

UTILIDAD DE LA PERIOSTINA COMO BIOMARCADOR DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO CORTICOIDEO EN EL ASMA

M. Ferrer Galván¹, V. Sánchez López², A. Gómez-Bastero³, A. Romero Falcón¹, J.F. Medina Gallardo¹, F. Álvarez Gutiérrez¹.

¹Unidad de Asma. UMQER. Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.

²Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS), CIBERES.

³Unidad de Asma. Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla.

RESUMEN

Objetivo: Determinar la utilidad de la periostina como biomarcador de inflamación eosinofílica y predictor de respuesta al tratamiento con corticoides inhalados.

Diseño: Estudio de cohortes prospectivo, durante el periodo marzo/2016-noviembre/2018.

Ámbito y sujetos: Se incluyeron un total de 81 sujetos con diagnóstico de asma bronquial valorados en consultas externas de asma de 2 hospitales. Para su inclusión debían haber mantenido como mínimo tratamiento con corticoide inhalado al menos 4 semanas.

Métodos: Se recogieron variables clínicas, funcionales y analíticas en el momento de la inclusión y al año de seguimiento.

Resultados: No encontramos diferencias en los niveles de periostina basales en función del sexo, índice de masa corporal, tabaquismo, rinitis, atopía ni dosis de corticoides inhalados usados. Sí encontramos niveles de periostina más elevados de forma significativa ($12,76 \pm 6,78$ vs $17,78 \pm 7,06$; $p: 0,026$), a niveles más elevados de FENO (≥ 35 ppb), pero no para eosinofilia en sangre (≥ 300 células/ μ l). En nuestra serie la periostina no fue un biomarcador de control.

Conclusiones: La periostina no parece ser un buen biomarcador de eosinofilia, sin embargo puede que sí nos ayude a identificar un fenotipo "T2 alto" que sea de utilidad para guiarnos en el manejo y tratamiento de los pacientes con asma. No hemos podido demostrar su utilidad como predictor de control actual ni futuro (medido en FEV1, número de exacerbaciones, grado de control clínico y control medido por ACT).

Palabras clave: Periostina, eosinofilia.

ABSTRACT

Objective: To determine the utility of periostin as a biomarker for eosinophilic inflammation and a predictor of response to inhaled corticosteroid treatment.

Design: A prospective cohort study carried out between March 2016 and November 2018.

Environment and subjects: A total of 81 subjects diagnosed with bronchial asthma evaluated in outpatient asthma clinics at 2 hospitals were included. To be included, patients had to have at least maintained treatment with inhaled corticosteroids for a minimum of 4 weeks.

Methods: Clinical, functional and analytical data was collected upon inclusion and after a year of follow-up.

Results: We did not find differences between baseline periostin levels according to sex, body mass index, tobacco use, rhinitis, atopy or inhaled corticosteroid dose. We did find significantly higher periostin levels (12.76 ± 6.78 vs 17.78 ± 7.06 ; $p: 0.026$) at higher FeNO levels (≥ 35 ppb), but not for blood eosinophilia (≥ 300 cells/ μ l). In our study, periostin was not a control biomarker.

Conclusions: Periostin does not seem to be a good biomarker for eosinophilia, although it may help us identify a "T2-high" phenotype that can be a useful guide in the management and treatment of patients with asthma. We were not able to prove the utility as a current or future control predictor (measured in FEV1, number of exacerbations, degree of clinical control and control measured by ACT).

Keywords: periostin, eosinophilia.

INTRODUCCIÓN

El asma es una enfermedad heterogénea compuesta de diferentes fenotipos, que hemos clasificado de forma general en inflamación T2 e inflamación no T2. La periostina se ha postulado como un marcador que caracteriza una inflamación tipo 2 debido a la regulación del gen POSTN. Es una proteína de matriz extracelular que actúa en la activación celular uniéndose a los receptores celulares de superficie. En las células epiteliales el gen POSTN se ha mostrado que regula "a la baja" el tratamiento con corticoides, sugiriendo que los corticoides podrían,

en teoría, reducir los niveles circulantes de periostina.

