

## البروتين الايوزيني الكاتيوني ECP واصماً حيويًا لتفعيل الحمضات في الداء الرئوي الانسدادي المزمن COPD Eosinophil Cationic Protein (ECP) is a biomarker of eosinophils activation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD)

رنا حدادي، خليل القوتلي، شادن حداد

Rana Hadaki, Khalil Kwatli, and Shaden Haddad

قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة - كلية الصيدلة - جامعة دمشق

Department of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Pharmacy, Damascus University

### المخلص Abstract:

تمثل الاستجابة الالتهابية المزمنة في السبل التنفسية السمة الرئيسية لإمراضية الداء الرئوي الانسدادي المزمن COPD، ومع أنها عادةً استجابة التهابية متواسطة بالعدلات، فقد وُجِدَ أنّ للحمضات دورًا فيها، ولكن من غير الواضح حتى الآن دور تفعيل الحمضات، وبروتيناتها المفرزة في إمراضية الـ COPD وحدوث سوراتها. يمثل البروتين الايوزيني الكاتيوني ECP واحدًا من أبرز البروتينات المفرزة من الحمضات عقب تفعيلها، ومن ثم تُعد تراكيزه مشعرًا لتفعيل الحمضات. أظهرت الدراسة الحالية ارتفاعًا في تراكيز ECP المصلية لدى مرضى COPD بالمقارنة مع الأصحاء، وكانت تراكيزه أعلى لدى مرضى السورات من تراكيزه لدى مرضى COPD بحالة الهدأة، ما يشير إلى حدوث تفعيل للحمضات لدى هؤلاء المرضى وإفرازها ECP الذي يتمتع بفعاليات بيولوجية عديدة سامة، وغير سامة للخلايا التي تسهم في التغيرات المرضية المميزة COPD.

Chronic inflammatory response in airways represents the main feature of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) pathology. Although it's usually a neutrophil-mediated immune response, eosinophils are found to take part in it. However, the role of activation of eosinophils and their secreted proteins in COPD pathology remains unclear. Eosinophil cationic protein (ECP) is one of the main proteins that are released from eosinophils after their activation, thus its levels are considered as an indicator of eosinophils activation. The current study shows that serum ECP levels were higher in COPD patients compared with healthy subjects, and more elevated in COPD Exacerbation than in stable COPD patients. That indicates the occurrence of Eosinophils activation and secretion of ECP which has a variety of toxic and nontoxic biological activities, which contribute to pathological changes observed in COPD.

### الكلمات المفتاح Key words:

الداء الرئوي الانسدادي المزمن، البروتين الايوزيني الكاتيوني، والحمضات.

Chronic Obstructive Pulmonary Disease - Eosinophil cationic protein – eosinophils.

## المقدمة Introduction

يُعرفُ الداء الرئوي الاسدادي المزمن أنه مرضٌ شائع يمكن تدبيره والوقاية منه، يترافق مع أعراض تنفسية دائمة أبرزها الزلة التنفسية والسعال المنتج، ويتميز باستجابة التهابية مزمنة في السبل التنفسية تؤدي إلى تحدد (تضييق) لا عكوس في المجرى الهوائي [1, 2]، ويشكّل هذا الداء سبباً رئيسياً للمراضة والموتة، إذ يحتل المرتبة الثالثة بين الأسباب المؤدية إلى الوفاة عالمياً [3]، وتختلف معدلات انتشاره من بلد إلى آخر [1]، وتُعدّ سوريّة ذات أعلى معدل انتشار للـ COPD في دول الشرق الأوسط [4]. يعتمد تشخيص الـ COPD على تأكيد وجود التحدد الهوائي اللاعكوس باستخدام قياس التنفس Spirometry، إذ تُحسب النسبة ما بين الحجم الزفيرى القسري في الثانية الأولى Forced Expiratory Volume In One Second (FEV1) والسعة الحيوية القسرية (FVC) Forced Vital Capacity أي FEV1/FVC، وتُعدّ أي نسبة أقل من 0.7 بعد إرذاذ الموسع القسبي مشخصة للـ COPD [2].

يترافق هذا المرض مع آونة تسوء فيها الأعراض التنفسية على نحو يستدعي تغيير العلاج وقد يؤدي إلى الحاجة إلى الاستشفاء، وتُدعى هذه الفترات الآونة بسورات (هجمات) الـ COPD (COPD Exacerbations)، وتُعدّ هذه السورات حدثاً مهدداً للحياة، وتترافق مع زيادة في الاستجابة الالتهابية في السبل التنفسية وتزداد جهازياً [1, 2].

