

# Nya biomarkörer vid allvarlig astma

## SAMMANFATTNING

Det finns en pågående utveckling av biomarkörer med potential att bidra till bättre karakterisering av patienter med svår astma.

Eicosanoider kan idag mätas i urin. Vi har i egna studier funnit att höga värden är associerade till markörer för Th2-driven inflammation. Trots det är inte lipidmediatorerna känsliga för steroidbehandling, vilket andra Th2-markörer är och kan därför vara ett komplement.

Periostin i serum är en relativt ny markör som tycks ha ett samband med Th2-driven inflammation men också med «airway remodeling». Den har visat sig användbar vid bedömning av patienter som kan komma ifråga för behandling med anti-IL-13 (lebrikizumab).

YKL-40, ett kitinasliknande protein som kan mätas i serum har visat sig vara en markör för neutrofil inflammation och korrelerar till förändringar i luftvägarna såsom bronkväggstjockning, dvs. till tecken «airway remodeling». Förhoppningsvis kan YKL-40 tillföra information som annars endast fås med CT eller bronkoskopiundersökningar.

Den elektroniska näsan och möjligheterna att mäta inflammation i utandad luft har varit under utveckling under några år. Idag finns studier som visar att mönstret i de lättflyktiga gaser som finns i utandad luft (VOCs) kan avspegla inflammation och också bidra till att olika fenotyper av astma kan identifieras.

GUNILLA HEDLIN<sup>1</sup> OCH ANNA JAMES<sup>2</sup>

Det är nu välkänt att astma är en heterogen sjukdom med många kliniska fenotyper, sannolikt orsakad av olika biologiska processer (1). Under senare år har därför en stor del av astmaforskningen ägnats åt att identifiera fenotypspecifika biomarkörer för att förbättra diagnostik och behandling av speciella subtyper av astma. Det finns flera anledningar till behovet av förfinad diagnostik och karakterisering av patienter med astma. När det gäller förskolebarn har vi behov inte bara av att bedöma svårighetsgraden av deras astma men också att bedöma risken för att de utvecklar en kronisk astma. För det senare ändamålet har ett «Asthma Predictive Index» använts i olika modifierade varianter med viss framgång (2). Nästa steg är att med hjälp av en sådan indikator kunna förebygga utveckling av svår astma – dithän har vi inte nått ännu.

En annan anledning till behovet av att identifiera olika fenotyper av astma är att effekten av olika behandlingsstrategier varierar från patient till patient (3). En indelning som tillämpats är den så kallad Th1- eller Th2-typen av astma, den förra karakteriseras framför allt av dominans av neutrofila celler i sputum eller BAL, den senare av eosinofila celler i sputum och BAL

och är ofta kombinerad med luftvägsallergi. Patienter med Th2-driven inflammation i luftvägarna svarar ofta bättre på behandling med inhalationssteroider och har ofta också en allergisk astma. Biomarkörer som speglar denna typ av astma är eosinofiler i sputum, NO i utandningsluft och eosinofiler i blod (4).

En nyare men angelägen anledning till behovet av biomarkörer för att skilja på olika typer av astma är de nya behandlingsmöjligheter som kommit med monoklonala antikroppar mot IgE (omalizumab), mot IL-5 (mepolizumab, reslizumab) mot IL-13 (lebrikizumab) och mot IL-13/IL-4 (dupilumab) för att nämna några exempel (5). Vid behandlingsstudier har det visat sig värdefullt att med biomarkörer kunna identifiera patienter som svarar på den tänkta behandlingen, oftast en tilläggsbehandling vid svår astma som kräver höga doser steroider eller inte svarar alls på steroider. Ett annat exempel är behovet att identifiera patienter som svarar på leukotrien-antagonister.