Se postuló hace unos años que la periostina tenía valor como biomarcador de eosinofilia, siendo el predictor más significativo de inflamación eosinofílica en la vía aérea, seguido de la fracción espirada de óxido nítrico (FENO), la eosinofilia sanguínea y la IgE¹. En el estudio BOBCAT² (*Bronchoscopic Exploratory Research Study of Biomarkers in Corticosteroid-refractory Asthma*), se midió la inflamación de la vía aérea a partir de muestras de esputo inducido y biopsias bronquiales, de 67 pacientes asmáticos que permanecían sintomáticos a pesar del tratamiento con

Recibido: 04.02.2021 Aceptado: 16.03.2021

Dra. Marta Ferrer Galván
martina11@hotmail.com

corticoide inhalado. Los niveles de periostina fueron significativamente mayores en los pacientes con eosinofilia en el esputo (> 3%), encontrando el punto de corte para periostina en 25 ng/ml. En el modelo de regresión logística que incluía sexo, edad, índice de masa corporal (IMC), niveles de IgE, eosinofilia sanguínea, niveles de FENO y niveles de periostina sérica, mostraba que de todos, el nivel de periostina era el mejor predictor de eosinofilia en vía aérea ($p = 0,007$). Ni la periostina, ni ninguno de los otros marcadores anteriores se correlacionó con el FEV₁, ACQ, edad, sexo o IMC. FENO y periostina fueron consistentes a lo largo de las visitas, aunque los niveles de FENO variaron más que los niveles de periostina.

Posteriormente, otros estudios han surgido en los que no se ha llegado a demostrar tal correlación entre periostina y eosinofilia en vía aérea, ni eosinofilia periférica. Wagener *et al*³, cuantificaron la relación entre eosinofilia periférica, FENO y periostina sérica con la eosinofilia en el esputo. Incluyeron pacientes con asma leve a grave y se tomaron muestras de esputo inducido, eosinofilia, periostina y FENO, encontrando que el mejor marcador para predecir la inflamación eosinofílica en la vía aérea era la eosinofilia periférica (AUC: 0,89), seguido del FENO (AUC: 0,78).

El grupo de Bobolea⁴ quiso determinar la utilidad de la periostina en esputo en pacientes con asma grave; concluyeron que aunque existe correlación entre periostina y eosinofilia en esputo, esta es débil ($r = 0,313$, $p = 0,02$).

La periostina sí parece tener utilidad para diferenciar inflamación T2 en pacientes con obstrucción crónica al flujo aéreo, encontrándose niveles más elevados en pacientes asmáticos no fumadores y EPOC con eosinofilia frente a pacientes asmáticos fumadores⁵. En un metaanálisis reciente en el que se incluyeron 1757 sujetos, se concluyó que la periostina sérica es útil para el diagnóstico de asma con una precisión moderada (AUC: 0,82, 95 % CI, 0,79 - 0,85)⁶.

Por último, la periostina parece un buen biomarcador inicial de respuesta al tratamiento con omalizumab. En el estudio de Tajiri *et al*⁷ se hizo el seguimiento de 30 pacientes que iniciaban tratamiento con omalizumab y observaron que aquellos que tenían de forma basal niveles de periostina más elevados (>60 ng/ml) y niveles de eosinófilos elevados, son los que más mejoraban una vez iniciado el tratamiento con omalizumab.

También se ha demostrado útil como marcador de respuesta al tratamiento con lebrikizumab (IL-13)⁸.