إنّ آلية الـ COPD الإراضية غير مفهومة جيداً، ولكن عادةً ما تكون الاستجابة الالتهابية المتوسطة بالعدلات هي الاستجابة الالتهابية المسيطرة فيه [5]، ومع ذلك فقد تشارك الحمضات في هذه الاستجابة المناعية وقد تحدث زيادة في أعداد الحمضات لدى مرضى الـ COPD [5-7]، ما قد يترافق مع زيادة في إفراز البروتينات الموجودة ضمن حبيباتها، ما يوحي بحدوث تفعيل لهذه الخلايا المناعية، ومشاركتها هي وبروتيناتها المفرزة في رد الفعل المناعي المميز لهذا المرض [8]، وما يدعم هذه الفرضية أنّ ما يقارب ثلث مرضى الـ COPD يبدون نمطاً التهابياً حامضياً، أي تسود لديهم الاستجابة المناعية المتوسطة بالحمضات على نحو مشابه لمرضى الربو [2, 5]، ومن ثمّ فمن المفيد دراسة دور تفعيل الحمضات وليس فقط تعدادها في إراضية الـ COPD، لفهم آليته الإراضية فهماً أفضل ومن ثمّ إمكانية تطوير علاجات مستقبلية له.

يوجد البروتين الايوزيني الكاتيوني ECP ضمن حبيبات الحمضات إلى جانب البروتين الأساسي القاعدي Major Basic Protein، والبروكسيداز الايوزيني Eosinophil Peroxidase، والسم العصبي المشتق من الحمضات Eosinophil-derived Neurotoxin والبروتين X الايوزيني Eosinophil Protein X [9]، ولا يُفرز الـ ECP سوى من الحمضات المُفَعّلة، ومن ثمّ تُعدّ تراكيزه مشعرًا للتحري عن دوره ودور الحمضات المُفَعّلة في الأمراض المختلفة مثل الـ COPD والربو [9, 10].

بيدي ECP فعاليات بيولوجية عديدة سامة للخلايا البشرية وغير البشرية، فهو ذو فعالية مضادة للأحياء الدقيقة، ويتمتع بتأثيرات بيولوجية غير سامة للخلايا، فعلى مستوى الجهاز التنفسي يؤدي ECP دوراً بتنظيم فعالية الأرومة الليفية، ويحرض إفراز المخاط، ويقلل من حركة الأهداب في الظهارة التنفسية، ويتواسط تقلص العضلات الملس في هذه السبل أيضاً، كما بيدي دوراً في إعادة تشكيل (نمذجة) النسيج التنفسي tissues remodeling [9, 11]. وعادةً ما تُلاحظ هذه التغيرات المرضية مثل تقلص العضلات الملس في السبل التنفسي وفرط إفراز المخاط وإعادة تشكيل النسيج التنفسي لدى مرضى الـ COPD [1] ومن ثمّ قد يؤدي ECP دوراً في حدوثها لدى هؤلاء المرضى.

تهدف هذه الدراسة للتحري عن دور الحمضات المُفَعّلة والبروتين الايوزيني الكاتيوني ECP في إراضية الـ COPD وحدث سوراته لدى مرضى سوربين بوساطة تحديد تراكيز ECP المصلية لديهم.

## المواد والطرائق Materials and methods

هذه الدراسة من النمط حالة شاهد Case control، تضمنت 87 فرداً، 20 منهم أصحاء ظاهرياً، 32 مريضاً COPD بحالة الهدأة (حالة مستقرة)، و35 مريضاً COPD بحالة السورة، ووثقت بيانات عدة لكل فرد منهم والتي شملت عمره، وجنسه، ومنسب التدخين لديه، فضلاً عن عدد أيام الاستشفاء لدى مرضى السورات.

شملت معايير التضمين inclusion criteria في هذه الدراسة أي مريض COPD شُخصَ المرض لديه بعد تقويمه من مختص الداخلية الصدرية وإجراء قياس التنفس بالنسبة إلى المرضى، إذ اعتمدت النسبة FEV1/FVC < 0.7 بعد إرذاذ الموسع القسبي

عُوِيَرَت تراكيز الـECP بالامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم ELISA باستخدام عتيدة Human ECP ELISA Kit لشركة USCN الصينية، وعُمِلَ وفقاً لتعليمات الشركة المصنعة.

