

# ЕОЗИНОФИЛЕН ФЕНОТИП – ДОМИНИРАЩ ВЪЗПАЛИТЕЛЕН ТИП ПРИ НЕКОНТРОЛИРАНА УМЕРЕНО ТЕЖКА И ТЕЖКА БРОНХИАЛНА АСТМА

В. Юркова<sup>1</sup>, Д. Димитрова<sup>1</sup>, Я. Славова<sup>1</sup>, А. Валериева<sup>2</sup>, С. Лесичкова<sup>3</sup>

Клиничен Център по Белодробни болести, СБАЛББ „Св. София“ ЕАД<sup>1</sup>  
Клиника по алергология, УМБАЛ „Александровска“<sup>2</sup>  
Клиника по клинична имунология, УМБАЛ „Александровска“<sup>3</sup>  
Медицински Университет, София

## Резюме

**Увод:** Значителна част от пациентите с бронхиална астма (БА), остават с неконтролирано заболяване, въпреки съвременните възможности за лечение. Фенотипизирането на заболяването би могло да допринесе за по-добро разбиране на патофизиологията на БА, идентифицирането на биомаркери на възпалението и подобряване на терапевтичните подходи.

**Цел:** Да се проучат различните фенотипи БА на базата на клинични и възпалителни характеристики при възрастни пациенти с неконтролирана умерено тежка и тежка БА.

**Материали и методи:** Изследвахме 42 пациента с БА извън екзацербация. Разделихме ги на две групи в зависимост от постигнатия контрол: контролирана БА (КА) (n=19) и неконтролирана БА (НА) (n=23). Проведохме кожно-алергично тестване и спирометрия. Оценихме: индекс телесна маса (ИТМ), експозицията на тютюнев дим, давност на заболяването, провеждана терапия, брой екзацербации през последната една година. Изследвахме нива на азотен окис (FeNO) в издишан въздух, периферна и локална (в спутум) еозинофилия и серумни нива на общи IgE-антитела. Определихме възпалителния тип на спутума.

**Резултати:** Не установихме статистически значими различия при сравнение на НА с КА по възраст, пол, начало на заболяването, продължителност на БА, ИТМ, атопичен статус и доза на инхалаторен кортикостероид. В групата НА се наблюдава по-висок процент на пациенти с чести екзацербации през последната една година (p=0.03) и сигнификантно по-ниски функционални параметри на дишането. При 56.5% от пациентите с НА се наблюдава висок еозинофилен брой (над 350cells/microL) в периферна кръв (p=0.04). Периферната еозинофилия съответстваше на еозинофилен възпалителен тип храчка (p=0.022). Еозинофилният възпалителен тип доминираше при пациенти с чести екзацербации (p=0.001). Повишени нива на FeNO (над 50ppb) бяха в асоциация с НА (p=0.02) и еозинофилен възпалителен тип спутум (p=0.02). От друга страна по-високите нива на FeNO при НА показаха корелация с периферната еозинофилия (r=0.69; p<0.001).

**Заключение:** Ние установихме доминиране на еозинофилния възпалителен фенотип при пациенти с неконтролирана умерено тежка и тежка БА. Повишените нива на FeNO, периферната и локална еозинофилия се асоциират с недобър контрол и чести екзацербации на БА. Тези маркери на възпалението биха могли да бъдат полезни средства в мениджмънта на заболяването.

**Ключови думи:** бронхиална астма, умерено тежка и тежка неконтролирана астма, фенотип, еозинофили, FeNO, контрол

# EOSINOPHILIC PHENOTYPE - THE DOMINANT INFLAMMATORY TYPE OF UNCONTROLLED MODERATE AND SEVERE BRONCHIAL ASTHMA

V. Youroukova<sup>1</sup>, D. Dimitrova<sup>1</sup>, Y. Slavova<sup>1</sup>, A. Valerieva<sup>2,3</sup>, S. Lesichkova<sup>3</sup>

Clinical Center for lung diseases, SHATPD "Sv. Sofia", Sofia<sup>1</sup>  
Clinic of Allergy, University Hospital Alexandrovska, Sofia<sup>2</sup>  
Department of Clinical Immunology, University Hospital Alexandrovska, Sofia<sup>3</sup>  
Medical University, Sofia

## Abstract

**Introduction:** A significant part of bronchial asthma (BA) patients remains uncontrolled despite various treatment options. Phenotyping can contribute to better understanding of the pathophysiology of BA, identification of biomarkers of inflammation and improvement in therapeutic approaches.

**Aim:** To study the various phenotypes BA based on clinical and inflammatory characteristics in adult patients with uncontrolled moderate and severe BA.

**Materials and methods:** We studied 42 patients with BA out of stage of exacerbation. Depending on the control level, patients were divided into two groups: controlled BA (CA) (n=19) and uncontrolled BA (UA) (n=23). Skin prick testing and spirometry were performed. We have evaluated body mass index (BMI), exposure to tobacco smoke, duration of disease, therapy, number of exacerbations during the last year. We have examined the fraction of exhaled nitric oxide (FeNO), peripheral eosinophilia and serum levels of total IgE-antibodies. We have identified sputum inflammatory type.

**Results:** Statistically significant differences between CA and UA compared by age, gender, onset, duration of BA, BMI, atopic status and inhaled corticosteroid doses were not found. Higher percentage of patients with frequent exacerbations during the last year ( $p=0.03$ ) and significantly lower lung function parameters were observed in the group of UA. In 56.5% of the patients with UA higher eosinophil count (above 350cells/microL) in peripheral blood ( $p=0.04$ ) was observed. Peripheral eosinophilia was corresponding to eosinophilic inflammatory sputum type ( $p=0.022$ ). Eosinophilic inflammatory type was predominant in patients with frequent exacerbations ( $p=0.001$ ). Elevated levels of FeNO (above 50ppb) were in association with UA ( $p=0.02$ ) and eosinophilic inflammatory sputum type ( $p=0.02$ ). On the other hand, higher levels of FeNO in UA were in positive correlation with peripheral eosinophilia ( $r=0.69$ ;  $p<0.001$ ).

**Conclusion:** We found prevalence of eosinophilic inflammatory phenotype in patients with uncontrolled moderate and severe BA. Elevated levels of FeNO, peripheral and sputum eosinophilia were associated with inadequate control and frequent exacerbations. These markers of inflammation might be useful tools for management of the disease.

**Keywords:** bronchial asthma, moderate and severe uncontrolled asthma, eosinophils, phenotypes, FeNO, control

## Увод

Постигането на оптимален контрол е основна цел при лечението на бронхиална астма (БА). Неконтролираната астма (НА) води до влошаване на качеството на живот и значителни разходи в системата на здравеопазване (25). Около 45-54 % от пациентите с бронхиална астма (БА) остават с недобър контрол на заболяването въпреки лечението. Резултатите от голямо проучване проведено в 11 европейски страни (REALISE 2014, n=8 000) показват, че 45% от пациентите остават с неконтролирана астма, 34.8% – с частично контролирана астма, а 44% са приемали орални кортикостероиди (КС) по повод остра екзацербация през последната една година. Повече от 80% от болните, въпреки ежедневните симптоми смятат своето заболяване за контролирано (24). Според други автори 54% от пациентите са с лош контрол на заболяването (6).

Около 10-20% от всички пациенти са с тежка бронхиална астма с прогресивно влошаване на симптомите и чести тежки екзацербации, които водят до бърза загуба на белодробна функция, въпреки провежданата комплексна терапия (22). При тези пациенти концепцията за фенотипизиране на астмата има нарастващо значение през последните години (3). Клъстерни проучвания подкрепят идеята, че клиничко-възпалителните модели за фенотипизиране на астмата са променливи, но чрез тях могат да бъдат идентифицирани фенотипи, които остават стабилни във времето и подлежат на персонализиран подход за лечение (33). Нуждата от мониториране на локалното възпаление доведе до развитие на методи за неинвазивната му оценка – изследване на индуцирана хрчка и фракцията на азотен окис в издишан въздух (FeNO).

## Цел

Целта на настоящото изследване е да се проучат различните фенотипи БА на базата на клинични и възпалителни характеристики при възрастни пациенти с неконтролирана умерено тежка и тежка БА.

## Материали и методи

Настоящото проучване се проведе в периода януари – март 2016 година след разрешение на Комисията по етика на научните изследвания в Медицински университет – София.