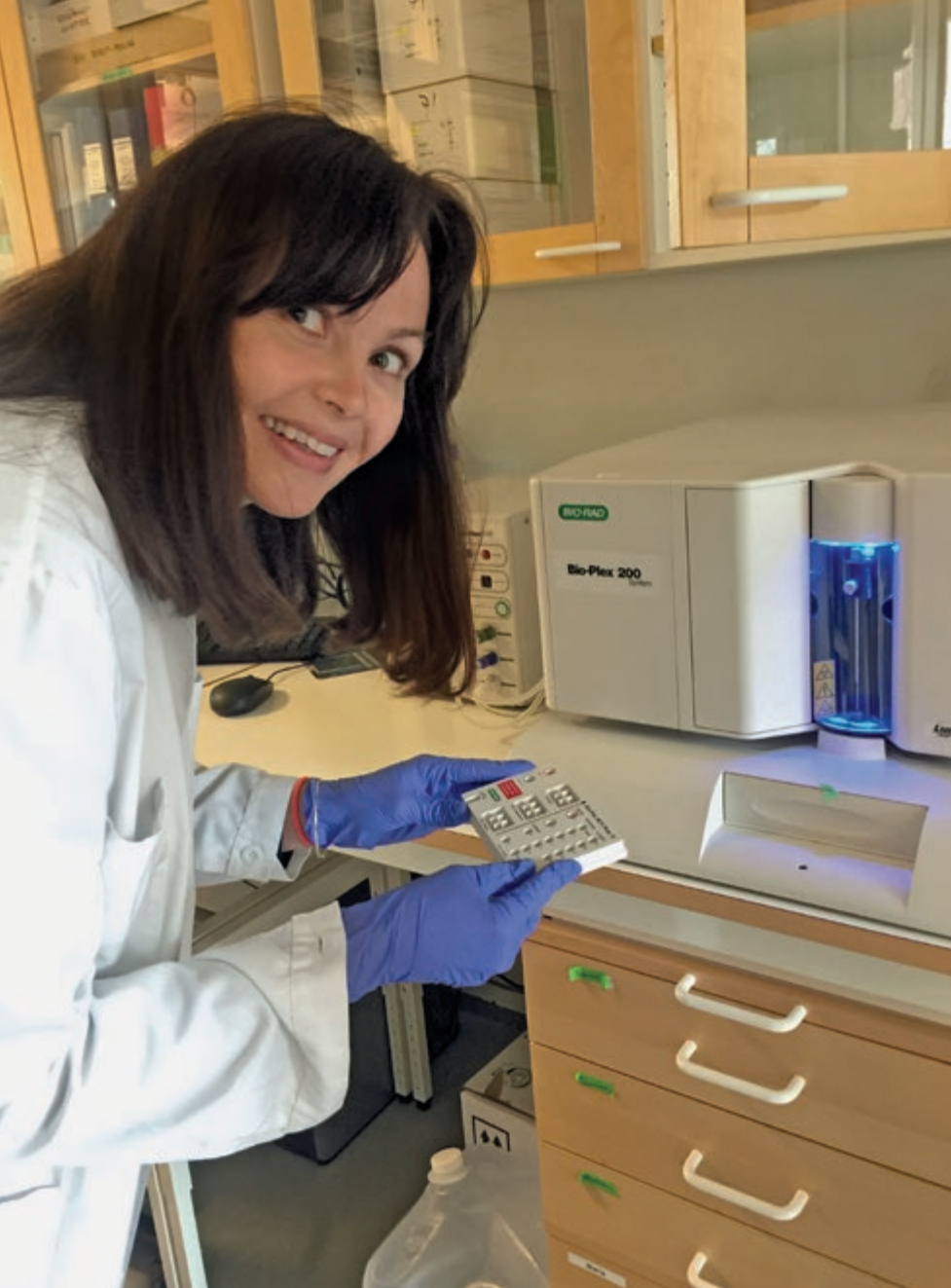
I den här översikten kommer vi att koncentrera oss på några få nya biomarkörer med potential att bidra till bättre karakterisering och behandling av patienter med

## KONTAKTADRESS:

Gunilla Hedlin  
Institutionen för kvinnors och barns hälsa  
Karolinska Universitetssjukhuset Solna  
SE-17176 Stockholm  
gunilla.hedlin@ki.se

<sup>1</sup> Överläkare, senior professor, Institutionen för Kvinnors och Barns Hälsa och Centrum för Allergiforskning, Karolinska Institutet och Astrid Lindgrens Barnsjukhus, Karolinska Universitetssjukhuset.

<sup>2</sup> PhD, forskningsassistent, Enheten för Experimentell Astma- och Allergiforskning, Institutet för Miljömedicin (IMM), Karolinska Institutet.



Identifiering av nya biomarkörer kan bidra till att förbättra diagnostik och behandling av svår astma. Det är önskvärt att biomarkörer för kliniskt bruk är så lite invasiva som möjligt och att de företrädesvis kan analyseras i urin, serum eller utandningsluft. FOTO: GUNILLA HEDLIN

svår astma. Det är önskvärt att biomarkörer för kliniskt bruk är så lite invasiva som möjligt. De vi inkluderat i artikeln analyseras i urin, serum eller utandningsluft.