No queda tan claro la utilidad de la periostina en el seguimiento. En este mismo estudio de Tajiri *et al*⁷, observaron que de forma basal los niveles de periostina sérica y el recuento de eosinófilos era más alto en los pacientes sin exacerbaciones durante el primer año

que en los pacientes con exacerbaciones, pero una vez iniciado el tratamiento con omalizumab los pacientes en los que se reducía el número de exacerbaciones veían disminuidos los niveles séricos de IgE y los niveles de eosinófilos, mientras que la periostina mantenía una asociación inversa. Sin embargo, en el estudio de Novosad *et al*⁹, los niveles de periostina disminuyeron en los pacientes tratados con omalizumab en comparación con los pacientes tratados de forma convencional ($p = 0,025$).

El objetivo principal del estudio era determinar la utilidad de la periostina como predictor de respuesta al tratamiento con corticoides inhalados (medida con parámetros de función respiratoria, ACT, número de exacerbaciones leve-moderada y graves). Como objetivo secundario nos planteamos analizar la correlación de la periostina con los niveles de FENO y eosinofilia periférica.

METODOLOGÍA

Diseño del estudio: Estudio de cohortes prospectivo con seguimiento al año. A todos los pacientes incluidos se les extrajo una muestra de sangre en la visita inicial y en la visita final a los 12 meses, para la determinación de la periostina, los niveles de IgE y el número de eosinófilos. La determinación de la IgE específica sólo se realizaba en la visita inicial si el paciente no tenía un estudio anterior de hipersensibilidad (test cutáneos o IgE específica).

Se determinaron las variables clínicas, funcionales (FENO, espirometría con broncodilatación,) analíticas (hemograma, periostina y niveles de IgE en algunos casos) y de control (número de exacerbaciones leves-moderadas y graves, número de ingresos, número de ciclos de esteroides orales, número de visitas en urgencias, uso de medicación de rescate) en la visita basal y final al año. Se chequeaba el tratamiento prescrito y la técnica inhalatoria, pudiendo consultar antes vía telefónica (se les proporcionaba contacto) si lo precisaban. Cualquier modificación en el tratamiento quedaba registrada en la base de datos (aumento o disminución de la dosis equivalente de corticoides, introducción o cese de otros tratamientos para el asma) así como el grado de cumplimiento del tratamiento.

Población: Se incluyeron los pacientes atendidos en consultas de la Unidad de Asma del H.U. Virgen del Rocío y del H.U. Virgen Macarena que cumplieran todos los criterios de inclusión:

1. Mayor de 18 años con diagnóstico de asma leve a severa.
2. Haber mantenido la misma dosis de corticoide inhalado durante al menos 4 semanas antes de la inclusión. Como medicación concomitante, estaba permitido el antagonista receptor de leucotrieno, los corticoides orales, los anticolinérgicos, los b2 agonistas

y anticuerpo monoclonal.

3. Aceptación y firma del consentimiento informado y ningún criterio de exclusión:

1. Historia tabáquica >10 paq/año o haber fumado en el año previo a la inclusión.
2. Tener otras patologías pulmonares concomitantes (bronquiectasias, síndrome de apnea-hipopnea del sueño, fibrosis pulmonar).
3. Negación al consentimiento informado.

Medición de los niveles de periostina:

Extracción de sangre venosa

De todos los participantes se recogió sangre venosa con una aguja de calibre 21 en tubos de 9 mL con gel de polímero Vacuette® SST™ (Greiner bio-one, North Carolina, EE.UU). Los tubos se transportaron al laboratorio a temperatura ambiente utilizando el sistema de transporte de muestras de nuestro hospital.

Preparación del suero

La sangre se centrifugó a 3.000 rpm durante 10 min a 20°C y el suero obtenido se homogeneizó y se distribuyó en alícuotas de 500 µL que se almacenaron a -80 °C hasta su posterior análisis.

