

УДК 616.248-07-477.75+575.23

© Ю.А. Бисюк, 2013.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА C159T ГЕНА РЕЦЕПТОРА CD14 НА АНТИЭНДОТОКСИНОВЫЙ ИММУНИТЕТ У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Ю.А. Бисюк

Кафедра внутренней медицины №2 (зав.кафедрой – проф. В.А. Белоглазов), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь.

THE INFLUENCE OF POLYMORPHISM (C159T) OF CD14 RECEPTOR GENE ON ANTI-ENDOTOXIN IMMUNITY IN ADULT PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

Yu. A. Bisyuk

SUMMARY

The condition of anti-endotoxin immunity has been researched as function of polymorphism (C159T) of CD14 receptor in adult patients with bronchial asthma. The research covered 331 patients with asthma and 92 volunteers. The anti-endotoxin immunity was evaluated by determining the levels of anti-endotoxin antibodies A, M, G and sCD14 in the serum and induced sputum by ELISA. The gene polymorphism was analyzed by the allele-specific polymerase chain reaction with electrophoretic detection. The results have shown that the serum levels of anti-endotoxin antibodies of classes M, G and sCD14 were significantly higher ($p < 0.05$) and the concentration of the secretory anti-endotoxin immunoglobulin A significantly ($p < 0.05$) lower as compared to the values in the control group. In patients with TT genotype of the promoter region (position 159) of CD14 receptor, the levels of serum and endobronchial sCD14 were significantly higher ($p < 0.05$) as compared to CC and CT genotypes, which confirms the dependence of the anti-endotoxin immunity on this polymorphism.

ВПЛИВ ПОЛІМОРФІЗМУ C159T ГЕНА РЕЦЕПТОРА CD14 НА АНТИЕНДОТОКСИНОВИЙ ІМУНІТЕТ У ДОРΟΣЛИХ ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ

Ю. А. Бісюк

РЕЗЮМЕ

Вивчено стан антиендотоксिनного імунітету залежно від поліморфізму (C159T) CD14 рецептора у дорослих хворих на бронхіальну астму. У дослідження були включені 331 пацієнт з бронхіальною астмою і 92 волонтера. Антиендотоксिनний імунітет оцінювали за допомогою визначення рівнів антиендотоксिनних антитіл А, М, G і sCD14 в сироватці та індукованому мокротинні твердофазним імуноферментним аналізом. Для аналізу поліморфізму гена CD14 (C159T) був використаний метод алель-специфічної полімеразної ланцюгової реакції з електрофоретичною детекцією. Результати дослідження показали, що рівні сироваткових антиендотоксिनних антитіл класу М, G і sCD14 достовірно вище ($p < 0,05$), а концентрація секреторного антиендотоксिनного імуноглобуліну А достовірно ($p < 0,05$) нижче контролю. У пацієнтів з генотипом ТТ промоторної ділянки (159 позиція) CD14 рецептора рівні сироваткового і ендобронхіального sCD14 достовірно вище ($p < 0,05$) порівняно з СС і СТ генотипами, що підтверджує залежність антиендотоксिनного імунітету від даного поліморфізму.

Ключевые слова: бронхиальная астма, эндотоксин, полиморфизм рецептора CD14 (C159T).

Сегодня насчитывается около 300 миллионов больных бронхиальной астмой (БА), и к 2025 г. этот показатель может составить 400 миллионов [GINA, 2012]. По данным кросс-секционного исследования [1], распространенность астмы составляет 4,3%, с наибольшей частотой в Австралии – 21%; в Украине этот показатель составляет 2,77%.

Хроническое воспаления при бронхиальной астме в основном связано с активацией Т-хелперов 2 типа, которые синтезируют пул цитокинов, включая ИЛ-3, 4, 5, 9, 13 приводящих к усилению созревания и дифференцировки базофилов, тучных клеток и переключению на синтез IgE В-лимфоцитами, что в основном характеризует атопический или аллер-

гический фенотип данного заболевания [2]. При неатопическом или нейтрофильном варианте БА основными индукторами хронического воспаления являются Т-хелперы 1, 9, 17 и 22 типов [3].