### Eicosanoider i urin

Det har varit känt länge att leukotriener, prostaglandiner och arakidonsyrederiverade lipidmediatorer är inblandade i luftvägsinflammationen vid astma. Just cysteinyl-leukotrienerna (CysLTs) är några av de mest potenta mediatorerna för bronkonstriktion och de har dessutom kemotaktiska, sekretstimulerande

och fibrosstimulerande effekter (6). Olika prostaglandiner är också inblandade i både pro- och anti-inflammatoriska processer vid luftvägs sjukdom (7). Trots deras välkända biologiska effekter har det ofta visat sig svårt att mäta nivåer i blod på grund av att de snabbt metaboliseras och försvinner från cirkulationen, vilket har minskat deras värde som biomarkörer. I urin däremot kan utsöndrade lipidmediatorer mätas vilket ger möjlighet att icke-invasivt undersöka eicosanoidernas roll som möjliga biomarkörer. Numera kan de mätas på ett reproducerbart sätt med hjälp av nya utvecklade plattformar

med kromatografi kopplad till mass-spektrometri (8). Två speciella eicosanoidmetaboliter ses som särskilt värdefulla att mäta,  $11\beta$ -PGF $_2\alpha$  och LTE $_4$  som avspeglar mastcells respektive eosinofil cells aktivitet.

Cysteinyl-leukotrienerna (CysLTs) består av LTC $_4$ , LTD $_4$  och LTE $_4$  och dessa produceras framför allt av eosinofiler, mastceller och basofiler (6). LTE $_4$  är den mest stabila och kan mätas i urin och då avspeglar leukotrienaktivitet i lungorna. LTE $_4$  ökar under astmaförsämringar, både akuta och de som orsakas av allergenexponering och aspirinintag (9, 10). Läkemedel som blockerar leukotriensyntesen, antileukotriener, minskar nivåerna av LTE $_4$  i urinen. Kortikosteroider påverkar däremot inte urin LTE $_4$ . Studier har gjorts för att undersöka om LT i urin kan användas för att bedöma effekt av leukotrienantagonisten (LTRA) montelukast. Klinisk erfarenhet visar att vissa patienter svarar bättre än andra på behandling med LTRA (11). I en studie har förhållandet mellan urin LT och FeNO visats ha viss nytta vid sådan bedömning (12).

Prostaglandin D $_2$  produceras nästan bara av mastceller (7). Utsöndring i urinen av PGD $_2$ s har studerats med hjälp av infusion av radioaktivt PGD $_2$ . PGD $_2$  kunde då inte mätas i urin däremot metaboliten  $11\beta$ -PGF $_2\alpha$  (13). Det finns gott om stöd för att  $11\beta$ -PGF $_2\alpha$  mätt i urin avspeglar mastcellsaktivitet i lungorna. Nivåerna ökar vid bronkonstriktion orsakad av aspirin, allergen-

exponering, provokation med mannitol och vid ansträngningsutlöst bronkonstriktion (13). PGD<sub>2</sub> från mastceller påverkas inte av kortikosteroidbehandling. Det mastcellsstabiliserande preparatet sodiumkromoglikat hämmar utsöndringen av 11β-PGF<sub>2</sub>α vid ansträngningsutlöst astma (14).

Vi har i egna studier funnit att både LTE<sub>4</sub> och 11β-PGF<sub>2</sub>α kan vara användbara för att identifiera olika subtyper av astma där eosinofiler och mastceller är inblandade. När vi undersökt barn med höga nivåer av LTE<sub>4</sub> och 11β-PGF<sub>2</sub>α i urin och jämfört dem med de som hade de lägsta nivåerna visade det sig att de med höga nivåer hade lägre FEV<sub>1</sub>, ökad bronkial hyperreaktivitet, högre total-IgE och ökat antal eosinofiler i blod, alla indikatorer för en Th-2-driven luftvägsinflammation (15). Likaså har vi sett i en stor europeisk studie av vuxna med astma av olika svårighetsgrad från lindrig till svår astma (den s.k. U-BIOPRED studien) att urin LTE<sub>4</sub>-nivåerna korrelerar med högt total-IgE, utandad NO och sputum- och blodeosinofiler. Höga LTE<sub>4</sub>-värden var också associerade med lägre lungfunktion. Alla är indikatorer på en eosinofil inflammation (16). Sannolikt kommer användbarheten av lipid-mediatorer i urin att kunna förfinas och bli markörer för specifika fenotyper av astma när plattformarna för analys inkluderar fler metaboliter. Det kan möjliggöra en mer fullständig översikt av arakidonsyremetaboliterna och inkludera också andra än 5-lipoxygenas och COX-syntesvägarna av LTE<sub>4</sub> och PGD<sub>2</sub>.