Medición de concentración de Periostina

La cuantificación de periostina se realizó a partir del suero de los pacientes mediante ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). Esta técnica consiste en la detección de un antígeno inmovilizado (periostina en nuestro caso) utilizando un anticuerpo específico que está conjugado con una enzima la cual, al añadirle un sustrato determinado genera una reacción cuyo producto es detectable, cuantificable y cuya cantidad es directamente proporcional a la cantidad inicial de antígeno inmovilizado. Para su realización se utilizaron kits de ELISA comerciales especialmente diseñados para ello (RayBio® Human Periostin ELISA Kit, Peachtree Corners, GA, EEUU) siguiendo las recomendaciones del fabricante. 100 µL de suero o de calibrador (8 calibradores en total) se añadieron en una placa con pocillos tapizados con anticuerpo monoclonal específico para periostina. Tras 2,5 horas de incubación a temperatura ambiente, la placa se lavó con solución tampón de lavado para eliminar el exceso de muestra. A continuación, se añadieron 100 µL de anticuerpo biotinilado y se incubó durante 1 hora. Tras 3 lavados con tampón se añadieron 100 µL de solución de estreptavidina con la enzima peroxidasa y se incubaron las muestras 45 minutos. Posteriormente, se añadió el sustrato de la enzima (TMB) y pasados 30 minutos la reacción se paró añadiendo 50 µL de ácido sulfúrico 0,8M. El producto de la reacción dio coloración de forma proporcional a la concentración de periostina de la muestra. La intensidad de ese color generado se midió en un espectrofotómetro a 405 nm (TECAN infinite

F200 pro, Männedorf, Suiza). A partir de los calibradores se elaboró una curva patrón que se utilizó para el cálculo de concentración de Periostina expresada como ng/ml.

Medición de FENO: La determinación de la FENO se realizó con el equipo NIOX MINO (Aerocrine, Solna, Sweden). Ya está establecido en las guías de práctica clínica el punto de corte de FENO para el diagnóstico de asma, sin embargo no se ha consensuado el punto de corte para poder identificar pacientes con asma T2 baja o T2 alta. Aunque no hay punto de corte concreto en las diferentes publicaciones, todas coinciden en definir el nivel alto de activación inmunitaria T2 a partir de $FENO \geq 30^{10}$, $\geq 35^{11}$ o $\geq 40^{12}$ ppm, según los diferentes autores. Para este estudio hemos decidido usar valores de $FENO \geq 35$ para clasificar T2 alto.

Otras mediciones: Se midieron igualmente los niveles en sangre de eosinófilos, neutrófilos y los niveles séricos de IgE total cuando procedía. En todas las visitas se realizaba la espirometría con broncodilatación cumpliendo los criterios de aceptabilidad y reproducibilidad.

Análisis estadístico: Los resultados cuantitativos se expresan como media y desviación estándar, cuando seguían una distribución normal y los cualitativos como valores absolutos y frecuencias.

Para la comparación de variables cuantitativas entre diferentes grupos clínicos se ha utilizado el test de la T pareada de Student. Las asociaciones entre parámetros cualitativos y/o cuantitativos del análisis de los niveles de periostina, eosinófilos, neutrófilos e IgE en sangre con parámetros funcionales y variables clínicas de seguimiento se han establecido mediante regresión logística. Los estudios de correlación entre los parámetros analíticos en el grupo de "T2 bajo" y "T2 alto" se realizó mediante correlaciones bivariadas simples, calculado el coeficiente de correlación de Pearson (Spearman en caso de distribución no paramétrica de las variables), calculando el coeficiente de determinación. En todos los análisis realizados se considerará la prueba estadísticamente significativa cuando la $p < 0,05$.

Los datos se analizaron con el programa estadístico SPSS para Windows v.13.

RESULTADOS

En total han sido incluidos 81 pacientes con asma y 10 controles. De los 81 pacientes tenemos las determinaciones analíticas en visita basal de 51 y 16 en la visita final. Se perdió el seguimiento de un total de 30 sujetos.