Включени бяха 42 пациента (16 мъже и 26 жени) с умерено тежка и тежка бронхиална астма извън екзацербация. Тежестта на астмата се оцени в съответствие с международните препоръки на ERS и ATS (4, 10). Изследванията се проведоха в рамките на обичайната амбулаторна практика. Всички участници в проучването са на възраст над 18 години и участват доброволно след подписване на информирано съгласие.

## Introduction

Optimal control is the primary goal in the treatment of bronchial asthma (BA). Uncontrolled BA leads to poor quality of life and significant costs in the healthcare system (25). About 45-54 % of patients have asthma that remains uncontrolled despite therapy. Data from a survey conducted in 11 European countries (REALISE 2014, n=8 000) shows that 45% of patients with BA remain uncontrolled, 34.8% are partially controlled and 44% were taking oral corticosteroids (CS) on the occasion of acute exacerbations during the last year. More than 80% of patients, despite the daily symptoms considered their disease as controlled (24). According to other authors 54% of asthmatic patients remain with poor control of the disease (6).

Around 10-20 % of all patients have severe asthma with progressive worsening of symptoms and frequent severe exacerbations that lead to rapid loss of lung function despite ongoing complex therapy (22). In these patients, the concept of phenotyping of asthma is of growing importance in the recent years (3). Cluster studies supported the idea that clinical inflammatory models of asthma phenotyping are variable, but through them can be identified phenotypes that remains stable over time and are subject to a personalized approach of treatment (33). The need of monitoring the local inflammation have lead to the development of non-invasive methods for its assessment - study of induced sputum and evaluation fraction of nitric oxide in exhaled air (FeNO).

## Aim

The aim of this study is to explore the various phenotypes BA based on clinical and inflammatory characteristics in adult patients with uncontrolled moderate and severe BA.

## Materials and methods

This study was performed in the period January-March 2016 after permission of the Ethics Committee on Medical Research of the Medical University – Sofia.

In the study were included 42 patients (men - 16, women - 26) with moderate and severe asthma out of exacerbation. The severity of asthma was assessed in accordance with international recommendations of ERS and ATS (4, 10). The tests were conducted in the ordinary course of ambulatory practice. All participants in the study were aged over 18 years and participate voluntarily after signing an informed consent.

Включващи критерии за участие в проучването бяха: поставена диагноза бронхиална астма на базата на типични клинични симптоми; проявена вариабилност и реверзибилност на бронхиалната обструкция, обективизирана с положителен бронходилататорен тест по изискване на международните ръководства (GINA; BTS/SIGN; EPR-3); подписана писмена форма на информирано съгласие; възраст между 18 и 75 години; регулярно провеждана поддържаща терапия с инхалаторни кортикостероиди (ИКС) или комбинация ИКС и дългодействащ бета-2 агонист (ДДБА) през последните 4 седмици (терапевтична стъпка 3 и 4 по GINA 2016), преди включване в проучването.

Исключващи критерии за участие в проучването бяха: екзацербация, наложила провеждането на системна кортикостероидна терапия последните 4 седмици преди изследването; активна инфекция или такава довела до хоспитализация или лечение последните 4 седмици преди изследването; интерстициална белодробна болест или друго значимо белодробно заболяване освен БА, злокачествено заболяване, аутоимунно заболяване, остър или хроничен хепатит, цироза, бъбречна недостатъчност, тежки сърдечно-съдови и ендокринологични заболявания, известна имунна недостатъчност – HIV инфекция; провеждане на терапия с левкотриенови антагонисти, депо кортикостероидни препарати, моноклонални антитела, имуномодулираща или имуносупресираща терапия, специфична десенсибилизация; злоупотреба с алкохол и наркотични вещества, или бременност.

Всички пациенти попълниха анкетна карта, въпросници за оценка на контрола на БА – Тест за контрол на астмата (Asthma Control Test (ACT)) (18, 20, 30). ACT включва четири въпроса за симптоми и употреба на бързодействащ инхалатор при нужда и един въпрос за самооценка на нивото на контрол. Резултатите варират от 5 до 25 точки: от 20 до 25 точки – добре контролирана БА, 16 до 20 точки – недобре контролирана БА и от 5 до 15 точки – много лош контрол на БА. Минималната клинично значима разлика е 3 точки. Ретроспективно бе оценен броят на екзацербациите през последната една година, наложили прием на системни КС или хоспитализация.

Пациентите бяха разделени в три групи според експозицията им на тютюнев дим: настоящи пушачи, бивши пушачи (отказ от тютюнопушене над 1 година) и непушачи. Пакетогодините бяха изчислени по формула (брой изпушени цигари на ден) x (брой години тютюнопушене) / 20.

Извършени бяха антропометрични измервания за определяне на височината и теглото. Индексът на телесна маса (ИТМ) се изчисли по формулата: телесно тегло/ръст<sup>2</sup> (kg/m<sup>2</sup>). В зависимост от ИТМ изследваните бяха определени като пациенти с: нормално тегло – ИТМ

Including criteria for participation in the study were: BA diagnose based on typical clinical symptoms; variability and reversibility of bronchial obstruction confirmed by positive bronchodilator test according to the international guidelines (GINA; BTS/SIGN; EPR-3); signed written informed consent; age between 18 and 75 years; regularly carried out maintenance therapy with inhaled corticosteroids (ICS) or combination ICS and long-acting beta-2 agonist (LABA) in the last four weeks (therapeutic step 3 and 4 GINA 2016) before inclusion in the study.

Exclusion criteria for participation were: exacerbation required a systemic corticosteroid therapy in the last 4 weeks prior to the study; active infection or one leading to hospitalization or treatment in the last 4 weeks prior to the study; interstitial lung disease or other significant pulmonary disease other than BA, malignancy, an autoimmune disease, acute or chronic hepatitis, cirrhosis, renal failure, severe cardiovascular and endocrinological diseases, certain immune deficiency – HIV infection; treatment with leukotriene antagonists, depot corticosteroids, monoclonal antibodies, immunomodulatory or immunosuppressive therapy, specific desensitization; alcohol or narcotic drugs abuse, or pregnancy.

All patients filled in an inquiry card and a questionnaire to assess the control of BA – Asthma Control Test (ACT) (18, 20, 30). ACT includes four questions about symptoms and use of short-acting inhaler, and a question on self-evaluation of the level of control. Results may vary from 5 to 25 points: from 20 to 25 points refer to well-controlled BA, from 16 to 20 points – poorly controlled BA and from 5 to 15 points – very poor control of BA. The minimum clinically significant difference is 3 points. Retrospectively was estimated the number of exacerbations during the last year, imposed intake of systemic CS or hospitalization.

Patients were divided into three groups according to their exposure to tobacco smoke: current smokers, ex-smokers (smoking cessation more than one year) and non-smokers. Smoking pack years were calculated by the formula: (number of cigarettes smoked per day) x (number of years smoking) / 20.

Anthropometric measurements were performed to determine the height and weight. The body mass index (BMI) was calculated using the formula: weight/height<sup>2</sup> (kg/m<sup>2</sup>). Depending on BMI patients were identified as patients with: normal weight – BMI 18.5-24.9; overweight – BMI

18.5-24.9; наднормено тегло – ИТМ 25-29.9; затлъстяване – ИТМ  $\geq 30$ .

Според анамнестични и медицински данни за първа проява на заболяването, пациентите бяха разделени на такива с ранно начало на БА – изява преди 12-годишна възраст и с късно начало на БА – изява на и след 12-годишна възраст. Беше проведен подробен физикален преглед.

Изследвани бяха функционални параметри на дишането чрез стандартна спирометрия с MiniSpir® (софтуер WinspiroPRO® версия 6.8.0; Italy) и ниво на азотен окис в издишан въздух (FeNO) чрез системата NIOX MINO (Aerocrine, Sweden).

Атопичният статус беше определен в Клиника по алергология към УМБАЛ „Александровска“ след провеждане на кожно-алергични проби (КАП - Прик тест) с най-често срещаните инхалаторни алергени – микрочърлежи в домашен прах, полени, треви, плесени, плевели, котка, куче, морско свинче, пух, пера. Изследвани бяха общи серумни IgE-антитела (EUROIMMUN total IgE ELISA, Germany) в Клиника по клинична имунология към УМБАЛ „Александровска“.

Пълна кръвна картина се изследва чрез автоматична методика, а абсолютният брой и процентното съотношение на клетките в периферна кръв беше определено след мануално микроскопско изброяване на 300 клетки от натривка на периферна кръв оцветена по метода на Романовски-Гимза.

