ПОЛИБАКТЕРИАЛНИЯТ ИМУНОМОДУЛАТОР "РЕСПИВАКС" РЕГУЛИРА КОСТИМУЛИРАЩИЯ ПОТЕНЦИАЛ НА АНТИГЕН-ПРЕДСТАВЯЩИТЕ КЛЕТКИ

Д. Станкулова, М. Мухтарова и М. Николова

Национална референтна лаборатория по имунология,
Национален център по заразни и паразитни болести – София

POLYBACTERIAL IMMUNOMODULATOR "RESPIVAX" REGULATES THE CO-STIMULATORY POTENTIAL OF ANTIGEN-PRESENTING CELLS

D. Stankulova, M. Muhtarova and M. Nikolova

Central Laboratory of Immunology, National Center of Infectious and Parasitic Diseases – Sofia

Резюме:

Полибактериалният имуномодулатор "Респивакс" (БулБио – НЦЗПБ ООД) има доказан стимулиращ ефект върху имунните реакции. Настоящото проучване разглежда ефектите на "Respivax" върху човешки антиген-представящи клетки (АПК). Кръвни проби от 15 пациенти с неспецифични респираторни инфекции бяха изследвани преди (ден 0), на 20-и и 80-и ден от стандартен курс имуномодулация с "Респивакс". Експресията на CD86 върху дендритни клетки (ДК), моноцити и В-лимфоцити беше определяна флоуцитометрично. "Респивакс " увеличи циркулиращите CD86+ ДК от 68.7% до 76.2% ($p < 0.01$), подпомогна узряването им (52% срещу 43% $CD86^{high}$ на ден 0, $p < 0.05$) и повиши интензитета на CD86 експресия върху моноцитите (MFI 1318 срещу 1071, $p < 0.01$). Освен това 48.2% от ЛПЗ стимулирани В-клетки на 80-и ден експресираха CD86 срещу 38.2% на ден 0 ($p < 0.01$). Резултатите показват, че един от механизмите на имуномодулация с "Респивакс" е индукцията на узряване на АПК и възстановяването на техния патологично инхибиран костимулиращ потенциал.

Ключови думи: антиген-представящи клетки, CD86, полибактериален имуномодулатор, "Респивакс "

Адрес за кореспонденция: *Доц. д-р Мария Николова, дмн, Национална референтна лаборатория по имунология, Национален център по заразни и паразитни болести, бул. „Янко Сакъзов" № 26, 1504 София, тел. 02 9435636, e-mail: imlab@ncipd.netbg.com*

Summary:

The oral polybacterial immunomodulator "Respivax" (BulBio – NCIPD Ltd.) has a well-established stimulatory effect on immune responses. We studied the effect of "Respivax" on the expression of CD86 co-stimulatory receptor by human antigen-presenting cells (APC). Blood samples from 15 patients with recurrent non-specific respiratory infections subjected to a standard course of "Respivax" treatment, were collected at baseline, day 20 and 80. Multicolor flow cytometry was used to study CD86 expression on circulating dendritic cells (DC), monocytes (Mo, CD14+), and B cells (CD19+). "Respivax" treatment increased CD86+ DC from 68.7% to 76.2% ($p < 0.01$) and promoted their maturation (a mean of 52% $CD86^{high}$ DC vs. 43% at baseline, $p < 0.05$), accompanied by increased intensity of CD86 expression on Mo (av. MFI 1318 vs.1071, $p < 0.01$). Finally, 44.6% of LPS-stimulated B cells expressed CD86 on day 80, and 48.2% on day 20 vs. 38.2% at baseline ($p < 0.05$). These results suggest that one mechanism of "Respivax"- mediated immune modulation is the induction of APC maturation and the restoration of their co-stimulatory potential in case of pathologic inhibition.

