



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

КЛИНИЧЕН ЦЕНТЪР ПО АЛЕРГОЛОГИЯ

**Д-р Роксана Красиминова Минчева**

ДИФЕРЕНЦИАЛНА РОЛЯ НА ВЪЗПАЛЕНИЕТО В  
ГЕНЕЗАТА НА БРОНХИАЛНАТА ОБСТРУКЦИЯ И  
КАШЛИЦАТА КАТО СИМПТОМ

Дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен

„Доктор“

София 2016

**Д-р Роксана Красиминова Минчева**

**ДИФЕРЕНЦИАЛНА РОЛЯ НА ВЪЗПАЛЕНИЕТО В  
ГЕНЕЗАТА НА БРОНХИАЛНАТА ОБСТРУКЦИЯ И  
КАШЛИЦАТА КАТО СИМПТОМ**

Дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен

„Доктор“

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

КЛИНИЧЕН ЦЕНТЪР ПО АЛЕРГОЛОГИЯ

София 2016

**Научни ръководители:**

Проф. Тодор А. Попов, дмн

Prof. Jan Lötvall

**Научен консултант:**

Prof. Bo Lundbäck

**Научно жури:**

Проф. д-р Тодор А. Попов, дмн

Доц. д-р Мария Стаевска, дм

Проф. д-р Красимира Кисьова, дмн

Акад. Богдан Петрунов, дмн

Доц. д-р Георги Николов, дм

## СЪДЪРЖАНИЕ

СЪДЪРЖАНИЕ.....	4
СЪКРАЩЕНИЯ.....	7
ВЪВЕДЕНИЕ.....	9
ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР.....	13
1. Кратка епидемиологична справка за бронхиалната астма .....	13
2. Значение на епидемиологичните проучвания .....	15
3. Значение и епидемиология на тежката астма .....	18
4. Фенотипизиране на тежката астма .....	19
5. Рискови фактори за тежка астма.....	20
6. Кашличен вариант на астмата .....	21
7. Лечение на кашлицата като симптом.....	23
8. Измерване на температура на издишан въздух (ТИВ) .....	23
9. Значение на изследваните проблеми .....	26
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	28
1. Задача №1 .....	28
2. Задача №2 .....	28
3. Задача №3 .....	29
4. Задача №4 .....	29
МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ.....	30
1. Описание на проекта.....	30
2. Астматична популация от проучването West Sweden Asthma Study.....	31
2.1. Описание на проучването West Sweden Asthma Study .....	31
2.2. Начин на дефиниране на изследваната популация .....	33
2.3. Дефиниция на степента на тежест на астмата .....	35
3. Изследвана популация от Клиничен център по Алергология .....	37
3.1. Изследване на пациентите с хронична кашлица .....	37
3.2. Изследване на температурата на издишан въздух при пациенти с поленоза.....	38
4. Статистически анализ.....	39
РЕЗУЛТАТИ.....	41
Резултати, свързани със задача №1.....	41
1. Демографски и антропометрични характеристики .....	41
1.1. Сравнение по пол .....	42

1.2.	Сравнение по възраст.....	42
1.3.	Обезитет .....	43
1.4.	Тютюнопушене.....	44
2.	Описание на белодробната функция и алергичният статус.....	45
2.1.	Белодробни параметри и бронхиална хиперреактивност .....	46
2.2.	Алергенна сенсibilизация .....	47
3.	Респираторни симптоми и различни типове кашлица .....	48
3.1.	Честота на белодробните симптоми.....	48
3.2.	Фенотипи с различно припокриване на симптомите.....	49
3.3.	Фенотипи на кашлицата.....	51
4.	Рискови фактори за частично контролирана и неконтролирана астма.....	53
5.	Честота на кашлицата сред астматици с различно ниво на контрол на астмата.....	55
	Резултати, свързани със задача №2.....	56
1.	Дефиниция и честота на избраните параметри за тежестта на астмата. ....	56
2.	Описание на астматичните фенотипи с различна тежест .....	58
2.1.	Честота на фенотипните белези за астматична тежест .....	59
2.2.	Общи характеристики.....	59
2.2.1.	Разпределение по възраст и пол.....	60
2.2.2.	Телесна маса .....	61
2.2.3.	Тютюнопушене.....	62
2.3.	Белодробна функция.....	62
2.3.1.	ФВК и коефициент ФЕО1/ФВК .....	63
2.3.2.	Бронхиална хиперреактивност.....	64
2.3.3.	Фракция на издишан азотен оксид.....	65
2.4.	Сенсibilизация, използване на медикаменти и ниво на контрол.....	65
2.4.1.	Алергенна сенсibilизация .....	66
2.4.2.	Противоастматични медикаменти.....	67
2.4.3.	Ниво на астматичен контрол .....	68
2.5.	Фактори, асоциирани с тежестта на астмата.....	68
2.5.1.	Бивариатетен анализ.....	69
2.5.2.	Мултивариатетен анализ .....	71
	Резултати, свързани със задача №3.....	72
1.	Базови характеристики на пациентите .....	72
2.	Резултати от въпросника за кашлица (LCQ).....	73

3. Белодробна функция и ТИВ .....	73
4. Кашличен праг .....	75
5. Възпалителни маркери в кръвта .....	76
Резултати, свързани със задача №4.....	78
1. Описание на изследваната популация .....	79
2. Разлика в ТИВ преди, по време и след поленовия сезон .....	80
3. Сравнение между пациентите на активно лечение и на плацебо.....	82
ДИСКУСИЯ .....	83
1. Кашлицата като индикатор за по-малко контролирана и по-тежка астма .....	83
2. Взаимовръзка на кашлицата с различните степени на тежест на астмата.....	85
3. Кашлицата, произхождаща както от долни, така и от горни дихателни пътища .....	88
4. ТИВ при пациенти с поленоза.....	90
ИЗВОДИ .....	92
ПРИНОСИ.....	95
БИБЛИОГРАФИЯ.....	98
БЛАГОДАРНОСТИ.....	136

## **СЪКРАЩЕНИЯ**

ГЕР – гастроезофагеален рефлукс

ИТМ – индекс на телесна маса

КАП – кожно-алергични проби

ТИВ – температура на издишания въздух

ФВК – форсиран витален капацитет

ФЕО1 – форсиран експираторен обем за една секунда

ХОББ – хронична обструктивна белодробна болест

АСТ – Asthma Control Test

АТS – American Thoracic Society

СI – Confidence Interval

СVА – Cough Variant Asthma

ЕСР – Eosinophilic cationic protein

ЕСRHS - European Community Respiratory Health Survey

ЕРS – European Respiratory Society

ЕНFUMOSA - European Network For Understanding Mechanisms Of Severe Asthma

FЕNO – фракция на издишания азотен оксид

GA2LEN - Global Allergy and Asthma European Network

GINA – Global Initiative for Asthma

ISAAC - International Study of Asthma and Allergies in Childhood

LCQ – Leicester cough questionnaire

MPO - Myeloperoxidase

OLIN – Obstructive Lung Diseases in Northern Sweden

OR – Odds ratio

SARP - Severe Asthma Research Program

TENOR - The Epidemiology and Natural History of Asthma: Outcomes and Treatment Regimens

UACS – Upper airway cough syndrome

VAS – Visual analogue scale

WSAS – West Sweden Asthma Studies

## **ВЪВЕДЕНИЕ**

Бронхиалната астма е комплексен синдром, който се характеризира с изключително вариабилен клиничен ход и степен на тежест (1). Астмата е заболяване с голяма обществена значимост, чиято разпространеност продължава да нараства от втората половина на XX век насам (2-6). Въпреки това, в последното десетилетие се забелязва относително затихване на тази тенденция, особено сред държавите от Западна Европа (7, 8). Разпространеността на астмата варира в отделните части на света, като в Европа, по различни данни, са засегнати около 8-15% от населението (9-12).

Патофизиологично, астмата се характеризира с различна по степен и обратимост обструкция на дихателните пътища, бронхиална хиперреактивност и мукусна хиперсекреция. Тези патологични процеси определят клиничната изява на заболяването, като най-типичните признаци са епизоди на задух, стягане и свирене в гърдите, но също така и кашлица, които могат да варират по тежест и поява във времето. На фона на най-характерните симптоми, като задуха и свиренето в гърдите, кашлицата често представлява по-обезпокоителен проблем и има значително негативно влияние върху качеството на живот на пациента (13-15), като също така кашлицата по-често от другите симптоми е резистентна на конвенционалното противоастматично лечение (16-19).

Понякога кашлицата може да бъде и единствен симптом на астмата в отсъствие на диспнея или свирене в гърдите, но често съчетана с бронхиална хиперреактивност – фенотипен вариант, който е известен като кашличен вариант на астмата (20-22). Различните форми на кашлицата могат също така да се разглеждат като фенотипен белег, а също и агравиращ фактор за астма с по-ниска степен на контрол и по-голяма тежест (23-25). Данни за това се откриват и на рецепторно ниво, като има съобщения за повишена експресия на кашлични рецептори в епитела на дихателните пътища на пациенти с по-тежка степен на астма (26, 27).

Известно е, че тежестта на астмата оказва диспропорционално негативно въздействие както върху качеството на живот на пациента, така и цялостно върху здравната система (28-30). Въпреки това, все още има ограничена информация каква е разпространеността на тежката астма, което до голяма степен се дължи на това, че все още няма възприет унифициран консенсус, за това как да бъде дефинирана тежестта на астмата, както на клинично, така и на епидемиологично ниво.

Астмата с различна степен на тежест представлява констелация от множество различни фенотипи (31-35), като сред научните среди тяхното ясно отграничаване и характеризиране все още е въпрос на дебат (36, 37). Въпреки това, съвременната насока в изследването на астмата включва интегрирането на клинични и на епидемиологични подходи, както и

утилизирането на базисно-научни методи, с помощта на които да се добие по-задълбочено разбиране на подлежащите имунопатологични механизми, т. нар ендотипи, които допълват комплексността на астматичния синдром (38-42).

Независимо от различните фенотипни изяви на астмата, универсална характеристика на това белодробно заболяване е възпалението на дихателните пътища, което се характеризира с определен вариабилитет в зависимост както от ендогенни, така и от екзогенни фактори (43-45) . Използването на неинвазивни методи, чрез които може да се улови възпалението на дихателните пътища по ефикасен, нетрудоемък и достоверен начин, набира популярност сред медицинските среди в последните десетилетия (46-48). Част от тези маркери се прилагат в клиничната практика, други все още се използват предимно в научна обстановка (49-55).

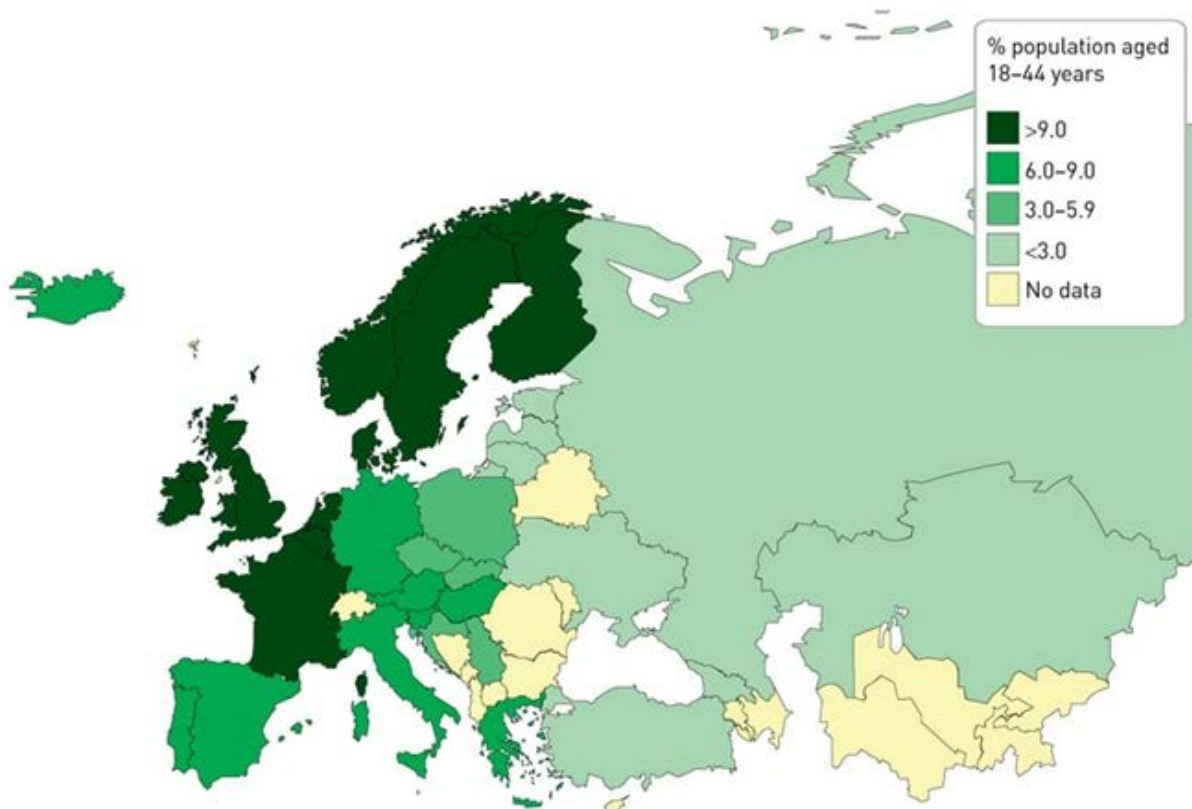
Измерването на температурата на издишания въздух е неинвазивен метод за определяне на възпалението на дихателните пътища, предложен в началото на XXI-ви век (56-59). Този маркер привлича все повече внимание като диагностичен показател не само за астма и хронична обструктивна белодробна болест (ХОББ) в стабилна фаза или по време на екзацербации (49, 60-64), но и за редица алергични, инфекциозни и дори малигнени белодробни заболявания (65-70), както и за определянето

ефекта на редица иритативни агенти от околната среда или други фактори, като усилена физическа активност или хипервентилация (71-76).

## **ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР**

### **1. Кратка епидемиологична справка за бронхиалната астма**

Бронхиалната астма е едно от най-разпространените хронични неинфекциозни заболявания по света. Смята се, че в последните десетилетия около 300 милиона души по света страдат от астма, като се предполага, че болестността от астма ще се увеличи до 450 милиона в следващите 10-15 години (9, 77-79). Заболеваемостта от астма представлява голяма тежест както погледнато през призмата на отделния, страдащ от астма пациент (80, 81), така и по отношение на разходите, които лечението на това хронично заболяване налагат на здравната система на съответната страна (29, 82, 83). По данни на Световната Здравна Организация, в Европа близо 30 милиона деца и възрастни до 45 години боледуват от астма, като болестността в различните държави, за които има информация, варира между 8-15 % (84-86)(Фиг. 1)



Фигура 1. Разпространение на астмата при възрастни между 18–44 години. Данните са на Световната Здравна Организация, (World Health Organization World Health Survey, 2002–2004. Sigurkarlsson et al., 2011)

Все пак не трябва да се изключва възможността увеличаването на болестността и заболяемостта на астмата да се дължи и на факта, че в сегашно време много по-често се диагностицират случаите с по-лека степен на астма, отколкото това е било преди (87, 88), а също така тази тенденция може да се дължи и на известна промяна на диагностичните критерии за астма през годините (89-92). За друга възможна причина би могла да се счита все още неунифицираната дефиниция на астмата на

глобално ниво, особно в контекста на мащабни епидемиологични проучвания (5, 93, 94). Интерес представлява и факта, че на фона на наблюдаваната във втората половина на ХХ-ти век тенденция за устойчиво нарастване на разпространението на астмата (дали заради реално увеличение на болестността или заради авансиралите диагностични методи), в последното десетилетие на ХХ-ти и особено в изминалото десетилетие на ХХІ-ти век, се отчита настъпване на плато в заболяемостта и болестността от астма, предимно наблюдавано в страните от Северна и Западна Европа, но също така и в Австралия, САЩ и Мексико (10, 95-101). Причините, допринасящи за достигането на това плато, все още не са напълно известни и изискват допълнителни проучвания, които да изследват влиянието на отделните фактори, допринасящи за развитието на астмата. Въпреки това, самото обстоятелство, че такова затишие в болестността и заболяемостта от астма се наблюдава едновременно на няколко географски различни места, е важно наблюдение само по себе си, но и също така говори против това, че дадени етиологични фактори, като например определени алергени, могат да се смятат за превалиращи над други.

## 2. Значение на епидемиологичните проучвания

Епидемиологичните проучвания, които обхващат големи популации от индивиди, избрани случайно (random population-based studies), дават

възможност за обективизиране и генерализиране на получените резултати, но също така са единствения подход, чрез който може да се определи реалната степен на разпространеност на дадено заболяване. В този смисъл, провеждането на широкомащабни, базирани на случайна популация проучвания, фокусирани върху белодробни и алергични заболявания, може да даде изключително важна информация за тяхната болестност и значимост, но също така създава възможност за изграждане на ценна платформа от информация. В последствие, на основата на такъв тип база от данни се създава възможността за дефинирането и изследването на определени групи от индивиди, притежаващи специфични белези и опосредства по-задълбоченото фокусиране към определени проблеми, характеризиращи тези индивиди (102-104).

В Европа такива популационни проучвания, насочени към идентифицирането на честотата на астмата, хроничният бронхит, хроничната обструктивна белодробна болест, туберкулозата и други респираторни заболявания, започват да се провеждат през 70-те и 80-те години на миналия век. Проучвания като European Community Respiratory Health Survey (ECRHS), Global Allergy and Asthma European Network (GA2LEN), фокусирани върху астмата при възрастни, както и такива като International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC), обхващащи астматични и алергични проблеми при деца, протичат през

няколко фази, обхващат много голям брой индивиди и дават възможност за оценка на динамиката на разпространение на тези заболявания (105-111), както и за отграничаване на редица рискови фактори, които допринасят за развитие на астма или за по-тежкото ѝ протичане (112-116). Така например, благодарение на този тип проучвания са определени негативното влияние на тютюнопушенето и иритативните агенти от околната среда върху белодробната функция, а също и върху контрола и лечението на астмата (106, 117-122), влиянието на специфични алергени върху развитието и персистирането на бронхиалната астма (123-129), както и динамиката в белодробната функция в хода на болестта и влиянието, което възрастта оказва върху нея (130-132).

В държавите от Скандинавския полуостров също са проведени едни от най-големите епидемиологични проучвания в Северна Европа, които предоставят едни от най-актуалните сведения за болестността и заболяемостта от астма, хронични обструктивни белодробни заболявания и алергии (7, 10, 24, 133-135). За известен недостатък на такъв тип мащабни популационни проучвания може да се счита това, че те изискват значителен финансов ресурс, което ограничава провеждането им в държави с по-малки икономически възможности, в това число и България, като по този начин трудно може да се придобие обективна представа за реалната болестност на дадено заболяване в тези страни, тъй

като основните проучвания в тази насока са проведени върху синхронизирани пациентски групи - кохорти (136-138).

### 3. Значение и епидемиология на тежката астма

Независимо, че по-голямата част от пациентите с астма успешно се повлияват от съвременното противоастматично лечение, все още остава част от пациентите, при които не може да се достигне оптимална степен на лечение, и това са пациентите с тежка астма (139-142). През последните две десетилетия са проведени няколко широкообхватни многоцентрови проучвания в Европа и САЩ, сред които изпъкват проучванията TENOR (The Epidemiology and Natural History of Asthma: Outcomes and Treatment Regimens) и SARP (Severe Asthma Research Program) в САЩ, както и ENFUMOSA (European Network For Understanding Mechanisms Of Severe Asthma) в Европа (143-145). Тези проучвания предоставят ценна информация за различните фенотипни варианти на тежката астма, специфичните терапевтични нужди на пациентите, а също така дават допълнителна информация за патофизиологичните механизми, предразполагащи към развитието на тежка астма и възможните таргети за лечение (33, 35, 146-156).

В последното ръководство на Европейското Респираторно Общество и Американското Торакално Общество от 2014 (ERS/ATS Guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma), тежката астма се

описва като астма, при която не може да се постигне или поддържа оптимален контрол, независимо от използването на високи дози комбинирани медикаменти и адекватно лечение на възможни придружаващи заболявания - коморбидитети (157). В този документ, както и често в медицинската литература, честотата на тежката астма се отбелязва, че обхваща около 5-10% от пациентите с астма, въпреки че се споменава, че точната степен на разпространеност не може да бъде определена, основно поради липса на унифицирана дефиниция за това какво представлява и включва тежката астма (144, 158-162). Също така, начинът, по който се дефинира тежката астма от клинична и епидемиологична гледна точка се различава, като в зависимост от подхода и начина на дефиниране на заболяването, различни проучвания съобщават както за разпространеност между 10 и 24% (163-166), така и за такава, която класифицира тежката астма в графата „редки заболявания“ (167). Важно е да се отбележи обаче, че реалното разпространение на тежката астма може да се определи основно на базата на епидемиологични проучвания върху случайни популации, а не от пациентски кохорти.

#### 4. Фенотипизиране на тежката астма

В последните десетилетия знанието ни за хетерогенността на астмата прогресивно нараства. Все повече се налага концепцията, че астмата с различна степен на тежест не е хомогенно заболяване, а по-скоро

представлява констелация от фенотипи и субфенотипи, които имат различни клинични характеристики, специфични рискови фактори, а също и предполагаемо различни патофизиологични механизми и медиатори на възпаление (144, 149, 168-176). Такъв тип детайлно фенотипно подразделяне на астмата има за цел да подпомогне обособяването на специфични групи от астматици, като по този начин се дава възможност да се избере лечение, което е максимално насочено към нуждите на отделния пациент (177-182). Чрез дефинирането на определени терапевтични таргети, се създава възможност за пренасочването на лечението на астмата от първоначално универсално, независимо от специфичния астматичен тип, да премине в до голяма степен персонализираното лечение, насочено към специфичните патологични механизми за дадения астматичен фенотип (183-194).

## 5. Рискови фактори за тежка астма

По-тежките форми на астмата често се асоциират с редица рискови фактори, които допринасят за по-трудното достигане и поддържане на добър контрол, а също така са свързани и с по-голяма степен на резистентност към терапията с инхалаторни кортикостероиди (195-197). Повишеното тегло и затлъстяването, тютюнопушенето и женския пол са рискови фактори, често асоциирани с по-тежка форма на астмата (198-205), но също така и други фактори като наличието на коморбидитети,

хроничния риносинусит, честите екзацербации и хоспитализации, както и наличието на продуктивна кашлица (163, 206-214). Определянето на рисковите фактори, които водят до трудно контролируема или неподдаваща се на конвенционално лечение астма, има важно значение за начините, по които тези фактори могат да се модифицират или, по възможност, избегнат.

През последните години значението на кашлицата като един от главните симптоми, които имат агравиращо въздействие върху незадоволителното ниво на контрол на астмата, се подчертава от няколко проучвания (24, 25, 215-218). Астматиците, които съобщават за наличието на продуктивна кашлица, а също така и много по-често се нуждаят от продължително лечение с орални кортикостероиди или имат по-чести епизоди на екзацербация. Кашлицата е симптом, на който би следвало да се обръща адекватно внимание, като се адресира навреме, така че по възможно най-оптимален начин да бъдат предотвратени вероятните негативни последствия както върху контрола на астмата, така и върху евентуалното развитие на структурни изменения по дихателните пътища (219-221).

## 6. Кашличен вариант на астмата

Кашличният вариант на астмата (CVA) може да се разглежда като специфичен фенотип, при който отсъства диспнея или свирене в гърдите, а

по-скоро клиничното проявление е свързано почти изолирано с кашлица, която често е съчетана с бронхиална хиперреактивност (222-225). Механизмите на кашлицата при CVA, както и основните патофизиологични различия между този астматичен фенотип и други бронхо-обструктивни състояния, проявяващи се с кашлица, все още не са обстойно изучени и охарактеризирани. Астмата от този тип има някои проявления, характерни за „класическата“ астма като бронхиална хиперреактивност, известна степен на ремоделиране на дихателните пътища (226) и предимно еозинофилен тип на възпаление (227). Въпреки това, CVA много често представлява диагностично предизвикателство, именно поради неспецифичната си изява (228-230), но също така и поради известната терапевтична резистентност към конвенционалното противовъзпалително лечение на астмата, което често налага алтернативни подходи на лечение (231-235). Има проучвания, които демонстрират по-голяма терапевтична ефективност на антилевкотриеновите препарати при CVA, което показва, че медиаторите основно от групата на цинтеинил-левкотриените са тясно асоциирани с патогенезата на хроничната кашлица при този астматичен фенотип, като това би могло да се дължи на по-изразена мастоцитна активация в дихателните пътища при тези пациенти (236, 237). В допълнение, някои проучвания предимно от японски автори съобщават, че сред пациентите с различни бронхо-обструктивни

заболявания, в това число астма и ХОББ, кашличния вариант на астмата се откроява като основната причина за персистираща кашлица (225, 238-242).

#### 7. Лечение на кашлицата като симптом

Голяма част от пациентите с астма се повлияват успешно от лечението с инхалаторни стероиди и бронходилататори, като чрез това лечение основно се купират бронхо-обструктивните симптоми, а в по-малка степен кашлицата (243, 244). Все още не е напълно изяснено какви са точните патофизиологични механизми и възпалителни медиатори, които стоят в основата на кашлицата, както в контекста на астмата, така и като самостоятелен симптом (19, 245-250). Вероятно част от патологичните механизми са свързани с възпалителни медиатори като левкотриените, макар че редица проучвания съобщават различни резултати по отношение на ефективността от лечение с левкотриенови антагонисти (251-256). Има и редица съобщения за ефективността на медикаменти, за които не са характерни изразени противовъзпалителни свойства (257-260), което допълнително подчертава комплексността на болестните механизми, стоящи в основата на кашлицата (261-263).

#### 8. Измерване на температура на издишан въздух (ТИВ)

Чрез процеса на дишане, освен основната жизнено необходима обмяна на газове, се осъществява и отделяне на изключително голямо

разнообразие от биохимични вещества и метаболити, като броят на различните компоненти в издишания въздух надхвърля 3500 (264-266). Различните комбинации от тези вещества определят специфичния състав на издишания въздух на всеки човек (т.нар молекулярен подпис на дъха, *molecular breath signature*), като това зависи както от нормалните физиологични процеси в организма, определяни от хранителния режим и факторите на околната среда, така и от различни болестни състояния, сред които най-много научни сведения са събрани в областта на онкологията (267-272).

Определянето на различни биомаркери в издишания въздух чрез бързи, меродавни и лесни за употреба методи, представлява изключителен интерес в медицинските среди в последните десетилетия. В областта на астмата, един от маркерите, който е придобил разпространение и в клиничната практика, е измерването на фракцията на издишания азотен оксид (FeNO)(273), който се счита за маркер, отразяващ основно еозинофилния тип възпаление на дихателните пътища при астма (274-277). Установено е, че FeNO до голяма степен корелира с бронхиалната хиперреактивност и нивото на сенсibiliзация, но също така зависи и от някои други фактори, като например, възраст, тютюнопушене и респираторни инфекции (278-283). Също така, нивото на азотен оксид в издишания въздух се използва и като индикатор за ефективността от

кортикостероидно лечение (284-288), въпреки че данните за това са противоречиви и все още няма консенсус за това каква е истинската практическа приложимост и информативност на метода (289-291). Друг метод, към който има голям интерес сред учените, изследващи астма, е използването на „електронния нос“ (electronic nose), който все още се прилага основно в научни условия и е значително по-комплексен за използване и анализиране от изследването на FeNO (292-296).

От началото на настоящия век, все повече информация се натрупва в полза на измерването на температурата на издишания въздух като метод, който по акуратен и бърз начин отразява възпалителните процеси в дихателните пътища при различни белодробни заболявания. Голямо развитие претърпява както самата концепция за начина, по който улавянето на температурата на издишания въздух би било най-информативно (297-302), но също така и самият начин на измерване, който от сложна система тип „затворена стая“ в началото, сега може да се осъществи с елегантното портативно устройство, чрез няколко издишвания и за минимално време (59, 303). Така с помощта на това устройство могат да се установят разликите в ТИВ между здрави индивиди и такива с астма или ХОББ, както в стабилна фаза, така и по време на екзацербации (64, 304, 305). Също така се създава възможност за ежедневното мониториране на ТИВ, което може да служи като маркер за степента на контрол на

астмата, но и като индикатор за настъпващо влошаване на контрола, като по този начин се дава възможност за това да се вземат адекватни превантивни мерки преди клиничното развитие на екзацербация.

## 9. Значение на изследваните проблеми

Астматичните фенотипи с по-изразена тежест и по-ниско ниво на контрол представляват сериозно предизвикателство за съвременната медицина, като в същото време бремето, което оказват върху боледуващите от тях астматици, е изключително голямо. Засега въпросът за това, каква е всъщност честотата на тежката астма и кои са факторите, които допринасят за по-тежка и неконтролирана астма, остава без ясен отговор, но все повече доказателства се натрупват в полза на това, че тежката астма не би следвало да са разглежда през призмата на редките заболявания. В този смисъл, проучвания, които изследват големи групи от индивиди, обхващащи не само пациентски кохорти, но и случайни популации, могат да допринесат за натрупването на ценна информация за мащабността на проблема с астматичната тежест, което да опосредства по-задълбоченото изследване и, в резултат, по-адекватно лечение на тези астматични фенотипи.

Същевременно, съвременната медицина вече навлиза в периода на „прецизна медицина“, при която се цели оптимизиране на пациентските грижи, които да бъдат насочени към специфичните нужди на определения

пациент. Така откриването и изучаването на нови биомаркери, които да предоставят точна информация както за наличието на дадена болест и нейния фенотип, така и за възможното оптимизиране на резултатите от определено лечение, представлява особен интерес в медицинската наука и налага задълбочени изследвания в тази посока.

## **ЦЕЛ И ЗАДАЧИ**

**Целта** на настоящия труд е задълбочено изследване на сложните взаимоотношения между кашлицата като симптом и подлежащото възпаление на дихателните пътища, и тяхната роля като агравирани фактори за недобре контролирана астма и за астма с по-голяма тежест.

