

# ИЗОТИПИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВИРУСПЕЦИФИЧЕСКОГО СИСТЕМНОГО ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ, ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ С ГРИППОМ А

В.З. Кривицкая<sup>1</sup>, А.А. Васильева<sup>1</sup>, Е.М. Войцеховская<sup>1</sup>, Е.Р. Петрова<sup>1</sup>,  
М.М. Писарева<sup>1</sup>, Ж.В. Бузицкая<sup>1</sup>, Е.А. Елпаева<sup>1</sup>, А.А. Го<sup>1</sup>, Л.В. Волощук<sup>1</sup>,  
Н.И. Львов<sup>2</sup>, Т.Д. Смирнова<sup>1</sup>, А.А. Соминина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ НИИ группа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБВОУ ВПО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Целью работы являлся сравнительный анализ изотипической структуры специфического противовирусного системного гуморального иммунного ответа у госпитализированных пациентов с гриппом, вызванным вирусами А(Н3N2) или А(Н1N1), включая А(Н1N1)pdm09. Методом ИФА были проанализированы парные сыворотки крови, полученные в острый и реконвалесцентный периоды заболевания от 109 взрослых пациентов в возрасте от 18 до 67 лет, перенесших лабораторно установленный грипп А. В качестве антигенов для сенсibilизации твердой фазы в ИФА использовали очищенные фракции поверхностных гликопротеинов вирусов гриппа А различных субтипов, содержащие гемагглютинин и нейраминидазу. Отсутствие консервативных типоспецифичных внутренних белков в антигенном материале позволило проводить в ИФА субтипологическую дифференцировку грипп-специфичных антител. Независимо от субтипа вируса гриппа А, вызвавшего заболевание, наиболее выраженный ответ наблюдали со стороны субтипоспецифичных IgG1 (70–90% сероконверсий). Впервые было показано, что характерной чертой иммунного ответа на вирус гриппа А(Н1N1)pdm09 как при первичном, так и при повторном заболеваниях, является низкая активность вирусиндуцированных IgG2 (6–9% сероконверсий). В группах пациентов, неоднократно перенесших «сезонный» грипп в 2007–2008 гг. или грипп А(Н3N2) в 2012–2014 гг., частота сероконверсий IgG2 составила 40–59% ( $p < 0,05$ ). Реакция вирусспецифичных IgG3 также была выражена слабее у пациентов с гриппом А(Н1N1)pdm09 (29–44% сероконверсий), чем у пациентов, перенесших грипп А(Н1N1) или А(Н3N2) (65 и 56% сероконверсий соответственно). При гриппе А(Н1N1)pdm09 в реакции микронейтрализации были выявлены значимо более низкие показатели среднегеометрических титров вируснейтрализующих антител в фазе реконвалесценции (1/28 и 1/103 при первичном и повторном заболеваниях), чем у пациентов, переболевших гриппом А(Н1N1) или гриппом А(Н3N2) (СГТ составили 1/594 и 1/378 соответственно). Показано, что поверхностные глико-

## Адрес для переписки:

Кривицкая Вера Зорьевна  
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, 15/17,  
ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ.  
Тел./факс: (812) 499-15-72 (служебн.); 8 (921) 886-37-95 (моб.).  
E-mail: vera.kriv@influenza.spb.ru

## Contacts:

Vera Z. Krivitskaya  
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Professor Popov str.,  
15/17, Research Institute of Influenza.  
Phone/fax: (812) 499-15-72 (office); +7 (921) 886-37-95 (mobile).  
E-mail: vera.kriv@influenza.spb.ru

## Библиографическое описание:

Кривицкая В.З., Васильева А.А., Войцеховская Е.М., Петрова Е.Р.,  
Писарева М.М., Бузицкая Ж.В., Елпаева Е.А., Го А.А., Волощук Л.В.,  
Львов Н.И., Смирнова Т.Д., Соминина А.А. Изотипическая структура  
вируспецифического системного гуморального иммунного ответа  
у взрослых пациентов, госпитализированных с гриппом А // Инфекция  
и иммунитет. 2016. Т. 6, № 1. С. 55–66. doi: 10.15789/2220-7619-  
2016-1-55-66

## Citation:

Krivitskaya V.Z., Vasilieva A.A., Voytsekhovskaya E.M., Petrova E.R.,  
Pisareva M.M., Buzitskaya Zh.V., Elpaeva E.A., Go A.A., Voloshchuk L.V.,  
Lvov N.I., Smirnova T.D., Sominina A.A. Virus-specific humoral immune  
response isotypic structure in adult patients hospitalized with influenza A //  
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016,  
vol. 6, no. 1, pp. 55–66. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-55-66

протеины вирусов гриппа А могут выступать в качестве аллергенов. Частоты сероконверсий вирусспецифических IgE была сопоставима во всех группах пациентов, достигая 25–45%. Выявлена высокая активность вирусспецифических сывороточных IgA в группах пациентов, перенесших грипп А(H3N2) или А(H1N1)pdm09 (60–79% сероконверсий). Таким образом, изучение активности вирусспецифических иммуноглобулинов различных изотипов позволяет получить важную информацию о формировании адаптивного противовирусного иммунного ответа при гриппе А, оценить вклад его протективной и иммунопатогенной составляющих в патогенез заболевания.

**Ключевые слова:** иммуноферментный анализ, грипп А(H3N2), грипп А(H1N1)pdm09, гуморальный противовирусный иммунитет, изотипы субтипоспецифических иммуноглобулинов, нейтрализующие антитела, взрослые пациенты.