#### الدراسة الإحصائية:

استُخِدِمَ برنامج SPSS الإصدار 25 و GraphPad Prism 9، لإنجاز كامل الدراسة الإحصائية، وعُبِّرَ عن القيم المختلفة باستخدام المتوسط الحسابي  $\pm$  الانحراف المعياري، وقُوِرِنَت قيم تراكيز ECP المصلية للمجموعات المختلفة باستخدام Kruskal–Wallis test، واستُخِدِمَ اختبار Mann–Whitney في المقارنة بين قيم مجموعتين فقط، أما لدراسة علاقة الارتباط بين المعالم المختلفة فاستُخِدِمَ اختبار chi-square، واعتمِدَت قيمة  $p < 0.05$  بوصفها قيمة يعتد بها إحصائياً.

### النتائج Results

#### الخصائص العامة والديموغرافية لأفراد الدراسة

شملت الدراسة 87 فرداً، 23 من الإناث و64 من الذكور وُزِعوا في ثلاث مجموعات رئيسية، ويبين الجدول (1) الخصائص العامة والديموغرافية لهم تبعاً لمجموعاتهم.

نسبةً تشخيصية، أما بالنسبة إلى الأصحاء فقد نُفِيَت إصابتهم به.

أما معايير الاستبعاد exclusion criteria فشملت أي مريض لديه واحد أو أكثر مما يأتي: ذبحة أو احتشاء عضلة قلبية، وأمراض تنفسية أخرى ما عدا COPD (مثل الربو والتليف الرئوي)، وأمراض تأتبية (تحسسية)، وتناول أدوية ستيروئيدية في 14 يوماً قبل سحب العينة الدموية.

حصلت هذه الدراسة على موافقة لجنة الأخلاقيات الحيوية في جامعة دمشق بتاريخ 2021/7/6 وبرقم 4042، وأُخِدَت موافقة كل فرد للمشاركة في هذه الدراسة بوساطة الموافقة المستنيرة.

جُمِعَت العينات الدموية للأصحاء والمرضى في المدة الواقعة بين نيسان، وتشرين الأول من عام 2021، إذ بُزِلَ 5 مل من الدم الوريدي من كل مشارك في هذه الدراسة على أنبوب جاف، وتُرِكَ في درجة حرارة الغرفة حتى تمام التخثر، ومن ثم تُفِلَت العينات بسرعة Xg 1680 ولمدة خمس عشرة دقيقة، أُخِدَ المصل لكل عينة فيما بعد، وُزِعَ على ثلاثة أنابيب ابيندروف التي حُفِظَت في الدرجة 80 – Co إلى حين إجراء المعايرة.

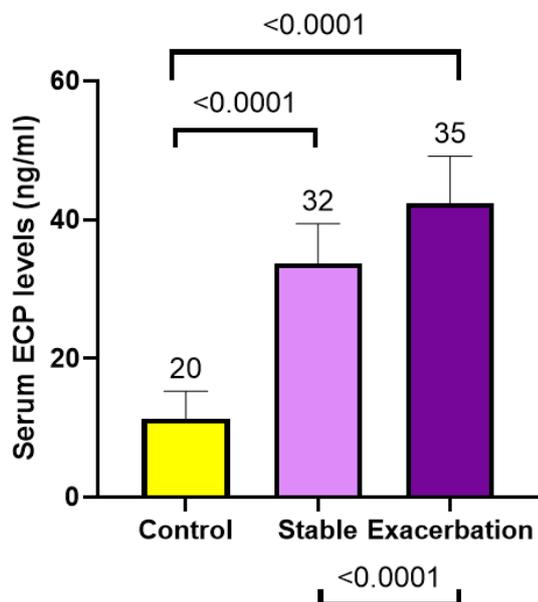
#### الجدول (1): الخصائص العامة والديموغرافية لأفراد الدراسة

مجموعة مرضى COPD n = 67		مجموعة الأصحاء n= 20	المتغير
مجموعة السورة n = 35	مجموعة الهدأة n = 32		
			الجنس*
26	25	13	ذكر
9	7	7	أنثى
8.99 ± 68.94	8.72 ± 63.22	9.76 ± 57.25	العمر**
3.55 ± 6.86	–	–	عدد أيام الاستشفاء**
حالة التدخين			
32	30	11	مدخن حالي*
1	0	0	مدخن سابق*
2	2	9	غير مدخن*
43.99 ± 66.14	32.86 ± 58.97	41.07 ± 37.45	منسب التدخين** (علبة / سنة)

\*عُبِّرَ عن هذه القيم بتكرارها

\*\*عُبِّرَ عن هذه القيم باستخدام المتوسط الحسابي  $\pm$  الانحراف المعياري

لم نجد ارتباطاً معنوياً بين العمر وتركيز ECP لدى كل مجموعة إذ بلغت قيمة  $P$  لدى الأصحاء 0.459، ولدى المرضى بحالة الهدأة 0.547، أما لدى مرضى السورات فبلغت 0.590.