Одним из наиболее исследуемых факторов, который может модифицировать иммунный ответ при хроническом воспалении, является эндотоксин (ЭТ) грамотригативных бактерий. Эндотоксин или липополисахарид (ЛПС) при попадании в организм связывается со специфическим белком LBP (Lipopolysaccharide binding protein) с последующим присоединением к рецепторам CD14 и TLR-4 на поверхности моноцитов, макрофагов и гранулоцитов [4]. Функция растворимой формы CD14 (sCD14)

рецептора связана с активацией клеток, на поверхности которых отсутствует данный рецептор [5].

В процессе созревания иммунной системы эндотоксин, очевидно, обладает протективными свойствами по отношению к развитию БА, но чрезмерное поступление его в организм как ингаляционно, так и путём транслокации в кишечнике может вызвать обратный эффект и привести к ухудшению течения данного заболевания [6].

Было установлено, что при лёгкой интерметрирующей, атопической БА отмечается дисбаланс местного антиэндотоксинового иммунитета, что проявляется снижением секреторного анти-ЭТ-sIgA в 1,7-1,8 раза ниже уровня нормы ($p < 0,01$) и существенным повышением концентрации LBP в мокроте от 5,1 до 5,6 раз ($p < 0,01$). СИТ аллергенами приводит к повышению уровня анти-ЭТ-sIgA в мокроте в 1,5 раза ($p < 0,01$) [7].

В некоторых работах было доказано, что уровень sCD14 в бронхоальвеолярной жидкости резко возрастает после 24 часов от момента введения аллергена [8]. У детей с астматическим статусом также наблюдалось увеличение содержания sCD14 [9]. Альтернативно было высказано мнение, что сывороточный sCD14 может связывать и инактивировать ЛПС [10].

Таким образом, двоякий эффект эндотоксина, возможно, связан с полиморфизмом генов, кодирующих рецепторы к эндотоксину, и состоянием самого антиэндотоксинового иммунитета [11].

Ген, кодирующий CD14 рецептор, локализован в длинном плече 5 хромосомы в близости к локусу 5q31-q33, в котором находятся гены, ответственные за синтез IgE [12]. Полиморфизмом C159T гена рецептора CD14 связан с замещением цитозина (Cytosine) на тимин (T-Thymine) в 159 позиция промоторного участка, что детерминирует наличие в популяции гомозигот по цитозину и тимину (CC, TT) и гетерозиготы по цитозин-тимин (CT).

Присутствие С аллеля в 159 позиции промоторного участка гена CD14 рецептора коррелирует с увеличением уровня IgE, при этом TT генотип не связан с атопией и сопровождается возрастанием концентрации растворимой формы CD14 рецептора (sCD14) [13].

В популяции Крыма исследования по изучению состояния антиэндотоксинового иммунитета с учётом полиморфизма C159T гена рецептора CD14 у больных с БА не проводились.

В связи с этим, целью данного исследования стало изучение состояния антиэндотоксинового иммунитета в зависимости от генотипов полиморфного участка C159T гена рецептора CD14 в популяции Крыма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование был включён 331 больной с БА. Диагноз и лечение бронхиальной астмы проводились в соответствии с критериями действующего

приказа МЗ Украины № 128 от 19.03.2007 г.

Группу контроля составили 92 практически здоровых лиц Крыма. Все волонтеры исследовались на предмет аллергической патологии посредством изучения анамнеза и проведения кожных аллерготестов. Для проведения кожных «прик» тестов использовали аллергены производства «Иммунолог», г. Винница.

Для анализа полиморфизма гена CD14 (C159T) был использован метод аллель-специфической полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией. Выделение ДНК осуществлялось из цельной крови пациентов с БА и здоровых добровольцев с помощью набора «ДНК-экспресс кровь» («Литех», РФ) согласно инструкции производителя. Постановка аллель-специфической ПЦР осуществлялась с помощью наборов «Мутация антигена дифференцировки моноцитов C-159T» («Литех», РФ) согласно инструкции производителя. Идентификация продуктов амплификации осуществлялась методом горизонтального электрофореза с помощью готового набора производства «Литех», РФ.