## VIRUS-SPECIFIC HUMORAL IMMUNE RESPONSE ISOTYPIC STRUCTURE IN ADULT PATIENTS HOSPITALIZED WITH INFLUENZA A

Krivitskaya V.Z.<sup>a</sup>, Vasilieva A.A.<sup>a</sup>, Voytsekhovskaya E.M.<sup>a</sup>, Petrova E.R.<sup>a</sup>, Pisareva M.M.<sup>a</sup>, Buzitskaya Zh.V.<sup>a</sup>, Elpaeva E.A.<sup>a</sup>, Go A.A.<sup>a</sup>, Voloshchuk L.V.<sup>a</sup>, Lvov N.I.<sup>b</sup>, Smirnova T.D.<sup>a</sup>, Sominina A.A.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** The aim of this investigation was a comparative analysis of isotypic structure of specific antiviral systemic humoral immune response in hospitalized patients with influenza caused by virus A(H3N2) or A(H1N1), including the A(H1N1)pdm09. Paired acute and convalescent phase sera from 109 adult patients aged 18 to 67 years with laboratory-confirmed influenza A were analyzed by ELISA. Purified surface glycoproteins of influenza A viruses of different subtypes containing the hemagglutinin and neuraminidase were used as antigen for sensitization of plates in ELISA. The absence of type-specific conserved internal proteins in antigenic material allowed to carry out a subtype-specific differentiation of antibodies against influenza viruses in ELISA. Regardless of the subtype of influenza A viruses caused the disease, the most pronounced response was observed by subtype-specific IgG1 (70–90% of seroconversions). It has been shown for the first time that low activity of virus-induced IgG2 (6–9% of seroconversions) is a peculiarity of the immune response both to primary or recurrent infections with A(H1N1)pdm09. In patients repeatedly suffered by «seasonal» influenza A(H1N1) in 2007/2008 or influenza A(H3N2) in 2012–2014 IgG2 seroconversion's rates were 40–59% ( $p < 0,05$ ). Reaction virus-specific IgG3 was also weaker in patients with influenza A(H1N1)pdm09 (29–44% of seroconversions) than in subjects with influenza A(H1N1) or A(H3N2) (65% and 56% of seroconversions, respectively). Geometric mean titers of virus neutralizing antibodies identified during recovery phase in patients with primary and secondary influenza A(H1N1)pdm09 (1/28 and 1/103, respectively) were significantly lower than in patients recovered from influenza A(H1N1) or A(H3N2) (GMT were 1/594 and 1/378, respectively). It was shown that the surface glycoproteins of influenza A viruses may be an allergens. Virus-specific IgE seroconversion rates were comparable in all groups reaching 25–45%. The high activity of virus-induced serum IgA was detected in patients with influenza A(H3N2) or A(H1N1)pdm09 (60–79% of seroconversions). Thus, study of virus-specific activity of various immunoglobulin isotypes provides important information about the formation of adaptive antiviral immune response to influenza A viruses, and also estimate the contribution of its protective and immunopathogenic components to pathogenesis of the disease.

**Key words:** ELISA, influenza A(H3N2), influenza A(H1N1)pdm09, humoral antiviral immunity, isotypes of subtype-specific immunoglobulins, virus neutralizing antibody, adult patients.

Известно, что течение инфекции и характер иммунного ответа на нее во многом определяется типом цитокинной регуляции. Поскольку синтез иммуноглобулинов (Ig) различных изотипов регулируется определенными факторами, по характеру реагирования вирусспецифических антител (АТ) можно до определенной степени судить об особенностях регуляторных механизмов, определяющих патогенез заболевания. Так, у человека ключевым регулятором активности антиген-специфических IgG1, IgG2 и IgG3 является интерферон-гамма (IFN $\gamma$ ), синтез которого обеспечивают

главным образом Th1-клетки [5, 27]. Th2-опосредованные медиаторы регулируют образование IgE (IL-4, IL-13), IgG4 (IL-4, IL-10, IL-13) [7] и IgA (TGF- $\beta$ , IL-4, IL-5) [23].

Помимо отличий в регуляции синтеза, Ig различных изотипов функционально неоднородны. Вирусспецифические IgG1, IgG2, IgG3 человека оказывают выраженное нейтрализующее действие. IgG1 и IgG3 обычно синтезируются в ответ на белковую составляющую антигенов. IgG2 помимо белковой части антигена взаимодействуют также с его полисахаридной составляющей. Аффинность связи с комплементом

распределяется следующим образом: IgG3 > IgG1 > IgG2. IgG4 практически не связывается с комплементом [26]. Синтез АГ-специфичных IgG4 и IgE четко ассоциирован у людей с аллергией на определенный антиген [8].

До недавнего времени считалось, что наиболее важные характеристики АТ, к которым относятся специфичность и аффинность, зависят исключительно от свойств переменного (V) региона молекулы Ig, в то время как структура константного (С) региона определяет изотип АТ и такие их эффекторные функции, как способность активировать комплемент и Fc-зависимую клеточную цитотоксичность. Тем не менее, в последнее десятилетие появились данные о том, что тонкая специфичность АТ (различия во взаимодействии АТ, обладающих идентичным V-регионом, с антигеном) зависит от изотипа Ig. Показано, что различия в структуре СН-домена могут обуславливать вариации в конформации паратопа антител вследствие изменений в микроокружении связующего сайта (электростатические и гидрофобные связи, ионная сила и рН). Эти изменения, в свою очередь, могут оказывать влияние на характер взаимодействия между антигеном (АГ) и АТ. Следовательно, характер и эффективность иммунного ответа на воздействие АГ, включая вирусы, может зависеть не только от специфичности и авидности АТ, определяемой структурой Fab-фрагмента, но и от их изотипа [25].

Вместе с тем, роль Ig различных изотипов при вирусных инфекциях изучена недостаточно. Информация о реакции АТ различных изотипов у больных гриппом ограничивается немногочисленными исследованиями.

В этой связи целью настоящей работы являлся сравнительный анализ изотипической структуры специфического противовирусного системного гуморального иммунного ответа у пациентов, перенесших грипп, вызванный вирусами А(Н3N2) и А(Н1N1), включая А(Н1N1)pdm09.

## Материалы и методы

*Клинические материалы.* Были проанализированы парные сыворотки крови, полученные в острый (2–4 день) и реконвалесцентный (7–15 день) периоды заболевания от 109 взрослых пациентов в возрасте от 18 до 67 лет с лабораторно установленным гриппом легкой и средней тяжести, проходивших лечение на отделении респираторных вирусных инфекций у взрослых ФГБУ НИИ гриппа, а также в Военно-медицинской академии имени С.М. Ки-

рова. Группы сравнения составили 20 человек с гриппом А(Н1N1), обследованные в 2007–2008 гг.; 50 пациентов, болевшие гриппом А(Н1N1)pdm09 с ноября 2009 г. по март 2014 г., а также 39 человек, перенесшие грипп А(Н3N2) в 2012–2014 гг. Средний возраст в группах составлял 20,2; 31,6 и 25,1 лет соответственно.

Диагноз гриппа А, а также субтип вируса, вызвавшего заболевание, были установлены на основании данных ПЦР при анализе назальных мазков с использованием наборов «АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL», «АмплиСенс® Influenza virus A type FL» и «АмплиСенс® Influenza virus A/H1-swine-FL» («Интерлабсервис», Москва), по выявлению сероконверсий противогриппозных АТ в РТГА и/или прироста субтипоспецифичных IgG (без разделения на изотипы) при использовании ИФА-тест-систем производства ООО «Предприятие по производству диагностических препаратов» (Санкт-Петербург).

*Реакция торможения гемагглютинации (РТГА)* была проведена в соответствии с методическими указаниями [3] с использованием диагностикомов производства ООО «Предприятие по производству диагностических препаратов» (Санкт-Петербург). Во избежание неспецифических реакций, сыворотки крови предварительно подвергали обработке рецептор-разрушающим энзимом (Receptor Destroying Enzyme, RDE) производства Denka Seiken Co., LTD (Токио, Япония).

*ИФА для детекции грипп-специфичных иммуноглобулинов различных изотипов в сыворотках крови.* В качестве антигенов (АГ) для сенсibilизации твердой фазы использовали очищенные в сахарозном градиенте фракции поверхностных гликопротеинов (ГП) вирусов гриппа А, содержащие гемагглютинин и нейраминидазу. Отсутствие консервативных типоспецифичных внутренних белков в полученном антигенном материале позволило проводить в ИФА субтипovou дифференцировку грипп-специфичных АТ.