Key words: antigen presenting cell, CD86, polybacterial immunomodulator, "Respivax"

Address for correspondence: *Assoc. Prof. Maria Nikolova, M. D., Central Laboratory of Immunology, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, 26, Yanko Sakuzov Blvd., Bg – 1504 Sofia, tel. +359 2 9435636, e-mail: imlab@ncipd.netbg.com*

ВЪВЕДЕНИЕ

Препаратът "Респивакс" (БулБио – НЦЗПБ ООД) е перорален полибактериален имуномодулатор, съставен от шест лиофилизирани бактериални щама (H. influenzae type B, B. catarrhalis, S. aureus, S. pyogenes group A, S. pneumoniae, K. pneumoniae), които са най-често изолираните в хода на неспецифични респираторни инфекции в България. Лечението с "Респивакс" намалява значително броя и тежестта на епизодите на остро имунно възпаление и продължителността на антибиотично лечение при деца (4-12 год.) с повтарящи се неспецифични респираторни инфекции [8]. Подобни резултати са отчетени при възрастни с хронични неспецифични белодробни заболявания [3] и при алергични пациенти с бронхиална астма [13].

Неспецифичните респираторни инфекции обикновено се предизвикват от вируси и допълнително се усложняват от често срещаните бактериални щамове. Актуалните изследвания в тази област недвусмислено доказват значението на вродените имунни механизми за индуциране и насочване на специфичния имунен отговор към Th1 или Th2 тип. Ефективната активация на наивните Т-лимфоцити изисква два независими сигнала, доставени от една и съща антиген-представяща клетка (АПК); алтернативата е анергия. Костимулиращата молекула CD28, експресирана от Т-лимфоцитите, и нейните лиганди B7.1 (CD80) и B7.2 (CD86) са най-добре характеризираните рецепторни двойки, осигуряващи втори сигнал за активиране и клонална експанзия на антиген-специфични Т-клетки. CD80 и CD86 се експресират от професионални АПК като дендритни клетки (ДК), макрофаги и активирани В-лимфоцити [15].

Това проучване е първото изследване на ефектите на "Респивакс" върху експресията на рецептора CD86 от АПК. Нашите резултати показват, че стандартният курс с "Респивакс" значително повишава понижената изходна експресия на CD86 върху моноцити и ДК, както и върху активирани В-лимфоцити в периферната кръв на пациенти с рецидивиращи неспецифични белодробни инфекции, като по този начин осигурява фино балансиране на потиснатия имунен отговор.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

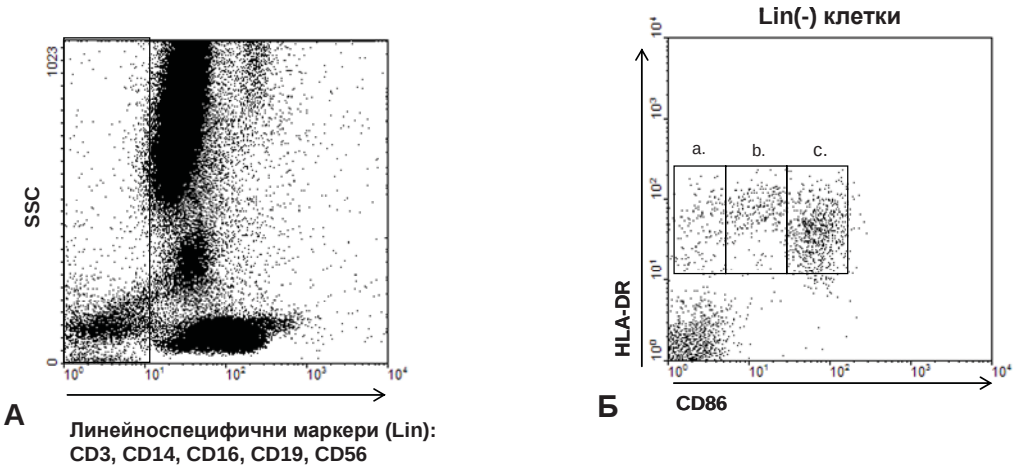
Пациенти. Изследвани са 15 пациенти (5 мъже, 10 жени; средна възраст 49, 28-74 години) с повтарящи се неспецифични респираторни инфекции, насочени към Националната референтна лаборатория по имунология, НЦЗПБ и подложени на имуномодулация с "Респивакс" след информирано съгласие. Като „повтарящи се инфекции" се приемаха повече от три епизода на инфекция по време на 12-те предхождащи месеца. Препаратът се приемаше в три последователни цикъла, както следва: една таблетка (50 mg) на ден в продължение на 20 дни, последвано от 10-дневна пауза. Проби за изследване (венозна кръв с антикоагулант Na хепарин) се вземаха от всеки пациент непосредствено преди (ден 0), в края на първия цикъл (ден 20) и в последния ден на имуномодулацията (ден 80).