## Periostin

Ett protein som nu studeras mycket för bättre diagnostik vid astma är periostin. Som namnet antyder upptäcktes periostin först som en substans som utsöndrades från celler i periostet och visades ha betydelse för bentillväxt och läkning (17). Detta protein har nu visat sig utsöndras av många andra celltyper i kroppen som till exempel epitelceller och fibroblaster och dess främsta funktion verkar vara en påverkan på fibrotisering och stabilisering av extracellulärt matrix. I lungan anses periostin vara inblandad i s.k. «airway remodeling». Det

utsöndras av epitelceller och går att mäta i blod (18). Periostin är också inblandad i Th2-driven luftvägsinflammation på grund av sitt förstärkta uttryck i epitelceller från patienter med astma och att det uppregleras av klassiska Th2-typ cytokinerna IL-4 och IL-13. Det är också en möjlig markör för effekt av anti-IL-13-behandling. (19, 20)

Trots intresset för periostin som biomarkör för Th2-inflammation vid astma finns det ganska få studier som undersökt förhållandet mellan cirkulerande periostinnivåer och luftvägseosinofili eller andra Th2-markörer. Vissa studier har dessutom visat motsägelsefulla resultat. Wagener och medarbetare rapporterade att periostin inte kunde skilja mellan eosinofil och icke-eosinofil luftvägsinflammation medan Jia et al rapporterade att periostin har både hög sensitivitet och specificitet för luftvägseosinofili (21, 22). Majoriteten av publicerade studier hittills visar en måttlig men signifikant korrelation mellan cirkulerande periostin och andra markörer för Th2-inflammation såsom utandad NO, eosinofiler i sputum och blod och total-IgE (23, 24), vilket stärker sannolikheten för ett samband mellan periostin och eosinofil inflammation.

Periostin i lungorna anses ha en funktion i vävnadsläkning och organisering av matrix via interaktion med extracellulär matrix samt i att öka produktionen av TGFβ från epitelcellerna. TGFβ är en tillväxtfaktor inblandad i fibrotisering (18). Höga periostinnivåer är också associerade med större reduktion av FEV<sub>1</sub> över tid.

Den kliniska användbarheten av periostin som biomarkör förutsätter att man tar hänsyn till faktorer som kan påverka nivåerna i blod. Periostin är steroidkänsligt. Fingleton et al har nyligen rapporterat att periostinnivåerna i serum sjunker vid behandling med inhalationssteroider (23). Periostin verkar också ha en negativ korrelation till BMI och till rökning, f.d. rökare har lägre nivåer än icke-rökare. Det behövs fler studier av dessa möjliga påverkande faktorer. Dessutom är periostin troligen inte en användbar biomarkör för växande

barn. Deras basnivåer är höga, sannolikt på grund av bentillväxt, vilket kan dölja förändringar som beror på lokalt frisatt periostin i cirkulationen i luftvägarna. Vi har heller inte, i egna studier, kunnat se någon korrelation mellan serumperiostin och FeNO, blodeosinofiler, och IgE hos skolbarn med måttligt svår till svår astma (25) och andra har inte heller funnit motsvarande samband hos barn mellan 6–11 år med olika allergiska manifestationer inklusive astma (26).

Komplexiteten i tolkningen av periostinnivåer i förhållande till kliniska fenotyper har beskrivits i en nyligen publicerad brittisk studie som studerat vuxna med olika typer av svår astma (27). Man delade upp patienterna i sex olika grupper utifrån många sjukdomsrelaterade faktorer. I tre av grupperna fann man höga periostinvärden, en grupp karakteriserades av sputum neutrofil och eosinofili samt svår bronkobstruktion, en av steroidresistens och höga värden för sputumeosinofiler och en tredje av höga halter av MMP3 (matrix metalloproteinase 3) i sputum och sinussjukdom.

Sammanfattningsvis är periostin en Th2-inflammationsmarkör hos vuxna som sannolikt kan användas inför ställningstagande till anti-IL-13-behandling.