En la **tabla 1** se recogen las características basales de los pacientes incluidos. Más de la mitad de los pacientes tenían asma moderada o grave (38,6% y 18,2%

respectivamente), con hipersensibilidad demostrada (58,3%). La mayoría de los pacientes tenía buen control clínico (55,8%). En cuanto al resto de comorbilidades, el 54,2% tenían rinitis, y no tuvimos ningún caso de poliposis nasal. La dosis de corticoide media de beclometasona fue 1.149,78 ± 1.113,37, que son dosis altas de corticoides inhalados. Los biomarcadores de eosinofilia en la visita basal fueron: FENO (36,29 ± 32,21) ppb, eosinófilos en sangre (0,24 ± 0,24 x 10⁹/L) y (5,51 ± 6,19) %. El nivel medio de periostina fue 13,98 ± 7,02 (ng/mL) en sangre.

Tabla 1. Características demográficas, clínicas y funcionales de la población de estudio.

Características basales en el momento de inclusión en el estudio	Sujetos (n = 51)
Demográficas y clínicas	
Sexo (Mujer)	72,3%
Edad (años), (media±DE)	46,8 ± 16,62
Hábito tabáquico	
No	63%
Exfumador	37%
IMC (media±DE)	29,16 ± 6,26
Edad de inicio	
<18	30%
≥18	70%
Exacerbaciones año previo (media±DE)	0,74 ± 1,45
Atopia	58,3%
Rinitis	54,2%
Poliposis	0,0%
Bronquiectasias	0,0%
RGE	8,3%
SAHS	0,0%
Alteración inmunitaria	5,7%
Gravedad del asma	
Intermitente	6,8%
Leve	36,4%
Moderado	38,6%
Grave	18,2%
Control asma visita	
Controlado	55,8%
Parcialmente controlado	25,6%
Mal controlado	18,6%
ACT	
< 20	0,58
20-24	0,2
25	0,22
Función pulmonar	
FEV ₁ , preBD %, (media±DE)	86,03 ± 21,49
FEV ₁ , preBD (litros), (media±DE)	2,45 ± 1,02
FEV ₁ /FVC, preBD, (media±DE)	71,67 ± 14,56
Reversibilidad, %	13,50%
Tratamiento	
Dosis media beclometasona, (media±DE)	1149,78 ± 1113,37
Omalizumab	4,2%
Biomarcadores	
FENO (ppb), (media±DE)	36,29 ± 32,21
Eosinófilos en sangre (x 10 ⁹ /L), (media±DE)	0,24 ± 0,24
Eosinófilos (%), (media±DE)	5,51 ± 6,19
Neutrófilos en sangre %, (media±DE)	3,86 ± 1,76
Periostina (ng/mL) en sangre, (media±DE)	13,98 ± 7,02

DE: Desviación estándar; IMC: índice de masa corporal; RGE: Reflujo gastroesofágico; SAHS: Síndrome apnea-hipopnea del sueño; ACT: Asthma control test; preBD: prebroncodilatador; FENO: Fracción espirada de óxido nítrico; ppb: partes por billón.

Periostina como marcador de control

De forma basal a mejor grado de control del asma, encontramos niveles más altos de periostina, pero sin llegar a la significación estadística (tabla 2). No encontramos diferencias en los niveles de periostina basales para los pacientes bien controlados frente a los parcial o mal controlados (14,17 ± 7,33 vs 13,95 ± 7,05; p: 0,921). Tampoco hubo diferencias cuando se tomó la puntuación medida por ACT para establecer el control, tomando como puntuación ≥20 frente a los pacientes con <20 puntos de ACT (14,83 ± 7,17 vs 13,61 ± 6,84; p: 0,546).

Tampoco encontramos que los niveles de periostina basales, tomando como punto de corte 25 ng/ml, se relacionaran con mayor riesgo de sufrir exacerbaciones en el futuro.

Tabla 2. Niveles basales de periostina en función del grado de control inicial.