Имунофенотипизиране. Използваните моноклонални антитела: смес от мка срещу линейните маркери CD3, CD14, CD16, CD19 и CD56 (lin), всички конюгирани с FITC, CD86-PE, CD14-PE, HLA-DR-PerCP и CD19-APC, бяха продукти на Becton Dickinson Biosciences (BD). Аликвоти от цяла кръв (100 μl) се инкубираха за 15 мин на стайна температура, на тъмно, последвано от лизиране на еритроцитите с 2 ml от работно разреждане на лизиращ разтвор (1x FACS lysing solution, BD). След двукратно промиване с 2 ml фосфатно-буфериран разтвор (PBS), пробите се фиксираха с 300 μl 1% формалдехид (Sigma).

In vitro стимулация. Цяла кръв (250 μl), разредена със среда DMEM в съотношение 1:1, се стимулираше с липополизахарид (ЛПЗ О/К НЦЗПБ), в крайна концентрация 100 ng/ml при 37^{o} C/10% CO_2. След 24 часа се добавяха 20 mM EDTA и аликвоти по 100 μl от стимулираната кръв се маркираха с комбинацията CD86-PE/CD19-APC (BD).

Флоуцитометричният анализ беше извършен с флоуцитометър FACSCanto II (BD) и софтуер DIVA 1.2.1 (BD). Всички проби са събрани при еднакви настройки на апарата. Дендритните клетки бяха идентифицирани като lin-негативни (CD3-CD19-CD56-CD14-CD16-) клетки, експресиращи HLA-DR (фиг. 1). Моноцитите се откриваха по SSC характеристиките си и по експресията на линейния маркер CD14, а В-клетките – като CD19+ лимфоцити.

Статистически анализ. Статистически значимите разлики между изследваните параметри на 0-ев, 20-и и 80-и ден бяха оценени чрез непараметричен тест за вътрегрупово сравнение (Wilcoxon, GraphPad 4.0).



Фиг. 1. Флоуцитометричен анализ на експресията на CD86 от циркулиращи ДК. А. ДК са откриват в рамките на SSC^{low} левкоцитите по липсата на линейноспецифичните маркери (lin) CD3, CD19, CD56, CD16 и CD14. **Б.** ДК (lin-HLA-DR+) се състоят от $CD86^{neg}$, $CD86^{low}$ и $CD86^{high}$ субпопулации

Резултати

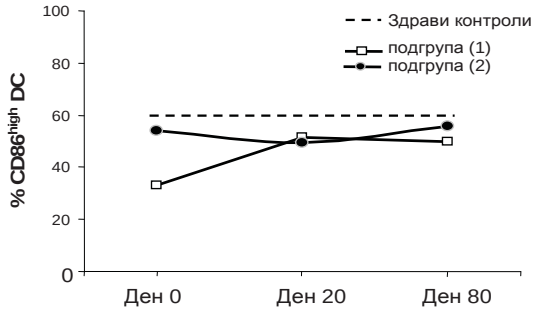
Имуномодулацията с "Респивакс" увеличава процента на циркулиращи ДК