## YKL-40

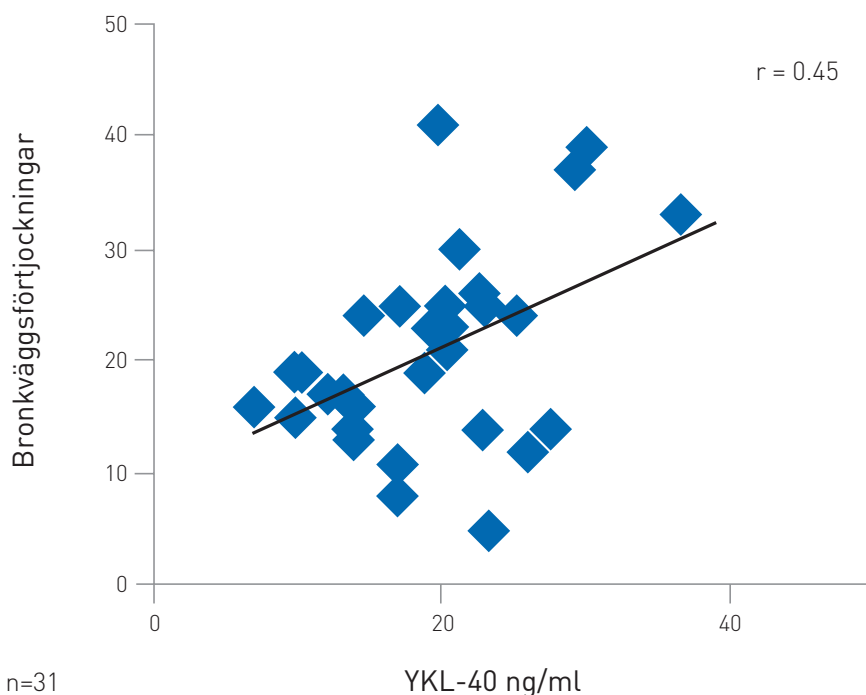
YKL-40 (CHI3L1), ett kitinasliknande protein, är en potentiell biomarkör som hittills mest associerats med svårare former av astma. YKL-40 kan därför bli en möjlig markör att användas för det som kallas «recision-medicine», dvs. för att identifiera särskilt svårbehandlade patienter.

Kitin är en vanlig polysackarid med en stark och tålig struktur som förekommer hos en mängd olika organismer, bl.a. insekter, skalldjur, parasiter, svamp och bakterier för att skydda mot yttre påverkan. Kitin finns inte hos människor, men vi har trots det enzymer som kan bryta ner kitin. Kitinasfamiljen omfattar äkta kitinaser det s.k. «Acidic mammalian chitinase» (AMCase) och chitotriosidas men också det strukturmässigt kitinas-

liknande proteinet YKL-40 som inte har någon enzymaktivitet [28]. Bland kitinaserna har YKL-40 väckt störst uppmärksamhet som en ny möjlig biomarkör vid astma.

YKL-40 nivåerna är förhöjda hos både barn och vuxna med svår astma jämfört med friska kontroller eller med de som har lindrigare sjukdom [29-31]. Förhöjda cirkulerande YKL-40 nivåer är konsekvent associerad med nedsatt lungfunktion, vilket också understryker sambandet med sjukdomssvårighetsgrad [32]. Den exakta biologiska rollen för YKL-40 är fortfarande oklar, men det faktum att nivåer av YKL-40 i serum har en koppling till strukturförändringar i luftvägarna, s.k. remodeling, såsom bronkväggsförtjockning [3] och subepitelial fibros kan stämma med att YKL-40 ökar proliferationen av glatta muskelceller i bronkerna och är inblandad i fibrotisk lungsjukdom. Ytterligare evidens för YKL-40s roll i «remodeling» i luftvägarna är att förhöjda serumnivåer ses vid försämringar i lungfunktionen också över tid [33].

I våra studier av vuxna med astma har vi däremot inte funnit något samband mellan YKL-40 och atopi, blodeosinofil antal och serumperiostin [32]. Vi ser heller inget samband mellan YKL-40 och patienters svar på behandling med kortikosteroider. Uppdelning av patienterna i en Th2-hög och en Th2-låg grupp baserat på blodeosinofiler och höga periostinvärden resulterade inte i skillnader i YKL-40 nivåerna mellan de två grupperna [33]. Jia och medförfattare har också visat att periostin är en mycket känslig indikator på luftvägseosinofili medan YKL-40 inte hade någon korrelation vare sig till periostin, eosinofili (i blod, sputum eller vävnad) eller utandad NO [22]. När det gäller atopi är fynden varierande, några rapporterar ingen association mellan YKL-40 och atopi eller IgE-nivåer i blod [29, 34] medan andra finner mer cirkulerande YKL-40 hos patienter med högre IgE-nivåer eller hos de med atopisk astma jämfört med icke-atopiker [35]. YKL-40 nivåerna har också visat sig vara högre hos patienter med kronisk obstruktiv lungsjukdom (COPD) jämfört med patienter med astma



