la mitja de totes les puntuacions, sent 10 el màxim possible i 0 el mínim possible. Una reducció de  $\geq 1.3$  punts en les puntuacions totals i en les subescales es tradueix amb una millora clínicament significativa<sup>49</sup>.

En l'avaluació subjectiva de la tos també hi ha qüestionaris centrats en la qualitat de vida relacionada amb la salut, com son:

- ***Leicester cough questionnaire (LCQ)***<sup>50-52</sup>: qüestionari dissenyat per avaluar l'impacte de la tos durant les últimes 2 setmanes. Consta de 19 preguntes en les s'estudia els dominis físic (8 preguntes), psicològic (7 preguntes) i social (4 preguntes). Les respostes son tipus Likert, 7 és la millor puntuació possible i 1 la pitjor possible. Els punts totals es calculen sumant la puntuació de cada pregunta, sent 21 la màxima possible i 3 la mínima possible. Una milloria en la mitja  $\geq 1.3$  punts en la puntuació total del LCQ i una milloria en la mitja de  $\geq 0.8$ ,  $\geq 0.9$  i  $\geq 0.8$  punts en els dominis físic, psicològic i social respectivament semblen predir una milloria en la tos<sup>52</sup>.
- ***Discrete emotions questionnaire (DEQ)***<sup>53</sup>: qüestionari elaborat per conèixer l'impacte emocional de la tos. Està integrat per 32 emocions que s'engloben en 8 estats emocionals diferents, cada estat emocional està compost per 4 emocions. Els estats emocionals son enuig, fàstic, por, ansietat, tristesa, desig, relaxació i felicitat. Cada ítem s'avalua amb una escala Likert, 1 és en absolut i 7 una quantitat extrema. La puntuació final es calcula realitzant la mitja de la suma total, sent 7 la major puntuació possible (tenir la màxima quantitat d'aquella emoció) i 1 la menor quantitat possible (no tenir aquella emoció).
- ***European Quality of Life –5 Dimensions –5 Levels (EQ-5D-5L)***<sup>54-55</sup>: aquest test avalua la qualitat de vida relacionada amb la salut. Té dos parts:



- Part 1: 5 preguntes amb 5 opcions de resposta amb nivells de gravetat diferents, els quals resten un valor específic segons la població a la que va dirigida, sent en el nostre cas la població espanyola<sup>55</sup>. Les puntuacions de l'índex de l'estat de salut oscil·len entre < 0 fins el 1, sent <0 un estat de salut pitjor a la mort, 0 igual a la mort i 1 un estat de salut plena.
- Part 2: formada per una EVA, on 100 es el millor estat de salut imaginable i 0 el pitjor imaginable.

### **Forma objectiva**

Hi ha diverses tècniques de provocació amb inhalants que permeten mesurar de forma objectiva la sensibilitat i sensació d'urgència de la tos. Entre aquests inhalats es troben:

- **Capsaïcina:** estímul directe dels receptors de la tos que va ser descrit per primera vegada en 1984<sup>57</sup>. La capsaïcina és un àcid extret dels pimentons vermells, actua principalment sobre el TRPV1 que estan presents en les fibres C i algunes A $\delta$ <sup>58</sup>. Al associar-se augmenten la concentració intracel·lular de Ca<sup>2+</sup>, provocant la despolarització de les neurones i l'alliberació de neurotransmissors<sup>59</sup>. Es tracta d'un mètode reproduïble i segur per avaluar la sensibilitat del reflex de la tos<sup>60,61</sup>.
- **Àcid cítric:** estímul directe que modifica el pH de la capa aquosa dels receptors de la tos localitzats, generalment, en la laringe<sup>62</sup>. Va ser descrit per primera vegada a meitat del 1950<sup>63,64</sup>. És un mètode reproduïble i dosi dependent<sup>65</sup>.
- **Solucions aquoses amb baixes concentracions de clor:** estímul indirecte dels receptors de la tos.
- **Mannitol:** estímul indirecte dels receptors de la tos. És un estímul hiperosmolar probablement mediat per fibres A y C<sup>66</sup>.

Una altra forma d'avaluar de forma objectiva la tos és mitjançant monitors de tos, que permeten conèixer la seva freqüència. Els primers estudis on es manifesta la necessitat de mesurar de forma objectiva la tos, i que descriuen sistemes rudimentaris per mesurar-la, daten del 1950<sup>67</sup>. Aquests monitors de tos han anat evolucionant al llarg del temps gràcies als avenços de la tecnologia. Així, una dècada més tard d'aquests monitors inicials, es va incorporar per primera vegada un micròfon al capçal del llit i una gravadora per enregistrar la tos<sup>68</sup>. Però no va ser fins finals del 1980 quan es va realitzar el primer intent de

automatitzar aquests monitors<sup>69</sup> i no van ser portàtils fins el 1990<sup>70</sup>. Actualment continuen els avenços tecnològics d'una forma frenètica i ja hi ha diversos dispositius en procés de validació per incorporar la intel·ligència artificial (IA), la qual faria possible una automatització completa del registre de la tos.

Entre els monitors de tos disponibles actualment destaquen:

- **Hull Automatic Cough Counter (HACC):** programa desenvolupat per l'anàlisi de gravacions digitals d'àudio mitjançant processament digital de senyals per calcular els coeficients espectrals característics dels sons, que posteriorment són classificats com a tos o no per una xarxa neuronal probabilística<sup>71</sup>.



Figura 5: imatge del monitor HACC<sup>72</sup>.

- **Leicester Cough Monitor (LCM):** monitor d'automatització parcial ja que requereix de la intervenció de l'operador pel calibratge i el control de coherència per millorar l'especificitat del dispositiu<sup>73</sup>. El primer LCM disposava de bateria per realitzar un registre de sols 6h, posteriorment va ser possible el desenvolupament del dispositiu amb un registre de 24h<sup>74</sup>.

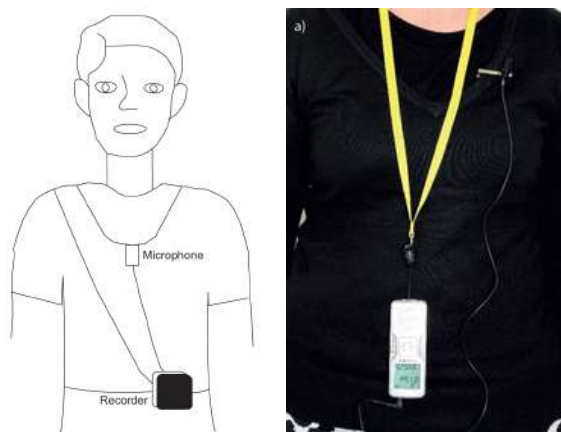
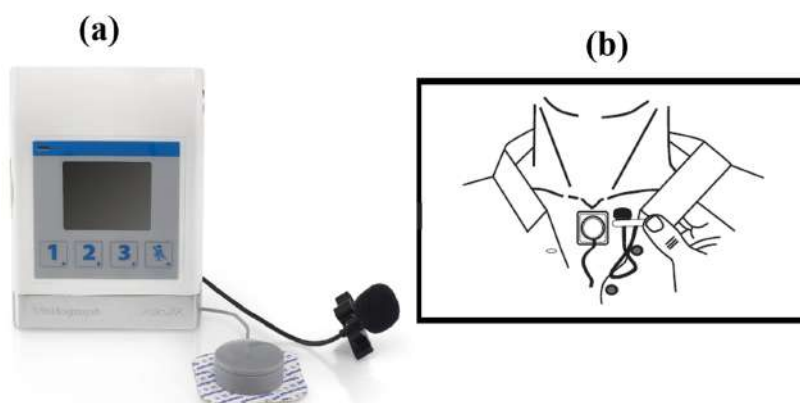


Figura 6: imatge del Leicester Cough Monitor<sup>74,75</sup>.

- **VitaloJAK Cough Monitor:** actualment és el monitor de tos més àmpliament utilitzat en els assajos clínics, disposa de l'aprovació de l'administració d'aliments i fàrmacs (FDA) i conformitat europea (CE). És un dispositiu semiautomàtic que utilitza un algoritme per reduir les hores de gravació, habitualment de 24h a 1.5h<sup>76</sup>. Posteriorment aquesta gravació és escoltada per un operador per tal de identificar els sons corresponents a la tos i poder calcular la freqüència de la tos.



**Figura 7:** imatges del monitor de tos VitaloJAK i de la seva col·locació<sup>77</sup>.

- **CoughPro (Hyfe):** aplicació per al telèfon mòbil o rellotge intel·ligent que utilitza la IA per reconèixer els sons corresponents a la tos del pacient i realitzar un registre de la seva freqüència. Aquest dispositiu suposa una major comoditat per al pacient, major privacitat i no requereix supervisió tècnica. A més, com permet tenir registres de períodes >24h s'estan realitzant estudis on recomanen la monitorització longitudinal de la freqüència de tos durant al menys una setmana per evitar la variabilitat diària<sup>78</sup>. Actualment es troba en procés de validació.
- **RESP® Biosensor (Strados Labs):** dispositiu capaç de diferenciar mitjançant la IA diversos sons respiratoris com la tos, els crepitants, els sibilants i els roncus. Actualment ha sigut aprovat per la FDA i CE.
- **C-mo (C-mo Medical Solutions):** dispositiu que mitjançant un micròfon i les contraccions abdominals detecta la tos del pacient. La informació és processada per la IA per generar informes de la freqüència i patró de la tos.

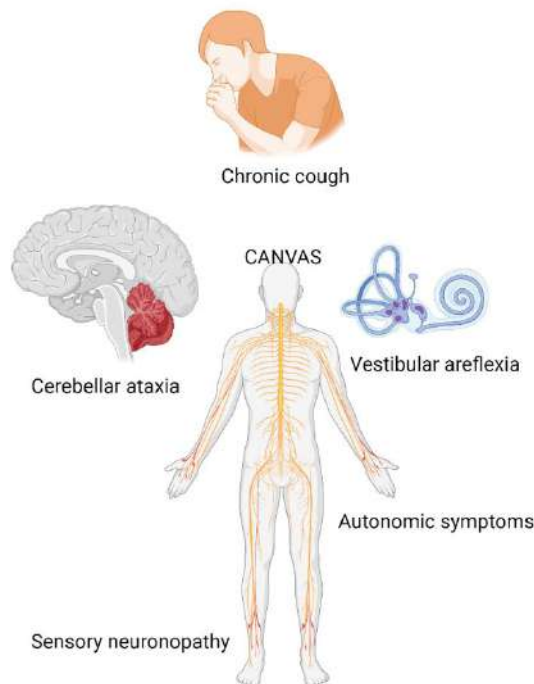
## 1.2 CANVAS

---

### 1.2.1 DEFINICIÓ I CLÍNICA

*Cerebellar Ataxia with Neuropathy and bilateral Vestibular Areflexia Syndrome* (CANVAS) és un síndrome hereditari, neurodegeneratiu i de curs lentament progressiu. Es caracteritza per la combinació clínica d'atàxia cerebel·losa tardana (atàxia de la marxa i de les extremitats, nistagme i disàrtria), neuropatia sensitiva i areflèxia vestibular bilateral (reflex vestibuloocular anormal)<sup>79-83</sup>. També s'han descrit altres símptomes com la disautonomia (hipotensió postural, disfunció urinària, disfunció erèctil i estrenyiment) i la TC (veure apartat 1.2.4).

Els símptomes s'inicien, a excepció de la TC, al voltant dels 50-60 anys d'una forma progressiva, habitualment amb inestabilitat i símptomes sensorials<sup>84</sup>. S'estima que la meitat dels pacients requereixen d'alguna ajuda o suport per desplaçar-se als 10 anys d'evolució de la malaltia<sup>84</sup>, i que un terç acaba sent dependent d'una cadira de rodes al 15 anys<sup>84</sup>.



**Figura 8:** Característiques clíniques dels pacients amb CANVAS<sup>83</sup>.

## 1.2.2 EPIDEMIOLOGIA

La prevalença exacta de CANVAS és desconeguda però s'estima que en la població general és  $<1 : 1\ 000\ 000$ <sup>82</sup>. No obstant, es creu que està infradiagnosticada ja que la freqüència de l'expansió bial·lèlica del motiu repetitiu AAGGG [(AAGGG)exp] es creu del 0.7% en la població sana<sup>85</sup>, el que permetria estimar una prevalença al naixement de portadors bial·lèlics d'aproximadament  $1 : 20\ 000$ <sup>85</sup>.

## 1.2.3 HERÈNCIA

La seva herència és autosòmica recessiva deguda, en la majoria dels casos, a la presència bial·lèlica (AAGGG)exp en el intró 2 de la subunitat 1 del factor C de replicació (*RFC1*). Aquesta alteració genètica va ser descrita per primera vegada en 2019 per Cortese *et al*<sup>85</sup> i, recentment, s'han descrit altres alteracions que, de forma excepcional, podrien ser també causants del CANVAS. Entre aquestes es troben la presència de (AAGGG)exp i una variant truncada (nonsense o frameshift)<sup>86-88</sup> o (AAAGG)exp quan presenta  $>500$  repeticions<sup>89</sup>, i també s'han identificat nous al·lèls implicats (AGGGC, AAGGGC i AGAGG)<sup>89</sup>.

L'estudi genètic es realitza a partir d'una mostra de sang perifèrica del pacient. D'aquesta s'obté el seu ADN, que és processat per dos tècniques d'amplificació diferents:

- Amplificació mitjançant PCR estàndard amb primers flanquejants de l'intró 2 del gen RFC1 (Flanking-PCR). Aquesta tècnica permet amplificar sols els al·lèls de mida normal, però no els que contenen grans expansions, independentment de la seva composició.
- Amplificació mitjançant Repeated Primed PCR en 3 reaccions independents: RP-PCR1 dirigida a la detecció dels al·lèls (AAAG)11 i (AAAAG)exp, RP-PCR2 dirigida a la detecció de l'al·lel (AAAGG)exp i RP-PCR3 dirigida a la detecció de l'al·lel patològic (AAGGG)exp.

## 1.2.4 CANVAS I TOS CRÒNICA

A més dels símptomes neurològics ja mencionats, estudis recents també han descrit la presència de TC en una elevada prevalença de pacients amb CANVAS (30-97%)<sup>84,85,90-93</sup>. La prevalença de la tos descrita en els estudis ha anat augmentant amb el temps, probablement perquè està sent documentada de forma més sistemàtica en les últimes cohorts<sup>82</sup>. La tos ha sigut descrita com a seca i espasmòdica<sup>90,93-95</sup> i, a més, sembla característic que empitjori amb estímuls que habitualment no la produeixen com parlar i l'estrès<sup>93,96</sup>. Aquests trets són comuns al síndrome de hipersensibilitat tussígena.

A més, la TC en el CANVAS sembla ser un símptoma precoç que precedeix diversos anys, o inclús dècades, a l'inici de qualsevol dels seus símptomes neurològics<sup>94-97</sup>. Alguns estudis proposen la TC com símptoma associat al CANVAS que deuria orientar al seu diagnòstic si s'associa, al menys, a dos dels símptomes de la tríada principal (atàxia cerebel·losa, neuropatia o areflèxia vestibular)<sup>91,100</sup>. Algun estudi inclús proposa la TC com símptoma integrant del propi síndrome<sup>96</sup>.

El mecanisme d'aparició de la TC en el CANVAS és desconegut, al igual que ho és en altres malalties neurològiques també relacionades amb la tos com el síndrome de Holmes-Adie<sup>29</sup> i la neuropatia sensorial tipus 1B<sup>30</sup>. Actualment, una de les hipòtesis més acceptades per al seu mecanisme d'aparició es que podria ser degut a l'alteració de la innervació sensorial de les fibres C, tant de les vies respiratòries superiors com de l'esòfag, provocant la seva hipersensibilitat i afavorint l'aparició de la tos<sup>91,96,99</sup>. Diversos estudis també descriuen la presència de RGE en pacients amb CANVAS<sup>91,95,96,98,100</sup>, el que aniria a favor d'una alteració precoç en la motilitat esofàgica com possible causa d'aparició de RGE i, ser aquest. el responsable de la TC.



---

## 2. HIPÒTESIS I JUSTIFICACIÓ

---





## 2.1 HIPÒTESIS

---

En base als coneixements actuals de la TC i el CANVAS, les hipòtesis plantejades en aquesta tesi son les següents:

1. Alguns pacients de la consulta de TC podrien tenir la mutació bial·lèlica (AAGGG)exp en *RFC1*. La seva presència permetria el diagnòstic de CANVAS precoç, evitant exploracions innecessàries i permeten el consell genètic. A més, permetria identificar una causa de TC no inclosa en les guies actuals.
2. El test del diapasó Rydel-Seiffer podria permetre diferenciar un subgrup de pacients amb TC candidats a aquest estudi genètic.
3. La TC present en pacients amb CANVAS podria tenir algun tret clínic-funcional característic que ens permeti avançar en el coneixement de la seva relació.

## 2.2 JUSTIFICACIÓ

---

Des del 2019, quan es va descriure per primera vegada la mutació responsable del CANVAS, (AAGGG)exp bial·lèlica en *RFC1*, hi ha un creixent interès en aquest síndrome. En els últims anys s'han descobert noves mutacions genètiques responsables, però actualment aquestes han sigut descrites en casos excepcionals i d'algunes no s'ha descrit cap cas en Espanya, com son els motius AGGGC, AAGGC y AGAGG. També ha augmentat la investigació sobre els seus aspectes clínics, objectivant-se símptomes no relacionats amb el CANVAS prèviament, com la TC.

En el CANVAS, la TC cobra especial importància ja que podria ser un senyal d'alarma en aparèixer diversos anys, o inclús dècades, abans que els símptomes neurològics clàssics (atàxia, neuropatia i areflèxia vestibular). Poder diagnosticar de forma precoç una malaltia neurològica amb símptomes invalidants progressius i hereditària és important per evitar exploracions innecessàries als individus de risc i poder realitzar consell genètic sobre el risc de sofrir o transmetre la malaltia a la descendència.

A més, cal recordar que fins un 40% dels casos en els que s'estudia de forma exhaustiva la TC no s'arriba a identificar la causa subjacent. Probablement, dins d'aquest elevat percentatge de TCI hi hagin causes no relacionades amb la tos fins ara, com seria el cas del CANVAS. Per tant, realitzar el diagnòstic genètic de CANVAS en pacients amb TC permetria donar un motiu i una explicació a la causa de la tos.

Tanmateix, l'estudi genètic de CANVAS és un procediment complex, car i que no està disponible en tots els centres hospitalaris. Es per això que cobra especial importància determinar a quin subgrup de pacients amb TC s'hauria de realitzar l'estudi genètic i valorar si hi ha un test fàcil i econòmic de realitzar que ens ajudi a aconseguir-ho, com seria l'ús del diapasó de Rydel-Seiffer. Aquest diapasó permet estudiar de forma ràpida i senzilla la sensibilitat vibratòria de les extremitats distals. Per utilitzar-lo s'ha de colpejar i col·locar primera articulació metatars-falàngica, a mesura que passa el temps la vibració es torna més dèbil i la numeració dels triangles superiors va augmentat. Quan el pacient deixi de percebre la vibració, s'ha d'anotar la numeració aconseguida. Si aquesta està disminuïda, hi ha una alteració en la innervació sensitiva perifèrica i podria suggerir un CANVAS en aquests pacients amb TC.

La tos està sent descrita progressivament en més cohorts de pacients amb CANVAS, però fins ara no hi ha cap estudi protocol·litzat de la TC en aquests pacients, pel que es desconeixen les seves característiques clínic-funcionals. També és desconegut el mecanisme d'aparició de la tos en el CANVAS, sent la hipòtesi més acceptada la relacionada amb la presència de RGE. Es desconeix si la TC afecta a la qualitat de vida dels pacients amb CANVAS ja que, fins ara, no hi ha cap estudi que ho analitzi.

---

## 4. OBJECTIUS

---



### 3.1 OBJECTIU PRINCIPAL

---

L'objectiu principal d'aquesta tesi fou conèixer la prevalença de la mutació bial·lèlica (AAGGG)exp en *RFC1* en pacients amb TC que estaven en estudi en una consulta especialitzada de tos.

### 3.2 OBJECTIUS SECUNDARIS

---

Els objectius secundaris d'aquesta tesi foren el següents:

- Valorar la utilitat del diapasó de Rydel-Seiffer (test de sensibilitat vibratòria perifèrica) com a mètode de detecció precoç de CANVAS en pacients en una consulta de TC.
- Conèixer les característiques fenotípiques, funcionals i inflamatòries dels pacients amb CANVAS i TC.
- Conèixer la qualitat de vida en els pacients amb TC sense i amb CANVAS.
- Conèixer la possible relació entre el RGE i la TC en pacients amb CANVAS.



---

## 5. COMPENDI DE PUBLICACIONES

---





## 4.1 ARTICLE 1

---

# Chronic cough and Cerebellar Ataxia with Neuropathy and Bilateral Vestibular Areflexia Syndrome (CANVAS): Screening for mutations in Replication Factor C Subunit 1 (*RFC1*)

Esther Palones<sup>a,b</sup>, Vicente Plaza<sup>a,b</sup>, Lidia Gonzalez-Quereda<sup>c,d</sup>, Alba Segarra-Casas<sup>c,d</sup>, Luis Querol<sup>e</sup>, Federico Bertoletti<sup>f</sup>, María José Rodríguez<sup>d</sup>, Pía Gallanoc<sup>d,g</sup>, Astrid Crespo-Lessmann<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Department of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>b</sup>Department of Respiratory Medicine, Institut de Recerca Sant Pau, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>c</sup>Genetics and Microbiology Department, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>d</sup>Genetics Department, Institut de Recerca Sant Pau, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>e</sup>Neuromuscular Disease Unit, Department of Neurology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>f</sup>Department of Digestive Pathology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>g</sup>Networked Biomedical Research Centre for Rare Diseases (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

*Arch Bronconeumol.* 2024 May 4:S0300-2896(24)00141-8

<https://doi.org/10.1016/j.arbres.2024.04.028>

Factor d'impacte: 8.7

Quartil: Q1





Original Article

## Chronic Cough and Cerebellar Ataxia With Neuropathy and Bilateral Vestibular Areflexia Syndrome (CANVAS): Screening for Mutations in Replication Factor C Subunit 1 (*RFC1*)

Esther Palones<sup>a,b,\*</sup>, Vicente Plaza<sup>a,b</sup>, Lidia Gonzalez-Quereda<sup>c,d</sup>, Alba Segarra-Casas<sup>c,d</sup>, Luis Querol<sup>e</sup>, Federico Bertoletti<sup>f</sup>, María José Rodríguez<sup>d</sup>, Pía Gallano<sup>c,d,g</sup>, Astrid Crespo-Lessmann<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Department of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>b</sup> Department of Respiratory Medicine, Institut de Recerca Sant Pau, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>c</sup> Genetics and Microbiology Department, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>d</sup> Genetics Department, Institut de Recerca Sant Pau, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>e</sup> Neuromuscular Disease Unit, Department of Neurology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>f</sup> Department of Digestive Pathology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>g</sup> Networked Biomedical Research Centre for Rare Diseases (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

### ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 February 2024

Accepted 27 April 2024

Available online xxx

Keywords:

Cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular areflexia syndrome (CANVAS)  
Chronic cough (CC)  
Refractory CC  
Unexplained CC  
Rydel-Seiffer fork

### ABSTRACT

**Introduction:** A common complaint in patients is chronic cough (CC), which may be refractory (RCC) or unexplained (UCC). Recent studies point, as a possible cause of CC, to the hereditary cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular areflexia syndrome (CANVAS), with an estimated carrier prevalence of 1 in 20 000.