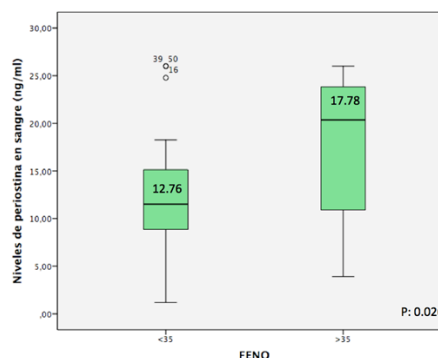
	Media	Desviación estándar
Bueno	14,17	7,33
Parcial	14,85	7,84
Malo	12,71	6,09
Control sano	17,3	10,05

Periostina y marcadores de eosinofilia

No encontramos relación entre el número de eosinófilos y los niveles de periostina, tampoco al diferenciar pacientes con eosinófilos < 300 células/μl y eosinófilos ≥300 células/μl (14,05 ± 7,30 vs 14,04 ± 6,64; p:0,997).

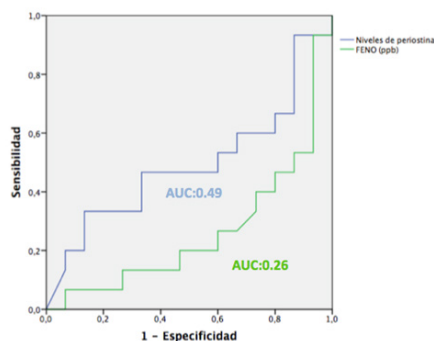
Al clasificar los pacientes en grupo "T2 bajo" (valores FENO < 35 ppb) y "T2 alto" (FENO ≥ 35 ppb), sí encontramos diferencias significativas en los niveles medios de periostina (12,76 ± 6,78 vs 17,78 ± 7,06; p: 0,026) (figura 1).

Figura 1. Niveles medios de periostina en pacientes con FENO <35 ppb y FENO ≥ 35 ppb.



No encontramos correlación entre los niveles de periostina y la gravedad del asma (-0,72, p <0,642), ni con las exacerbaciones (0,025, p <0,867), ni con el FEV₁ (0,102, p: 0,496). En el figura 2 se resumen la sensibilidad y especificidad de periostina y FENO para la eosinofilia en sangre, siendo la curva ROC de 0,493 y 0,260 respectivamente.

Figura 2. Curva ROC de la sensibilidad y especificidad de la periostina sérica y para la eosinofilia en sangre.



DISCUSIÓN

De forma basal no encontramos diferencias en los niveles de periostina en función del tabaquismo, edad, IMC u otras comorbilidades como rinitis o atopía, lo que sugiere como se apunta en algunos estudios^{1,13}, que la periostina podría ser un biomarcador estable. Tampoco hubo diferencias en los niveles de periostina en función de si la dosis utilizada de corticoide inhalado era baja o media-alta como señala también el estudio de Fingleton¹⁴.

En la serie analizada encontramos que la periostina no se correlaciona bien con la eosinofilia en sangre, ni tampoco con los niveles de FENO, como demuestran estudios previos^{3,15}. No pudimos comparar con otros parámetros de inflamación de vía aérea al no tener muestra de lavado alveolar ni esputo inducido.

Sin embargo, sí parece de utilidad para diferenciar pacientes "T2 bajo" y "T2 alto", al igual que postulan otros autores^{5, 6}. En nuestro caso, y tomando como referencia datos de publicaciones previas, anteriormente comentadas, encontramos que el punto de corte para FENO en 35 ppb diferenciaba bien el grupo "T2 bajo" y "T2 alto", con niveles de periostina medios de 12,76 y 17,78 ng/ml respectivamente.

Tampoco parece ser la periostina un marcador pronóstico de control. No hemos encontrado relación entre niveles de periostina basales y grado de control en el momento basal, ni medido por grado de control clínico ni por ACT, aunque los niveles más elevados corresponden a los controles sanos (17,30 ± 10,05). Esto nos lleva a una probable limitación y es que los Kits comerciales empleados para la determinación de periostina son diferentes en cada estudio y por ellos los puntos de corte varían. Así los niveles de periostina en controles sanos varían desde 20 a 50 ng/ml, en función del kit usado^{16,17}.