Уровни антиэндотоксиновых антител классов А, М, G (соответственно анти-ЭТ-IgA, анти-ЭТ-IgM и анти-ЭТ-IgG) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Уровни анти-ЭТ-IgA, анти-ЭТ-IgM и анти-ЭТ-IgG выражали в условных единицах оптической плотности конечного продукта ферментативной реакции [14].

Секреторный антиэндотоксиновый иммуноглобулин А (анти-ЭТ-sIgA) в индуцированной мокроте определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (тИФА) по протоколам, разработанным в лаборатории клинической иммунологии ЦНИЛ ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского» [15].

Уровень sCD14 в сыворотке и индуцированной мокроте определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-системы «Hbt Human sCD14 ELISA Kit, Product Number: НК320» производства «Nucult biotechnology» (Голландия). Оптическую плотность определяли на анализаторе «StatFax 2100» на длине волны 450 нм [275]. Содержание sCD14 в сыворотке выражали в мкг/мл, в индуцированной мокроте – в нг/мл.

Все полученные результаты подвергнуты статистической обработке для параметрических и непараметрических критериев с использованием программы «Minitab 16». При анализе проверки распределения на нормальность использовали тест Колмогорова-Смирнова, сравнение центральных тенденций двух независимых выборок с использованием U-критерия Манна-Уитни и сравнение средних двух независимых выборок по критерию Стьюдента. Количественные переменные представлены в виде средних значений и среднеквадратических отклонений для параметрических методов и медианы с 1 и

3 квартилем для непараметрических. При множественном сравнении показателей анти-эндотоксинового иммунитета использовали критерий Краскела-Уоллиса.

Для всех пациентов и волонтеров получено добровольное письменное согласие на участие в научном исследовании, на которое есть разрешение комиссии по биоэтике ГУ «КГМУ имени С.И. Георгиевского».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Переменные клинических параметров в исследуемых группах не отличались от нормального распределения. Для данных показателей использовались параметрические методы статистического анализа с представлением данных в виде среднего зна-

чения и среднеквадратического отклонения. Средний возраст больных с астмой (51,1±10,6 лет) и волонтеров (50,7±10,2 лет) достоверно не отличался (P=0,099). Продолжительность заболевания составила 18,71±11,68 лет, с появлением первых эпизодов астмы в среднем после 30 лет (33,4±9,9 лет). Количество женщин и мужчин среди больных с астмой и контроля достоверно не отличалось ($\chi^2=0,021$, P=0,088).

При статистическом анализе показателей анти-эндотоксинового иммунитета, было выявлено, что распределения переменных в вариационных рядах отличались от нормального, поэтому для обработки данных использовались непараметрические критерии. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Показатели антиэндотоксинового иммунитета у больных бронхиальной астмой и здоровых волонтеров

Показатели	Контроль (n=92)	БА (n=331)	P
Анти-ЭТ-IgA (ед.опт.пл.)	0,266 (0,184-0,354)	0,254 (0,198-0,320)	0,495
Анти-ЭТ-IgM (ед.опт.пл.)	0,322 (0,203-0,400)	0,409 (0,319-0,481)	<0,001
Анти-ЭТ-IgG (ед.опт.пл.)	0,357 (0,261-0,442)	1,022 (0,746-1,303)	<0,001
Анти-ЭТ-sIgA (ед.опт.пл.)	0,178 (0,119-0,217)	0,154 (0,116-0,196)	0,019
sCD14, сыворотка (мкг/мл)	4,99 (3,53-6,90)	5,58 (4,01-7,64)	0,027
sCD14, индуцированная мокрота (нг/мл)	6,7 (4,3-9,3)	9,1 (5,9-12,2)	<0,001

Анализ гуморального антиэндотоксинового иммунитета (таблица 1) показал, что уровень Анти-ЭТ-IgA у больных БА достоверно не отличался (p=0,495) от контроля, при этом наблюдалось достоверное увеличение (p<0,05) содержания Анти-ЭТ-IgM, Анти-ЭТ-IgG и sCD14 в сыворотке.

Состояние местного (бронхоальвеолярного) антиэндотоксинового иммунитета сопровождалось дисбалансом. Уровень sCD14 в индуцированной мокроте был достоверно выше (p<0,05), а концентрация Анти-ЭТ-sIgA достоверно ниже (p=0,019) показателей контрольной группы.