**Aim:** In patients with CC, determine the prevalence of the biallelic (AAGGG)exp mutation in replication factor C subunit 1 (*RFC1*) responsible for CANVAS, test the usefulness of the Rydel-Seiffer fork test, and evaluate patient quality of life (QoL).

**Methods:** Clinical and functional data were collected for the 33 included patients undergoing CC studies in our specialized unit. Performed were an etiological study of CC following European Respiratory Society recommendations, a genetic study of *RFC1* mutations, and Rydel-Seiffer fork testing to detect possible peripheral vibratory sensitivity impairment. Administered to evaluate QoL were 4 questionnaires.

**Results:** Prevalence of biallelic (AAGGG)exp in *RFC1* was 6.1% (n = 2) overall, increasing to 7.1% in the RCC subgroup, and to 33.3% in the Rydel-Seiffer fork altered results subgroup. Prevalence of monoallelic (AAGGG)exp in *RFC1* was 18.2% (n = 6) overall, rising to 50.0% (n = 2) in the UCC subgroup.

**Conclusion:** Genetic screening for (AAGGG)exp in *RFC1*, and also use of the Rydel-Seiffer fork test, should be considered in specialized CC consultations for patients with RCC and UCC. Detecting possible CANVAS symptoms in CC studies would identify candidates for early genetic screening, of interest in reducing the disease burden for patients and health systems alike.

© 2024 The Authors. Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of SEPAR. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

### Introduction

Chronic cough (CC), defined as cough lasting >8 weeks,<sup>1</sup> affects 3–12% of the general population<sup>2,3</sup> and accounts for around 10% of pulmonology consultations.<sup>4</sup> When the cause is not identified after a targeted study, it is classified as unexplained CC (UCC), and when the CC not respond to treatment of possible underlying cause, it is classified as refractory CC (RCC).<sup>5</sup> Recently, the European Respira-

tory Society (ERS) Task Force proposed a new term to encompass both CC types, namely, cough hypersensitivity syndrome,<sup>5,6</sup> clinically reflecting CC as an irritative cough that is frequently triggered by stimuli that do not normally produce cough.

A number of neurological diseases have been associated with CC, including Holmes-Adie syndrome<sup>7</sup> and sensory neuropathy type 1B,<sup>8</sup> although the underlying mechanism is still unknown. Recently, a rare disease called cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular areflexia syndrome (CANVAS) has been postulated as a possible cause of CC, given that CC is highly prevalent (30–97%) in patients with CANVAS.<sup>9–12</sup> The most widely accepted hypothesis regarding the underlying mechanism of CC

\* Corresponding author.

E-mail address: [esther.palones@autonoma.cat](mailto:esther.palones@autonoma.cat) (E. Palones).

<https://doi.org/10.1016/j.arbres.2024.04.028>

0300-2896/© 2024 The Authors. Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of SEPAR. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Please cite this article as: E. Palones, V. Plaza, L. Gonzalez-Quereda et al., Chronic Cough and Cerebellar Ataxia With Neuropathy and Bilateral Vestibular Areflexia Syndrome (CANVAS): Screening for Mutations in Replication Factor C Subunit 1 (*RFC1*), Archivos de Bronconeumología, <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2024.04.028>

is an alteration of the sensory innervation of the C fibres in both the upper respiratory tract and oesophagus, leading to the hypersensitivity that favours the development of CC.<sup>9,13,14</sup> Various studies of patients with CANVAS also report gastroesophageal reflux (GER),<sup>9,13,15–17</sup> suggesting that early alteration of esophageal motility may be the possible cause of GER and, in turn, of CC.

The relevance of CC for patients with CANVAS is that CC seems to precede the onset of neurological symptoms by years, and even decades.<sup>13,15,18</sup> Therefore, given the possibility of early diagnosis of a progressively disabling neurological syndrome, genetic screening and counselling is important. The genetic cause of CANVAS, an hereditary autosomal recessive disease is, in most cases, the presence of biallelic expansion of the AAGGG repeat motif (AAGGG)exp in intron 2 of replication factor C subunit 1 (*RFC1*).<sup>10</sup> It has also been reported that CANVAS may exceptionally be due to (AAGGG)exp and a truncating variant (nonsense or frameshift),<sup>19–21</sup> or (AAAGG)exp when repeats are >500.<sup>22</sup> Further alleles involved have also recently been identified (AGGCC, AAGGC and AGAGG).<sup>22</sup> Early diagnosis is clearly important in terms of improving quality of life (QoL) for the patient and reducing the CC burden for the health system.<sup>23,24</sup>

While the precise prevalence of CANVAS is unknown, allelic frequency in (AAGGG)exp in *RFC1* is estimated at 0.7% of the healthy population.<sup>10</sup> Prevalence of biallelic carriers is therefore estimated as approximately 1 in 20000 births,<sup>10</sup> and, since CC is a common symptom of CANVAS, a higher prevalence would be expected in those patients. In fact, that was what was observed in the study by Guillemainault et al.,<sup>25</sup> which is, to our knowledge, the only study to date that has analyzed repeat expansion in *RFC1* in patients with RCC; those authors found that 16.2% and 8.8% of patients had biallelic and monoallelic expansion, respectively. Subsequent publications raise the possibility of including genetic screening as part of RCC and UCC studies<sup>12,26</sup>; however, more research is needed to replicate and expand on available results, including, for example, for patients with respiratory pathologies<sup>26</sup> and patients with CC undergoing a protocolized study.

This study is one of the first screens for *RFC1* mutations in patients with CC describing patient clinical and functional characteristics and evaluate their QoL. Furthermore, it is the first to evaluate use of the Rydel-Seiffer fork in patients with CC to detect possible peripheral vibratory sensitivity impairment, which could be a warning sign to suspect CANVAS.

## Methods

### Study design and population

Cross-sectional descriptive study that included consecutively recruited patients of both sexes aged 40–90, and undergoing CC studies in a specialized hospital unit in Spain. CC was defined as cough lasting >8 weeks. Excluded were active smokers and patients who had given up smoking in the previous 12 months, patients taking angiotensin-converting enzyme inhibitors, and patients with a confirmed CANVAS diagnosis or with neurological symptoms indicative of CANVAS.

### Methodology

#### Genetic study of biallelic (AAGGG)exp in *RFC1*

A peripheral blood sample was obtained from all patients for a genetic study of *RFC1* mutations, differentiating between monoallelic and biallelic repeat motifs of (AAAAG)exp, (AAAGG)exp, and (AAGGG)exp. DNA underwent two amplification procedures: (1) amplification by standard polymerase chain reaction (PCR) with primers flanking the intron 2 fragment of the *RFC1* gene (flanking

PCR), and (2) amplification by repeat-primed (RP) PCR in 3 independent reactions, namely, RP-PCR1 to detect the (AAAAG)11 and (AAAAG)exp alleles, RP-PCR2 to detect the (AAAGG)exp allele, and RP-PCR3 to detect the pathological (AAGGG)exp allele. Note that flanking PCR can only amplify alleles of normal size, not alleles that contain large expansions, regardless of their composition. The reference sequence used was NM.002913.4.

#### Rydel-Seiffer fork

Vibratory sensitivity has traditionally been studied using the standard tuning fork, which was adapted by Rydel and Seiffer in 1903 as an 8-point quantitative scale.<sup>27</sup> In our study, patients were tested by placing the Rydel-Seiffer fork on the first metatarsophalangeal joint. Patients with a result of 6 or less – considered impairment (the patient has less peripheral vibration sensitivity than expected) – were referred to neurology.

#### Aetiology study

The aetiology study was carried out following ERS recommendations.<sup>28</sup> All patients underwent thoracic imaging, radiography or computed tomography (CT). Spirometry was performed (Datapir-600 device; Sibelmed SA, Barcelona, Spain) following American Thoracic Society (ATS)/ERS recommendations.<sup>29,30</sup> Bronchodilator tests were considered positive at >10% of predicted forced expiratory volume in the first second (FEV<sub>1</sub>) or forced vital capacity (FVC) value 15 min after administration of 4 × 100-μg doses of salbutamol.<sup>30</sup> Fraction of exhaled nitric oxide (FENO) was measured (N-6008 chemiluminescence sensor; SIR, Madrid, Spain) following ATS/ERS recommendations.<sup>31</sup> A pneumoallergens prick test, performed with standardized extracts, was considered positive for papules >3 mm. Peripheral eosinophils were measured by automatic cell counting (Coulter Max-M), and immunoglobulin E (IgE) was determined by enzyme immunoassay (UNICAP, Pharmacia, Uppsala, Sweden).

Esophageal 24-h pH was measured (Digitrapper Recorder system; Medtronic, Minneapolis, USA) from a pH-impedance probe or a 1-electrode probe placed at a distance of 5 cm from the upper margin of the lower esophageal sphincter, and analyzed results (Reflux software V.6.1; Medtronic, Minneapolis, USA) were interpreted following Lyon Consensus recommendations.<sup>32</sup> High-resolution esophageal manometry data (ManoScan system; Medtronic, Minneapolis, USA) were analyzed (ManoView ESO software V.3.3; Medtronic, Minneapolis, USA) for interpretation following the Chicago Classification V.4.0.<sup>33</sup>

#### QoL impact

To determine the QoL impact of CC, patients were administered the Discrete Emotions Questionnaire (DEQ),<sup>34</sup> Leicester Cough Questionnaire (LCQ),<sup>35,36</sup> Cough Severity Diary (CSD),<sup>37</sup> and European Quality of Life-5 Dimensions-5 Levels (EQ-5D-5L).<sup>38,39</sup>

- (1) DEQ consists of 32 questions regarding emotions grouped into 8 states (anger, disgust, fear, anxiety, sadness, desire, relaxation, and happiness), scored on a 7-point Likert scale (1 = lowest intensity to 7 = highest intensity).
- (2) LCQ consists of 19 questions on cough impact in the previous 2 weeks grouped into 3 domains (physical, psychological, and social), scored on a 7-point Likert scale (1 = least impact to 7 = greatest impact), with the overall score obtained by summing the domain scores.
- (3) CSD consists of 7 questions on cough severity in the previous 24 h grouped according to 3 dimensions (frequency, intensity, and disruptiveness), scored on an 11-point Likert scale (0 = lowest severity to 10 = greatest severity).

(4) EQ-5D-5L part 1 consists of 5 questions on 5 QoL domains (mobility, self-care, usual activities, pain/discomfort, and anxiety/depression) with 5 response options, from no problems to extreme problems (variable depending on the reference population, in our case Spanish<sup>38</sup>), resulting in a health state index (where 0 is equivalent to death) scored between <0 (worse than death) and 1 (full health). EQ-5D-5L part 2 is a visual analogue scale (VAS) which the patient uses to rate their perceived health (0 = worst imaginable health to 100 = best imaginable health).

#### Ethical and legal aspects

The study complies with the principles of the Declaration of Helsinki (18th World Medical Assembly, 1964) and was approved by the Ethics Committee of our hospital (IIBSP-TOS-2020-143) and has been registered with clinicaltrials.gov (NCT04703595).

#### Statistical analysis

Descriptive reference values are reported as frequencies and percentages for qualitative data, and as means and standard deviation (SD) for quantitative data. For the qualitative variables, independent proportions were compared using Pearson's Chi-square or Fisher's exact test; for quantitative variables, given that one of the groups included <10 patients, means were compared using the non-parametric Mann-Whitney *U* test.

Statistical significance was set to 5% ( $\alpha=0.05$ ), and statistical analyses were performed with SPSS version 25 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## Results

#### Patient clinical and functional characteristics

Included were 33 patients (Table 1), 30.3% ( $n=10$ ) men, with a mean age of 66 ( $\pm 12$ ) years; 57.7% ( $n=19$ ) were ex-smokers since an average of 25.3 ( $\pm 12.9$ ) years previously. The most frequent comorbidities were symptoms compatible with GER (60.6%;  $n=20$ ) and arterial hypertension (AHT) (48.5%;  $n=16$ ). CC was dry in 69.7% ( $n=23$ ) of the patients. Overall, mean CC duration was 11.2 ( $\pm 11.6$ ) years and mean age at CC onset was 54.8 ( $\pm 13.9$ ) years. In the biallelic (AAGGG)exp subgroup, mean CC duration was longer and mean age at CC onset was lower, at 25.0 ( $\pm 7.1$ ) years and 42.0 ( $\pm 16.9$ ) years, respectively. No statistically significant differences were found between patients with and without (AAGGG)exp in *RFC1* (Table 1).

#### Genetic and Rydel-Seiffer fork studies

Of the 33 included patients, 2 (6.1%) had biallelic (AAGGG)exp in *RFC1*, indicating early-stage CANVAS, i.e., although their only symptom currently is CC, in the future they will develop other neurological symptoms. Another 6 (18.2%) were heterozygous carriers of (AAGGG)exp, the significance of which is as yet unknown; however, 1 heterozygous carrier had the combination (AAAGG)exp/(AAGGG)exp, which has recently been described as potentially causing CANVAS if the (AAAGG)exp motif is very large (>500 repeats).<sup>22</sup>

The Rydel-Seiffer fork test result was altered in 22.2% ( $n=6$ ) of the patients, and of those, 33.3% ( $n=2$ ) were the patients with early-stage CANVAS (Table 2).

#### Aetiology study

No chest X-ray alterations were evident in most patients (96.7%,  $n=29$ ); detected in 1 patient were known and oncologically mon-

itored pulmonary nodules diagnosed as tumourlets. Chest CT was normal in 46.9% ( $n=15$ ) of the patients, and in the remaining patients, the most frequent alterations were chronic bronchopathy (18.8%;  $n=6$ ), air trapping (15.6%;  $n=5$ ), and emphysema (12.5%;  $n=4$ ). Mean spirometry values were within the normal range; when studied case by case, only 1 patient (3.0%) showed obstruction, which was moderate (FEV<sub>1</sub>/FVC, 61; FEV<sub>1</sub>, 67%; FVC, 79%). Mean FENO was 25.5 ( $\pm 31$ ) ppb, and was only significantly elevated in 1 patient (133 ppb). The prick test was positive in 25.8% ( $n=8$ ) of patients. High-resolution esophageal manometry, performed in 20 of 33 patients, revealed motility impairment in 75% ( $n=15$ ), most frequently, ineffective esophageal motility (40%;  $n=8$ ) and  $\geq 50\%$  ineffective waves (20%;  $n=4$ ). Esophageal 24-h pH monitoring revealed pathological GER in 45% ( $n=9$ ) of the patients. Statistically significant differences were only found in the chest CT results on comparing the groups with and without (AAGGG)exp in *RFC1* ( $p=0.03$ ) (Table 3).

The most frequent causes of CC were GER (36.4%;  $n=12$ ), asthma (15.2%;  $n=5$ ), and tracheomalacia (12.1%;  $n=4$ ). While CC resolved after study and with appropriate treatment in 15.2% ( $n=5$ ) of the included patients, it persisted in the remaining 84.8% ( $n=28$ ) patients, 72.7% ( $n=24$ ) and 12.1% ( $n=4$ ) with RCC and UCC, respectively. Prevalence of biallelic (AAGGG)exp in *RFC1* was 7.1% ( $n=2$ ) in the RCC subgroup, 0% ( $n=0$ ) in the UCC subgroup, and 33.3% ( $n=2$ ) in the subgroup with altered Rydel-Seiffer fork results (see Table 2). Note that the 2 cases of early-stage CANVAS had RCC secondary to GER.

#### QoL study

QoL questionnaire were administered to 27 patients. Mean DEQ scores signalled anxiety 3.8 ( $\pm 1.8$ ) and anger 3.5 ( $\pm 1.9$ ), followed by fear 2.8 ( $\pm 1.9$ ), disgust 2.7 ( $\pm 1.7$ ), and sadness 2.6 ( $\pm 1.8$ ). The mean LCQ overall score was 12.4 ( $\pm 4.8$ ), with the social 4.1 ( $\pm 1.6$ ) and psychological 4.2 ( $\pm 1.8$ ) dimensions showing the highest scores. The mean overall CSD score was 5.6 ( $\pm 11.1$ ), with frequency having the greatest impact, at 4.1 ( $\pm 2.4$ ). Finally, the mean EQ-5D-5L part 1 score was 0.9 ( $\pm 0.1$ ), and the mean part 2 (VAS) score was 62.5 ( $\pm 24.9$ ). Patients with biallelic (AAGGG)exp scored worst in all 4 QoL studies, while heterozygous (AAGGG)exp carriers had similar score to the patients without that mutation in *RFC1* (Table 4).

## Discussion

Ours is one of the first studies that screens for *RFC1* mutations in patients undergoing CC studies. The fact that we did not differentiate at study outset between patients with RCC, UCC, or CC resolved after treatment has made it possible to identify which patients should undergo genetic screening, namely, those in the RCC and UCC subgroups. Our study is also the first to demonstrate the usefulness of Rydel-Seiffer fork results for patient selection for genetic screening, suggesting that this test could be used as criterion for onward referral when genetic screening is not available in all specialized CC consultations (and specially for patients with an altered Rydel-Seiffer fork test), whether in the centre itself or through a referral circuit.

Detecting *RFC1* mutations as a means of early diagnosis of CANVAS is important to determine a possible underlying cause of CC that have been classified as UCC. As for future treatments for CANVAS, while there is as yet no cure, some of the symptoms can be treated, using for instance, gabapentin. Genetic diagnosis is important to avoid unnecessary examinations in individuals at risk. Identifying the genetic cause in a family's index case makes it possible to identify other family members at risk of developing or transmitting the disease to their offspring. Furthermore, in the case

**Table 1**  
Clinical and functional characteristics of patients with chronic cough (CC) without and with biallelic or monoallelic (AAGGG)exp in *RFC1*.

	Total (n=33)	(AAGGG)exp in <i>RFC1</i>		
		Without (n=25)	Monoallelic (n=6)	Biallelic (n=2)
<b>Clinical and functional characteristics</b>				
Men, n (%)	10 (30.3)	8 (32.0)	1 (16.7)	1 (50.0)
Age, years (SD)	66 (±12.0)	65.2 (±11.7)	69 (±15.2)	67 (±9.9)
BMI, kg/m <sup>2</sup> (SD)	27.6 (±4.8)	27.9 (±5.3)	69.7 (±13.0)	71.0 (±16.9)
Ex-smokers, n (%)	19 (57.7)	16 (64.0)	2 (33.3)	1 (50.0)
<b>Comorbidities</b>				
GER symptoms, n (%)	20 (60.6)	15 (60.0)	4 (66.7)	1 (50.0)
AHT, n (%)	16 (48.5)	12 (48.0)	3 (50.0)	1 (50.0)
Dyslipidemia, n (%)	16 (48.5)	10 (40.0)	5 (83.3)	1 (50.0)
Rhinitis, n (%)	14 (42.4)	10 (40.0)	2 (33.3)	<b>2 (100)</b>
Depression, n (%)	9 (27.3)	7 (28.0)	0 (0.0)	<b>2 (100)</b>
Obstructive sleep apnea, n (%)	7 (21.2)	5 (20.0)	2 (33.3)	0 (0.0)
Tracheomalacia, n (%)	4 (12.1)	2 (8.0)	2 (33.3)	0 (0.0)
Diabetes mellitus, n (%)	3 (9.1)	2 (8.0)	1 (16.7)	0 (0.0)
Asthma, n (%)	3 (9.1)	3 (12.5)	0 (0.0)	0 (0.0)
ILO, n (%)	3 (9.1)	1 (4.0)	1 (16.7)	1 (50.0)
COPD, n (%)	2 (6.1)	2 (8.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Bronchiectasis, n (%)	2 (6.1)	1 (4.0)	1 (16.7)	0 (0.0)
Fibromyalgia, n (%)	2 (6.1)	2 (8.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<b>Cough characteristics</b>				
Dry, n (%)	23 (69.7)	17 (68.0)	5 (83.3)	1 (50.0)
Onset age, mean (SD) years	54.8 (±13.9)	55.5 (±14.1)	55.8 (±12.9)	42.0 (±16.9)
Duration, mean (SD) years	11.2 (±11.6)	9.6 (±10.9)	13.7 (±13.9)	25.0 (±7.1)
<b>Triggers</b>				
Supine position, n (%)	13 (39.5)	8 (32.0)	4 (66.7)	1 (50.0)
Eating, n (%)	11 (34.4)	9 (36.0)	1 (16.7)	1 (50.0)
Speech, n (%)	8 (24.2)	5 (20.0)	3 (50.0)	0 (0.0)
Strong odours, n (%)	8 (24.2)	5 (20.0)	1 (16.7)	<b>2 (100)</b>
Stress, n (%)	8 (24.2)	7 (28.0)	0 (0.0)	1 (50.0)
Physical effort, n (%)	7 (21.2)	6 (24.0)	1 (16.7)	0 (0.0)
Temperature changes, n (%)	5 (15.2)	5 (20.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<b>Associations</b>				
Nausea, n (%)	12 (37.5)	7 (28.0)	3 (50.0)	<b>2 (100)</b>
Urinary incontinence, n (%)	10 (31.3)	7 (28.0)	2 (33.3)	1 (50.0)
Dyspnoea, n (%)	9 (27.3)	6 (24.0)	2 (33.3)	1 (50.0)
Dizziness, n (%)	8 (24.2)	5 (20.0)	1 (16.7)	<b>2 (100)</b>
Night awakenings, n (%)	7 (21.2)	4 (16.0)	1 (16.7)	<b>2 (100)</b>
Vomiting, n (%)	6 (18.2)	5 (20.0)	1 (16.7)	0 (0.0)
Syncope, n (%)	3 (9.1)	1 (4.0)	1 (16.7)	<b>2 (100)</b>
Sibilance, n (%)	3 (9.1)	2 (8.0)	1 (16.7)	0 (0.0)

Abbreviations: AHT: arterial hypertension; BMI: body mass index; COPD: chronic obstructive pulmonary disease; GER: gastroesophageal reflux; ILO: inducible laryngeal obstruction; SD, standard deviation.