Узряването на ДК се придружава от нарастваща експресия на молекулата CD86 [15]. Преди началото на имунотерапията процентът на циркулиращите ДК в изследваната група пациенти вариране между 0.53 и 1.16% от периферните левкоцити. Средно 68.6 (46.6-85.9)% от ДК експресираха рецептора CD86. CD86+ ДК включваха две добре разграничими субпопулации, експресиращи CD86 с различна интензивност: $CD86^{high}$ и $CD86^{low}$ (фиг. 1Б) в съотношение средно 1,7 : 1 (табл. 1). Анализът на изходната експресия на CD86 очерта две подгрупи пациенти: 1) (N = 8), с намален процент $CD86^{high}$ ДК (средно 32%, 22.8-42.3%), и 2) (N = 7), с нормално/високо ниво на $CD86^{high}$ ДК (средно 54%, 45.1-65.9%).

Таблица 1. Експресия на CD86 върху ДК в хода на имуномодулация с "Респивакс" (% ± SD)

Субпопулация / *Изследване*	*Общ пул CD86 + ДК*	*$CD86^{low}$ ДК*	*$CD86^{high}$ ДК*	*$CD86^{high}/CD86^{low}$ ДК*
Ден 0	68.6 ± 11	25.7 ± 9	42.9 ± 12	1.9
Ден 20	71.7 ± 9	21.3 ± 5	50.4 ± 11	2.5
Ден 80	76.4 ± 6	24.2 ± 9	52.2 ± 12	2.7

Имуномодулацията с "Респивакс" не повлия процентното разпределение и абсолютния брой на ДК, но доведе до сигнификантно увеличение на $CD86^{high}$ ДК на 80-и ден, в сравнение с ден 0 (средно 52.2% срещу 42.9%, $p < 0.03$). С увеличаване зрелостта на ДК нарасна и съотношението $CD86^{high}/CD86^{low}$. Наблюдаваните промени бяха много по-значими и се откриваха още на 20-ия ден в подгрупа 1): средно 53% срещу 32%, ($p < 0.01$). В подгрупа 2) наблюдавахме обратния ефект: незначително понижение на субпопулацията $CD86^{high}$ (средно 54% срещу 49.3%, $p > 0.05$) на 20-ия ден, последвано от възстановяване на изходното ниво в края на имунотерапията (фиг. 2).



Фиг. 2. Промени в експресията на CD86 върху циркулиращите ДК в хода на имуномодулацията с "Респивакс". Анализирани са две подгрупи пациенти в зависимост от изходните нива на $CD86^{high}$ ДК: 1) < 42.3%; 2) > 42.3%. Графиките съответстват на средния процент $CD86^{high}$ ДК на ден 0, 20 и 80 от имуномодулацията в двете подгрупи (плътна линия) в сравнение с референтното ниво при здрави контроли (пунктирана линия). Експресията на CD86 е отчетена флоуцитометрично

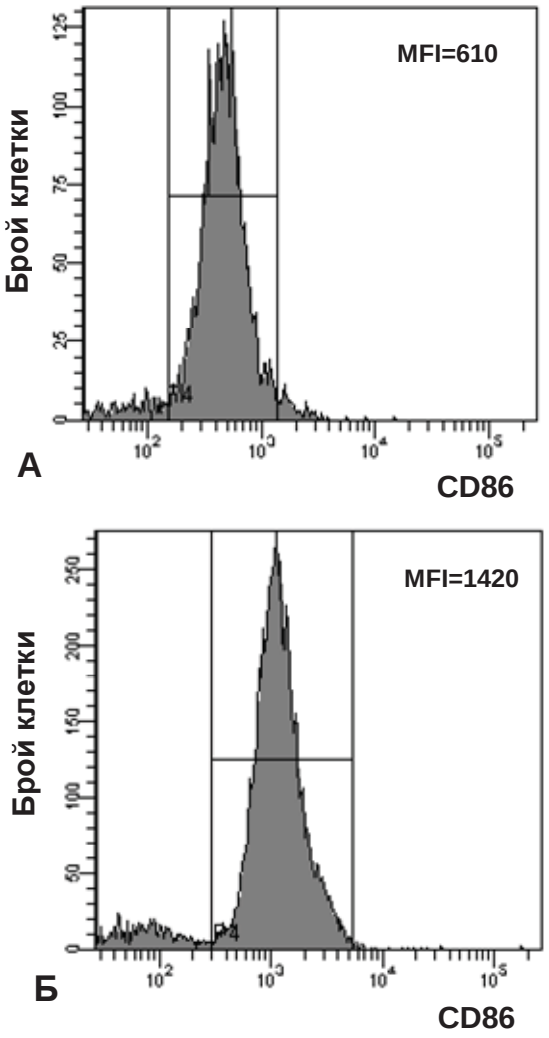
Имуномодулацията с "Респивакс" увеличава броя на CD86 рецептори, експресирни от циркулиращите моноцити