الشكل 1: مقارنة تراكيز ECP المصلية بين الأصحاء ومرضى COPD بحالتي الهدأة والسورة

العلاقة بين تراكيز ECP وعدد أيام الاستشفاء لدى مرضى السورات:

لم نجد ارتباطاً معنوياً بين تراكيز ECP وعدد أيام الاستشفاء  $P = 0.802$  لدى مرضى سورات الـCOPD.

الارتباط بين منسب التدخين وتراكيز ECP لدى كل مجموعة على حدة:

لم نجد ارتباطاً معنوياً بين منسب التدخين وتراكيز ECP لدى الأصحاء ومجموعي المرضى (في حالة الهدأة وحالة السورة) إذ بلغت قيمة  $P$  0.183 و 0.319 و 0.405 على الترتيب.

## المناقشة Discussion

تُعد الاستجابة الالتهابية المزمنة والمتفرقة في السبل التنفسية السمة الرئيسية المميزة لإمراضية الداء الرئوي الانسدادي المزمن COPD، الذي يُشخص على نحو رئيس باستخدام قياس التنفس Spirometry [1, 2]، يعتمد قياس التنفس على تأكيد وجود تحدد هوائي من عدمه من دون أن يعطي أية فكرة عن الآلية الإمراضية أو الاستجابة الالتهابية، وترقيها في أثناء تطور هذا

نتائج معايرة ECP لدى كامل عينة الدراسة:

بلغت تراكيز ECP المصلية لدى الأصحاء  $3.92 \pm 11.35$  نغ/مل، ولدى مجموعة مرضى COPD الكلية  $7.63 \pm 38.24$  نغ/مل. ولدى تقسيم مجموعة مرضى COPD تبعاً لحالة المرض لديهم، كانت تراكيز ECP المصلية لدى مرضى حالة الهدأة  $5.73 \pm 33.69$  نغ/مل، ولدى المرضى في طور السورة  $6.76 \pm 42.4$  نغ/مل.

مقارنة تراكيز ECP بين مجموعتي مرضى COPD الكلية (n=67) والأصحاء (n=20):

لُوحظ ارتفاع في تراكيز ECP لدى مجموعة مرضى COPD الكلية التي تشمل حالتي الهدأة، والسورة ( $7.63 \pm 38.24$  نغ/مل) وذلك لدى مقارنتها بمجموعة الأصحاء ( $3.92 \pm 11.35$  نغ/مل)، وبفارق معنوي يعتد به إحصائياً  $p = 0.0001$ .

مقارنة تراكيز ECP المصلية بين مجموعة المرضى بحالة الهدأة والمرضى بحالة السورات والأصحاء:

لُوحظ ارتفاع في تراكيز ECP لدى مرضى COPD بحالة السورة ( $6.76 \pm 42.4$  نغ/مل) عند مقارنتها بتراكيز ECP لدى مرضى COPD بحالة الهدأة ( $5.73 \pm 33.69$  نغ/مل)، لدى مقارنتها بتراكيز ECP لدى مجموعة الأصحاء ( $3.92 \pm 11.35$  نغ/مل) أيضاً، وهذا الاختلاف في تراكيز ECP المصلية لدى المجموعات الثلاث ذو قيمة يعتد بها إحصائياً  $p = 0.0001$  (الشكل 1).

وُجدَ فارقٌ معنويٌّ عند دراسة كل مجموعة مع الأخرى على حدة أيضاً، أي لدى مقارنة تراكيز ECP بين مرضى السورات ومرضى الهدأة  $p = 0.0001$ ، وكذلك عند مقارنة تراكيزه لدى مرضى السورات والأصحاء  $p = 0.0001$  ولدى المقارنة بين المرضى بحالة الهدأة والأصحاء  $p = 0.0001$  أيضاً (الشكل 1).