\* Bold signals when the 2 patients with biallelic (AAGGG)exp have the indicated clinical or functional characteristic.

**Table 2**  
Alleles identified in patients with chronic cough, refractory chronic cough, and unexplained chronic cough, and altered peripheral vibratory sensitivity results for the Rydel-Seiffer fork test.

Identified alleles	Genetic study	Interpretation	CC			RSF test, n (%) (n=6)
			Total CC n (%) (n=33)	RCC n (%) (n=29)	UCC n (%) (n=4)	
(AAAAG)exp/(AAAAG)exp	CANVAS ruled out		22 (66.7)	20 (68.9)	2 (50.0)	4 (66.7)
(AAAAG)exp/(AAGGG)exp	Unknown		2 (6.1)	2 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)
(AAAAG)exp/(AAGGG)exp	Heterozygous carrier		5 (15.2)	3 (10.3)	2 (50.0)	0 (0.0)
(AAGGG)exp/(AAGGG)exp	Unknown		1 (3.0)	1 (3.6)	0 (0.0)	0 (0.0)
(AAGGG)exp/(AAGGG)exp	Heterozygous carrier		1 (3.0)	1 (3.6)	0 (0.0)	0 (0.0)
(AAGGG)exp/(AAGGG)exp	CANVAS confirmed		<b>2 (6.1)</b>	<b>2 (7.1)</b>	<b>0 (0.0)</b>	<b>2 (33.3)</b>

Abbreviations: CC: chronic cough; RCC: refractory chronic cough; RSF: Rydel-Seiffer fork; UCC: unexplained chronic cough. \*In bold, genetic results compatible with early CANVAS.

of CANVAS, the high frequency of carriers in the general population (0.7%)<sup>10</sup> would indicate that genetic study is especially important in order to provide genetic and reproductive counselling to family members.

We report prevalence rates for biallelic and monoallelic (AAGGG)exp in *RFC1* of 6.1% and 18.2%, respectively, higher than estimated for the general population. Our values are largely in agreement with those reported by Guillemainault et al.,<sup>25</sup> with the difference that their biallelic expansion rate was lower, and

monoallelic expansion rate was higher, than our rates. Interestingly, that same study described only female heterozygous carriers of (AAGGG)exp in *RFC1*, whereas one of the monoallelic mutation carriers in our study was a man; a possible explanation is that we studied a broader sample of patients, including a subgroup of patients whose CC resolved after treatment, to which this male patient belonged. Regarding candidates for genetic screening, mutation prevalence was greater in patients with RCC, and was also greater in patients with UCC, but only those with monoal-

**Table 3**  
 Chronic cough: etiological study results for complementary tests.

Complementary tests	Total	(AAGGG)exp in <i>RFC1</i>		
		Without	Monoallelic	Biallelic
<b>Chest X-ray</b>	<i>n</i> = 30	<i>n</i> = 23	<i>n</i> = 6	<i>n</i> = 1
No impairment, <i>n</i> (%)	29 (96.7)	22 (95.7)	6 (100)	1 (100)
Lung tumorkets, <i>n</i> (%)	1 (3.3)	1 (4.3)	0 (0)	0 (0)
<b>Chest CT</b>	<i>n</i> = 32	<i>n</i> = 24	<i>n</i> = 6	<i>n</i> = 2
No impairment, <i>n</i> (%)	15 (46.9)	12 (59)	1 (16.7)	2 (100)
Chronic bronchopathy signs, <i>n</i> (%)	7 (21.9)	4 (16.7)	3 (50.0)	0 (0)
Air trapping, <i>n</i> (%)	5 (15.6)	4 (16.7)	1 (16.7)	0 (0)
Lung emphysema, <i>n</i> (%)	4 (12.5)	4 (16.7)	0 (0)	0 (0)
Ground-glass lesions, <i>n</i> (%)	2 (6.3)	2 (8.3)	0 (0)	0 (0)
Cell bronchiolitis signs, <i>n</i> (%)	1 (3.1)	1 (4.2)	0 (0)	0 (0)
Lung tumorkets, <i>n</i> (%)	1 (3.1)	1 (4.2)	0 (0)	0 (0)
Bronchiectasis, <i>n</i> (%)	1 (3.1)	1 (4.2)	0 (0)	0 (0)
Tracheal diverticulum, <i>n</i> (%)	1 (3.1)	0 (0)	1 (16.7)	0 (0)
<b>Lung function tests</b>				
<b>Spirometry</b>	<i>n</i> = 32	<i>n</i> = 24	<i>n</i> = 6	<i>n</i> = 2
FEV <sub>1</sub> /FVC, % (SD)	74.9 (±7.5)	73.7 (±7.8)	78.3 (±5.4)	79.8 (±5.5)
FEV <sub>1</sub> , % (SD)	102.4 (±19.4)	102.0 (±19.5)	107.2 (±20.8)	92.0 (±19.8)
FVC, % (SD)	107.7 (±21.5)	108.3 (±22.2)	105.5 (±18.2)	90.5 (±27.6)
<b>Bronchodilator test</b>	<i>n</i> = 27	<i>n</i> = 21	<i>n</i> = 4	<i>n</i> = 2
Positive, <i>n</i> (%)	5 (18.5)	4 (19.0)	0 (0)	1 (50.0)
<b>Methacholine test</b>	<i>n</i> = 5	<i>n</i> = 3	<i>n</i> = 2	<i>n</i> = 0
Positive, <i>n</i> (%)	1 (20.0)	1 (33.3)	0 (0)	0 (0)
FENO, ppb (SD)	25.5 (±31)	28.5 (±35.9)	12.5 (±3.5)	22.1 (±9.8)
<b>Prick test aeroallergens</b>	<i>n</i> = 32	<i>n</i> = 24	<i>n</i> = 6	<i>n</i> = 2
Negative, <i>n</i> (%)	23 (74.2)	17 (70.8)	5 (83.3)	2 (100)
Dust mites <sup>a</sup> , <i>n</i> (%)	7 (22.5)	6 (25.0)	1 (16.7)	0 (0)
Plant tree, <i>n</i> (%)	2 (6.5)	2 (8.3)	0 (0)	0 (0)
Grasses, <i>n</i> (%)	1 (3.2)	1 (4.2)	0 (0)	0 (0)
<b>Blood workup</b>	<i>n</i> = 33	<i>n</i> = 25	<i>n</i> = 6	<i>n</i> = 2
Total IgE, kIU/L (SD)	62.3 (±93.8)	63.6 (±96.4)	74.5 (±102.9)	11.3 (±4.8)
Eosinophils, ×10 <sup>9</sup> /L (SD)	0.27 (±0.22)	0.27 (±0.22)	280 (±240.9)	260 (±282.8)
<b>Fibrooptic bronchoscopy</b>	<i>n</i> = 9	<i>n</i> = 8	<i>n</i> = 1	<i>n</i> = 0
No impairment, <i>n</i> (%)	2 (22.2)	2 (25.0)	0 (0)	0 (0)
Tracheomalacia, <i>n</i> (%)	5 (55.6)	4 (50.0)	1 (100)	0 (0)
ILO, <i>n</i> (%)	1 (11.1)	1 (12.5)	0 (0)	0 (0)
Lipophages >15% or UAO, <i>n</i> (%)	2 (22.2)	2 (25.0)	0 (0)	0 (0)
<b>Gastroscopy</b>	<i>n</i> = 13	<i>n</i> = 10	<i>n</i> = 2	<i>n</i> = 1
No impairment, <i>n</i> (%)	5 (38.5)	3 (30.0)	1 (50)	1 (100)
Gastritis, <i>n</i> (%)	5 (38.5)	4 (40.0)	1 (50)	0 (0)
Esophagitis, <i>n</i> (%)	1 (7.7)	1 (10.0)	0 (0)	0 (0)
Gastric fold atrophy, <i>n</i> (%)	1 (7.7)	1 (10.0)	0 (0)	0 (0)
Hiatal hernia, <i>n</i> (%)	1 (7.7)	1 (10.0)	0 (0)	0 (0)
<b>High-resolution esophageal manometry</b>				
<b>Motility alterations</b>	<i>n</i> = 20	<i>n</i> = 15	<i>n</i> = 3	<i>n</i> = 2
No impairment, <i>n</i> (%)	5 (25.0)	3 (20.0)	2 (66.7)	0 (0)
Hypercontractility tendency, <i>n</i> (%)	2 (10.0)	2 (13.3)	0 (0)	0 (0)
Tertiary waves, <i>n</i> (%)	1 (5.0)	0 (0)	1 (33.3)	0 (0)
>50% ineffective waves, <i>n</i> (%)	4 (20.0)	3 (20.0)	0 (0)	1 (50)
Ineffective motility, <i>n</i> (%)	8 (40.0)	7 (46.7)	0 (0)	1 (50)
<b>Sphincter/GEJ alterations</b>				
No impairment, <i>n</i> (%)	17 (85.0)	12 (80.0)	3 (100)	2 (100)
Atypical LES dysfunction, <i>n</i> (%)	1 (5.0)	1 (6.7)	0 (0)	0 (0)
GEJ obstruction, <i>n</i> (%)	2 (10.0)	2 (13.3)	0 (0)	0 (0)
Hiatal hernia, <i>n</i> (%)	2 (10.0)	2 (13.3)	0 (0)	0 (0)
<b>Esophageal 24-h pH</b>	<i>n</i> = 20	<i>n</i> = 15	<i>n</i> = 3	<i>n</i> = 2
Pathological GER, <i>n</i> (%)	9 (45.0)	7 (46.7)	1 (33.3)	1 (50.0)

Abbreviations: AHT: arterial hypertension; CT, computed tomography; FENO: exhaled fraction of nitric oxide; FEV<sub>1</sub>: forced expiratory volume in the first second; FVC: forced vital capacity; GEJ: gastroesophageal junction; GER: gastroesophageal reflux; ILO: inducible laryngeal obstruction; IgE: immunoglobulin E; kIU/L: kilo international units per litre; LES: lower esophageal sphincter; ppb: parts per billion; SD, standard deviation; UAO: upper airway obstruction.

<sup>a</sup> Dermatophagoides Pteronyssinus and D. Farinae.

elic expansion (50%; *n* = 2). The higher than expected prevalence of heterozygous (AAGGG)exp carriers is somewhat suggestive of a relationship with CC, although a more robust conclusions would require further studies.

Further evaluation of use of the Rydel-Seiffer fork for early detection of altered peripheral vibratory sensitivity seems appro-

prate, since 2 of the 6 patients with altered Rydel-Seiffer fork results had a positive result for early-stage CANVAS (biallelic (AAGGG)exp in *RFC1*, without neurological symptoms). The result of this simple and rapid test could serve as an early sign of CANVAS and enable patient selection for genetic screening, or, where a genetic study was not available, for referral to neurology.



**Table 4**  
Chronic cough impact on quality of life: questionnaire results.

Domain	Total (n = 27)	(AAGGG)exp in <i>RFC1</i>		
		Without (n = 20)	Monoallelic (n = 5)	Biallelic (n = 2)
<i>Discrete Emotions Questionnaire (DEQ)</i>				
Anger, mean (SD)	3.5 (±1.9)	3.4 (±2.0)	3.1 (±1.6)	5.5 (±1.1)
Disgust, mean (SD)	2.7 (±1.7)	2.6 (±1.6)	2.5 (±1.8)	4.3 (±1.8)
Fear, mean (SD)	2.8 (±1.9)	2.8 (±1.7)	2.1 (±1.7)	4.3 (±3.9)
Anxiety, mean (SD)	3.8 (±1.8)	4.1 (±1.7)	2.6 (±1.9)	4.4 (±2.7)
Sadness, mean (SD)	2.6 (±1.8)	2.7 (±1.8)	2.2 (±2.2)	3.0 (±1.8)
Desire, mean (SD)	1.7 (±0.8)	1.6 (±0.8)	1.7 (±1.0)	2.0 (±1.0)
Relaxation, mean (SD)	1.9 (±1.4)	1.6 (±1.1)	3.4 (±1.8)	1.5 (±1.2)
Happiness, mean (SD)	1.3 (±1.0)	1.3 (±1.1)	1.4 (±0.5)	1.1 (±0.2)
<i>Leicester Cough Questionnaire (LCQ)</i>				
Physical, mean (SD)	5.2 (±3.1)	5.5 (±3.6)	5.0 (±1.1)	4.0 (±0.7)
Psychological, mean (SD)	4.2 (±1.8)	4.1 (±1.6)	4.9 (±2.6)	2.5 (±1.9)
Social, mean (SD)	4.1 (±1.6)	3.9 (±1.7)	4.9 (±1.1)	3.5 (±0.7)
Total, mean (SD)	12.4 (±4.8)	12.1 (±5.3)	14.8 (±2.8)	10.0 (±0.5)
<i>Cough Severity Diary (CSD)</i>				
Frequency, mean (SD)	4.1 (±2.4)	4.4 (±2.4)	2.8 (±2.0)	4.0 (±3.0)
Intensity, mean (SD)	3.9 (±2.5)	4.0 (±2.7)	3.3 (±1.7)	4.8 (3.2±)
Disruptiveness, mean (SD)	1.9 (±2.4)	2.2 (±2.6)	0.8 (±1.2)	2.3 (±2.5)
Total, mean (SD)	5.6 (±11.1)	6.6 (±12.8)	2.3 (±1.5)	4.0 (±3.0)
<i>EQ-5D-5L</i>				
Total, mean (SD)	0.9 (±0.1)	1.0 (±1.3)	0.9 (±0.1)	0.6 (±0.2)
VAS, mean (SD)	62.5 (±24.9)	59.5 (±27.9)	76 (±11.4)	57.5 (±3.5)

Better-to-worse scores:  
DEQ = 1-7; EQ-5D-5L health state = 1 to <0; EQ-5D-5L VAS = 100-0; LCQ = 7-1 (total = 21-3); CSD = 1-10.

Abbreviations: EQ-5D-5L: European Quality of Life-5 Dimensions-5 Levels; VAS: visual analogue scale.

Because no statistically significant differences were found in the clinical or functional characteristics of patients with and without (AAGGG)exp in *RFC1*, we could not define in further detail which specific patients should undergo genetic testing. In the complementary tests, we only detected a statistically significant difference in relation to chest CT results: patients with no alteration more frequently presented with at least one (AAGGG)exp in *RFC1* ( $p = 0.03$ ). Although differences in the GER tests were not statistically significant, the 2 patients with biallelic (AAGGG)exp had impaired esophageal motility, suggesting that further study is needed in this regard to understand the mechanisms underlying CC.

The questionnaires, which confirmed a poorer QoL that especially affected the psychosocial sphere, corroborate the results of previously published studies.<sup>23</sup>

The main strength of our study is that it was supported by a multidisciplinary team of neurologists, geneticists, gastroenterologists, and pulmonologists. Limitations include the small sample size – due to the high cost associated with complementary testing and especially genetic studies of patients with CC – and the fact that the study was conducted in a single centre. Another limitation was not having access to long-read sequencing to determine if the heterozygous carrier of (AAGGG)exp/(AAAGG)exp had >500 repeats in the (AAAGG)exp allele. Likewise, we were unable to analyze the possible presence of recently described exceptionally pathogenic motifs associated with CANVAS (AGGGC, AAGGC y AGAGC), although no case has been described to date in Spain. Furthermore, patients with CC showing neurological symptoms compatible with CANVAS were not analyzed because this was a reason for exclusion, and a more exhaustive neurological study would possibly have identified other neurological causes of CC.

## Conclusion

Genetic screening for (AAGGG)exp in *RFC1* should be considered in specialized CC consultations, especially of patients with RCC and UCC. Also meriting consideration in these consultations is use of the Rydel-Seiffer fork, as a low-cost, rapid, and simple complementary

test that could identify which patients with CC should be referred for neurological and/or genetic studies. Finally, all CC studies it is important to alert to possible symptoms indicative of CANVAS, in the interest of early diagnosis and of benefit for both the patient and the health system.

## Authors' contributions

Substantial contributions to study conception and design of the study: EP, VP, LGQ, PG, LQ, FB, MR, ASC, ACL. Acquisition, analysis, and interpretation of data: EP. Drafting the article: EP, ACL. Revising the article critically for important intellectual content and final approval of the version to be submitted: all co-authors.

## Funding

This research was supported by a grant from the Spanish Society of Pulmonology and Thoracic Surgery (SEPAR) [1144, 2021]. Also for this research, EP was supported by the Catalan Society of Pulmonology (SOCAP) [IIBSP-TOS-2020-143, 2022], LGQ and PG by the Instituto de Salud Carlos III and co-funded by EDRF/FEDER, 'Una manera de hacer Europa' under grant from CIBERER [ACCI ER21PIAC705, 2020], and ASC by a grant from the Spanish Ministry of Universities [FPU20/06692, 2020].

## Conflicts of interests

EP has received, in the last 3 years, conference travel and attendance expenses from AstraZeneca, Sanofi, Gebro Pharma, Chiesi, FAES Farma, and GSK, and for talks at meetings sponsored by AstraZeneca and GSK, and has received funds/grants for research projects from state agencies, non-profit foundations, and GSK.

VP has received, in the last 3 years, honoraria for speaking at sponsored meetings from AstraZeneca, Boehringer-Ingelheim, Chiesi, Gebro, GSK, Luminova-Medwell, and Sanofi, has received assistance with travel expenses from AstraZeneca and Chiesi, and has acted as a consultant for AstraZeneca, Chiesi, GSK, and Menarini.

**LGQ** has received conference travel and attendance expenses and fees for talks at meetings sponsored by PTC Therapeutics, and has received funds/grants for research projects from state agencies. **PG, LQ, FB, MR** and **ASC** declare no conflicts of interest.

**ACL** has received, in the last 3 years, fees for talks at meetings sponsored by AstraZeneca, Zambón, Boehringer Ingelheim, Chiesi, SANOFI, GSK, MSD, Novartis, Orion Pharma, and Sanofi, has received travel and attendance expenses for conferences from Gebro, GSK, Novartis, AstraZeneca, and Sanofi, and has received funds/grants for research projects from several state agencies, non-profit foundations, and AstraZeneca and GSK.

#### Acknowledgements

The authors would like to thank Ailish M.J. Maher for translating and reviewing the article.

