

Соловьёва Анна Евгеньевна

**ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ
ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ
У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ
БЕРЕМЕННОСТИ И АНТИФОСФОЛИПИДНЫМ
СИНДРОМОМ**

14.00.36 – аллергология и иммунология

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Москва - 2008

Работа выполнена в Федеральном государственном учреждении «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи».

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор **Сотникова Наталья Юрьевна**

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор **Семенов Виктор Фадеевич**

Доктор биологических наук **Лютов Андрей Германович**

Ведущая организация: Федеральное государственное учреждение «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И.Кулакова Росмедтехнологий».

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2008 года, в « ____ » часов на заседании диссертационного совета Д.208.046.02 при Федеральном государственном учреждении науки «Московском научно-исследовательском институте эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, 10

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, г. Москва

Автореферат разослан « ____ » _____ 2008 г.

Учёный секретарь

диссертационного совета,

кандидат медицинских наук,

Л.И.Новикова

Общая характеристика работы

Актуальность исследования. В условиях снижения воспроизводства, ухудшения показателей соматического и репродуктивного здоровья населения сохранение каждого плода и новорожденного становится одной из самых актуальных задач (Агаджанова А.А., 2002, Сидельникова В.М., 2005). Проблема невынашивания имеет не только медицинское, но и большое социальное значение, так как невынашивание беременности приводит к снижению рождаемости, влияет на физическое и психологическое здоровье женщин, на их семейное благополучие и трудоспособность (Ледина А.В., 2000, Сидельникова В.М., 2001).

Невынашивание беременности (НБ) является сложной, многофакторной патологией: причины этого состояния очень разнообразны (Серов В.Н., 2000). Наибольший интерес представляет невынашивание беременности на ранних сроках, т.к. в данном случае иммунологические причины невынашивания выходят на первый план (Кулаков В.И., 1999, Милько-Черноморец Ю.В., 1999). Инфекция является одной из причин приводящей к формированию изменений в иммунной системе, что ведёт к углублению иммунных нарушений и усилению угрозы выкидыша (Калиев Ю.Ш., 1999, Крысова Л.А., 1999). По данным зарубежных авторов частота этой патологии в популяции составляет 2 – 5 % и не имеет тенденции к снижению (Beer A.E., 2000). Установлено, что риск потери беременности после первого выкидыша составляет 13 – 17%, что соответствует частоте спорадического выкидыша в популяции, тогда как после двух предшествующих самопроизвольных прерываний риск потери желанной беременности возрастает более чем в два раза и составляет 36 - 38% (Барсегян О.К., 1999, Сидельникова В.М., 2001).

Помимо инфекции, в последние годы среди иммунологических аспектов невынашивания беременности большое внимание привлекает роль аутоиммунных процессов, в частности роль антифосфолипидных антител в акушерской патологии (Насонова Е.А., 1999, Макацария А.Д., 2001). Бактериальные и вирусные возбудители являются важным фактором,

способствующим развитию аутоиммунных процессов, в связи с их способностью тесно связываться с мембраной клетки, вступать с ней в межмембранное взаимодействие, в результате чего начинается выработка антител против собственных клеток и развитие аутоиммунного процесса. Сочетание антифосфолипидного синдрома с инфекционными факторами осложняет течение беременности, и может определять ее исход. В структуре причин привычного невынашивания беременности (ПНБ) антифосфолипидный синдром составляет 27 - 42%, причем без проведения адекватной терапии гибель плода наблюдается у 90-95 % женщин, имеющих аутоантитела к фосфолипидам (Мальцева Л. И., 2000, Карпенко Л.В., 2002).

В лечении женщин с невынашиванием беременности всё чаще используют иммуноглобулины для внутривенного введения (Васильева О.Ю, 2000). Однако, несмотря на то, что проблеме лечения невынашивания беременности посвящено большое количество работ, включая и использование препаратов иммуноглобулинов для внутривенного введения (ИГВВ), дифференциальный подход к назначению отечественных препаратов иммуноглобулинов для внутривенного введения различного типа у женщин с привычным невынашиванием беременности и антифосфолипидным синдромом остаётся мало изученным. Механизм иммуномодулирующего эффекта иммуноглобулинов для внутривенного введения пока остается не достаточно выясненным.

Кроме того, использование импортных препаратов ИГВВ представляет большую экономическую проблему для пациентов, в связи, с чем чрезвычайно важным и актуальным является изучение свойств новых отечественных препаратов иммуноглобулинов для внутривенного введения различного типа и выявление механизма их действия.

Цель исследования: уточнить роль естественных киллеров в патогенезе привычного невынашивания беременности ранних сроков и формировании антифосфолипидного синдрома; выявить механизмы влияния отечественных препаратов иммуноглобулинов для внутривенного введения на

функциональные характеристики естественных киллеров, и обосновать, в условиях *in vitro*, показания для их дифференцированного назначения больным с привычным невынашиванием беременности ранних сроков и антифосфолипидным синдромом.

Задачи исследования:

1. Оценить инфекционный статус женщин с привычным невынашиванием беременности ранних сроков при наличии или отсутствии АФС.
2. Охарактеризовать содержание различных популяций естественных киллеров и уровень их активации при привычном невынашивании беременности ранних сроков и АФС.
3. Установить влияние, *in vitro*, отечественных иммуноглобулинов для внутривенного введения на процессы активации естественных киллеров при привычным невынашиванием беременности при наличии или отсутствии АФС.
4. Выявить влияние отечественных иммуноглобулиновых препаратов для внутривенного введения на продукцию ИФН γ , ФНО α при привычном невынашивании беременности и АФС.
5. Провести сравнительный анализ иммуномодулирующего действия отечественных препаратов иммуноглобулинов для внутривенного введения в экспериментальных условиях и обосновать возможность их дифференцированного назначения больным с привычным невынашиванием беременности при наличии или отсутствии АФС.

Научная новизна:

- Выявлено, что у женщин с привычным невынашиванием беременности и АФС повышена частота выявления маркеров микоплазменной и хламидийной инфекции.
- Доказано, что нарушение активации ЕК, спонтанной продукции ФНО α , ИФН γ и рецепции этих цитокинов играет важную роль в патогенезе

привычного невынашивания беременности ранних сроков и развитии антифосфолипидного синдрома.