Otra de las limitaciones del estudio ha sido la pérdida de seguimiento de pacientes, que ha hecho que el estudio pierda potencia estadística.

CONCLUSIÓN

La periostina no parece ser un buen biomarcador de eosinofilia, sin embargo puede que sí nos ayude a identificar un fenotipo "T2 alto" que sea de utilidad para guiarnos en el manejo y tratamiento de los pacientes con asma. No hemos podido demostrar su utilidad como predictor de control medido en grado de control clínico, ACT y exacerbaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Berry A, Busse WW. Biomarkers in asthmatic patients: Has there time come to direct treatment? *Journal of Allergy Clinical Immunol.* 2016; 137 (5): 1.317-1.324.
- Jia G, Erickson RW, Choy DF et al. Bronchoscopic Exploratory Research Study of Biomarkers in Corticosteroid-refractory Asthma (BOBCAT) Study Group *J Allergy Clin Immunol.* available in PMC 2013 Sep 1.
- Wagener AH, De Nijs SB, Lutter R et al. External validation of blood eosinophils, FE(NO) and serum periostin as surrogates for sputum eosinophils in asthma. *Thorax.* 2015; 70: 115–20.
- Bobolea I, Barranco P, Del Pozo V et al. Sputum periostin in patients with different severe asthma phenotypes. *Allergy.* 2015; 70: 540–6.
- Pérez de Llano L, Cosío BG, Iglesias A et al.; CHACOS study group. Asthma-COPD overlap is not a homogeneous disorder: further supporting data. *Respir Res.* 2017; 18: 183.
- Yang L, Zhao Q, Wang S. The role of serum periostin in the diagnosis of asthma: A meta-analysis. *Allergy Asthma Proc.* 2020; 41 (4): 240-247.
- Tajiri T, Matsumoto H, Gon Y et al. Utility of serum periostin and free IgE levels in evaluating responsiveness to omalizumab in patients with severe asthma. *Allergy.* 2016; 71: 1.472-1.479.
- Corren J, Lemanske RF, Hanania NA et al. Lebrikizumab treatment in adults with asthma. *N Engl J Med.* 2011; 365:1.088–98.
- Novosad J, Krcmová I, Bartos V et al. Serum periostin levels in asthma patients in relation to omalizumab therapy and presence of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Postepy Dermatol Alergol.* 2020; 37(2): 240-249.
- Busse W, Holgate ST, Wenzel SW et al. Biomarker profiles in asthma with high vs low airway reversibility and poor disease control. *Chest.* 2015; 148: 1.489-1.496.
- Dweik RA, Sorkness RL, Wenzel S et al. Use of exhaled nitric oxide measurement to identify a reactive, at-risk phenotype among patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010; 181: 1.033–41.
- Wagener AH, de Nijs SB, Lutter R et al. External validation of blood eosinophils, FENO and serum periostin as surrogates for sputum eosinophils in asthma. *Thorax* 2015; 70: 115-120.
- James A, Janson C, Malinovschi A et al. Serum periostin relates to type-2 inflammation lung function in asthma: Data from the large population-based cohort Swedish GA(2) LEN. *Allergy.* 2017; 72: 1.753-1.760.

14. Fingleton J, Braithwaite I, Travers J et al. Serum periostin in obstructive airways disease. *Eur Respir J*. 2016; 47:1.383-1.391.
15. Crespo A, Giner J, Torrejón M et al. Clinical and inflammatory features of asthma with dissociation between fractional exhaled nitric oxide and eosinophils in induced sputum. *J Asthma*. 2016; 53: 459–64.
16. Matsumoto H. Serum periostin: a novel biomarker for asthma management. *Allergol Int*. 2014; 63: 153–60.
17. Samitas K, Delimpoura V, Zervas E et al. Anti-IgE treatment, airway inflammation and remodelling in severe allergic asthma: current knowledge and future perspectives. *Eur Respir Rev*. 2015; 24: 594–601.