#### References

1. Irwin RS, Baumann MH, Bolser DC, Boulet LP, Braman SS, Brightling CE, et al. Diagnosis and management of cough executive summary: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2006;129 Suppl.15-23S. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.129.1.suppl15>.
2. Morice AH. Chronic cough: epidemiology. *Chron Respir Dis*. 2008;5:43-7. <http://dx.doi.org/10.1177/1479972307084252>.
3. Lai K, Chen R, Liu J, Huang K, Shen H, Kong L, et al. A prospective multicenter on causes of chronic cough in China. *Chest*. 2013;143:613-20. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.12-0441>.
4. Song WJ, Chang YS, Faruqi S, Kim JY, Kang MG, Kim S, et al. The global epidemiology of chronic cough in adults: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J*. 2015;45:1479-81. <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.00218714>.
5. McCarvey L, Gibson PG. What is chronic cough? Terminology. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019;7:1711-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaip.2019.04.012>.
6. Chung KF, McCarvey L, Mazzone S. Chronic cough and cough hypersensitivity syndrome. *Lancet Respir Med*. 2016;4:934-5. [http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(16\)30373-3](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(16)30373-3).
7. Kimber J, Mitchell D, Mathias CJ. Chronic cough in the Holmes-Adie syndrome: association in five cases with autonomic dysfunction. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1998;65:583-6. <http://dx.doi.org/10.1136/jnnp.65.4.583>.
8. Spring PJ, Kok C, Nicholson GA, Ing AJ, Spies JM, Bassett ML, et al. Autosomal dominant hereditary sensory neuropathy with chronic cough and gastro-oesophageal reflux: clinical features in two families linked to chromosome 3p22-p24. *Brain*. 2005;128 Pt 12:2797-810. <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awh653>.
9. Dupré M, Hermann R, Froment Tilikete C. Update on cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular areflexia syndrome (CANVAS). *Cerebellum*. 2021;20:687-700. <http://dx.doi.org/10.1007/s12311-020-01192-w>.
10. Cortese A, Simone R, Sullivan R, Vandrovicova J, Tariq H, Yau WY, et al. Biallelic expansion of an intronic repeat in RFC1 is a common cause of late-onset ataxia. *Nat Genet*. 2019;51:649-58. <http://dx.doi.org/10.1038/s41588-019-0372-4>.
11. Huin V, Coarelli G, Guemy C, Boluda S, Debs R, Mochel F, et al. Motor neuron pathology in CANVAS due to RFC1 expansions. *Brain*. 2022;145:2121-32. <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awab449>.
12. Tatineni S, Jarrouj G, Gomez CM, Baird BJ. Characterization of a chronic cough in cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome. *Laryngosc Investig Otolaryngol*. 2023;8:730-8. <http://dx.doi.org/10.1002/ljo2.1067>.
13. Infante J, García A, Serrano-Cárdenas KM, González-Aguado R, Gazulla J, de Lucas EM, et al. Cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome (CANVAS) with chronic cough and preserved muscle stretch reflexes: evidence for selective sparing of afferent Ia fibres. *J Neurol*. 2018;265:1454-62. <http://dx.doi.org/10.1007/s00415-018-8872-1>.
14. Szmulewicz DJ, McLean CA, MacDougall HG, Roberts L, Storey E, Halmagyi GM. CANVAS an update: clinical presentation, investigation and management. *J Vestib Res*. 2014;24(5-6):465-74. <http://dx.doi.org/10.3233/VES-140536>.
15. Cortese A, Reilly MM, Houlden H, RFC1 CANVAS/spectrum disorder. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LH, Grigg KW, Amemiya A, editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 2020. p. 1993-2023.
16. Sánchez-Tejerina D, Alvarez PF, Lainez E, Martínez VG, Santa-Cruz DI, Verdagué L, et al. RFC1 repeat expansions and cerebellar ataxia, neuropathy and vestibular areflexia syndrome: experience and perspectives from a neuromuscular disorders unit. *J Neurol Sci*. 2023;446:120565. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2023.120565>.
17. Palones E, Curto E, Plaza V, Gonzalez-Quereda L, Segarra-Casas A, Querrol L, et al. Clinical and functional characteristics, possible causes, and impact of chronic cough in patients with cerebellar ataxia, neuropathy, and bilateral vestibular areflexia syndrome (CANVAS). *J Neurol*. 2023. <http://dx.doi.org/10.1007/s00415-023-12001-9>.
18. Magy L, Chazelas P, Richard L, Deschamps N, Frachet S, Vallat JM, et al. Early diagnosis in cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular

- areflexia syndrome (CANVAS) by focusing on major clinical clues: beyond ataxia and vestibular impairment. *Biomedicines*. 2022;10:2046. <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines10082046>.
19. Benkirane M, Da Cunha D, Marelli C, Larrieu L, Renaud M, Varilh J, et al. RFC1 nonsense and frameshift variants cause CANVAS: clues for an unsolved pathophysiology. *Brain*. 2022;145:3770-5. <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awad280>.
20. Ronco R, Perini C, Currò R, Dominik N, Facchini S, Gennari A, et al. Truncating variants in RFC1 in cerebellar ataxia, neuropathy, and vestibular areflexia syndrome. *Neurology*. 2023;100:e543-54. <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.00000000000021486>.
21. Arteche-López A, Avila-Fernandez A, Damian A, Soengas-Gonda E, de la Fuente RP, Gómez PR, et al. New Cerebellar Ataxia, Neuropathy, Vestibular Areflexia Syndrome cases are caused by the presence of a nonsense variant in compound heterozygosity with the pathogenic repeat expansion in the RFC1 gene. *Clin Genet*. 2023;103:236-41. <http://dx.doi.org/10.1111/cge.14249>.
22. Dominik N, Magri S, Currò R, Abati E, Facchini S, Corbetta M, et al. Normal and pathogenic variation of RFC1 repeat expansions: implications for clinical diagnosis. *Brain*. 2023;146:5060-9. <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awad240>. Erratum in: *Brain*. 2024 Feb 1;147(2):e22.
23. Ueda N, Yakushiji A, Schellhout J, Tokita S, Kubo T. Impact of refractory and unexplained chronic cough on disease burden: a qualitative study. *BMC Pulm Med*. 2022;22:372. <http://dx.doi.org/10.1186/s12890-022-02171-z>.
24. Chamberlain SA, Garrod R, Douiri A, Masefield S, Powell P, Bücher C, et al. The impact of chronic cough: a cross-sectional European survey. *Lung*. 2015;193:401-8. <http://dx.doi.org/10.1007/s00408-015-9701-2>.
25. Guilleminault L, Chazelas P, Melloni B, Magdelaine C, Villeneuve T, Brouquières D, et al. Repeat expansions of RFC1 in refractory chronic cough: a missing piece of the puzzle? *Chest*. 2023;163:911-5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chest.2022.11.014>.
26. Turner RD, Hiron B, Cortese A, Birring SS. Chronic cough as a genetic neurological disorder? Insights from cerebellar ataxia with neuropathy and vestibular areflexia syndrome (CANVAS). *Lung*. 2023;201:511-9. <http://dx.doi.org/10.1007/s00408-023-00660-4>.
27. Rydel A, Seiffer W. Examinations of feelings of vibrations or so-called "bonesensitivity" (pallaesthesia). *Arch Psychiatr Nervenkr*. 1903;37:488-536.
28. Morice AH, Millqvist E, Bielskiene K, Birring SS, Dipcinigaitis P, Domingo Ribas C, et al. ERS guidelines on the diagnosis and treatment of chronic cough in adults and children. *Eur Respir J*. 2020;55:1901136. <http://dx.doi.org/10.1183/13993003.01136-2019>. Erratum in: *Eur Respir J*. 2020 Nov 19;56(5).
29. Miller MR, Crapo R, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, et al. ATS/ERS Task Force. General considerations for lung function testing. *Eur Respir J*. 2005;26:153-61. <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.00034505>.
30. Stanojevic S, Kaminsky DA, Miller MR, Thompson B, Aliverti A, Barjaktarevic I, et al. ERS/ATS technical standard on interpretive strategies for routine lung function tests. *Eur Respir J*. 2022;60:2101499. <http://dx.doi.org/10.1183/13993003.01499-2021>.
31. American Thoracic Society; European Respiratory Society. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide. 2005. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171:912-30. <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.200406-7105T>.
32. Gyawali CP, Kahrilas PJ, Savarino E, Zerbib F, Mion F, Smout AJPM, et al. Modern diagnosis of GERD: the Lyon Consensus. *Gut*. 2018;67:1351-62. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2017-314722>.
33. Yadlapati R, Kahrilas PJ, Fox MR, Bredenoord AJ, Prakash Gyawali C, Roman S, et al. Esophageal motility disorders on high-resolution manometry: Chicago classification version 4.0. *Neurogastroenterol Motil*. 2021;33:e14058. <http://dx.doi.org/10.1111/nmo.14058>. Erratum in: *Neurogastroenterol Motil*. 2022 Dec 5;:e14179.
34. Harmon-Jones C, Bastian B, Harmon-Jones E. The discrete emotions questionnaire: a new tool for measuring state self-reported emotions. *PLOS ONE*. 2016;11:e0159915. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0159915>.
35. Birring SS, Prudon B, Carr AJ, Singh SJ, Morgan MD, Pavord ID. Development of a symptom specific health status measure for patients with chronic cough: Leicester Cough Questionnaire (LCQ). *Thorax*. 2003;58:339-43. <http://dx.doi.org/10.1136/thorax.58.4.339>.
36. Muñoz G, Buxó M, de Gracia J, Olveira C, Martínez-García MA, Giron R, et al. Validation of a Spanish version of the Leicester Cough Questionnaire in non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Chron Respir Dis*. 2016;13:128-36. <http://dx.doi.org/10.1177/1479972316632005>.
37. Vernon M, Kline Leidy N, Nacson A, Nelsen L. Measuring cough severity: development and pilot testing of a new seven-item cough severity patient-reported outcome measure. *Ther Adv Respir Dis*. 2010;4:199-208. <http://dx.doi.org/10.1177/1753465810372526>.
38. Ramos-Gómez JM, Pinto Prades JL, Oppe M, Cabasés Hita JM, Rivero-Arias O. Estimación del conjunto de valores para los estados de salud del EQ-5D-5L basados en las preferencias de la población española. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud; 2014. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias: SESCS N° 2010/05.
39. Herdman M, Gudex C, Lloyd A, Janssen M, Kind P, Parkin D, et al. Development and preliminary testing of the new five-level version of EQ-5D (EQ-5D-5L). *Qual Life Res*. 2011;20:1727-36. <http://dx.doi.org/10.1007/s11136-011-9903-x>.



## 4.2 ARTICLE 2

---

### Clinical and functional characteristics, possible causes, and impact of chronic cough in patients with cerebellar ataxia, neuropathy, and bilateral vestibular areflexia syndrome (CANVAS)

Esther Palones<sup>a,b</sup>, Elena Curto<sup>a,b</sup>, Vicente Plaza<sup>a,b</sup>, Lidia Gonzalez-Quereda<sup>c,d</sup>, Alba Segarra-Casas<sup>c,d</sup>, Luis Querol<sup>e</sup>, Federico Bertoletti<sup>f</sup>, María José Rodríguez<sup>d</sup>, Pía Gallanoc<sup>d,g</sup>, Astrid Crespo-Lessmann<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Department of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>b</sup>Department of Respiratory Medicine, Institut de Recerca Sant Pau, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>c</sup>Genetics and Microbiology Department, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>d</sup>Genetics Department, Institut de Recerca Sant Pau, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>e</sup>Neuromuscular Disease Unit, Department of Neurology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>f</sup>Department of Digestive Pathology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>g</sup>Networked Biomedical Research Centre for Rare Diseases (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

*J Neurol.* 2024 Mar;271(3):1204-1212

doi: 10.1007/s00415-023-12001-9

Factor d'impacte: 6

Quartil: Q1





## Clinical and functional characteristics, possible causes, and impact of chronic cough in patients with cerebellar ataxia, neuropathy, and bilateral vestibular areflexia syndrome (CANVAS)

Esther Palones<sup>1,2</sup> · Elena Curto<sup>1,2</sup> · Vicente Plaza<sup>1,2</sup> · Lidia Gonzalez-Quereda<sup>3,4</sup> · Alba Segarra-Casas<sup>3,4</sup> · Luis Querol<sup>5</sup> · Federico Bertoletti<sup>6</sup> · María José Rodríguez<sup>3</sup> · Pía Gallano<sup>3,4,7</sup> · Astrid Crespo-Lessmann<sup>1,2</sup>

Received: 7 August 2023 / Revised: 9 September 2023 / Accepted: 11 September 2023  
© The Author(s) 2023

### Abstract

Cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular areflexia syndrome (CANVAS) is an hereditary autosomal recessive disease. Recent studies propose including chronic cough (CC) as a symptom of CANVAS. For 10 patients with CANVAS as genetically confirmed by biallelic expansion of the AAGG repeat motif (AAGGGexp) in intron 2 of replication factor C subunit 1 (*RFC1*), our aim was, as a multidisciplinary team, to describe clinical and functional characteristics and possible causes of CC following European Respiratory Society (ERS) recommendations, and to evaluate CC impact on quality of life (QoL) using self-administered questionnaires (Cough Severity Diary, Leicester Cough Questionnaire, Discrete Emotions Questionnaire, and EQ-5D-5L). In all 10 patients, the CC was a dry cough that developed several years prior to the neurological symptoms (mean 14.2 years); 7 patients had symptoms compatible with gastroesophageal reflux (GER), 5 with pathological GER diagnosed by 24-h esophageal pH testing, and 6 patients had impaired esophageal motility diagnosed by high-resolution esophageal manometry, most frequently ineffective peristalsis. Although further studies are required for confirmation, we conclude that CC may be a characteristic prodrome of CANVAS and may be related to GER and esophageal disorders. Furthermore, CC affects patients' QoL, especially in the psychosocial sphere.

**Keywords** Cerebellar ataxia · CANVAS · Gastroesophageal reflux · *RFC1* · Chronic cough

### Introduction

Cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular areflexia syndrome (CANVAS) is a rare neurological disorder of autosomal recessive inheritance. In 2019, for the first time, the underlying genetic basis of this syndrome was described as biallelic expansion of the AAGG repeat motif (AAGGGexp) in intron 2 of replication factor C subunit 1 (*RFC1*) [1]. It has recently been reported that, exceptionally, CANVAS may also be due to AAGGGexp expansion and a truncating variant in compound heterozygosity in the *RFC1* gene [2–4].

CANVAS is clinically characterized by combined adult-onset progressive ataxia, sensory neuropathy, and bilateral vestibular areflexia [5–7]. Also reported is a high prevalence (30–97%) of chronic cough (CC) [1, 8–11], which appears to precede the onset of neurological symptoms by decades (12–30 years) [12–14]. In fact, recent studies suggest that CC is a CANVAS-associated symptom that should guide CANVAS diagnosis if associated with at least 2 components

✉ Esther Palones  
epalones@santpau.cat

<sup>1</sup> Department of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>2</sup> Department of Respiratory Medicine, Sant Pau Biomedical Research Institute (IIB SANT PAU), Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>3</sup> Genetics Department, Institute of Biomedical Research Sant Pau (IIB SANT PAU), Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>4</sup> Genetics and Microbiology Department, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>5</sup> Neuromuscular Disease Unit, Department of Neurology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>6</sup> Department of Digestive Pathology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>7</sup> Networked Biomedical Research Centre for Rare Diseases (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

of the main triad (cerebellar ataxia, neuropathy, and vestibular areflexia) [10, 15], and also that CC should even be included as a symptom of CANVAS itself [13]. It has been recommended that patients with CANVAS be followed up by a multidisciplinary team that includes not only a neurologist, but also a pulmonologist and a gastroenterologist [14]. However, to our knowledge, no pathological studies on respiratory tissue in CANVAS cases.

As is the case for other neurological diseases such as Holmes-Adie syndrome [16] and type 1B sensory neuropathy [17], the mechanism underlying CC in CANVAS is currently unknown. CC is hypothesized to possibly be caused by impaired sensory innervation of upper respiratory tract or esophageal C fibres, resulting in their hypersensitivity [10, 13, 18]. The complex neurological mechanism behind CC involves a reflex arc made up of a peripheral and a central circuit.

The peripheral circuit is made up of afferent nerves, which activate or inhibit the cough mechanism through polymodal receptors, and efferent nerves, which activate the muscles involved in coughing. Subtypes of the afferent sensory nerves, part of the vagus nerve (10th cranial nerve), are the C fibres and A-delta fibres. C fibres are unmyelinated, have their cell bodies in the jugular ganglion, and are responsible for activating and inhibiting the cough reflex, while A-delta fibres are myelinated, have their cell bodies in the nodose ganglion, and are mostly responsible for activating the cough reflex [10, 19–21]. While peripheral terminations are believed to reside predominantly in the major airways (larynx, trachea, and large bronchi), terminations in the lung parenchyma cannot be ruled out, as several parenchymal lung diseases present with chronic cough [22]. Noxious stimuli, e.g., gastric fluid and cigarette smoke, are detected via receptors and ion channels (e.g., TRPV1 and P2X3) located in airway vagal afferent nerve endings [23]. Most C fibres are activated by irritant stimuli of inflammatory origin, while A-delta fibres are typically activated by mechanical and acidic stimuli [24]. As for the central circuit, this is made up of different regions such as the sensory cortical areas and the cingulate, insular, and orbitofrontal cortex [22]. Cough hypersensitivity, i.e., a coughing response to stimuli that do not usually produce cough, may be due to both peripheral and central mechanisms.

In the case of CANVAS, it is thought that AAGGexp in intron 2 of *RFC1* may cause CC by damaging vulnerable tissues like the C and A-delta fibres [21]. This nerve fibre damage may provoke an early change in esophageal motility that may lead to gastroesophageal reflux (GER) and consequently may cause CC—a hypothesis that may be supported by several studies that document GER in patients with CANVAS [10, 13, 14, 25].

Bearing in mind the possible link between CC and CANVAS, to our knowledge no protocolized study applying

European Respiratory Society (ERS) recommendations has been conducted by a multidisciplinary team that includes pulmonologists specializing in CC that has evaluated possible alterations and causes associated with CC and the impact on quality of life (QoL) in patients with CANVAS. Regarding a possible relationship between CT and CANVAS, Guilleminault et al. [26], in a recent study of the prevalence of repeat expansions of *RFC1* in patients with refractory CT, found that 16.2% ( $n=11$ ) and 8.8% ( $n=6$ ) of their patients had a biallelic mutation and a monoallelic mutation in *RFC1*, respectively.

Our aim was, as a multidisciplinary team composed of neurologists, pulmonologists, gastroenterologists, and geneticists, to identify clinical and functional characteristics of CC and its impact on QoL in patients with CANVAS.

## Materials and methods

### Study design and population

Our cross-sectional descriptive study included 10 male and female patients with CANVAS and experiencing CC, defined as a cough lasting > 8 weeks. The patients were referred to a specialist CC clinic from the neuromuscular disease unit of a Spanish tertiary hospital where they were being followed up for CANVAS, defined as the presence of the classical triad of cerebellar ataxia, neuropathy, and vestibular areflexia, genetically confirmed by the biallelic expansion of AAGGG in *RFC1*. Exclusion criteria were age < 30 years and > 90 years, tobacco use, and angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEI) use, except when smoking was given up or ACEI use was withdrawn, respectively, and provided CC persisted.

### Methodology

Sociodemographic, clinical, and functional variables were collected for the 10 patients included in our CC study, which applied the ERS [23] protocol: chest X-ray and/or chest computed tomography (CT), spirometry with bronchodilator test (BDT), fraction of exhaled nitric oxide (FENO), prick test, total blood immunoglobulin E (IgE) count, absolute peripheral eosinophil count, 24-h esophageal pH test (24-h pH), and high-resolution esophageal manometry (HREM). CC impact was assessed using the following instruments: Cough Severity Diary (CSD) [27], Leicester Cough Questionnaire (LCQ) [28, 29], Discrete Emotions Questionnaire (DEQ) [30], and European Quality of Life-5 Dimensions-5 Levels (EQ-5D-5L) [31–33].

Spirometry with BDT was performed using the Dato-spir-600 device (Sibelmed SA, Barcelona, Spain) by an

experienced technician and following American Thoracic Society/ERS (ATS/ERS) recommendations [34]. FENO was measured, applying ATS/ERS recommendations [35] and reference values from the literature [36], using electrochemical equipment (N-6008® SIR chemiluminescence sensor, Madrid, Spain) with precision  $\pm 1\%$ , a reading range of 0–500 parts per billion (ppb), and automatic results analysis. The prick test, based on the most prevalent standardized allergen extracts for our setting [37], was considered positive when the resulting papule was  $> 3$  mm. Total blood IgE, determined using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (UNICAP, Pharmacia, Uppsala, Sweden), was considered elevated for values  $> 160$  IU/mL. 24-h pH was measured with a Digitrapper™ Recorder (Medtronic, Minneapolis, USA), using a 1-electrode probe placed 5 cm from the upper margin of the lower esophageal sphincter (LES) or a pH-impedance testing probe (pH-Z); the data were analysed using Reflux Software™ version 6.1 (Medtronic, Minneapolis, USA), and results were interpreted following Lyon Consensus recommendations [38]. Data for HREM, performed with the ManoScan™ system (Medtronic, Minneapolis, USA), were analysed using ManoView™ ESO version 3.3 software (Medtronic, Minneapolis, USA), and the findings were interpreted according to the Chicago Classification version 4.0 [39].

#### Genetic study of biallelic AAGGG expansion in replication factor C subunit 1 (RFC1)

The patients' DNA samples were analysed using 2 genetic techniques: (1) amplification by standard polymerase chain reaction (PCR) with primers flanking the intron 2 fragment of the *RFC1* gene (flanking-PCR)—a technique that only allows alleles of normal size to be amplified (i.e., not those containing large expansions, irrespective of their composition); and (2) amplification by triplet repeat primed PCR in 3 independent reactions: RP-PCR1 to detect the (AAAAG)<sub>11</sub> and (AAAAG)<sub>exp</sub> alleles; RP-PCR2 to detect the (AAAGG)<sub>exp</sub> allele; and RP-PCR3 to detect the pathological (AAGGG)<sub>exp</sub> allele. The reference sequence used was NM\_002913.4.

#### Chronic cough-related quality of life in patients with CANVAS

CC-related QoL was investigated via responses to 3 hard-copy self-administered questionnaires, as follows:

1. CSD [27], designed to quantify cough severity in the previous 24 h, consists of 7 questions assessing frequency, intensity, and disruption, responded to on a Likert scale (0 = best possible score, 10 = worst possible score). The total score is obtained by summing

and averaging the scores for the 3 domains, resulting in maximum and minimum possible scores of 10 and 0, respectively.

2. LCQ [28, 29], designed to assess the impact of coughing in the physical, psychological, and social domains in the previous 2 weeks, consists of 19 questions, responded to on a Likert scale (1 = worst possible score, 7 = best possible score). The total score is obtained by summing the scores for the 3 domains, resulting in maximum and minimum possible scores of 3 and 21, respectively.
3. DEQ [30], created to determine the impact of coughing on 32 emotions classified in 8 different emotional states (anger, disgust, fear, anxiety, sadness, desire, relaxation, and happiness). Each item is scored separately on a Likert scale (1 = worst possible score, 7 = best possible score).

In addition to these cough-specific questionnaires, health-related QoL was assessed using the EQ-5D-5L, which consists of 2 parts. For the first part, containing 5 health status questions with 5 responses reflecting different levels of severity, a specific reference value is subtracted depending on the target population (in our case, the Spanish population) [32]. Scores range from  $< 0$  to 1, where 0 is equivalent to death, negative values reflect a status perceived to be worse than death, and 1 reflects full health [33]. The second part consists of a visual analogue scale (VAS), where 0 and 100 reflect the worst and best imaginable health states, respectively [31].

#### Ethical and legal aspects

The study complied with the principles of the Declaration of Helsinki (18th World Medical Assembly, 1964) and was approved by the Hospital Santa Creu i Sant Pau Clinical Research Ethics Committee (Barcelona). Patients provided their informed written consent prior to participation in the study and all study data were anonymized. The clinicaltrials.gov identifier is NCT04703595.

## Results

### Patient clinical and functional characteristics

The CC study was performed in 10 patients with CANVAS (5 men and 5 women) who met all the inclusion criteria and none of the exclusion criteria. Mean age was  $64.8 \pm 8.6$  years and mean body mass index (BMI) was  $24.4 \pm 3.2$  kg/m<sup>2</sup>. The most frequent comorbidities were clinical GER (70%,  $n = 7$ ), rhinitis (50%,  $n = 5$ ), depression (50%,  $n = 5$ ), and nocturnal sleep apnea (confirmed and undergoing study due to clinical suspicion in 40% ( $n = 4$ ) and 30% ( $n = 3$ ), respectively).



All patients reported dry-type CC (100%), with a mean duration of  $30.4 \pm 8.7$  years, a mean onset of  $34.4 \pm 9.9$  years previously, and a mean of  $14.2 \pm 7.9$  years before the onset of neurological symptoms consistent with CANVAS. Coughing tended to worsen with strong odours (60%,  $n=6$ ), speech (60%,  $n=6$ ), eating (50%,  $n=5$ ), and stress (50%,  $n=5$ ). Dyspnea (50%,  $n=5$ ) and urinary incontinence (40%,  $n=4$ ) were also frequently associated with coughing attacks.