CD86 се експресира конститутивно от моноцитите, като експресията му е по-висока върху субпопулацията моноцити, считани за прекурсори на ДК [5]. Преди началото на имуномодулацията между 83% и 91% от $CD14^{high}$ циркулиращите моноцити експресираха CD86. Въпреки това интензитетът (MFI) на CD86 експресия, съответстващ на средния брой CD86 молекули на клетка, вариираше значително (средно 1167, 550-1460). Имуномодулацията с "Респивакс" не повлия процентното разпределение и абсолютния брой на моноцитите, но увеличи интензитета (MFI) на CD86 експресия (средно 1282 vs. 1167) (фиг. 3). Увеличението беше статистически значимо само в подгрупата пациенти с изходно намалена средна стойност на CD86 MFI (1306 vs.1071, $p < 0.02$) и се отчиташе на 20 ден от терапията (1318 vs.1071, $p < 0.01$). По този начин, в съответствие с наблюдаваното увеличение на зрели циркулиращи ДК, "Респивакс" увеличаваше експресията на CD86 върху моноцитите, съответно на тяхната диференциация в мигриращи ДК.

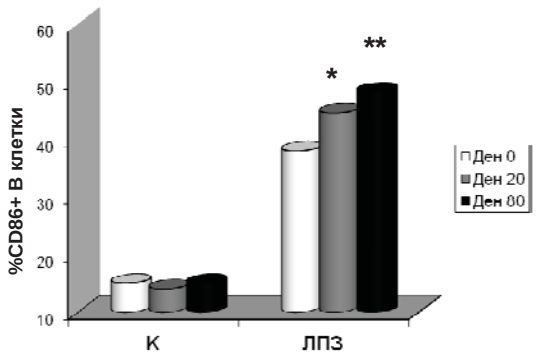
Имуномодулацията с "Респивакс" увеличава експресията на CD86 върху in vitro активирани B-лимфоцити

Средните изходни стойности на процента и абсолютния брой циркулиращи B-лимфоцити в изследваната група бяха съответно 8.7% (4-17.6) и 0.315 (0.170-0.794) x 10^9 клетки/l. Средно 15.3% (4.6-22.7) от циркулиращите B-лимфоцити експресираха CD86. Имуномодулацията с "Респивакс" не повлия тази експресия, нито процентното разпределение и абсолютния брой на B-лимфоцитите. Ето защо ефекта на "Респивакс" върху B-клетките оценихме след допълнително in vitro стимулиране с LPS в продължение на 24 часа.

Както е показано на фиг. 4, стимулацията с LPS на проби, взети преди началото на имунотерапията (ден 0), повишаваше средната експресия на CD86 върху B-клетките от 15.3% на 38.2%. След 20-дневен прием на "Респивакс" индуцираната експресия на CD86 върху B-лимфоцитите нарасна средно до 44.6% ($p < 0.02$). В края на лечението (ден 80) LPS индуцираше CD86 върху 48.2% от B-клетките ($p < 0.01$ в сравнение с изходното ниво). Следователно наред с въздействието си върху моноцитите и ДК "Респивакс" стимулира антиген-представящата функция на активираните B-клетки.