Следните **задачи** са свързани с постигането на поставената цел:

### **1. Задача №1**

Детайлно фенотипизирана кохорта от индивиди с астма, взета от голямомасабно популационно проучване, бе използвана като платформа за: 1) описването на различни типове кашлица в тази популация и взаимоотношението между кашлицата и бронхо-обструктивните астматични симптоми, 2) изследване на взаимовръзката на различните типове кашлица със степента на контрол на астмата

### **2. Задача №2**

Да се дефинират специфични субфенотипи на тежката астма, чрез интегрирането на пет различни параметъра, а също така: 1) да се анализира честотата на така дефинираните фенотипи и да се характеризират по отношение на функционални и възпалителни параметри, алергична нагласа и налични коморбидитети, 2) да се изследват възможните взаимовръзки

между тези фенотипи с различни типове кашлицата и 3) да се определят рисковите фактори, асоциирани с фенотипи с по-голяма тежест на астмата

### 3. Задача №3

Да се изследва дали кашлица, която не е от астматичен тип, може да се повлияе от противоиinflаматорно лечение с монтелукаст и да се изследва влиянието на това лечение при пациенти с хронична кашлица, като се използват субективни и обективни изследвания

### 4. Задача №4

Да се събере допълнителна информация за информативността и практическата приложимост на измерването на температурата на издишан въздух като неинвазивен маркер за възпаление на дихателните пътища при пациенти с неастматична кашлица, астма и алергичен ринит.

## **МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ**

### **1. Описание на проекта**

Частта от настоящия дисертационен труд, свързана с изследването на асоциацията на кашлицата като агравиращ фактор за по-тежките форми на астмата и за по-ниско ниво на контрол, е проведена в Изследователския център Крефтинг (Krefthing Research Centre, University of Gothenburg, Sweden), в който се провеждат научни изследвания в областта на респираторните алергии, астма и ХОББ, чрез интегрирането на епидемиологични, клинични и фундаментално-научни методи.

Частта от дисертацията, която изследва влиянието на монтелукаст при пациенти с хронична кашлицата, а също така включва и събирането на допълнителна данни за определянето на възпалението на дихателните пътища чрез неинвазивното измерване на температурата на издишан въздух (ТИВ), е проведена в Клиничният център по Алергология към Александровска болница, София. Независимо от участието на дисертантката в множество проучвания, чиято цел е била събирането да допълнителна информация за различни фактори, които биха оказали влияние върху ТИВ (хранителен режим, циркаден ритъм, тютюнопушене, инхалаторни и системни медикаменти), както и верифицирането на метода като меродавен за детекция на възпалението на дихателните пътища при различни бронхо-обструктивни заболявания в стабилна фаза и по време на

екзацербация, настоящия дисертационен труд включва основно резултати от изследванията на ТИВ при пациенти с хронична кашлица и поленоза, които са довели до завършени публикации.

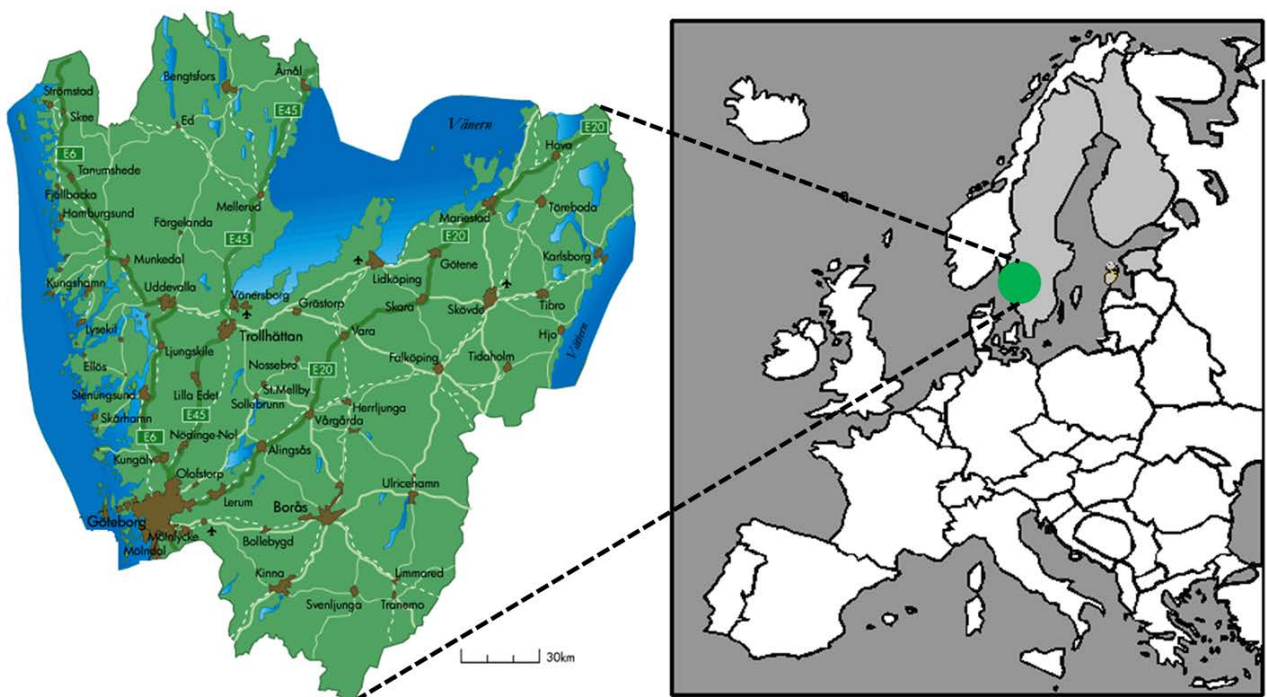
## 2. Астматична популация от проучването West Sweden Asthma Study

### 2.1. Описание на проучването West Sweden Asthma Study

За основна платформа за осъществяването на цели 1 и 2 от настоящата дисертация са използвани детайлно фенотипизирани кохорти от индивиди с астма и здрави индивиди, които са част от мащабно популационно проучване в Западна Швеция, което се нарича West Sweden Asthma Study (WSAS). WSAS е мултидисциплинарен проект, чиято цел представлява изучаването на различни аспекти на обструктивните белодробни болести и алергични заболявания, чрез обединението на клиничко-епидемиологични и фундаментално-научни подходи. Това проучване продължава да се разраства като нови фази на рефенотипизация на различни подгрупи от индивиди, както здрави, така и тези с бронхо-обструктивни заболявания, а също и изследването на допълнителен брой индивиди от случайна популация, са в ход в момента.

WSAS е проучване, иницирано през 2008 година, когато 30 000 въпросника са изпратени на случайно подбрани, но репрезентативни за популацията индивиди от западна Швеция, в областта Västra Götaland

(Фиг.2 ). Областта има популация от 1 547 000 души през 2007 година, което представлява близо 1/6 от популацията на Швеция. Там се включва вторият по големина град в Швеция – Гьотеборг, чиято популация е 494 000 души, а с предградията около 700 000 души.



Фиг.2 Областта Западна Готия (*Västra Götaland*) в Югозападна Швеция, в която е проведено проучването *West Sweden Asthma Study*.

Изпратеният въпросник представлява комплексна и детайлна анкета, включваща голям обхват от въпроси, свързани както със здравния статус на индивидите (наличието на бронхо-обструктивни или алергични заболявания, както и различни коморбидитети – част от въпросника на

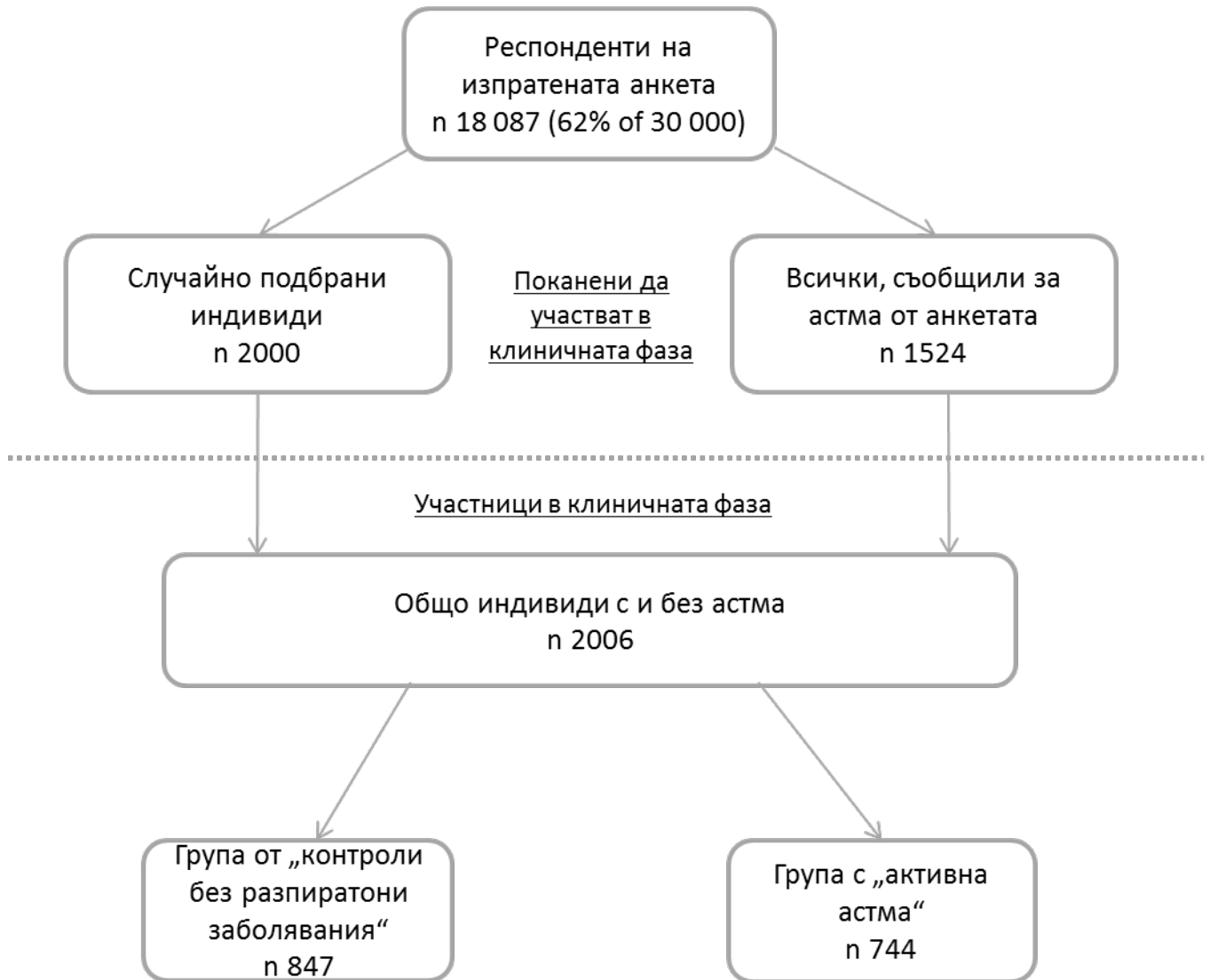
GA2LEN, както и въпроси, използвани в проучванията OLIN в Северна Швеция (135, 306)), така и със социо-икономическия им статус и експозицията на различни фактори на околната среда. От всички, които са отговори на въпросника (общо 18 087 души, 62% от получените въпросника), случайно са подбрани 2006 индивиди, като сред тях са такива, които съобщават за наличието на астма или друг тип обструктивни белодробни заболявания (диагностицирани от лекар), такива, които не съобщават за диагностицирани белодробни заболявания (които могат да имат други извънбелодробни заболявания или белодробни оплаквания), и здрави индивиди. Тези индивиди са поканени да участват в клиничната фаза на проучването, която се състои от обстойно медицинско интервю, както и множество изследвания, сред които определяне белодробна функция преди и след бронходилататор, изследване на фракцията на азотен оксид в издишания въздух, метахолинов тест за бронхиална хиперреактивност, дифузионен капацитет на въглероден оксид, кожно-алергични проби към 11 от най-честите аеро-алергени в Северна Европа (тимотейка, бреза, див пелин, котка, куче, кон, *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *Alternaria*, *Cladosporium* и *Blattella germanica*; ALK, Denmark), както и кръвни тестове на системни възпалителни маркери, общи и специфични ИгЕ (Phadiatop, ImmunoCap; Thermo Fisher, Sweden).

## 2.2. Начин на дефиниране на изследваната популация

Основният обект на анализ в настоящия труд е група от 744 индивиди, които имат астма в активна форма (“active asthma”). За да попаднат в тази група, изследваните индивиди трябва да са съобщили за наличието на астма, диагностицирана от лекар и също така да отговарят на поне един от следните критерии – 1) да използват противоастматични медикаменти, 2) да съобщават за чести епизоди на свирене в гърдите и 3) задух, съпроводен или не със свирене в гърдите, всички през последните 12 месеца. Нивото на контрол на астмата беше определено в съответствие на препоръките на Глобалната Инициатива за Астма (Global Initiative for Asthma – GINA, 2006 Guidelines) и резултатите от теста за контрол на астмата (Asthma Control Test – АСТ).

Контролната група се състои от „респираторно здрави“ индивиди, които не съобщават за медицински потвърдени диагнози на астма, ХОББ, хроничен бронхит, емфизем или туберкулоза (общ брой 847), но все пак могат да са съобщили за различни дихателни оплаквания и/или кашлица. На Фиг. 3 е показана схема на подбора на индивидите, които са обект на настоящата дисертация. От 18 087 души, които са отговорили на изпратената по пощата анкета, всички, които са отговорили, че имат „астма, диагностицирана от лекар“ (1524 души), а също така и случайно подбрани 2000 души, са поканени на участват в клиничната фаза. Общо от

всички поканени на клинично изследване, 2006 участват и са детайлно изследвани в периода 2009-2013 година.



Фиг. 3 Схема, отразяваща начина, по който са подбрани индивидите, подлежащи на анализ.

### 2.3. Дефиниция на степента на тежест на астмата

За целите, свързани със задача 2 от настоящия труд, астматичната кохорта е стратифицирана на три групи с различна степен на тежест на заболяването. За да се дефинира тежестта на астмата бяха избрани следните пет параметъра: 1) наличието на четири или повече симптоми през деня, независимо от използването на противоастматични медикаменти, 2) ограничение в белодробната функция отговаряща на ФЕО1 под 70% от предвидената стойност, 3) ежедневно или почти ежедневно използване на бързодействащи бета-2 агонисти, 4) нощни симптоми поне веднъж или по-често за една седмица и 5) нужда от спешна помощ за проблеми, свързани с дишането или използването на орални стероиди системно или по време на екзацербации. Трябва да се има предвид, че всеки един от тези параметри, дори и да бъде разгледан поотделно, представлява индикатор за тежест на астмата. За изграждането на една многопластова картина, за това как отделните параметри се застъпват и корелират, беше изследвано нивото на припокриване (overlap) между тези параметри, като в съответствие с това астматиците бяха разделени на три подгрупи с нарастваща степен на тежест на астмата. Групата, обхващаща най-тежкия спектър на проявление на астмата, включва два или повече от тези параметри (at least two signs), втората група включва индивиди, които имат един, който и да е от тези белези за тежест (any sign) и съответства на „междинната“ степен на тежест и последната, трета група, включва индивиди, които не притежават нито един от

избраните белези на тежест и следователно са класифицирани в групата „нетежка“ астма (non-severe asthma).

### 3. Изследвана популация от Клиничен център по Алергология

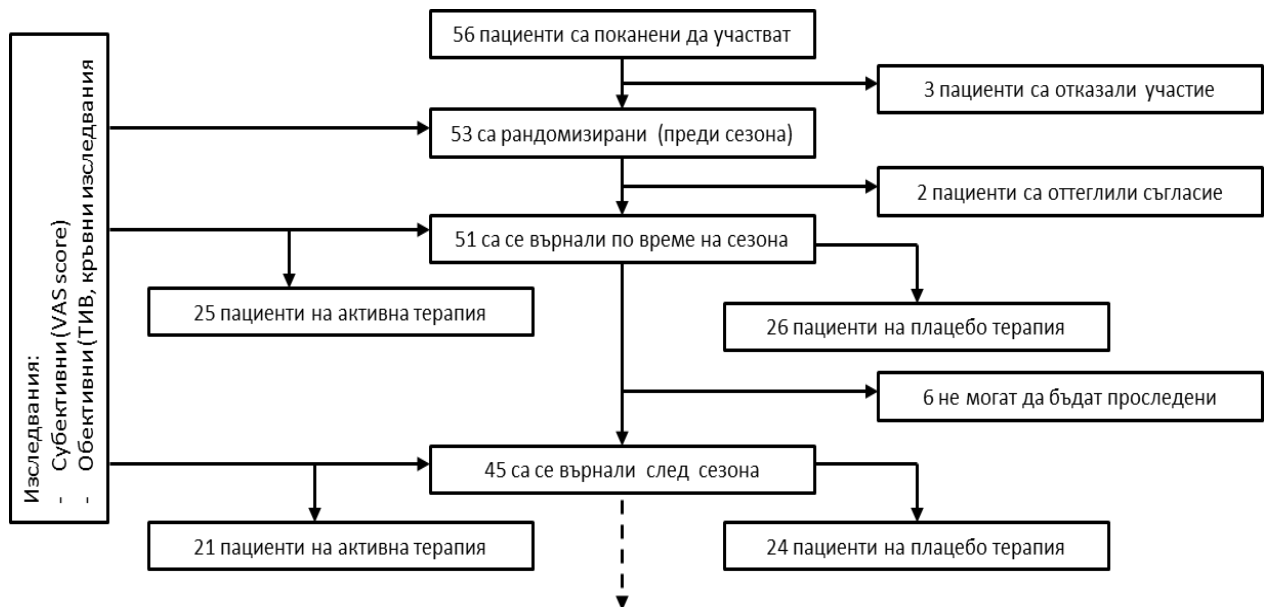
#### 3.1. Изследване на пациентите с хронична кашлица

Пилотно проучване тип „реален живот“ (real-life pilot study), беше проведено с 14 пациенти, посетили амбулаторните кабинети в Клиничния център по Алергология към Александровска болница, София. Основен включващ критерий бе наличието на хронична кашлица (кашлица, която продължава повече от 8 седмици), която се дължи основно на кашличен синдром от горни дихателни пътища (upper airway cough syndrome – UACS, който още се нарича синдром на задно назало стичане или post-nasal drip syndrome) и на гастроезофагеален рефлукс (ГЕР), но не и на астма. В изследваната група от пациенти, диагнозата астма или друга белодробна патология, беше изключена както анамнестично, така и обективно чрез данните от спирометричното изследване и метахолинов тест, а при някои пациенти и рентгенографски. Проучването се състои от две визити, разделени от две седмици, по време на които пациентите бяха изследвани по отношение на субективното възприятие за тежестта на кашлицата (използвайки българска версия на английския въпросник за кашлица Leicester Cough Questionnaire (LCQ)), така и следните обективни параметри: белодробна функция преди и след бронходилататор,

бронхиална хиперреактивност, кожно алергични проби, температура на издишан въздух, както и изследване на кашличен праг, използвайки капсаицин и лимонена киселина. Крайната цел на това проучване беше да се изследва ефекта на двуседмично лечение с монтелукаст върху субективните и обективни параметри, както и да се събере допълнителна информация за приложимостта на метода за измерване на температурата на издишан въздух при пациенти с хронична кашлица.

### 3.2. Изследване на температурата на издишан въздух при пациенти с полено́за

В това проучване, 56 пациенти с клинични признаци на алергичен риноконюнктивит, сенсibiliзирани към тревен полен, бяха рекрутирани в Клиничния център по Алергология към Александровска Болница, София. От тях 53 бяха рандомизирани 1:1 да приемат сублингвална имунотерапия с екстракт от 5 треви или плацебо, като пациентите бяха проследени по време на три визити (преди, по време и след поленовия сезона), през които бяха измерени субективни показатели (VAS – visual analogue scale, скала за интензивността на симптомите) и обективни показатели (белодробна функция, ТИВ, възпалителни показатели в кръвта). Крайната цел бе да се определи дали алергенната имунотерапия би повлияла повишаването на ТИВ, което се наблюдава по време на поленовия сезон. Схема на дизайна на проучването е представена на фиг. 4



Фиг.4 Схематично описание на пациентите, включени в проучването. ТИБ е изследвана преди поленовия сезон, по време и след края на сезона.

#### 4. Статистически анализ

За статистическия анализ беше използвана версия 21 на програмата за статистическа обработка SPSS за Windows (IBM Corp., Armonk, NY). Стандартни дескриптивни методи бяха използвани за изчисление на количествените променливи – средна аритметична стойност или медиана, стандартно отклонение. Сравненията между отделните групи за категориите променливи бяха направени с тест хи-квадрат на Pearson (Pearson Chi-square test), а също и теста за тенденция на Mantel–Haenszel (Mantel–Haenszel test for trend) беше използван, когато сравненията

обхващат повече от две групи. Количествените променливи бяха изследвани за нормалност чрез тестовете на Kolmogorov-Smirnov и Shapiro-Wilk. Променливите с нормално (Гаусово) разпределение бяха анализирани чрез unpaired t-test, а за терапевтичната група бяха направени сравнения на отделните променливи преди и след лечение чрез paired t-test. В случаите, когато променливите не отговарят на изискванията за нормалност, бяха използвани непараметрични тестове (Mann Whitney U test и Wilcoxon Signed Rank Test). Р стойност  $< 0.05$  бе приета за статистически значима. Бивариатетен и мултивариатетен логистичен регресионен анализ беше направен, за да бъдат определени рисковите фактори, свързани с тежестта и степента на контрол на астмата. Резултатите са представени като odds ratio (OR) и 95% доверителен интервал (95% Confidence Interval (CI)).

## РЕЗУЛТАТИ

### Резултати, свързани със задача №1

#### 1. Демографски и антропометрични характеристики

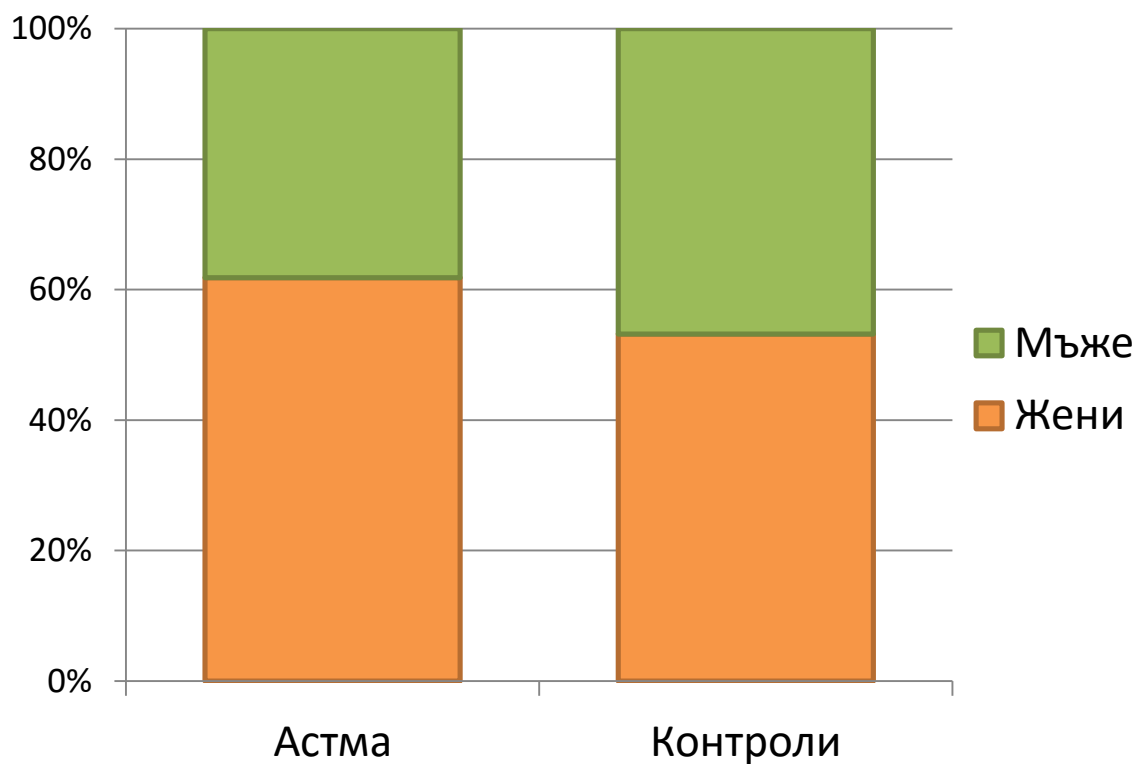
Обобщено представяне на демографските характеристики на индивидите с активна астма и на контролните индивиди са представени на таблица 1.

Табл. 1 Разпределение на изследваните групи по пол, възраст, индекс на телесната маса (ИТМ) и пушачески статус

	Активна астма N (%)	Контроли N(%)	P стойност
Пол (женски)	460 (61.8)	451 (53.2)	0.001
Възраст	47.6±15.5	49.9±15.5	0.002
ИТМ (кг/м <sup>2</sup> )			
<20	23 (3.1)	38 (4.5)	<0.001
20-24.9	242 (32.6)	337 (39.8)	
25-29.9	289 (38.9)	364 (43.0)	
≥30	189 (25.4)	108 (12.8)	
Пушачески статус			
Непушачи	386 (52)	457 (54.1)	0.206
Бивши пушачи	261 (35.2)	298 (35.3)	
Настоящи пушачи	95 (12.8)	89 (10.5)	

### 1.1. Сравнение по пол

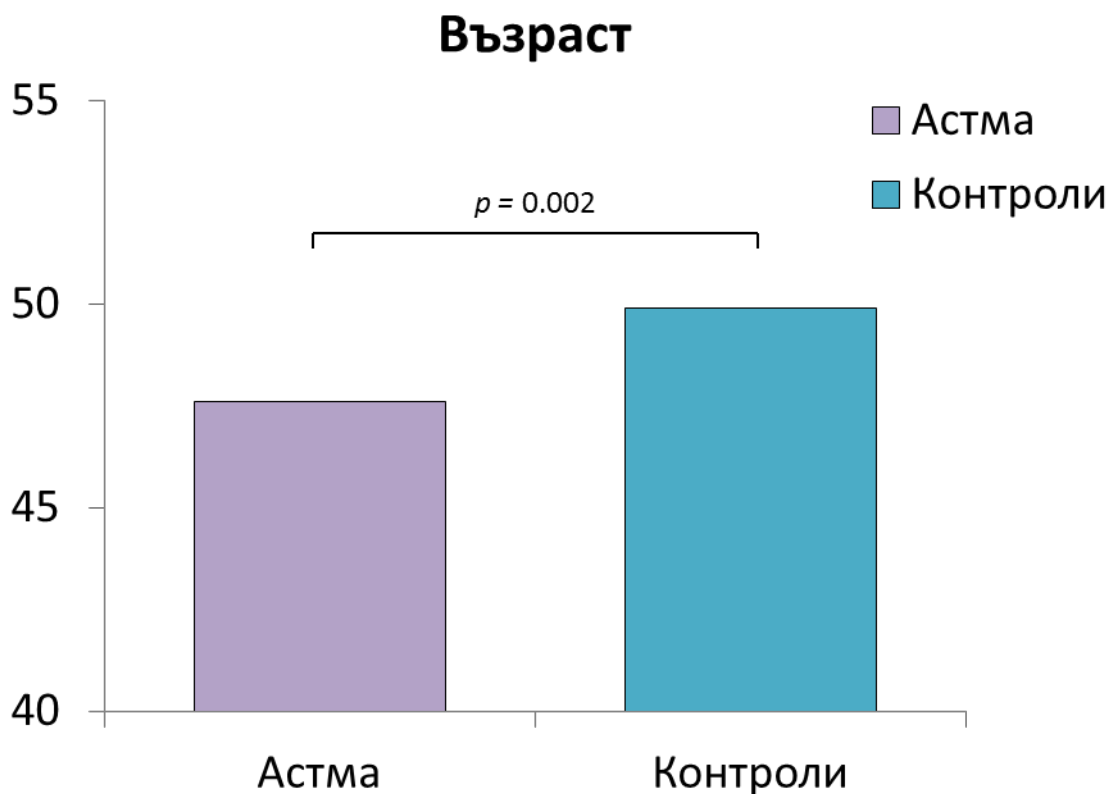
Значително по-голяма пропорция от индивидите с астма са от женски пол, сравнено с контролните индивиди (61.8 % и 53.2%, съответно), като разликата е статистически значима ( $p=0.001$ )(фиг.5)



Фиг. 5 Разпределение по пол между индивидите с активна астма и респираторно здравите контроли.

### 1.2. Сравнение по възраст

По отношение на възрастта, в изследваните популации, индивидите с астма са с по-ниска възраст от контролните индивиди (средна възраст за астматици 47.6, а за контроли 49.9,  $p=0.002$ ) (фиг.6)

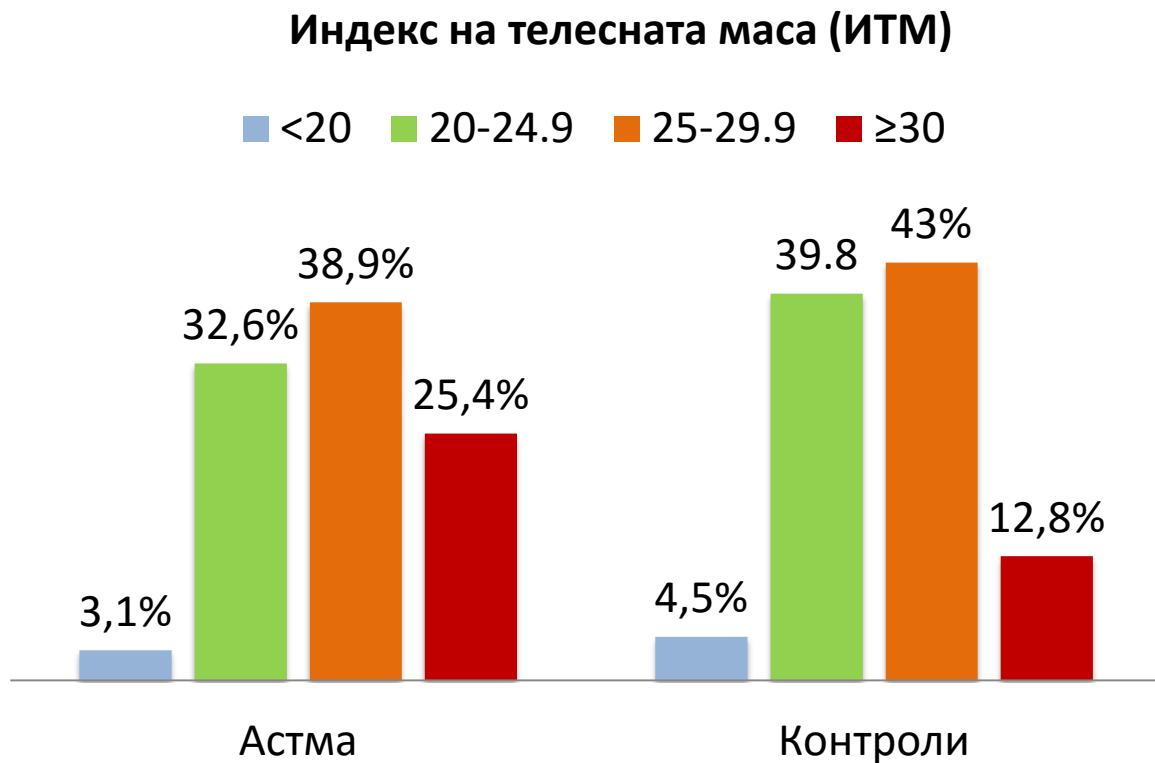


Фиг. 6 Разпределение по възраст на астматици и контроли.