In most patients (70%,  $n=7$ ), CC had been studied prior to the CANVAS diagnosis by pulmonologists (40%,  $n=4$ ), otorhinolaryngologists (30%,  $n=3$ ), or gastroenterologists (30%,  $n=3$ ). However, no cause was identified for 4 of the patients, and treatment failed for 3 patients for whom a possible cause was identified. Follow-up was lost in 71.4% ( $n=5$ ) of those CC cases.

#### Possible causes of chronic cough

Table 1 reports the full CC study results for the 10 patients with CANVAS. A single patient (#10) presented significant radiological and spirometry abnormalities, leading to a diagnosis of pleuro-parenchymal fibroelastosis. Notable at the lung function level was that 2 patients (#2 and #3) with spirometry in the normal range had a positive BDT. Only patient #3 showed partial improvement in response to the BDT, and this same patient also had associated peripheral eosinophilia and a positive prick test for dust mites and pollens, all compatible with a diagnosis of asthma.

Over half the patients (#2, #3, #4, #5, #7, and #9) showed some degree of esophageal motility impairment, ranging from  $\geq 50\%$  of ineffective sequences (patient #7) to failed sequences (patient #4). The most frequent alteration was ineffective esophageal motility without contraction reserve (patients #2, #3, and #9). In patients #2, #4, and #8, 24-h pH testing indicated pathological GER, although none of these patients indicated that the GER was related to coughing symptoms during testing.

#### Chronic cough impact on quality of life

Table 2 reports results for CC impact on QoL in the 10 patients with CANVAS. The mean total CSD score was  $3.3 \pm 1.9$ , and the impact was greater for the frequency ( $3.47 \pm 2.2$ ) and intensity ( $2.85 \pm 1.9$ ) domains than for the disruption domain. The mean total LCQ score was  $13.1 \pm 0.2$ , with a greater impact in the psychological domain ( $3.6 \pm 1.1$ ), followed by the social domain ( $4.4 \pm 1.5$ ) and the physical domain ( $5.1 \pm 1.3$ ). The DEQ domains most affected by CC were anxiety ( $3.2 \pm 1.6$ ) and anger ( $2.9 \pm 1.8$ ). As for the EQ-5D-5L, the mean health-related score was  $0.8 \pm 0.1$  and the mean VAS score was  $62 \pm 12.5$ .

#### Discussion

The main characteristics of CC in our patients with genetically confirmed CANVAS were that the cough was dry, appeared several years before the neurological symptoms of CANVAS, especially affected psychosocial QoL, and was mainly associated with pathological GER and esophageal motility abnormalities.

The fact that the CC was dry is a finding consistent with previous studies reporting dry spasmodic cough in a high percentage (50–60%) of patients with CANVAS [8, 12, 14, 39]. It has also been documented that coughing worsens in response to stimuli that do not normally produce cough, such as speech and stress [12, 13]. This worsening of the cough in response to stimuli that should not provoke cough may be compatible with cough hypersensitivity syndrome, a hypothesized cause of CC in patients with CANVAS that results from impaired nervous regulation of the cough reflex arc caused by innocuous irritants [10, 13, 18].

The questionnaires pointed to a negative impact of CC on the QoL of our patients with CANVAS, corroborating previous studies reporting an association between CC and impaired QoL [41–47]; note, however, that to date, the specific impact on patients with CANVAS has not been documented. The fact that the psychosocial domain was most affected by CC ( $4.4 \pm 1.5$  and  $5.1 \pm 1.3$  for the LCQ psychological and social domains, respectively) corroborates a prospective study by French et al. [41] performed on 39 patients with CC of any etiology. Anxiety and anger were the most prevalent emotions ( $3.2 \pm 1.6$  and  $2.9 \pm 1.8$  for DEQ anxiety and anger, respectively), corroborating a study by Ueda et al. [44] of 21 patients with refractory or unexplained CC. The fact that health-related QoL in our patients was also diminished by CC (EQ-5D-5L  $0.8 \pm 0.1$ ) largely corroborates the cross-sectional studies by Won et al. [45], based on analysis of the Korean National Health and Nutrition Examination Survey 2010–2016 database, and by Kubo et al. [46], based on surveys of 1136 patients, half with CC and the other half without CC.

Regarding the complementary tests, notable were the findings of compatibility with asthma (20%) and GER (50%), corroborating results for other series of patients [10, 11, 13, 14]. However, treatment did not completely resolve coughing in our patients, while pathological GER episodes detected by 24-h pH testing were not related to cough but to episodes of heartburn. The fact that the CC remained unresolved despite suitable study and targeted treatment would suggest that refractory CC is a characteristic and persistent pneumological symptom in patients with CANVAS. For this reason, it is important to study CC in all patients with CANVAS, since targeted treatment may

**Table 1** Patients with CANVAS: complementary CC test results

Case #	Sex	Age	Chest x-ray	Chest CT	Spirometry	BDT	FENO (ppb)	Prick test (aer-allergens)	Eosinophils ( $\times 10^9/L$ ) RV	IgE (kIU/L) RV	24-h pH	HREM
#1	M	73	No alterations of note	Chronic bronchopathy /mild lung emphysema	FEV1/FVC (%) 70.6 FEV1 2.33L 86% FVC 3.30L 93%	Negative	N/A	Negative	0.17	28.1	N/A	N/A
#2	F	73	No alterations of note	Slight esophageal distension	FEV1/FVC (%) 69.9 FEV1 1.74L 89% FVC 2.50L 102%	Positive	N/A	Negative	0.90	29.7	Pathological GER (non-cough related)	Ineffective esophageal motility/ no contraction reserve
#3	M	65	No alterations of note	No alterations of note	FEV1/FVC (%) 82.1 FEV1 2.50L 102% FVC 3.04L 98%	Positive	N/A	Dust mites/ pollen	0.56	142	Non-acid GER	Ineffective esophageal motility/ no contraction reserve
#4	F	67	N/A	No alterations of note	FEV1/FVC (%) 72 93% FVC 3.17L 101%	Negative	10	Negative	0.11	N/A	Pathological GER (non-cough related)	No esophageal motility/ no contraction reserve
#5	M	66	No alterations of note	Left-lung organizing pneumonia	FEV1/FVC (%) 78.4 FEV1 3.31L 98% FVC 4.26L 102%	Negative	N/A	Negative	0.60	N/A	N/A	No esophageal peristalsis/ LES hypotonia
#6	F	47	N/A	LLL polylobate ground-glass opacity	FEV1/FVC (%) 78.4 FEV1 2.58L 91% FVC 3.27L 93%	Negative	4	Dust mites	0.40	N/A	Not evaluable	UES hypertonia/ small hiatal hernia
#7	F	52	No alterations of note	No alterations of note	FEV1/FVC (%) 71.8 106% FVC 4.08L 115%	Negative	N/A	Negative	0.80	N/A	Pathological non-acid GER	$\geq 50\%$ ineffective waves/ UES hypertonia with diminished relaxation

Table 1 (continued)

Case	Sex	Age	Chest X-ray	Chest CT	Spirometry	BDT	FENO (ppb)	Prick test (aeroallergens)	Eosinophils ( $\times 10^6/L$ )	IgE (kU/L)	RV	24-h pH	HREM
#8	F	70	Apical pleural calcifications	Apical pleural sequelae probably from past TB	FEV1/FVC (%) 86.3 FEV1 2.39L FVC 2.77L 123% 103%	Negative	67	Dust mites	0.83	54	0.0–160.0	Pathological GER (non-cough related)	Obstructed esophageal gastric junction outflow
#9	M	66	Hyperinflation signs	Inflammatory small airway disease and air trapping signs	FEV1/FVC (%) 64.8 FEV1 2.49L FVC 3.85L 99% 87%	Negative	N/A	Negative	0.20	N/A	N/A	N/A	Ineffective esophageal motility/ no contraction reserve/ small hiatal hernia
#10	M	69	Calcified granulomas	Apical pleural thickening associated with fibrotic alterations	FEV1/FVC (%) 77.1 FEV1 2.02L FVC 2.62L 65%	Negative	N/A	Negative	0.11	31.8	0.0–160.0	Pathological non-acid GER	Non-altered lung function

24-h pH, 24-h esophageal pH test; BDT, bronchodilator test; CANVAS, cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular areflexia syndrome; CC, chronic cough; CT, computed tomography; F, female; FENO, exhaled fraction of nitric oxide; FEV1, forced expiratory volume in the first second; FVC, forced vital capacity; GER, gastroesophageal reflux; HREM, high-resolution esophageal manometry; IgE, immunoglobulin E; kU/L, kilo international units per litre; LES, lower esophageal sphincter; LLL, left lower lobe; M, male; N/A, not available; RV, reference value; TB, tuberculosis; UES, upper esophageal sphincter

**Table 2** Patients with CANVAS: questionnaire results for CC impact on quality of life

Cough severity diary (CSD)		Discrete Emotions Questionnaire (DEQ)	
Domain	Score	Domain	Score
Frequency	3.47 ( $\pm$ 2.2)	Anger	2.9 ( $\pm$ 1.8)
Intensity	2.85 ( $\pm$ 1.9)	Disgust	1.7 ( $\pm$ 1.0)
Disruption	1.85 ( $\pm$ 1.6)	Fear	2.5 ( $\pm$ 1.7)
Total	3.3 ( $\pm$ 1.9)	Anxiety	3.2 ( $\pm$ 1.6)
Leicester Cough Questionnaire (LCQ)			
Domain	Score		
Physical	5.1 ( $\pm$ 1.3)	Sadness	2.2 ( $\pm$ 1.7)
Psychological	3.6 ( $\pm$ 1.1)	Desire	1.7 ( $\pm$ 0.7)
Social	4.4 ( $\pm$ 1.5)	Relaxation	2 ( $\pm$ 1.1)
Total	13.1 ( $\pm$ 2)	Happiness	1.7 ( $\pm$ 1.9)
		<i>EQ-5D-5L</i>	
		VAS	62 ( $\pm$ 12.5)
		Health status	0.8 ( $\pm$ 0.1)

Better-to-worse scores: CSD = 1–10; LCQ = 7–1 (total = 21–3); DEQ = 1–7; EQ-5D-5L VAS = 100–0 and EQ-5D-5L health status = 1–<0

CANVAS, cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular areflexia syndrome; CC, chronic cough; EQ-5D-5L, European Quality of Life-5 Dimensions-5 Levels; VAS, visual analogue scale

reduce intensity and frequency, and may even throw light on future targeted treatments for refractory CC.

As a possible cause of CC, another pulmonary disease, namely, pleuro-parenchymal fibroelastosis, was detected by radiology in a single patient (10% of the included patients) and required specific respiratory monitoring. This finding would suggest that patients with CANVAS require a multidisciplinary approach that includes a protocolized CC study based on assessment by a CC specialist from within the pulmonology discipline.

The fact that CC developed, on average,  $14.2 \pm 7.9$  years before the onset of any CANVAS symptom in our patients highlights the importance of early diagnosis of this progressive and disabling neurological disease, suggesting that CANVAS, as an hereditary autosomal recessive disease, would benefit from early genetic counselling. CC should also be properly included as a symptom of CANVAS [13], rather than only be taken into account when associated with 2 of the triad of symptoms (cerebellar ataxia, neuropathy, and vestibular areflexia) [10, 15].

A study strength is, as far as we are aware, that this is the first multidisciplinary study of patients with CANVAS that has involved neurologists, geneticists, and gastroenterologists, as well as pulmonologists and CC specialists. An additional strength is that the study applied current ERS recommendations. The main limitation is the small sample of just 10 patients, explained by both the low prevalence of CANVAS and the lack of neurological tests to determine CC pathophysiology in patients with CANVAS and to study the cough reflex arc. Precise data on CANVAS prevalence are unavailable, although prevalence is estimated to be  $< 1/1,000,000$  in the general population [48].

## Conclusion

Although further studies are required for confirmation, CC onset up to decades before the development of neurological symptoms points to CC as a key early diagnostic clue for CANVAS. The importance of a multidisciplinary CC study of patients with genetically confirmed CANVAS is underlined by the fact that these patients present with a dry cough several years before the emergence of neurological symptoms, and that, in most patients, this cough, which especially affects psychosocial QoL, appears to be related to pathological GER and impaired esophageal motility. A multidisciplinary team of specialists is also necessary to confirm or rule out possible alternative causes of CC (such as asthma, GER, or pulmonary fibrosis) and to develop and provide targeted treatment for CC.

**Funding** Open Access Funding provided by Universitat Autònoma de Barcelona. This research was supported by a grant from the Spanish Society of Pulmonology and Thoracic Surgery (SEPAR) and the Catalan Society of Pulmonology (SOCAP). LGQ and PG were supported in this research by Instituto de Salud Carlos III and co-funded by EDRF/FEDER, 'Una manera de hacer Europa' under grant ACCI ER21PIAC705 from CIBERER. ASC was supported by grant FPU20/06692 from the Spanish Ministry of Universities.

## Declarations

**Conflict of interest** EP has received conference travel and attendance expenses from Gebro Pharma, Chiesi, FAES Farma, Rovi, GlaxoSmithKline, AstraZeneca, and Sanofi, and funds/grants for research projects from state agencies, non-profit foundations, and Alpha Bioresearch. ECS reports non-financial support from ALK, AstraZeneca, Novartis, and Menarini, personal fees from Boehringer-Ingelheim and TEVA, and personal fees/non-financial support from Chiesi outside

the submitted work. VP in the last three years received honoraria for speaking at sponsored meetings from AstraZeneca, Boehringer-Ingelheim, Chiesi, Gebro, GSK, Luminova-Medwell and Sanofi. Received help assistance to meeting travel from AstraZeneca and Chiesi. Act as a consultant for AstraZeneca, Chiesi, GSK and Menarini. LGQ has received conference travel and attendance expenses and fees for talks at meetings sponsored by PTC Therapeutics, and has received funds/grants for research projects from state agencies. PG, LQ, FB, MR and ASC declare that they have no conflicts of interest. AC has received fees in the last 3 years for talks at meetings sponsored by AstraZeneca, Zambón, Boehringer Ingelheim, Chiesi, GlaxoSmithKline, MSD, Novartis, Orion Pharma, and Sanofi, conference travel and attendance expenses from Gebro, GlaxoSmithKline, and Novartis, and funds/grants for research projects from several state agencies, non-profit foundations, AstraZeneca, and GlaxoSmithKline.

**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

## References

- Cortese A, Simone R, Sullivan R, Vandrovčova J, Tariq H, Yau WY, Humphrey J, Jaunmuktane Z, Sivakumar P, Polke J, Ilyas M, Tribollet E, Tomaselli PJ, Devigili G, Callegari I, Versino M, Salspietro V, Efthymiou S, Kaski D, Wood NW, Andrade NS, Buglo E, Rebelo A, Rossor AM, Bronstein A, Fratta P, Marques WJ, Züchner S, Reilly MM, Houlden H (2019) Biallelic expansion of an intronic repeat in *RFC1* is a common cause of late-onset ataxia. *Nat Genet* 51(4):649–658
- Benkirane M, Da Cunha D, Marelli C, Larriue L, Renaud M, Varilh J, Pointaux M, Baux D, Ardouin O, Vangoethem C, Taulan M, Dumas Dupont B, Bergougnoux A, Corbillé AG, Cossée M, Juntas Morales R, Tuffery-Giraud S, Koenig M, Isidor B, Vincent MC (2022) *RFC1* nonsense and frameshift variants cause CANVAS: clues for an unsolved pathophysiology. *Brain* 145(11):3770–3775
- Ronco R, Perini C, Currò R, Dominik N, Facchini S, Gennari A, Simone R, Stuart S, Nagy S, Vegezzi E, Quartesan I, El-Saddig A, Lavin T, Tucci A, Szymura A, Novis De Farias LE, Gary A, Delfeld M, Kandikatla P, Niu N, Tawde S, Shaw J, Polke J, Reilly MM, Wood NW, Crespian E, Gomez C, Chen JYH, Schmahmann JD, Gosal D, Houlden H, Das S, Cortese A (2023) Truncating variants in *RFC1* in cerebellar ataxia, neuropathy, and vestibular areflexia syndrome. *Neurology* 100(5):e543–e554
- Arteche-López A, Avila-Fernandez A, Damian A, Soengas-Gonda E, de la Fuente RP, Gómez PR, Merlo JG, Burgos LH, Fernández CC, Rosales JML, Martínez JFG, Quesada-Espinosa JF, Corton M, Guerrero-Molina MP (2023) New cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome cases are caused by the presence of a nonsense variant in compound heterozygosity with the pathogenic repeat expansion in the *RFC1* gene. *Clin Genet* 103(2):236–241
- Szmulewicz DJ, Waterston JA, Halmagyi GM, Mossman S, Chancellor AM, McLean CA, Storey E (2011) Sensory neuropathy as part of the cerebellar ataxia neuropathy vestibular areflexia syndrome. *Neurology* 76(22):1903–1910
- Szmulewicz DJ, Roberts L, McLean CA, MacDougall HG, Halmagyi GM, Storey E (2016) Proposed diagnostic criteria for cerebellar ataxia with neuropathy and vestibular areflexia syndrome (CANVAS). *Neurol Clin Pract* 6(1):61–68
- Cortese A, Currò R, Vegezzi E, Yau WY, Houlden H, Reilly MM (2022) Cerebellar ataxia, neuropathy and vestibular areflexia syndrome (CANVAS): genetic and clinical aspects. *Pract Neurol* 22(1):14–18
- Huin V, Coarelli G, Guemy C, Boluda S, Debs R, Mochel F, Stojkovic T, Grabli D, Maisonobe T, Gaymard B, Lenglet T, Tard C, Davion JB, Sablonnière B, Monin ML, Ewencyzk C, Viala K, Charles P, Le Ber I, Reilly MM, Houlden H, Cortese A, Scilhean D, Brice A, Durr A (2022) Motor neuron pathology in CANVAS due to *RFC1* expansions. *Brain* 145(6):2121–2132
- Cortese A, Tozza S, Yau WY, Rossi S, Beecroft SJ, Jaunmuktane Z, Dyer Z, Ravenscroft G, Lamont PJ, Mossman S, Chancellor A, Maisonobe T, Pereon Y, Cauquil C, Colnaghi S, Mallucci G, Currò R, Tomaselli PJ, Thomas-Black G, Sullivan R, Efthymiou S, Rossor AM, Laurá M, Pipis M, Horga A, Polke J, Kaski D, Horvath R, Chinnery PF, Marques W, Tassorelli C, Devigili G, Leonardi L, Wood NW, Bronstein A, Giunti P, Züchner S, Stojkovic T, Laing N, Roxburgh RH, Houlden H, Reilly MM (2020) Cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome due to *RFC1* repeat expansion. *Brain* 143(2):480–490
- Dupré M, Hermann R, Froment Tilikete C (2021) Update on cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular areflexia syndrome (CANVAS). *Cerebellum* 20(5):687–700
- Currò R, Salvalaggio A, Tozza S, Gemelli C, Dominik N, Galassi Deforie V, Magrinelli F, Castellani F, Vegezzi E, Businaro P, Callegari I, Pichiechio A, Cosentino G, Alfonsi E, Marchioni E, Colnaghi S, Gana S, Valente EM, Tassorelli C, Efthymiou S, Facchini S, Carr A, Laura M, Rossor AM, Manji H, Lunn MP, Pegoraro E, Santoro L, Grandis M, Bellone E, Beauchamp NJ, Hadjivassiliou M, Kaski D, Bronstein AM, Houlden H, Reilly MM, Mandich P, Schenone A, Manganelli F, Briani C, Cortese A (2021) *RFC1* expansions are a common cause of idiopathic sensory neuropathy. *Brain* 144(5):1542–1550
- Magy L, Chazelas P, Richard L, Deschamps N, Frachet S, Vallat JM, Magdelaine C, Favreau F, Bessaguet F, Lia AS, Duchesne M (2022) Early diagnosis in cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome (CANVAS) by focusing on major clinical clues: beyond ataxia and vestibular impairment. *Biomedicines* 10(8):2046
- Infante J, García A, Serrano-Cárdenas KM, González-Aguado R, Gazulla J, de Lucas EM, Berciano J (2018) Cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome (CANVAS) with chronic cough and preserved muscle stretch reflexes: evidence for selective sparing of afferent Ia fibres. *J Neurol* 265(6):1454–1462
- Cortese A, Reilly MM, Houlden H (2020) *RFC1* CANVAS/spectrum disorder. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaz G, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, Amemiya A, editors. *GeneReviews*® [Internet]. University of Washington, Seattle; 1993–2023
- Çakar A, Şahin E, Tezel S, Candayan A, Samancı B, Battaloğlu E, Başak AN, Bilgiç B, Hanağası H, Durmuş H, Parman Y (2022) Cerebellar ataxia, neuropathy and vestibular areflexia syndrome (canvas): an important cause of late-onset ataxia with unique clinical features. *Acta Neurol Belg* 122(4):939–945
- Kimber J, Mitchell D, Mathias CJ (1998) Chronic cough in the Holmes-Adie syndrome: association in five cases with autonomic dysfunction. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 65(4):583–586
- Spring PJ, Kok C, Nicholson GA, Ing AJ, Spies JM, Bassett ML, Cameron J, Kerlin P, Bowler S, Tuck R, Pollard JD (2005) Autosomal dominant hereditary sensory neuropathy with chronic cough