YKL-40 nivåerna är förhöjda hos både barn och vuxna med svår astma jämfört med friska kontroller eller med de som har lindrigare sjukdom. Figuren visar samband mellan YKL-40 nivåerna och bronkväggsförtjockningar enligt en CT-undersökning av lungorna [Konradsen et al [30]. FIGUREN ÄR ÅTERGIVEN MED TILLSTÅND.

[32]. Preliminära resultat av våra egna studier visar högre YKL-40-värden hos barn med BPD jämfört med barn med astma [36] vilket bekräftar att kitinaser inte är Th2-specifika markörer vid luftvägssjukdom. YKL-40 ses snarare korrelera med neutrofil inflammation än med eosinofil inflammation [30], vilket kan vara särskilt värdefullt, eftersom vi saknar bra markörer för neutrofil inflammation i luftvägarna (FIGUR 1).

Andra faktorer av betydelse vid bedömning av YKL-40-nivåerna i blod är att de ökar med högre ålder i befolkningen i allmänhet, vilket har betydelse när man använder och tolkar YKL-40 i serum [32]. YKL-40-nivåerna påverkas också starkt av variationer i CHI3L1-genen och intressant nog är vissa genetiska varianter av CHI3L1-genen associerad till astma och vissa fenotyper av astma [30, 32, 37]. Cirkulerande YKL-40 sjunker inte av användning av perorala kortikosteroider, tvärtom finner man ofta att patienter med pågående behandling med höga doser har de högsta värdena. [29, 30, 32]. Sammanfattningsvis bedömer vi idag att om man tar hänsyn till ålder och

den genetiska variabiliteten så kan kitinaserna kvalificeras som nya biomarkörer för både barn och vuxna för bedömning av svår kronisk astma, särskilt när neutrofil luftvägsinflammation och «remodeling» finns med i bilden.

### Den elektroniska näsan

Senaste tillskottet när det gäller icke-invasiva biomarkörer vid astma är mätning med metabolomisk analysteknik i utandad luft, den s.k. elektroniska näsan [38]. Metoden kallas också «breathomics» och resultatet av analysen av utandningsluften «a breathprint». Kompositionen av gaser i ett andetag är komplex och påverkas av många faktorer, till exempel vad man andas in, vad man äter, pågående normala fysiologiska processer i slemhinnorna och av möjliga pågående inflammatoriska processer. Med tilltagande förfining av analysmöjligheterna av lättflyktiga gaser s.k. volatila gaser (Volatile Organic Compounds) har flera rapporter kommit om möjligheterna att med olika VOC-mönster skilja mellan patienter med astma och

friska kontroller, mellan patienter med COPD och de med astma. Även fenotyper av astma kan i viss mån karakteriseras utifrån mönstret och kompositionen av dessa gaser analyserade i utandningsluft med hjälp av den s.k. elektroniska näsan och användning av gaskromatografi och masspektrometri (39). Hittills har metoden inte någon direkt klinisk applikation, men studier finns där man med VOC-mönster kunnat skilja förskolebarn med astma från friska och kunnat identifiera förskolebarn med rhinovirusinfektion och astma (40). Metoden är mycket tilltalande på grund av enkelheten i att samla utandningsluft, men mycket komplicerad när det gäller analyserna och inte minst tolkningen av de olika VOC-mönster som analyserna påvisar. Metoden utvecklas, standardiseras och valideras i många olika studier inte bara hos patienter med astma (39). Idag är den en del i aktiv forskning avseende biomarkörer vid astma med målsättningen att den elektroniska näsan ska bli ett verktyg för «precision medicine», dvs. en hjälp att välja rätt behandling utifrån specifika karakteristika hos individuella patienter med astma.