### 1.3. Обезитет

Значимо по-голям процент от индивидите с активна астма се характеризират с ИТМ по-висок от 30 (25.4%) в сравнение с контролната кохорта (12.8%),  $p<0.001$ (Фиг.7 ). ИТМ е разделен на интервали, които са широко приети в медицинските среди (ИТМ < 20 – ниско тегло, ИТМ 20-

24.9 – нормално тегло, ИТМ 25-29.9 – наднормено тегло, ИТМ  $\geq 30$  – затлъстяване)



Фиг. 7 Разпределение на астматиците и на респираторно-здравите контроли според индекса на телесна маса (ИТМ).

#### 1.4. Тютюнопушене

По отношение на пушаческият статус не бяха открити статистически значими разлики между двете групи.

## 2. Описание на белодробната функция и алергичният статус

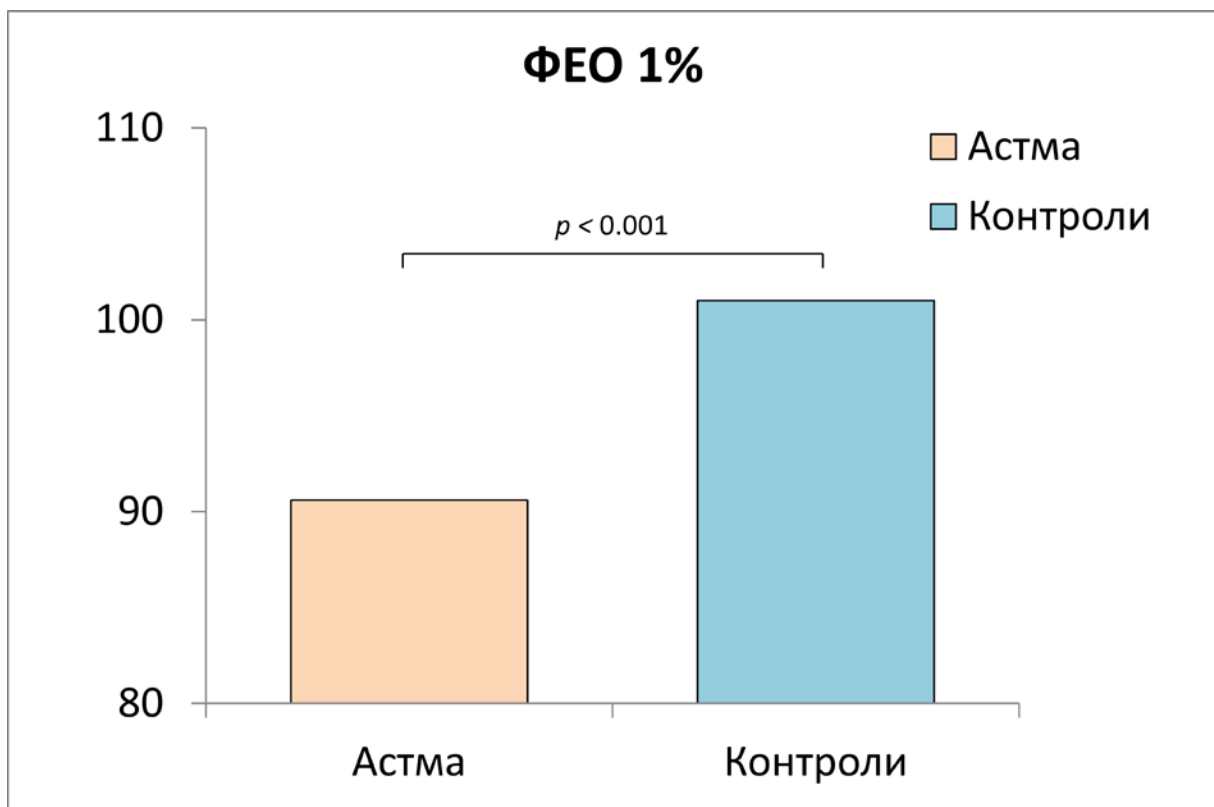
Клиничните параметри на двете групи са представени на Табл. 2

Табл. 2 Характеристика на индивидите с астма и респираторно-здравите индивиди по отношение на ФЕО1% от предвидена стойност, фракция на издишан азотен оксид (FeNO), бронхиална хиперреактивност, сенсibiliзация към аеро-алергени, отговаряща на положителна кожно-алергична проба (КАП) към даден алерген, както и брой на положителните КАП.

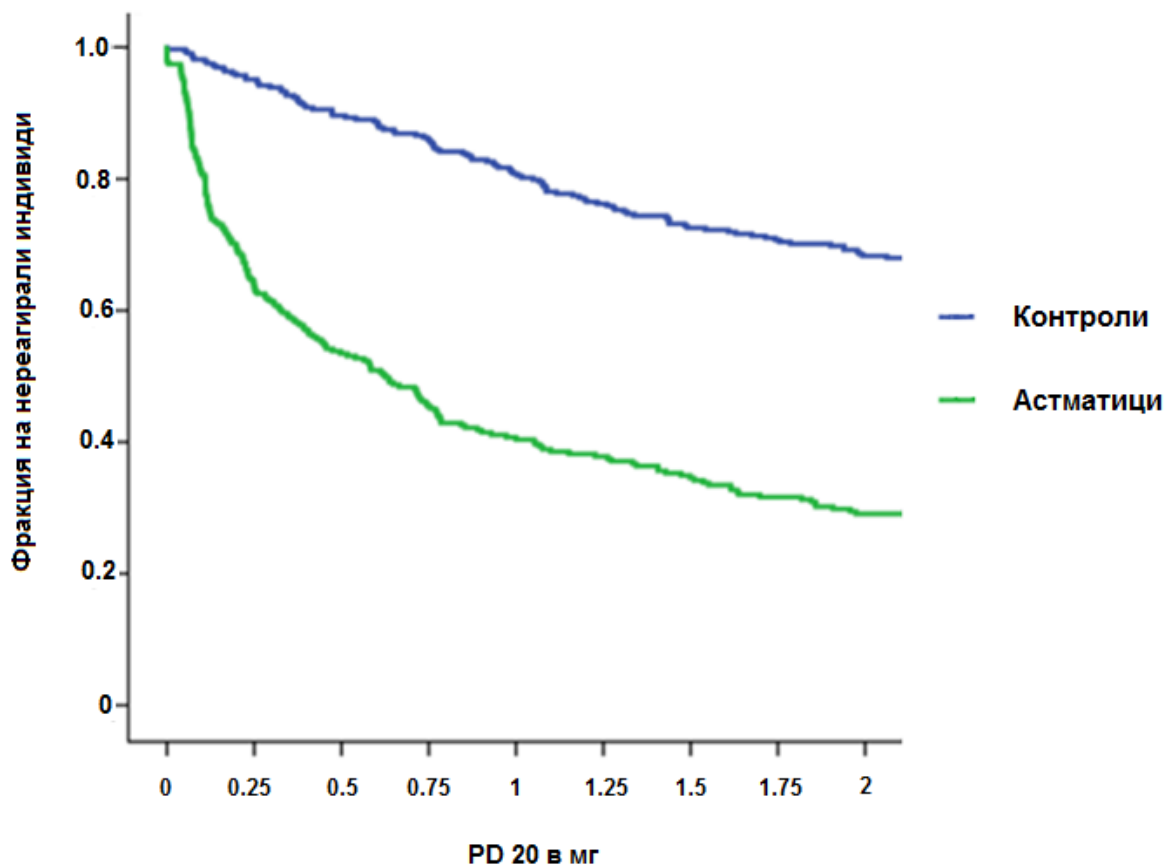
	Активна астма брой (%)	Контроли брой(%)	P стойност
ФЕО 1 %	90.6±17.6	101.0±12.9	<0.001
FeNO (ppb )	26.88±24.3	19.03±11.0	<0.001
Бронхиална хиперреактивност	70.9%	32.0%	<0.001
Поне 1 положителна КАП	71.8%	33.1%	<0.001
Брой на положителните КАП при сенсibiliзираните индивиди			
1	19.1%	35.6%	<0.001
2	15.3%	28.3%	<0.001
3	18.2%	15.2%	<0.001
≥4	47.4%	20.9%	<0.001

## 2.1. Белодробни параметри и бронхиална хиперреактивност

Индивидите с астма очаквано имаха значително по-ниска стойност на ФЕО1% (процент от предвидената стойност) в сравнение с респираторно-здравите контроли (90.6% и 101%, съответно,  $p < 0.001$ ) (Фиг.8), но също така много по-ясно изразена бронхиална хиперреактивност (представена като провокационна доза на метахолин, която предизвиква намаляване на ФЕО1% с 20% (PD 20) до 1.96 мг/мл), като съответно 70.9% от астматиците имат проявена бронхиална хиперрекативност в сравнение с 32% от контролите,  $p < 0.001$  (Фиг.9).



Фиг.8 ФЕО 1 % от предвидената стойност за астматици и контроли.

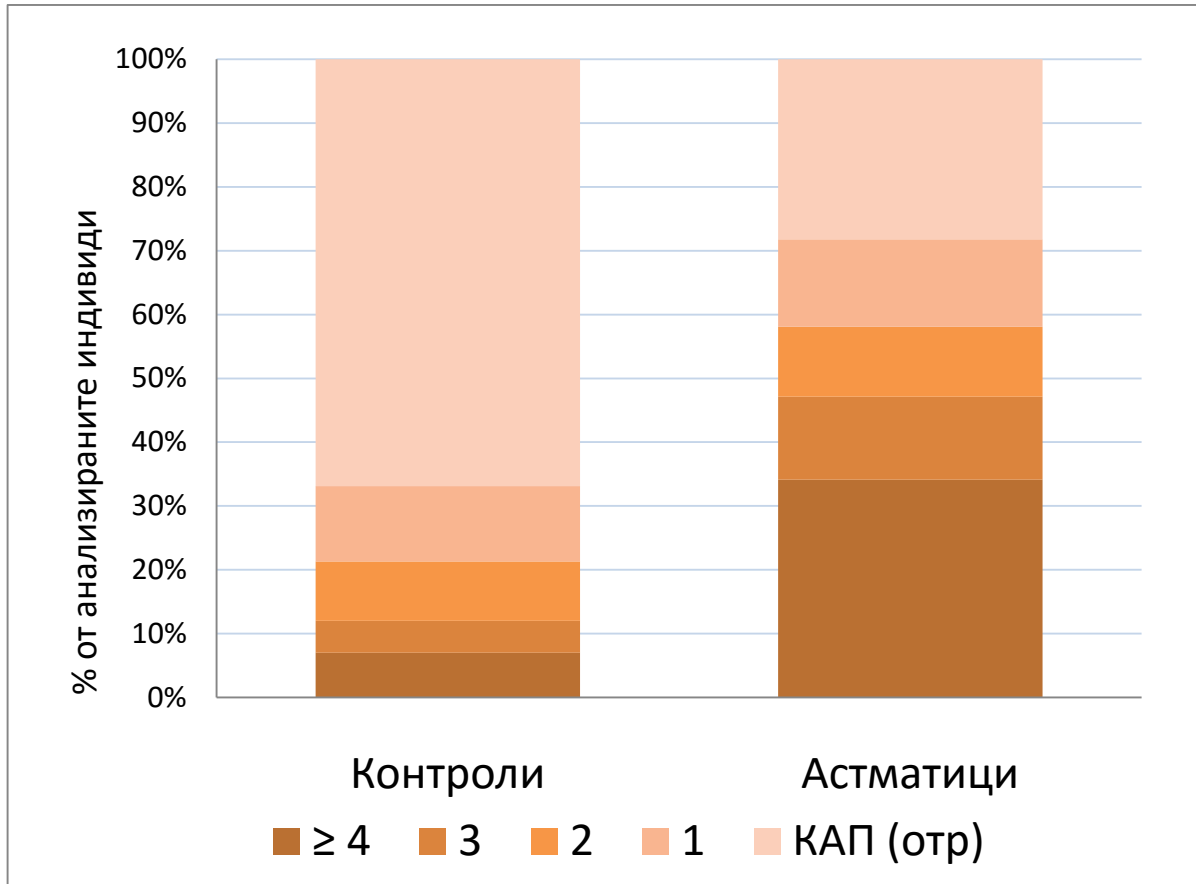


Фиг.9 Графика, представяща съответната част от астматиците и контролите, които не са реагирали на провокация с метохолин.

## 2.2. Алергенна сенсibilизация

Алергенната сенсibilизация най-малко към един аеро-алерген от изследваните чрез кожно алергични проби 11 алергена, беше също така по-често наблюдавана в групата на астматиците (71.8% за астматици сравнено с 33.1% за контролите,  $p < 0.001$ ). В допълнение, значимо по-голяма част от индивидите с активна астма са полисенсibilизирани, т.е. имат четири или

повече положителни КАП, сравнени с контролната група (47.4% срещу 20.9%,  $p < 0.001$ ) (Фиг.10)



Фиг.10 Разпределение на степента на сенсбилизация между двете изследвани групи.

### 3. Респираторни симптоми и различни типове кашлица

#### 3.1.Честота на белодробните симптоми

Всички основни симптоми, които са съобщени за последните 12 месеца, са значително по-често проявени в групата на астматиците в сравнение с контролната група. (Табл.3)

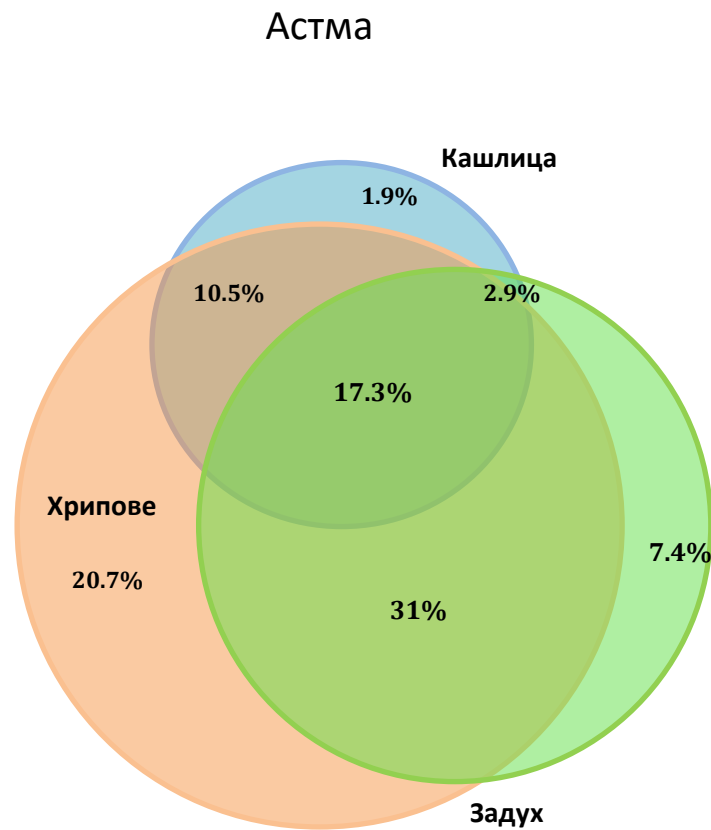
Табл.3 Честота на симптомите, които двете изследвани групи са съобщили.

Симптоми	Астма %	Контроли %	р стойност
Продължителна кашлица	32.5	11.1	<0.001
Сутрешна кашлица	42.5	15.5	
Продуктивна кашлица	36.1	6.8	
Свирене в гърдите (хрипове)	79.4	9.2	
Свирене в гърдите и задух	58.7	1.3	
Задух	36.1	2.5	

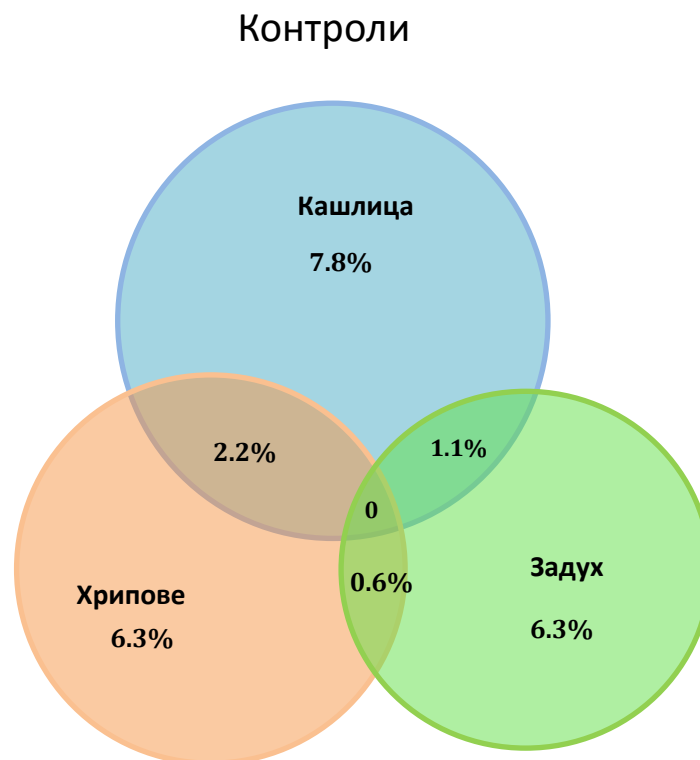
### 3.2.Фенотипи с различно припокриване на симптомите

Най-често съобщаваните симптоми бяха свиркаци хрипове (79.2% vs 9.2%), свирене в гърдите в съчетание със задух (58.7% vs 1.3%), и сутрешна кашлица (42.5% vs 15.5%), а също така продуктивна кашлица (36.1% vs 6.8), задух (36.1% vs 2.5%) и продължителна кашлица (32.5% vs 11.1%), всички разлики са значими с ниво на значимост  $p < 0.001$ . В

допълнение, когато се представи степента на припокриване на някои от основните симптоми, допълнително се подсилва усещането за комплексността на симптоматичната картина при пациентите с астма (фиг.11 и фиг.12).



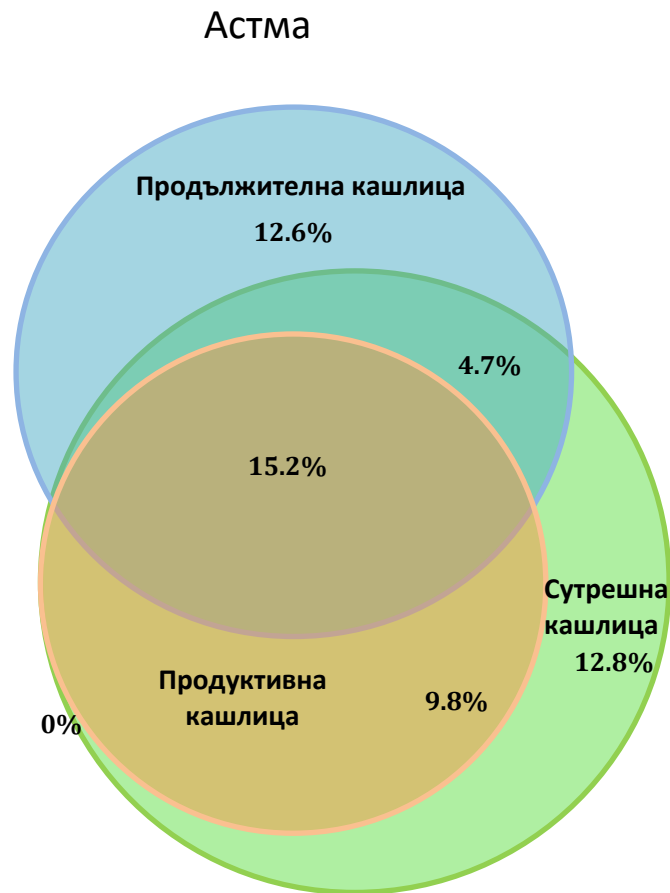
*Фиг. 11 Степен на припокриване (overlap) между отделните симптоми в групата на астматиците с активна астма*



*Фиг.12 Различните симптоми представени в групата на контролите.*

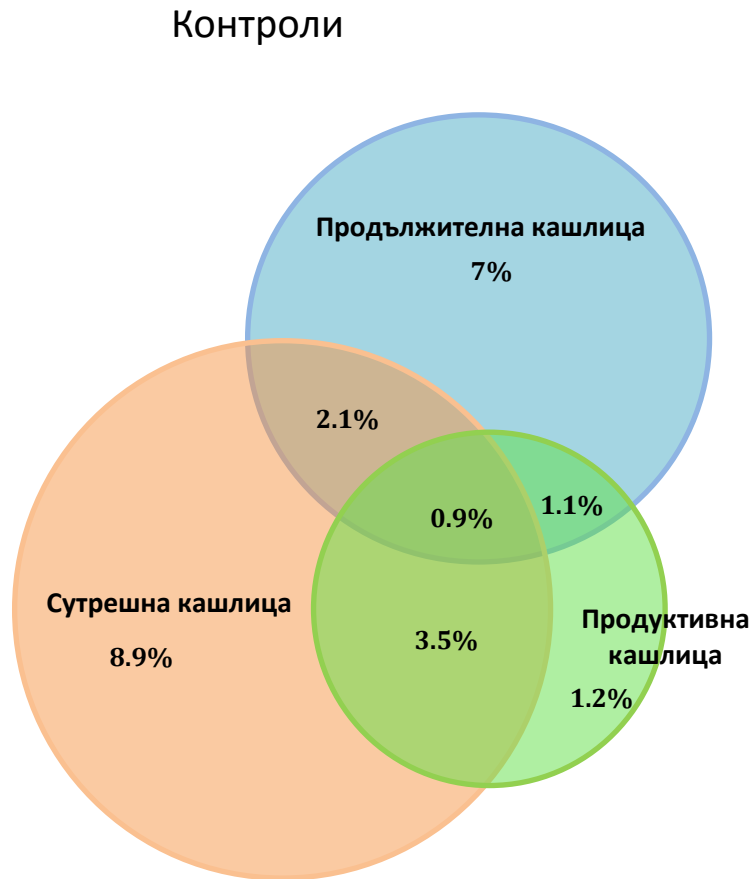
### 3.3.Фенотипи на кашлицата

Интерес представлява Venn-диаграмата, представяща нивото на припокриване на различните видове кашлица. По този начин ясно се илюстрира, че астматиците имат много по-комплексни и многослойни оплаквания и също така, например, съобщават за наличието на продуктивна кашлица винаги в присъствието на продължителна и/или сутрешна кашлица (фиг.13)



*Фиг.13 Степен на припокриване на кашличните симптоми в групата на астматиците с активна астма.*

Контролните индивиди от друга страна, много по-рядко съобщават за кашлични оплаквания и то най-вече под формата на единични симптоми, като само една минимална част (0.9%) съобщават за наличието на сутрешна, продължителна и продуктивна кашлица едновременно (фиг. 14)



*Фиг. 14* Разпределение на кашличните симптоми в групата на контролите.

#### 4. Рискови фактори за частично контролирана и неконтролирана астма

Резултатите от този анализ отграничиха няколко фактора, които са асоциирани с по-ниско ниво на контрол на астмата. Нарастващата възраст

се асоциира както с частично контролирана (OR, 95% доверителен интервал (CI), 1.02 (1.01 – 1.04)), така и с неконтролирана астма (OR 1.04, CI (1.01 – 1.06)). Женският пол също се асоциира значимо както с частично контролирана (OR 1.66, CI (1.12 – 2.48)), така и с неконтролирана астма (OR 2.23, CI (1.24 – 4.01)). Затлъстяването (ИТМ  $\geq$  30) е рисков фактор за неконтролирана астма (OR 2.54, CI (1.46 – 4.45)), но не и за частично контролирана. Изследвайки асоциацията на различните типове кашлица с нивото на контрол на астмата, резултатите показаха, че всички изследвани типове кашлица – продуктивна, сутрешна и продължителна – са свързани с увеличен риск както за частично контролирана, така и неконтролирана астма (Табл. 4).

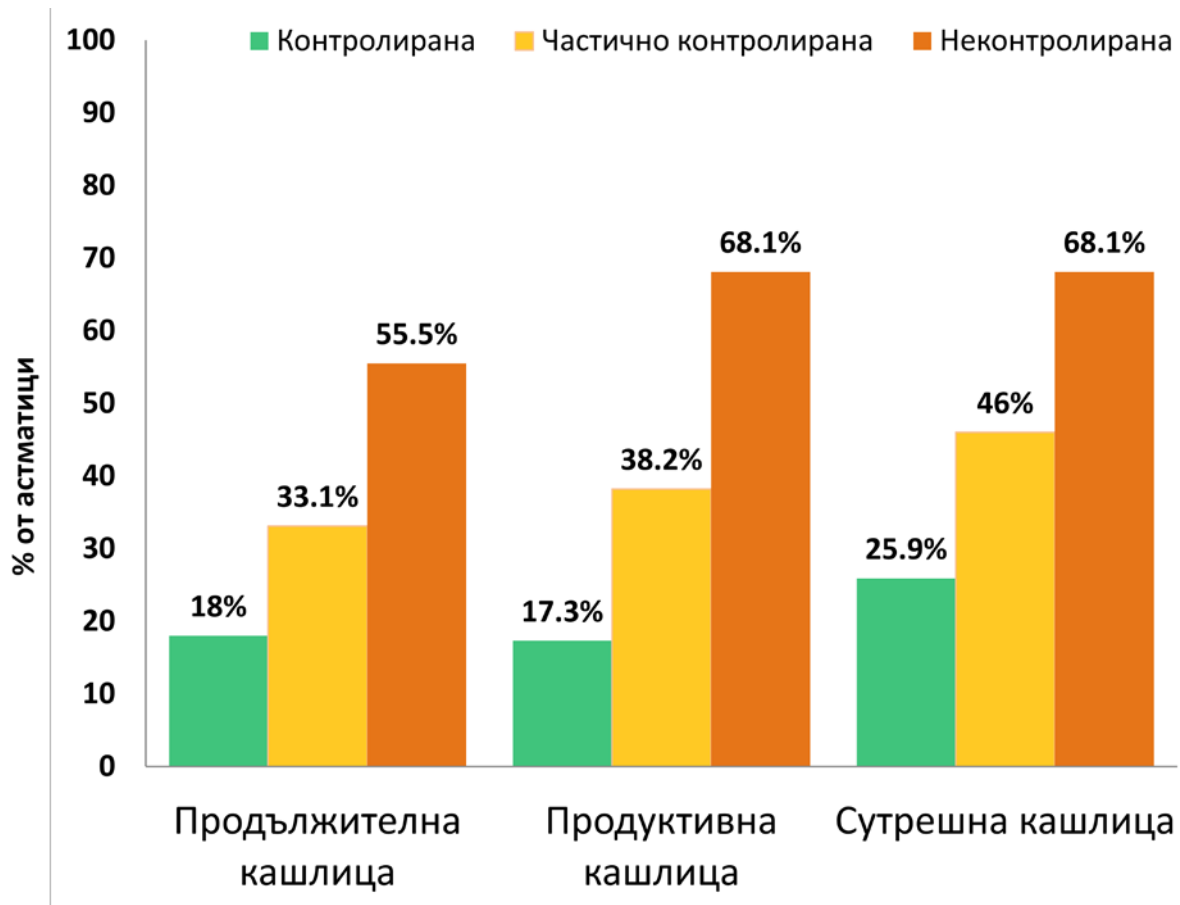
*Табл.4 Рисковите фактори, които са свързани с частично контролирана и неконтролирана астма при мултивариатетния регресионен анализ. Статистически значимите резултати са с по-дебел шрифт*

		Частично контролирана астма OR (95% CI)	Неконтролирана астма OR (95% CI)
Възраст	Нарастваща	<b>1.02 (1.01 – 1.04)</b>	<b>1.04 (1.01 – 1.06)</b>
Пол	Женски	<b>1.66 (1.12 – 2.48)</b>	<b>2.23 (1.24 – 4.01)</b>
Атопия	Да	0.80 (0.51 – 1.25)	0.87 (0.47 – 1.61)

БМИ (кг/м <sup>2</sup> )	Под 20	1.27 (0.44 – 3.60)	1.04 (0.27 – 4.07)
	25-29.9	1.06 (0.68 – 1.66)	1.09 (0.64 – 1.86)
	Над 30	<b>1.21 (0.708 – 2.05)</b>	<b>2.54 (1.46 – 4.45)</b>
Продължителна кашлица	Да	<b>2.26 (1.42 – 3.56)</b>	<b>4.18 (2.33 – 7.50)</b>
Продуктивна кашлица	Да	<b>2.99 (1.89 – 4.74)</b>	<b>6.69 (3.58 – 12.52)</b>
Сутрешна кашлица	Да	<b>2.08 (1.38 – 3.12)</b>	<b>4.68 (2.64 – 8.31)</b>

#### 5. Честота на кашлицата сред астматици с различно ниво на контрол на астмата

С влошаването на контрола на астмата, честотата на различните типове кашлица се увеличава значително. В групата на частично контролираната астма, 33.1% съобщават за наличието на продължителна кашлица, 38.2% за продуктивна кашлица и 46% за сутрешна кашлица. За индивидите с неконтролирана астма тази честота е още по-значима, съответно 55.5% съобщават за продължителна кашлица, 68.1% за продуктивна и 68.1% се оплакват от сутрешна кашлица (фиг.15)



Фиг. 15 Пропорция от астматиците с контролирана, частично контролирана и неконтролирана астма, които съобщават за различните типове кашлица.