Культивирование вирусов гриппа А [штаммы А/Brisbane/59/2007 (Н1N1), А/California/07/2009 (Н1N1)pdm09, А/Texas/50/2012 (Н3N2)] в аллантоисной полости куриных эмбрионов, их очистка и концентрация, а также получение ГП-фракций из цельновирионных суспензий с использованием неионного детергента Octyl-β-D-glucopyranoside (ОГ) («Sigma», США) проводили согласно описанному ранее [1].

Очищенными ГП (2 мкг/мл), разведенными карбонатно-бикарбонатным буфером, рН 9,5, сенсibilизировали планшеты (ОАО «Фирма Медполимер», Санкт-Петербург) в течение

18 ч при 4°C, после чего вносили анализируемые сыворотки, разведенные 0,01М фосфатно-солевым буфером (ФСБ), рН 7,2, с добавлением 5% обезжиренного молока (ФСБ-М). Планшеты инкубировали 18 ч при 4°C. Сыворотки исследовали в одном разведении, предварительно определенном как оптимальное: 1/200 (IgG1 и IgA), 1/20 (IgG2, IgG4, IgE), 1/40 (IgG3). Связавшиеся с антигеном АТ детектировали с помощью пероксидазных конъюгатов моноклональных АТ (МКА), специфичных к соответствующим изотипам Ig человека (НПО «Полигност», Санкт-Петербург), разведенных до рабочих концентраций ФСБ-М. После инкубации в течение 1 ч при 37°C пероксидазную реакцию проявляли добавлением субстратной смеси, содержащей 0,1 мг/мл 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) и 0,02% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в ацетат-цитратном буфере, рН 5,0. После остановки реакции 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> измеряли оптическую плотность на фотометре Labsystems Multiskan (Thermo Electron Corp., США) при длине волны 450 нм (OD<sub>450</sub>).

Сероконверсии в парных сыворотках считали доказанными, если показатель OD<sub>450</sub> для пробы, полученной в реконвалесцентный период заболевания, превышал OD<sub>450</sub> для сыворотки, взятой в острой фазе гриппа, не менее чем на 0,25. В предварительных экспериментах с титрованием антигриппозных сывороток в ИФА было установлено, что этому показателю соответствуют 4-кратные и более приросты титров АТ в РТГА.

*Оценка нейтрализующей активности антител в реакции микронейтрализации (МН)* была проведена в соответствии с предложенной ранее модификацией метода [1]. Для анализа использовали сыворотки крови, обработанные RDE и прогретые при 56°C в течение 30 мин. Ингибирование синтеза внутриклеточных вирусных белков в присутствии АТ учитывали в микрокультуральном ИФА с использованием пероксидазного конъюгата МКА, взаимодействующих с NP-белком вирусов гриппа типа А (независимо от субтипа). МКА были получены в лаборатории биотехнологии диагностических препаратов НИИ гриппа.

*Статистическая обработка результатов* проводилась с использованием компьютерных программ «StatstDirect» и «Statistica 10». Графически уровни АТ (OD<sub>450</sub>) представлены в виде квантилей. При множественных попарных сравнениях независимых выборок на одном массиве данных (уровень Ig различных изотипов в сравниваемых группах) использовали критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони на множественность сравнения после

проведения рангового дисперсионного анализа с применением Н-критерия Крускала–Уоллиса. При сравнении выборочных долей (частоты выявления сероконверсий) применяли точный критерий Фишера. Мерой связи между двумя качественными признаками служил коэффициент ассоциации Пирсона ( $r_A$ ). Проверяемые критериями нулевые гипотезы отвергались при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты

Известно, что механизмы противовирусной защиты, так же как и иммунопатологии, в том числе обусловленные действием АТ, различны при первичном инфицировании и повторных эпизодах заболевания, что определяется особенностью формирования иммунного ответа на новый для организма патоген, а также наличием (или отсутствием) иммунологической памяти по отношению к данному агенту. В этой связи обследованные пациенты были разделены на группы в зависимости от того, являлась ли гриппозная инфекция первичной или уже повторной.

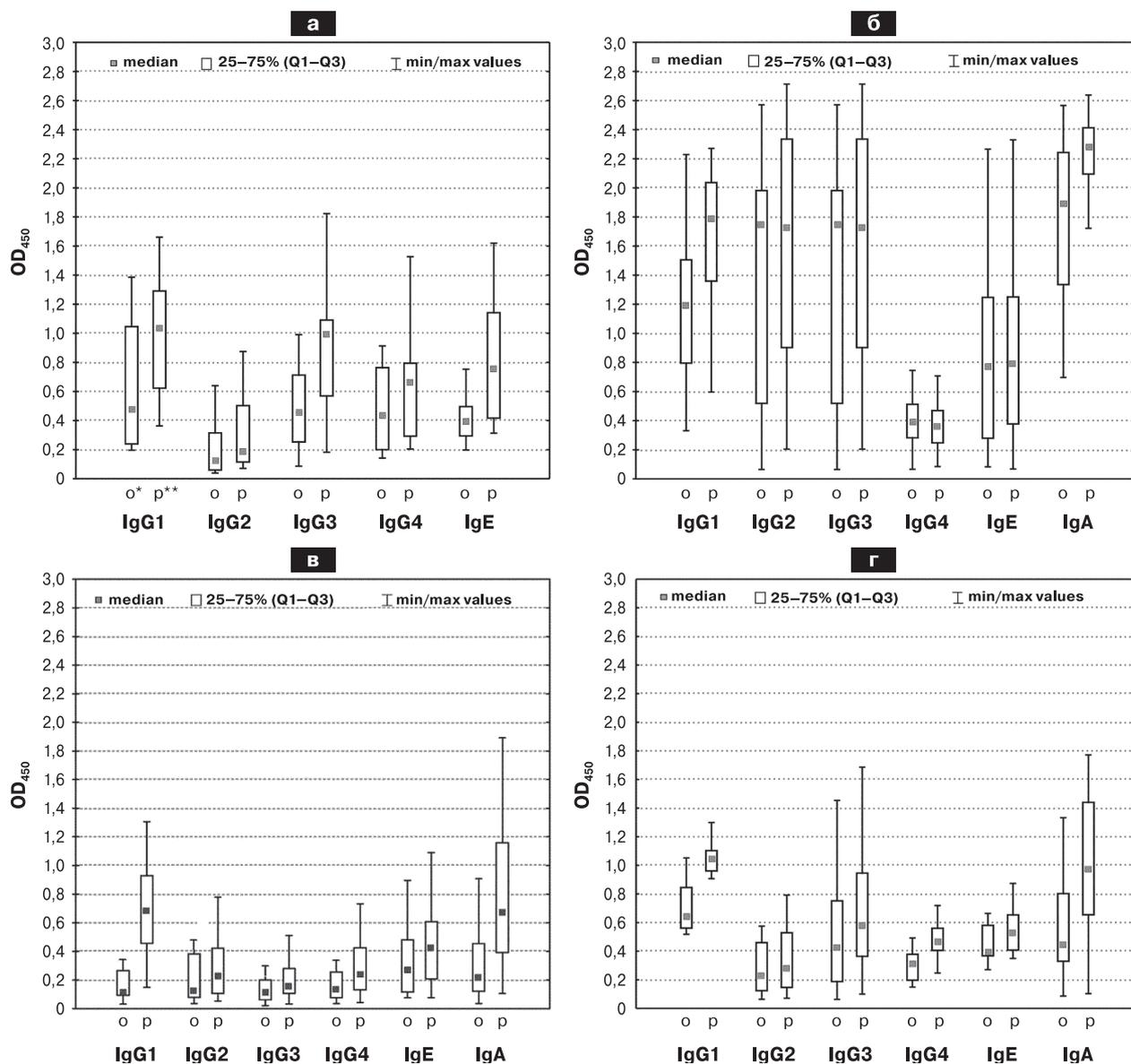
Включение пациентов в ту или иную группу производилось с учетом данных, представленных в литературе. Так, исследование динамики синтеза АТ у взрослых волонтеров, привитых вакциной против нового патогена А(H1N1)pdm09, показало, что после первой инъекции вирусспецифичные АТ появлялись в крови не ранее, чем через 3–5 дней. У большинства испытуемых сероконверсии наблюдались лишь к 10–14 дню поствакцинации [24]. В противоположность этому, у взрослых больных гриппом А(H3N2), которые в течение жизни встречались с данным патогеном не единожды, содержание в крови H3-специфичных IgG различных изотипов, выявленное в ИФА уже в первые дни заболевания, было достаточно велико. Вследствие ежегодных эпидемий, в сыворотках здоровых взрослых людей уровни всех 4-х изотипов H3-специфичных IgG также значительно превышали отрицательные значения [11, 13]. При этом даже после первичного заболевания гриппом у большинства взрослых людей АТ, взаимодействующие с поверхностными гликопротеинами вируса, детектировали в крови на достаточно высоком уровне в течение длительного времени (до 3 лет) [21].