#### REFERENSER

- Fajt ML, Wenzel SE. Asthma phenotypes and the use of biologic medications in asthma and allergic disease: the next steps toward personalized care. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135: 299–310.
- Sears MR. Predicting asthma outcomes. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 136(4):829–36.
- Konradsen JR, Caffrey Oswald E, Hedlin G. Update on the current methods for the diagnosis and treatment of severe childhood asthma. *Expert Rev Respir Med* 2015; 9(6): 769–77.
- Parulekar AD, Diamant Z, Hanania NA. Role of T2 inflammation biomarkers in severe asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2016; 22(1): 59–68.
- Bartminski G, Crossley M, Turcanu V. Novel biomarkers for asthma stratification and personalized therapy. *Expert Rev Mol Diagn* 2015; 15(3): 415–30.
- Okunishi K, Peters-Golden M. Leukotrienes and airway inflammation. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1810(11): 1096–02.
- Claar D, Hartert TV, Peebles RS Jr. The role of prostaglandins in allergic lung inflammation and asthma. *Expert Rev Respir Med* 2015; 9(1): 55–72.
- Balgoma D, Larsson J, Rokach J, Lawson JA, Daham K, Dahlén B et al. Quantification of lipid mediator metabolites in human urine from asthma patients by electrospray ionization mass spectrometry: controlling matrix effects. *Anal Chem* 2013; 85(16): 7866–74.
- Kumlin M, Dahlen B, et al. Urinary excretion of leukotriene E4 and 11-dehydro-thromboxane B2 in response to bronchial provocations with allergen, aspirin, leukotriene D4, and histamine in asthmatics. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146(1): 96–103.
- Green S.A, Malice M.P, Tanaka W, Tozzi C.A, Reiss T.F. Increase in urinary leukotriene LTE4 levels in acute asthma: correlation with airflow limitation. *Thorax* 2004; 59 (2): 100–4.
- Lemanske RF, Jr., Mauger DT, Sorkness CA, Jackson DJ, Boehmer SJ, Martinez FD et al. Step-up therapy for children with uncontrolled asthma receiving inhaled corticosteroids. *N Engl J Med* 2010; 362: 975–85.
- Rabinovitch N, Graber NJ, Chinchilli VM, Sorkness CA, Zeiger RS, Strunk RC et al. Urinary leukotriene E4/exhaled nitric oxide ratio and montelukast response in childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 545–51.
- Dahlen, S. E. and Kumlin M. [Monitoring mast cell activation by prostaglandin D2 in vivo. *Thorax* 2004; 59(6): 453–55.
- Kippelen P, Larsson J, Anderson SD, Brannan JD, Dahlén B, Dahlén SE. Effect of sodium cromoglycate on mast cell mediators during hyperpnea in athletes. *Med Sci Sports Exerc* 2010; 42(10): 1853–60.
- Konradsen JR, Bood J, Nordlund B, Venge P, Alving K, Dahlen B et al. Urinary biomarkers identify a sub-phenotype of severe childhood asthma driven by mast cells and eosinophils. *Am J Respir Crit Care Med* 2014; 189;:A3832
- Sjödin M, Kolmert J, Balgoma D, Delin I, Djukanovic R, Corfield J et al. Urinary LTE4 may be associated with TH2-driven asthma: Initial data from the Pan-European U-BIOPRED IMI project. ERS conference, Munich 2014, abstract number 3404
- Chapurlat RD, Confavreux CB. Novel biological markers of bone: from bone metabolism to bone physiology. *Rheumatology* 2016; Jan 20. pii: kev410.
- Sidhu SS, Yuan S, Innes AL, Kerr S, Woodruff PG, Hou L et al. Roles of epithelial cell-derived periostin in TGF-beta activation, collagen production, and collagen gel elasticity in asthma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 14170–75.
- Takayama G, Arima K, Kanaji T, Toda S, Tanaka H, Shoji S et al. Periostin: a novel component of subepithelial fibrosis of bronchial asthma downstream of IL-4 and IL-13 signals. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 98–104.
- Corren J, Lemanske RF, Hanania NA, Korenblat PE, Parsey MV, Arron JR et al. Lebrikizumab treatment in adults with asthma. *N Engl J Med* 2011; 365: 1088–98.
- Wagener AH, de Nijs SB, Lutter R, Sousa AR, Weersink EJ, Bel EH et al. External validation of blood eosinophils, FE(NO) and serum periostin as surrogates for sputum eosinophils in asthma. *Thorax* 2015; 70: 115–20.