مقارنة تراكيز ECP بين الذكور والإناث في كل مجموعة من المرضى:

لم نجد فرقاً معنوياً به إحصائياً في تراكيز ECP المصلية بين الذكور والإناث في مجموعة الأصحاء وكذلك في مجموعتي المرضى (في حالة الهدأة وحالة السورة) إذ بلغت قيمة  $P$  (0.524، 0.583 و 0.850) على الترتيب.

ارتباط تراكيز ECP مع العمر بكل مجموعة:

أي ازداد تفعيل الحمضات في أثناء سورات المرض ضمن السبل التنفسية وذلك يترافق مع زيادة في إفراز المكونات الموجودة ضمنها، وأبرزها البروتين الايوزيني الكاتيوني ذو الفعالية السامة للخلايا [11]، والذي يحطم ظاهرة السبل التنفسية، ويزيد إفراز المخاط [15] ويؤدي إلى تقلص العضلات الملس في السبل التنفسية [16]، أي يسهم بأمراضية هذه السورات، وأعراضها المرافقة مثل زيادة إنتاج البلغم وشدة الزلة التنفسية [1]. وُجِدَتْ نتائج مماثلة في دراسة عثمان وزملائه في مصر التي أشارت إلى دور ECP في حدوث سورات COPD [17]، وكذلك في دراسة يانغ وزملائه في الصين [11] الذين درسوا دور تفعيل الحمضات في حدوث سورات COPD بوساطة معايرة تراكيز ECP إلى جانب البروتينات الثلاثة الرئيسية المتحررة من حبيبات الحمضات لدى تفعيلها وهي البروتين الأساسي القاعدي، والبروكسيداز الايوزيني، والسم العصبي المشتق من الحمضات. تُعد سورات COPD أحد أبرز الأسباب المرتبطة بالعبء الاقتصادي الكبير لهذا المرض، وكذلك السبب الرئيس للاستشفاء لدى المصابين به [1]، ويمكن أن يفيد تحديد العوامل المرتبطة بطول مدة الاستشفاء لدى كل مريض باتخاذ تدابير علاجية تسهم في تقليل هذه المدة، ولم تظهر نتائجنا وجود ارتباط ما بين تراكيز ECP وطول مدة الاستشفاء لدى مرضى السورات، ومن ثمَّ يسهم الـECP بأمراضية وحدث سورات الـCOPD ولكن لا يمكن الاعتماد على تراكيزه في التنبؤ بطول مدة الاستشفاء.

### الاستنتاجات Conclusions

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاع تراكيز ECP المصلية لدى مرضى COPD، وترافقت تراكيزه الأشد ارتفاعاً مع طور سورة الـCOPD، ما يجعل من ECP واصماً حيويًا محتملاً في التحري عن شدة الاستجابة الالتهابية المتوسطة بالحمضات وترقيها لدى مرضى COPD. لم تُظهر الدراسة أي علاقة بين تراكيز الـECP وعمر المريض أو جنسه أو منسب التدخين، ولم تُظهر علاقة بين تراكيزه، ومدة الاستشفاء لدى مرضى السورات.

### المراجع References

1. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2022.

المرض [12, 13]. ومن ثمَّ من المفيد تحديد واصمات حيوية تقيّم هذه الاستجابة الالتهابية من حيث نوعها وشدها وترقيها وهذا قد يسهم بزيادة فهم الآلية الإراضية المسببة للـCOPD، ومراقبة تطور المرض، وقد يحسّن هذا الأمر من تدبير مرضى الـCOPD أيضًا.

ومع أنّ نمط الاستجابة الالتهابية السائد في هذا الداء هو ذلك المتواسط بالعدلات، فقد أشارت العديد من الدراسات إلى دور الحمضات في رد الفعل المناعي المميز للـCOPD [5-8]، ولكن من دون التطرق إلى دور تفعيلها، وما يرافقه من إفراز محتوياتها في رد الفعل المناعي هذا.

تفرز الحمضات محتويات حبيباتها عقب تفعيلها، وهجرتها إلى مواقع الالتهاب، ويُعد البروتين الايوزيني الكاتيوني ECP واحداً من أبرز البروتينات المتحررة من حبيبات الحمضات، وتُعد تراكيزه مشعرًا في التحري عن تفعيلها، ويتمتع هذا البروتين بفعاليات بيولوجية متعددة سامة وغير سامة للخلايا تجعله محط اهتمام لدراسة دوره وتأثيره في الأمراض المختلفة كالـCOPD [9, 10].