- Установлено, что у женщин с привычным невынашиванием беременности с АФС наблюдается высокий уровень всех популяций ЕК, дисбаланс спонтанной продукции ФНО α , ИФН γ и усиление рецепции данных цитокинов.
- В условиях *in vitro* выявлено, что отечественные иммуноглобулины для внутривенного введения «четвёртого поколения» «Габриглобин» и «антицитомегаловирусный иммуноглобулин» повышают процессы активации ЕК, ингибируют спонтанную продукцию ФНО α , а также усиливают внутриклеточный синтез ИФН γ и его рецепцию при привычном невынашиванием беременности у женщин с АФС и без АФС.
- В экспериментальных условиях установлено, что «Габриглобин» оказывает более активное влияние на иммунную систему при ПНБ и АФС, в то время как «антицитомегаловирусный иммуноглобулин» - при ПНБ без АФС.

Практическая значимость работы:

Учитывая механизм действия «Габриглобина» и «антицитомегаловирусного иммуноглобулина», обосновано дифференцированное назначение отечественных препаратов иммуноглобулинов для внутривенного введения женщинам с привычным невынашиванием беременности с АФС и без АФС. На препарат «Габриглобин» подана заявка на изобретение, как средства для лечения женщин с привычным невынашиванием беременности при наличии или отсутствии антифосфолипидного синдрома (приоритетная справка № 2007126885 от 16.07.07г.).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Привычное невынашивание беременности и АФС сопровождаются изменением содержания различных популяций естественных киллеров, а также спонтанной продукции и рецепции ФНО α и ИФН γ .

2. Отечественные препараты иммуноглобулинов для внутривенного введения - «Габриглобин» и «антицитомегаловирусный иммуноглобулин» в условиях эксперимента влияют на процессы активации ЕК, продукцию и рецепцию цитокинов МНК при привычном невынашивании, причем характер влияния различен при наличии и отсутствии АФС, что позволяет дифференцированно назначать их пациентам.

Апробация работы. Диссертация прошла апробацию на заседании Учёного совета ФГУ «Ив НИИ М и Д им.В.Н.Городкова Росмедтехнологий» от 19 ноября 2007г. Материалы диссертации доложены и обсуждены на 1 республиканской конференции «Иммунология репродукции» (Иваново, 2005 г.), XI Всероссийском научном Форуме им. В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2007 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ.

Структура и объём диссертации. Материалы диссертации изложены на 126 страницах машинописного текста. Работа состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», 2 глав собственного исследования, главы «Обсуждение результатов», выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 194 источника отечественных и зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 5 рисунками и 15 таблицами.

Содержание работы.

Материалы и методы исследований. В соответствии с поставленными задачами было проведено клинико-иммунологическое обследование 56 небеременных женщин с привычным невынашиванием беременности и 20 женщин с ненарушенной фертильной функцией. На основании клинического обследования женщин, проводимого врачом акушером-гинекологом на базе 3 гинекологического отделения ФГУ «Ивановского НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова», они были разделены на три группы наблюдений (таблица 1).

Таблица 1.

Группы наблюдений.

контрольная группа, n=20	I группа, n=27	II группа, n=29
здоровые женщины, матери одного и более детей, не имеющие самопроизвольных выкидышей в анамнезе	небеременные женщины с привычным невынашиванием беременности ранних сроков без АФС	небеременные женщины с привычным невынашиванием беременности ранних сроков и АФС (при двукратных положительных тестах на волчаночный антикоагулянт с интервалом в 6-8 недель)

Инфекционный статус оценивали, путём определения антител к возбудителям инфекций в периферической крови и выявления ДНК возбудителей в мазках-соскобах. Антитела против инфекционных возбудителей определяли методом ELISA на микропланшетном ридере Multiscan EX Labsystems (Финляндия) с использованием коммерческих систем ЗАО «Вектор-Бест». Определяли уровень IgM и IgG антител к HSV 1, 2, CMV, Chlamydia trachomatis, и содержание IgA и IgG АТ к Ureaplasma urealyticum и Mycoplasma hominis.

Для выявления ДНК возбудителей инфекций в мазках-соскобах из цервикального канала методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени определяли наличие ДНК HSV 1, 2, CMV, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum и Mycoplasma hominis с использованием коммерческих систем НПФ «ДНК-Технология» (Россия) на приборе iCycler (BIO-RAD, США).

Определение волчаночного антикоагулянта клотинговым методом с использованием наборов Staclot LA (Diagnostika Stago, США).

Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь. Кровь забирали в центрифужные пробирки, содержащие 2,7% раствор ЭДТА из расчета 3 мл крови на 1 мл раствора ЭДТА.

Выделение обогащенных популяций мононуклеарных клеток из периферической крови осуществляли стандартным методом скоростного центрифугирования в градиенте плотности фиколл-верографина ($d=1,078$).

Поверхностный фенотип клеток определяли с помощью моноклональных антител (мАТ) (Immunotech, Франция; Caltag laboratories, США; НПЦ «МедБиоСпектр», Россия) методом двухцветной проточной цитофлюориметрии на приборе FACScan (Becton Dickinson, США). В качестве флюорохромных меток использовали флюоресцеин изотиоционат (FITC) и фикоэритрин (PE).

Процедуру окрашивания и фиксации клеток проводили стандартным способом в соответствии с указаниями фирмы-разработчика. При проведении проточной цитометрии клетки использовали в конечной концентрации 1×10^6 кл/мл.

К $50 \mu\text{l}$ суспензии клеток в концентрации 1×10^6 кл/мл одновременно добавляли $20 \mu\text{l}$ мАТ, меченных FITC и/или $20 \mu\text{l}$ мАТ, меченных PE, инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 30 минут, затем клетки отмывали в 1 мл фосфатного буфера (PBS), содержащего 0,1% раствор азиды натрия, и фиксировали в соответствии со стандартной процедурой.

Для анализа неспецифического окрашивания использовали Simultest Control (мышинные IgG1-FITC + IgG2a-PE) ("Becton Dickinson", США). Клетки метили анти-CD45 и анти-CD14 мАТ для наложения оптимального окна дискриминации (гейта) для лимфоцитов и моноцитов/макрофагов на точечном графике прямого и бокового светорассеяния. При анализе лимфоцитарный гейт включал не менее 95-98% клеток с фенотипом CD45+CD14-, моноцитарный/макрофагальный гейт включал не менее 93-96% клеток с фенотипом CD45+CD14+. В каждом образце анализировали не менее 10000 клеток. Анализ результатов проводили в программе "LYSYS II".

Для оценки индуцированного ответа мононуклеарные клетки в концентрации 1×10^6 кл/мл инкубировали в среде RPMI - 1640 с комплексом неспецифических стимуляторов (ФМА) (10 нг/мл форбол миристилацетата (Sigma, США), $1 \mu\text{M}$ иономицина (Sigma, США), $2 \mu\text{M}$ моненсина (Sigma, США).