С учетом вышеприведенных данных, первично инфицированными с большой степенью вероятности можно считать пациентов, в крови которых в первые 3 дня заболевания методом ИФА не было обнаружено IgG, взаимодей-

ствующих с поверхностными белками вируса гриппа анализируемого субтипа. Показателем повторного инфицирования служило выявление в сыворотках, полученных в первые дни заболевания, хотя бы одного из изотипов субтипоспецифичных IgG.

С целью выявления сывороток, положительных по содержанию вирусспецифичных АТ, были определены пороговые значения. В условиях нашей постановки ИФА сыворотки крови, для которых показатели  $OD_{450}$  варьировали в пределах 0,15–0,22 в зависимо-

сти от изотипа АТ, были охарактеризованы как негативные. Такие показатели, принятые за отрицательный контроль ( $OD_{450} K^-$ ), были получены нами ранее при анализе содержания грипп-специфичных АТ в сыворотках крови детей возрастной группы 1–2 года, еще не болевших гриппом. Положительными по содержанию вирусспецифических АТ считали сыворотки, в которых значения  $OD_{450}$  при рабочем разведении проб превышали рассчитанное для каждого изотипа пороговое значение ( $2 \times OD_{450} K^-$ ), что соответствовало «правилу трех сигм».



**Рисунок 1. Изменение содержания иммуноглобулинов различных изотипов, специфичных к поверхностным гликопротеинам вируса гриппа А, в сыворотках взрослых пациентов, переболевших гриппом А**

**Примечания.** 1) Лица, переболевшие гриппом, вызванным вирусами гриппа А(Н1N1), циркулировавшими до 2009 г. (а) или А(Н3N2) (б). 2) Пациенты, первично (в) и повторно (г) инфицированные вирусом гриппа А(Н1N1)рdм09.

3) \* «о» — пробы, полученные в острый период заболевания; \*\* «р» — пробы, полученные в фазе реконвалесценции.

**ТАБЛИЦА 1. ИЗОТИПИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА СИСТЕМНОГО ГУМОРАЛЬНОГО ВИРУСПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕБОЛЕВШИХ ГРИППОМ А**

Группа обследованных	Характер заболевания	Время проведения обследования	Численность группы	Частота конверсий грипп-специфических антител (%) (по данным ИФА)*					
				IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgE	IgA
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н1N1)	повторное	2007–2008 гг.	20	70	40	65	40	45	н/а
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н3N2)	повторное	2012–2014 гг.	39	90	59	56	13	44	79
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н1N1)pdm09	первичное	2009–2013 гг.	34	83	9	29	15	35	68
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н1N1)pdm09	повторное	2011–2014 гг.	16	75	6	44	50	25	60

**Примечание.** \* — учитывали сероконверсии антител, специфичных к вирусу гриппа, являющегося этиологическим фактором заболевания; н/а — не анализировано.

Исходя из предложенных критериев, все переболевшие «эпидемическим» гриппом А(Н1N1) или А(Н3N2) были отнесены к повторно инфицированным, поскольку у них содержание хотя бы одного из изотипов грипп-специфических IgG, выявленное в крови в ранний период заболевания, превышал пороговое значение (рис. 1а и 1б). Пациенты с гриппом А(Н1N1)pdm09 были разделены на 2 группы: первично и повторно инфицированные (рис. 1в и 1г).

В ходе исследований прежде всего было проанализировано образование Th1-регулируемых АТ (IgG1, IgG2 и IgG3), специфичных к поверхностным ГП вирусов гриппа А, поскольку в модельных экспериментах на мышах, инфицированных вирусом гриппа [19], а также в результате клинических испытаний гриппозных

вакцин [20] было показано, что протективное противовирусное, в том числе нейтрализующее, действие сывороточных АТ обусловлено, главным образом, этими изотипами.

Было установлено, что наиболее выраженный ответ у пациентов всех групп наблюдался со стороны IgG1: частота сероконверсий варьировала в пределах 70–90%. Частота приростов субтипоспецифичных IgG2 и IgG3 уступала этим показателям. При этом, в отличие от IgG1, наблюдались выраженные межгрупповые отличия. У переболевших гриппом, вызванным вирусами А(Н1N1), циркулировавшими до 2009 г., а также А(Н3N2), частота сероконверсий превышала показатели, полученные в группе больных гриппом А(Н1N1)pdm09 как при первичном ( $p < 0,01$  для IgG2 и  $p < 0,025$  для IgG3), так и при повторном забо-

**ТАБЛИЦА 2. ВИРУСНЕЙТРАЛИЗУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ АНТИТЕЛ КРОВИ У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕБОЛЕВШИХ ГРИППОМ А (ПО ДАННЫМ РЕАКЦИИ МИКРОНЕЙТРАЛИЗАЦИИ)**

Группа обследованных	Характер заболевания	Время проведения обследования	Численность группы	Вируснейтрализующая активность антител	
				Частота конверсий	Средние геометрические титры (СГТ) антител*
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н1N1)	повторное	2007–2008 гг.	17	88	83/594
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н3N2)	повторное	2012–2014 гг.	24	83	24/378
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н1N1)pdm09	первичное	2009–2013 гг.	17	53	7/28
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н1N1)pdm09	повторное	2011–2014 гг.	16	88	10/103

**Примечание.** \* Представлены обратные величины СГТ.

леваниях (в данном случае значимые отличия получены только для IgG2 —  $p < 0,025$ ) (табл. 1).