При 22 от пациентите се постигна индуциране на храчка с 3% разтвор на NaCl (LORDE Hyper, Yuria-Pharm, Ukraine). Възпалителният тип на храчката беше определен след изброяване на 300 клетки и определяне на процентното съотношение на еозинофили, неутрофили и макрофаги на микроскопски препарат от храчката оцветен с хематоксилин-еозин. Изследванията бяха извършени в Отделение по клинична лаборатория и Отделение по клинична патология към Клиничен център по белодробни болести, СБАЛББ „Света София“.

Пациентите бяха разделени на две групи според критериите на GINA 2016 за контрол:

- Пациенти с добре контролирана БА – *Контролирана БА (КА) (n=19)*: Без дневни симптоми и употреба на бързодействащ бета-2 агонист по-рядко от два пъти седмично, без нощни симптоми и без ограничения във физическата активност през последните 4 седмици.

- Пациенти с частично и недобре контролирана БА – *Неконтролирана БА (НА) (n=23)*: Едно или повече събития от горепосочените през последните 4 седмици.

Статистически анализ се извърши с помощта на статистически пакети – SPSS for Windows, версия 19.0 (IBM, SPSS statistics inc.) и MedCalc® statistical software for Windows версия 13.0.6.0.

25-29.9; obesity – BMI  $\geq 30$ .

According to history and medical data for the first manifestation of the disease, patients were divided into those with early onset of BA – appearance before the age of 12 and late onset of BA – manifestation at and after 12 years. A detailed physical examination was performed.

Lung function parameters were measured through standard spirometry with MiniSpir® (WinspiroPRO® software version 6.8.0; Italy) and the fraction of exhaled nitric oxide (FeNO) was assessed through the system NIOX MINO (Aerocrine, Sweden).

Atopic status was determined in the Clinic of Allergology at Aleksandrovska University Hospital after conduction of skin prick tests (SPT) with the most common aeroallergens – house dust mites, pollen, grasses, molds, weeds, cat, dog, guinea pig, feathers. Serum total IgE-antibodies were measured (EUROIMMUN total IgE ELISA, Germany) in the Department of Clinical Immunology at Aleksandrovska University Hospital.

Complete blood count test was performed by an automated analyser and the absolute count, and percentage of cells in the peripheral blood was determined after manual microscopic counting of 300 cells from smear of peripheral blood stained by the method of Romanovsky-Giemsa.

In 22 of the patients sputum induction with a 3% solution of NaCl (LORDE Hyper, Yuria-Pharm, Ukraine) was achieved. The inflammatory type of sputum was defined after counting 300 cells and determining the percentage of eosinophils, neutrophils and macrophages on microscope slide from sputum stained with hematoxylin-eosin. Studies were conducted in the Department of Clinical Laboratory and Department of Clinical Pathology of the Clinical Center of Pulmonary Diseases, SHATPD "St. Sofia".

Patients were divided into two groups according to the criteria for control of GINA 2016:

- Patients with well-controlled BA – *Controlled BA (CA) (n=19)*: No daytime symptoms and use of short-acting beta-2 agonist less than twice a week, without nocturnal symptoms and no limitation of physical activity in the past four weeks.

- Patients with partly and poorly controlled BA – *Uncontrolled BA (UA) (n=23)*: One or more of the above events over the past four weeks.

Statistical analysis was performed with statistical packages – SPSS for Windows, version 19.0 (IBM, SPSS statistics inc.) and MedCalc® statistical software for Windows version 13.0.6.0.

Категориите променливи са представени в проценти, а количествените като средна стойност и стандартно отклонение (SD) или като медиана с горна и долна четвърт (IQR) (еозинофили, FeNO). За променливи с нормално разпределение, различията между групите бяха изследвани чрез Т-теста на Student. Тестът Mann-Whitney U беше използван при променливи с различно от нормалното разпределение. За анализ на категориите променливи в групите - нивото на FeNO (<25 ppb; 25-50ppb; >50ppb) (7), брой еозинофили в периферна кръв ( $\leq 350/\text{microL}$ ;  $>350/\text{microL}$ ) и възпалителен тип хракка (еозинофилен тип/друг тип) се използва методът Хи-квадрат ( $\chi^2$ ). За търсене на линейна зависимост между две количествени променливи се използва непараметричен корелационен анализ на Spearman. За ниво на значимост е приета стойност  $p < 0.05$ .

## Резултати

Пациентите от изследваната популация с БА бяха на средна възраст  $45.5 \pm 14.9$  г. с преобладаване на женски пол (61.9%) и средна продължителност на астмата 10 г. (2-20 г.) (табл. 1). Половината от пациентите с БА ( $n=27$ ) бяха с наднормено тегло или затлъстяване. Само при 9 пациента БА беше с ранно начало, а 28 бяха атопични (66.7%). При сравняване на КА с НА, не се установиха статистически значими разлики по възраст, пол, начало на заболяването, продължителност, ИТМ, атопичен статус, лечение с ИКС.

Средният брой пакетогодини при НА ( $19 \pm 7.7$ ) беше сигнификантно по-висок в сравнение с КА ( $8.7 \pm 4.5$ ) ( $p=0.01$ ).

Броят на пациентите с чести екзацербации беше сигнификантно по-висок в групата НА (78.3%) в сравнение с КА (47.4%) ( $p=0.03$ ).

Пациентите с НА показаха по-ниски функционални параметри на дишането (ФЕО1% от предв. ( $73.7 \pm 24$ ), ФВК% от предв. ( $85 \pm 19$ ) и ФЕО1/ФВК% 68 (61-68)) в сравнение с КА (ФЕО1% от предв.  $90.5 \pm 18.6$ , ФВК% от предв.  $96.5 \pm 14$  и ФЕО1/ФВК -  $82.6(72-84)$  респективно) ( $p=0.01$ ,  $p=0.04$  и  $p=0.03$ ) (табл. 1).

The categorical variables are presented in percentages and quantitative as mean and standard deviation (SD) or median with upper and lower quarter (IQR) (eosinophils, FeNO). For variables with normal distribution, differences between groups were analyzed by Student t-test. Mann-Whitney U test was used for analysis of variables with different from the normal distribution. For analysis of categorical variables in the groups – the level of FeNO (<25ppb; 25-50 ppb; >50ppb) (7), number of eosinophils in peripheral blood ( $\leq 350/\text{microL}$ ;  $>350/\text{microL}$ ) and inflammatory sputum type (eosinophilic type/other) chi-square ( $\chi^2$ ) method was used. For a linear relationship between two quantitative variables was used nonparametric correlation analysis of Spearman. For level of significance was accepted  $p < 0.05$ .

## Results

The patient population with BA were middle-aged  $45.5 \pm 14.9$  years, predominantly females (61.9%) and with 10 years (2-20 years) mean duration of asthma (table 1). Half of the patients with BA ( $n = 27$ ) were overweight or obese. Only 9 of the patients were with early-onset BA, and 28 patients (66.7%) were atopic ( $n=28$ ). Comparing CA and UA by age, gender, onset, duration, BMI, atopic status, treatment with ICS statistically significant differences were not found.

The average number of smoking pack years in UA ( $19 \pm 7.7$ ) was significantly higher compared with CA ( $8.7 \pm 4.5$ ) ( $p=0.01$ ).

The number of patients with frequent exacerbations was significantly higher in the group of UA (78.3%) compared with CA (47.4%) ( $p=0.03$ ).

Patients with UA have shown lower lung functional parameters (FEV1% of pred. ( $73.7 \pm 24$ ), FVC% of pred. ( $85 \pm 19$ ) and FEV1/FVC% - 68 (61-68)) in comparison to CA (FEV1% of pred.  $90.5 \pm 18.6$ , FVC% of pred.  $96.5 \pm 14$  and FEV1/FVC% -  $82.6(72-84)$ , respectively) ( $p=0.01$ ,  $p=0.04$  and  $p=0.03$ ) (table 1).

Табл. 1. Основни характеристики на пациентите.