أظهرت الدراسة الحالية ارتفاعاً ملحوظاً في تراكيز ECP لدى مجموعة مرضى COPD لدى المقارنة بالأصحاء، ما يشير إلى حدوث تفعيل للحمضات لدى هؤلاء المرضى وإفرازها ECP وغيره من محتويات حبيباتها مثل السيتوكينات مثل IL-2، IL-3 وعوامل النمو مثل عامل النخر الورمي tumor necrosis factor (TNF) التي تتداخل جميعها بإبقاء الاستجابة الالتهابية مستمرة في الرئتين وبالأنذية النسيجية الحاصلة [5]. ويمكن تفسير دور ECP بهذه الأنذية النسيجية المميزة للـCOPD بوساطة ما يتمتع به من قدرة على تحريض الموت الخلوي المبرمج للخلايا الظهارية في السبل التنفسية بتفعيل شلال الكاسباز Caspase cycle، ويسهم في إعادة تشكيل (نمذجة) نسيج السبل التنفسية وما يرافق ذلك من حدوث تليف لهذه الأنسجة بوساطة جذبته للأرومة الليفية، وتحريض زيادة اصطناع البروتينوغليكان، وتثبيط تحلله ما يؤدي إلى تراكمه ضمن الخلايا [9].

وجد فيوريني وزملاؤه [14] نتائج مشابهة من حيث ارتفاع تراكيز ECP لدى مرضى COPD بالحالة المستقرة بالمقارنة مع تراكيزه لدى الأصحاء.

أظهرت الدراسة الحالية ارتفاعاً كبيراً في تراكيز ECP لدى مرضى سورات الـCOPD عند مقارنتها بمرضى الهدأة أيضًا،

- macrophages. *J Immunol.* 181(7). 5167-73. 2008.
13. Ranu, H., M. Wilde, and B. Madden, Pulmonary function tests. *Ulster Med J.* 80(2). 84-90. 2011
  14. Fiorini, G., et al., Serum ECP and MPO are increased during exacerbations of chronic bronchitis with airway obstruction. *Biomed Pharmacother.* 54(5). 274-8. 2000
  15. de Oliveira, P.C., et al., Eosinophil cationic protein: overview of biological and genetic features. *DNA Cell Biol.* 31(9). 1442-6. 2012.
  16. Acharya, K.R. and S.J. Ackerman, Eosinophil granule proteins: form and function. *J Biol Chem.* 289(25). 17406-15. 2014.
  17. Osman, O., R.A.E. Zohne, and A.A. Elminshawy, Eosinophilic cationic protein as a marker for detection of acute exacerbations of patients with chronic obstructive pulmonary disease The Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis. 70(2). 205-207. 2021.
  2. Barnes, P.J., et al., Chronic obstructive pulmonary disease. *Nat Rev Dis Primers,* 15076. 2015
  3. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-\(copd\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-(copd)). accessed on 16 - 6- 2022.
  4. Alzaabi, A., S. Toor, and M.I. Saleem, Review of COPD in Middle East and Gulf countries. *Medical Research Archives.* 7(2).2019.
  5. David, B., et al., Eosinophilic inflammation in COPD: from an inflammatory marker to a treatable trait. *Thorax.* 76(2). 188-195.2021.
  6. Bafadhel, M., I.D. Pavord, and R.E.K. Russell, Eosinophils in COPD: just another biomarker? *Lancet Respir Med.* 5(9): p. 747-759. 2017.
  7. Brusselle, G., et al., Blood eosinophil levels as a biomarker in COPD. *Respiratory Medicine.* 138. 21-31. 2018.
  8. Liu, H.-X., N. Cui, and Y.-F. Li, the correlation between chronic obstructive pulmonary disease and eosinophil in peripheral blood. *European Journal of Inflammation.* 19. 1-5. 2021
  9. Topic, R.Z. and S. Dodig, Eosinophil cationic protein--current concepts and controversies. *Biochem Med (Zagreb).* 21(2). 111-21. 2011.
  10. Bystrom, J., K. Amin, and D. Bishop-Bailey, Analysing the eosinophil cationic protein--a clue to the function of the eosinophil granulocyte. *Respir Res.* 12. 10. 2011.
  11. Yang, Q.F., et al., Eosinophilic biomarkers for detection of acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease with or without pulmonary embolism. *Exp Ther Med.* 14(4). 3198-3206. 2017.
  12. Letuve, S., et al., YKL-40 is elevated in patients with chronic obstructive pulmonary disease and activates alveolar