Следует подчеркнуть, что при гриппе А(H1N1)pdm09 реакция IgG2 при повторном заболевании оставалась столь же слабой, как и в случае первичного инфицирования (одинаково низкие показатели частоты конверсий и содержания Ig в крови в стадии реконвалесценции (табл. 1, рис. 1в и 1г). В отличие от этого, активность IgG3 при этом заболевании была выше у повторно инфицированных: среднegrupповое содержание превышало ( $p = 0,03$ ) показатели, полученные для группы лиц с первичным гриппом А(H1N1)pdm09 (рис. 1в и 1г). Частота сероконверсий также была выше, хотя и недостоверно (44 против 29%), у лиц, повторно переболевших пандемическим гриппом (табл. 1).

Таким образом, при гриппе А(H1N1)pdm09 реакция вирусспецифических IgG3 и, особенно IgG2, выражена значительно слабее, чем у пациентов, перенесших грипп А(H1N1) или А(H3N2).

Оценка нейтрализующей активности АТ крови (табл. 2) показала, что при повторных эпизодах гриппа, вызванных вирусами А(H1N1), циркулирующими до 2009 г., или А(H3N2), частота сероконверсий вируснейтрализующих АТ была сопоставимо высока (83–88%). Для значений среднегеометрических титров (СГТ) нейтрализующих антител в этих группах также не было выявлено статистически значимых отличий. С учетом этих данных сопоставимые показатели частоты сероконверсий IgG1, IgG2 и IgG3 позволяют предположить, что вируснейтрализующая активность в этих двух группах пациентов реализуется за счет функционирования всех трех данных субтипов IgG.

Для больных гриппом А(H1N1)pdm09 наблюдалась принципиально иная картина. В группе повторно переболевших частота конверсий нейтрализующих АТ была столь же высока, как и у больных гриппом А(H1N1) или А(H3N2). Однако СГТ нейтрализующих АТ при этом были значительно ниже ( $p < 0,01$ ).

При первичном заболевании гриппом А(H1N1)pdm09 частота конверсий, также как и СГТ нейтрализующих АТ, были ниже показателей, полученных для пациентов других групп ( $p < 0,01$ ), включая повторно переболевших пандемическим гриппом. Следует подчеркнуть, что у первично заболевших содержание нейтрализующих АТ в крови в период реконвалесценции было почти в 2 раза ниже показателя СГТ 1:40, принятого в качестве протективного.

Наряду с Th1-регулируемым гуморальным иммунным ответом, у больных была проведена оценка активности грипп-специфических IgE и IgG4, синтез которых регулируется Th2-зависимыми факторами. Роль Ig данных изотипов в патогенезе вирусных заболеваний, включая грипп, изучена крайне слабо. Основные представления об их функции получены в результате исследования причин возникновения атопических состояний, поскольку синтез аллерген-специфических IgE и IgG4 связан с иммунопатологическими механизмами, наблюдаемыми при аллергических заболеваниях. Известно, что IgE является причиной гиперчувствительности немедленного типа [8]. IgG4, по некоторым данным, — наоборот, играют антисенсибилизирующую, блокирующую по отношению к действию IgE роль [12].

В настоящей работе впервые была проведена сравнительная оценка ответа вирусспецифических IgE и IgG4 у пациентов с гриппом различной этиологии. При этом мы попробовали применить подход, предложенный некоторыми исследователями для понимания АТ-зависимых иммунопатологических механизмов, наблюдаемых при аллергических заболеваниях. Так, показано, что при атопических состояниях, в зависимости от структуры и нагрузки антигена, состава цитокиновой среды в месте воспаления, индивидуальных особенностей иммунной системы пациента соотношение синтезируемых аллерген-специфических IgE и IgG4 может существенно меняться, что отражается на клинической картине заболевания. В этой связи сопоставление активности IgE и IgG4 (соотношение содержания IgE/IgG4 в сыворотках крови) было предложено рассматривать как показатель возможного сенсибилизирующего или антисенсибилизирующего воздействия антигена на иммунную систему хозяина [16].

В представленной работе природы грипп-специфических IgE и IgG4 наблюдали с различной частотой среди пациентов всех рассмотренных групп (табл. 1), что свидетельствует о том, что поверхностные ГП вирусов гриппа А могут являться аллергенами. Для частоты сероконверсий IgE (25–45%) не было показано статистически значимых межгрупповых отличий. В отличие от этого, интенсивность реагирования IgG4 у пациентов, перенесших грипп А(H3N2) или первично инфицированных вирусом А(H1N1)pdm09, была значимо ниже (13–15% конверсий), чем у больных, повторно переболевших сезонным или пандемическим гриппом А(H1N1) (40–50% сероконверсий,  $p = 0,02$ ).

Показатели соотношения частоты конверсий IgE/IgG4 внутри субтипа A(H1) составили 2,4 и 0,5 в группе больных с первичным и повторным гриппом A(H1N1)pdm09 и 1,1 у пациентов с заболеванием, вызванным циркулирующими ранее «сезонными» вирусами A(H1N1). При гриппе A(H3N2) этот показатель был существенно выше, составляя 3,4. Так, в группе переболевших гриппом A(H3N2) была показана достаточно высокая частота сероконверсий IgE (44%) при незначительном показателе приростов IgG4 (13%) (табл. 1).

Таким образом, при условии принятия положения об антисенсибилизирующей роли вирусспецифических IgG4, аллергизирующее действие грипп-специфических IgE на иммунную систему пациентов, не скомпенсированное синтезом блокирующих аллергию IgG4, достаточно высоко при первичном заболевании гриппом A(H1N1)pdm09, но снижается при последующих эпизодах заражения этим вирусом. При гриппе A(H3N2) аллергическая вирусиндуцированная составляющая гуморального иммунного ответа наиболее выражена. Показателем этого, в дополнение к высокому соотношению активности IgE/IgG4, является также чрезвычайно высокое содержание IgE в сыворотках, полученных как в острый, так и в реконвалесцентный период заболевания (рис. 1б).

Ранее, при обследовании нами детей с респираторно-синцитиальной вирусной (РСВ) инфекцией, между возникновением у пациентов аллергических проявлений (стеноза гортани или бронхообструкции) и высоким содержанием сывороточного анти-РСВ IgE была выявлена прямая связь. В противоположность этому, связь с активностью РСВ-специфических IgG4 носила обратный характер [2], что согласуется с концепцией об антиаллергенной роли вирусспецифических IgG4.