	Всички $n = 42$	Контролирана БА $n = 19 (45.2\%)$	Неконтролирана БА $n = 23 (54.8\%)$	p-стойност
Възраст (години)	$45.5 \pm 14.9$	$42 \pm 18.5$	$48 \pm 10.7$	$p = 0.11$
Пол, n (%)				
Мъже	16 (38.1)	9 (47.4)	7 (30.4)	$p = 0.26^*$
Жени	26 (61.9)	10 (52.6)	16 (69.6)	
Начало, n (%)				
Ранно начало	9 (21.4)	5 (26.3)	4 (17.4)	$p = 0.48$
Късно начало	33 (78.6)	14 (73.7)	19 (82.6)	
Продължителност на БА (години)	10 (2-20)	11 (2-20)	10 (2-27)	$p = 0.69$

ИТМ, kg/m <sup>2</sup>	27 (23-29)	24.7 (20-30)	26 (23-28)	<i>p</i> = 0.47
ИТМ, n (%)				
Нормално тегло	21 (50)	11 (57.9)	10 (43.5)	<i>p</i> = 0.25*
Наднорменно тегло	12 (28.6)	3 (15.8)	9 (39.1)	
Обезитас	9 (21.4)	5 (26.3)	4 (17.4)	
Атопия, n (%)				
Със	28 (66.7)	13 (68.4)	15 (65.2)	<i>p</i> = 0.83*
Без	14 (33.3)	6 (31.6)	8 (34.8)	
Тютюнопушене, n (%)				
Настоящ пушач	13 (31)	5 (26.3)	8 (34.8)	<i>p</i> = 0.18*
Бивш пушач	6 (14.3)	1 (5.3)	5 (21.7)	
Непушач	23 (54.8)	13 (68.4)	10 (43.5)	
Пакетогодини	15 (± 8.4)	8.7 (± 4.5)	19 (± 7.7)	<i>p</i> = 0.01
Терапия GINA 2016, n (%)				
Стъпка 3	26 (61.9)	12 (63.2)	14 (60.9)	<i>p</i> = 0.88*
Стъпка 4	16(38.1)	7 (36.8)	9 (39.1)	
ИКС доза, n (%)				
Ниска	9 (21.4)	2 (10.5)	7 (30.4)	<i>p</i> = 0.26*
Средна	22 (52.4)	12 (63.2)	10 (43.5)	
Висока	11 (26.2)	5 (26.3)	6 (26.1)	
ДДБА, n (%)	31 (73.8)	11 (57.9)	20 (87)	<i>p</i> = 0.03*
ДДАХ, n (%)	3 (7.1)	0	3 (13)	<i>p</i> = 0.10*
ФЕО1, % от предвидения	81 ± 23	90.5 ± 18.6	73.7 ± 24	<i>p</i> = 0.01
ФВК, % от предвидения	90.6 ± 17.9	96.5 ± 14	85 ± 19	<i>p</i> = 0.04
ФЕО1/ФВК, %	75 (63-83)	82.6 (72-84)	68 (61-80)	<i>p</i> = 0.03
Екзацербации, n (%)				
Без	15 (35.7)	10 (52.6)	5 (21.7)	<i>p</i> = 0.03*
≥ 1	27 (64.3)	9 (47.4)	18 (78.3)	

Стойностите са представени като брой (n), проценти (%), средна стойност ± SD и медиана (IQR).

\**p*-стойност определена чрез  $\chi^2$ -метод.

ИКС – инхалаторен кортикостероид;

Ниска доза: ≤ 500 µg/ден беклометазон или еквивалент;

Средна доза: 500-1000 µg/ден беклометазон или еквивалент;

Висока доза: >1000 µg/ден беклометазон или еквивалент;

ДДБА – дългодействащ бета-2 агонист;

ДДАХ – дългодействащ антихолинергик.

**Table 1.** Main characteristics of the patients.

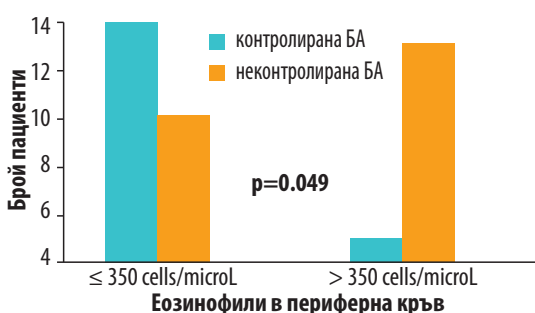
	All patients n = 42	Controlled BA n = 19 (45.2%)	Uncontrolled BA n = 23 (54.8%)	p-value
Age (years)	45.5 ± 14.9	42 ± 18.5	48 ± 10.7	<i>p</i> = 0.11
Gender, n (%)				
Male	16 (38.1)	9 (47.4)	7 (30.4)	<i>p</i> = 0.26*
Female	26 (61.9)	10 (52.6)	16 (69.6)	
Onset, n (%)				
Early-onset	9 (21.4)	5 (26.3)	4 (17.4)	<i>p</i> = 0.48
Late-onset	33 (78.6)	14 (73.7)	19 (82.6)	
Duration of BA (years)	10 (2-20)	11 (2-20)	10 (2-27)	<i>p</i> = 0.69

BMI, kg/m <sup>2</sup>	27 (23-29)	24.7 (20-30)	26 (23-28)	<i>p</i> = 0.47
BMI, n (%)				
Normal	21 (50)	11 (57.9)	10 (43.5)	<i>p</i> = 0.25*
Overweight	12 (28.6)	3 (15.8)	9 (39.1)	
Obesity	9 (21.4)	5 (26.3)	4 (17.4)	
Atopy, n (%)				
Yes	28 (66.7)	13 (68.4)	15 (65.2)	<i>p</i> = 0.83*
No	14 (33.3)	6 (31.6)	8 (34.8)	
Smoking, n (%)				
Current smoker	13 (31)	5 (26.3)	8 (34.8)	<i>p</i> = 0.18*
Ex smoker	6 (14.3)	1 (5.3)	5 (21.7)	
Non-smoker	23 (54.8)	13 (68.4)	10 (43.5)	
Pack years	15 (± 8.4)	8.7 (± 4.5)	19 (± 7.7)	<i>p</i> = 0.01
Therapy GINA 2016, n (%)				
Step 3	26 (61.9)	12 (63.2)	14 (60.9)	<i>p</i> = 0.88*
Step 4	16 (38.1)	7 (36.8)	9 (39.1)	
ICS dose, n (%)				
Low	9 (21.4)	2 (10.5)	7 (30.4)	<i>p</i> = 0.26*
Medium	22 (52.4)	12 (63.2)	10 (43.5)	
High	11 (26.2)	5 (26.3)	6 (26.1)	
LABA, n (%)	31 (73.8)	11 (57.9)	20 (87)	<i>p</i> = 0.03*
LAMA, n (%)	3 (7.1)	0	3 (13)	<i>p</i> = 0.10*
FEV1% of pred.	81 ± 23	90.5 ± 18.6	73.7 ± 24	<i>p</i> = 0.01
FVC% of pred.	90.6 ± 17.9	96.5 ± 14	85 ± 19	<i>p</i> = 0.04
FEV1/FVC %	75 (63-83)	82.6 (72-84)	68 (61-80)	<i>p</i> = 0.03
Exacerbations, n (%)				
Non	15 (35.7)	10 (52.6)	5 (21.7)	<i>p</i> = 0.03*
≥ 1	27 (64.3)	9 (47.4)	18 (78.3)	

Values are presented as number (N), percentage (%), mean ± SD and median (IQR). \**p*-value determined by  $\chi^2$ -method. ICS – inhaled corticosteroid; Low dose: ≤500 µg/day beclomethasone or equivalent; Medium dose: 500-1000 µg/day beclomethasone or equivalent; High dose: >1000 µg/day beclomethasone or equivalent; LABA – a long-acting beta-2 agonist. LAMA – a long-acting anticholinergic.

Периферната еозинофилия изразена като абсолютна стойност (381 cells/microL (272-489)) и като процент (5.0% (3.0-6.0)) беше висока при НА, но разликата не беше статистически сигнификантна в сравнение с КА (респективно 252 cells/microL (169-376); и 4.0% (2.0-4.0)) (*p*=0.13; *p*=0.12) (табл.2). Периферна еозинофилия (>350 cells/microL) се наблюдава в 56.5% от пациентите с НА, като разликата е статистически значима в сравнение с групата на КА (26.3%) (*p*=0.04) (табл. 2; фиг. 1).

**Фиг. 1.** Асоциация на кръвната еозинофилия с контрола на бронхиална астма. \**p*-стойност определена чрез  $\chi^2$ -метод



Blood eosinophils, as absolute count (381 cells/microL (272-489)) and as a percentage (5.0% (3.0-6.0)) were higher in UA, but the difference was not statistically significant compared with CA (respectively 252 cells/microL (169-376), 4.0% (2.0-4.0)) (*p*=0.13; *p*=0.12) (table 2). Blood eosinophilia (>350 cells/microL) was observed in 56.5% of patients with UA, statistically significant higher percentage compared to the group of CA (26.3%) (*p*=0.04) (table 2; fig. 1).