Для оценки влияния препаратов иммуноглобулинов клетки инкубировали с «антицитомегаловирусным иммуноглобулином» (1 мг/мл) и с «Габриглобином» (1 мг/мл). Производство «Габриглобина» налажено на Ивановской Областной станции переливания крови, получено регистрационное удостоверение - № 001529/01-2002, на базе данного учреждения выпущена экспериментальная партия «антицитомегаловирусного иммуноглобулина» (находится на стадии разработки). Во всех пробах клетки активировали в течение 1 часа в термостате при температуре 37⁰С. Затем клетки отмывали от стимулятора или препарата иммуноглобулинов физиологическим раствором центрифугированием при 1500 об/мин 5 мин. Надосадочную жидкость удаляли, а клеточный осадок ресуспендировали в среде RPMI - 1640 с глутамином и инкубировали 24-часа при 37⁰С и 5% CO₂. Надосадочную жидкость, содержащую продукты культивирования, отбирали и фильтровали через миллиметровые фильтры диаметром 0,22 мкм (Synpro, Чехия). Супернатанты (СН) клеточных культур соответствующих групп пулировали (не менее 10 индивидуальных СН в каждом пулированном образце) и хранили в стерильных флаконах при -20⁰С.

Экспрессию активационных маркеров и синтез цитокинов оценивали по окончании инкубации. В качестве контроля для всех проб использовали клетки, инкубировавшиеся в аналогичных условиях в среде RPMI - 1640 с глутамином. Подсчет концентрации и жизнеспособности лимфоцитов до и после инкубации показал, что жизнеспособность клеток во всех случаях была 95% и выше.

Определение содержания цитокинов в супернатантах 24-часовых клеточных культур проводилось тест-системами для метода ELISA (ЗАО «Вектор Бест», Россия) на микропланшетном ридере Multiscan EX Labsystems (Финляндия).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы Microsoft Excel Version: 7.0 из комплекта Microsoft Office 2000.

Результаты исследования и их обсуждение. Возраст женщин в первой группе составил в среднем $28,27 \pm 1,09$ лет, во второй группе - $27,54 \pm 1,02$ лет, в контрольной группе - $25,6 \pm 0,29$ лет ($p > 0,05$, во всех случаях).

В ходе исследования провели оценку инфекционного фона методом ИФА и ПЦР. Исследование инфекционного фона методом ИФА, показало, что в группе женщин с ПНБ и АФС достоверно чаще встречались IgM антитела к *Chlamydia trachomatis* (13,8%) по сравнению с параметрами группы контроля (0%) и группы женщин без АФС (0%) ($p < 0,05$, в обоих случаях).

Таблица 2.

Частота выявления ДНК возбудителей инфекций в урогенитальных мазках женщин с ПНБ в зависимости от наличия или отсутствия АФС

Показатель	Контроль n=20	ПНБ без АФС n=27	ПНБ с АФС n=29
HSV I,II	0	0	1(3,5%)
CMV	2 (10%)	3 (11,1%)	1 (3,5%)
<i>Chlamydia trachomatis</i>	0%	0%	0%
<i>Mycoplasma hominis</i>	0%	0%	4 (13,8%)* ^
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 (5%)	10 (37,0%)**	8 (27,6%)*

n – число обследованных;

* - различия статистически достоверны по сравнению с показателями группы контроля; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.

^ - различия статистически достоверны по сравнению с группой женщин без АФС; ^ - $p < 0,05$.

Определение ДНК возбудителей урогенитальных инфекций в мазках-соскобах из цервикального канала методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, показало, что в группе женщин с ПНБ и АФС частота выявления ДНК *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* была достоверно выше в сравнении с показателями контрольной группы ($p < 0,05$) (таблица 2). При сравнении показателей женщин с ПНБ без АФС и с АФС у последних отмечался значительно более высокий уровень частоты выявления ДНК *Mycoplasma hominis* ($p < 0,05$). В группе женщин с ПНБ без АФС достоверно чаще встречалась ДНК *Ureaplasma urealyticum* по сравнению с группой здоровых женщин ($p < 0,01$). В остальных случаях достоверные различия по уровню инфицирования цервикального канала HSV 1, 2, CMV, *Chlamydia trachomatis* между группами отсутствовали ($p > 0,05$ во всех случаях).

Таким образом, у женщин с привычным невынашиванием беременности и антифосфолипидным синдромом чаще выявляются маркёры активной микоплазменной и хламидийной инфекции. По-видимому, именно данная инфекция может быть одним из факторов, участвующих в развитии АФС у женщин с ПНБ.

По данным литературы, многие авторы важную роль в невынашивании беременности инфекционного генеза отводят естественным киллерам (ЕК), однако их роль остаётся не до конца изученной. Остаются неясными и процессы активации различных популяций ЕК при привычном невынашивании беременности.

В ходе работы была проведена оценка уровня различных субпопуляций естественных киллеров (CD16+, CD56+, CD16+CD56+) в периферической крови у обследованных групп женщин.

У женщин с привычным невынашиванием беременности и АФС (II группа) в периферической крови было достоверно повышено количество всех изучавшихся субпопуляций ЕК: CD16+ - $13,54 \pm 1,00\%$; CD56+ - $11,27 \pm 0,71\%$; CD16+CD56+ - $5,78 \pm 0,72\%$, по сравнению с аналогичными показателями женщин контрольной группы - CD16+ - $9,73 \pm 0,69\%$; CD56+ - $6,11 \pm 0,78\%$; CD16+CD56+ - $3,21 \pm 0,64\%$ ($p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,05$ соответственно). Сопоставление результатов группы женщин с ПНБ без АФС (I группа) с показателями группы контроля показало достоверное увеличение у них содержания ЕК с фенотипом CD56+ - $8,95 \pm 0,86\%$ ($p < 0,05$). При сравнении параметров женщин с ПНБ без АФС и с АФС у последних отмечался достоверно более высокий уровень всех типов ЕК, в том числе и активированных (CD16+CD56+) ($p < 0,05$, $p < 0,05$ и $p < 0,01$, соответственно). В то же время, по нашим данным, уровень ранней активации ЕК у женщин с ПНБ без АФС и с АФС достоверно не отличался от показателей группы контроля ($p > 0,05$).

Еще одним параметром, позволяющим оценить функциональное состояние ЕК, является продукция цитокинов, характерных для этой клеточной

популяции, таких как ИФН γ и ФНО α . Литературные данные о продукции этих цитокинов при ПНБ противоречивы. Продукция цитокинов отражает направленность иммунного ответа и его изменения при развитии патологических процессов (Ковальчук Л.В., 2001, Симбирцев А.С., 2002). Нарушение их продукции играет важную роль при невынашивании беременности.