- and gastro-oesophageal reflux: clinical features in two families linked to chromosome 3p22-p24. *Brain* 128(Pt 12):2797–2810
18. Szmulewicz DJ, McLean CA, MacDougall HG, Roberts L, Storey E, Halmagyi GM (2014) CANVAS an update: clinical presentation, investigation and management. *J Vestib Res* 24(5–6):465–474
  19. Pacheco A, de Diego A, Domingo C, Lamas A, Gutierrez R, Naberan K, Garrigues V, López Vime R (2015) Chronic cough. *Arch Bronconeumol* 51(11):579–589
  20. Mazzone SB, Udem BJ (2016) Vagal afferent innervation of the airways in health and disease. *Physiol Rev* 96(3):975–1024
  21. Canning BJ, Mazzone SB, Meeke SN, Mori N, Reynolds SM, Udem BJ (2004) Identification of the tracheal and laryngeal afferent neurones mediating cough in anaesthetized guinea-pigs. *J Physiol* 557(Pt 2):543–558
  22. Chung KF, McGarvey L, Song WJ, Chang AB, Lai K, Canning BJ, Birring SS, Smith JA, Mazzone SB (2022) Cough hypersensitivity and chronic cough. *Nat Rev Dis Prim* 8(1):45
  23. Morice AH, Millqvist E, Bieksiene K, Birring SS, Dicipinigitis P, Domingo Ribas C, Hilton Boon M, Kantar A, Lai K, McGarvey L, Rigau D, Saita I, Smith J, Song WJ, Tonia T, van den Berg JWK, van Manen MJG, Zacharasiewicz A (2020) ERS guidelines on the diagnosis and treatment of chronic cough in adults and children. *Eur Respir J* 55(1):1901136
  24. McAlexander MA, Myers AC, Udem BJ (1999) Adaptation of guinea-pig vagal airway afferent neurones to mechanical stimulation. *J Physiol* 521(Pt 1):239–247
  25. Sánchez-Tejerina D, Alvarez PF, Laínez E, Martínez VG, Santa-Cruz DI, Verdaguer L, Gratacòs M, Seoane JL, Raguier N, Hernández-Vara J, Llauradó A, Sotoca J, Salvado M, Arumi EG, Tizano EF, Juntas R (2023) *RFC1* repeat expansions and cerebellar ataxia, neuropathy and vestibular areflexia syndrome: experience and perspectives from a neuromuscular disorders unit. *J Neurol Sci* 446:120565
  26. Guillemainault L, Chazelas P, Melloni B, Magdelaine C, Ville-neuve T, Brouquières D, Lia AS, Magy L (2023) Repeat expansions of *RFC1* in refractory chronic cough: a missing piece of the puzzle? *Chest* 163(4):911–915
  27. Vernon M, Kline Leidy N, Nacson A, Nelsen L (2010) Measuring cough severity: development and pilot testing of a new seven-item cough severity patient-reported outcome measure. *Ther Adv Respir Dis* 4(4):199–208
  28. Birring SS, Prudon B, Carr AJ, Singh SJ, Morgan MD, Pavord ID (2003) Development of a symptom specific health status measure for patients with chronic cough: Leicester Cough Questionnaire (LCQ). *Thorax* 58(4):339–343
  29. Muñoz G, Buxó M, de Gracia J, Oliveira C, Martínez-García MA, Giron R, Polverino E, Alvarez A, Birring SS, Vendrell M (2016) Validation of a Spanish version of the Leicester Cough Questionnaire in non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Chron Respir Dis* 13(2):128–136
  30. Harmon-Jones C, Bastian B, Harmon-Jones E (2016) The discrete emotions questionnaire: a new tool for measuring state self-reported emotions. *PLoS ONE* 11(8):e0159915
  31. Herdman M, Gudex C, Lloyd A, Janssen M, Kind P, Parkin D, Bonsel G, Badiá X (2011) Development and preliminary testing of the new five-level version of EQ-5D (EQ-5D-5L). *Qual Life Res* 20(10):1727–1736
  32. Ramos-Goñi JM, Pinto Prades JL, Oppe M, Cabasés Hita JM, Rivero-Arias O (2010) Estimación del conjunto de valores para los estados de salud del EQ-5D-5L basados en las preferencias de la población española. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud; 2014. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias: SESCO N° 2010/05
  33. EuroQol Research Foundation (2019) EQ-5D-5L UserGuide. <https://euroqol.org/publications/user-guides>. Accessed 11 Aug 2022
  34. Miller MR, Crapo R, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Enright P, van der Grinten CP, Gustafsson P, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Navajas D, Pedersen OF, Pellegrino R, Viegi G, Wanger J (2005) ATS/ERS Task Force. General considerations for lung function testing. *Eur Respir J* 1:153–161
  35. American Thoracic Society, European Respiratory Society (2005) ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 171:912–930
  36. Fortuna AM, Feixas T, Casan P (2007) Measurement of fraction of exhaled nitric oxide with the portable NIOX-MINO monitor in healthy adults. *Arch Bronconeumol* 43(3):176–179
  37. (1988) Report on skin test standardization. The Committee on Skin Test Standardization of The Netherlands Society of Allergology. *Clin Allergy* 18(3):305–310
  38. Gyawali CP, Kahrilas PJ, Savarino E, Zerbib F, Mion F, Smout AJPM, Vaezi M, Sifrim D, Fox MR, Vela MF, Tutuian R, Tack J, Bredenoord AJ, Pandolfino J, Roman S (2018) Modern diagnosis of GERD: the Lyon Consensus. *Gut* 67(7):1351–1362
  39. Yadlapati R, Kahrilas PJ, Fox MR, Bredenoord AJ, Prakash Gyawali C, Roman S, Babaei A, Mittal RK, Rommel N, Savarino E, Sifrim D, Smout A, Vaezi MF, Zerbib F, Akiyama J, Bhatia S, Bor S, Carlson DA, Chen JW, Cisternas D, Cock C, Coss-Adame E, de Bortoli N, Defilippi C, Fass R, Ghoshal UC, Gonlachanvit S, Hani A, Hebbard GS, Wook Jung K, Katz P, Katzka DA, Khan A, Kohn GP, Lazarescu A, Lenglinger J, Mittal SK, Omari T, Park MI, Penagini R, Pohl D, Richter JE, Serra J, Sweis R, Tack J, Tatum RP, Tutuian R, Vela MF, Wong RK, Wu JC, Xiao Y, Pandolfino JE (2021) Esophageal motility disorders on high-resolution manometry: Chicago classification version 4.0<sup>®</sup>. *Neurogastroenterol Motil* 33(1):e14058
  40. Dominik N, Galassi Deforie V, Cortese A, Houlden H (2021) CANVAS: a late onset ataxia due to biallelic intronic AAGGG expansions. *J Neurol* 268(3):1119–1126
  41. French CL, Irwin RS, Curley FJ, Krikorian CJ (1998) Impact of chronic cough on quality of life. *Arch Intern Med* 158(15):1657–1661
  42. Emilsson ÓI (2022) The burden and impact of chronic cough in severe disease. *Curr Opin Support Palliat Care* 16(4):183–187
  43. Won HK, Song WJ (2021) Impact and disease burden of chronic cough. *Asia Pac Allergy* 11(2):e22
  44. Ueda N, Yakushiji A, Schellhout J, Tokita S, Kubo T (2022) Impact of refractory and unexplained chronic cough on disease burden: a qualitative study. *BMC Pulm Med* 22(1):372
  45. Won HK, Lee JH, An J, Sohn KH, Kang MG, Kang SY, Morice AH, Cho SH, Song WJ (2020) Impact of chronic cough on health-related quality of life in the Korean adult general population: the Korean National Health and Nutrition Examination Survey 2010–2016. *Allergy Asthma Immunol Res* 12:964–979
  46. Kubo T, Tobe K, Okuyama K, Kikuchi M, Chen Y, Schellhout J, Abe M, Tokita S (2021) Disease burden and quality of life of patients with chronic cough in Japan: a population-based cross-sectional survey. *BMJ Open Respir Res* 8:e000764
  47. Chamberlain SA, Garrod R, Douiri A, Masefield S, Powell P, Bücher C, Pandyan A, Morice AH, Birring SS (2015) The impact of chronic cough: a cross-sectional European survey. *Lung* 193(3):401–408
  48. Orphanet (2023) The portal for rare diseases and orphan drugs: cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular areflexia syndrome. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?lng=EN&Expert=504476](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=EN&Expert=504476). Accessed 7 Sept 2023



---

## 5. RESUM GLOBAL DELS RESULTATS

---





## 5.1 RESUM DELS RESULTATS DE L'ESTUDI 1

---

En el primer estudi es van incloure a 33 pacients amb TC que es trobaven en estudi en la nostra unitat especialitzada de tos. En tots ells es va realitzar l'estudi genètic per conèixer la presència, o no, de mutacions en *RFC1*. Concretament es va diferenciar entre la presència dels al·lells:

- (AAAAG)exp / (AAAAG)exp: CANVAS descartat, presència bial·lèlica d'al·lells normals.
- (AAAAG)exp / (AAAGG)exp: significat incert, presència d'un al·lel normal i un motiu de patologia no establerta, ni descartada, fins l'actualitat.
- (AAAAG)exp / (AAGGG)exp: portador heterozigot, presència d'un al·lel normal i un al·lel patològic del CANVAS.
- (AAAGG)exp / (AAAGG)exp: significat incert, presència de dos al·lells amb motius de patologia no establerta, ni descartada, fins l'actualitat.
- (AAAGG)exp / (AAGGG)exp: portador heterozigot, presència d'un al·lel de significat incert i un al·lel patològic del CANVAS.
- (AAGGG)exp / (AAGGG)exp: CANVAS precoç confirmat per la presència bial·lèlica de l'al·lel patològic.

En el 6.1% (n=2) de la mostra estudiada es va detectar la mutació bial·lèlica (AAGGG)exp i en el 18.2% (n=6) la mutació monoal·lèlica (AAGGGG)exp. La resta dels resultats obtinguts es mostren en la Taula 1.

**Taula 1:** Resultats de l'estudi genètic de mutacions en *RFC1*.

Al·lells identificats	TC, n (%) (n=33)
(AAAAG)exp / (AAAAG)exp	22 (66.7)
(AAAAG)exp / (AAAGG)exp	2 (6.1)
(AAAAG)exp / (AAGGG)exp	5 (15.2)
(AAAGG)exp / (AAAGG)exp	1 (3.0)
(AAAGG)exp / (AAGGG)exp	1 (3.0)
(AAGGG)exp / (AAGGG)exp	2 (6.1)

El test de sensibilitat perifèrica amb el diapasó Rydel-Seiffer va mostrar un resultat alterat en el 22.2% (n=6) dels pacients analitzats. Entre aquests es troben els dos pacients amb la mutació bial·lèlica (AAGGG)exp en *RFCI*.

Les característiques clínic-funcionals dels pacients amb TC es mostren en la taula 2. No es van trobar diferències estadísticament significatives entre els pacients amb i sense presència de la mutació (AAGGG)exp en *RFCI*.

**Taula 2:** Característiques clínic-funcionals i característiques de la tos en els pacients amb TC en funció de la presència o no de (AAGGG)exp en *RFCI*, tant bial·lèlica com monoal·lèlica.

	<b>Total (n=33)</b>	<b>Sense (AAGGG)exp en <i>RFCI</i> (n=25)</b>	<b>Amb (AAGGG)exp en <i>RFCI</i> (n=8)</b>	<b>p valor</b>
<b>Característiques clínic-funcionals</b>				
Homes, n (%)	10 (30.3)	8 (32.0)	2 (25.0)	.54
Edat, anys (DE)	66 (±12.0)	65.2 (±11.7)	68.5 (±13.4)	.35
Índex de massa corporal, Kg/m2 (DE)	27.6 (±4.8)	27.9 (±5.3)	26.7 (±2.9)	.61
Exfumadors, n (%)	19 (57.7)	16 (64.0)	3 (37.5%)	.18
<b>Comorbiditats</b>				
- Síntomes de RGE, n (%)	20 (60.6)	15 (60.0)	5 (62.5)	.62
- Hipertensió arterial, n (%)	16 (48.5)	12 (48.0)	4 (50.0)	.62
- Dislipèmia, n (%)	16 (48.5)	10 (40.0)	6 (75.0)	.09
- Rinitis, n (%)	14 (42.4)	10 (40.0)	4 (50.0)	.46
- Depressió, n (%)	9 (27.3)	7 (28.0)	2 (25.0)	.24
- AOS, n (%)	7 (21.2)	5 (20.0)	2 (25.0)	.14
- Traqueomalàcia, n (%)	4 (12.1)	2 (8.0)	6 (75.0)	.63
- Diabetis mellitus, n (%)	3 (9.1)	2 (8.0)	1 (12.5)	.58
- Asma, n (%)	3 (9.1)	3 (12.5)	0 (0.0)	.41
- OLI, n (%)	3 (9.1)	1 (4.0)	2 (25.0)	.56
- MPOC, n (%)	2 (6.1)	2 (8.0)	0 (0.0)	.57
- Bronquièctasis, n (%)	2 (6.1)	1 (4.0)	1 (12.5)	.43
- Fibromiàlgia, n (%)	2 (6.1)	2 (8.0)	0 (0.0)	.57
<b>Característiques de la tos</b>				
Seca, n (%)	23 (69.7)	17 (68.0)	6 (75.0)	.54
Edat d'inici tos, anys (DE)	54.8 (±13.9)	55.5 (±14.1)	52.4 (±14.2)	.15
Duració mitja, anys (DE)	11.2 (±11.6)	9.6 (±10.9)	16.1 (±13.5)	.47
<b>Empitjora en / amb</b>				
- Decúbit supí, n (%)	13 (39.5)	8 (32.0)	5 (62.5)	.13
- Ingestes, n (%)	11 (34.4)	9 (36.0)	2 (25.0)	.43
- Parla, n (%)	8 (24.2)	5 (20.0)	3 (37.5)	.29
- Olores fortes, n (%)	8 (24.2)	5 (20.0)	3 (37.5)	.29
- Canvis temperatura, n (%)	8 (24.2)	7 (28.0)	1 (12.5)	.36
- Esforç físic, n (%)	7 (21.2)	6 (24.0)	1 (12.5)	.44
- Estrès, n (%)	5 (15.2)	5 (20.0)	0 (0.0)	.22
<b>Associa</b>				
- Nàusees, n (%)	12 (37.5)	7 (28.0)	5 (62.5)	.09
- Incontinència orina, n (%)	10 (31.3)	7 (28.0)	3 (37.5)	.46
- Dispnea, n (%)	9 (27.3)	6 (24.0)	3 (37.5)	.37

- Marejos, n (%)	8 (24.2)	5 (20.0)	3 (37.5)	.29
- Despertar nocturn, n (%)	7 (21.2)	4 (16.0)	3 (37.5)	.21
- Vòmits, n (%)	6 (18.2)	5 (20.0)	1 (12.5)	.54
- Síncopes, n (%)	3 (9.1)	1 (4.0)	2 (25.0)	.14
- Sibilants, n (%)	3 (9.1)	2 (8.0)	1 (12.5)	.58

La qualitat de vida es va mostrar afectada en tots els qüestionaris realitzats. El DEQ va mostrar una major afectació dels dominis d'ansietat 3.8 ( $\pm 1.8$ ) i enuig 3.5 ( $\pm 1.9$ ), seguit per la por 2.8 ( $\pm 1.9$ ), fàstic 2.7 ( $\pm 1.7$ ) y tristesa 2.6 ( $\pm 1.8$ ). La puntuació total mitja del LCQ fou de 12.4 ( $\pm 4.8$ ), sent les esferes més afectades la social 4.1 ( $\pm 1.6$ ) i psicològica 4.2 ( $\pm 1.8$ ). El CSD va tenir una puntuació total mitja de 5.6 ( $\pm 11.1$ ), sent la freqüència la seva major afectació 4.1 ( $\pm 2.4$ ). El EQ-5D-5L va mostrar una puntuació total mitja de 0.9 ( $\pm 0.1$ ) i el seu VAS de 62.5 ( $\pm 24.9$ ). Els pacients amb la mutació bial·lèlica (AAGGG)exp tingueren una pitjor puntuació que els portadors heterozigots (AAGGG)exp i els no portadors de dita mutació en *RFCL*.

## 5.2 RESUM DELS RESULTATS ESTUDI 2

En el segon estudi es van incloure 10 pacients amb CANVAS confirmat genèticament y TC. El 50% (n=5) foren homes i l'edat mitja fou de 64.8 ( $\pm 8.6$ ) anys. Les comorbiditats més freqüents foren la clínica de RGE (70%, n=7), la rinitis (50%, n=5) i la depressió (50%, n=5).

En tots els casos, la TC fou de tipus no productiva (100%, n=10). La seva duració mitja fou de 30.4 ( $\pm 8.7$ ) anys, d'inici als 34.4 ( $\pm 9.9$ ) anys i d'aparició una mitja de 14.2 ( $\pm 7.9$ ) anys abans de l'inici dels símptomes neurològics compatibles amb CANVAS. En la majoria de casos la tos empitjorava amb olors forts (60%, n=6), la parla (60%, n=6), les ingestes (50%, n=5) i les situacions d'estres (50%, n=5). També fou freqüent associar amb els atacs de tos dispnea (50%, n=5) i incontinència d'orina (40%, n=4).

L'estudi de la TC es va realitzar seguint les recomanacions de la ERS. Els resultats es mostren en la Taula 3.

**Taula 3:** Resultats de les proves complementàries realitzades per l'estudi etiològic de la tos.

<b>Proves complementàries</b>	<b>CANVAS</b>	<b>Proves complementàries</b>	<b>CANVAS</b>
Radiografia de tòrax - Sense alteracions, n (%) - Calcificacions apicals, n (%) - Signes hiperinsuflació, n (%) - Granulomes calcificats, n (%)	<i>n</i> =8 5 (62.5) 1 (12.5) 1 (12.5) 1 (12.5)	pHmetria esofàgica 24h - Sense RGE patològic - RGE patològic àcid - RGE patològic no àcid	<i>n</i> =7 1 (14.3) 3 (42.9) 3 (42.9)
TAC toràcic - Sense alteracions, n (%) - Emfisema, n (%) - Pneumònia organitzada, n (%) - Vidre desllustrat, n (%) - Atrapament aeri, n (%) - Fibroelastosis pleuro- parenquimatososa, n (%) - Distensió esofàgica, n (%)	<i>n</i> =10 4 (40) 1 (10) 1 (10) 1 (10) 1 (10) 1 (10) 1 (10)	Manometria esofàgica d'alta resolució - Alteracions motilitat, n (%) - Sense alteracions, n (%) - 50% o més d'ones ineficaces, n (%) - Motilitat esofàgica ineficaç, n (%) - Absència motilitat esofàgica, n (%) - Alteracions esfínters - Sense alteracions, n (%) - Hipotonia, n (%) - Hipertonia, n (%) - Obstrucció, n (%) - Hernia de hiatus, n (%)	<i>n</i> =9 3 (33.3) 1 (11.1) 3 (33.3) 2 (22.2) 5 (55.6) 1 (11.1) 2 (22.2) 1 (11.1) 2 (22.2)
Proves funcionals - Espirometria - FEV1/FVC, % (DS) - FEV1, % (DS) - FVC, % (DS) - Prova broncodilatadora - Positiva, % (DS) - FeNO, ppb (DS)	<i>n</i> =10 75.1 (±6.5) 94.2 (±14.5) 97.1 (±12.9) <i>n</i> =10 2 (20) 27.0 (±34.8)	Test cutani aeroal·lèrgens - Negatiu, n (%) - Àcars de la pols, n (%) - Pol·len, n (%) Analítica sanguínia - Eosinòfils, x10 <sup>9</sup> /L (DS) - IgE, KIU/L (DS)	<i>n</i> =10 7 (70) 3 (30) 1 (10) 0.21 (±0.27) 57.2 (±34.8)

La qualitat de vida va mostrar un resultat alterat en els qüestionaris realitzats. La puntuació total mitja del LCQ fou de 13.1 (±1.9), amb major impacte en el domini psicològic 3.6 (±1.1). El CSD total de 3.3 (± 1.9), on la freqüència 3.47 (± 2.2) fou el paràmetre més afectat. El EQ-5D-5L va mostrar una puntuació total mitja de 0.8 (±0.1) i el seu VAS de 62 (±12.5). El DEQ va mostrar una major afectació dels dominis d'ansietat 3.2 (±1.6) i enuig 2.9 (±1.8).

---

## 6. RESUM GLOBAL DE LA DISCUSSIÓ

---

## 6.1 RESUM DE LA DISCUSSIÓ DE L'ESTUDI 1

---

El primer estudi és un treball pioner centrat en conèixer la prevalença de la mutació (AAGGG)exp *RFC1* en pacients amb TC. En la mostra estudiada es va detectar el 6.1% (n=2) de mutacions bial·lèliques (AAGGG)exp i el 18.2% (n=6) de mutacions monoal·lèliques (AAGGGG)exp. Per tant:

- La prevalença observada de la mutació bial·lèlica (AAGGG)exp en *RFC1* (2 : 33) va ser superior a l'esperada en la població general (1 : 20 000).
- En el 6.1% dels pacients estudiats es va realitzar el diagnòstic de CANVAS precoç, és a dir, pacients que actualment sols presentaven TC però que en el futur desenvoluparan, inevitablement, la resta de símptomes neurològics propis del síndrome.

En aquests pacients amb CANVAS precoç s'han evitat exploracions i visites mèdiques innecessàries en un futur i, encara que fins ara no hi ha un tractament curatiu, sí hi ha opcions de tractament simptomàtic com la gabapentina. A més, el CANVAS té una elevada freqüència de portadors població general (0.7%)<sup>85</sup> i, per tant, és especialment important realitzar l'estudi genètic per identificar altres familiars a risc de sofrir o transmetre la malaltia a la descendència. Addicionalment, en aquests pacients el CANVAS podria ser l'explicació a la seva causa subjacent de tos.

Durant la realització d'aquesta tesi doctoral es va publicar el treball de Guilleminault *et al*<sup>101</sup> titulat "Repeat Expansions of *RFC1* in Refractory Chronic Cough A Missing Piece of the Puzzle?". Aquest és l'únic estudi fins el moment que també analitza les mutacions (AAGGG)exp en *RFC1* en pacients amb TC. Els seus resultats van en concordança amb els obtinguts en el nostre estudi, mostren un 16.2% i un 8.8% de mutacions bial·lèliques i monoal·lèliques de (AAGGG)exp respectivament. No obstant, el seu estudi es centra sols en pacients amb TCR sense patologies respiratòries, a excepció de l'asma. És per això que Turner *et al*<sup>102</sup> comenten la necessitat de disposar de més estudis que reproduïxin i ampliïn les troballes obtingudes per Guilleminault *et al* sobre la prevalença de *RFC1*. El nostre estudi ha inclòs a pacients amb TCR, TCI i TC resolta amb el tractament dirigit adequat. Al

analitzar la prevalença bial·lèlica de (AAGGG)exp en aquests diferents subgrups, la més alta es troba en la TCR (7.1%) pel que sembla adequat realitzar l'estudi genètic sols en aquest subgrup de pacients.