**Fig. 1.** Association of blood eosinophilia with asthma control. \**p*-value determined by  $\chi^2$ -method

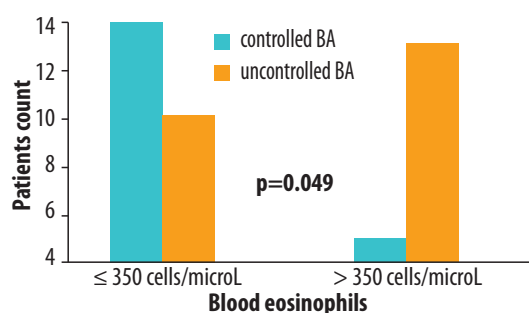




Табл. 2. Възпалителни маркери на пациентите.

	Всички n = 42	Контролирана БА n = 19 (45.2%)	Неконтролирана БА n = 23 (54.8%)	р-стойност
FeNO, ppb	23 (16-43)	22 (15-29)	27 (15-57)	$p = 0.35$
< 25 ppb (%)	51.2	57.9	45.5	$p = 0.02^*$
25-50 ppb (%)	31.7	42.1	22.7	
> 50 ppb (%)	17.1	0	31.8	
Еозинофили в кръвта, %	4.0 (2.75-6.0)	4.0 (2.0-4.0)	5.0 (3.0-6.0)	$p = 0.12$
Еозинофили в кръвта, cells/microL	307 (209-468)	252 (169-376)	381 (272-489)	$p = 0.13$
Еозинофили в кръвта, n(%)				
≤ 350 cells/microL	24 (57.1)	14 (73.7)	10 (43.5)	$p = 0.04^*$
> 350 cells/microL	18 (42.9)	5 (26.3)	13 (56.5)	
Общ IgE в серума, IU/ml	98.8 (41-215)	88 (46-263)	103 (37-191)	$p = 0.58$

Стойностите са представени като брой (n), проценти (%), средна стойност ± SD и медиана (IQR).

\*р-стойност определена чрез  $\chi^2$  метод; ppb - parts per billion (частици на милион).

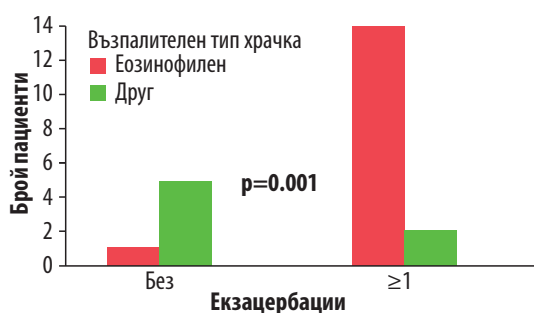
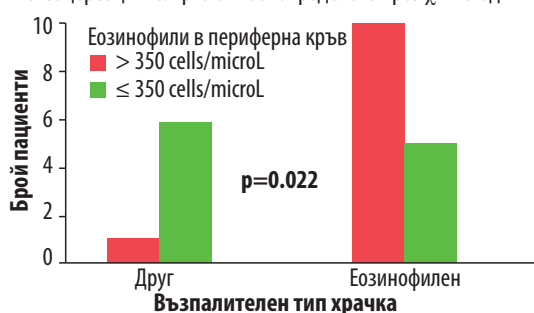
Table 2. Inflammatory markers of patients.

	All patients n = 42	Controlled BA n = 19 (45.2%)	Uncontrolled BA n = 23 (54.8%)	p-value
FeNO, ppb	23 (16-43)	22 (15-29)	27 (15-57)	$p = 0.35$
< 25 ppb (%)	51.2	57.9	45.5	$p = 0.02^*$
25-50 ppb (%)	31.7	42.1	22.7	
> 50 ppb (%)	17.1	0	31.8	
Blood eosinophils %	4.0 (2.75-6.0)	4.0 (2.0-4.0)	5.0 (3.0-6.0)	$p = 0.12$
Blood eosinophils, cells/microL	307 (209-468)	252 (169-376)	381 (272-489)	$p = 0.13$
Blood eosinophils, n (%)				
≤ 350 cells/microL	24 (57.1)	14 (73.7)	10 (43.5)	$p = 0.04^*$
> 350 cells/microL	18 (42.9)	5 (26.3)	13 (56.5)	
Total serum IgE, IU/ml	98.8 (41-215)	88 (46-263)	103 (37-191)	$p = 0.58$

Values are presented as number (N), percentage (%), mean ± SD and median (IQR). \*p-value determined by  $\chi^2$ -method; ppb - parts per billion.

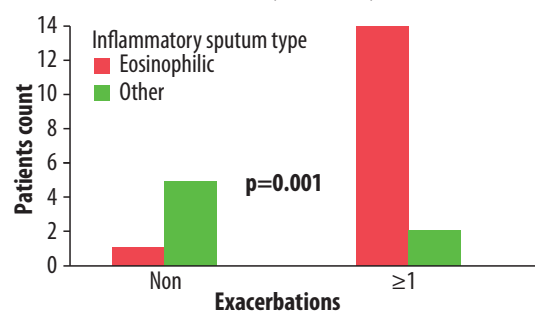
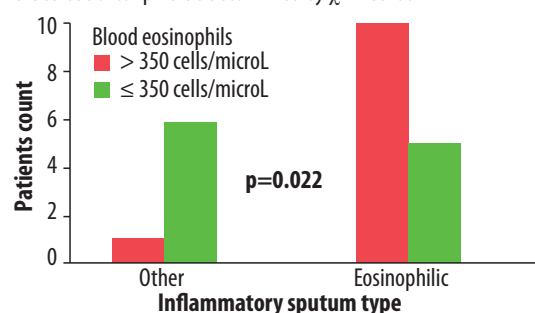
Кръвната еозинофилия показва асоциация с еозинофилен възпалителен тип хракка ( $p=0.022$ ), който е доминантен при пациентите с чести екзацербации ( $\geq 1$ ) ( $p=0.001$ ) (табл. 3, фиг. 2).

Фиг. 2. Асоциация между системното, локалното възпаление и екзацербациите. \*р-стойност определена чрез  $\chi^2$ -метод



Blood eosinophilia was shown an association with eosinophilic inflammatory sputum type ( $p=0.022$ ), which dominated in patients with frequent exacerbations ( $\geq 1$ ) ( $p=0.001$ ) (table 3; fig. 2).

Фиг. 2. Association between systemic, local inflammation and exacerbations. \*p-value determined by  $\chi^2$ -method



**Табл. 3.** Възпалителен тип хрчка.

	Всички n = 22	Контролирана БА n = 6	Неконтролирана БА n = 16	p-стойност
Възпалителен тип хрчка, n (%)				
Еозинофилен	15 (68.2)	4 (66.7)	11 (68.8)	p = 0.92*
Друг	7 (31.8)	2 (33.3)	5 (31.3)	

\*p-стойност определена чрез  $\chi^2$ -метод.

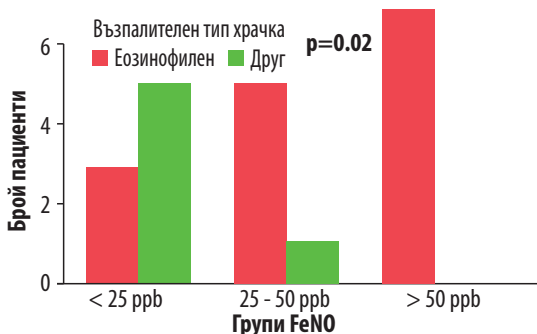
**Table 3.** Inflammatory sputum type.

	All n = 22	Controlled BA n = 6	Uncontrolled BA n = 16	p-value
Inflammatory sputum type, n (%)				
Eosinophilic	15 (68.2)	4 (66.7)	11 (68.8)	p = 0.92*
Other	7 (31.8)	2 (33.3)	5 (31.3)	

\*p-value determined by  $\chi^2$ -method.

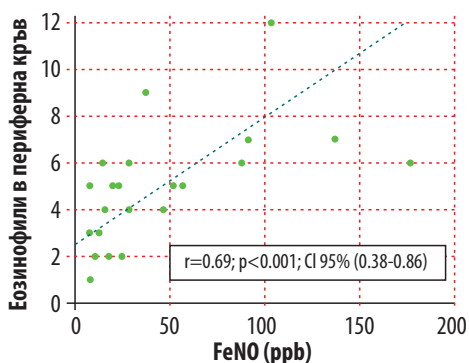
Не намерихме сигнификантна разлика в нивата на тоталните IgE в групата на НК (103IU/ml (37-191)) и КА (88IU/ml (46-263)) (p=0.58). Средното ниво на FeNO беше 23ppb (медиана) при пациентите с умерено тежка и тежка БА без разлика между НА (27ppb (15-57)) и КА (22ppb (15-29)) (p=0.35) (табл. 2). Високи нива на FeNO (>50ppb) се установиха при 7 пациента от общата група, всички с лош контрол на БА и еозинофилен възпалителен тип спутум (p=0.02) (фиг. 3).