Таблица 3.

Исходный уровень продукции цитокинов *in vitro* у женщин с ПНБ в зависимости от наличия или отсутствия АФС.

Параметр, пг/мл	Контроль n=5	I группа n=5	II группа n=5
ФНО α	179,24 \pm 10,47	241,88 \pm 58,24	268,00 \pm 31,77*
ИФН γ	20,11 \pm 0,78	18,32 \pm 5,53	12,39 \pm 1,49**

*-достоверность различий по сравнению с исходным уровнем группы контроля;

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$.

У женщин с ПНБ и АФС (II группа) спонтанная продукция ФНО α в супернатантах исходного уровня отличалась достоверным увеличением таковой по сравнению с показателями контрольной группы ($p < 0,05$), в то же время продукция ИФН γ была значительно ниже показателей группы контроля ($p < 0,01$) (таблица 3). Известно, что усиление выработки ФНО α характерно для воспалительной реакции и могло быть обусловлено выявленными нами изменениями инфекционного фона в обеих клинических группах. Установлено, что ИФН γ играет важную роль в обеспечении инвазии трофобласта и модификации спиральных артерий матки, поэтому снижение его продукции при невынашивании беременности ранних сроков может вести к нарушению плацентации и преждевременному прерыванию беременности на ранних сроках.

Важно оценить не только синтез цитокинов, но и их рецепцию.

Таблица 4.

Уровень активации различных популяций естественных киллеров у женщин с ПНБ в зависимости от наличия или отсутствия АФС

Показатель, %	контроль	I группа ПНБ без АФС	II группа ПНБ с АФС
CD69+	3,44 ± 0,17 (n=5)	3,15 ± 0,47 (n=5)	3,72 ± 0,82 (n=5)
CD16+CD69+	1,87 ± 0,36 (n=15)	1,88 ± 0,26 (n=22)	2,81 ± 0,59 (n=24)
CD56+CD69+	1,81 ± 0,36 (n=15)	2,21 ± 0,22 (n=22)	2,96 ± 0,57 (n=24)
CD119+	3,52 ± 0,6 (n=5)	2,36 ± 0,31 (n=5)	3,76 ± 0,26 ^{^^} (n=5)
CD16+CD119+	1,88 ± 0,24 (n=15)	2,23 ± 0,29 (n=22)	2,18 ± 0,20 (n=24)
CD56+CD119+	1,23 ± 0,18 (n=15)	1,69 ± 0,25 (n=22)	2,82 ± 0,31 *** ^{^^} (n=24)
CD120a+	1,48 ± 0,18 (n=5)	1,76 ± 0,16 (n=5)	2,50 ± 0,26* (n=5)
CD16+CD120a+	1,23 ± 0,22 (n=15)	2,05 ± 0,24* (n=22)	2,75 ± 0,48 ** (n=24)
CD56+CD120a+	1,58 ± 0,30 (n=15)	1,99 ± 0,30 (n=22)	4,3 ± 0,33 *** ^{^^^} (n=24)
CD120b+	2,14 ± 0,16 (n=5)	2,88 ± 0,57 (n=5)	2,90 ± 0,33 (n=5)
CD16+CD120b+	1,59 ± 0,24 (n=15)	1,73 ± 0,26 (n=22)	2,50 ± 0,36* (n=24)
CD56+CD120b+	1,65 ± 0,22 (n=15)	2,12 ± 0,18 (n=22)	4,74 ± 0,47 *** ^{^^^} (n=24)

* - различия статистически достоверны по сравнению с показателями группы контроля; * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001;

^ - различия статистически достоверны по сравнению с группой женщин без АФС; ^^ - p<0,01; ^^ - p<0,001.

Исследования показали значительное увеличение ЕК, экспрессирующих рецепторы к ИФН γ (CD56+CD119+) (p<0,001), ФНО α I типа (CD16+CD120a+, CD56+CD120a+) (p<0,01, p<0,001, соответственно) и ФНО α II типа

(CD56+CD120b+) ($p < 0,001$), в группе женщин с ПНБ и АФС, по сравнению с параметрами группы контроля (таблица 4).

В то же время для группы женщин с ПНБ без АФС было характерно повышение содержания CD16+ ЕК, экспрессирующих маркер CD120a+, в сравнении с показателями контрольной группы женщин ($p < 0,05$).

При сравнении параметров женщин с ПНБ с АФС и без АФС было установлено, что увеличение содержания ЕК с фенотипом CD56+, экспрессирующих CD120a и CD120b молекулы ($p < 0,001$, во всех случаях), а также CD56+CD119+ лимфоцитов ($p < 0,01$) и CD119+ клеток в общей популяции лимфоцитов ($p < 0,01$) было более выраженным у женщин с ПНБ и АФС.

Известно, что рецепторы к ФНО α 1 типа определяют проведение проапоптотического сигнала в клетку, а рецепторы 2 типа связаны с усилением клеточной пролиферации (Симбирцев А.С., 2004). Складывается впечатление, что у женщин с АФС нарушен баланс апоптоза и пролиферации ЕК, что может приводить к накоплению ЕК. Это предположение согласуется с нашими данными о повышении количества ЕК, наиболее выраженным у женщин с АФС.

При лечении женщин с ПНБ часто используют ИГВВ, однако механизм их действия не достаточно изучен. Практически отсутствуют сведения об их влиянии на функциональное состояние ЕК (Imbach P., 1999).

До последнего времени арсенал отечественных препаратов ИГВВ был представлен лишь внутривенным иммуноглобулином человека нормальным, в то время как в зарубежной клинической практике используется более 20 наименований препаратов ИГВВ (Мигунов В.Н., 2000).

В настоящее время в России, в МНИИЭМ им.Г.Н.Габричевского создан новый препарат мономерного, нерасщепленного иммуноглобулина "четвертого поколения" с полностью сохраненными свойствами, прошедший клинические испытания, пригодный для внутривенного введения, получивший коммерческое название - «Габриглобин» (Соловьёв С.К., 2002, Алешкин В.А.,

Лютов А.Г., 2007). Эксклюзивным правом производства препарата по патенту № 2122864 обладает ФГУН "Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского" и Российское фармацевтическое предприятие ЗАО "Иммуно-Гем" (Лютов А.Г., 2006).

«Габриглобин» - первый отечественный препарат в России, имеющий неповрежденную молекулу IgG, период его полувыведения составляет около 30 сут, содержание мономера более 95%, впервые препарат имеет величину рН 4,2 и это единственный отечественный иммуноглобулин, пригодный для заместительной терапии. Обладает антительной активностью против различных вирусов и бактерий (Алешкин В.А., Лютов А.Г., 2007).