## Резултати, свързани със задача №2

### 1. Дефиниция и честота на избраните параметри за тежестта на астмата.

Начинът, по който са дефинирани отделните параметри и съответните фенотипи, е описан подробно в частта „методи“ на настоящия труд. Респективната честота на всеки един от избраните признаци за тежест, е представена на табл. 5

Табл.5 Дефиниция и честота на всеки един от избраните параметри за тежест на астмата.

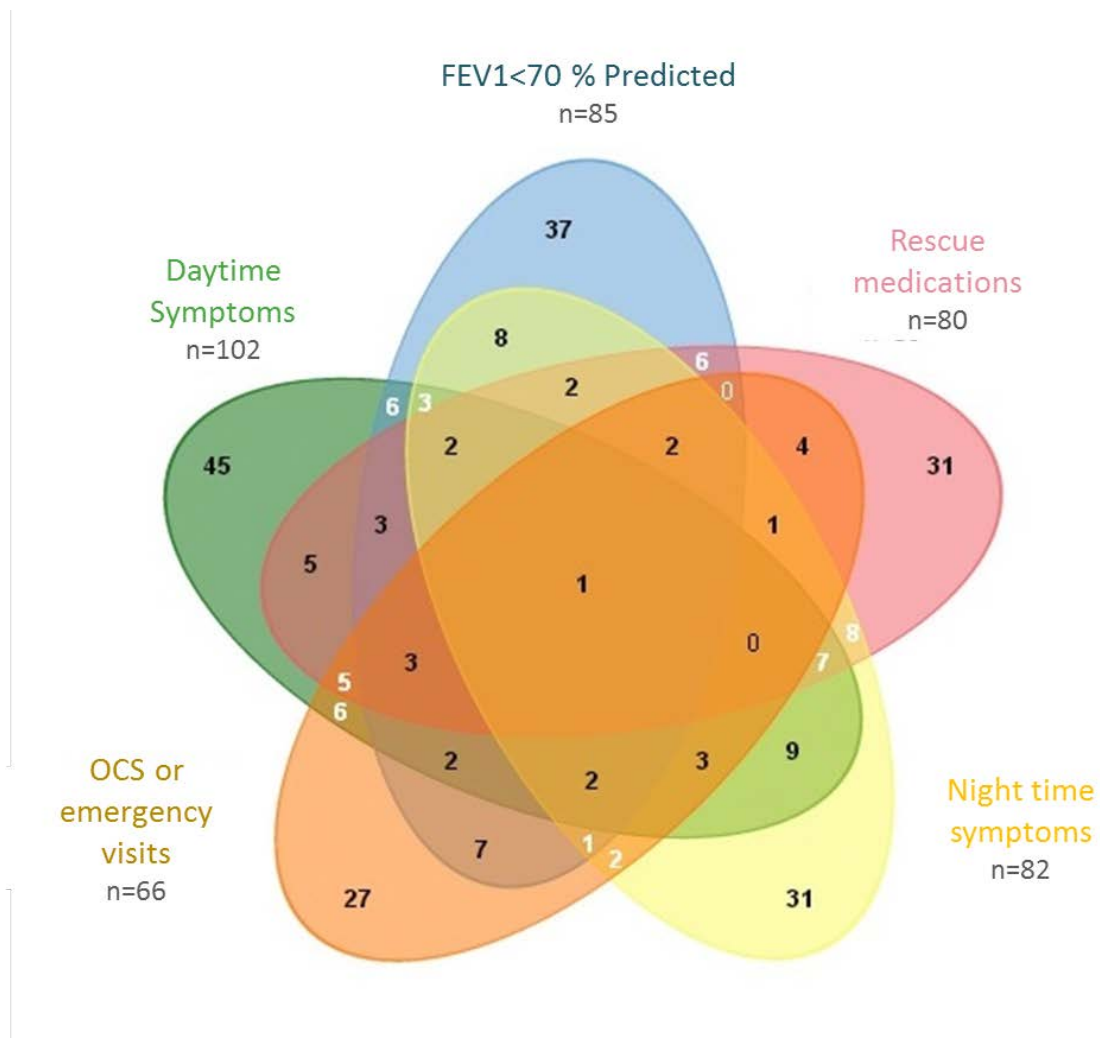
Параметри на тежестта на астмата	Брой (% от астматиците, n=744)
Множество симптоми през деня (четири или повече симптоми, налични на фона на противоастматична терапия)	102 (13.7%)
ФЕО 1 под 70% от предвидената стойност	85 (11.4%)
Многократно ежедневно или почти ежедневно използване на SABA	80 (10.8%)
Нощни симптоми най-малко една нощ или повечето нощи от седмицата	82 (11.0%)
Хоспитализация или посещение на спешен център заради респираторни проблеми, използване на перорални кортикостероиди регулярно или по време на екзацербация	66 (8.9%)

От всички анализирани индивиди с активна астма (общ брой 744), множество симптоми през деня бяха съобщени от 102 индивиди (13.7%), а нощни симптоми най-малко един път в седмицата са съобщили 82 (11.0%) от астматиците. Намалена белодробна функция, която съответства на ФЕО1 под 70% от предвидената стойност, се открива в 11.4%, а 10.8% от

астматиците използват бързо действащи бета-миметици ежедневно или почти ежедневно. Екзацербации на астмата, дефинирани като нужда от спешна помощ поради белодробни оплаквания и/или използване на орални кортикостероиди, бяха съобщени от 8.9% от астматиците.

## 2. Описание на астматичните фенотипи с различна тежест

Индивидите с активна астма бяха разделени на три групи с различна степен на тежест, която е определена от различната степен на припокриване на избраните пет параметри (фиг. 16).



*Фиг. 16 Venn-диаграма, която показва съответната част от астматиците, които се характеризират само с отделни параметри на тежест, както и тези, при които специфичният фенотип се формира от различната степен на припокриване на всеки от параметрите.*

## 2.1. Честота на фенотипните белези за астматична тежест

Резултатите от това проучване показват, че 23% от астматиците се характеризират с един от избраните параметри на тежест („астма с един параметър на тежест“, “one severity sign”), като в същото време 13.2% имат два или повече от тези параметри („астма с най-малко два параметъра на тежест“, “at least two severity signs”). Като цяло, 36.2% (общ брой 269) от астматиците са съобщили за поне един от изследваните параметри на тежест на астмата (“any severity sign”). Третата изследвана група се състои от астматици, които не притежават никой от избраните признаци на тежест и те, в съответствие, са описани като такива с „нетежка“ астма (475 астматици).

## 2.2. Общи характеристики

И трите астматични групи, независимо от степента на тежест на астмата, са сравнени със същата контролна група от индивиди без респираторни заболявания, използвана за цел 1. Общите характеристики на тези групи индивиди са описани в табл. 6

Табл.6 Описание на трите астматични групи и контролната група по отношение на възраст, пол, индекс на телесна маса и тютюнопушене. NS- без статистически значима разлика

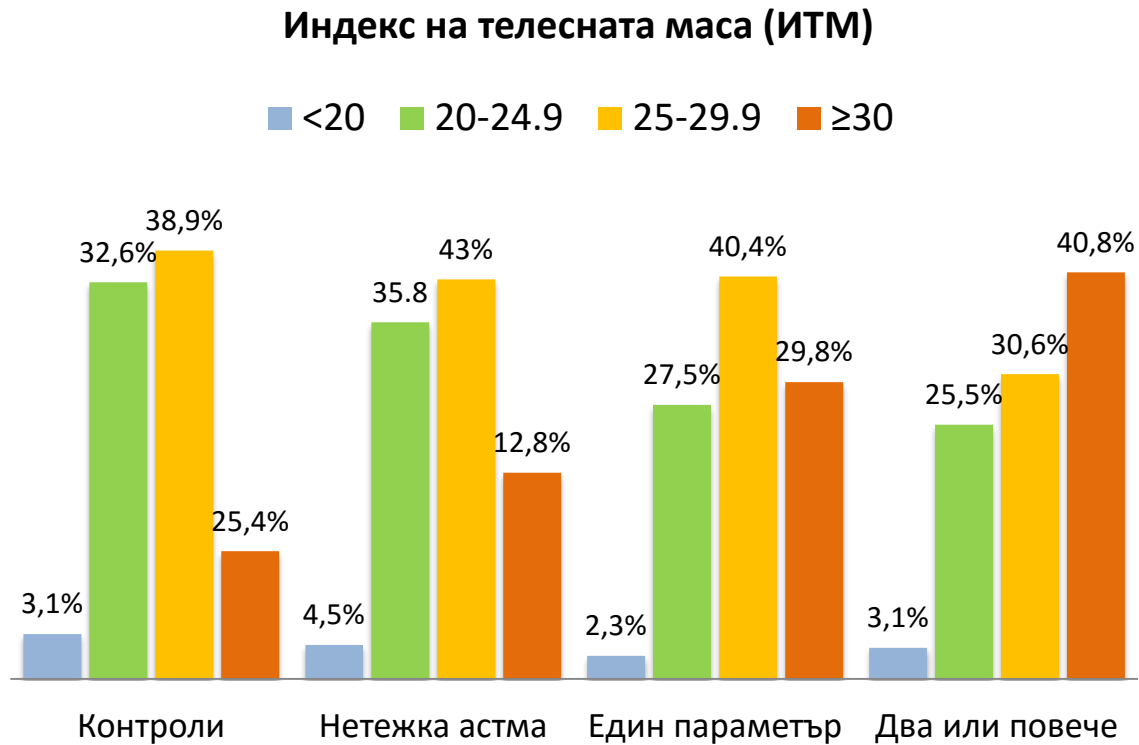
	Контроли	Нетезка астма	Астма с един параметър	Астма с два или повече параметри	Р- стойност астма	Р- стойност астма/ контрол и
Възраст	49.9 ± 15.5	44.9 ± 15.1	50.9 ± 15.1	54.6 ± 14.9	<0.001	0.002
Пол (женски)(%)	53.2	60.2	63.2	67.3	NS	<0.001
ИТМ (кг/м2) (%)						
<20	4.5	3.4	2.3	3.1		
20-24.9	39.7	35.8	27.5	25.5	<0.001	<0.001
25-29.9	43.0	40.1	40.4	30.6		
≥30	12.8	20.7	29.8	40.8		
Тютюнопушене (%)						
Непушачи	54.1	56.5	48.5	36.7	<0.05	NS
Бивши пушачи	35.4	34.0	34.5	41.8		
пушачи	10.5	9.5	17.0	21.5		

### 2.2.1. Разпределение по възраст и пол

Измежду трите групи индивиди с астма, тези с най-висока степен на тежест се характеризират с по-голяма възраст (средна възраст  $54.6 \pm 14.9$ ), сравнени с тези с един белег на тежест ( $50.9 \pm 15.1$ ) и с нетежка астма ( $44.9 \pm 15.1$ ),  $p < 0.001$ . Също така астматиците, независимо от тежестта на астмата, се различаваха значимо по възраст от контролната група ( $49.9 \pm 15.5$ ), ( $p = 0.001$ ). Женският пол бе по-често срещан при астматиците, отколкото при контролите, но без разлика между отделните астматични групи.

#### 2.2.2. Телесна маса

Обезитетът е значително по-често асоцииран с по-тежка степен на астма, като 40.8%, 29.8%, 20.7% и 12.8% се характеризират с ИТМ над 30 съответно за астматиците с намаляваща степен на тежест на астмата и за респираторно здравите индивиди ( $p < 0.001$ ) (фиг.17).



*Фиг.17 Разпределение на ИТМ сред анализирани групи астматици и респираторно-здрави контроли. Индивидите с най-тежък астматичен фенотип значително по-често се характеризират със затлъстяване*

### 2.2.3. Тютюнопушене

Отделните групи астматици се различават значимо и по отношение на тютюнопушенето – честотата на тютюнопушенето за астматиците с намаляваща степен на тежест на астмата, е съответно 21.5%, 17% и 9.5% ( $p < 0.05$ ). Статистически значима разлика по този параметър не беше открита между контролите и астматиците.

### 2.3. Белодробна функция

Основните белодробни параметри са представени на табл. 7

Табл. 7 Характеристика на белодробните функции на астматичните групи с нарастваща тежест и на контролната група. Включените в анализа параметри са форсиран витален капацитет (ФВК), фракция на издишания азотен оксид (FENO), коефициент ФЕО1/ФВК < 0.70, както и бронхиална реактивност към метахолин. NS - без статистическа значимост

	Контроли	Нетежка астма	Астма с един параметър	Астма с два или повече параметри	Р- стойност астма	Р- стойност астма/ контроли
ФВК (в литри)	4.34 ± 1.08	4.35 ± 1.08	3.86 ± 1.11	3.36 ± 1.21	<0.001	<0.001
FENO (ppb)	19.0 ± 11.0	26.4 ± 21.4	27.1 ± 24.6	28.6 ± 26.9	NS	<0.001
ФЕО1/ФВК < 0.70 (%)	4.0	6.4	25.7	32.0	<0.001	<0.001
Бронхиална хиперреактивност (%)	32.0	67.9	77.6	88.2	NS	<0.001

### 2.3.1. ФВК и коефициент ФЕО1/ФВК

ФЕО 1 е параметър, който е включен още при дефинирането на отделните характеристики на тежест на астмата, но сравнението по отношение на ФВК показва значително по-ниски абсолютни стойности в групата с най-тежка астма (3.36 ± 1.21 литри), сравнени с тези с по-малка

степен на тежест ( $3.86 \pm 1.11$  литри) и тези с нетежка астма ( $4.35 \pm 1.08$  литри), както и здравите контроли ( $4.34 \pm 1.08$  литри) ( $p < 0.001$ ). Също така, близо една трета от астматиците с два или повече белега за тежест на астмата (32%) имат патологично съотношение на ФЕО1/ФВК. Индекса на Тифно за групата с един белег на тежест е 25.7%, а от тези с нетежка астма само 6.4% имат това патологично съотношение, като разликите са статистически значими.

### 2.3.2. Бронхиална хиперреактивност

Положителна бронхиалната хиперреактивност (провокационна доза на метахолин 1.96 мг/мл, която води до намаляване на ФЕО1 с 20%) се проявява при 88.2% от астматите с най-тежка астма, но тези резултати не достигат статистическа значимост в сравнение с групата с един белег на тежест и с нетежка астма, съответно 77.6% и 67.9%. Все пак е важно да се отбележи, че провокационни проби с метахолин не са извършени на индивиди с намалена белодробна функция (ФЕО1 под 70% от предвидената стойност), също така и при индивиди с по-голяма възраст от 65 години, а също така и тези, които не са дали съгласието си за извършването на това изследване, а това може да доведе до намаляване на статистическата значимост на този параметър.

### 2.3.3. Фракция на издишан азотен оксид

Фракцията на издишан азотен оксид (FeNO) не се различава значимо между отделните групи астматици, но има значимо по-висока стойност в сравнение с контролните индивиди.

### 2.4. Сенсibiliзация, използване на медикаменти и ниво на контрол.

На табл.8 е показана честотата на сенсibiliзация към 11 изследвани аеро-алергена, нивото на контрол на астмата, определено чрез астма контрол тест (Asthma Control Test - АСТ), както и нивото на утилизация на противоастматични медикаменти.

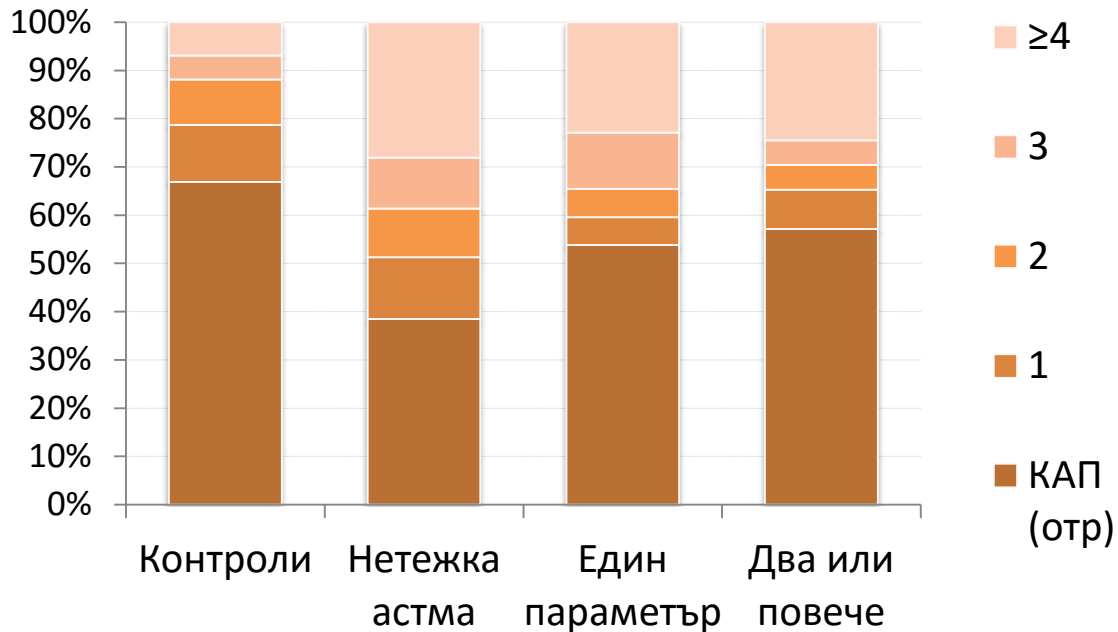
*Табл.8 Разпределение на изследваните групи по отношение на алергенна сенсibiliзация, употреба на медикаменти и ниво на контрол на астмата. КАП – кожно-алергични проби, ИКС – инхалаторни кортикостероиди, ДДБА – дълго действащи бета-2 агонисти, АСТ – астма контрол тест, N/A – неприложимо, NS – без статистическа значимост*

	Контроли	Нетежка астма	Астма с един параметър	Астма с два или повече параметри	Р- стойност астма	Р- стойност астма/ контроли
Положителни КАП						
0	66.9	38.5	53.8	57.1		
1	11.8	12.8	5.8	8.2	NS	<0.001
2	9.4	10.1	5.8	5.1		
3	5.0	10.5	11.7	5.1		
≥4	6.9	28.1	22.9	24.5		
ИКС / ИКС +ДДБА (%)	N/A	53.1	70.2	79.6	<0.001	N/A
”Добре контролирана” АСТ≥20 (%)	N/A	84.4	65.4	28.8	<0.001	N/A

#### 2.4.1. Алергенна сенсibilизация

Разликата в сенсibilизацията към аеро-алергени не достига статистическа значимост, но въпреки това се забелязва тенденция, за това астматиците с нетежка астма да са по-често сенсibilизирани от индивидите с по-тежка астма. Значително по-малка пропорция от контролните индивиди са сенсibilизирани към множество алергени в сравнение с астматиците (фиг 18).

Фиг.18 Сенсibiliзация към моно- или поли- алергени в астматичните групи с различна степен на тежест и контролните индивиди.

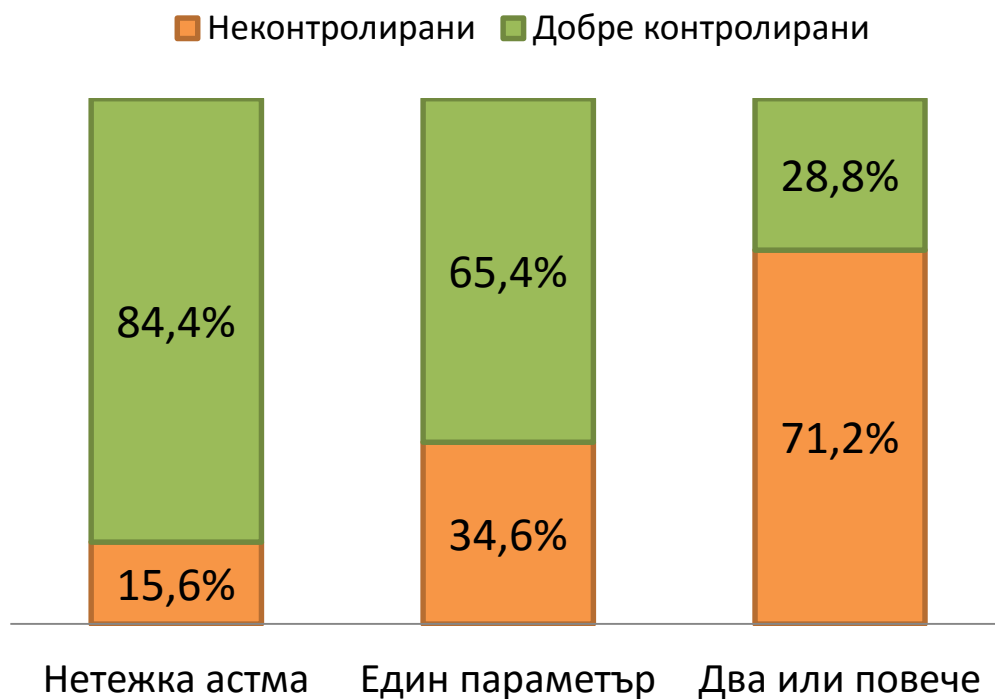


#### 2.4.2. Противоастматични медикаменти

Инхалаторните кортикостероиди, било като монотерапия или в комбинация с дълго действащ бета-2 агонист, са използвани от 79.6% от астматичните с два или повече белега на тежест на астмата, което е значимо повече от нивото на употреба на тези медикаменти от групата на астматици с нетезжка астма (53.1%,  $p < 0.001$ ), но не се различава статистически значимо от това на астматиците с един параметър на тежест (70.2%,  $p = 0.09$ ).

### 2.4.3. Ниво на астматичен контрол

Нивото на контрол на астмата е определено от резултатите от Астма Контрол Теста (Asthma Control Test - АСТ). Само 28.8% от индивидите в групата с два или повече белега на тежест, са добре контролирани, мярка за което е резултат от АСТ по-висок от 19. Тези резултати са статистически значимо по-ниски от тези на астматиците с един белег на тежест, от които 65.4% са с добро ниво на контрол, както и с тези с нетежка астма, при които 84.4% са добре контролирани ( $p < 0.001$ ) (фиг. 19)



Фиг 19. Съотношение между неконтролирани и добре контролирани индивиди в трите групи с астма с нарастваща степен на тежест.

### 2.5. Фактори, асоциирани с тежестта на астмата

### 2.5.1. Бивариатетен анализ

По-тежката степен на астма се асоциира с редица рискови фактори, описани на табл. 9

*Табл.9 Рискови фактори, свързани с по-тежко проявление на астмата. Статистически значимите фактори са отразени със задебелен шрифт в таблицата.*

Рискови фактори	Астма с най-малко един параметър на тежест	Астма с два или повече параметри на тежест
	OR (CI)	
Възраст	<b>1.03 (1.02 – 1.04)</b>	<b>1.04 (1.02 – 1.05)</b>
Пол (женски)	1.13 (0.79 – 1.63)	1.36 (0.86 – 2.06)
Тютюнопушене	<b>2.07 (1.22 – 3.51)</b>	<b>3.46 (1.85 – 6.46)</b>
ИТМ > 30	<b>1.63 (1.10 – 2.42)</b>	<b>2.65 (1.67 – 4.19)</b>
Назална обструкция	0.96 (0.66 – 1.40)	<b>1.58 (1.02 – 2.47)</b>
Атопия	0.68 (0.45 – 1.06)	0.69 (0.39 – 1.22)
Продължителна кашлица	<b>1.48 (1.02 – 2.15)</b>	<b>3.51 (2.24 – 5.48)</b>
Сутрешна кашлица	<b>1.81 (1.27 – 2.57)</b>	<b>3.29 (2.09 – 5.18)</b>
Продуктивна кашлица	<b>2.66 (1.84 – 3.82)</b>	<b>6.38 (3.97 – 10.24)</b>

При бивариатетния анализ, възрастта е рисков фактор за всяко от двете нива на тежест на астмата. Тютюнопушенето е фактор, свързан с астма с по-ниска степен на тежест (OR 2.07 (95% CI 1.22–3.51)), но тази асоциация е даже и по-изразена с астмата, характеризирана най-малко с два белега на тежест (OR 3.46 (95% CI 1.85–6.46)). Затлъстяването е друг рисков фактор, който е асоцииран и с двете степени на тежест на астмата (OR 1.63 (95% CI 1.10 – 2.42)), за астмата с един параметър на тежест и за тази с два или повече параметри (OR 2.65 (95% CI 1.67 – 4.19)). Назалната обструкция е значимо асоцииран фактор само за астма с два или повече параметри на тежест (OR 1.58 (95% CI 1.02 – 2.47)). Независимо, че не е достигната статистическа значимост при анализа на атопията, се забелязва тенденция за това, че алергенната сенсibiliзация не е фактор, който допринася за по-тежките прояви на астмата. Обратно на това, различните подтипове на кашлица имат изразено влияние върху степента на тежест на астмата. Така за астмата с един белег на тежест, продължителната кашлицата (OR 1.48 (95% CI 1.02 – 2.15)), сутрешната кашлица (OR 1.81 (95% CI 1.27 – 2.57) и продуктивната кашлица (OR 2.66 (95% CI 1.84 – 3.82)) са фактори, които показват значима асоциация с това ниво на астматична тежест. Още по-изразено това влияние се забелязва и за най-високата степен на тежест на астмата, характеризираща се с най-малко два

белега на тежест, съответно за продължителна кашлица (OR 3.51, 95% CI 2.24 – 5.48), сутрешна кашлица (OR 3.29, 95% CI 2.09 – 5.18) и продуктивна кашлица (OR 6.38, 95% CI 3.97 – 10.24).

### 2.5.2. Мултивариатетен анализ

При мултивариатетния анализ, по-голямата възраст, както и продуктивната кашлица са факторите, които са свързани с астма с поне един белег на тежест. За астмата с два или повече фенотипни белега на тежест, асоцираните фактори, които имат статистическа значимост, са възраст, тютюнопушене, обезитет и продуктивна кашлица. (табл.10)

*Табл. 10 Рискови фактори, асоциирани с по-голяма тежест на астмата при мултивариатетния анализ. Статистически значимите фактори са означени със задебелен шрифт. OR (95% CI) – относителен риск и 95% доверителен интервал.*

Рискови фактори	Астма	Астма
	с най-малко един параметър на тежест	с два или повече параметри на тежест
	OR (95% CI)	
Възраст	<b>1.02 (1.01 – 1.04)</b>	<b>1.03 (1.02 – 1.05)</b>
Тютюнопушене	1.57 (0.90 – 2.74)	<b>2.21 (1.11 – 4.40)</b>
ИТМ > 30	1.47 (0.97 – 2.21)	<b>2.13 (1.28 – 3.57)</b>
Назална обструкция	0.88 (0.59 – 1.31)	1.31 (0.80 – 2.16)
Продуктивна кашлица	<b>2.22 (1.50 – 3.26)</b>	<b>4.60 (2.29 – 7.58)</b>

## Резултати, свързани със задача №3

### 1. Базови характеристики на пациентите

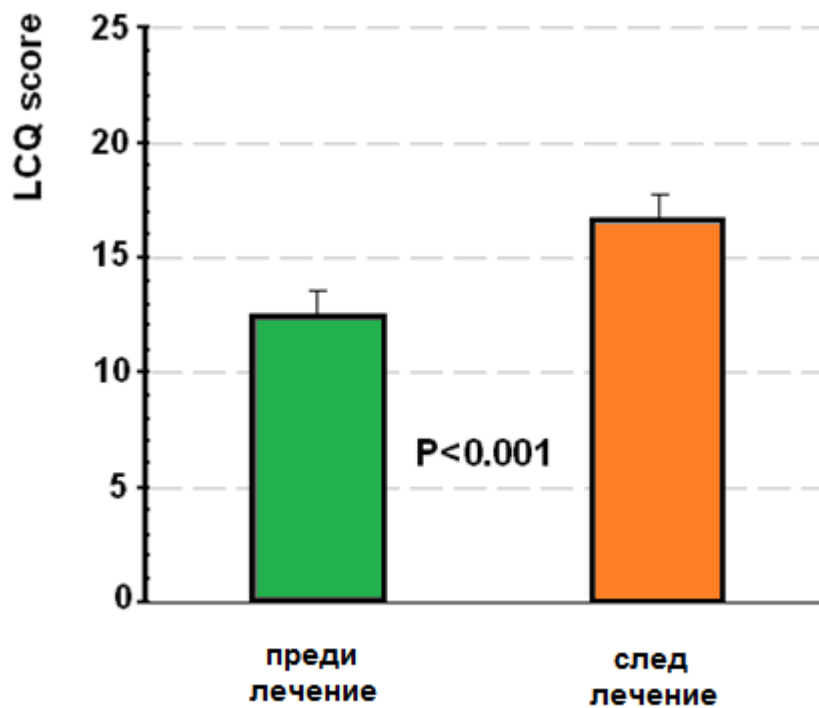
Базовите характеристики на пациентите, както и белодробните параметри, алергенната сенсибилизация и продължителността на кашлицата, са представени на Табл. 11

*Табл.11 Основни характеристики на изследваната кохорта от пациенти, измерени при първата визита*

Базови характеристики на пациентите	
Възраст (средна, стандартно отклонение)	43 ± 17
Женски пол [брой (%)]	9 (64)
Сенсибилизация към алергени [брой (%)]	3 (14)
Общи ИгЕ [IU/mL] (медиана, обхват)	69.9, 28.2 ÷ 96.6
Ринитни симптоми [брой (%)]	12 (86)
Продължителност на кашлицата в седмици (медиана, обхват)	27, 8 ÷ 72
ФВК % предвидена стойност (средна, стандартно отклонение)	110.6 ± 19.9
ФЕО1 % предвидена стойност (средна, стандартно отклонение)	111.2 ± 19.2
Начална ТИВ (средна, стандартно отклонение)	34.46 ± 0.54

## 2. Резултати от въпросника за кашлица (LCQ)

Субективните ефекти на лечението с монтелукаст бяха определени с помощта на верифициран на български въпросник за кашлица - Leicester Cough Questionnaire (LCQ), като резултатите от него показаха значително подобрение от  $12.4 \pm 3.4$  до  $16.6 \pm 3.1$  (средна стойност и стандартно отклонение,  $p < 0.001$ ) (Фиг.20).