В отличие от этого, у взрослых больных гриппом нам не удалось установить значимых связей между содержанием в крови IgE или IgG4 и аллергическими проявлениями, такими, например, как обструкция дыхательных путей. Значения  $r_A$  Пирсона ( $r_A < 0,1$ ) свидетельствуют об отсутствии сопряженности между анализируемыми признаками.

Помимо IgE и IgG4, синтез IgA также регулируется Th2-опосредованными факторами. В отличие от секреторного IgA, противовирусные функции которого хорошо изучены, роль сывороточных АТ этого класса при вирусных заболеваниях во многом неясна. Проведенное нами исследование показало высокую активность вирусспецифических сывороточных IgA

у пациентов с гриппом А. Частота сероконверсий Ig данного изотипа, взаимодействующих с поверхностными вирусными ГП, была сопоставима в группах пациентов, перенесших грипп A(H3N2) или A(H1N1)pdm09 (как при первичном, так и при повторном заболевании), варьируя в пределах 60–79% (табл. 1). Однако при сравнимых показателях конверсий, уровень этих АТ в сыворотках, полученных как в острой, так и реконвалесцентной фазах, был значительно выше ( $p < 0,001$ ) у пациентов, переболевших гриппом A(H3N2), по сравнению с больными, инфицированными вирусом A(H1N1)pdm09 как первично, так и повторно (рис. 1б, в, г).

## Обсуждение

Представленные данные дополняют результаты немногочисленных работ, посвященных изотипической структуре противогриппозного иммунного ответа. Так, полученные нами данные о том, что у взрослых пациентов, переболевших гриппом А, наиболее выражен ответ со стороны вирусспецифических IgG1, согласуются с результатами других исследователей [6, 13]. Тем не менее в исследованиях, посвященных роли АТ в патогенезе гриппа, особо подчеркивается важная роль IgG2. Например показано, что тяжелые случаи гриппа A(H1N1)pdm09 у детей и взрослых ассоциированы со сниженным уровнем IgG2 в крови как в острый, так и в реконвалесцентный периоды заболевания [10, 28]. Следует, однако, подчеркнуть, что в этих работах анализировали содержание в крови общего, а не вирусспецифического IgG2.

Таким образом, проведенное нами исследование впервые показало, что, по сравнению с реакцией, наблюдаемой у больных гриппом A(H1N1) или A(H3N2), характерной чертой иммунного ответа на вирус гриппа A(H1N1)pdm09 является низкая активность вирусиндуцированных субтипоспецифических IgG2 как при первичном, так и при повторном заболевании. В дополнение к этому, при первичном гриппе A(H1N1)pdm09 снижена также реакция вирусспецифических IgG3, которая, однако, усиливается при повторных воздействиях патогена.

Предполагаемая причина чрезвычайно низкой активности только одного из Th1-регулируемых изотипов иммуноглобулинов (IgG2) у пациентов с гриппом A(H1N1)pdm09 может заключаться в искаженной вирусиндуцированной цитокиновой регуляции. Известно, что образование IgG1, IgG2 и IgG3 проис-

ходит в определенной степени независимо друг от друга. Так, действие некоторых регуляторных факторов, например, IL-6 и IL-21, на синтез антиген-специфических IgG2 значительно отличается от наблюдаемого при образовании других изотипов IgG [14, 17].

Полученные нами данные позволяют предположить, что, несмотря на интенсивный ответ со стороны вирусспецифических IgG1 (75–83% сероконверсий), сниженная активность IgG3 (29–44% приростов) и почти полное отсутствие реакции со стороны IgG2 (6–9% сероконверсий) может быть одной из причин низкой нейтрализующей активности АТ, наблюдаемой у больных гриппом А(Н1N1)рdm09.

В результате проделанной работы впервые была проведена сравнительная оценка реагирования на гриппозную инфекцию Th2-зависимых вирусспецифических IgE и IgG4, роль которых в патогенезе вирусных заболеваний изучена крайне слабо.

Известно, что IgE является причиной гиперчувствительности немедленного типа. При контакте с иммунной системой чувствительных индивидуумов аллергены способны индуцировать синтез АГ-специфических IgG4 и IgE. Взаимодействие мультивалентного аллергена с Fab-фрагментами двух молекул IgE, связанных с высокоаффинными специфическими рецепторами (FcεR1) на поверхности тучной клетки или базофила, приводит к дегрануляции этих клеток и выбросу ряда вазоактивных молекул, таких как гистамин, серотонин, простагландины, лейкотриены. Эти медиаторы увеличивают локальную проницаемость кровеносных сосудов, вызывают сжатие гладкой мускулатуры дыхательных путей, бронхоконстрикцию и создают очаг воспаления. Тучные клетки, активированные IgE-содержащими иммунными комплексами, продуцируют целый ряд хемокинов (RANTES, eotaxin, MIP-1a) и цитокинов (IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, TNFα и GM-CSF), которые обеспечивают приток клеток-эффекторов, ассоциированных с аллергией (Т-клеток, базофилов, эозинофилов, моноцитов, а также В-клеток, продуцирующих IgE) [8].

В то время как роль IgE при аллергическом воспалении четко определена, информация о функциях IgG4 неоднозначна. С одной стороны показано, что эти АТ играют блокирующую толерогенную роль: успешная иммунотерапия аллергических заболеваний приводит к интенсификации синтеза аллерген-специфических IgG4 и снижению уровня специфических IgE в крови из-за конкуренции Ig данных двух изотипов за связь с одними и теми же эпитопа-

ми аллергена. Следствием является отсутствие IgE-опосредованной активации клеток аллергического воспаления (базофилов и тучных клеток). По данным других авторов, развитие атопии не всегда сопровождается синтезом аллерген-специфических IgG4, или же его наличие в крови не ассоциировано с антиаллергическим эффектом [12].

Оценке Th2-опосредованного вирусспецифического гуморального иммунного ответа при гриппе посвящены лишь единичные исследования.

Так, показано, что иммунизация инактивированной или живой вакциной против пандемического гриппа А(Н1N1)рdm09 индуцировала у детей и взрослых синтез вирусспецифических IgE [22]. У пациентов, инфицированных вирусом гриппа А(Н1N1)рdm09, не регистрировали формирования специфических IgG4 вне зависимости от клинической тяжести заболевания [6]. Тем не менее, у больных гриппом А(Н3N2) наблюдали активный ответ вирусспецифических IgG4 (до 80% сероконверсий) [11, 13].

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что поверхностные ГП вирусов гриппа А(Н3N2) и А(Н1N1), в том числе А(Н1N1)рdm09, могут являться аллергенами и индуцировать синтез вирусспецифических IgE и/или IgG4. При этом аллергенная вирусиндуцированная составляющая гуморального иммунного ответа наиболее выражена в группе пациентов, неоднократно инфицированных вирусом гриппа А(Н3N2). Дальнейшего изучения требует вопрос, является ли такая картина следствием особенностей патогенеза гриппа А(Н3N2), или активность вирусиндуцированного IgE увеличивается при многократных воздействиях на иммунную систему патогена, ежегодно вызывающего эпидемии.