Также в ФГУН «МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского» создан «антицитомегаловирусный иммуноглобулин» (находится на стадии разработки). У «антицитомегаловирусного иммуноглобулина» действующим началом является мономерный IgG, обладающий специфической антительной активностью против цитомегаловируса (Лютов А.Г., 2000).

Несмотря на клинические испытания «Габриглобина» и разработку «антицитомегаловирусного иммуноглобулина», работ, которые бы рассматривали механизм их действия, нет. Знание механизмов этих препаратов действия позволит значительно повысить эффективность практического использования ИГВВ для лечения невынашивания беременности и антифосфолипидного синдрома.

В связи с этим, нами были проведены экспериментальные исследования 2-х отечественных препаратов иммуноглобулинов для внутривенного введения – «Габриглобина» и «антицитомегаловирусного иммуноглобулина» *in vitro* на продукцию цитокинов (ИФН γ , ФНО α) и функциональное состояние ЕК. Действие иммуноглобулинов оценивали в сравнении с исходным уровнем и уровнем активности при взаимодействии с комплексом ФМА (10 нг/мл форбол миристилацетата (Sigma,США), 1 μ М иономицина (Sigma,США), 2 μ М моненсина (Sigma,США)).

Полученные нами результаты показали, что ФМА достоверно повышал содержание CD69+ клеток в общей популяции лимфоцитов во всех исследуемых группах (контрольная группа - $p < 0,01$; I группа - $p < 0,05$; II группа - $p < 0,05$), повышал содержание активированных CD16+ ЕК в периферической крови полученной от женщин контрольной группы и женщин с ПНБ с АФС, а также активированные CD56+ ЕК от здоровых женщин ($p < 0,01$, $p < 0,05$, $p < 0,05$, соответственно). Существенно увеличивал содержание CD119+ клеток в общей популяции лимфоцитов выделенных из периферической крови в контрольной группе и у женщин с ПНБ без АФС по отношению к исходным данным, повышал уровень CD16+, экспрессирующих рецепторы к ИФН γ , в группе женщин с ПНБ с АФС, а также CD56+, экспрессирующих CD119 молекулы во всех исследуемых группах ($p < 0,05$, во всех случаях) (таблица 5, 6).

Культивирование клеток с «антицитомегаловирусным иммуноглобулином» достоверно повышало содержание CD69+ клеток в общей популяции лимфоцитов выделенных из периферической крови женщин контрольной группы и с ПНБ без АФС (I группа) ($p < 0,01$ и $p < 0,05$, соответственно), в последней также повышал активированные CD56+ ЕК ($p < 0,05$). Значительно увеличивал содержание CD119+ клеток в общей популяции лимфоцитов в группе контроля и в группе женщин с ПНБ без АФС ($p < 0,05$, в обоих случаях), повышал уровень CD16+, экспрессирующих CD119 молекулы, в группе женщин с ПНБ без АФС и с АФС ($p < 0,05$, в обоих случаях), а также CD56+, экспрессирующих рецепторы к ИФН γ (CD119+), в I группе по отношению к исходным данным ($p < 0,05$).

Было установлено, что добавление в культуральную среду «Габриглобина» приводило к достоверному увеличению содержания CD69+ клеток в общей популяции лимфоцитов полученных из периферической крови здоровых женщин и женщин с ПНБ и АФС (II группа) ($p < 0,05$), уровня CD69+ клеток в популяции CD16+ ЕК ($p < 0,01$) в группе контроля и уровня CD56+CD69+ лимфоцитов женщин с ПНБ без АФС ($p < 0,05$).

Таблица 5.

Влияние in vitro «Габриглобина» и «антицитомегаловирусного иммуноглобулина» на уровень спонтанной экспрессии CD69 молекул на поверхности различных субпопуляций ЕК при ПНБ с АФС и без АФС.

Параметр, %	Группы наблюдений											
	Контроль n=5				I группа N=5				II группа n=5			
	Исходный уровень	Стимулятор	Антицитомегаловир. Ig	Габриглобин	Исходный уровень	Стимулятор	Антицитомегаловир. Ig	Габриглобин	Исходный уровень	Стимулятор	Антицитомегаловир. Ig	Габриглобин
CD69+	3,44 ± 0,17	6,58 ± 0,44 **	5,86 ± 0,42 **	6,4 ± 1,02 *	3,15 ± 0,47	8,63 ± 1,49 *	5,23 ± 0,6 *	4,85 ± 0,97	3,72 ± 0,82	9,00 ± 1,42 *	7,15 ± 1,70	9,22 ± 1,55 *
CD16+CD69+	1,48 ± 0,22	2,96 ± 0,34 **	1,70 ± 0,29	2,96 ± 0,41 *	1,65 ± 0,32	2,5 ± 0,64	1,80 ± 0,41	2,23 ± 0,53	2,96 ± 0,62	5,34 ± 0,54 *	3,06 ± 0,93	3,20 ± 0,90
CD56+CD69+	1,90 ± 0,55	3,92 ± 0,53 *	2,08 ± 0,64	1,52 ± 0,24	1,98 ± 0,29	2,65 ± 0,65	3,76 ± 0,55 *	3,94 ± 0,56 *	2,74 ± 0,44	3,72 ± 0,54	2,92 ± 0,61	3,22 ± 0,99

* - различия статистически достоверны по сравнению с исходными данными внутри группы; * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$.

Таблица 6.

Влияние *in vitro* ИГВВ на содержание CD16+ и CD56+ ЕК экспрессирующих на своей поверхности CD119 молекулы при ПНБ в зависимости от наличия или отсутствия АФС.

Параметр, %	Группы наблюдений											
	Контроль n=5				I группа n=5				II группа n=5			
	Исходный уровень	Стимулятор	Антицитомегаловир. Ig	Габриглобин	Исходный уровень	Стимулятор	Антицитомегаловир. Ig	Габриглобин	Исходный уровень	Стимулятор	Антицитомегаловир. Ig	Габриглобин
CD119+	3,52 ± 0,6	6,22 ± 0,90 *	5,50 ± 0,40 *	5,76 ± 0,62 *	2,36 ± 0,31	3,50 ± 0,35 *	3,54 ± 0,35 *	3,86 ± 0,53 *	3,76 ± 0,26	4,83 ± 0,98	4,43 ± 0,38	6,06 ± 0,49 **
CD16+CD119+	1,58 ± 0,32	1,88 ± 0,44	2,54 ± 0,31	4,48 ± 0,60 **	1,80 ± 0,09	1,50 ± 0,15	3,60 ± 0,63 *	3,12 ± 1,21	1,92 ± 0,27	3,22 ± 0,41 *	3,16 ± 0,26 *	2,96 ± 0,32 *
CD56+CD119+	1,52 ± 0,24	4,48 ± 0,73 *	2,72 ± 0,46	2,66 ± 0,26 *	1,66 ± 0,13	2,64 ± 0,30 *	4,54 ± 1,14 *	1,48 ± 0,55	2,58 ± 0,42	4,86 ± 0,62 *	1,42 ± 0,44	4,04 ± 0,46 *

* - различия статистически достоверны по сравнению с исходными данными внутри группы; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.