- Jia G, Erickson RW, Choy DF, Mosesova S, Wu LC, Solberg OD et al. Periostin is a systemic biomarker of eosinophilic airway inflammation in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 647–54.
- Fingleton J, Braithwaite I, Travers J, Bowles D, Strik R, Siebers R et al; NZRHS Study Group. Serum periostin in obstructive airways disease. *Eur Respir J*. 2016; Feb 25. doi: 10.1183/13993003.01384-2015. [Epub ahead of print]
- Matsusaka M, Kabata H, Fukunaga K, Suzuki Y, Masaki K, Mochimaru T et al. Phenotype of asthma related with high serum periostin levels. *Allergol Int* 2015; 64: 175–80.
- Konradsen JR, Skantz E, Nordlund B, Lideman M, James A, Ono J et al. Predicting asthma morbidity in children using proposed markers of Type-2 inflammation. *Pediatr Allergy Immunol* 2015; 26: 772–9.
- Inoue Y, Izuhara K, Ohta S, Ono J, Shimojo N. No increase in the serum periostin level is detected in elementary school-age children with allergic diseases. *Allergol Int*. 2015; 64(3): 289–90.
- Hinks TS, Brown T, Lau LC, Rupani H, Barber C, Elliott S et al. Multidimensional endotyping in patients with severe asthma reveals inflammatory heterogeneity in matrix metalloproteinases and chitinase 3-like protein 1. *J Allergy Clin Immunol* 2016; Jan 28. [Epub ahead of print]
- Lee CG, Da Silva CA, Dela Cruz CS, Ahangari F, Ma B, Kang MJ et al. Role of chitin and chitinase/chitinase-like proteins in inflammation, tissue, and injury. *Annu Rev Physiol* 2011; 73: 479–501.
- Chupp GL, Lee CG, Jarjour N, Shim YM, Holm CT, He S et al. A chitinase-like protein in the lung and circulation of patients with severe asthma. *N Engl J Med* 2007; 357: 2016–27.
- Konradsen JR, James A, Nordlund B, Reinius LE, Söderhäll C, Melén E et al. The chitinase-like protein YKL-40: A possible biomarker of inflammation and airway in severe pediatric asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132: 328–35.
- Tang H, Yang Z, Sun Y, Li B, Shi Z, Chen J et al. YKL-40 in asthmatic patients, and its correlations with exacerbation, eosinophils and immunoglobulin E. *Eur Respir J* 2010; 35: 757–60.
- James AJ, Reinius LE, Verhoek M, Gomes A, Kupczyk M, Hammar et al; BIOAIR [Longitudinal Assessment of Clinical Course and Biomarkers in Severe Chronic Airway Disease] Consortium\*. Increased YKL-40 and Chitotriosidase in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016; 193(2): 131–42.
- Guerra S, Halonen M, Sherrill DL, Venker C, Spangenberg A, Carsin AE et al. The relation of circulating YKL-40 to levels and decline of lung function in adult life. *Respir Med* 2013; 107: 1923–30.
- Ober C, Tan Z, Sun Y, Possick JD, Pan L, Nicolae R et al. Effect of variation in CH13L1 on serum YKL-40 level, risk of asthma, and lung function. *N Engl J Med* 2008; 358: 1682–91.
- Specjalski K, Chetmińska M, Jassem E. YKL-40 Protein Correlates with the Phenotype of Asthma. *Lung* 2015; 193: 189–94.
- James A, Konradsen J, Nordlund B, Ebersjo C, Henckel E, Dahlen SE et al. Serum YKL-40 Is Increased In Children With Bronchopulmonary Dysplasia Compared To Children With Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 187: A2536.
- Gomez JL, Crisafi GM, Holm CT, Meyers DA, Hawkins GA, Bleecker ER, Jarjour N for the SARP investigators, Cohn L, Chupp GL. Genetic variation in chitinase 3-like 1 (CH13L1) contributes to asthma severity and airway expression of YKL-40. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 136(1): 51–58.e10.
- Dragonieri S, Schot R, Mertens BJ, Le Cessie S, Gauw SA, Spanevello A et al. An electronic nose in the discrimination of patients with asthma and controls. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120(4): 856–62.
- Boots AW, Bos LD, van der Schee MP, van Schooten FJ, Sterk PJ. Exhaled Molecular Fingerprinting in Diagnosis and Monitoring: Validating Volatile Promises. *Trends Mol Med* 2015; 21(10): 633–44.
- Fens N, van der Schee MP, Brinkman P, Sterk PJ. Altered exhaled biomarker profiles in children during and after rhinovirus-induced wheeze. *Clin Exp Allergy* 2013; 43(7): 705–15.