**Фиг. 3.** Асоциация на FeNO с еозинофилен възпалителен тип хрчка. \*p-стойност определена чрез  $\chi^2$ -метод



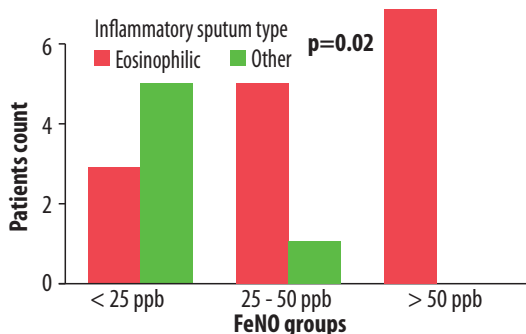
По-високите нива FeNO в групата НА показва връзка с кръвната еозинофилия (като абсолютен брой r=0.69; p<0.001; като процент r=0.48; p=0.02) (фиг.4).

**Фиг. 4.** Корелации на FeNO с процентно съотношение и абсолютния брой еозинофили в периферна кръв.



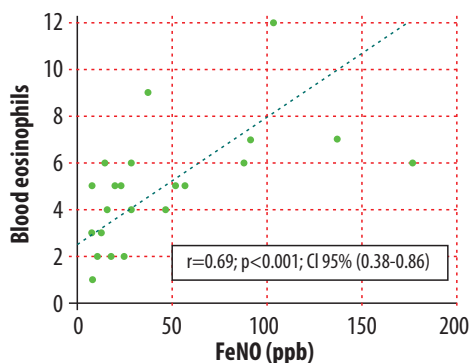
We did not find significant difference in the levels of total IgE between the groups UA (103IU/ml (37-191)) and CA (88IU/ml (46-263)) (p=0.58). We have found average levels of FeNO of 23ppb (as median) in patients with moderate and severe BA and we did not observed difference in the levels of FeNO in UA (27ppb (15-57)) and CA (22ppb (15-29)) (p=0.35) (table 2). High levels of FeNO (>50ppb) were found in 7 patients of the total group, all with poor control of BA and eosinophilic inflammatory sputum type (p=0.02) (fig. 3).

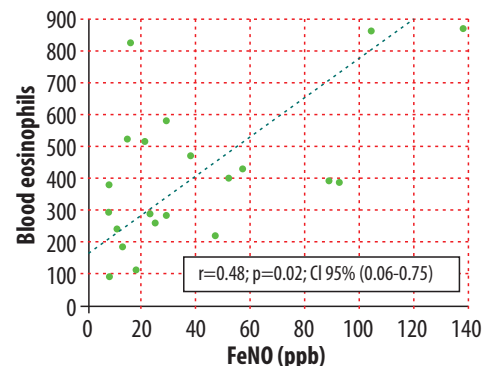
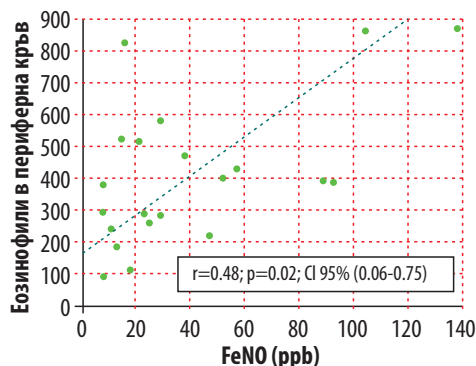
**Fig. 3.** Association of FeNO with eosinophilic inflammatory type sputum. \*p-value determined by  $\chi^2$ -method



Higher levels of FeNO in the group of UA were related to blood eosinophilia (as absolute count r=0.69; p<0.001; as a percentage r=0.48; p=0.02) (fig. 4).

**Fig. 4.** Correlations of FeNO and blood eosinophils percentage and absolute count.





### Обсъждане

Характеристиката на общата група пациенти с БА в нашето проучване не се различава значимо по възраст, пол, начало и продължителност на БА, ИТМ, атопия при сравнение с предходни проучвания на пациенти със средно тежка и тежка БА - BSAR, ENFUMOSA, BIOAIR (9, 14, 26). Подобно в нашето проучване доминира женският пол, пациентите са с предимно късно начало на БА и атопия. Не установихме различия между НА и КА в изброените клинични характеристики, освен в броя пакетогодини при тютюнопушачи, подобно на проучването на Schleich и сътр. (26). Пациентите с НА демонстрираха понижени функционални показатели и по-чести екзацербации в предходната година, подобно на пациенти в други проучвания (9, 14, 22, 26).

Средните стойности за еозинофили в периферна кръв в нашето проучване бяха по-високи в сравнение с цитираните от Schleich (26) (307cells/microL (4%) към 240cells/microL (3%)) и са близки с цитираните в ENFUMOSA (9). В нашето проучване установихме статистически значима разлика между групите с КА и НА при използване на гранична стойност за броя на кръвните еозинофили от 350cells/microL.

Все по-често броят на еозинофилите в кръвта се признава, като важен биомаркер за идентифициране на пациентите с умерено тежка и тежка неконтролирана астма, които биха имали добър отговор към биологична терапия с моноклонални антитела за намаляване на кръвната и тъканната еозинофилия.

Katz и сътр. (13) прилагат гранични стойности от 150cells/microL. Wenzel и сътр. (32) съобщава, че еозинофилите в кръвта над 300cells/microL могат да идентифицират пациенти с неконтролирана умерена до тежка форма на астма, които биха имали благоприятен клиничен отговор към биологичната терапия. В проучването PREDUNA (34), Zeiger и сътр. демонстрират, асоциация на високите кръвни еозинофили с неконтролирана астма и висока терапевтична стъпка според критериите на GINA. Те прилагат гранична стойност от 400cells/microL, която е показала най-значима връзка с риск от екзацербации при сравнение с други три гранични нива (150, 200, 300 cells/microL).

### Discussion

The characteristic of the total group of patients with BA in our study did not differ significantly by age, gender, onset and duration of BA, BMI, atopy when compared to previous studies of patients with moderate and severe BA - BSAR, ENFUMOSA, BIOAIR (9, 14, 26). Similarly, in our study dominate female gender, patients were predominantly with late-onset BA and atopy. We did not find differences between UA and CA in the listed above clinical features, except in the number of pack years, similar to Schleich et al study (26). UA patients were demonstrated decreased lung function parameters and more frequent exacerbations in the previous year, similar to patients in other studies (9, 14, 22, 26).

Mean values for eosinophils in blood in our study were higher than those obtained by Schleich (26) (307cells/microL (4%) to 240cells/microL (3%)), and close to those in ENFUMOSA (9). In our study, we have found statistically significant difference between groups CA and UA using threshold value for the number of blood eosinophils of 350cells/microL.

More often blood eosinophils are recognized as an important biomarker to identify patients with moderate and severe uncontrolled asthma, who would have a good response to biological therapy with monoclonal antibodies to reduce blood and tissue eosinophilia.

Katz et al. (13) are using cut off value of 150cells/microL. Wenzel et al. (32) reported that eosinophil count above 300cells/microL can identify patients with uncontrolled moderate to severe asthma, who would have a favorable clinical response to biological therapy. In the PREDUNA study (34), Zeiger et al. are demonstrated an association of high blood eosinophils with uncontrolled asthma and high therapeutic step according to the criteria of GINA. They use a cut off level of 400 cells/microL, it has shown to them the most significant association with the risk of exacerbations compared with other three cut off levels (150, 200, 300 cells/microL).

Нарастват доказателствата, че еозинофилията в индуцирана храчка прогнозира по-добре НА (1, 27), но методът изисква високо-специализирана апаратура и квалифициран персонал. Определянето на еозинофилиите в периферна кръв е по-приложимо изследване в рутинната клинична практика.

В настоящото проучване постигнахме индуциране на храчка при 52.4% (n=22) от пациентите. Еозинофилният възпалителен тип доминираше при пациентите с периферна еозинофилия и чести екзацербации.