«Габриглобин» значительно повышал содержание CD119+ клеток в общей популяции лимфоцитов полученных из периферической крови всех обследованных групп женщин (контрольная группа - $p < 0,05$; I группа - $p < 0,05$;

II группа - $p < 0,01$), а также увеличивал уровень CD16+ ЕК, экспрессирующих CD119 молекулы, в группе женщин с ПНБ с АФС и контрольной группе ($p < 0,01$, $p < 0,05$, соответственно), содержание CD56+CD119+ лимфоцитов в контрольной группе женщин и во II группе по отношению к исходным данным ($p < 0,05$, в обоих случаях).

В работе также оценивали влияние «Габриглобина» и «антицитомегаловирусного иммуноглобулина» на особенности спонтанной продукции ФНО α и ИФН γ , которые оценивали по содержанию данных цитокинов в супернатантах коротко живущих культур мононуклеарных клеток при привычном невынашивании беременности без АФС и с АФС (таблица 7, 8).

Таблица 7.

Влияние *in vitro* «Габриглобина» и «антицитомегаловирусного иммуноглобулина» на продукцию ИФН γ у женщин с ПНБ в зависимости от наличия или отсутствия АФС.

Параметр, пг/мл	Контроль n=5	I группа N=5	II группа N=5
Исходный уровень	20,11 \pm 0,78	18,32 \pm 5,53	12,39 \pm 1,49
Стимулирующий комплекс	25,91 \pm 1,33**	15,78 \pm 3,49	11,55 \pm 1,61
Антицитомегаловирусный ИГ	16,91 \pm 1,78	35,31 \pm 4,63*	9,52 \pm 3,30
Габриглобин	17,48 \pm 2,06	20,07 \pm 1,96	20,27 \pm 2,43*

* - достоверность различий в сравнении с исходным уровнем внутри группы;

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$.

В результате исследования было установлено, что секреция провоспалительного цитокина ИФН γ достоверно повышалась в пробе с ФМА в контрольной группе по сравнению с исходным уровнем ($p < 0,01$).

Добавление в культуральную среду «антицитомегаловирусного иммуноглобулина» приводило к значительному снижению секреции ФНО α у

всех исследуемых групп женщин (контрольная группа - $p < 0,05$; I группа - $p < 0,05$; II группа - $p < 0,05$), а также к достоверному увеличению концентрации ИФН γ в супернатантах в I группе ($p < 0,05$).

При культивировании клеток с «Габриглобином» выявлялось существенное снижение уровня ФНО α в СН всех исследуемых групп ($p < 0,01$, $p < 0,05$, $p < 0,05$, соответственно), и в то же время увеличение спонтанной продукции ИФН γ при ПНБ с АФС ($p < 0,05$).

Таблица 8.

Влияние *in vitro* «Габриглобина» и «антицитомегаловирусного иммуноглобулина» на продукцию ФНО α при ПНБ в зависимости от наличия или отсутствия АФС.

Параметр, пг/мл	Контроль n=5	I группа n=5	II группа n=5
Исходный уровень	179,24 \pm 10,47	241,88 \pm 58,24	268,00 \pm 80,13
Стимулирующий комплекс	151,22 \pm 71,58	129,95 \pm 69,45	198,95 \pm 79,75
Антицитомегаловирусный ИГ	85,24 \pm 22,61*	45,03 \pm 3,92*	44,93 \pm 20,76*
Габриглобин	179,24 \pm 10,47	48,42 \pm 3,68*	268,00 \pm 80,13

* - достоверность различий в сравнении с исходным уровнем внутри группы;

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$.

Таким образом, «Габриглобин» и «антицитомегаловирусный иммуноглобулин» при привычном невынашивании беременности без АФС и с АФС *in vitro*, ингибируют спонтанную продукцию ФНО α и стимулируют внутриклеточный синтез ИФН γ .

Различия в действии изучавшихся препаратов иммуноглобулинов были выявлены как по сравнению с исходным уровнем, так и между собой.

Мы провели сравнительный анализ иммуномодулирующего действия препаратов для внутривенного введения, который позволил обосновать их

дифференцированное назначение больным с ПНБ в зависимости от наличия АФС.

При оценке действия «Габриглобина» *in vitro* было выявлено, что в группе женщин с привычным невынашиванием беременности без АФС препарат значительно увеличивал содержание CD119+ лимфоцитов, CD56+CD69+ и ингибировал продукцию ФНО α по сравнению с показателями исходного уровня ($p < 0,05$, во всех случаях). Тогда как в группе женщин с привычным невынашиванием беременности с АФС «Габриглобин» повышал содержание CD69, CD119+, CD16+CD119+, CD56+CD119+, ИФН γ и снижал продукцию ФНО α ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,05$, $p < 0,05$, $p < 0,05$, $p < 0,05$, соответственно).

«Антицитомегаловирусный иммуноглобулин» в экспериментальных условиях повышал уровень CD16+ ЕК, экспрессирующих CD119 молекулы, а также снижал продукцию ФНО α при привычном невынашивании беременности с АФС по сравнению с показателями исходного уровня ($p < 0,05$, в обоих случаях). В то время как в I группе женщин значительно увеличивался уровень CD69, CD56+CD69+, CD119+, CD16+CD119+, CD56+CD119+, ИФН γ и снижалась продукция ФНО α по сравнению с исходным уровнем ($p < 0,05$, во всех случаях).

Проведённый сравнительный анализ иммуномодулирующего действия «Габриглобина» и «антицитомегаловирусного иммуноглобулина» показал, что «Габриглобин» оказывал более интенсивное воздействие на иммунологические параметры при привычном невынашивании беременности и АФС, значительно увеличивая содержание CD119+ лимфоцитов, CD56+CD119+ и продукцию ИФН γ по сравнению с показателями пробы с «антицитомегаловирусным иммуноглобулином» ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,05$, соответственно) (рисунок 1). Тогда как «антицитомегаловирусный иммуноглобулин» увеличивал содержание CD56+CD119+ и внутриклеточную секрецию ИФН γ в супернатантах относящихся к I группе, по сравнению с показателями пробы с «Габриглобином» ($p < 0,05$, в обоих случаях).