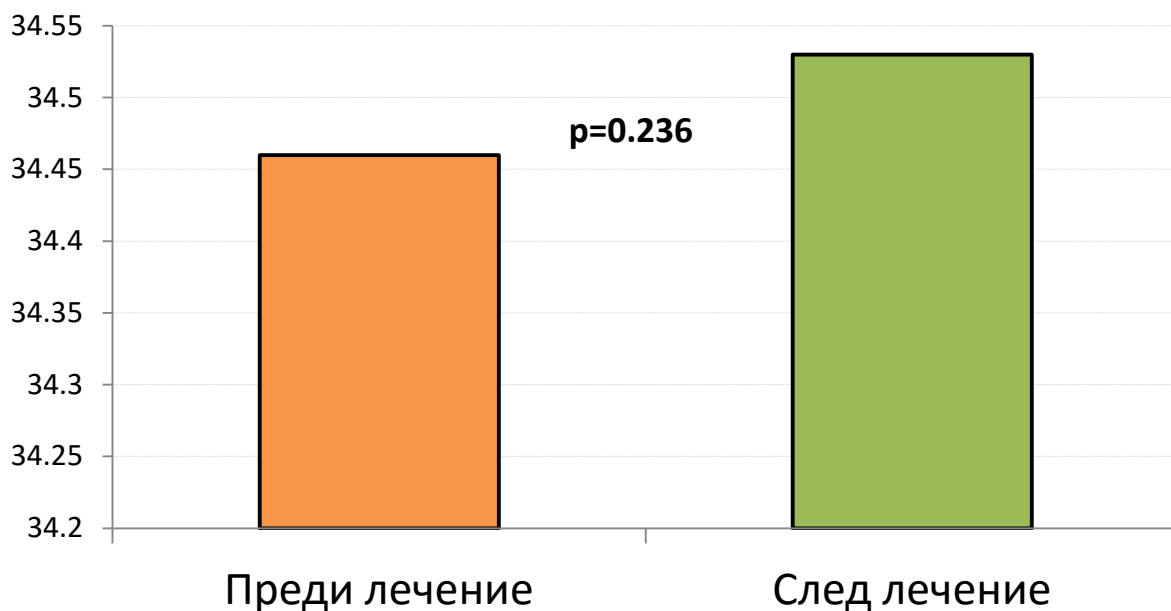
Фиг.20 Среден резултат от въпросника за кашлица (Leicester Cough Questionnaire). По-високите резултати отговарят на по-малко оплаквания от кашлица.

## 3. Белодробна функция и ТИВ

Белодробните параметри (ФЕО1% от предвидена стойност и ФВК) не се промениха значимо след двуседмичното лечение с монтелукаст.

Температурата на издишания въздух, която беше използвана като параметър, рефлектиращ възпалението на дихателните пътища, също не показва значима промяна ( $34.46 \pm 0.14$  vs.  $34.53 \pm 0.12$ ), резултат, който може да бъде обяснен с това, че нито един от пациентите нямаше значимо ангажиране на долните дихателни пътища, а по-скоро може да се предполага, че кашлицата произхожда от горните отдели на дихателните пътища (фиг 21).

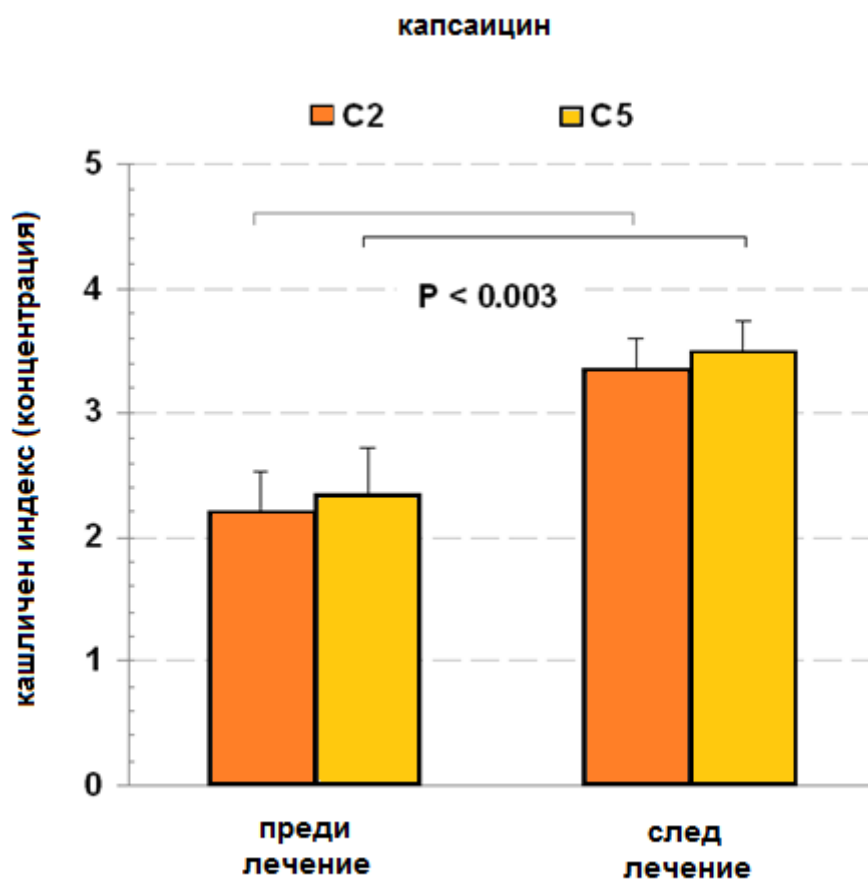
## ТИВ



Фиг. 21 Температура на издишания въздух преди и след лечение. Няма значима промяна между стойностите на температурата преди и след лечение

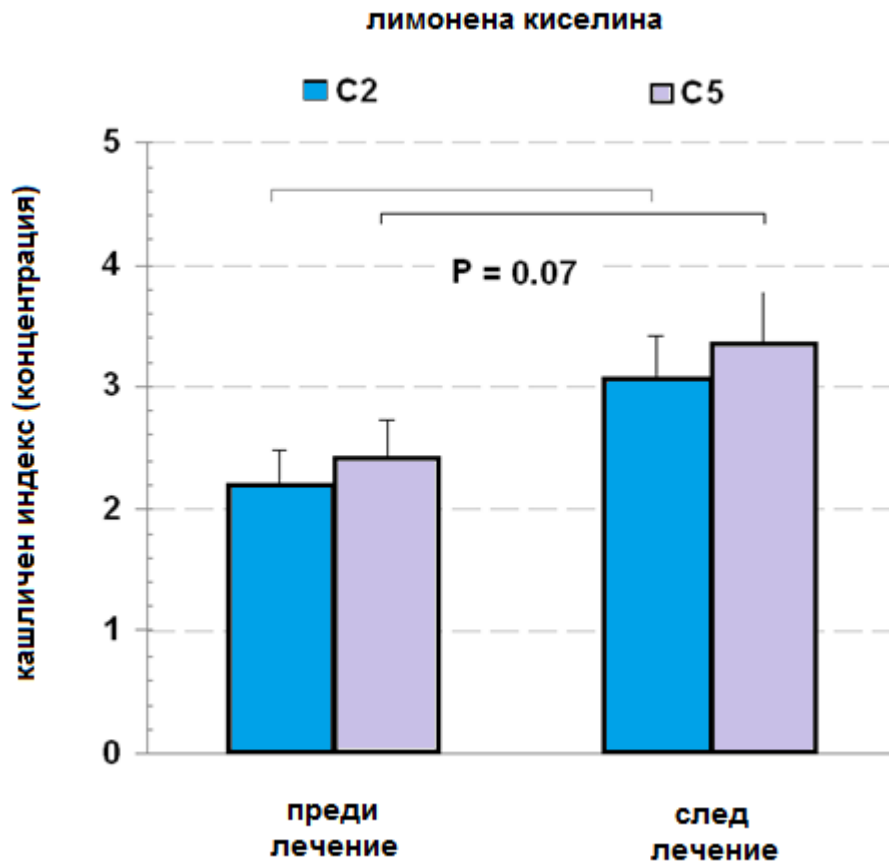
#### 4. Кашличен праг

Обективно, противокашличният ефект на монтелукаст беше отразен чрез значима промяна на кашличния праг към капсаицин, който беше по-значимо изразен за кашличния индекс C5, отколкото за индекса C2 (фиг.22).



Фиг. 22 Кашличният праг към капсаицин нараства значимо след периода на лечение с монтелукаст. C2-концентрацията на капсаицин, която предизвиква две закашляния (лека степен на кашлица), C5 – концентрацията, която предизвиква пет или повече закашляния.

Не бяха достигнати значими разлики в кашличния праг по отношение на лимонената киселина (Фиг. 23).

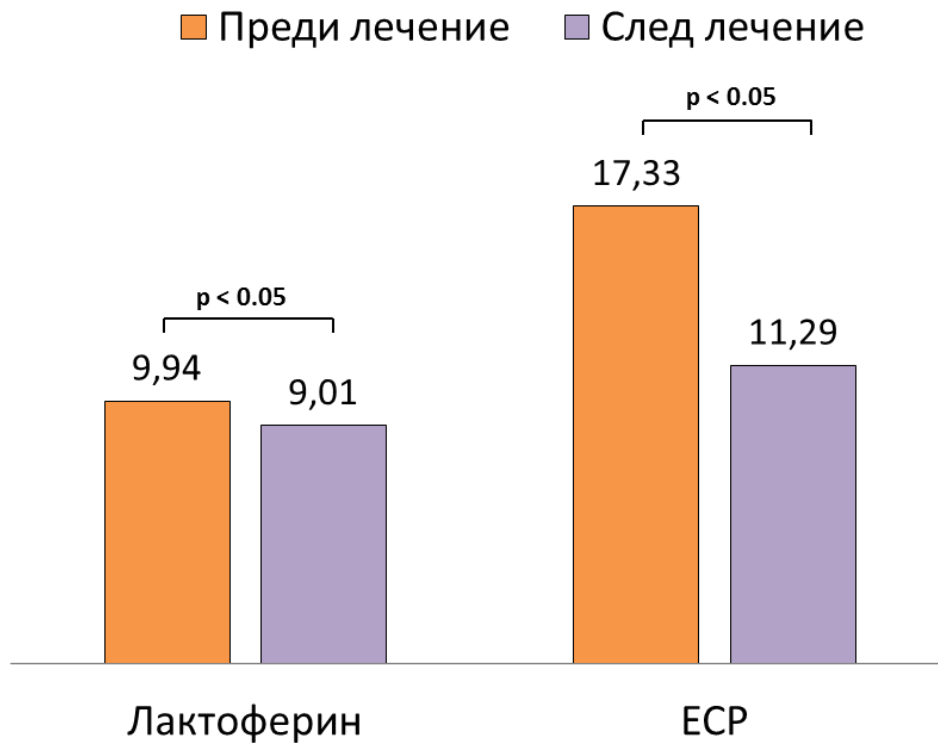


Фиг. 23 Кашличният праг към лимонена киселина нараства след лечението с монтелукаст, но не достига статистическа значимост.

## 5. Възпалителни маркери в кръвта

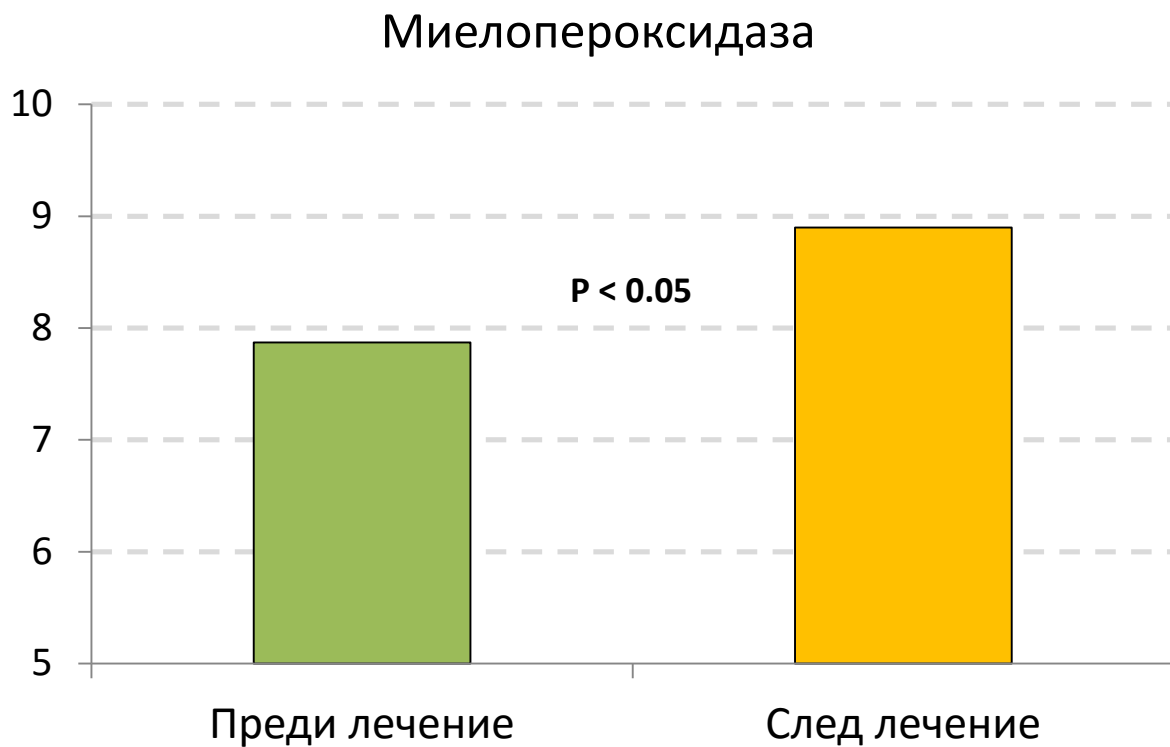
Резултатите от лабораторният анализ на възпалителните маркери показаха намаляване на нивата на лактоферин ( $9.94 \pm 0.46$  vs  $9.01 \pm 0.49$ ,

$p < 0.05$ ) и на еозинофил-катионен протеин ЕСР ( $17.33 \pm 2.91$  vs  $11.29 \pm 1.70$ ,  $p < 0.05$ ). (Фиг 24)



Фиг. 24 Значимо намаляване на нивата на лактоферин и еозинофилен катионен протеин (ЕСР) след лечение с монтелукаст

Интересно е, че нивата на миелопероксидаза (МРО) бяха значително увеличени след лечението ( $7.87 \pm 0.46$  vs.  $8.90 \pm 0.50$ ,  $p < 0.05$ ). (фиг.25)



Фиг.25 Стойности на миелопероксидаза преди и след лечение.

Останалите възпалителни маркери, които бяха измерени, като високо-реактивен С-реактивен протеин и нивото на еозинофили в кръвта, не показаха промяна, достигаща статистическа значимост.

#### **Резултати, свързани със задача №4**

В раздела „методи“ е представен схематично дизайна на проучването, а за целта на настоящата дисертация резултати ще бъдат

концентрирани основно върху промяната на температурата на издишания въздух.

## 1. Описание на изследваната популация

Всички изследвани пациенти бяха сенсibiliзирани към тревни алергени, което бе определено чрез положителна КАП към комбиниран екстракт от 5 тревни алергена (*Anthoxanthum odoratum*, *Dactylis glomerata*, *Lolium perenne*, *Phleum pratense*, and *Poa pratensis*; Stallergenes, Antony, France) и също така имаха анамнеза за клинични симптоми на алергичен риноконюнктивит. Една трета от пациентите и в двете групи имаха лека и добре контролирана астма. Средна и тежка астма, симптоми или изразена сенсibiliзация към друг тип алергени, хронични, малигнени и автоимунни заболявания, употреба на бета-блокери, както и бременност и лактация, бяха изключващи фактори за проучването. Базовите характеристики на изследваните популации, са представени на табл. 12

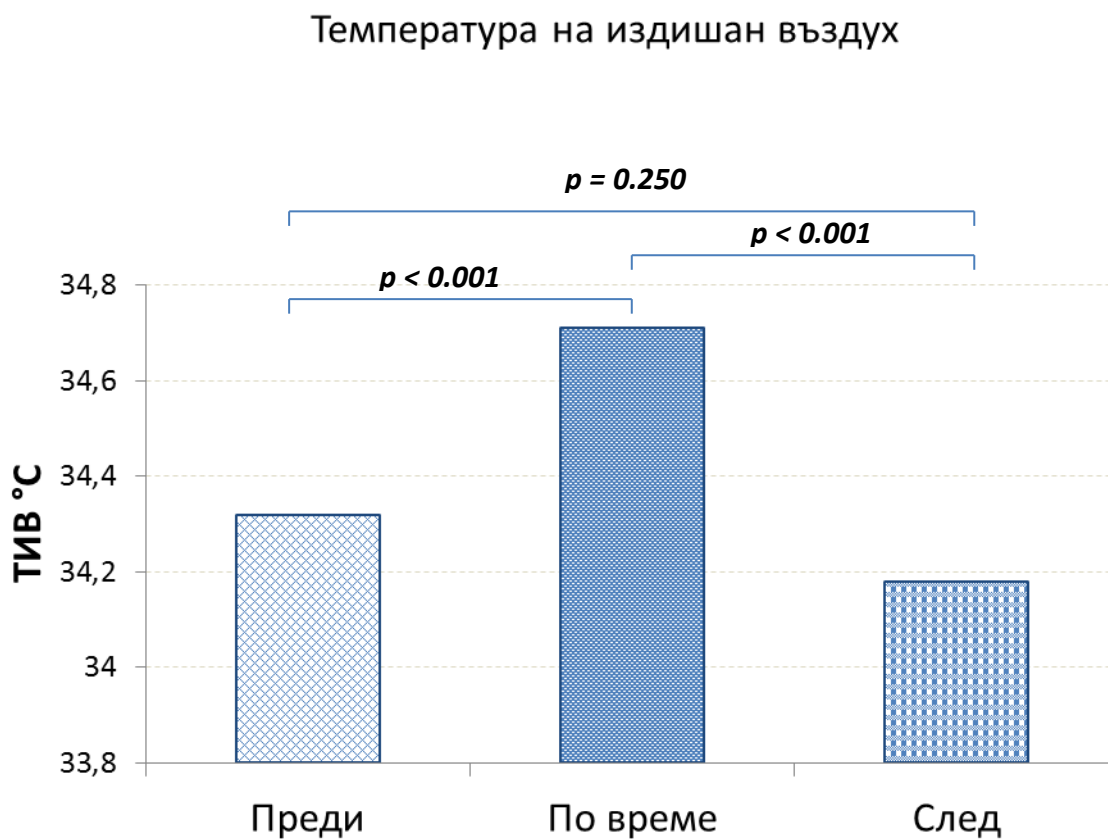
*Табл. 12 Основни характеристики на изследваните популации в началната визита на проучването, преди началото на поленовия сезон.*

Характеристики на пациентите преди поленовия сезон	Групи пациенти	
	SLIT	Плацебо
Първоначален брой	28	28
Мъже/жени	15/13	18/10
Възраст, (средна, стандартно отклонение)	30.3 ± 12.6	30.0 ± 12.5
Алергичен ринит, [брой (%)]	28 (100)	28 (100)
Алергичен конюнктивит, [брой (%)]	28 (100)	28 (100)
Астма, [брой (%)]	10 (36)	10 (36)
Атопичен дерматит, [брой (%)]	10 (36)	7 (25)
Орален алергичен симптом, [брой (%)]	9 (16)	6 (10)
Продължителност на заболяването (год), (средна, стандартно отклонение)	14.2 ± 11.4	10.8 ± 5.2
Пушачи/непушачи/бивши пушачи	2/17/9	4/18/6

## 2. Разлика в ТИВ преди, по време и след поленовия сезон

За всички пациенти, независимо от това дали са на активно лечение или плацебо, температурата на издишания въздух се покачи значимо по време на поленовия сезон от  $34.32 \pm 0.08$  до  $34.71 \pm 0.05$  градуса

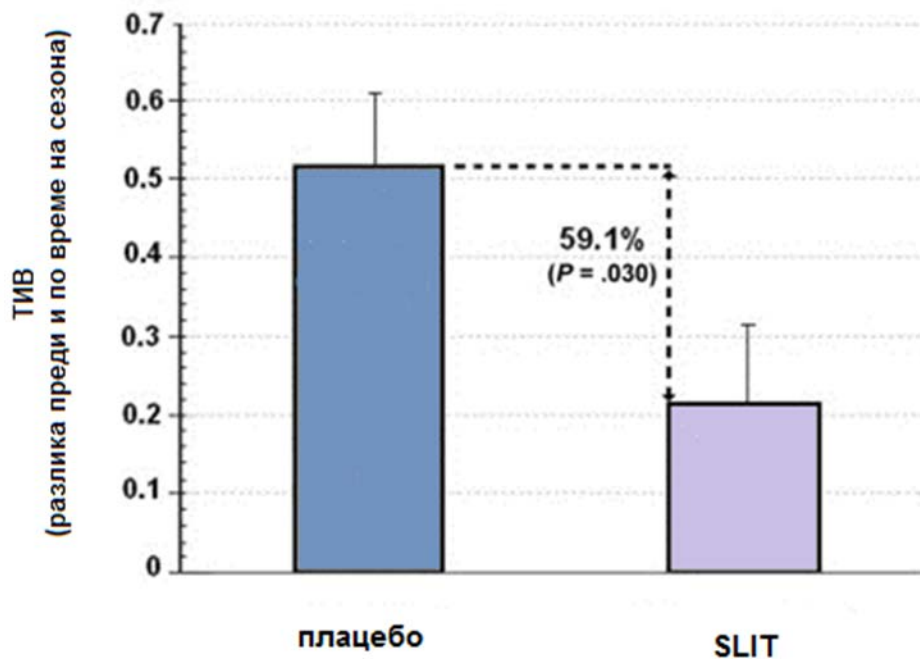
( $p < 0.001$ ). 45 от изследваните пациенти бяха изследвани и на трета визита след поленовия сезон, като тогава, стойностите на ТИВ, които бяха измерени, бяха значимо понижени, в сравнение с тези по време на сезона, но тези стойности не се различаваха статистически значимо от изходните стойности на ТИВ, измерени през първата визита (фиг.26)



*Фиг.26 Промяна на температурата на издишания въздух преди, по време и след поленовия сезон. ТИВ е представена като средна стойност за всички пациенти през трите визити*

### 3. Сравнение между пациентите на активно лечение и на плацебо

Разликата в повишаването температурата на издишания въздух преди и по време на поленовия сезон, беше статистически значима между пациентите на лечение с активна субстанция и тези с плацебо. Така нарастването на ТИВ при плацебо групата беше значително по-изразено от това в групата с активно лечение (фиг. 27)



Фиг.27 Нарастване на ТИВ по време на поленовия сезон в сравнение с първата визита при пациентите на активно лечение и плацебо.

## **ДИСКУСИЯ**

Настоящият дисертационен труд има за задача да изследва значимостта на кашлицата като индикатор за по-голяма степен на тежест на астмата, но също така, да анализира възможните патологични механизми и горещи точки в кашличната патогенеза. Допълнителна задача бе да се събере допълнително количество информация, която да допринесе за по-задълбочено разбиране на значението и приложимостта на един сравнително нов метод да изследване на възпалението по дихателните пътища, а именно чрез изследване на температурата на издишания въздух.

### **1. Кашлицата като индикатор за по-малко контролирана и по-тежка астма**

Хроничната кашлица е основен компонент на бронхо-обструктивните заболявания, като астма и ХОББ, но също така тя може да се разглежда и като важен индикатор и за по-тежка проява на даденото заболяване. Кашлицата е проблематичен симптом, който често продължава да персистира, независимо от адекватното противовъзпалително лечение. В допълнение, има проучвания, които показват, че кашлицата е един от симптомите, който най-значимо се отразява негативно върху качеството на живот на пациентите (307-309) и също така се възприема като един от най-притеснителните симптоми на астмата (310-312). Независимо от това, кашлицата често е пренебрегван симптом на фона на останалите по-

характерни симптоми, най-вероятно поради факта, че липсва достатъчно меродавен и обективен метод за нейното измерване, а също така и заради комплексната ѝ патология (313-317).

В проведените проучвания беше открито, че различните форми на кашлицата са значителни фактори, които допринасят за незадоволителен контрол на астмата (24). Също така, в астматичната кохорта, която анализирахме, независимо от степента на тежест на астмата, продуктивната кашлица бе събщавана винаги в комбинация с продължителна или сутрешна кашлица и тези оплаквания до голяма степен се припокриват както помежду си, така и с другите обструктивни симптоми, като задуха или свиренето в гърдите.

При изследваните рискови фактори за частично контролирана и неконтролирана астма, продуктивната, продължителната и сутрешната кашлица бяха фактори, които значимо допринасят за незадоволителното ниво на контрол в астматичната кохорта. Няколко други проучвания (14, 25, 27, 242, 318, 319) също потвърждават това твърдение и показват, че продуктивната кашлица и съответно придружаващата мукусна хиперсекреция, са свързани със значително по-голям спад в белодробната функция сред пушачи астматици, но също така и с развитието на персистираща белодробна обструкция при непушачи. В заключение може да се каже, че хроничната кашлица, особено когато се съпроводена с

мукусна хиперсекреция (продуктивност), увеличава вероятността за лош контрол на симптомите при пушачи астматици, но също така увеличава риска и за по-чести екзацербации при астматици, които не са пушачи (320, 321).

Резултатите от нашите проучвания показват, че значителна пропорция от астматиците имат незадоволителен контрол на астмата, независимо от високото ниво на използване на противоастматични медикаменти. Около 60% от астматиците имат частично контролирана или неконтролирана астма, а също така близо 20% съобщават за една или повече екзацербации през последната година. Пропорцията на различните типове кашлица се увеличава при астматиците с по-ниско ниво на контрол на бронхиалната астма и в резултат, около 70% от неконтролираните астматици съобщават за сутрешна кашлица и продуктивна кашлица, и 55% за продължителна такава. Тези резултати показват, че честотата на кашлицата може да се използва като маркер за нивото на контрол на астмата, тъй като неконтролираните астматици много по-често съобщават за различни видове кашлица в сравнение с частично контролираните или контролираните.

2. Взаимовръзка на кашлицата с различните степени на тежест на астмата

Тежестта на астмата несъмнено е концепция, която е изключително сложно дефинируема както клинично, така и епидемиологично. Понастоящем има относително малко информация в медицинската литература, за това каква е реалната разпространеност на тежката астма. В документа, предложен от Chung et al, дефиницията на тежката астма е представена от перспективата на невъзможността за достигане на контрол на заболяването, независимо от използването на максимално противоастматично лечение и адекватен контрол на възможните съпътстващи коморбидитети (157, 185). В този документ, авторите изказват предположение, че тежката астма обхваща 5-10% от астматичната популация. Въпреки това, в същия документ допълнително се отбелява, че точната степен на разпространеност на тежката астма все още не е напълно известна, което основно се дължи на факта, че няма ясно приета и уеднаквена дефиниция за това какво точно представлява тежката астма. Трябва да се отбележи, че определянето на истинската разпространеност на дадено заболяване, в това число и тежката астма, може да се постигне изключително чрез осъществяването на епидемиологични проучвания върху случайни популации, а не от клинични кохорти, които са селектирани от болници или специализирани клиники.

За популацията на астматици с различна степен на тежест от настоящото проучване, беше използвана базата данни от голямото

популационно проучване WSAS. В нашето проучване, ние умишлено целяхме да избегнем използването на израза „тежка астма“, който до голяма степен е натоварен с определени пристрастия в медицинските среди, като дефинирахме различните степени на тежест на астмата използвайки пет различни параметъра, които включват множество симптоми през деня и нощта, намалена белодробна функция, често използване на „спасителни“ медикаменти и чести екзацербации. Базирано на комбинацията от тези параметри и различната степен на припокриване помежду им, бяха отграничени няколко астматични фенотипи с различна тежест, които бяха детайлно разгледани и описани по отношение на наличието на коморбидитети и различни фактори, които са асоциирани с по-голяма степен на тежест на астмата.

Като дефинираме по този начин астматичната тежест сред кохортата на астматиците, които изследвахме, ние съобщаваме за много по-висока степен на разпространеност от тази, която е била съобщавана преди това, която достига до 36.2% от изследваните астматици. Нашите резултати показват, че 13.2% от астматичната популация се характеризира с още по-висока степен на астматична тежест, което отговаря на препокриването на поне два от избраните параметри за астматична тежест. Допълнително бе подчертана важността на няколко важни симптома, като продължителна, сутрешна и продуктивна кашлица, за характеризирането на астматичната

тежест, като астматиците с по-голяма тежест на астмата значително по-често се оплакват от подобни кашлични проблеми. Няколко други проучвания също показват връзката на кашлицата с по-тежка степен на астма с персистиращи симптоми, независимо от наличната противовъзпалителна терапия. Това е важно наблюдение, което подчертава комплексността на кашлицата като симптом, но също така предполага наличието на проинфламаторни механизми, различаващи се от тези, които стоят в основата на останалите астматични симптоми, които, за разлика от кашлицата, често могат да бъдат ефективно контролирани с инхалаторни кортикостероиди. В заключение, кашлицата може да се разглежда като важен и информативен маркер за по-тежка степен на астмата.

### 3. Кашлицата, произхождаща както от долни, така и от горни дихателни пътища

Кашлицата е един от кардиналните симптоми при пациенти с ХОББ, но също така и важен симптом при пациентите с астма. Въпреки това, хроничната кашлица не винаги е предизвикана от патологични процеси, локализиращи в интра-торакалната част на дихателните пътища. Освен бронхиалната астма, останалите две най-чести причини за хронична кашлица са т.нар кашличен синдром на горни дихателни пътища "upper airway cough syndrome" (UACS) и гастроезофагеалния рефлукс (ГЕР) (322,

323). Най-честия патологичен механизъм, който предизвиква кашлицата при пациенти с UACS е хиперсекрецията на мукус от носната лигавица и синусите, и последващото стичане на тези секрети назад към фаринкса, като по този начин се дразнят кашличните рецептори, които са локализирани в изобилие в този участък (324). Диагнозата при този тип пациенти до голяма степен се базира на субективните оплаквания на пациентите, като при по-голямата част от пациентите много често не могат да се открият значими белези при клиничния преглед (325). Въпреки, че най-честата етиология, която води до UACS, са различни видове ринит, този обобщаващ синдром няма определени типични диагностични белези, а най-често диагнозата се поставя вследствие на положителен отговор към терапията. Следователно, когато се изключи предполагаема патология от долните дихателни пътища, пробния терапевтичен курс с противовъзпалителни медикаменти, насочени към горните дихателни пътища, би следвало да доведе до положителен клиничен резултат. Такъв бе и случаят с пилотното проучване, което проведохме, в което пациентите имаха хронична кашлица, произхождаща от горните дихателни пътища, а не от долните етажи на бронхиалното дърво. Това беше верифицирано чрез изследване на белодробната функция спирометрично, а също така възпалението в интра-торакалните дихателните пътища беше определено чрез измерване на температурата на издишания въздух. Двуседмичното лечение с монтелукаст доведе до субективно подобрене на кашлицата,

което беше подкрепено и с обективно намаление на хиперреактивността на горните дихателни пътища и редукция на системните възпалителни параметри. В заключение, внимателната и навременна диференциация между „астматична“ и „не-астматична“ кашлица е от изключителна важност за оптималното лечение на този симптом.