Фиг. 3. Увеличен интензитет на експресия на CD86 върху моноцити в резултат от имуномодулация с "Респивакс". Хистограмите отразяват средния интензитет на флуоресценция (MFI) на CD86 върху моноцитите на ден 0 (А) и на ден 80 от имуномодулацията (Б). Показан е представителен резултат



Фиг. 4. Промени в експресията на CD86 върху B-лимфоцити, стимулирани in vitro с ЛПЗ. Сравнена е експресията на CD86 върху CD19+ лимфоцитите след 24 h инкубация на цяла кръв в отсъствие (К) или в присъствие на стимулатор (ЛПЗ), на 0-ев (бяло), 20-ти (сиво) и 80-и ден (черно) от имуномодулацията с "Респивакс". Посочени са статистически значимите разлики спрямо ден 0: * $p < 0.05$, ** $p < 0.05$ (Mann-Witney)

ОБСЪЖДАНЕ

Антивирусната и антибактериалната защита на организма се осъществява съчетано от вродените и придобити клетъчни и хуморални имунни механизми. Професионалните АПК са ключов елемент на естествения имунитет, благодарение на способността да инициират специфичен имунен отговор чрез ефективна стимулация на наивните Т-клетки, да влияят върху Th1/Th2 баланса и да поддържат имунната толерантност чрез механизми за обратна връзка [2].

Напоследък ефектите на бактериалните имуномодулатори върху АПК са предмет на особено внимание [7, 16]. Нашето изследване проучва за първи път ефектите на полибактериалния имуномодулатор "Респивакс" върху съзряването и активацията на циркулиращите АПК in vivo, при което експресията на рецептора CD86 се използва като пряк индикатор за ефективност на антиген-представящите функции. Рецепторът CD86 се експресира от всички видове АПК в хода на имунното възпаление и участва в позитивните и негативни сигнални пътища на Т-клетъчните комодулиращи рецептори CD28 и CD152 [4]. Костимулиращите сигнали, медиирани от взаимодействието CD28/CD86, осигуряват Т-клетъчната преживяемост, пролиферация и диференциация след свързването на TCR от специфичния антиген. От друга страна, разтворимият CD28 индуцира CD86-зависима IFNγ продукция в ДК и усилва Т-клетъчния имунен отговор, насочен срещу вируси и тумори [12]. Нашите резултати показват, че пероралната имуномодулация с "Респивакс" усилва експресията на CD86 върху човешки АПК, в т.ч. ДК, моноцити и in vitro активирани В-лимфоцити.

Осъществяването на имунен отговор от наивните Т-клетки зависи до голяма степен от антиген-представящия капацитет на ДК. Локалното възпаление, предизвикано от чуждородния антиген, активира незрелите ДК в тъканите, предизвиква тяхната миграция в лимфните възли и индуцира съзряването им, съпроводено от нарастваща повърхностна експресия на костимулиращи молекули (CD40, CD83, CD80 и CD86), и увеличен антиген-представящ капацитет. Според нашите резултати лечението с "Респивакс" значително увеличава циркулиращите ДК с интензивна експресия на CD86 ($CD86^{high}$), което показва, че препаратът предизвиква активиране и узряване на ДК, най-вероятно на нивото на чревната лигавица.

Основният път за диференциация на ДК е от циркулиращите моноцити [5]. Генерираните в костния мозък моноцити рециркулират в продължение на няколко дни, преди да навлязат в периферните органи и тъкани. При липса на допълнителни стимули циркулиращите моноцити претърпяват апоптоза, но в условията на имунно възпаление те се насочват активно към увредената място и се диференцират в ДК и ефекторни макрофаги. Наблюдението, че "Респивакс" увеличава експресията на CD86 молекули върху моноцитите, най-вероятно отразява стимулирането им в условията на имуномодулация с "Респивакс" и засилената им диференциация в ДК.