Одним из объяснений отсутствия связи между аллергическими проявлениями (такими, как обструкция дыхательных путей), у пациентов с гриппом А, в отличие от того, что мы наблюдали ранее при РСВ-инфекции, могут быть различия в схеме лечения. Так, в 40–60% случаев взрослым пациентам, больных гриппом и имеющим в анамнезе хронические обструктивные респираторные или аллергические заболевания, во избежание вирусиндуцированных обострений вводили глюкокортикостероиды, которые, как известно, отрицательно влияют на синтез АГ-специфических IgE и/или IgG4 [4]. В то же время терапия обследованных ранее детей с обструктивными осложнениями РСВ-инфекции не включала гормонотерапию. Таким образом, вопрос

о роли вирусспецифических IgE и IgG4 в патогенезе гриппозной инфекции остается открытым и требует дальнейших исследований.

В отличие от секреторного IgA, защитная противовирусная роль которого хорошо изучена, функции антигенспецифических сывороточных АТ этого класса при инфекционных процессах во многом неясны.

Тем не менее, сывороточные IgA играют важную противовоспалительную роль в регуляции иммунного ответа: ингибирует FcR-зависимые воспалительные реакции (IgG-опосредованный фагоцитоз моноцитов/макрофагов, хемотаксис макрофагов, нейтрофилов и эозинофилов в очаг поражения, секрецию цитокинов). С другой стороны, отмечена связь между высоким содержанием аллергенспецифических IgA в крови и развитием у пациентов аллергического воспаления, а также обострением атопической бронхиальной астмы. У лиц, подверженных аллергии, повышена экспрессия специфических рецепторов для IgA (FcαRI) на поверхности эозинофилов. Иммунные комплексы, содержащие молекулы сывороточного мономерного IgA, могут индуцировать активацию провоспалительных сигнальных путей в клетках-эффекторах. Остается нерешенным вопрос, в каких случаях системный IgA играет противовоспалительную роль, а в каких — провоспалительную, патогенную [18].

Показано, что иммунизация волонтеров различными вариантами гриппозных вакцин приводила к значительному повышению содержания в крови не только вирусспецифических IgG, но и IgA [9]. У пациентов, переболевших гриппом А(Н3N2) или А(Н1N1)pdm09, в ИФА выявляли 60–67% сероконверсий вирусспецифических IgA [13, 15]. Полученные нами результаты согласуются с этими данными.

Высокая активность сывороточных IgA, взаимодействующих с поверхностными ГП вирусов гриппа А, свидетельствует о том, что выявление приростов АТ данного класса в ИФА может служить информативным диагностическим серологическим критерием для

ретроспективного подтверждения наличия гриппозной инфекции. Каково значение высокой активности системного IgA для патогенеза гриппозной инфекции может быть определено в процессе будущих исследований.

Таким образом, изучение активности вирусспецифических иммуноглобулинов различных изотипов позволяет получить интересную информацию об особенностях формирования адаптивного противовирусного иммунного ответа при гриппе А, оценить вклад его протективной и иммунопатогенной составляющих в патогенез заболевания.

## Выводы

1. У взрослых пациентов, переболевших гриппом А, наиболее выраженный ответ наблюдали со стороны субтипоспецифических IgG1: частота сероконверсий варьировалась в пределах 70–90%. Реакцию IgG2 и IgG3 наблюдали значительно реже.
2. Впервые показано, что характерной чертой иммунного ответа на вирус гриппа А(Н1N1)pdm09 как при первичном инфицировании, так и при повторном заболевании является чрезвычайно низкая активность субтипоспецифических IgG2, а также сниженные показатели СГТ вируснейтрализующих антител.
3. Поверхностные гликопротеины вирусов гриппа А могут служить аллергенами. Частота сероконверсий вирусспецифических IgE была сопоставима во всех группах, достигая 25–45%. Интенсивность реагирования IgG4 у пациентов, перенесших грипп А(Н3N2) или первично инфицированных вирусом А(Н1N1)pdm09, была значительно ниже (13–15% конверсий), чем у больных, повторно переболевших сезонным или пандемическим гриппом А(Н1N1) (40–50% сероконверсий).
4. Показана высокая активность вирусспецифических сывороточных IgA в группах пациентов, перенесших грипп А(Н3N2) или А(Н1N1)pdm09.

## Список литературы/References

1. Кривицкая В.З., Соминина А.А., Суховецкая В.Ф., Милькинт К.К., Сверлова М.В. Иммунопатологический аллергический Th2-тип противовирусного гуморального иммунного ответа у детей с респираторно-синцитиальной вирусной инфекцией // Цитокины и воспаление. 2004. Т. 3, № 3. С. 34–41. [Krivitskaya V.Z., Sominina A.A., Sukhovetskaya V.F., Milkint K.K., Sverlova M.V. Immunopathological allergic Th2-type anti-viral humoral immune response in infants with respiratory syncytial viral infection. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and inflammation*, 2004, vol. 3, no. 3, pp. 34–41. (In Russ.)]
2. Кривицкая В.З., Соминина А.А., Сорокин Е.В., Войцеховская Е.М., Милькинт К.К., Сироткин А.К. Разработка и изучение диагностических свойств ИФА-тест-систем для субтипоспецифической детекции антител к вирусам гриппа А (Н1N1) и А (Н3N2) // Вопросы вирусологии. 2002. Т. 47, № 3. С. 40–44. [Krivitskaya V.Z., Sominina A.A.,