#### 4. ТИВ при пациенти с поленоза

През последните години измерването на температурата на издишания въздух набира все повече популярност като метод за откриване и проследяване на различни болестни процеси по дихателните пътища. Основният патофизиологичен принцип, който стои в основата на този метод е вазодилатацията, характерна за възпалителните процеси като цяло, но и в частност – за възпалението на дихателните пътища, типичен белег на бронхиалната астма, но също така и на алергичния ринит (326-328). Улавяйки топлинния сигнал с помощта на високо-чувствителни устройства (303), по бърз и лесен за пациента начин може да се проследи промяната на ТИВ по време на определени болестни състояния или вследствие на лечение. Определено предимство този метод би имал, когато се прилага като индивидуално средство за мониториране на конкретния пациент в продължение на по-дълъг период, като вариабилността на ТИВ във

времето може да се използва като маркер за настъпващо обостряне на болестта или обратно – за добър контрол, в резултат от лечение.

Няколко проучвания вече са показали информативността на ТИВ като маркер за определяне на степента на контрол на астмата, а също и като маркер за ангажирането на дисталните дихателни пътища в болестния процес (63, 138). Резултатите от влюченото в дисертационния труд проучване, в което ТИВ беше изследвана неколнократно при пациенти с поленоза, лекувани със сублингвална алергенна имунотерапия, показват че измерването на ТИВ може да се използва като метод за определяне на индивидуалния отговор към хипосенсибилизиращо лечение. Интересно е да се отбележи, че въпреки че повечето пациенти имаха риносинуситни оплаквания и само малка част от тях имаха известно ангажиране на долните дихателни пътища, всички пациенти имаха повишена ТИВ по време на поленовия сезон. Все пак, това наблюдение не е изненадващо, особено като се има предвид широко разпространената хипотеза за „единни дихателни пътища“ и близката асоциация на долни и горни отдели на дихателната система (328-330). В заключение, измерването на ТИВ има потенциала да се използва като метод за мониториране на ефективността на сублингвалната имунотерапия, като демонстрира предимства пред субективните методи за оценка на лечението.

## **ИЗВОДИ**

1. Кашлицата е симптом, който е сравнително по-чест сред астматици, които са с недобре контролирана и по-тежка астма и може да се използва като клиничен маркер за степента на тежест на заболяването. Кашлицата като симптом трябва да се взема внимателно предвид при детайлното описание на различните астматични фенотипи.
2. Кашлицата може да се счита за симптом, който изисква алтернативен подход на лечение, особено при пациенти, при които адекватното лечение с противовъзпалителни средства води до контрол на останалите астматични симптоми, но не и на кашлицата.
3. Астмата с различна степен на тежест представлява изключително комплексна концепция, което води до големи трудности както в уеднаквяването на дефиницията на тежката астма, така и в избирането на терапевтичен подход в клиничната практика. Когато се разглеждат дадени фенотипи с различна степен на тежест на астмата, би следвало задълбочено да се описват и наличните агравирани фактори, за да може като краен ефект това да доведе до

достигането на индивидуално насочена или т.нар. персонализирана терапия на астмата

4. Кашлицата е изключително важен компонент на астмата и наличието ѝ корелира с астматичната тежест. Въпреки това, не трябва да се забравя, че в някои случаи може да се наблюдава определено преобладаване на „неастматичните“ механизми, предизвикващи кашлица, което допълнително затруднява терапевтичната картина.
5. Кашлицата е симптом с мултифакторна генеза, което изисква значителни усилия за идентифицирането на „астматичните“ и „неастматични“ компоненти. Следователно, различните методи, които биха могли да се използват в диференциалното локализиране на различни възпалителни и/или неврогенни тригери, би било от голямо значение за разширяването на представата за тези препокриващи се астма-кашлица фенотипи.
6. Измерването на температурата на издишания въздух, намира все по-голямо практическо приложение като неинвазивен маркер, както за отдиференцирането на различни болестни състояния, така и за по-

екзактното локализиране на патологичния процес по дихателните пътища, но също така може да се прилага като метод за мониториране на терапевтичната ефективност на определени медикаменти.

## ПРИНОСИ

1. Настоящият дисертационен труд съдържа резултати от едно от най-големите популационни проучвания в Северна Европа и тези резултати се представят за първи път. Детайлно са описани различната степен на разпространение на различните астматични симптоми на популационно ниво, както и връзката им с нивото на контрол на астмата. Допълнително, резултатите, включени в настоящия труд подчертават значението на кашлицата като важен индикатор за незадоволително контролирана и по-тежка астма.
2. В дисертационният труд се включва и концепция за тежестта на бронхиалната астма, която се предлага за първи път. Въз основа на данните от West Sweden Asthma Study, тежестта на астмата се дефинира въз основа на няколко параметри на тежест (severity signs), като в резултат на различната степен на тяхното припокриване, ние съобщаваме за една много по-голяма честота на астматичната тежест, която не е съобщавана досега. Нашите резултати показват, че една трета от пациентите с астма притежават поне един от тези параметри на тежест на астмата.

3. Част от резултатите имат потвърдителен характер и затвърждават концепцията за комплексността на астматичната тежест и за това, че астматични фенотипни белези се припокриват до изключително вариабилна степен, в резултат на което се оформят разнообразни и сложни фенотипни групи. В допълнение, определени фенотипни индикатори на астматичната тежест могат да се открият заедно само в ограничен брой пациенти, докато други, характеризират значителна част от тежките астматици.
  
4. Сред различните фактори, които са свързани с по-голяма астматична тежест, нашите резултати показват, че симптоматичната кашлица (по-често хронична и/или продуктивна), е агравиращ компонент, който значимо допринася за влошаването на астматичния контрол и който е много тясно асоцииран с по-тежките фенотипи на бронхиалната астма.
  
5. Допълнително, в настоящият труд се включва и кохорта от пациенти с хронична кашлица, чиято генеза е основно от горните отдели на дихателните пътища. Ние показахме, че противовъзпалителното лечение с монтелукаст води до задоволителен терапевтичен резултат

и би било резонно такъв тип лечение да се прилага при пациенти с хронична кашлица от този тип.

6. В дисертацията се включват резултати от проучвания, които изследват приложимостта на измерването на температурата на издишан въздух като метод за диагностика и мониториране на лечението при пациенти с поленоза и хронична кашлица, което не е изследвано досега и се докладва за първи път. Потвърждава се тезата, че измерването на ТИВ е чувствителен метод, който улавя възпалителните процеси по дихателните пътища и има потенциала да отдиференцира съответните отдели на дихателната система, в които фокуса на възпаление е най-голям.

## БИБЛИОГРАФИЯ

1. GINA. <http://www.ginasthma.org/> accessed on 15th of November 2015.
2. Braman SS. The global burden of asthma. *Chest*. 2006 Jul;130(1 Suppl):4S-12S. PubMed PMID: 16840363.
3. Woolcock AJ. Worldwide trends in asthma morbidity and mortality. Explanation of trends. *Bulletin of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*. 1991 Jun-Sep;66(2-3):85-9. PubMed PMID: 1756297.
4. Burr ML. Is Asthma Increasing. *Journal of epidemiology and community health*. 1987 Sep;41(3):185-9. PubMed PMID: WOS:A1987J805700001. English.
5. Brozek G, Lawson J, Szumilas D, Zejda J. Increasing prevalence of asthma, respiratory symptoms, and allergic diseases: Four repeated surveys from 1993-2014. *Respiratory medicine*. 2015 Aug;109(8):982-90. PubMed PMID: 26153339.
6. Croisant S. Epidemiology of asthma: prevalence and burden of disease. *Advances in experimental medicine and biology*. 2014;795:17-29. PubMed PMID: 24162900.
7. Lotvall J, Ekerljung L, Ronmark EP, Wennergren G, Linden A, Ronmark E, et al. West Sweden Asthma Study: prevalence trends over the last 18 years argues no recent increase in asthma. *Respiratory research*. 2009;10:94. PubMed PMID: 19821983. Pubmed Central PMCID: 2772988.
8. Ekerljung L, Ronmark E, Larsson K, Sundblad BM, Bjerg A, Ahlstedt S, et al. No further increase of incidence of asthma: incidence, remission and relapse of adult asthma in Sweden. *Respiratory medicine*. 2008 Dec;102(12):1730-6. PubMed PMID: 18760582.
9. Reddel HK, Hurd SS, FitzGerald JM. World Asthma Day. GINA 2014: a global asthma strategy for a global problem. *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*. 2014 May;18(5):505-6. PubMed PMID: 24903781.
10. Lundback B, Backman H, Lotvall J, Ronmark E. Is asthma prevalence still increasing? Expert review of respiratory medicine. 2016 Jan;10(1):39-51. PubMed PMID: 26610152.

11. Sears MR. Trends in the prevalence of asthma. *Chest*. 2014 Feb;145(2):219-25. PubMed PMID: 24493506.
12. Bjerg A, Eriksson J, Olafsdottir IS, Middelveld R, Franklin K, Forsberg B, et al. The association between asthma and rhinitis is stable over time despite diverging trends in prevalence. *Respiratory medicine*. 2015 Mar;109(3):312-9. PubMed PMID: 25638411.
13. Saito N, Itoga M, Tamaki M, Yamamoto A, Kayaba H. Cough variant asthma patients are more depressed and anxious than classic asthma patients. *Journal of psychosomatic research*. 2015 Jul;79(1):18-26. PubMed PMID: 25837530.
14. Purokivi M, Koskela H, Kontra K. Determinants of asthma control and quality of life in stable asthma: evaluation of two new cough provocation tests. *The clinical respiratory journal*. 2013 Jul;7(3):253-60. PubMed PMID: 22822927.
15. Chamberlain SA, Garrod R, Douiri A, Masefield S, Powell P, Bucher C, et al. The impact of chronic cough: a cross-sectional European survey. *Lung*. 2015 Jun;193(3):401-8. PubMed PMID: 25787221.
16. Osman LM, McKenzie L, Cairns J, Friend JA, Godden DJ, Legge JS, et al. Patient weighting of importance of asthma symptoms. *Thorax*. 2001 Feb;56(2):138-42. PubMed PMID: 11209103. Pubmed Central PMCID: 1745997.
17. Smyrnios NA, Irwin RS, Curley FJ. Chronic cough with a history of excessive sputum production. The spectrum and frequency of causes, key components of the diagnostic evaluation, and outcome of specific therapy. *Chest*. 1995 Oct;108(4):991-7. PubMed PMID: 7555175.
18. Ohkura N, Fujimura M, Nakade Y, Okazaki A, Katayama N. Heightened cough response to bronchoconstriction in cough variant asthma. *Respirology*. 2012 Aug;17(6):964-8. PubMed PMID: 22672909.
19. Khalid S, Murdoch R, Newlands A, Smart K, Kelsall A, Holt K, et al. Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) antagonism in patients with refractory chronic cough: a double-blind randomized controlled trial. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2014 Jul;134(1):56-62. PubMed PMID: 24666696.

20. Corrao WM, Braman SS, Irwin RS. Chronic cough as the sole presenting manifestation of bronchial asthma. *The New England journal of medicine*. 1979 Mar 22;300(12):633-7. PubMed PMID: 763286.
21. Corrao WM. Methacholine challenge in the evaluation of chronic cough. *Allergy proceedings : the official journal of regional and state allergy societies*. 1989 Sep-Oct;10(5):313-5. PubMed PMID: 2684751.
22. Magni C, Chellini E, Zanasi A. Cough variant asthma and atopic cough. *Multidisciplinary respiratory medicine*. 2010;5(2):99-103. PubMed PMID: 22958894. Pubmed Central PMCID: 3463094.
23. Siroux V, Boudier A, Bousquet J, Bresson JL, Cracowski JL, Ferran J, et al. Phenotypic determinants of uncontrolled asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2009 Oct;124(4):681-7 e3. PubMed PMID: 19665764.
24. Mincheva R, Ekerljung L, Bjerg A, Axelsson M, Popov TA, Lundback B, et al. Frequent cough in unsatisfactory controlled asthma--results from the population-based West Sweden Asthma study. *Respiratory research*. 2014;15:79. PubMed PMID: 25135646. Pubmed Central PMCID: 4262384.
25. Thomson NC, Chaudhuri R, Messow CM, Spears M, MacNee W, Connell M, et al. Chronic cough and sputum production are associated with worse clinical outcomes in stable asthma. *Respiratory medicine*. 2013 Oct;107(10):1501-8. PubMed PMID: 23927851.
26. 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. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2014 Mar;133(3):704-12 e4. PubMed PMID: 24210884.
27. Nadel JA. Mucous hypersecretion and relationship to cough. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2013 Oct;26(5):510-3. PubMed PMID: 23434445.
28. Lang DM. Severe asthma: Epidemiology, burden of illness, and heterogeneity. *Allergy and asthma proceedings : the official journal of regional and state allergy societies*. 2015 Nov;36(6):418-24. PubMed PMID: 26534747.

29. Ismaila AS, Sayani AP, Marin M, Su Z. Clinical, economic, and humanistic burden of asthma in Canada: a systematic review. *BMC pulmonary medicine*. 2013;13:70. PubMed PMID: 24304726. Pubmed Central PMCID: 4235031.
30. Ibrahim WH, Suleiman NN, El-Allus F, Suleiman J, Elbuzidi AA, Guerrero MD, et al. The burden of adult asthma in a high GDP per capita country: the QASMA study. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 2015 Jan;114(1):12-7. PubMed PMID: 25240334.
31. Hekking PP, Bel EH. Developing and emerging clinical asthma phenotypes. *The journal of allergy and clinical immunology In practice*. 2014 Nov-Dec;2(6):671-80; quiz 81. PubMed PMID: 25439356.
32. Wenzel SE. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nature medicine*. 2012 May;18(5):716-25. PubMed PMID: 22561835.
33. Moore WC, Meyers DA, Wenzel SE, Teague WG, Li H, Li X, et al. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2010 Feb 15;181(4):315-23. PubMed PMID: 19892860. Pubmed Central PMCID: 2822971.
34. Haldar P, Pavord ID, Shaw DE, Berry MA, Thomas M, Brightling CE, et al. Cluster analysis and clinical asthma phenotypes. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2008 Aug 1;178(3):218-24. PubMed PMID: 18480428. Pubmed Central PMCID: 3992366.
35. Schatz M, Hsu JW, Zeiger RS, Chen W, Dorenbaum A, Chipps BE, et al. Phenotypes determined by cluster analysis in severe or difficult-to-treat asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2014 Jun;133(6):1549-56. PubMed PMID: 24315502.
36. Perlikos F, Hillas G, Loukides S. Phenotyping and endotyping asthma based on biomarkers. *Current topics in medicinal chemistry*. 2015 Sep 30. PubMed PMID: 26420366.
37. 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. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2016 Jan 28. PubMed PMID: 26851968.

38. Lotvall J, Akdis CA, Bacharier LB, Bjermer L, Casale TB, Custovic A, et al. Asthma endotypes: a new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2011 Feb;127(2):355-60. PubMed PMID: 21281866.
39. Wenzel S. Severe asthma: from characteristics to phenotypes to endotypes. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2012 May;42(5):650-8. PubMed PMID: 22251060.
40. Agache I, Akdis C, Jutel M, Virchow JC. Untangling asthma phenotypes and endotypes. *Allergy*. 2012 Jul;67(7):835-46. PubMed PMID: 22594878.
41. Campo P, Rodriguez F, Sanchez-Garcia S, Barranco P, Quirce S, Perez-Frances C, et al. Phenotypes and endotypes of uncontrolled severe asthma: new treatments. *Journal of investigational allergology & clinical immunology*. 2013;23(2):76-88; quiz 1 p follow PubMed PMID: 23654073.
42. Hashimoto S, Bel EH. Current treatment of severe asthma. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2012 May;42(5):693-705. PubMed PMID: 22251278.
43. Busse WW. Inflammation in asthma: the cornerstone of the disease and target of therapy. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 1998 Oct;102(4 Pt 2):S17-22. PubMed PMID: 9798720.
44. Djukanovic R. Asthma: A disease of inflammation and repair. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2000 Feb;105(2 Pt 2):S522-6. PubMed PMID: 10669536.
45. Szeffler SJ. The changing faces of asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2000 Sep;106(3 Suppl):S139-43. PubMed PMID: 10984394.
46. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of inflammation. *Current opinion in allergy and clinical immunology*. 2001 Jun;1(3):217-24. PubMed PMID: 11964692.
47. Mattes J, Storm van's Gravesande K, Reining U, Alving K, Ihorst G, Henschen M, et al. NO in exhaled air is correlated with markers of eosinophilic airway inflammation in corticosteroid-dependent childhood asthma. *The European respiratory journal*. 1999 Jun;13(6):1391-5. PubMed PMID: 10445617.

48. Turktas H, Oguzulgen K, Kokturk N, Memis L, Erbas D. Correlation of exhaled nitric oxide levels and airway inflammation markers in stable asthmatic patients. *The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma*. 2003 Jun;40(4):425-30. PubMed PMID: 12870838.
49. Munoz X, Bustamante V, Lopez-Campos JL, Cruz MJ, Barreiro E. Usefulness of noninvasive methods for the study of bronchial inflammation in the control of patients with asthma. *International archives of allergy and immunology*. 2015;166(1):1-12. PubMed PMID: 25765083.
50. Aldakheel FM, Thomas PS, Bourke JE, Matheson MC, Dharmage SC, Lowe AJ. Relationships between adult asthma and oxidative stress markers and pH in exhaled breath condensate: a systematic review. *Allergy*. 2016 Feb 20. PubMed PMID: 26896172.
51. Malinovschi A, Fonseca JA, Jacinto T, Alving K, Janson C. Exhaled nitric oxide levels and blood eosinophil counts independently associate with wheeze and asthma events in National Health and Nutrition Examination Survey subjects. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2013 Oct;132(4):821-7 e1-5. PubMed PMID: 23890753.
52. Fens N, de Nijs SB, Peters S, Dekker T, Knobel HH, Vink TJ, et al. Exhaled air molecular profiling in relation to inflammatory subtype and activity in COPD. *The European respiratory journal*. 2011 Dec;38(6):1301-9. PubMed PMID: 21700610.
53. van de Kant KD, Koers K, Rijkers GT, Lima Passos V, Klaassen EM, Mommers M, et al. Can exhaled inflammatory markers predict a steroid response in wheezing preschool children? *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2011 Aug;41(8):1076-83. PubMed PMID: 21623968.
54. Korevaar DA, Westerhof GA, Wang J, Cohen JF, Spijker R, Sterk PJ, et al. Diagnostic accuracy of minimally invasive markers for detection of airway eosinophilia in asthma: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Respiratory medicine*. 2015 Apr;3(4):290-300. PubMed PMID: 25801413.
55. Hoffmeyer F, Raulf-Heimsoth M, Bruning T. Exhaled breath condensate and airway inflammation. *Current opinion in allergy and clinical immunology*. 2009 Feb;9(1):16-22. PubMed PMID: 19532089.

56. Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled breath temperature in asthma. *The European respiratory journal*. 2003 Jan;21(1):195; author reply 6. PubMed PMID: 12570129.
57. McCafferty JB, Innes JA. Exhaled breath temperature in airways disease. *The European respiratory journal*. 2003 Aug;22(2):393-4; author reply 4-5. PubMed PMID: 12952280.
58. Piacentini GL, Bodini A, Peroni D, Ress M, Costella S, Boner AL. Exhaled air temperature and eosinophil airway inflammation in allergic asthmatic children. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2004 Jul;114(1):202-4. PubMed PMID: 15282940.
59. Popov TA, Dunev S, Kralimarkova TZ, Kraeva S, DuBuske LM. Evaluation of a simple, potentially individual device for exhaled breath temperature measurement. *Respiratory medicine*. 2007 Oct;101(10):2044-50. PubMed PMID: 17624752.
60. Lazar Z, Bikov A, Martinovszky F, Galffy G, Losonczy G, Horvath I. Exhaled breath temperature in patients with stable and exacerbated COPD. *Journal of breath research*. 2014 Dec;8(4):046002. PubMed PMID: 25234010.
61. Piacentini GL, Peroni DG, Bodini A, Corradi M, Boner AL. Exhaled breath temperature as a marker of airway remodelling in asthma: a preliminary study. *Allergy*. 2008 Apr;63(4):484-5. PubMed PMID: 18315741.
62. Melo RE, Popov TA, Sole D. Exhaled breath temperature, a new biomarker in asthma control: a pilot study. *Jornal brasileiro de pneumologia : publicacao oficial da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia*. 2010 Nov-Dec;36(6):693-9. PubMed PMID: 21225171.
63. Garcia G, Bergna M, Uribe E, Yanez A, Soriano JB. Increased exhaled breath temperature in subjects with uncontrolled asthma. *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*. 2013 Jul;17(7):969-72. PubMed PMID: 23743317.
64. Paredi P, Barnes PJ. A breath of hot air? *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*. 2013 Jul;17(7):855. PubMed PMID: 23743305.

65. Carpagnano GE, Lacedonia D, Spanevello A, Martinelli D, Saliani V, Ruggieri C, et al. Exhaled breath temperature in NSCLC: could be a new non-invasive marker? *Medical oncology*. 2014 May;31(5):952. PubMed PMID: 24722795.
66. Xepapadaki P, Xatziioannou A, Chatzicharalambous M, Makrinioti H, Papadopoulou NG. Exhaled breath temperature increases during mild exacerbations in children with virus-induced asthma. *International archives of allergy and immunology*. 2010;153(1):70-4. PubMed PMID: 20357487.
67. Piacentini GL, Peroni D, Crestani E, Zardini F, Bodini A, Costella S, et al. Exhaled air temperature in asthma: methods and relationship with markers of disease. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2007 Mar;37(3):415-9. PubMed PMID: 17359391.
68. Carpagnano GE, Lacedonia D, Spanevello A, Cotugno G, Saliani V, Martinelli D, et al. Is the exhaled breath temperature in lung cancer influenced by airways neoangiogenesis or by inflammation? *Medical oncology*. 2015 Oct;32(10):237. PubMed PMID: 26323590.
69. Kralimarkova TZ, Popov TA, Staevska M, Mincheva R, Lazarova C, Racheva R, et al. Objective approach for fending off the sublingual immunotherapy placebo effect in subjects with pollenosis: double-blinded, placebo-controlled trial. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 2014 Jul;113(1):108-13. PubMed PMID: 24745701.
70. Carraro S, Piacentini G, Lusiani M, Uyan ZS, Filippone M, Schiavon M, et al. Exhaled air temperature in children with bronchopulmonary dysplasia. *Pediatric pulmonology*. 2010 Dec;45(12):1240-5. PubMed PMID: 20717936.
71. Carpagnano GE, Ruggieri C, Scioscia G, Storto MM, Zoppo L, Foschino-Barbaro MP. Is the Exhaled Breath Temperature Sensitive to Cigarette Smoking? *Copd*. 2016 Mar 2:1-5. PubMed PMID: 26934668.
72. Bijmens E, Pieters N, Dewitte H, Cox B, Janssen BG, Saenen N, et al. Host and environmental predictors of exhaled breath temperature in the elderly. *BMC public health*. 2013;13:1226. PubMed PMID: 24365236. Pubmed Central PMCID: 3890614.

73. Svensson H, Bjermer L, Tufvesson E. Exhaled breath temperature in asthmatics and controls after eucapnic voluntary hyperventilation and a methacholine challenge test. *Respiration; international review of thoracic diseases*. 2014;87(2):149-57. PubMed PMID: 24335100.
74. Tufvesson E, Svensson H, Ankerst J, Bjermer L. Increase of club cell (Clara) protein (CC16) in plasma and urine after exercise challenge in asthmatics and healthy controls, and correlations to exhaled breath temperature and exhaled nitric oxide. *Respiratory medicine*. 2013 Nov;107(11):1675-81. PubMed PMID: 24018107.
75. Couto M, Santos P, Silva D, Delgado L, Moreira A. Exhaled breath temperature in elite swimmers: The effects of a training session in adolescents with or without asthma. *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*. 2015 Sep;26(6):564-70. PubMed PMID: 26111200.
76. Logie KM, Kusel MM, Sly PD, Hall GL. Exhaled breath temperature in healthy children is influenced by room temperature and lung volume. *Pediatric pulmonology*. 2011 Nov;46(11):1062-8. PubMed PMID: 21626714.
77. Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, Bousquet J, Drazen JM, FitzGerald M, et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *The European respiratory journal*. 2008 Jan;31(1):143-78. PubMed PMID: 18166595.
78. van Schayck OC. Global strategies for reducing the burden from asthma. *Primary care respiratory journal : journal of the General Practice Airways Group*. 2013 Jun;22(2):239-43. PubMed PMID: 23708109.
79. Kuschner WG. The asthma epidemic. *The New England journal of medicine*. 2007 Mar 8;356(10):1073; author reply PubMed PMID: 17347465.
80. Moussavi S, Chatterji S, Verdes E, Tandon A, Patel V, Ustun B. Depression, chronic diseases, and decrements in health: results from the World Health Surveys. *Lancet*. 2007 Sep 8;370(9590):851-8. PubMed PMID: 17826170.
81. Sadatsafavi M, Rousseau R, Chen W, Zhang W, Lynd L, FitzGerald JM, et al. The preventable burden of productivity loss due to suboptimal asthma control: a population-based study. *Chest*. 2014 Apr;145(4):787-93. PubMed PMID: 24337140.

82. Bergman AB. An economic evaluation of asthma in the United States. *The New England journal of medicine*. 1992 Aug 20;327(8):571-2. PubMed PMID: 1635584.
83. Beran D, Zar HJ, Perrin C, Menezes AM, Burney P, Forum of International Respiratory Societies working group c. Burden of asthma and chronic obstructive pulmonary disease and access to essential medicines in low-income and middle-income countries. *The Lancet Respiratory medicine*. 2015 Feb;3(2):159-70. PubMed PMID: 25680912.
84. Gibson GJ, Loddenkemper R, Lundback B, Sibille Y. Respiratory health and disease in Europe: the new European Lung White Book. *The European respiratory journal*. 2013 Sep;42(3):559-63. PubMed PMID: 24000245.
85. Pearce N, Asher I, Billo N, Bissell K, Ellwood P, El Sony A, et al. Asthma in the global NCD agenda: a neglected epidemic. *The Lancet Respiratory medicine*. 2013 Apr;1(2):96-8. PubMed PMID: 24429078.
86. Beasley R, Semprini A, Mitchell EA. Risk factors for asthma: is prevention possible? *Lancet*. 2015 Sep 12;386(9998):1075-85. PubMed PMID: 26382999.
87. Lundback B, Ronmark E, Jonsson E, Larsson K, Sandstrom T. Incidence of physician-diagnosed asthma in adults--a real incidence or a result of increased awareness? Report from The Obstructive Lung Disease in Northern Sweden Studies. *Respiratory medicine*. 2001 Aug;95(8):685-92. PubMed PMID: 11530958.
88. Zhang X, Morrison-Carpenter T, Holt JB, Callahan DB. Trends in adult current asthma prevalence and contributing risk factors in the United States by state: 2000-2009. *BMC public health*. 2013;13:1156. PubMed PMID: 24325173. Pubmed Central PMCID: 3878893.
89. Virchow JC. Diagnostic challenges of adult asthma. *Current opinion in pulmonary medicine*. 2016 Jan;22(1):38-45. PubMed PMID: 26606077.
90. Bel EH. Clinical Practice. Mild asthma. *The New England journal of medicine*. 2013 Aug 8;369(6):549-57. PubMed PMID: 23924005.
91. Lowhagen O. Diagnosis of asthma - new theories. *The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma*. 2015;52(6):538-44. PubMed PMID: 25478896.

92. Busse WW. Asthma diagnosis and treatment: filling in the information gaps. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2011 Oct;128(4):740-50. PubMed PMID: 21875745.
93. Magnus P, Jaakkola JJ. Secular trend in the occurrence of asthma among children and young adults: critical appraisal of repeated cross sectional surveys. *Bmj*. 1997 Jun 21;314(7097):1795-9. PubMed PMID: 9224081. Pubmed Central PMCID: 2126951.
94. Mukherjee M, Gupta R, Farr A, Heaven M, Stoddart A, Nwaru BI, et al. Estimating the incidence, prevalence and true cost of asthma in the UK: secondary analysis of national stand-alone and linked databases in England, Northern Ireland, Scotland and Wales-a study protocol. *BMJ open*. 2014;4(11):e006647. PubMed PMID: 25371419. Pubmed Central PMCID: 4225242.
95. Anderson HR, Gupta R, Strachan DP, Limb ES. 50 years of asthma: UK trends from 1955 to 2004. *Thorax*. 2007 Jan;62(1):85-90. PubMed PMID: 17189533. Pubmed Central PMCID: 2111282.
96. Brogger J, Bakke P, Eide GE, Johansen B, Andersen A, Gulsvik A. Long-term changes in adult asthma prevalence. *The European respiratory journal*. 2003 Mar;21(3):468-72. PubMed PMID: 12662003.
97. Ekerljung L, Andersson A, Sundblad BM, Ronmark E, Larsson K, Ahlstedt S, et al. Has the increase in the prevalence of asthma and respiratory symptoms reached a plateau in Stockholm, Sweden? *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*. 2010 Jun;14(6):764-71. PubMed PMID: 20487617.
98. Martinez FD. Trends in asthma prevalence, admission rates, and asthma deaths. *Respiratory care*. 2008 May;53(5):561-5; discussion 5-7. PubMed PMID: 18426610.
99. Cookson JB. Prevalence rates of asthma in developing countries and their comparison with those in Europe and North America. *Chest*. 1987 Jun;91(6 Suppl):97S-103S. PubMed PMID: 3581970.
100. To T, Stanojevic S, Moores G, Gershon AS, Bateman ED, Cruz AA, et al. Global asthma prevalence in adults: findings from the cross-sectional world health survey.

BMC public health. 2012;12:204. PubMed PMID: 22429515. Pubmed Central PMCID: 3353191.