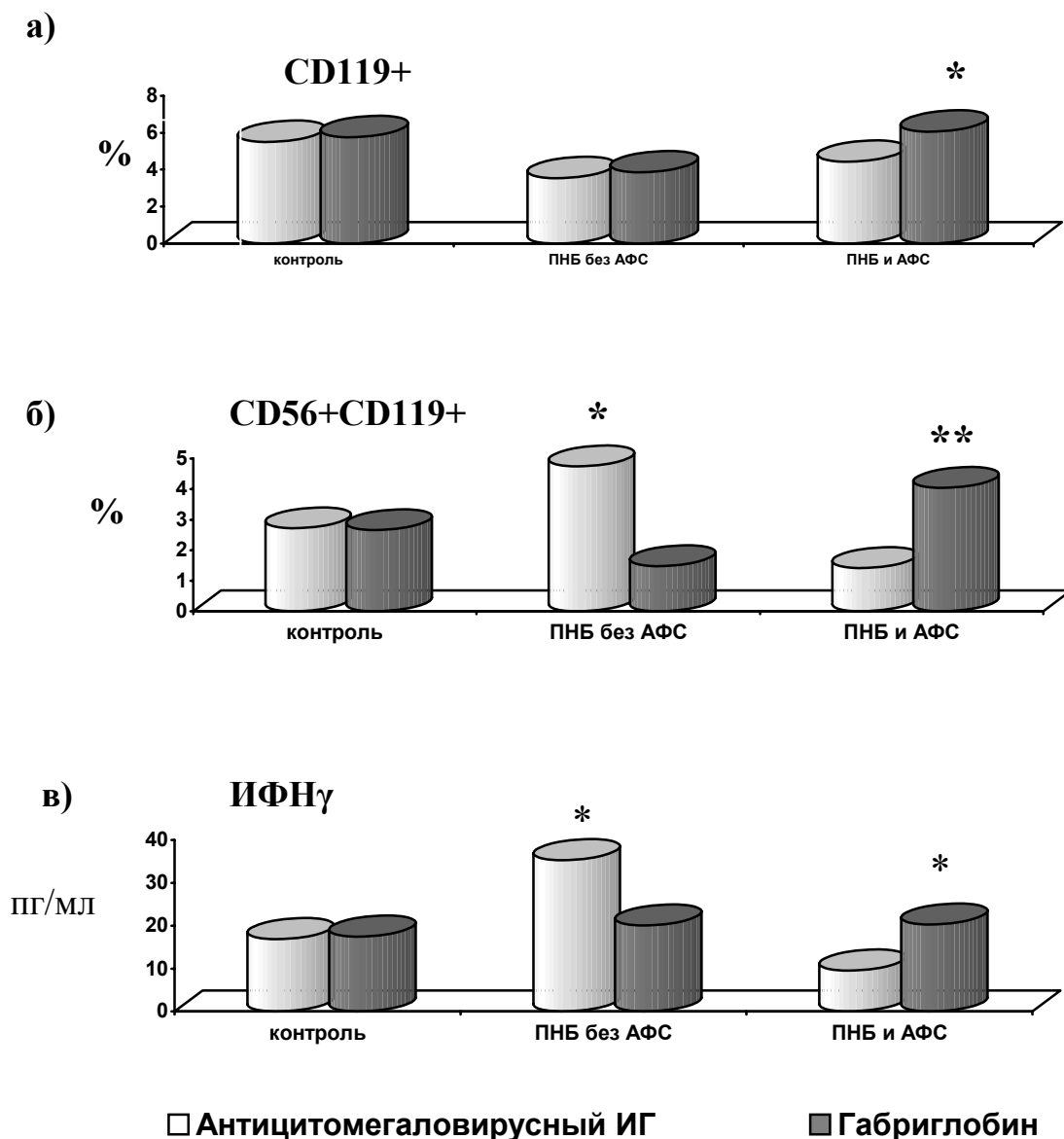


Рисунок 1. Сравнительная характеристика влияния «Габриглобина» и «антицитомегаловирусного иммуноглобулина» на содержание CD119+ лимфоцитов (а) и CD56+CD119+ЕК (б), на продукцию ИФН γ (в) при ПНБ с АФС и без АФС

Таким образом, препарат «Габриглобин» оказывал более активное влияние на иммунную систему при ПНБ и АФС, в то время как «антицитомегаловирусный иммуноглобулин» был более активен при ПНБ без АФС.

Из литературы известно, что иммуноглобулины содержат антиидиотипические антитела против ассоциированного с волчанкой 4В4

перекрёстно реагирующего идиотипа, за счет уменьшения производства аутоантител в результате подавления активности В-клеток, нейтрализации аутоантител и аутоантигенов, восстановление иммунного баланса, что подтверждено результатами наших исследований.

Результатом активации ЕК (CD56+), рецепции ИФН γ ЕК (CD16+CD119+ и CD56+CD119+) и модуляции спонтанной продукции провоспалительных цитокинов (ФНО α и ИФН γ) под влиянием «Габриглобина» может быть усиление противовирусной и противоинфекционной защиты, улучшение плацентации и обеспечение инвазии трофобласта, а ингибирование продукции ФНО α может способствовать подавлению воспалительной реакции при привычном невынашивании беременности, что позволит предотвратить угрозу наступления выкидыша, связанного с активацией бактериально-вирусной инфекции, и предупредить развитие воспалительных осложнений, сократить сроки заболеваний и способствовать более благоприятному их исходу.

Выявленные иммуномодулирующие свойства у отечественных препаратов иммуноглобулинов для внутривенного введения свидетельствует о необходимости исследования в данном направлении.

Суммируя всё выше изложенное, можно заключить, что ПНБ сопровождается нарушением количества и функции ЕК, которые были более выражены у женщин с АФС. Отечественные препараты иммуноглобулинов для внутривенного введения способны оказывать иммуномодулирующий эффект, нормализуя функции иммунной системы. Однако их действие зависит от исходного состояния иммунокомпетентных клеток, что требует дифференцированного подхода к их назначению.

Выводы

1. У женщин с привычным невынашиванием беременности ранних сроков и антифосфолипидным синдромом чаще, чем у женщин с привычным невынашиванием беременности без АФС, выявляются маркёры активной бактериальной инфекции: микоплазмы (13% и 0%), хламидии (13% и 0%).