Средната стойност на FeNO в общата група пациенти в нашето проучване е близка с цитираната от Schleich и други автори (8, 26). Разпределението на пациенти по групи се осъществи спрямо препоръки на Dweik и сътр. (7) за интерпретиране на резултатите от FeNO в клиничната практика. Установените от нас високи нива (>50ppb) на FeNO при НА, са в съответствие с персистиращо локално еозинофилно възпаление, което е в подкрепа на данните на други автори (1).

В предишни наши наблюдения беше доказана връзката между FeNO и периферната еозинофилия при деца с БА (28). Продължава усилено да се проучва връзката на FeNO с еозинофилията в индуцирана храчка, в бронхоалвеоларен лаваж и/или в периферната кръв за оценка на полезността на метода за определяне контрола на астмата, оптимизиране на противовъзпалителната терапия или предвиждане отговора към ИКС при деца и възрастни (табл. 4).

Evidences are increasing, that sputum eosinophilia predict better the BA control (1, 27), but the method requires highly specialized equipment and qualified staff. Evaluation of blood eosinophils is more appropriate study in routine clinical practice.

In this study, we have achieved sputum induction in 52.4% (n=22) of the patients. Eosinophilic inflammatory type was predominant in patients with peripheral eosinophilia and frequent exacerbations.

The average FeNO value in the total group of patients in our study is similar to that obtained by Schleich and other authors (8, 26). The distribution of patients by group is accomplished according to the recommendations of Dweik et al (7) for interpreting the results of FeNO in clinical practice. Established from us high levels (>50ppb) of FeNO in UA are in association with persistent local eosinophilic inflammation, which supports the data from other authors (1).

In our previous observations was shown the relationship between FeNO and blood eosinophils in children with BA (28). The relationship of FeNO with eosinophilia is intensively investigated in induced sputum, in bronchoalveolar lavage and/or peripheral blood to evaluate the usefulness of the method for determining asthma control, optimization of anti-inflammatory therapy or to predict the response to ICS in children and adults (table 4).

**Табл. 4.** Доказателства за корелации между еозинофилия и FeNO при пациенти с БА

Източници	Материали	Корелации	Наблюдения
Silvestri и сътр. (28)	Периферна кръв	r=0.63; p<0.01	22 деца с лека астма
Srunk и сътр. (29)	Периферна кръв	r=0.51; p<0.001	144 деца (6-17 години) с персистираща лека и среднотежка астма
Jatakanon и сътр. (11)	Индуцирана храчка	r=0.48; p=0.003	35 пациента със стабилна астма
Mattes и сътр. (17)	Индуцирана храчка	r=0.35; p=0.09	25 деца със стабилна астма и 9 здрави контроли
Jones и сътр. (12)	Индуцирана храчка	r=0.62; p<0.001	78 пациенти с персистираща лека и средно тежка астма
Payne и сътр. (21)	Бронхиална биопсия	r=0.54; p=0.03	31 деца с тежка астма
Obata и сътр. (19)	Индуцирана храчка	няма корелация	17 възрастни пациента с професионална астма
Piacentini и сътр. (23)	Индуцирана храчка	r=0.44; p=0.032	25 деца с персистираща средно тежка астма
Warke и сътр. (31)	БАЛ	r=0.78; p<0.001	71 деца (29 атопични астматични, 15 атопични здрави контроли, 27 неатопични здрави контроли)
Berry и сътр. (2)	БАЛ Индуцирана храчка	r=0.59; p<0.001 няма корелация	13 здрави контроли, 25 пациента с персистираща лека и средно тежка астма, 27 пациента с рефрактерна астма
Malerba и сътр. (16)	Индуцирана храчка	няма корелация	14 пациента с персистираща лека и умерено тежка БА
Lim и сътр. (15)	Бронхиална биопсия	няма корелация	32 пациента с БА
Crespo и сътр. (5)	Индуцирана храчка	r=0.29; p=0.016	110 пациента с персистираща астма

БАЛ – бронхоалвеоларен лаваж

**Table 4.** Evidence for correlations between eosinophilia and FeNO in patients with BA.

Sources	Materials	Correlations	Observations
Silvestri et al. (28)	Blood samples	$r=0.63$ ; $p<0.01$	22 children with mild asthma
Srunk et al. (29)	Blood samples	$r=0.51$ ; $p<0.001$	144 children (6-17 years) persistent mild and moderate asthma
Jatakanon et al. (11)	Sputum	$r=0.48$ ; $p=0.003$	35 patients with stable asthma
Mattes et al. (17)	Sputum	$r=0.35$ ; $p=0.09$	25 children with stable asthma and 9 healthy controls
Jones et al. (12)	Sputum	$r=0.62$ ; $p<0.001$	78 patients with mild and moderate asthma
Payne et al. (21)	Bronchial biopsy	$r=0.54$ ; $p=0.03$	31 children with severe asthma
Obata et al. (19)	Sputum	No correlation	17 adult patients with occupational asthma
Piacentini et al. (23)	Sputum	$r=0.44$ ; $p=0.032$	25 children with moderate persistent asthma
Warke et al. (31)	BAL	$r=0.78$ ; $p<0.001$	71 children (29 atopic asthmatics, 15 atopic healthy, 27 non atopic, non asthmatic controls)
Berry et al. (2)	BAL; Sputum	$r=0.59$ ; $p<0.001$ No correlation	13 healthy controls; 25 patients with persistent mild to moderate asthma; 27 patients with refractory asthma
Malerba et al. (16)	Sputum	No correlation	14 patients with persistent mild to moderate asthma
Lim et al. (15)	Bronchial biopsy	No correlation	32 patients with BA
Crespo et al. (5)	Sputum	$r=0.29$ ; $p=0.016$	110 patients with persistent BA

BAL – bronchoalveolar lavage

Получените резултати са противоречиви: от положителни корелации, без корелации до конфликтни резултати в едно и също изследване (табл. 4).

Интерес представлява публикувано наскоро проучване на Crespo и сътр. (5) за дисоциация между нивата на FeNO и еозинофилията в индуцирана хрчка. При изследване на 110 пациента с БА, провеждащи поддържаща терапия с ИКС, е установен дискрепанс между FeNO и еозинофилите в хрчката при 46 пациента (41.8%). От тях 34 (73.9%) са с FeNO<50ppb и висок еозинофилен процент в хрчката, докато 12 (26.1%) са с FeNO≥50ppb и нормални нива на еозинофили в хрчката, като тези пациенти са показали различни клинични и възпалителни характеристики. Тези данни предполагат различни фенотипни изяви на БА, които предстоят да бъдат изследвани.

### Заклучение

Ние установихме доминиране на еозинофилния възпалителен фенотип при пациенти с неконтролирана умерено тежка и тежка БА. Не намерихме различия в клиничните характеристики между групите с КА и НА, но при пациентите с НА бяха измерени по-ниски функционални параметри и по-висок процент на пациенти с чести екзацербации. Бяха наблюдавани различия в маркерите на възпалението – високи нива над 50ppb FeNO и периферна еозинофилия в групата пациенти с НА. Тези данни потвърждават персистирането на възпалението, въпреки кортикостероидното лечение. Това налага задълбочено проучване

The results are controversial: positive correlations, no correlations, conflict results in the same study (table 4).

Interesting is a recently published study of Crespo et al. (5) for the dissociation between the levels of FeNO and sputum eosinophils. In a study of 110 asthmatic patients undergoing maintenance therapy with ICS was established dissociation between FeNO and sputum eosinophils in 46 patients (41.8%). Of these, 34 (73.9%) are with FeNO<50ppb and high eosinophil percentage sputum, whereas 12 (26.1%) are with FeNO≥50ppb and normal levels of eosinophils in the sputum, as these patients have demonstrated a variety of clinical and inflammatory characteristics. These data suggests the existence of different phenotypic manifestations of BA, which are pending to be examined.

### Conclusion

We have found predominance of eosinophilic inflammatory phenotype in patients with uncontrolled moderate and severe BA. No differences were observed in clinical characteristics between the groups of CA and UA, but in patients with UA were measured lower functional parameters and higher percentage of patients with frequent exacerbations. We have observed differences in markers of inflammation – high levels (over 50ppb) FeNO and blood eosinophilia in the UA patient. This requires thorough research and development of new strategies for monitoring and treatment of patients.

и разработване на нови стратегии за мониториране и лечение на пациентите.

Повишените нива на FeNO, периферна еозинофилия и еозинофилен тип възпаление в спутума се асоциират с недобър контрол на БА и чести екзацербации. Тези биомаркери на възпалението могат да бъдат полезни средства в мениджмънта на заболяването.