101. Bjerg A, Ekerljung L, Middelveld R, Dahlen SE, Forsberg B, Franklin K, et al. Increased prevalence of symptoms of rhinitis but not of asthma between 1990 and 2008 in Swedish adults: comparisons of the ECRHS and GA(2)LEN surveys. PloS one. 2011;6(2):e16082. PubMed PMID: 21379386. Pubmed Central PMCID: 3040758.

102. Peat JK, Toelle BG, Marks GB, Mellis CM. Continuing the debate about measuring asthma in population studies. Thorax. 2001 May;56(5):406-11. PubMed PMID: 11312411. Pubmed Central PMCID: 1746034.

103. Depner M, Fuchs O, Genuneit J, Karvonen AM, Hyvarinen A, Kaulek V, et al. Clinical and epidemiologic phenotypes of childhood asthma. American journal of respiratory and critical care medicine. 2014 Jan 15;189(2):129-38. PubMed PMID: 24283801.

104. Anandan C, Nurmatov U, van Schayck OC, Sheikh A. Is the prevalence of asthma declining? Systematic review of epidemiological studies. Allergy. 2010 Feb;65(2):152-67. PubMed PMID: 19912154.

105. Burney PG, Luczynska C, Chinn S, Jarvis D. The European Community Respiratory Health Survey. The European respiratory journal. 1994 May;7(5):954-60. PubMed PMID: 8050554.

106. Le Moual N, Carsin AE, Siroux V, Radon K, Norback D, Toren K, et al. Occupational exposures and uncontrolled adult-onset asthma in the European Community Respiratory Health Survey II. The European respiratory journal. 2014 Feb;43(2):374-86. PubMed PMID: 23949964.

107. Frew AJ. GA2LEN--The Global Allergy and Asthma European Network. Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology. 2005 Feb;35(2):122-5. PubMed PMID: 15725181.

108. Jarvis D, Newson R, Lotvall J, Hastan D, Tomassen P, Keil T, et al. Asthma in adults and its association with chronic rhinosinusitis: the GA2LEN survey in Europe. Allergy. 2012 Jan;67(1):91-8. PubMed PMID: 22050239.

109. Asher MI, Keil U, Anderson HR, Beasley R, Crane J, Martinez F, et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods. *The European respiratory journal*. 1995 Mar;8(3):483-91. PubMed PMID: 7789502.
110. Tsakok T, Weinmayr G, Jaensch A, Strachan DP, Williams HC, Flohr C, et al. Eczema and indoor environment: lessons from the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase 2. *Lancet*. 2015 Feb 26;385 Suppl 1:S99. PubMed PMID: 26312922.
111. Johannessen A, Verlato G, Benediktsdottir B, Forsberg B, Franklin K, Gislason T, et al. Longterm follow-up in European respiratory health studies - patterns and implications. *BMC pulmonary medicine*. 2014;14:63. PubMed PMID: 24739530. Pubmed Central PMCID: 4021078.
112. Norback D, Zock JP, Plana E, Heinrich J, Svanes C, Sunyer J, et al. Lung function decline in relation to mould and dampness in the home: the longitudinal European Community Respiratory Health Survey ECRHS II. *Thorax*. 2011 May;66(5):396-401. PubMed PMID: 21325663.
113. Becklake MR, Ernst P. Environmental factors. *Lancet*. 1997 Oct;350 Suppl 2:SII10-3. PubMed PMID: 9343098.
114. Luskin AT, Chipps BE, Rasouliyan L, Miller DP, Haselkorn T, Dorenbaum A. Impact of asthma exacerbations and asthma triggers on asthma-related quality of life in patients with severe or difficult-to-treat asthma. *The journal of allergy and clinical immunology In practice*. 2014 Sep-Oct;2(5):544-52 e1-2. PubMed PMID: 25213047.
115. Patrawalla P, Kazeros A, Rogers L, Shao Y, Liu M, Fernandez-Beros ME, et al. Application of the asthma phenotype algorithm from the Severe Asthma Research Program to an urban population. *PloS one*. 2012;7(9):e44540. PubMed PMID: 23028556. Pubmed Central PMCID: 3441500.
116. Cohen L, E X, Tarsi J, Ramkumar T, Horiuchi TK, Cochran R, et al. Epithelial cell proliferation contributes to airway remodeling in severe asthma. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2007 Jul 15;176(2):138-45. PubMed PMID: 17463414. Pubmed Central PMCID: 1994213.

117. Accordini S, Janson C, Svanes C, Jarvis D. The role of smoking in allergy and asthma: lessons from the ECRHS. *Current allergy and asthma reports*. 2012 Jun;12(3):185-91. PubMed PMID: 22528471.
118. Kogevinas M, Zock JP, Jarvis D, Kromhout H, Lillienberg L, Plana E, et al. Exposure to substances in the workplace and new-onset asthma: an international prospective population-based study (ECRHS-II). *Lancet*. 2007 Jul 28;370(9584):336-41. PubMed PMID: 17662882.
119. Urrutia I, Capelastegui A, Quintana JM, Muniozguren N, Basagana X, Sunyer J, et al. Smoking habit, respiratory symptoms and lung function in young adults. *European journal of public health*. 2005 Apr;15(2):160-5. PubMed PMID: 15941761.
120. Sunyer J, Basagana X, Burney P, Anto JM. International assessment of the internal consistency of respiratory symptoms. *European Community Respiratory Health Study (ECRHS)*. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2000 Sep;162(3 Pt 1):930-5. PubMed PMID: 10988108.
121. McCurdy SA, Sunyer J, Zock JP, Anto JM, Kogevinas M, European Community Respiratory Health Survey Study G. Smoking and occupation from the European Community Respiratory Health Survey. *Occupational and environmental medicine*. 2003 Sep;60(9):643-8. PubMed PMID: 12937184. Pubmed Central PMCID: 1740626.
122. Obaseki D, Potts J, Joos G, Baelum J, Haahtela T, Ahlstrom M, et al. The relation of airway obstruction to asthma, chronic rhinosinusitis and age: results from a population survey of adults. *Allergy*. 2014 Sep;69(9):1205-14. PubMed PMID: 24841074. Pubmed Central PMCID: 4233404.
123. Chinn S, Burney P, Sunyer J, Jarvis D, Luczynska C. Sensitization to individual allergens and bronchial responsiveness in the ECRHS. *European Community Respiratory Health Survey*. *The European respiratory journal*. 1999 Oct;14(4):876-84. PubMed PMID: 10573236.
124. Droste JH, Kerhof M, de Monchy JG, Schouten JP, Rijcken B. Association of skin test reactivity, specific IgE, total IgE, and eosinophils with nasal symptoms in a community-based population study. *The Dutch ECRHS Group*. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 1996 Apr;97(4):922-32. PubMed PMID: 8655887.

125. Bousquet J, Burney PG, Zuberbier T, Cauwenberge PV, Akdis CA, Bindslev-Jensen C, et al. GA2LEN (Global Allergy and Asthma European Network) addresses the allergy and asthma 'epidemic'. *Allergy*. 2009 Jul;64(7):969-77. PubMed PMID: 19392994.
126. Keil T, Kulig M, Simpson A, Custovic A, Wickman M, Kull I, et al. European birth cohort studies on asthma and atopic diseases: II. Comparison of outcomes and exposures--a GA2LEN initiative. *Allergy*. 2006 Sep;61(9):1104-11. PubMed PMID: 16918514.
127. Bousquet PJ, Castelli C, Daures JP, Heinrich J, Hooper R, Sunyer J, et al. Assessment of allergen sensitization in a general population-based survey (European Community Respiratory Health Survey I). *Annals of epidemiology*. 2010 Nov;20(11):797-803. PubMed PMID: 20702109.
128. Kerkhof M, Schouten JP, De Monchy JG. The association of sensitization to inhalant allergens with allergy symptoms: the influence of bronchial hyperresponsiveness and blood eosinophil count. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2000 Oct;30(10):1387-94. PubMed PMID: 10998014.
129. Olivieri M, Zock JP, Accordini S, Heinrich J, Jarvis D, Kunzli N, et al. Risk factors for new-onset cat sensitization among adults: a population-based international cohort study. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2012 Feb;129(2):420-5. PubMed PMID: 22168997.
130. Dratva J, Zemp E, Dharmage SC, Accordini S, Burdet L, Gislason T, et al. Early Life Origins of Lung Ageing: Early Life Exposures and Lung Function Decline in Adulthood in Two European Cohorts Aged 28-73 Years. *PloS one*. 2016;11(1):e0145127. PubMed PMID: 26811913. Pubmed Central PMCID: 4728209.
131. Chinn S, Jarvis D, Burney P, European Community Respiratory Health S. Relation of bronchial responsiveness to body mass index in the ECRHS. *European Community Respiratory Health Survey*. *Thorax*. 2002 Dec;57(12):1028-33. PubMed PMID: 12454296. Pubmed Central PMCID: 1758811.
132. Marcon A, Cerveri I, Wjst M, Anto J, Heinrich J, Janson C, et al. Can an airway challenge test predict respiratory diseases? A population-based international study. *The*

Journal of allergy and clinical immunology. 2014 Jan;133(1):104-10 e1-4. PubMed PMID: 23683511.

133. Warm K, Hedman L, Lindberg A, Lotvall J, Lundback B, Ronmark E. Allergic sensitization is age-dependently associated with rhinitis, but less so with asthma. The Journal of allergy and clinical immunology. 2015 Dec;136(6):1559-65 e2. PubMed PMID: 26220530.

134. Norrman E, Plaschke P, Bjornsson E, Rosenhall L, Lundback B, Jansson C, et al. Prevalence of bronchial hyper-responsiveness in the southern, central and northern parts of Sweden. Respiratory medicine. 1998 Mar;92(3):480-7. PubMed PMID: 9692109.

135. Lundback B, Ronmark E. General population-based cohorts for studies of lung health in adults in Sweden. The clinical respiratory journal. 2008 Oct;2 Suppl 1:2-9. PubMed PMID: 20298345.

136. Popov TA, Kralimarkova TZ, Staevska MT, Dimitrov VD. Characteristics of a patient population seeking medical advice for nasal symptoms in Bulgaria. Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology. 2012 Apr;108(4):232-6. PubMed PMID: 22469441.

137. Leonardi GS, Houthuijs D, Nikiforov B, Volf J, Rudnai P, Zejda J, et al. Respiratory symptoms, bronchitis and asthma in children of Central and Eastern Europe. The European respiratory journal. 2002 Oct;20(4):890-8. PubMed PMID: 12412680.

138. Popov TA, Petrova D, Kralimarkova TZ, Ivanov Y, Popova T, Peneva M, et al. Real life clinical study design supporting the effectiveness of extra-fine inhaled beclomethasone/formoterol at the level of small airways of asthmatics. Pulmonary pharmacology & therapeutics. 2013 Dec;26(6):624-9. PubMed PMID: 23769863.

139. Holgate ST, Holloway J, Wilson S, Howarth PH, Haitchi HM, Babu S, et al. Understanding the pathophysiology of severe asthma to generate new therapeutic opportunities. The Journal of allergy and clinical immunology. 2006 Mar;117(3):496-506; quiz 7. PubMed PMID: 16522446.

140. Bell MC, Busse WW. Severe asthma: an expanding and mounting clinical challenge. The journal of allergy and clinical immunology In practice. 2013 Mar;1(2):110-21; quiz 22. PubMed PMID: 24565450.

141. Moore WC, Peters SP. Severe asthma: an overview. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2006 Mar;117(3):487-94; quiz 95. PubMed PMID: 16522445.
142. Bush A, Zar HJ. WHO universal definition of severe asthma. *Current opinion in allergy and clinical immunology*. 2011 Apr;11(2):115-21. PubMed PMID: 21301329.
143. Jarjour NN, Erzurum SC, Bleecker ER, Calhoun WJ, Castro M, Comhair SA, et al. Severe asthma: lessons learned from the National Heart, Lung, and Blood Institute Severe Asthma Research Program. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2012 Feb 15;185(4):356-62. PubMed PMID: 22095547. Pubmed Central PMCID: 3297096.
144. The ENFUMOSA cross-sectional European multicentre study of the clinical phenotype of chronic severe asthma. *European Network for Understanding Mechanisms of Severe Asthma. The European respiratory journal*. 2003 Sep;22(3):470-7. PubMed PMID: 14516137.
145. Chipps BE, Zeiger RS, Borish L, Wenzel SE, Yegin A, Hayden ML, et al. Key findings and clinical implications from The Epidemiology and Natural History of Asthma: Outcomes and Treatment Regimens (TENOR) study. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2012 Aug;130(2):332-42 e10. PubMed PMID: 22694932. Pubmed Central PMCID: 3622643.
146. Romagnoli M, Caramori G, Braccioni F, Ravenna F, Barreiro E, Siafakas NM, et al. Near-fatal asthma phenotype in the ENFUMOSA Cohort. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2007 Apr;37(4):552-7. PubMed PMID: 17430352.
147. Adcock IM, Ito K. Steroid resistance in asthma: a major problem requiring novel solutions or a non-issue? *Current opinion in pharmacology*. 2004 Jun;4(3):257-62. PubMed PMID: 15140417.
148. Witt CA, Sheshadri A, Carlstrom L, Tarsi J, Kozlowski J, Wilson B, et al. Longitudinal changes in airway remodeling and air trapping in severe asthma. *Academic radiology*. 2014 Aug;21(8):986-93. PubMed PMID: 25018070. Pubmed Central PMCID: 4100072.

149. Moore WC, Fitzpatrick AM, Li X, Hastie AT, Li H, Meyers DA, et al. Clinical heterogeneity in the severe asthma research program. *Annals of the American Thoracic Society*. 2013 Dec;10 Suppl:S118-24. PubMed PMID: 24313761. Pubmed Central PMCID: 3960988.
150. Dolan CM, Fraher KE, Bleecker ER, Borish L, Chipps B, Hayden ML, et al. Design and baseline characteristics of the epidemiology and natural history of asthma: Outcomes and Treatment Regimens (TENOR) study: a large cohort of patients with severe or difficult-to-treat asthma. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 2004 Jan;92(1):32-9. PubMed PMID: 14756462.
151. Zeiger RS, Yegin A, Simons FE, Haselkorn T, Rasouliyan L, Szeffler SJ, et al. Evaluation of the National Heart, Lung, and Blood Institute guidelines impairment domain for classifying asthma control and predicting asthma exacerbations. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 2012 Feb;108(2):81-7. PubMed PMID: 22289725.
152. Miller MK, Lee JH, Blanc PD, Pasta DJ, Gujrathi S, Barron H, et al. TENOR risk score predicts healthcare in adults with severe or difficult-to-treat asthma. *The European respiratory journal*. 2006 Dec;28(6):1145-55. PubMed PMID: 16870656.
153. Lee JH, Haselkorn T, Borish L, Rasouliyan L, Chipps BE, Wenzel SE. Risk factors associated with persistent airflow limitation in severe or difficult-to-treat asthma: insights from the TENOR study. *Chest*. 2007 Dec;132(6):1882-9. PubMed PMID: 18079222.
154. Hollingsworth H. Observations from TENOR: opportunities to improve asthma care. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 2006 Mar;96(3):383-4. PubMed PMID: 16597069.
155. Chen H, Gould MK, Blanc PD, Miller DP, Kamath TV, Lee JH, et al. Asthma control, severity, and quality of life: quantifying the effect of uncontrolled disease. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2007 Aug;120(2):396-402. PubMed PMID: 17561244.

156. Miller MK, Johnson C, Miller DP, Deniz Y, Bleecker ER, Wenzel SE, et al. Severity assessment in asthma: An evolving concept. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2005 Nov;116(5):990-5. PubMed PMID: 16275365.
157. Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, Bush A, Castro M, Sterk PJ, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *The European respiratory journal*. 2014 Feb;43(2):343-73. PubMed PMID: 24337046.
158. Wenzel SE. Severe asthma in adults. *Experimental lung research*. 2005 Sep;31 Suppl 1:22. PubMed PMID: 16395855.
159. Chanez P, Wenzel SE, Anderson GP, Anto JM, Bel EH, Boulet LP, et al. Severe asthma in adults: what are the important questions? *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2007 Jun;119(6):1337-48. PubMed PMID: 17416409.
160. Busse WW, Banks-Schlegel S, Wenzel SE. Pathophysiology of severe asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2000 Dec;106(6):1033-42. PubMed PMID: 11112883.
161. Newby C, Heaney LG, Menzies-Gow A, Niven RM, Mansur A, Bucknall C, et al. Statistical cluster analysis of the British Thoracic Society Severe refractory Asthma Registry: clinical outcomes and phenotype stability. *PloS one*. 2014;9(7):e102987. PubMed PMID: 25058007. Pubmed Central PMCID: 4109965.
162. Wener RR, Bel EH. Severe refractory asthma: an update. *European respiratory review : an official journal of the European Respiratory Society*. 2013 Sep 1;22(129):227-35. PubMed PMID: 23997049.
163. Cazzoletti L, Marcon A, Corsico A, Janson C, Jarvis D, Pin I, et al. Asthma severity according to Global Initiative for Asthma and its determinants: an international study. *International archives of allergy and immunology*. 2010;151(1):70-9. PubMed PMID: 19672098.
164. Ekerljung L, Bossios A, Lotvall J, Olin AC, Ronmark E, Wennergren G, et al. Multi-symptom asthma as an indication of disease severity in epidemiology. *The European respiratory journal*. 2011 Oct;38(4):825-32. PubMed PMID: 21310882.

165. de Marco R, Marcon A, Jarvis D, Accordini S, Almar E, Bugiani M, et al. Prognostic factors of asthma severity: a 9-year international prospective cohort study. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2006 Jun;117(6):1249-56. PubMed PMID: 16750983.
166. von Bulow A, Kriegbaum M, Backer V, Porsbjerg C. The prevalence of severe asthma and low asthma control among Danish adults. *The journal of allergy and clinical immunology In practice*. 2014 Nov-Dec;2(6):759-67. PubMed PMID: 25439368.
167. Hekking PP, Wener RR, Amelink M, Zwinderman AH, Bouvy ML, Bel EH. The prevalence of severe refractory asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2015 Apr;135(4):896-902. PubMed PMID: 25441637.
168. Bourdin A, Chanez P. Clustering in asthma: why, how and for how long? *The European respiratory journal*. 2013 Jun;41(6):1247-8. PubMed PMID: 23728402.
169. Bourdin A, Molinari N, Vachier I, Varrin M, Marin G, Gamez AS, et al. Prognostic value of cluster analysis of severe asthma phenotypes. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2014 Nov;134(5):1043-50. PubMed PMID: 24985405.
170. Bobolea I, Barranco P, Del Pozo V, Romero D, Sanz V, Lopez-Carrasco V, et al. Sputum periostin in patients with different severe asthma phenotypes. *Allergy*. 2015 May;70(5):540-6. PubMed PMID: 25631525.
171. Wu W, Bleecker E, Moore W, Busse WW, Castro M, Chung KF, et al. Unsupervised phenotyping of Severe Asthma Research Program participants using expanded lung data. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2014 May;133(5):1280-8. PubMed PMID: 24589344. Pubmed Central PMCID: 4038417.
172. Barbaro MP, Spanevello A, Palladino GP, Salerno FG, Lacedonia D, Carpagnano GE. Exhaled matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in different biological phenotypes of asthma. *European journal of internal medicine*. 2014 Jan;25(1):92-6. PubMed PMID: 24070522.
173. Peters SP. Asthma phenotypes: nonallergic (intrinsic) asthma. *The journal of allergy and clinical immunology In practice*. 2014 Nov-Dec;2(6):650-2. PubMed PMID: 25439352.

174. Schatz M, Rosenwasser L. The allergic asthma phenotype. *The journal of allergy and clinical immunology In practice*. 2014 Nov-Dec;2(6):645-8; quiz 9. PubMed PMID: 25439351.
175. Bush A, Fleming L. Phenotypes of refractory/severe asthma. *Paediatric respiratory reviews*. 2011 Sep;12(3):177-81. PubMed PMID: 21722846.
176. Ray A, Oriss TB, Wenzel SE. Emerging molecular phenotypes of asthma. *American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology*. 2015 Jan 15;308(2):L130-40. PubMed PMID: 25326577. Pubmed Central PMCID: 4338947.
177. Thomas M. Why aren't we doing better in asthma: time for personalised medicine? *NPJ primary care respiratory medicine*. 2015;25:15004. PubMed PMID: 25741858. Pubmed Central PMCID: 4373498.
178. Wadsworth SJ, Sandford AJ. Personalised medicine and asthma diagnostics/management. *Current allergy and asthma reports*. 2013 Feb;13(1):118-29. PubMed PMID: 23212666.
179. Meyers DA, Bleecker ER, Holloway JW, Holgate ST. Asthma genetics and personalised medicine. *The Lancet Respiratory medicine*. 2014 May;2(5):405-15. PubMed PMID: 24794577. Pubmed Central PMCID: 4768462.
180. Chung KF. New treatments for severe treatment-resistant asthma: targeting the right patient. *The Lancet Respiratory medicine*. 2013 Oct;1(8):639-52. PubMed PMID: 24461667.
181. Keller M, Kamp D. Severe Asthma: The Evolution of Patient-directed Management. *Clinical pulmonary medicine*. 2014 Jan 1;21(1):1-8. PubMed PMID: 25580071. Pubmed Central PMCID: 4286352.
182. Fajt ML, Wenzel SE. Asthma phenotypes and the use of biologic medications in asthma and allergic disease: the next steps toward personalized care. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2015 Feb;135(2):299-310; quiz 1. PubMed PMID: 25662302.
183. Azvolinsky A. Severe asthma gets first biologic in decades. *Nature biotechnology*. 2016 Jan 8;34(1):10-1. PubMed PMID: 26744963.

184. Dheda K, Koegelenberg CF, Esmail A, Irusen E, Wechsler ME, Niven RM, et al. Indications for the use of bronchial thermoplasty in severe asthma. South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde. 2015 Oct;105(10):808-9. PubMed PMID: 26428582.
185. Chung KF. Managing severe asthma in adults: lessons from the ERS/ATS guidelines. Current opinion in pulmonary medicine. 2015 Jan;21(1):8-15. PubMed PMID: 25405672.
186. Gomez JL, Crisafi GM, Holm CT, Meyers DA, Hawkins GA, Bleecker ER, et al. Genetic variation in chitinase 3-like 1 (CHI3L1) contributes to asthma severity and airway expression of YKL-40. The Journal of allergy and clinical immunology. 2015 Jul;136(1):51-8 e10. PubMed PMID: 25592985. Pubmed Central PMCID: 4494869.
187. Wechsler ME, Laviolette M, Rubin AS, Fiterman J, Lapa e Silva JR, Shah PL, et al. Bronchial thermoplasty: Long-term safety and effectiveness in patients with severe persistent asthma. The Journal of allergy and clinical immunology. 2013 Dec;132(6):1295-302. PubMed PMID: 23998657. Pubmed Central PMCID: 4114404.
188. Skloot GS. Asthma phenotypes and endotypes: a personalized approach to treatment. Current opinion in pulmonary medicine. 2016 Jan;22(1):3-9. PubMed PMID: 26574717.
189. Kau AL, Korenblat PE. Anti-interleukin 4 and 13 for asthma treatment in the era of endotypes. Current opinion in allergy and clinical immunology. 2014 Aug 19. PubMed PMID: 25144263.
190. Chambers ES, Nanzer AM, Pfeffer PE, Richards DF, Timms PM, Martineau AR, et al. Distinct endotypes of steroid-resistant asthma characterized by IL-17A(high) and IFN-gamma(high) immunophenotypes: Potential benefits of calcitriol. The Journal of allergy and clinical immunology. 2015 Sep;136(3):628-37 e4. PubMed PMID: 25772594. Pubmed Central PMCID: 4559139.
191. Agache IO. From phenotypes to endotypes to asthma treatment. Current opinion in allergy and clinical immunology. 2013 Jun;13(3):249-56. PubMed PMID: 23587683.

192. Brasier AR. Identification of innate immune response endotypes in asthma: implications for personalized medicine. *Current allergy and asthma reports*. 2013 Oct;13(5):462-8. PubMed PMID: 23793609. Pubmed Central PMCID: 3778047.
193. Hetherington KJ, Heaney LG. Drug therapies in severe asthma - the era of stratified medicine. *Clinical medicine*. 2015 Oct;15(5):452-6. PubMed PMID: 26430184.
194. Chung KF. Asthma phenotyping: a necessity for improved therapeutic precision and new targeted therapies. *Journal of internal medicine*. 2016 Feb;279(2):192-204. PubMed PMID: 26076339.
195. Wysocki K, Park SY, Bleecker E, Busse W, Castro M, Chung KF, et al. Characterization of factors associated with systemic corticosteroid use in severe asthma: data from the Severe Asthma Research Program. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2014 Mar;133(3):915-8. PubMed PMID: 24332222. Pubmed Central PMCID: 4086875.
196. Lo CY, Michaeloudes C, Bhavsar PK, Huang CD, Wang CH, Kuo HP, et al. Increased phenotypic differentiation and reduced corticosteroid sensitivity of fibrocytes in severe asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2015 May;135(5):1186-95 e1-6. PubMed PMID: 25488691.
197. Chaudhuri R, Livingston E, McMahon AD, Thomson L, Borland W, Thomson NC. Cigarette smoking impairs the therapeutic response to oral corticosteroids in chronic asthma. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2003 Dec 1;168(11):1308-11. PubMed PMID: 12893649.
198. Rao CK, Moore CG, Bleecker E, Busse WW, Calhoun W, Castro M, et al. Characteristics of perimenstrual asthma and its relation to asthma severity and control: data from the Severe Asthma Research Program. *Chest*. 2013 Apr;143(4):984-92. PubMed PMID: 23632943. Pubmed Central PMCID: 3747720.
199. Gaga M, Papageorgiou N, Yiourgioti G, Karydi P, Liapikou A, Bitsakou H, et al. Risk factors and characteristics associated with severe and difficult to treat asthma phenotype: an analysis of the ENFUMOSA group of patients based on the ECRHS questionnaire. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2005 Jul;35(7):954-9. PubMed PMID: 16008684.

200. Moore WC, Hastie AT, Li X, Li H, Busse WW, Jarjour NN, et al. Sputum neutrophil counts are associated with more severe asthma phenotypes using cluster analysis. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2014 Jun;133(6):1557-63 e5. PubMed PMID: 24332216. Pubmed Central PMCID: 4040309.
201. Bumbacea D, Campbell D, Nguyen L, Carr D, Barnes PJ, Robinson D, et al. Parameters associated with persistent airflow obstruction in chronic severe asthma. *The European respiratory journal*. 2004 Jul;24(1):122-8. PubMed PMID: 15293614.
202. Gibeon D, Batuwita K, Osmond M, Heaney LG, Brightling CE, Niven R, et al. Obesity-associated severe asthma represents a distinct clinical phenotype: analysis of the British Thoracic Society Difficult Asthma Registry Patient cohort according to BMI. *Chest*. 2013 Feb 1;143(2):406-14. PubMed PMID: 23064546.
203. Axelsson M, Brink E, Lotvall J. A personality and gender perspective on adherence and health-related quality of life in people with asthma and/or allergic rhinitis. *Journal of the American Association of Nurse Practitioners*. 2014 Jan;26(1):32-9. PubMed PMID: 24170656.
204. Sheehan WJ, Phipatanakul W. Difficult-to-control asthma: epidemiology and its link with environmental factors. *Current opinion in allergy and clinical immunology*. 2015 Oct;15(5):397-401. PubMed PMID: 26226354. Pubmed Central PMCID: 4551573.
205. Bildstrup L, Backer V, Thomsen SF. Increased body mass index predicts severity of asthma symptoms but not objective asthma traits in a large sample of asthmatics. *The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma*. 2015 Sep;52(7):687-92. PubMed PMID: 25582044.
206. Chen W, Marra CA, Lynd LD, FitzGerald JM, Zafari Z, Sadatsafavi M. The natural history of severe asthma and influences of early risk factors: a population-based cohort study. *Thorax*. 2016 Jan 5. PubMed PMID: 26732738.
207. Calhoun WJ, Haselkorn T, Mink DR, Miller DP, Dorenbaum A, Zeiger RS. Clinical burden and predictors of asthma exacerbations in patients on guideline-based steps 4-6 asthma therapy in the TENOR cohort. *The journal of allergy and clinical immunology In practice*. 2014 Mar-Apr;2(2):193-200. PubMed PMID: 24607048.

208. Ciebiada M, Domagala M, Gorska-Ciebiada M, Gorski P. Risk factors associated with irreversible airway obstruction in nonsmoking adult patients with severe asthma. *Allergy and asthma proceedings : the official journal of regional and state allergy societies*. 2014 Sep-Oct;35(5):72-9. PubMed PMID: 25295799.
209. Matsunaga K, Akamatsu K, Miyatake A, Ichinose M. Natural history and risk factors of obstructive changes over a 10-year period in severe asthma. *Respiratory medicine*. 2013 Mar;107(3):355-60. PubMed PMID: 23228369.
210. Patel M, Pilcher J, Reddel HK, Qi V, Mackey B, Tranquilino T, et al. Predictors of severe exacerbations, poor asthma control, and beta-agonist overuse for patients with asthma. *The journal of allergy and clinical immunology In practice*. 2014 Nov-Dec;2(6):751-8. PubMed PMID: 25439367.
211. de Groot JC, Amelink M, de Nijs SB, Plaat R, Reitsma BH, Storm H, et al. Risk factors for frequent severe exacerbations in late-onset eosinophilic asthma. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2015 Oct 1;192(7):899-902. PubMed PMID: 26426787.
212. Kupczyk M, ten Brinke A, Sterk PJ, Bel EH, Papi A, Chanez P, et al. Frequent exacerbators--a distinct phenotype of severe asthma. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2014 Feb;44(2):212-21. PubMed PMID: 24447083.
213. Kauppi P, Linna M, Jantunen J, Martikainen JE, Haahtela T, Pelkonen A, et al. Chronic Comorbidities Contribute to the Burden and Costs of Persistent Asthma. *Mediators of inflammation*. 2015;2015:819194. PubMed PMID: 26783384.
214. Bachert C, Zhang N. Chronic rhinosinusitis and asthma: novel understanding of the role of IgE 'above atopy'. *Journal of internal medicine*. 2012 Aug;272(2):133-43. PubMed PMID: 22640264.
215. Koskela HO, Purokivi MK, Nieminen RM, Moilanen E. Asthmatic cough and airway oxidative stress. *Respiratory physiology & neurobiology*. 2012 May 31;181(3):346-50. PubMed PMID: 22546340.