2. При привычном невынашивании беременности ранних сроков без антифосфолипидного синдрома повышается уровень периферических CD56+ ЕК и количество CD16+ ЕК, экспрессирующих рецепторы для ФНО α I типа. При привычном невынашивании беременности с антифосфолипидным синдромом отмечается увеличение содержания всех популяций ЕК и CD56+ ЕК, экспрессирующих рецепторы к ИФН γ , а также количества всех популяций ЕК, экспрессирующих ФНО α R1 и ФНО α 2-го типа, CD120a+ лимфоцитов, усиление спонтанной продукции ФНО α и снижение синтеза ИФН γ .

3. В условиях *in vitro*, «Габриглобин» и «антицитомегаловирусный иммуноглобулин» повышают количество активированных ЕК с фенотипом CD56+, и CD119+ лимфоцитов выделенных из периферической крови женщин с привычным невынашиванием беременности независимо от наличия антифосфолипидного синдрома, а при невынашивании с антифосфолипидным синдромом – количество CD16+ ЕК, экспрессирующих рецепторы к ИФН γ .

4. Отечественные иммуноглобулины для внутривенного введения - «Габриглобин» и «антицитомегаловирусный иммуноглобулин» при их воздействии на культуру мононуклеарных клеток ингибируют спонтанную продукцию ФНО α и стимулируют внутриклеточный синтез ИФН γ при привычном невынашивании беременности без антифосфолипидного синдрома и с антифосфолипидным синдромом.

5. Показано, что при привычном невынашивании беременности и антифосфолипидном синдроме, в экспериментальных условиях, препарат «Габриглобин» оказывает более активное влияние на иммунную систему повышая количество активированных лимфоцитов, рецепцию ими ИФН γ и рецепцию ИФН γ ЕК с фенотипом CD56+. В то время как «антицитомегаловирусный иммуноглобулин» повышает количество CD69+ лимфоцитов выделенных из периферической крови женщин с привычным невынашиванием беременности без антифосфолипидного синдрома, и рецепцию ИФН γ как CD16+, так и CD56+ ЕК.

Практические рекомендации

На основании полученных результатов отечественный иммуноглобулин для внутривенного введения - «Габриглобин» может быть использован в комплексе прегравидарной подготовки женщин при невынашивании беременности инфекционного и аутоиммунного генеза (АФС), для нормализации функций иммунной системы.

Список опубликованных работ по теме диссертации.

1. Соловьёва А.Е, Сотникова Н.Ю., Вторушина В.В. Соотношение различных популяций естественных киллеров и уровень их активации у женщин с привычным невынашиванием беременности // Russian Journal of Immunology. - 2005. - V.9. - Suppl.2. - P.179-180.
2. Кривенцова Т.А., Сотникова Н.Ю., Вторушина В.В., Бойко Е.Л., Соловьёва А.Е. Особенности активации лимфоцитов периферической крови у женщин с привычным невынашиванием беременности ранних сроков беременности и антифосфолипидным синдромом // Russian Journal of Immunology. - 2005. - V.9. - Suppl.2. - P.166-167.
3. Соловьёва А.Е, Сотникова Н.Ю., Вторушина В.В. Иммунологические аспекты привычного невынашивания беременности инфекционного генеза в сочетании с АФС // «Медицинская иммунология». – Санкт-Петербург. – 2006. – Том 8.- №2-3. - С. 322.
4. Соловьёва А.Е, Сотникова Н.Ю. Влияние иммуномодуляторов на продукцию цитокинов *in vitro* у женщин с привычным невынашиванием беременности // Материалы V конференции иммунологов Урала ж. «Иммунология Урала». – Оренбург. – 1 (5) 2006. – С. 122.
5. Соловьёва А.Е, Сотникова Н.Ю. Особенности иммуномодулирующего действия иммуноглобулинов для внутривенного введения у женщин с привычным невынашиванием беременности // Академический журнал Западной Сибири. - Тюмень. – 2006. – №4. - С. 31.

6. Соловьёва А.Е., Сотникова Н.Ю., Вторушина В.В. Влияние иммуномодуляторов на процессы активации естественных киллеров *in vitro* у женщин с привычным невынашиванием беременности // Материалы научной конференции, посвящённой 85-летию со дня рождения академика РАМН И.Н. Блохиной. Под ред. Проф. Е.И. Ефимова. «Новые технологии в профилактике, диагностике, эпиднадзоре и лечении инфекционных заболеваний». – Н.Новгород: Изд-во ННГУ им.Лобачевского, 2006. – С.181.
7. Соловьёва А.Е., Сотникова Н.Ю., Вторушина В.В., Кривенцова Т.А. Спонтанная продукция ИФН γ и ФНО α периферическими МНК женщин с невынашиванием беременности ранних сроков инфекционного генеза и антифосфолипидным синдромом// «Медицинская иммунология». – Санкт-Петербург. – 2007. – Том 9. - № 2-3. - С.263.
8. Соловьёва А.Е., Е.Л. Бойко, В.В. Вторушина, Т.А. Кривенцова, Л.В. Посисеева, Сотникова Н.Ю. Характеристика различных субпопуляций естественных киллеров и уровень их активации у женщин с привычным невынашиванием беременности инфекционного генеза и антифосфолипидным синдромом// Вестник новых медицинских технологий. – Тула. – 2007. – Том XIV. - №2. – С.59-60.
9. Сотникова Н.Ю., Соловьёва А.Е., Вторушина В.В., Кривенцова Т.А. «Средство для лечения женщин с привычным невынашиванием беременности при наличии или отсутствии антифосфолипидного синдрома» - приоритетная справка № 2007126885 от 16.07.07г..

Перечень условных сокращений

АФС – антифосфолипидный синдром
ВА – волчаночный антикоагулянт
ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота
ЕК – естественные киллеры
ИГВВ – иммуноглобулин для внутривенного введения
ИГВМ – иммуноглобулин для внутримышечного введения
ИГ – иммуноглобулин
ИФА – иммуноферментный анализ
ИФН γ – интерферон
мАТ – моноклональные антитела
МНК – мононуклеарные клетки
ПНБ – привычное невынашивание беременности
ПЦР – полимеразная цепная реакция
СН - супернатант
ФНО α – фактор некроза опухоли
CD – кластер дифференцировки клеток
CMV - цитомегаловирус
ELISA - иммуноферментный анализ
FITC – флюоресцеин изотиоционат
HSV I, II – вирус простого герпеса I, II типа
Ig A – иммуноглобулин класса A
Ig G – иммуноглобулин класса G
Ig M – иммуноглобулин класса M
PE - фикоэритрин