*Проучването е финансирано по ГРАНТ проект с вх. №308/2015, договор №75/2015 към СМН, МУ-София*

Elevated levels of FeNO, blood eosinophilia and eosinophilic inflammatory sputum type are associated with poor asthma control and frequent exacerbations. These biomarkers could be as useful tools for the management of the disease.

*The research was funded by GRANT project № 308/2015, contract №75/2015 to CMS, MU-Sofia*

## Книгопис:

## References:

1. Amelink M, de Groot JC, de Nijs SB, Lutter R, Zwinderman AH, Sterk PJ, et al. Severe adult-onset asthma: a distinct phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132: 336-41.
2. Berry M, Hargadon B, Morgan A, Shelley M, Richter J, Shaw D, Green RH, et al. Alveolar nitric oxide in adults with asthma: evidence of distal lung inflammation in refractory asthma. *Eur Respir J* 2005; 25:986-991.
3. Campo P, Rodríguez F, et al. Severe Asthma Workgroup; SEAIC Asthma Committee. Phenotypes and Endotypes of Uncontrolled Severe Asthma: New Treatments. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2013; 23(2):76-88.
4. Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *Eur Respir J*. 2014 Feb; 43 (2): 343-73.
5. Crespo A, Giner J, Torrejón M, Belda A, Mateus E, Granel C, Plaza V. Clinical and inflammatory features of asthma with dissociation between fractional exhaled nitric oxide and eosinophils in induced sputum. *Journal of Asthma*. 2016; 53(5), 459-464.
6. Demoly P, Annunziata K, Gubba E, Adamek L. Repeated cross-sectional survey of patient-reported asthma control in Europe in the past 5 years. *Eur Respir Rev*. 2012; 21: 66-74.
7. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, et al; American Thoracic Society Committee on Interpretation of Exhaled Nitric Oxide Levels (FeNO) for Clinical Applications. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FeNO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011; 184 (5):602-15.
8. Dweik RA, et al. Use of exhaled nitric oxide measurement to identify a reactive, at-risk phenotype among patients with asthma. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2010; 181.10: 1033-1041.
9. ENFUMOSA STUDY GROUP, et al. The ENFUMOSA cross-sectional European multicentre study of the clinical phenotype of chronic severe asthma. *European Respiratory Journal*. 2003; 22.3: 470-477.
10. Global Initiative for Asthma (GINA). Global Strategy for Asthma Management and Prevention. 2016.
11. Jatakanon A, Lim S, Kharitonov SA, Chung KF, Barnes PJ. Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax*. 1998; 53:91-95.
12. Jones SL, Kittelson J, Cowan JO, Flannery EM, Hancox RJ, McLachlan CR, Taylor DR. The predictive value of exhaled nitric oxide measurements in assessing changes in asthma control. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 164:738-743.
13. Katz LE, Gleich GJ, Hartley BF, Yancey SW, Ortega HG. Blood eosinophil count is a useful biomarker to identify patients with severe eosinophilic asthma. *Ann Am Thorac Soc*. 2014; 11:531-6.
14. Kupczyk M, Haque S, Sterk PJ, Nizankowska-Mogilnicka E, Papi A, Bel EH, et al. Detection of exacerbations in asthma based on electronic diary data: results from the 1-year prospective BIOAIR study. *Thorax*. 2013; Jul; 68(7):611-18.
15. Lim S, Jatakanon A, Meah S, Oates T, Chung KF, Barnes PJ. Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in mild to moderately severe asthma. *Thorax*. 2000; 55:184-188.
16. Malerba M, Ragnoli B, Radaeli A, Tantucci C. Usefulness of exhaled nitric oxide and sputum eosinophils in the long-term control of eosinophilic asthma. *Chest*. 2008; 134:733-739.
17. Mattes J, Storm van's Gravesande K, Reining U, Alving K Ihorst G, Henschen M, Kuehr J. NO in exhaled air is correlated with markers of eosinophilic airway inflammation in corticosteroid dependent childhood asthma. *Eur Respir J*. 1999; 13:1391-1395.
18. Nathan RA, Sorkness CA, Kosinski M, et al. Development of the asthma control test: a survey for assessing asthma control. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 113:59-65.
19. Obata H, Dittrick M, Chan H, Chan-Yeung M. Sputum eosinophils and exhaled nitric oxide during late asthma reaction in patients with western red cedar asthma. *Eur Respir J*. 1999; 13:489-495.
20. O'Byrne PM, Reddel HK, Eriksson G, et al. Measuring asthma control: a comparison of three classification systems. *Eur Respir J*. 2010; 36: 269-76.
21. Payne DN, Adcock IM, Wilson NM, Oates T, Scallan M, Bush A. Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in children with difficult asthma, after treatment with oral prednisolone. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 164: 1376-1381.
22. Peters SP, Ferguson G, Deniz Y, Reisner C. Uncontrolled asthma: A review of the prevalence, disease burden and options for treatment. *Respir Med*. 2006 Jul; 100(7):1139-51.
23. Piacentini GL, Bodini A, Costella S, Vicentini L, Mazzi P, Sperandio S, Boner AL. Exhaled nitric oxide and sputum eosinophil markers of inflammation in asthmatic children. *Eur Respir J*. 1999; 13:1386-1390.
24. Price D, et al. Asthma control and management in 8,000 European patients: the REcognise Asthma and Link to Symptoms and Experience (REALISE) survey. *NPJ Prim Care Respir Med*. 2014; 24:14009.
25. Rabe KF, Adachi M, Lai CK, Soriano JB, Vermeire PA, Weiss KB, et al. World wide severity and control of asthma in children and adults: the global asthma insights and reality surveys. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 114 (1): 40-7.
26. Schleich F, Brusselle G, Louis R, Vandenplas O, Michils A, Pilette C, Peche R, Manise M, Joos G. Heterogeneity of phenotypes in severe asthmatics. The Belgian Severe Asthma Registry (BSAR). *Respir Med*. 2014 Dec; 108(12):1723-32.
27. Schleich FN, Chevremont A, Paulus V, Henket M, Manise M, Seidel L, et al. Importance of concomitant local and systemic eosinophilia in uncontrolled asthma. *Eur Respir J*. 2014; 44:97-108.
28. Silvestri M, Spallarossa D, Youroukova VF, Battistini E, Fregonese B, Rossi GA. Orally exhaled nitric oxide levels are related to the degree of blood eosinophilia in atopic children with mild-intermittent asthma. *European Respiratory Journal*. 1999; 13: 321-326.
29. Strunk RC, Szeffler SJ, Phillips BR, Zeiger RS, Chinchilli VM, Larsen G, Hodgdon K, et al. Relationship of exhaled nitric oxide to clinical and inflammatory markers of persistent asthma in children. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 112:883-892.
30. Thomas M, Kay S, Pike J, et al. The Asthma Control Test (ACT) as a predictor of GINA guideline-defined asthma control: analysis of a multinational cross-sectional survey. *Prim Care Respir J*. 2009; 18:41-9.
31. Warke TJ, Fitch PS, Brown V, Taylor R, Lyons JD, Ennis M, Shields MD. Exhaled nitric oxide correlates with airway eosinophils in childhood asthma. *Thorax*. 2002; 57:383-387.
32. Wenzel S, Ford L, Pearlman D, Spector S, Sher L, Skobieranda F, et al. Dupilumab in persistent asthma with elevated eosinophil levels. *N Engl J Med*. 2013; 368: 2455-66.
33. Wenzel SE. Emergence of Biomolecular Pathways to Define Novel Asthma Phenotypes: Type-2 Immunity and Beyond. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2016 Jul; 55(1):1-4.
34. Zeiger RS, et al. High blood eosinophil count is a risk factor for future asthma exacerbations in adult persistent asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2014, 2.6: 741-750.

## editorials

### EOSINOPHILIC PHENOTYPE - THE DOMINANT INFLAMMATORY TYPE OF UNCONTROLLED MODERATE AND SEVERE BRONCHIAL ASTHMA

Thoracic Medicine  
Volume VIII, Issue 3  
November 2016

## Кореспонденция

Доц. д-р Ваня Юрокова, дм  
СБАЛББ "Света София" ЕАД  
Бул. „Акад. Иван Гешов“ 19  
София 1431

## Correspondence

Assoc. Prof.  
Dr. Vania Youroukova, MD, PhD  
SHATPD "St. Sofia"  
19 "Acad. Ivan Geshov" Str.  
Sofia 1431  
Bulgaria

## e-mail:

vania\_youroukova@hotmail.com