Рецепторите CD80 и CD86 имат общи лиганди с активиращ (CD28) и с инхибиращ (CD152) ефект. Въз основа на по-широката и ранна експресия на CD86 се счита, че медиираните от този рецептор костимулиращи сигнали предотвратяват индукцията на анергия, докато CD80 осигурява отрицателна сигнализация и регулира обратно имунния отговор [1]. Има данни, че взаимодействието на CD80 с CD152, експресиран конститутивно от субпопулация регулаторни Т-клетки (Treg), поддържа имунния толеранс, който се нарушава след индуциране на CD86 в условията на имунно възпаление. Като се има предвид, че CD80 и CD86 медиират отрицателни и положителни сигнали и по посока на АПК [14], първоначалното намаляване на експресията на CD86 при част от пациентите може да се обясни с относително нарастване на Treg и превалиране на негативната сигнализация [11]. Известно е, че хроничните възпалителни състояния могат да доведат до експанзия на Treg, които секретират високи нива от CD86 инхибиращите цитокини IL-10 и TGFβ [17] и по този начин потискат или модулират Th1 имунния отговор срещу инфекциозни агенти. "Респивакс" оказва своето въздействие, като нарушава това състояние на толеранс и измества равновесието към узряване на $CD86^{high}$, ДК и усилване на позитивната CD86/CD28 сигнализация [15].

Трябва да се отбележи, че CD86 свързва CD152 със значително по-висок афинитет, отколкото CD28 [10]. Така при липса на имунна активация незрелите $CD86^{low}$ ДК преференциално взаимодействат с инхибиращия рецептор, докато $CD86^{high}$ ДК, преобладаващи в условия на стимулация, свързват CD28 и преодоляват негативния сигнал. Следователно съотношението $CD86^{high}/CD86^{low}$ ДК илюстрира баланса между положителни и отрицателни сигнали и "готовността" за осъществяване на клетъчен имунен отговор. Като се има предвид, че имуномодулацията увеличи значително процента на $CD86^{high}$ ДК само при пациентите с изходно намален дял на зрели ДК, можем да предположим че "Респивакс" възстановява равновесието

от имунен толеранс към физиологичен баланс, без да предизвиква свръхактивация на клетъчните имунни механизми.

Известно е, че активираните В-лимфоцити имат изразен антиген-представящ капацитет по отношение на разтворими антигени. BCR медиираната активация индуцира експресия на CD86 върху наивните В-клетки и повишава тази експресия върху паметовите В-клетки и в герминативните центрове [6, 9]. Нашите експериментални данни показват, че експресията на CD86 върху В-лимфоцити, стимулирани с LPS in vitro, нараства в хода на имуномодулацията с "Респивакс". Фактът, че "Респивакс" не индуцираше експресия на CD86 in vivo потвърждава, че препаратът притежава модулиращ антиген-представящите функции, а не безразборно стимулиращ ефект. От механистична гледна точка ефектът върху експресията на CD86 може да се обясни с наличието на дискретен цитоплазмен резервоар на CD86 молекули, описан в периферните мононуклеарни клетки [18], който позволява бърза експресия на повърхността при необходимост от костимулация.

В заключение, представените данни са първата in vivo демонстрация на ефектите на "Респивакс" върху антиген-представящите функции. Препаратът стимулира експресията на костимулиращия рецептор CD86 върху моноцити, ДК и активирани В-лимфоцити, като я възстановява до физиологичното ù ниво. Благодарение на многопосочното сигнализиране през CD86 този ефект се транслира в бързо и ефикасно индуциране както на IFNγ-, така и на IgG1-медииран специфичен имунен отговор и оттам – в подобра способност за неутрализиране на вируси и извънклетъчни бактерии в случай на опасност.