Actualment l'estudi genètic del CANVAS no està disponible en tots els centres i, a més, és un procés complex amb un elevat cost econòmic. Per tal de discriminar millor a quins pacients amb TC realitzar aquest costós test genètic, el nostre estudi ha sigut el primer en avaluar la utilitat del diapasó de Rydel-Seiffer. Es tracta d'un procediment fàcil, ràpid, senzill i econòmic que es pot realitzar en la pròpia consulta mèdica i que permet detectar alteracions en la sensibilitat vibratòria perifèrica. El 22.2% (n=6) dels pacients estudiats mostraren un resultat alterat, i dins d'aquets pacients el 33.3% (n=2) mostraren la mutació bial·lèlica (AAGGG)exp en *RFC1*. Per tant, sembla apropiat utilitzar el diapasó de Rydel-Seiffer com a mètode de cribratge en els pacients amb TC i el seu resultat alterat motiu suficient per realitzar l'estudi genètica del CANVAS o, de no disposar del mateix en el centre, derivar al servei de neurologia per completar l'estudi.

No es detectaren diferències estadísticament significatives entre les característiques clínic-funcionals dels pacients amb i sense (AAGGG)exp en *RFC1*, pel que no ha sigut possible delimitar encara més a quin subgrup de pacients amb TC es deuria realitzar l'estudi genètic. Tanmateix, en els pacients amb mutació bial·lèlica (AAGGG)exp sembla que la TC s'iniciï abans (42.0 vs 54.8 anys) i, per tant, tingui una duració major (25.0 vs 11.2 anys).

Els qüestionaris confirmaren una pitjor qualitat de vida deguda a la TC, especialment en l'esfera psicosocial. Aquest resultats van en concordança amb altres estudis publicats prèviament<sup>104,105</sup>. Objectivar que els pacients amb la mutació bial·lèlica (AAGGG)exp en *RFC1* tenien unes puntuacions pitjors en tots els qüestionaris realitzats (LCQ, CSD, EQ-5D-5L i DEQ) reforça la importància d'estudiar la relació entre la TC i el CANVAS. Es possible que l'impacte de la TC en la qualitat de vida dels pacients amb CANVAS precoç sigui degut a una major duració de la tos i a la seva aparició més precoç.



## 6.2 RESUM DE LA DISCUSSIÓ DE L'ESTUDI 2

---

El segon estudi és el primer en investigar de forma protocol·litzada i multidisciplinar la TC en pacients amb CANVAS confirmat genèticament. En tots els pacients estudiats la TC fou de tipus no productiva, resultat que va en concordança amb la tos descrita en estudis previs<sup>90,93-95</sup>. A més, la seva aparició mitja de 14.2 ( $\pm$ 7.9) anys abans del primer símptoma neurològic compatible amb CANVAS reforça els estudis que la descriuen com un pròdrom<sup>94-97</sup>. També compleix característiques suggestives del síndrome de hipersensibilitat tussígena ja que presenta un empitjorament de la tos en situacions que habitualment no la produeixen (olors fortes, estrès...).

Fins ara cap estudi havia estudiat possible causes subjacents de la TC en pacients amb CANVAS, sols s'havia descrit la seva presència i alguna característica puntual (com ser de tipus espasmòdica i la seva aparició diversos anys abans que els símptomes neurològics). En el nostre estudi s'han detectat dos casos compatibles amb asma (espirometria en rang de normalitat amb PBD positiva, eosinofília perifèrica i test cutani positiu per aeroal·lèrgens). Aquests van mostrar milloria amb l'inici de tractament dirigit amb corticoides inhalats però la TC no va resoldre completament, aquest fet podria ser degut a que els dos presentaven a més motilitat esofàgica ineficax. Aquesta troballa és compatible amb la hipòtesi de que la TC en el CANVAS està relacionat amb el RGE<sup>91,95,96,98,100</sup>. A més, el 33.3% dels pacients estudiats mostraren algun grau d'alteració en la motilitat esofàgica i/o RGE patològic (àcid o no àcid). Tanmateix, els episodis de RGE no es correlacionaren amb els episodis de tos, sols de piroxi.

Un dels pacients va mostrar resultats radiològics i espiromètrics compatibles amb fibroelastosi pleuroparenquimatososa. Actualment està seguint uns controls específics a nivell respiratori que no hagués tingut de no ser per l'estudi protocol·litzat de la TC.

La qualitat de vida en aquests pacients estava afectada per la TC en tots els qüestionaris realitzats, sent la primera vegada que s'analitza en pacients amb CANVAS.

## 6.3 LIMITACIONS

---

Les limitacions principals dels estudis presentats son que es tracten d'estudis unicèntrics i amb mostres petites de pacients. El primer estudi té la mostra limitada degut a l'elevat cost associat a les proves complementàries realitzades, especialment el test genètic. El segon estudi està limitada per la baixa freqüència de la malaltia, que està classificada dins de les malalties rares. No obstant aquesta mida mostral, es tracten de dos estudis pioners en analitzar la relació entre la TC i el CANVAS. Fins ara son pocs els estudis que hi ha en aquesta línia de investigació, i menys els que ho han realitzat centrant-se en la TC de forma multidisciplinària i protocol·litzada.

Una altra limitació del primer estudi fou no disposar de la tècnica *Long Read Sequencing* per conèixer si el pacient portador heterozigot (AAGGG)<sup>exp</sup> / (AAAGG)<sup>exp</sup> tenia l'al·lel (AAAGG)<sup>exp</sup> >500 repeticions. Així mateix, no es va poder analitzar la presència dels excepcionals motius patogènics recentment associats amb CANVAS (AGGGC, AAGGC i AGAGG), encara que fins el moment no s'ha descrit ningun cas en Espanya.

El segon estudi presenta com a limitació la falta de més estudis neurològics per aprofundir la patofisiologia de la TC en el CANVAS i estudiar l'arc reflex de la tos en aquests pacients.

Es requereixen més estudis en aquestes línies d'investigació per reproduir els resultats obtinguts i per disposar d'un estudi més exhaustiu a nivell neurològic per poder identificar altres causes de la relació entre la TC i el CANVAS.



---

## 7. CONCLUSIONS

---



## CONCLUSIONS

---

Les conclusions de la tesi doctoral presentada son:

- L'estudi genètic de (AAGGG)<sub>exp</sub> en *RFC1* deuria plantejar-se en les consultes especialitzades de TC, especialment en els pacients amb TCR, ja que a més de poder ser una causa subjacent de la tos permetria realitzar el diagnòstic precoç d'una malaltia neurològica progressiva i hereditària.
- L'ús del diapasó de Rydel-Seiffer també deuria plantejar-se en les consultes especialitzades de TC com a mètode de cribratge en el CANVAS. És tracta d'un test fàcil i econòmic que podria ajudar a sospitar del CANVAS en pacients amb TC ja que de mostrar una sensibilitat vibratòria perifèrica disminuïda augmenta la possibilitat del síndrome neurològic.
- La TC té un impacte negatiu en la qualitat de vida dels pacients, especialment en aquells amb CANVAS.
- El mecanisme d'aparició de la TC en el CANVAS podria estar relacionat en alteracions de la motilitat esofàgica i presència de RGE (àcid i no àcid).



---

## 8. LÍNIES DE FUTUR

---





## LÍNIES DE FUTUR

---

Aquesta tesi doctoral ha augmentat el coneixement actual sobre la TC i el CANVAS, especialment en la importància de realitzar un estudi genètic per conèixer la presència, o no, de mutacions (AAGGG)exp en *RFC1*. No obstant, es requereixen més estudis per continuar investigant aquesta relació per valorar incloure l'estudi genètic de mutacions (AAGGG)exp en *RFC1* i l'ús del diapasó de Rydel-Seiffer en les guies i protocols de TC. De fer-ho, permetria disminuir el percentatge de TCI actual i diagnosticar de forma precoç una malaltia hereditària progressiva en la que està recomanat estudiar els familiars per diagnosticar possibles afectats i riscos de transmissió a la descendència.

També es requereix continuar estudiant el mecanisme d'aparició de TC en el CANVAS per tal d'entendre millor la seva patofisiologia i poder, més endavant, disposar d'un tractament dirigit en aquests pacients. Actualment alguns dels nostres pacients amb CANVAS i TC estan participant en un assaig clínic d'un nou medicament dirigit específicament a la tos. Conèixer si presenten bona resposta a dit tractament també ajudarà a conèixer el seu mecanisme d'aparició i possibles dianes de tractament. A més, permetria millorar de forma significativa la seva qualitat de vida que, com hem vist en els estudis previs, està afectada per la presència de TC.



---

## 9. BIBLIOGRAFIA

---



## BIBLIOGRAFIA

---

1. Real academia española: Diccionario de la lengua española [internet] [citad el 30 maig 2024]. Disponible en: <https://www.rae.es/desen/tos>
2. Brooks SM. Perspective on the human cough reflex. *Cough*. 2011 Nov 10;7:10. doi: 10.1186/1745-9974-7-10.
3. Irwin RS, Baumann MH, Bolser DC, Boulet LP, Braman SS, Brightling CE, et al. Diagnosis and management of cough executive summary: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2006;129 1 Suppl:1S–23S. doi: 10.1378/chest.129.1\_suppl.1S.
4. Morice AH. Chronic cough: epidemiology. *Chron Respir Dis*. 2008;5(1):43-7. doi: 10.1177/1479972307084252
5. Lai K, Chen R, Lin J, Huang K, Shen H, Kong L, et al. A prospective multicenter on causes of chronic cough in China. *Chest*. 2013;143:613–20. doi: 10.1378/chest.12-0441
6. Song WJ, Chang YS, Faruqi S, Kim JY, Kang MG, Kim S, et al. The global epidemiology of chronic cough in adults: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J*. 2015; 45: 1479–81. doi: 10.1183/09031936.00218714.
7. Pacheco A, de Diego A, Domingo C, Lamas A, Gutierrez R, Naberan K, Garrigues V, López Vime R. Chronic Cough. *Arch Bronconeumol*. 2015 Nov;51(11):579-89. English, Spanish. doi: 10.1016/j.arbres.2015.03.019.
8. Haque RA, Usmani OS, Barnes PJ. Chronic idiopathic cough: a discrete clinical entity? *Chest*. 2005;127:1710–3. doi: 10.1378/chest.127.5.1710.
9. McGarvey L, Gibson PG. What Is Chronic Cough? Terminology. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019 Jul-Aug;7(6):1711-1714. doi: 10.1016/j.jaip.2019.04.012.
10. Morice AH, McGarvey LP, Dicpinigaitis PV. Cough hypersensitivity syndrome is an important clinical concept: a pro/con debate. *Lung*. 2012 Feb;190(1):3-9. doi: 10.1007/s00408-011-9351-y.
11. Morice AH, Millqvist E, Belvisi MG, Bieksiene K, Birring SS, Chung, KF, et al. Expert opinion on the cough hypersensitivity syndrome in respiratory medicine. *Eur Respir J* 2014;44:1132-48. doi: 10.1183/09031936.00218613.

12. Chung KF, McGarvey L, Mazzone S. Chronic cough and cough hypersensitivity syndrome. *Lancet Respir Med* 2016;4:934-5. doi: 10.1016/S2213-2600(16)30373-3.
13. Irwin RS, French CL, Chang AB, Altman KW; CHEST Expert Cough Panel\*. Classification of Cough as a Symptom in Adults and Management Algorithms: CHEST Guideline and Expert Panel Report. *Chest*. 2018 Jan;153(1):196-209. doi: 10.1016/j.chest.2017.10.016.
14. Chung KF, McGarvey L, Song WJ, Chang AB, Lai K, Canning BJ, Birring SS, Smith JA, Mazzone SB. Cough hypersensitivity and chronic cough. *Nat Rev Dis Primers*. 2022 Jun 30;8(1):45. doi: 10.1038/s41572-022-00370-w.
15. Keller JA, McGovern AE, Mazzone SB. Translating Cough Mechanisms Into Better Cough Suppressants. *Chest*. 2017 Oct;152(4):833-841. doi: 10.1016/j.chest.2017.05.016.
16. Canning BJ, Chang AB, Bolser DC, Smith JA, Mazzone SB, McGarvey L; CHEST Expert Cough Panel. Anatomy and neurophysiology of cough: CHEST Guideline and Expert Panel report. *Chest*. 2014 Dec;146(6):1633-1648. doi: 10.1378/chest.14-1481.
17. McAlexander MA, Myers AC, Udem BJ. Adaptation of guinea-pig vagal airway afferent neurones to mechanical stimulation. *J Physiol*. 1999 Nov 15;521 Pt 1(Pt 1):239-47. doi: 10.1111/j.1469-7793.1999.00239.x.
18. Morice AH, Millqvist E, Bieksiene K, Birring SS, Diczpinigaitis P, Domingo Ribas C, et al. ERS guidelines on the diagnosis and treatment of chronic cough in adults and children. *Eur Respir J*. 2020 Jan 2;55(1):1901136. doi: 10.1183/13993003.01136-2019.
19. Keller JA, McGovern AE, Mazzone SB. Translating Cough Mechanisms Into Better Cough Suppressants. *Chest*. 2017 Oct;152(4):833-841. doi: 10.1016/j.chest.2017.05.016.
20. Carr MJ. Regulation of cough and action potentials by voltage-gated Na channels. *Pulm Pharmacol Ther*. 2013 Oct;26(5):508-9. doi: 10.1016/j.pupt.2013.07.001.
21. Kocmalova M, Kollarik M, Canning BJ, Ru F, Adam Herbstsomer R, Meeker S, Fonquerna S, et al. Control of Neurotransmission by NaV1.7 in Human, Guinea Pig, and Mouse Airway Parasympathetic Nerves. *J Pharmacol Exp Ther*. 2017 Apr;361(1):172-180. doi: 10.1124/jpet.116.238469.

22. Mitchell JE, Campbell AP, New NE, Sadofsky LR, Kastelik JA, Mulrennan SA, et al. Expression and characterization of the intracellular vanilloid receptor (TRPV1) in bronchi from patients with chronic cough. *Exp Lung Res.* 2005 Apr;31(3):295-306. doi: 10.1080/01902140590918803.
23. McGarvey LP, Butler CA, Stokesberry S, Polley L, McQuaid S, Abdullah H, et al. Increased expression of bronchial epithelial transient receptor potential vanilloid 1 channels in patients with severe asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2014 Mar;133(3):704-12.e4. doi: 10.1016/j.jaci.2013.09.016.
24. Ford AP, Udem BJ. The therapeutic promise of ATP antagonism at P2X3 receptors in respiratory and urological disorders. *Front Cell Neurosci.* 2013 Dec 19;7:267. doi: 10.3389/fncel.2013.00267.
25. Turner RD, Birring SS. Chronic cough: ATP, afferent pathways and hypersensitivity. *Eur Respir J.* 2019 Jul 4;54(1):1900889. doi: 10.1183/13993003.00889-2019.
26. Dicipinigaitis PV, Dobkin JB, Reichel J. Antitussive effect of the leukotriene receptor antagonist zafirlukast in subjects with cough-variant asthma. *J Asthma.* 2002 Jun;39(4):291-7. doi: 10.1081/jas-120002285.
27. Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R; Global Consensus Group. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterol.* 2006 Aug;101(8):1900-20; quiz 1943. doi: 10.1111/j.1572-0241.2006.00630.x.
28. Kahrilas PJ, Howden CW, Hughes N, Molloy-Bland M. Response of chronic cough to acid-suppressive therapy in patients with gastroesophageal reflux disease. *Chest.* 2013 Mar;143(3):605-612. doi: 10.1378/chest.12-1788.
29. Kimber J, Mitchell D, Mathias CJ. Chronic cough in the Holmes-Adie syndrome: association in five cases with autonomic dysfunction. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1998 Oct;65(4):583-6. doi: 10.1136/jnnp.65.4.583.
30. Spring PJ, Kok C, Nicholson GA, Ing AJ, Spies JM, Bassett ML, et al. Autosomal dominant hereditary sensory neuropathy with chronic cough and gastro-oesophageal reflux: clinical features in two families linked to chromosome 3p22-p24. *Brain.* 2005 Dec;128(Pt 12):2797-810. doi: 10.1093/brain/awh653.
31. Pavord ID, Chung KF. Management of chronic cough. *Lancet.* 2008 Apr 19;371(9621):1375-84. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60596-6.



32. Chamberlain Mitchell SA, Garrod R, Clark L, Douiri A, Parker SM, Ellis J, et al. Physiotherapy, and speech and language therapy intervention for patients with refractory chronic cough: a multicentre randomised control trial. *Thorax*. 2017 Feb;72(2):129-136. doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-208843.
33. Vertigan AE, Theodoros DG, Gibson PG, Winkworth AL. Efficacy of speech pathology management for chronic cough: a randomised placebo controlled trial of treatment efficacy. *Thorax*. 2006 Dec;61(12):1065-9. doi: 10.1136/thx.2006.064337.
34. Vertigan AE, Kapela SL, Ryan NM, Birring SS, McElduff P, Gibson PG. Pregabalin and Speech Pathology Combination Therapy for Refractory Chronic Cough: A Randomized Controlled Trial. *Chest*. 2016 Mar;149(3):639-48. doi: 10.1378/chest.15-1271.
35. Adeli SH, Beigi AM, Ahmadpour S, Habibi MA, Pashaei MR, Sharifipour E, et al. Effects of Pregabalin as a Neural Pathway Inhibitor for the Treatment of Resistant Subacute and Chronic Cough: A Pilot Clinical Trials Study. *Rev Recent Clin Trials*. 2023;18(4):269-274. doi: 10.2174/0115748871262516230919070559.
36. Saint-Pierre MD. Predictors of treatment response to pregabalin in unexplained or refractory chronic cough. *Respir Med*. 2023 Nov;218:107396. doi: 10.1016/j.rmed.2023.107396.
37. Ryan NM, Birring SS, Gibson PG. Gabapentin for refractory chronic cough: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2012 Nov 3;380(9853):1583-9. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60776-4.
38. Gibson PG, Vertigan AE. Gabapentin in chronic cough. *Pulm Pharmacol Ther*. 2015 Dec;35:145-8. doi: 10.1016/j.pupt.2015.06.007.
39. Xie S, Xie M, Shen Y, Cheng D. Gabapentin for chronic refractory cough: A system review and meta-analysis. *Heliyon*. 2023 Apr 18;9(5):e15579. doi: 10.1016/j.heliyon.
40. Ryan MA, Cohen SM. Long-term follow-up of amitriptyline treatment for idiopathic cough. *Laryngoscope*. 2016 Dec;126(12):2758-2763. doi: 10.1002/lary.25978.
41. Morice AH, Menon MS, Mulrennan SA, Everett CF, Wright C, Jackson J, et al. Opiate therapy in chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007 Feb 15;175(4):312-5. doi: 10.1164/rccm.200607-892OC.

42. Lee SP, Lee SM, Lee BJ, Kang SY. Effectiveness and Safety of Codeine and Levodropropizine in Patients With Chronic Cough. *J Korean Med Sci.* 2022 Sep 19;37(36):e275. doi: 10.3346/jkms.2022.37.e275.
43. McGarvey LP, Birring SS, Morice AH, Dicipinigaitis PV, Pavord ID, Schelfhout J, et al. Efficacy and safety of gefapixant, a P2X<sub>3</sub> receptor antagonist, in refractory chronic cough and unexplained chronic cough (COUGH-1 and COUGH-2): results from two double-blind, randomised, parallel-group, placebo-controlled, phase 3 trials. *Lancet.* 2022 Mar 5;399(10328):909-923. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02348-5.
44. Chuang MH, Chen IW, Chen JY, Kang FC, Ho CN, Wu SC, et al. Efficacy and safety of gefapixant for chronic cough: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Eur Respir Rev.* 2023 May 17;32(168):220219. doi: 10.1183/16000617.0219-2022.
45. Kum E, Patel M, Diab N, Wahab M, Zeraatkar D, Chu DK, et al. Efficacy and Tolerability of Gefapixant for Treatment of Refractory or Unexplained Chronic Cough: A Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis. *JAMA.* 2023 Oct 10;330(14):1359-1369. doi: 10.1001/jama.2023.18035.
46. Boulet LP, Coeytaux RR, McCrory DC, French CT, Chang AB, Birring SS, et al. Tools for assessing outcomes in studies of chronic cough: CHEST guideline and expert panel report. *Chest.* 2015 Mar;147(3):804-814. doi: 10.1378/chest.14-2506.
47. Martin Nguyen A, Bacci ED, Vernon M, Birring SS, Rosa C, Muccino D, et al. Validation of a visual analog scale for assessing cough severity in patients with chronic cough. *Ther Adv Respir Dis.* 2021 Jan-Dec;15:17534666211049743. doi: 10.1177/17534666211049743.
48. Vernon M, Kline Leidy N, Nacson A, Nelsen L. Measuring cough severity: development and pilot testing of a new seven-item cough severity patient-reported outcome measure. *Ther Adv Respir Dis.* 2010 Aug;4(4):199-208. doi: 10.1177/1753465810372526.
49. Martin Nguyen A, Bacci E, Dicipinigaitis P, Vernon M. Quantitative measurement properties and score interpretation of the Cough Severity Diary in patients with chronic cough. *Ther Adv Respir Dis.* 2020 Jan-Dec;14:1753466620915155. doi: 10.1177/1753466620915155.
50. Birring SS, Prudon B, Carr AJ, Singh SJ, Morgan MD, Pavord ID. Development of a symptom specific health status measure for patients with chronic cough: Leicester

- Cough Questionnaire (LCQ). *Thorax*. 2003 Apr;58(4):339-43. doi: 10.1136/thorax.58.4.339.
51. Muñoz G, Buxó M, de Gracia J, Olveira C, Martinez-Garcia MA, Giron R, et al. Validation of a Spanish version of the Leicester Cough Questionnaire in non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Chron Respir Dis*. 2016 May;13(2):128-36. doi: 10.1177/1479972316632005.
  52. Nguyen AM, Schelfhout J, Muccino D, Bacci ED, La Rosa C, Vernon M, et al. Leicester Cough Questionnaire validation and clinically important thresholds for change in refractory or unexplained chronic cough. *Ther Adv Respir Dis*. 2022 Jan-Dec;16:17534666221099737. doi: 10.1177/17534666221099737.
  53. Harmon-Jones C, Bastian B, Harmon-Jones E. The Discrete Emotions Questionnaire: A New Tool for Measuring State Self-Reported Emotions. *PLoS One*. 2016 Aug 8;11(8):e0159915. doi: 10.1371/journal.pone.0159915.
  54. Herdman M, Gudex C, Lloyd A, Janssen M, Kind P, Parkin D, et al. Development and preliminary testing of the new five-level version of EQ-5D (EQ-5D-5L). *Qual Life Res*. 2011 Dec;20(10):1727-36. doi: 10.1007/s11136-011-9903-x.
  55. Ramos-Goñi JM, Pinto Prades JL, Oppe M, Cabasés Hita JM, Rivero-Arias O. Estimación del conjunto de valores para los estados de salud del EQ-5D-5L basados en las preferencias de la población española. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud; 2014. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias: SESCO N° 2010/05.
  56. EuroQol Research Foundation. EQ-5D-5L UserGuide, 2019. Available from: <https://euroqol.org/publications/user-guides>.
  57. Collier JG, Fuller RW. Capsaicin inhalation in man and the effects of sodium cromoglycate. *Br J Pharmacol*. 1984 Jan;81(1):113-7. doi: 10.1111/j.1476-5381.1984.tb10750.x.
  58. Groneberg DA, Niimi A, Dinh QT, Cosio B, Hew M, Fischer A, Chung KF. Increased expression of transient receptor potential vanilloid-1 in airway nerves of chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004 Dec 15;170(12):1276-80. doi: 10.1164/rccm.200402-174OC.