Выявленные изменения у больных БА свидетельствуют о повышенной активности иммунного ответа на поступление эндотоксина, как на системном, так и местном уровне. Для выяснения связи антиэндотоксинового иммунитета с полиморфизмом C159T гена рецептора CD14 данные показатели были проанализированы в зависимости от генотипов CC, CT и TT (таблица 2).

При множественном сравнении медиан (таблица 2) Анти-ЭТ-IgA, Анти-ЭТ-IgM, Анти-ЭТ-sIgA и

Анти-ЭТ-IgG достоверных отличий (P>0,05) выявлено не было. В свою очередь, уровни sCD14 в сывороточного и индуцированной мокроте достоверно отличались (<0,001) между собой. Для генотипа TT были зафиксированы самые высокие значения (sCD14, сыворотка – 11,22 мкг/мл; sCD14, индуцированная мокрота – 17,5 нг/мл).

В ранее проведенном нами исследовании было установлено, что полиморфизм рецептора CD14 (C159T) не связан с риском развития бронхиальной астмы в популяции Крыма [16]. По данным мета-анализа Zhao L. (2011), также не было выявлено ассоциации между полиморфизмом CD14 (C159T) рецептора и бронхиальной астмой [17]. Однако, при стратификации пациентов с астмой на atopический и не-atopический фенотип было показано, что генотип TT на 33% и CT на 20% меньше связан с развитием atopической астмой по сравнению с CC генотипом.

Наблюдаемое в нашем исследовании резкое увеличение уровней сывороточного sCD14 у больных астмой и TT генотипом промоторного участка (159 позиция) CD14 рецептора согласуется с данными

китайских учёных [18]. В этом исследовании было установлено, что у детей с астмой и ТТ (С159Т) генотипом наблюдается возрастание сывороточного уровня sCD14, при этом отсутствует корреляция дан-

ного показателя с уровнем общего IgE и ОФВ₁. В популяции Польши [19] и Германии [20] также была обнаружена связь астмы с ТТ генотипом и увеличением концентрации сывороточного sCD14.

Таблица 2

Показатели антиэндотоксинового иммунитета в зависимости от генотипов CD14 (С159Т) рецептора у больных бронхиальной астмой

Показатели	СС (n=105)	СТ (n=169)	ТТ (n=57)	P
Анти-ЭТ-IgA (ед.опт.пл.)	0,245 (0,188-0,337)	0,265 (0,200-0,314)	0,247 (0,207-0,313)	0,912
Анти-ЭТ-IgM (ед.опт.пл.)	0,382 (0,308-0,471)	0,413 (0,320-0,476)	0,428 (0,342-0,516)	0,078
Анти-ЭТ-IgG (ед.опт.пл.)	1,024 (0,732-1,305)	0,958 (0,713-1,236)	1,141 (0,808-1,442)	0,149
Анти-ЭТ-sIgA (ед.опт.пл.)	0,158 (0,120-0,197)	0,147 (0,115-0,194)	0,162 (0,109-0,212)	0,589
sCD14, сыворотка (мкг/мл)	5,32 (4,07-7,25)	5,08 (3,67-6,39)	11,22 (6,49-12,99)	<0,001
sCD14, индуцированная мокрота (нг/мл)	9,6 (6,1-12,1)	8,0 (5,4-10,7)	17,5 (11,9-22,2)	<0,001

Примечание: p – достоверность отличий между группами.

Очень интересные данные были получены в одном когортном исследовании [21], по результатам которого было обнаружено, что дети, которые получают грудное молоко с высокой концентрацией sCD14, имеют низкий риск развития астмы, хотя в другом исследовании было показано, что возраст или пол не влияют на продукцию sCD14 в семьях с астмой [22].

Эффекты эндотоксина имеют доза-зависимый характер. В исследовании *in vitro*, было показано, что у детей с астмой и гомозиготным генотипом ТТ высокая доза эндотоксина, используемая для стимуляции периферических мононуклеаров, приводит к увеличению концентрации IgE и усилению цитокинового профиля Т-хелперов 2 типа [23]. Стимуляция аллергенами периферических мононуклеаров в бронхоальвеолярном смыве также приводит к возрастанию sCD14 с наибольшей концентрацией через 42 часа, аналогичные результаты были получены при использовании в качестве стимулятора лейкотриен D4 [24].