Благодарности

Това изследване е финансирано от Националния фонд "Научни изследвания", Министерство на образованието и науката, Грант L-1519/05

Библиография

1. A c u t o , O. et F. Michel. CD28-mediated co-stimulation: a quantitative support for TCR signalling. – Nat. Rev. Immunol., 3, 2003, № 12, 939-951.
2. B a n c h e r e a u , J. and R. M. Steinman. Dendritic cells and the control of immunity. – Nature, 392, 1998, № 6673, 245-252.
3. D o b r e v , P., P. Nikolova, Sn. Stankova, V. Maksimov, B. Petrunov, V. Radanova, D. Minchev, B. Popov et Z. Chang. Prophylaxis of broncho-pulmonary infections with the Bulgarian immunomodulator Respivax. – Pnevmologia i Ftiziatria, 26, 1988, 27-31.
4. E n g e l , P. et al. The B7-2 (B70) costimulatory molecule expressed by monocytes and activated B lymphocytes is the CD86 differentiation antigen. – Blood, 84, 1994, № 5, 1402-1407.
5. G o r d o n , S. et P. R. Taylor. Monocyte and macrophage heterogeneity. – Nat. Rev. Immunol., 5, 2005, № 12, 953-964.
6. H a t h c o c k , K. S. et R. J. Hodes. Role of the CD28-B7 costimulatory pathways in T cell-dependent B cell responses. – Adv. Immunol., 62, 1996, 131-166.
7. I t o h , T. et al. Streptococcal preparation OK432 promotes functional maturation of human monocyte-derived dendritic cells. – Cancer Immunol. Immunother., 52, 2003, № 4, 207-214.
8. J o s i f f o v , J., Sv. Bakalova, M. Kolarova et S. Stankova. Application of Respivax for prevention of bronchopulmonary infections in children. – Pediatria (Sofia), 28, 1989, № 5, 30-34.
9. K a s p r o w i c z , D. J. et al. Stimulation of the B cell receptor, CD86 (B7-2), and the beta 2-adrenergic receptor intrinsically modulates the level of IgG1 and IgE produced per B cell. – J. Immunol., 165, 2000, № 2, 680-690.
10. L i n s l e y , P. S. et al. CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7. – J. Exp. Med. 174, 1991, № 3, 561-569.
11. O n i s h i , Y. et al. Foxp3+ natural regulatory T cells preferentially form aggregates on dendritic cells in vitro and actively inhibit their maturation. – Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A, 105, 2008, № 29, 10113-10118.
12. O r a b o n a , C. et al. CD28 induces immunostimulatory signals in dendritic cells via CD80 and CD86. – Nat. Immunol., 5, 2004, № 11, 1134-1142.
13. P e t r o v s k a , J. T. et al. The results of clinicoimmunological examination of patients with infectious-allergic bronchial asthma treated with the poly-bacterial immunostimulator Respivax. – Therapevticheskij Archiv (Moskva), 62, 1989, № 3, 72-75.
14. P o d o j i l , J. R. et V. M. Sanders. CD86 and beta2-adrenergic receptor stimulation regulate B-cell activity cooperatively. – Trends Immunol., 26, 2005, № 4, 180-185.
15. S a n s o m , D. M., C. N. Manzotti et Y. Zheng. What's the difference between CD80 and CD86? – Trends Immunol., 24, 2003, № 6, 314-319.
16. S c h m i d h a m m e r , S. et al. An Escherichia coli – based oral vaccine against urinary tract infections potently activates human dendritic cells. – Urology, 60, 2002, № 3, 521-526.
17. S i n g h , B. et al. Control of intestinal inflammation by regulatory T cells. – Immunol. Rev., 182, 2001, 190-200.
18. S m y t h , C. M. et al. Differential subcellular localization of CD86 in human PBMC-derived macrophages and DCs, and ultrastructural characterization by immuno-electron microscopy. – Int. Immunol., 17, 2005, № 2, 123-132.

Постъпила за печат на 28 март 2013 г.