216. Beharry S, Gidla D, Maharaj A, Bisram S, Sakhamuri S, Seemungal TA, et al. Reality and understanding of asthma control. *Chronic respiratory disease*. 2015 Nov;12(4):340-6. PubMed PMID: 26272498.
217. Kurbon U, Dodariyon H, Davlatov A, Janobilova S, Therwath A, Mirshahi M. Surgical treatment of bronchial asthma by resection of the laryngeal nerve. *BMC surgery*. 2015;15:109. PubMed PMID: 26450603. Pubmed Central PMCID: 4599809.
218. Rubin BK, Priftis KN, Schmidt HJ, Henke MO. Secretory hyperresponsiveness and pulmonary mucus hypersecretion. *Chest*. 2014 Aug;146(2):496-507. PubMed PMID: 25091755.
219. Niimi A. Structural changes in the airways: cause or effect of chronic cough? *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2011 Jun;24(3):328-33. PubMed PMID: 21292020.
220. McFadden ER, Jr. Exertional dyspnea and cough as preludes to acute attacks of bronchial asthma. *The New England journal of medicine*. 1975 Mar 13;292(11):555-9. PubMed PMID: 1110670.
221. Fitzpatrick AM, Teague WG, Holguin F, Yeh M, Brown LA, Severe Asthma Research P. Airway glutathione homeostasis is altered in children with severe asthma: evidence for oxidant stress. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2009 Jan;123(1):146-52 e8. PubMed PMID: 19130935. Pubmed Central PMCID: 2649685.
222. Brown EB, Cooke RA. Diagnosis of cough variant asthma. *Annals of allergy*. 1993 Jun;70(6):500. PubMed PMID: 8369052.
223. Konig P. Cough variant asthma. *The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma*. 1991;28(2):83-4. PubMed PMID: 2013562.
224. Niimi A, Matsumoto H, Minakuchi M, Kitaichi M, Amitani R. Airway remodelling in cough-variant asthma. *Lancet*. 2000 Aug 12;356(9229):564-5. PubMed PMID: 10950236.
225. Takemura M, Niimi A, Matsumoto H, Ueda T, Yamaguchi M, Matsuoka H, et al. Atopic features of cough variant asthma and classic asthma with wheezing. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2007 Dec;37(12):1833-9. PubMed PMID: 17941915.

226. Niimi A, Torrego A, Nicholson AG, Cosio BG, Oates TB, Chung KF. Nature of airway inflammation and remodeling in chronic cough. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2005 Sep;116(3):565-70. PubMed PMID: 16159625.
227. Matsumoto H, Niimi A, Takemura M, Ueda T, Yamaguchi M, Matsuoka H, et al. Features of cough variant asthma and classic asthma during methacholine-induced bronchoconstriction: a cross-sectional study. *Cough*. 2009;5:3. PubMed PMID: 19272144. Pubmed Central PMCID: 2657099.
228. Lipinska-Ojrzanowska A, Wiszniewska M, Walusiak-Skorupa J. Cough-variant asthma: a diagnostic dilemma in the occupational setting. *Occupational medicine*. 2015 Mar;65(2):165-8. PubMed PMID: 25530078.
229. Lai K, Chen R, Lin J, Huang K, Shen H, Kong L, et al. A prospective, multicenter survey on causes of chronic cough in China. *Chest*. 2013 Mar;143(3):613-20. PubMed PMID: 23238526.
230. Lee BJ, Jeung YJ, Lee JY, Choi DC. Increased S-nitrosothiol levels in nonasthmatic eosinophilic bronchitis compared with cough variant asthma. *International archives of allergy and immunology*. 2011;156(1):99-103. PubMed PMID: 21447965.
231. Jiao HY, Su WW, Li PB, Liao Y, Zhou Q, Zhu N, et al. Therapeutic effects of naringin in a guinea pig model of ovalbumin-induced cough-variant asthma. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2015 Aug;33:59-65. PubMed PMID: 26169899.
232. Takemura M, Niimi A, Matsumoto H, Ueda T, Matsuoka H, Yamaguchi M, et al. Clinical, physiological and anti-inflammatory effect of montelukast in patients with cough variant asthma. *Respiration; international review of thoracic diseases*. 2012;83(4):308-15. PubMed PMID: 22094623.
233. Turcotte SE, Loughheed MD. Cough in asthma. *Current opinion in pharmacology*. 2011 Jun;11(3):231-7. PubMed PMID: 21565551.
234. Matsuoka H, Niimi A, Matsumoto H, Takemura M, Ueda T, Yamaguchi M, et al. Inflammatory subtypes in cough-variant asthma: association with maintenance doses of inhaled corticosteroids. *Chest*. 2010 Dec;138(6):1418-25. PubMed PMID: 20671058.

235. Kita T, Fujimura M, Ogawa H, Nakatsumi Y, Nomura S, Ishiura Y, et al. Antitussive effects of the leukotriene receptor antagonist montelukast in patients with cough variant asthma and atopic cough. *Allergology international : official journal of the Japanese Society of Allergology*. 2010 Jun;59(2):185-92. PubMed PMID: 20299826.
236. Dicipinigaitis PV, Dobkin JB, Reichel J. Antitussive effect of the leukotriene receptor antagonist zafirlukast in subjects with cough-variant asthma. *The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma*. 2002 Jun;39(4):291-7. PubMed PMID: 12095178.
237. Kawai S, Baba K, Matsubara A, Shiono H, Okada T, Yamaguchi E. The efficacy of montelukast and airway mast cell profiles in patients with cough variant asthma. *The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma*. 2008 Apr;45(3):243-50. PubMed PMID: 18415834.
238. Niimi A, Ohbayashi H, Sagara H, Yamauchi K, Akiyama K, Takahashi K, et al. Cough variant and cough-predominant asthma are major causes of persistent cough: a multicenter study in Japan. *The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma*. 2013 Nov;50(9):932-7. PubMed PMID: 23841529.
239. Tagaya E, Kondo M, Kirishi S, Kawagoe M, Kubota N, Tamaoki J. Effects of regular treatment with combination of salmeterol/fluticasone propionate and salmeterol alone in cough variant asthma. *The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma*. 2015 Jun;52(5):512-8. PubMed PMID: 25329681.
240. Matsumoto H, Tabuena RP, Niimi A, Inoue H, Ito I, Yamaguchi M, et al. Cough triggers and their pathophysiology in patients with prolonged or chronic cough. *Allergology international : official journal of the Japanese Society of Allergology*. 2012 Mar;61(1):123-32. PubMed PMID: 22377525.
241. Fujimura M, Ogawa H, Nishizawa Y, Nishi K. Comparison of atopic cough with cough variant asthma: is atopic cough a precursor of asthma? *Thorax*. 2003 Jan;58(1):14-8. PubMed PMID: 12511712. Pubmed Central PMCID: 1746464.
242. Ogawa H, Fujimura M, Takeuchi Y, Makimura K. Chronic cough management: dealing with a sensation of mucus in the throat. *Respirology*. 2013 May;18(4):732-3. PubMed PMID: 23418878.

243. Braman SS, Corrao WM. Cough: differential diagnosis and treatment. *Clinics in chest medicine*. 1987 Jun;8(2):177-88. PubMed PMID: 3304810.
244. Irwin RS, Madison JM. The diagnosis and treatment of cough. *The New England journal of medicine*. 2000 Dec 7;343(23):1715-21. PubMed PMID: 11106722.
245. Dicipinigaitis PV. Effect of the cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib on bronchial responsiveness and cough reflex sensitivity in asthmatics. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2001;14(2):93-7. PubMed PMID: 11273789.
246. Otsuka K, Niimi A, Matsumoto H, Ito I, Yamaguchi M, Matsuoka H, et al. Plasma substance P levels in patients with persistent cough. *Respiration; international review of thoracic diseases*. 2011;82(5):431-8. PubMed PMID: 21846969.
247. El-Hashim AZ, Jaffal SM, Al-Rashidi FT, Luqmani YA, Akhtar S. Nerve growth factor enhances cough via a central mechanism of action. *Pharmacological research*. 2013 Aug;74:68-77. PubMed PMID: 23742790.
248. Wex E, Bouyssou T. Olodaterol attenuates citric acid-induced cough in naive and ovalbumin-sensitized and challenged guinea pigs. *PloS one*. 2015;10(3):e0119953. PubMed PMID: 25781609. Pubmed Central PMCID: 4364307.
249. Benemei S, Patacchini R, Trevisani M, Geppetti P. TRP channels. *Current opinion in pharmacology*. 2015 Jun;22:18-23. PubMed PMID: 25725213.
250. Geppetti P, Patacchini R, Nassini R, Materazzi S. Cough: The Emerging Role of the TRPA1 Channel. *Lung*. 2010 Jan;188 Suppl 1:S63-8. PubMed PMID: 20091046.
251. Wang K, Birring SS, Taylor K, Fry NK, Hay AD, Moore M, et al. Montelukast for postinfectious cough in adults: a double-blind randomised placebo-controlled trial. *The Lancet Respiratory medicine*. 2014 Jan;2(1):35-43. PubMed PMID: 24461900.
252. Mincheva RK, Kralimarkova TZ, Rasheva M, Dimitrov Z, Nedeva D, Staevska M, et al. A real - life observational pilot study to evaluate the effects of two-week treatment with montelukast in patients with chronic cough. *Cough*. 2014;10(1):2. PubMed PMID: 24649919. Pubmed Central PMCID: 3994549.
253. Footitt J, Johnston SL. Cough and viruses in airways disease: mechanisms. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2009 Apr;22(2):108-13. PubMed PMID: 19480062.

254. Guan W, Zheng J, Gao Y, Jiang C, An J, Yu X, et al. Leukotriene D4 bronchial provocation test: methodology and diagnostic value. *Current medical research and opinion*. 2012 May;28(5):797-803. PubMed PMID: 22435894.
255. Seymour ML, Gilby N, Bardin PG, Fraenkel DJ, Sanderson G, Penrose JF, et al. Rhinovirus infection increases 5-lipoxygenase and cyclooxygenase-2 in bronchial biopsy specimens from nonatopic subjects. *The Journal of infectious diseases*. 2002 Feb 15;185(4):540-4. PubMed PMID: 11865407.
256. Niimi A. Cough, asthma, and cysteinyl-leukotrienes. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2013 Oct;26(5):514-9. PubMed PMID: 23774534.
257. Maher SA, Birrell MA, Belvisi MG. Prostaglandin E2 mediates cough via the EP3 receptor: implications for future disease therapy. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2009 Nov 15;180(10):923-8. PubMed PMID: 19729667. Pubmed Central PMCID: 2778154.
258. Dubuis E, Wortley MA, Grace MS, Maher SA, Adcock JJ, Birrell MA, et al. Theophylline inhibits the cough reflex through a novel mechanism of action. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2014 Jun;133(6):1588-98. PubMed PMID: 24406072. Pubmed Central PMCID: 4048545.
259. Gibson PG, Vertigan AE. Gabapentin in chronic cough. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2015 Dec;35:145-8. PubMed PMID: 26141016.
260. Birring SS. New concepts in the management of chronic cough. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2011 Jun;24(3):334-8. PubMed PMID: 21255671.
261. Gibson P, Wang G, McGarvey L, Vertigan AE, Altman KW, Birring SS, et al. Treatment of Unexplained Chronic Cough: CHEST Guideline and Expert Panel Report. *Chest*. 2016 Jan;149(1):27-44. PubMed PMID: 26426314.
262. Schmit KM, Coeytaux RR, Goode AP, McCrory DC, Yancy WS, Jr., Kemper AR, et al. Evaluating cough assessment tools: a systematic review. *Chest*. 2013 Dec;144(6):1819-26. PubMed PMID: 23928647.
263. Terasaki G, Paauw DS. Evaluation and treatment of chronic cough. *The Medical clinics of North America*. 2014 May;98(3):391-403. PubMed PMID: 24758953.

264. Konvalina G, Haick H. Sensors for breath testing: from nanomaterials to comprehensive disease detection. *Accounts of chemical research*. 2014 Jan 21;47(1):66-76. PubMed PMID: 23926883.
265. Queralto N, Berliner AN, Goldsmith B, Martino R, Rhodes P, Lim SH. Detecting cancer by breath volatile organic compound analysis: a review of array-based sensors. *Journal of breath research*. 2014 Jun;8(2):027112. PubMed PMID: 24862241.
266. Popov TA. Human exhaled breath analysis. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 2011 Jun;106(6):451-6; quiz 7. PubMed PMID: 21624743.
267. Lavra L, Catini A, Ulivieri A, Capuano R, Baghernajad Salehi L, Sciacchitano S, et al. Investigation of VOCs associated with different characteristics of breast cancer cells. *Scientific reports*. 2015;5:13246. PubMed PMID: 26304457. Pubmed Central PMCID: 4548242.
268. Hanf S, Bogozzi T, Keiner R, Frosch T, Popp J. Fast and highly sensitive fiber-enhanced Raman spectroscopic monitoring of molecular H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> for point-of-care diagnosis of malabsorption disorders in exhaled human breath. *Analytical chemistry*. 2015 Jan 20;87(2):982-8. PubMed PMID: 25545503.
269. Sun X, Shao K, Wang T. Detection of volatile organic compounds (VOCs) from exhaled breath as noninvasive methods for cancer diagnosis. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2015 Dec 16. PubMed PMID: 26677028.
270. Fischer S, Bergmann A, Steffens M, Trefz P, Ziller M, Miekisch W, et al. Impact of food intake on in vivo VOC concentrations in exhaled breath assessed in a caprine animal model. *Journal of breath research*. 2015 Dec;9(4):047113. PubMed PMID: 26670078.
271. Corradi M, Poli D, Banda I, Bonini S, Mozzoni P, Pinelli S, et al. Exhaled breath analysis in suspected cases of non-small-cell lung cancer: a cross-sectional study. *Journal of breath research*. 2015 Jun;9(2):027101. PubMed PMID: 25634546.
272. Guo L, Wang C, Chi C, Wang X, Liu S, Zhao W, et al. Exhaled breath volatile biomarker analysis for thyroid cancer. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine*. 2015 Aug;166(2):188-95. PubMed PMID: 25666355.

273. Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. *Biochemical and biophysical research communications*. 1991 Dec 16;181(2):852-7. PubMed PMID: 1721811.
274. Yang S, Park J, Lee YK, Kim H, Hahn YS. Association of longitudinal fractional exhaled nitric oxide measurements with asthma control in atopic children. *Respiratory medicine*. 2015 May;109(5):572-9. PubMed PMID: 25840483.
275. Chipps BE, Anderson CT, Harder JM. Fractional exhaled nitric oxide of at least 100 ppb and implications for future asthma research. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 2014 Jul;113(1):118-9. PubMed PMID: 24950849.
276. Haccuria A, Michils A, Michiels S, Van Muylem A. Exhaled nitric oxide: a biomarker integrating both lung function and airway inflammation changes. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2014 Sep;134(3):554-9. PubMed PMID: 24522091.
277. Ricciardolo FL. Revisiting the role of exhaled nitric oxide in asthma. *Current opinion in pulmonary medicine*. 2014 Jan;20(1):53-9. PubMed PMID: 24275926.
278. Dressel H, de la Motte D, Reichert J, Ochmann U, Petru R, Angerer P, et al. Exhaled nitric oxide: independent effects of atopy, smoking, respiratory tract infection, gender and height. *Respiratory medicine*. 2008 Jul;102(7):962-9. PubMed PMID: 18396030.
279. Elmasri M, Romero KM, Gilman RH, Hansel NN, Robinson CL, Baumann LM, et al. Longitudinal assessment of high versus low levels of fractional exhaled nitric oxide among children with asthma and atopy. *Lung*. 2014 Apr;192(2):305-12. PubMed PMID: 24414739.
280. Yao TC, Tsai HJ, Tu YL, Chang SW, Hua MC, Liao SL, et al. Multiplexed immunoglobulin E sensitization in relation to exhaled nitric oxide in a population sample of children. *Allergy*. 2014 May;69(5):678-82. PubMed PMID: 24576320.
281. Romero KM, Robinson CL, Baumann LM, Gilman RH, Hamilton RG, Hansel NN, et al. Role of exhaled nitric oxide as a predictor of atopy. *Respiratory research*. 2013;14:48. PubMed PMID: 23639047. Pubmed Central PMCID: 3654880.

282. Fuchs O, Genuneit J, Latzin P, Buchele G, Horak E, Loss G, et al. Farming environments and childhood atopy, wheeze, lung function, and exhaled nitric oxide. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2012 Aug;130(2):382-8 e6. PubMed PMID: 22748700.
283. Karrasch S, Ernst K, Behr J, Heinrich J, Huber RM, Nowak D, et al. Exhaled nitric oxide and influencing factors in a random population sample. *Respiratory medicine*. 2011 May;105(5):713-8. PubMed PMID: 21146387.
284. Calhoun KH. The role of fractional exhaled nitric oxide in asthma management. *Otolaryngologic clinics of North America*. 2014 Feb;47(1):87-96. PubMed PMID: 24286682.
285. Karlin E, Gebretsadik T, Peebles RS, Jr., Hartert TV, Langley EW, Arnold DH. Fractional exhaled nitric oxide change in pediatric patients after emergency department care of asthma exacerbations. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 2015 Feb;114(2):149-51. PubMed PMID: 25492099. Pubmed Central PMCID: 4727826.
286. Davis BE, Stewart SL, Martin AL, Cockcroft DW. Low levels of fractional exhaled nitric oxide and deep inhalation bronchoprotection are associated with mannitol non-responsiveness in asthma. *Respiratory medicine*. 2014 Jun;108(6):859-64. PubMed PMID: 24702886.
287. McNicholl DM, Stevenson M, McGarvey LP, Heaney LG. The utility of fractional exhaled nitric oxide suppression in the identification of nonadherence in difficult asthma. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2012 Dec 1;186(11):1102-8. PubMed PMID: 23024023.
288. Yi F, Chen R, Luo W, Xu D, Han L, Liu B, et al. Validity of Fractional Exhaled Nitric Oxide in Diagnosis of Corticosteroids Responsive Cough. *Chest*. 2016 Jan 22. PubMed PMID: 26836931.
289. Voorend-van Bergen S, Vaessen-Verberne AA, Landstra AM, Brackel HJ, van den Berg NJ, Merkus PJ, et al. Fractional Exhaled Nitric Oxide Monitoring Does Not Improve Asthma Management in Children with Concordant and Discordant Asthma Phenotypes. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2015 Oct 15;192(8):1016-8. PubMed PMID: 26469843.

290. McCormack MC, Aloe C, Curtin-Brosnan J, Diette GB, Breyse PN, Matsui EC. Guideline-recommended fractional exhaled nitric oxide is a poor predictor of health-care use among inner-city children and adolescents receiving usual asthma care. *Chest*. 2013 Sep;144(3):923-9. PubMed PMID: 23764806. Pubmed Central PMCID: 3760744.
291. Giovannelli J, Cherot-Kornobis N, Hulo S, Ciuchete A, Clement G, Amouyel P, et al. Both exhaled nitric oxide and blood eosinophil count were associated with mild allergic asthma only in non-smokers. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2015 Nov 5. PubMed PMID: 26542195.
292. Montuschi P, Mores N, Trove A, Mondino C, Barnes PJ. The electronic nose in respiratory medicine. *Respiration; international review of thoracic diseases*. 2013;85(1):72-84. PubMed PMID: 23018197.
293. Bjerg A, Lotvall J. Sniffing out steroid responsiveness in asthma using an electronic nose. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2013 Nov;43(11):1198-9. PubMed PMID: 24152151.
294. Fens N, van der Schee MP, Brinkman P, Sterk PJ. Exhaled breath analysis by electronic nose in airways disease. Established issues and key questions. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2013 Jul;43(7):705-15. PubMed PMID: 23786277.
295. Fens N, van der Sluijs KF, van de Pol MA, Dijkhuis A, Smids BS, van der Zee JS, et al. Electronic nose identifies bronchoalveolar lavage fluid eosinophils in asthma. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2015 May 1;191(9):1086-8. PubMed PMID: 25932767.
296. Luxon BA. Metabolomics in asthma. *Advances in experimental medicine and biology*. 2014;795:207-20. PubMed PMID: 24162911.
297. Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Correlation of exhaled breath temperature with bronchial blood flow in asthma. *Respiratory research*. 2005;6:15. PubMed PMID: 15705206. Pubmed Central PMCID: 553993.

298. Crespo Lessmann A, Giner J, Torrego A, Mateus E, Torrejon M, Belda A, et al. Usefulness of the Exhaled Breath Temperature Plateau in Asthma Patients. *Respiration; international review of thoracic diseases*. 2015;90(2):111-7. PubMed PMID: 26113222.
299. Paredi P, Caramori G, Cramer D, Ward S, Ciaccia A, Papi A, et al. Slower rise of exhaled breath temperature in chronic obstructive pulmonary disease. *The European respiratory journal*. 2003 Mar;21(3):439-43. PubMed PMID: 12661998.
300. Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Faster rise of exhaled breath temperature in asthma: a novel marker of airway inflammation? *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2002 Jan 15;165(2):181-4. PubMed PMID: 11790651.
301. Pifferi M, Ragazzo V, Previti A, Pioggia G, Ferro M, Macchia P, et al. Exhaled air temperature in asthmatic children: a mathematical evaluation. *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*. 2009 Mar;20(2):164-71. PubMed PMID: 18346098.
302. Flouris AD, Cheung SS. The validity of tympanic and exhaled breath temperatures for core temperature measurement. *Physiological measurement*. 2010 May;31(5):N35-42. PubMed PMID: 20348612.
303. Popov TA, Kralimarkova T, Tzachev C, Dimitrov V, Mun KK, Gill J. Exhaled breath temperature measurement made easy. *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*. 2009 Mar;20(2):200-1; author reply 2-3. PubMed PMID: 19017281.
304. Kralimarkova TZ, Popov TA. Exhaled breath temperature: broadening the horizons. *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*. 2014 Feb;18(2):250-1. PubMed PMID: 24429324.
305. Vermeulen S, Barreto M, La Penna F, Prete A, Martella S, Biagiarelli F, et al. Exhaled breath temperature in children: reproducibility and influencing factors. *The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma*. 2014 Sep;51(7):743-50. PubMed PMID: 24654705.

306. Ronmark E, Bjerg A, Hedman L, Perzanowski M, Sundberg S, Lundback B. The Obstructive Lung Disease in Northern Sweden (OLIN) longitudinal paediatric study I-- the first 10 years. *The clinical respiratory journal*. 2008 Oct;2 Suppl 1:26-33. PubMed PMID: 20298347.
307. 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):804-14. PubMed PMID: 25522203.
308. Birring SS, Spinou A. How best to measure cough clinically. *Current opinion in pharmacology*. 2015 Jun;22:37-40. PubMed PMID: 25819594.
309. Dudvarski Z, Djukic V, Janosevic L, Tomanovic N, Soldatovic I. Influence of asthma on quality of life and clinical characteristics of patients with nasal polyposis. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies*. 2013 Mar;270(4):1379-83. PubMed PMID: 23135235.
310. Zillmer LR, Gazzotti MR, Nascimento OA, Montealegre F, Fish J, Jardim JR. Gender differences in the perception of asthma and respiratory symptoms in a population sample of asthma patients in four Brazilian cities. *Jornal brasileiro de pneumologia : publicacao oficial da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia*. 2014 Nov-Dec;40(6):591-8. PubMed PMID: 25610499. Pubmed Central PMCID: 4301243.
311. McCallister JW, Holbrook JT, Wei CY, Parsons JP, Benninger CG, Dixon AE, et al. Sex differences in asthma symptom profiles and control in the American Lung Association Asthma Clinical Research Centers. *Respiratory medicine*. 2013 Oct;107(10):1491-500. PubMed PMID: 23972381. Pubmed Central PMCID: 3816372.
312. 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. PubMed PMID: 22951084.
313. French CT, Diekemper RL, Irwin RS, Panel CEC. Assessment of Intervention Fidelity and Recommendations for Researchers Conducting Studies on the Diagnosis and Treatment of Chronic Cough in the Adult: CHEST Guideline and Expert Panel Report. *Chest*. 2015 Jul;148(1):32-54. PubMed PMID: 25764280. Pubmed Central PMCID: 4493878.

314. Silverman EP, Carnaby-Mann G, Pitts T, Davenport P, Okun MS, Sapienza C. Concordance and discriminatory power of cough measurement devices for individuals with Parkinson disease. *Chest*. 2014 May;145(5):1089-96. PubMed PMID: 24264124. Pubmed Central PMCID: 4011653.
315. Bennett WD, Laube BL, Corcoran T, Zeman K, Sharpless G, Thomas K, et al. Multisite comparison of mucociliary and cough clearance measures using standardized methods. *Journal of aerosol medicine and pulmonary drug delivery*. 2013 Jun;26(3):157-64. PubMed PMID: 23517172.
316. Spina D, Page CP. Regulating cough through modulation of sensory nerve function in the airways. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2013 Oct;26(5):486-90. PubMed PMID: 23524012.
317. Shirai T, Mikamo M, Shishido Y, Akita T, Morita S, Asada K, et al. Impaired cough-related quality of life in patients with controlled asthma with gastroesophageal reflux disease. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 2012 May;108(5):379-80. PubMed PMID: 22541412.
318. Marsden PA, Satia I, Ibrahim B, Woodcock A, Yates L, Donnelly I, et al. Objective Cough Frequency, Airway Inflammation and Disease Control in Asthma. *Chest*. 2016 Mar 10. PubMed PMID: 26973014.
319. Liu M, Liu K, Zhu N, Xia J, Chen X. Inflammatory mediators in induced sputum and airway hyperresponsiveness in cough variant asthma during long-term inhaled corticosteroid treatment. *Mediators of inflammation*. 2012;2012:403868. PubMed PMID: 22927709. Pubmed Central PMCID: 3423943.
320. Brightling CE. Eosinophils, bronchitis and asthma: pathogenesis of cough and airflow obstruction. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2011 Jun;24(3):324-7. PubMed PMID: 21074631.
321. Jinnai M, Niimi A, Ueda T, Matsuoka H, Takemura M, Yamaguchi M, et al. Induced sputum concentrations of mucin in patients with asthma and chronic cough. *Chest*. 2010 May;137(5):1122-9. PubMed PMID: 20081098.

322. Palombini BC, Villanova CA, Araujo E, Gastal OL, Alt DC, Stolz DP, et al. A pathogenic triad in chronic cough: asthma, postnasal drip syndrome, and gastroesophageal reflux disease. *Chest*. 1999 Aug;116(2):279-84. PubMed PMID: 10453852.
323. Song WJ, Chang YS, Faruqi S, Kang MK, Kim JY, Kang MG, et al. Defining Chronic Cough: A Systematic Review of the Epidemiological Literature. *Allergy, asthma & immunology research*. 2016 Mar;8(2):146-55. PubMed PMID: 26739408. Pubmed Central PMCID: 4713878.
324. Millqvist E, Bende M. Role of the upper airways in patients with chronic cough. *Current opinion in allergy and clinical immunology*. 2006 Feb;6(1):7-11. PubMed PMID: 16505605.
325. Chung KF, Pavord ID. Prevalence, pathogenesis, and causes of chronic cough. *Lancet*. 2008 Apr 19;371(9621):1364-74. PubMed PMID: 18424325.
326. Oka A, Matsunaga K, Kamei T, Sakamoto Y, Hirano T, Hayata A, et al. Ongoing allergic rhinitis impairs asthma control by enhancing the lower airway inflammation. *The journal of allergy and clinical immunology In practice*. 2014 Mar-Apr;2(2):172-8. PubMed PMID: 24607045.
327. Khan DA. Allergic rhinitis and asthma: epidemiology and common pathophysiology. *Allergy and asthma proceedings : the official journal of regional and state allergy societies*. 2014 Sep-Oct;35(5):357-61. PubMed PMID: 25295802.
328. Bousquet J, Schunemann HJ, Samolinski B, Demoly P, Baena-Cagnani CE, Bachert C, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA): achievements in 10 years and future needs. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2012 Nov;130(5):1049-62. PubMed PMID: 23040884.
329. de Benedictis FM, Bush A. Rhinosinusitis and asthma: epiphenomenon or causal association? *Chest*. 1999 Feb;115(2):550-6. PubMed PMID: 10027458.
330. Cruz AA. The 'united airways' require an holistic approach to management. *Allergy*. 2005 Jul;60(7):871-4. PubMed PMID: 15932375.

## **БЛАГОДАРНОСТИ**

Бих искала да изразя благодарността си към моите научни ръководители, на първо място към проф. Тед Попов, който още от студентските ми години запали искрата на науката в мен и на когото винаги съм могла да разчитам за подкрепа, напътствия и конструктивна критика, и дискусиите с когото винаги са ме оставяли по-обогатена и вдъхновена.

На Jan Lötvall за безкрайно интересните дискусии и неспирните научни (и не само) разговори, които поддържаха енергията на любопитството в мен, а също и за непрестанния всеобхващащ ентузиазъм, с който заразява всички. Не и на последно място за личната подкрепа през дългите мрачни шведски зими и затова, че винаги е бил насреща.

На моите колеги от Крефтинг, но специално на Bosse Lundbäck и Apostolos Bossios, които винаги са намирали време за ценни съвети и напътствия, и чието търпение и разбиране почти няма граници.

На колегите, съавторите и приятелите ми от Клиниката по алергология в Александровска болница, за помощта, подкрепата и ценните съвети - проф. Васил Димитров, доц. Мария Стаевска, д-р Цветелина Лазарова, д-р Анна Валериева, д-р Елена Петкова, д-р Таня Кралимаркова.

На всички останали колеги, изследователи и сестри както от Крефтинг, така и от Клиниката по алергология, за помощта и подкрепата, както и специално на Венета Ранева и Eva-Marie Romell, които ми помагаша да се ориентирам в сложните за мен административни въпроси.

На моите добри приятели д-р Стилиана Михайлова и д-р Албена Атанасова, които винаги са ми помагали в моменти на трудност и на които винаги съм могла да разчитам (и да занимавам с несвойствени за тях неща).

И със сигурност не на последно място искам да благодаря на моето семейство - майка ми Румяна Минчева, баща ми Красимир Минчев и брат ми Виктор Минчев, които безрезервно винаги застават зад мен и винаги са ме насърчавали във всичко, с което съм се захващала. Благодаря за търпението и разбирането през всичките години, без тях нямаше как този труд да се осъществи.