Суммируя результаты данного исследования, можно предположить, что увеличение концентрации сывороточного и эндобронхиального sCD14 у больных БА с ТТ генотипом может быть связано со способностью эндотоксина в присутствии аллергенов индуцировать хроническое воспаление посредством активации Т-хелперов 2 типа у пациентов с атопическим статусом или усиливать ответ с помощью Т-

хелперов 1 типа при неатопическом фенотипе, что требует дальнейшего изучения.

ВЫВОДЫ

1. Эндотоксин-зависимое хроническое воспаление у пациентов с персистирующей бронхиальной астмой характеризуется активацией антиэндотоксинового иммунитета на системном уровне, что подтверждается достоверным ($P < 0,05$) возрастанием уровней сывороточных антиэндотоксиновых антител класса М, G и sCD14 в сыворотке по сравнению с контролем. Состояние местного (бронхоальвеолярного) антиэндотоксинового иммунитета сопровождается дисбалансом, который проявляется достоверным увеличением уровня sCD14 в индуцированной мокроте и снижением концентрации секреторного антиэндотоксинового иммуноглобулина А в сравнении с контрольной группой.

2. У пациентов с генотипом ТТ промоторного участка (159 позиция) рецептора CD14 наблюдается самая высокая активность хронического воспаления, которая реализуется достоверным ($< 0,001$) возрастанием сывороточного и эндобронхиального уровня sCD14 по сравнению СС и СТ генотипами.

ЛИТЕРАТУРА

1. To T. Global asthma prevalence in adults: findings from the cross-sectional world health survey / T. To, S. Stanojevic, G. Moores [et al.] // BMC Public Health. – 2012. – Vol. 12, No. 1. – P. 204.