59. Morice AH, Kastelik JA, Thompson R. Cough challenge in the assessment of cough reflex. *Br J Clin Pharmacol*. 2001 Oct;52(4):365-75. doi: 10.1046/j.0306-5251.2001.01475.x.
60. Mai Y, Fang L, Zhong S, de Silva SDSH, Chen R, Lai K. Methods for assessing cough sensitivity. *J Thorac Dis*. 2020 Sep;12(9):5224-5237. doi: 10.21037/jtd-2020-icc-005.
61. Dicipinigaitis PV, Alva RV. Safety of capsaicin cough challenge testing. *Chest*. 2005 Jul;128(1):196-202. doi: 10.1378/chest.128.1.196.
62. de Diego Damián A. Medición de la tos. *Medicina respiratoria*. 2017;10(1):7-17
63. Bickerman HA, Barach L. The experimental production of cough in human subjects induced by citric acid aerosols; preliminary studies on the evaluation of antitussive agents. *Am J Med Sci*. 1954 Aug;228(2):156-63. doi: 10.1097/00000441-195408000-00005.
64. Bickerman HA, German E, Cohen BM, Itkin SE. The cough response of healthy human subjects stimulated by citric acid aerosol. II. Evaluation of antitussive agents. *Am J Med Sci*. 1957 Aug;234(2):191-206. doi: 10.1097/00000441-195708000-00010. PMID: 13444272.
65. Morice AH, Fontana GA, Belvisi MG, Birring SS, Chung KF, Dicipinigaitis PV, Kastelik JA, McGarvey LP, Smith JA, Tatar M, Widdicombe J; European Respiratory Society (ERS). ERS guidelines on the assessment of cough. *Eur Respir J*. 2007 Jun;29(6):1256-76. doi: 10.1183/09031936.00101006.
66. Nurmi HM, Lähti AM, Brannan JD, Koskela HO. Comparison of mannitol and citric acid cough provocation tests. *Respir Med*. 2019 Oct-Nov;158:14-20. doi: 10.1016/j.rmed.2019.09.011.
67. Graveststein JS, Devloo RA, Beecher HK. Effect of antitussive agents on experimental and pathological cough in man. *J Appl Physiol*. 1954 Sep;7(2):119-39. doi: 10.1152/jappl.1954.7.2.119.
68. Woolf CR, Rosenberg A. Objective assessment of cough suppressants under clinical conditions using a tape recorder system. *Thorax*. 1964 Mar;19(2):125-30. doi: 10.1136/thx.19.2.125.
69. Salmi T, Sovijärvi AR, Brander P, Piirilä P. Long-term recording and automatic analysis of cough using filtered acoustic signals and movements on static charge sensitive bed. *Chest*. 1988 Nov;94(5):970-5. doi: 10.1378/chest.94.5.970.

70. Salmi T, Sovijärvi AR, Brander P, Piirilä P. Long-term recording and automatic analysis of cough using filtered acoustic signals and movements on static charge sensitive bed. *Chest*. 1988 Nov;94(5):970-5. doi: 10.1378/chest.94.5.970.
71. Barry SJ, Dane AD, Morice AH, Walmsley AD. The automatic recognition and counting of cough. *Cough*. 2006 Sep 28;2:8. doi: 10.1186/1745-9974-2-8.
72. Smith J, Woodcock A. New developments in the objective assessment of cough. *Lung*. 2008;186 Suppl 1:S48-54. doi: 10.1007/s00408-007-9059-1.
73. Birring SS, Matos S, Patel RB, Prudon B, Evans DH, Pavord ID. Cough frequency, cough sensitivity and health status in patients with chronic cough. *Respir Med*. 2006 Jun;100(6):1105-9. doi: 10.1016/j.rmed.2005.09.023.
74. Birring SS, Fleming T, Matos S, Raj AA, Evans DH, Pavord ID. The Leicester Cough Monitor: preliminary validation of an automated cough detection system in chronic cough. *Eur Respir J*. 2008 May;31(5):1013-8. doi: 10.1183/09031936.00057407.
75. Vertigan AE, Kapela SL, Birring SS, Gibson PG. Feasibility and clinical utility of ambulatory cough monitoring in an outpatient clinical setting: a real-world retrospective evaluation. *ERJ Open Res*. 2021 Oct 4;7(4):00319-2021. doi: 10.1183/23120541.00319-2021.
76. Barton A, Gaydecki P, Holt K, Smith JA. Data reduction for cough studies using distribution of audio frequency content. *Cough*. 2012 Dec 12;8(1):12. doi: 10.1186/1745-9974-8-12.
77. Taylor TE, Keane F, Zigel Y. A Speech Obfuscation System to Preserve Data Privacy in 24-Hour Ambulatory Cough Monitoring. *Journal of Selected Topics in Signal Processing*. 2022 Feb 16;2(1):88-196. doi: 10.1109/JSTSP.2021.3134560.
78. Lee SE, Rudd M, Kim TH, Oh JY, Lee JH, Jover L, et al. Feasibility and Utility of a Smartphone Application-Based Longitudinal Cough Monitoring in Chronic Cough Patients in a Real-World Setting. *Lung*. 2023 Dec;201(6):555-564. doi: 10.1007/s00408-023-00647-1.
79. Szmulewicz DJ, Waterston JA, Halmagyi GM, Mossman S, Chancellor AM, McLean CA, et al. Sensory neuropathy as part of the cerebellar ataxia neuropathy vestibular areflexia syndrome. *Neurology*. 2011 May 31;76(22):1903-10. doi: 10.1212/WNL.0b013e31821d746e.

80. Szmulewicz DJ, Roberts L, McLean CA, MacDougall HG, Halmagyi GM, Storey E. Proposed diagnostic criteria for cerebellar ataxia with neuropathy and vestibular areflexia syndrome (CANVAS). *Neurol Clin Pract*. 2016 Feb;6(1):61-68. doi: 10.1212/CPJ.0000000000000215.
81. Cortese A, Curro' R, Vegezzi E, Yau WY, Houlden H, Reilly MM. Cerebellar ataxia, neuropathy and vestibular areflexia syndrome (CANVAS): genetic and clinical aspects. *Pract Neurol*. 2022 Feb;22(1):14-18. doi: 10.1136/practneurol-2020-002822.
82. Orphanet (6 junio 2023). Portal de información de enfermedades raras y medicamentos huérfanos. Disponible en: <https://www.orpha.net/es/disease/detail/504476>
83. Guillemainault L, Mazzone SB, Chazelas P, Frachet S, Lia AS, Magy L. Cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome (CANVAS): a neurogenic cough prototype. *ERJ Open Res* 2024; in press. doi: 10.1183/23120541.00024-2024.
84. Cortese A, Tozza S, Yau WY, Rossi S, Beecroft SJ, Jaunmuktane Z, et al. Cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome due to RFC1 repeat expansion. *Brain*. 2020 Feb 1;143(2):480-490. doi: 10.1093/brain/awz418.
85. Cortese A, Simone R, Sullivan R, Vandrovцова J, Tariq H, Yau WY, et al. Biallelic expansion of an intronic repeat in RFC1 is a common cause of late-onset ataxia. *Nat Genet*. 2019 Apr;51(4):649-658. doi: 10.1038/s41588-019-0372-4.
86. Benkirane M, Da Cunha D, Marelli C, Larrieu L, Renaud M, Varilh J, et al. RFC1 nonsense and frameshift variants cause CANVAS: clues for an unsolved pathophysiology. *Brain*. 2022 Nov 21;145(11):3770-3775. doi: 10.1093/brain/awac280.
87. Ronco R, Perini C, Currò R, Dominik N, Facchini S, Gennari A, et al. Truncating Variants in *RFC1* in Cerebellar Ataxia, Neuropathy, and Vestibular Areflexia Syndrome. *Neurology*. 2023 Jan 31;100(5):e543-e554. doi: 10.1212/WNL.0000000000201486.
88. Arteche-López A, Avila-Fernandez A, Damian A, Soengas-Gonda E, de la Fuente RP, Gómez PR, et al. New Cerebellar Ataxia, Neuropathy, Vestibular Areflexia Syndrome cases are caused by the presence of a nonsense variant in compound heterozygosity with the pathogenic repeat expansion in the RFC1 gene. *Clin Genet*. 2023 Feb;103(2):236-241. doi: 10.1111/cge.14249.

89. Dominik N, Magri S, Currò R, Abati E, Facchini S, Corbetta M, et al. Normal and pathogenic variation of RFC1 repeat expansions: implications for clinical diagnosis. *Brain*. 2023 Dec 1;146(12):5060-5069. doi: 10.1093/brain/awad240. Erratum in: *Brain*. 2024 Feb 1;147(2):e23.
90. Huin V, Coarelli G, Guemy C, Boluda S, Debs R, Mochel F, et al. Motor neuron pathology in CANVAS due to RFC1 expansions. *Brain*. 2022 Jun 30;145(6):2121-2132. doi: 10.1093/brain/awab449.
91. Dupré M, Hermann R, Froment Tilikete C. Update on Cerebellar Ataxia with Neuropathy and Bilateral Vestibular Areflexia Syndrome (CANVAS). *Cerebellum*. 2021 Oct;20(5):687-700. doi: 10.1007/s12311-020-01192-w.
92. Currò R, Salvalaggio A, Tozza S, Gemelli C, Dominik N, Galassi Deforie V, et al. RFC1 expansions are a common cause of idiopathic sensory neuropathy. *Brain*. 2021 Jun 22;144(5):1542-1550. doi: 10.1093/brain/awab072.
93. Dominik N, Galassi Deforie V, Cortese A, Houlden H. CANVAS: a late onset ataxia due to biallelic intronic AAGGG expansions. *J Neurol*. 2021 Mar;268(3):1119-1126. doi: 10.1007/s00415-020-10183-0.
94. Magy L, Chazelas P, Richard L, Deschamps N, Frachet S, Vallat JM, et al. Early Diagnosis in Cerebellar Ataxia, Neuropathy, Vestibular Areflexia Syndrome (CANVAS) by Focusing on Major Clinical Clues: Beyond Ataxia and Vestibular Impairment. *Biomedicines*. 2022 Aug 22;10(8):2046. doi: 10.3390/biomedicines10082046.
95. Cortese A, Reilly MM, Houlden H. *RFC1* CANVAS / Spectrum Disorder. 2020 Nov 25. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, Amemiya A, editors. *GeneReviews*<sup>®</sup> [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2024.
96. Infante J, García A, Serrano-Cárdenas KM, González-Aguado R, Gazulla J, de Lucas EM, et al. Cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome (CANVAS) with chronic cough and preserved muscle stretch reflexes: evidence for selective sparing of afferent Ia fibres. *J Neurol*. 2018 Jun;265(6):1454-1462. doi: 10.1007/s00415-018-8872-1.
97. Malaquias MJ, Mendes Pinto C, Sardoeira A, Oliveira J, Parente Freixo J, Aires Silva A, et al. Spasmodic cough preceding CANVAS phenotype in a family with biallelic

- repeat expansions in RFC1. *Neurol Sci.* 2021 Feb;42(2):749-753. doi: 10.1007/s10072-020-04895-4.
98. Çakar A, Şahin E, Tezel S, Candayan A, Samancı B, Battaloğlu E, et al. Cerebellar ataxia, neuropathy and vestibular areflexia syndrome (canvas): an important cause of late-onset ataxia with unique clinical features. *Acta Neurol Belg.* 2022 Aug;122(4):939-945. doi: 10.1007/s13760-021-01721-2.
99. Szmulewicz DJ, McLean CA, MacDougall HG, Roberts L, Storey E, Halmagyi GM. CANVAS an update: clinical presentation, investigation and management. *J Vestib Res.* 2014;24(5-6):465-74. doi: 10.3233/VES-140536.
100. Sánchez-Tejerina D, Alvarez PF, Láinez E, Martínez VG, Santa-Cruz DI, Verdaguer L, et al. RFC1 repeat expansions and cerebellar ataxia, neuropathy and vestibular areflexia syndrome: Experience and perspectives from a neuromuscular disorders unit. *J Neurol Sci.* 2023 Mar 15;446:120565. doi: 10.1016/j.jns.2023.120565.
101. Guillemainault L, Chazelas P, Melloni B, Magdelaine C, Villeneuve T, Brouquières D, et al. Repeat Expansions of RFC1 in Refractory Chronic Cough: A Missing Piece of the Puzzle? *Chest.* 2023 Apr;163(4):911-915. doi: 10.1016/j.chest.2022.11.014.
102. Turner RD, Hirons B, Cortese A, Birring SS. Chronic Cough as a Genetic Neurological Disorder? Insights from Cerebellar Ataxia with Neuropathy and Vestibular Areflexia Syndrome (CANVAS). *Lung.* 2023 Dec;201(6):511-519. doi: 10.1007/s00408-023-00660-4.
103. Chamberlain SA, Garrod R, Douiri A, Masefield S, Powell P, Bücher C, et al. The impact of chronic cough: a cross-sectional European survey. *Lung.* 2015 Jun;193(3):401-8. doi: 10.1007/s00408-015-9701-2. Epub 2015 Mar 19. Erratum in: *Lung.* 2015 Aug;193(4):615. doi: 10.1007/s00408-015-9749-z.
104. Ueda N, Yakushiji A, Schelfhout J, Tokita S, Kubo T. Impact of refractory and unexplained chronic cough on disease burden: a qualitative study. *BMC Pulm Med.* 2022 Oct 1;22(1):372. doi: 10.1186/s12890-022-02171-z.





---

## 10. ANNEXES

---



## 10.1 COMUNICACIÓ ORAL

---

Comunicació oral en la *ERS International Congress* en la sessió “Inflammatory endotyping: the macrophage across disease areas”:

### Genetic screening for cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular syndrome (CANVAS) in patients with chronic cough. Preliminary analysis

Esther Palones-Femenia<sup>1</sup> Elena Curto-Sánchez<sup>1</sup>, Lidia Gonzalez-Quereda<sup>2</sup>, Pía Gallano-Petit<sup>2</sup>, Luis Querol-Gutiérrez<sup>3</sup>, Federico Bertoletti<sup>4</sup>, María José Rodríguez-Fernández<sup>2</sup>, Alba Segarra-Casas<sup>2</sup>, Astrid Crespo-Lessmann<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pneumology and Allergy Service. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain

<sup>2</sup>Genetics Service. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. IIB Sant Pau. CIBERER., Barcelona, Spain

<sup>3</sup>Neuromuscular Diseases Unit, Neurology Service. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau., Barcelona, Spain

<sup>4</sup>Digestive Pathology Service. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau., Barcelona, Spain

*European Respiratory Journal* 2023; 62: Suppl. 67, OA3144

<https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2023.OA3144>

Factor d'impacte: 16.6

Quartil: Q1





## Genetic screening for cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular areflexia syndrome (CANVAS) in patients with chronic cough. Preliminary analysis

Esther Palones Femenia, Elena Curto Sánchez, Lidia Gonzalez Quereda, Pia Galliano Petit, Luis Querol Gutiérrez, Federico Bertoletti, Maria Jose Rodriguez Fernandez, Alba Segarra Casas, Astrid Crespo Lessmann  
European Respiratory Journal 2023 82: OA3144; DOI: 10.1183/13993003.congress-2023.OA3144

### Abstract

**Introduction:** Cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular areflexia syndrome (CANVAS) is a hereditary neurological disease that seems to have chronic cough (CC) as a prodrome many years before the development of this disease.

**Objective:** To find out the presence of CANVAS genetic mutations in patients under study for CC, regardless of the presence of neurological symptoms.

**Methods:** Descriptive cross-sectional study of patients under study for CC in a specialized pulmonology practice. All patients were non-smokers and underwent the pertinent studies for the diagnosis of CC according to the recommendations of the European Respiratory Society. A blood sample was obtained for genetic analysis using two techniques: amplification by standard polymerase chain reaction (PCR) with flanking primers of the replication factor complex subunit 1 (RFC1) gene and amplification by repeated primed PCR in 3 independent reactions.

**Results:** This study included 21 patients, 14 were female (66.7%) and the mean age was  $69.7 \pm 10.3$ . The most frequent comorbidities were gastroesophageal reflux (61.9%) and rhinitis (47.6%). The genetic analysis showed a positive result for CANVAS with AAGGG biallelic expansion in RFC1 in 2 patients (11.8%), one of them without neurological symptoms and one with possible symptoms but not yet studied.

**Conclusions:** The detection of the AAGGG biallelic expansion in RFC1 in patients with CC is not negligible. Its detection may allow the diagnosis of a neurological disease before the onset of disabling symptoms and its use as screening could be considered in the routine clinical practice of these patients.



## 10.2 TREBALL DE DIVULGACIÓ

---

1. Finalista del concurs “Presenta la teva tesi en 4 minuts” de la UAB Barcelona del 2024.
2. Ponència “Tos crònica y CANVAS” en el *Barcelona International Cough Conference Barcelona International Cough Conference (BICC)* del 2024.
3. Presentació en format pòsters dels resultats preliminars de la tesi doctoral en el 56<sup>o</sup> Congreso Nacional de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR), els quals han sigut publicats en la revista indexada *Open Respiratory Archives*:

**Palones E**, Curto-Sánchez E, Gonzalez-Quereda L, Gallano-Petit P, Querol-Gutiérrez L, Bertoletti F, Rodriguez-Fernandez MJ, Segarra Casas A, Crespo-Lessmann A. Tos crónica en pacientes con CANVAS (cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular syndrome). Resultados preliminares. *Open Respiratory Archives* 5 (2023) S1-S659

**Palones E**, Curto-Sánchez E, Gonzalez-Quereda L, Gallano-Petit P, Querol-Gutiérrez L, Bertoletti F, Rodriguez-Fernandez MJ, Segarra Casas A, Crespo-Lessmann A. Tos crónica y CANVAS (cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular syndrome). Screening de mutaciones en la subunidad 1 del complejo del factor de replicación (RFC1) en pacientes con tos crónica. Resultados preliminares. *Open Respiratory Archives* 5 (2023) S1-S659

4. Presentació en format pòsters dels resultats preliminars de la tesi doctoral en la XL Diada pneumològica de la Societat Catalana de Pneumologia de l'Acadèmia de Ciències mèdiques i de la Salut de Catalunya i Balears (SOCAP), els quals han sigut publicats en la revista indexada *Annals de Medicina*:



**Palones E**, Curto-Sánchez E, Gonzalez-Quereda L, Gallano-Petit P, Querol-Gutiérrez L, Bertoletti F, Rodriguez-Fernandez MJ, Segarra Casas A, Crespo-Lessmann A. Tos cònica en pacients amb CANVAS (cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular syndrome). RESULTATS PRELIMINARS. Suplements dels Annals de Medicina / Vol. 106, supl. 1, maig 2023

**Palones E**, Curto-Sánchez E, Gonzalez-Quereda L, Gallano-Petit P, Querol-Gutiérrez L, Bertoletti F, Rodriguez-Fernandez MJ, Segarra Casas A, Crespo-Lessmann A. Tos crònica i CANVAS (cerebellar ataxia with neuropathy and bilateral vestibular syndrome). Screening de mutacions en la subunitat 1 del complex factor de replicació (RFC1) en pacients amb tos crònica. RESULTATS PRELIMINARS. Suplements dels Annals de Medicina / Vol. 106, supl. 1, maig 2023

### 10.3 TREBALLS RELACIONATS

---

A més de la divulgació del treball d'aquesta tesi doctoral, també s'estan realitzant altres projectes relacionats amb la TC:

- Creació d'un qüestionari per estratificar la gravetat de la TC mitjançant consens per metodologia Delphi i validació amb monitors de la tos. Projecte presentat durant la Jornada de tos crònica del *Barcelona Research Network* del 2023 i que actualment s'està desenvolupant.
- Ponència de “¿Cómo medimos la tos en la práctica clínica habitual?” en la Jornada de tos crònica del *Barcelona Research Network* del 2023.
- Ponència de “Evolución en la monitorización de la tos” en la sessió trimestral del àrea de tos crònica de la SOCAP de març 2023.

## 10.4 FINANCIACIÓ

---

**Beca becari de la SOCAP** del 2022 pel projecte “Tos crónica y CANVAS (Cerebellar Ataxia with Neuropathy and bilateral Vestibular Areflexia Syndrome). Screening de mutaciones en la subunidad 1 del complejo del factor de replicación (RFC1). Estudio piloto inicial”. Becari: Esther Palones. Tutor: Astrid Crespo Lessmann.

**Beca d’investigació de la SEPAR** en 2022 del projecte “Título del proyecto: Tos crónica y CANVAS (Cerebellar Ataxia with Neuropathy and bilateral Vestibular Areflexia Syndrome). Screening de mutaciones en la subunidad 1 del complejo del factor de replicación (RFC1).” IP: Astrid Crespo Lessmann.