2. Holgate S. T. Innate and adaptive immune responses in asthma / S. T. Holgate // *Nature medicine*. – 2012. – Vol. 18, No. 5. – P. 673–683.
3. Wenzel S. E. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches / S. E. Wenzel // *Nature medicine*. – 2012. – Vol. 18, No. 5. – P. 716–725.
4. Celedon J. C. Exposure to dust mite allergen and endotoxin in early life and asthma and atopy in childhood / J. C. Celedon, D. K. Milton, C. D. Ramsey [et al.] // *Journal of allergy and clinical immunology*. – 2007. – Vol. 120, No. 1. – P. 144–149.
5. Paalsson-McDermott E. M. Signal transduction by the lipopolysaccharide receptor, Toll-like receptor-4 / E. M. Paalsson-McDermott, L. A. O'Neill // *Immunology*. – 2004. – Vol. 113, No. 2. – P. 153–162.
6. Kim Y.-M. Immunopathogenesis of allergic asthma: more than the Th2 hypothesis / Y.-M. Kim, Y.-S. Kim, S. G. Jeon, Y.-K. Kim // *Allergy, Asthma & Immunology Research*. – 2013. – Vol. 5, No. 4. – P. 189–196.
7. Белоглазов В. А. Местный и системный анти-эндотоксиновый иммунитет при специфической иммунотерапии бронхиальной астмы / В. А. Белоглазов, Л. К. Знаменская // *Астма та алергія*. – №. 1-2. – С. 6.
8. Virchow J. C. CD14 expression and soluble CD14 after segmental allergen provocation in atopic asthma / J. C. Virchow, P. Julius, H. Matthys [et al.] // *European Respiratory Journal*. – 1998. – Vol. 11, No. 2. – P. 317–323.
9. Garty B. Z. Soluble CD14 in children with status asthmaticus. / B. Z. Garty, Y. Monselise, M. Nitzan // *The Israel Medical Association journal: IMAJ*. – 2000. – Vol. 2, No. 2. – P. 104.
10. Kitchens R. L. Plasma CD14 decreases monocyte responses to LPS by transferring cell-bound LPS to plasma lipoproteins / R. L. Kitchens, P. A. Thompson, S. Viriyakosol [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2001. – Vol. 108, No. 3. – P. 485–493.
11. Simpson A. The role of lipopolysaccharide in the development of atopy in humans / A. Simpson, F. D. Martinez // *Clinical & Experimental Allergy*. – 2010. – Vol. 40, No. 2. – P. 209–223.
12. Brass D. M. CD14 is an essential mediator of LPS-induced airway disease / D. M. Brass, J. W. Hollingsworth, E. McElvania-Tekippe [et al.] // *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. – 2007. – Vol. 293, No. 1. – P. L77–L83.
13. Baldini M. A polymorphism in the 5' flanking region of the CD14 gene is associated with circulating soluble CD14 levels and with total serum immunoglobulin E / M. Baldini, I. Carla Lohman, M. Halonen [et al.] // *American journal of respiratory cell and molecular biology*. – 1999. – Vol. 20, No. 5. – P. 976–983.
14. Гордієнко А. І., Білоглазов В. О. Патент 70193 А Україна МКІ 7 А61К31/01 Спосіб визначення антитіл до ліполісахаридів грам негативних бактерій; Завл. 29.12.2003; Опубл. 15.09.2004, Бюл. №9.
15. Гордиенко А. И. Использование твердофазного иммуноферментного анализа для определения общего и антиэндотоксинового секреторного IgA человека / А. И. Гордиенко // *Таврический медико-биологический вестник*. – Том. 12, №. 3. – С. 82–89.
16. Бисюк Ю. А. С159Т полиморфизм гена рецептора cd14 у взрослых больных бронхиальной астмой в популяции Крыма / Ю. А. Бисюк, В. А. Белоглазов, А. И. Дубовой // *Таврический медико-биологический вестник*. – 2013. – Том. 16, №. 3, часть 3. – С. 27–30.
17. Zhao L. Association of CD14-260 (-159) C>T and asthma: a systematic review and meta-analysis / L. Zhao, M. B. Bracken // *BMC medical genetics*. – 2011. – Vol. 12, No. 1. – P. 93.
18. Leung T. F. The C- 159T polymorphism in the CD14 promoter is associated with serum total IgE concentration in atopic Chinese children / T. F. Leung, N. L. Tang, Y. M. Sung [et al.] // *Pediatric allergy and immunology*. – 2003. – Vol. 14, No. 4. – P. 255–260.
19. Kowal K. Analysis of -675 4 G/5 G Serpine 1 and C-159T CD14 polymorphisms in house dust mite-allergic asthma patients / K. Kowal, A. Bodzenta-Lukaszyk, A. Pampuch [et al.] // *Journal of investigational allergology & clinical immunology*. – 2008. – Vol. 18, No. 4. – P. 284–292.
20. Kabesch M. A promoter polymorphism in the CD14 gene is associated with elevated levels of soluble CD14 but not with IgE or atopic diseases / M. Kabesch, K. Hasemann, V. Schickinger [et al.] // *Allergy*. – 2004. – Vol. 59, No. 5. – P. 520–525.
21. Rothenbacher D. Breastfeeding, soluble CD14 concentration in breast milk and risk of atopic dermatitis and asthma in early childhood: birth cohort study / D. Rothenbacher, M. Weyermann, C. Beermann, H. Brenner // *Clinical & Experimental Allergy*. – 2005. – Vol. 35, No. 8. – P. 1014–1021.
22. Jackola D. R. CD14 promoter polymorphisms in atopic families: implications for modulated allergen-specific immunoglobulin E and G1 responses / D. R. Jackola, S. Basu, C. L. Liebeler [et al.] // *International archives of allergy and immunology*. – 2006. – Vol. 139, No. 3. – P. 217–224.
23. Sackesen C. The effect of CD14 C159T polymorphism on in vitro IgE synthesis and cytokine production by PBMC from children with asthma / C. Sackesen, E. Birben, O. U. Soyer [et al.] // *Allergy*. – 2011. – Vol. 66, No. 1. – P. 48–57.
24. Julius P. sCD14 in bronchoalveolar lavage 18, 42 and 162 hours after segmental allergen provocation / P. Julius, C. Grosse-Thie, M. Kuepper [et al.] // *Scandinavian journal of immunology*. – 2010. – Vol. 71, No. 4. – P. 304–311.