- Sorokin E.V., Voytsekhovskaia E.M., Milkint K.K., Sirotkin A.K. Development of immunoenzyme assay for subtype-specific detection of antibodies to influenza viruses A (H1N1) and A (H3N2). *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2002, vol. 47, no. 3, pp. 40–44. (In Russ.)
3. Соминина А.А., Кривицкая В.З., Войцеховская Е.М., Медведева Н.А., Липина Н.В., Потапенко Л.Б. Практические рекомендации по диагностике вирусных инфекций. СПб., 2005. 21 с. [Sominina A.A., Krivitskaya V.Z., Voytsekhovskaia E.M., Medvedeva N.A., Lipina N.V., Potapenko L.B. *Prakticheskie rekomendacii po diagnostike virusnyh infekcij* [Practical guidelines for the diagnosis of viral infections]. St. Petersburg, 2005, 21 p. (In Russ.)]
  4. Akdis C.A., Blesken T., Akdis M., Alkan S.S., Heusser C.H., Blaser K. Glucocorticoids inhibit human antigen-specific and enhance total IgE and IgG4 production due to differential effects on T and B cells in vitro. *Eur. J. Immunol.*, 1997, vol. 27, no. 9, pp. 2351–2357.
  5. Al-Darmaki S., Knightshead K., Ishihara Y., Best A., Schenkein H., Tew J., Barbour S. Delineation of the role of platelet-activating factor in the immunoglobulin G2 antibody response. *Clin. Diagnos. Labor. Immunol.*, 2004, vol. 11, no. 4, pp. 720–728.
  6. Arankalle V.A., Lole K.S., Arya R.P., Tripathy A.S., Ramdasi A.Y., Chadha M.S., Sangle S.A., Kadam D.B. Role of host immune response and viral load in the differential outcome of pandemic H1N1 (2009) influenza virus infection in Indian patients. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no. 10, e13099. doi: 10.1371/journal.pone.0013099
  7. Braza F., Chesne J., Castagnet S., Magnan A., Brouard S. Regulatory functions of B cells in allergic diseases. *Allergy*, 2014, vol. 69, no. 11, pp. 1454–1463.
  8. Burton O.T., Oettgen H.C. Beyond immediate hypersensitivity: evolving roles for IgE antibodies in immune homeostasis and allergic diseases. *Immunol. Rev.*, 2011, vol. 242, no. 1, pp. 128–143. doi: 10.1111/j.1600-065X.2011.01024.x
  9. El-Madhun A.S., Cox R.J., Haaheim L.R. The effect of age and natural priming on the IgG and IgA subclass responses after parenteral influenza vaccination. *J. Infect. Dis.*, 1999, vol. 180, no. 4, pp. 1356–1360.
  10. Gordon C.L., Johnson P.D., Permezel M., Holmes N.E., Gutteridge G., McDonald C.F., Eisen D.P., Stewardson A.J., Edington J., Charles P.G., Crinis N., Black M.J., Torresi J., Grayson M.L. Association between severe pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection and immunoglobulin G(2) subclass deficiency. *Clin. Infect. Dis.*, 2010, vol. 50, no. 5, pp. 672–678. doi: 10.1086/650462
  11. Hocart M.J., Mackenzie J.S., Stewart G.A. Serum IgG subclass responses of humans to inactivated and live influenza A vaccines compared to natural infections with influenza A. *J. Med. Virol.*, 1990, vol. 30, no. 2, pp. 92–96.
  12. Hofmaier S., Comberiat P., Matricardi P.M. Immunoglobulin G in IgE-mediated allergy and allergen-specific immunotherapy. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.*, 2014, vol. 46, no. 1, pp. 6–11.
  13. Julkunen I., Hovi T., Seppälä I., Mäkelä O. Immunoglobulin G subclass antibody responses in influenza A and parainfluenza type 1 virus infections. *Clin. Exp. Immunol.*, 1985, vol. 60, no. 1, pp. 130–138.
  14. Kawano Y., Noma T., Yata J. Regulation of human IgG subclass production by cytokines. IFN-gamma and IL-6 act antagonistically in the induction of human IgG1 but additively in the induction of IgG2. *J. Immunol.*, 1994, vol. 153, no. 11, pp. 4948–4958.
  15. Li Z.N., Lin S.C., Carney P.J., Li J., Liu F., Lu X., Liu M., Stevens J., Levine M., Katz J.M., Hancock K. IgM, IgG, and IgA antibody responses to influenza A(H1N1)pdm09 hemagglutinin in infected persons during the first wave of the 2009 pandemic in the United States. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2014, vol. 21, no. 8, pp. 1054–1060. doi: 10.1128/CVI.00129-14
  16. Lima M.T., Wilson D., Pitkin L., Roberts A., Nouri-Aria K., Jacobson M., Walker S., Durham S. Grass pollen sublingual immunotherapy for seasonal rhinoconjunctivitis: a randomized controlled trial. *Clin. Exp. Allergy*, 2002, vol. 32, no. 4, pp. 507–514.
  17. Monteiro R.C. Role of IgA and IgA fc receptors in inflammation. *J. Clin. Immunol.*, 2010, vol. 30, no. 1, pp. 1–9. doi: 10.1007/s10875-009-9338-0
  18. Mewono L., Matondo Maya D.W., Matsiegui P.B., Agnandji S.T., Kendjo E., Barondi F., Issifou S., Kremsner P.G., Mavoungou E. Interleukin-21 is associated with IgG1 and IgG3 antibodies to erythrocyte-binding antigen-175 peptide 4 of Plasmodium falciparum in Gabonese children with acute falciparum malaria. *Eur. Cytokine Netw.*, 2008, vol. 19, no. 1, pp. 30–36. doi: 10.1684/ecn.2008.0114
  19. Palladino G., Mozdzanowska K., Washko G., Gerhard W. Virus-neutralizing antibodies of immunoglobulin G (IgG) but not of IgM or IgA isotypes can cure influenza virus pneumonia in SCID mice. *J. Virol.*, 1995, vol. 69, no. 4, pp. 2075–2081.
  20. Pedersen G.K., Höschler K., Øie Solbak S.M., Bredholt G., Pathirana R.D., Afsar A., Breakwell L., Nøstbakken J.K., Raae A.J., Brokstad K.A., Sjursen H., Zambon M., Cox R.J. Serum IgG titres, but not avidity, correlates with neutralizing antibody response after H5N1 vaccination. *Vaccine*, 2014, vol. 32, no. 35, pp. 4550–4557. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.06.009
  21. Schild G.C., Newman R.W., McGregor I.A., Williams K. The use of transportable single-radial-diffusion immunoplates in sero-epidemiological studies of influenza in the Gambia. The occurrence and persistence of antibody to influenza A/Hong Kong/68 (H3N2) virus in selected inhabitants of two rural villages. *Bull. World Health Organ.*, 1977, vol. 55, no. 1, pp. 3–13.
  22. Smith-Norowitz T.A., Kusonruksa M., Wong D., Norowitz M.M., Joks R., Durkin H.G., Bluth M.H. Long-term persistence of IgE anti-influenza A H1N1 virus antibodies in serum of children and adults following influenza A vaccination with subsequent H1N1 infection: a case study. *J. Inflamm. Res.*, 2012, vol. 5, pp. 111–116. doi: 10.2147/JIR.S34152
  23. Stavnezer J., Kang J. The surprising discovery that TGF beta specifically induces the IgA class switch. *J. Immunol.*, 2009, vol. 182, no. 1, pp. 5–7.
  24. Sun Y., Bian C., Xu K., Hu W., Wang T., Cui J., Wu H., Ling Z., Ji Y., Lin G., Tian L., Zhou Y., Li B., Hu G., Yu N., An W., Pan R., Zhou P., Leng Q., Huang Z., Ma X., Sun B. Immune protection induced on day 10 following administration of the 2009 A/H1N1pandemic influenza vaccine. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no. 12, e14270. doi: 10.1371/journal.pone.0014270
  25. Torres M., Casadevall A. The immunoglobulin constant region contributes to affinity and specificity. *Trends Immunol.*, 2008, vol. 29, no. 2, pp. 91–97. doi: 10.1016/j.it.2007.11.004
  26. Vidarsson G., Dekkers G., Rispens T. IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions. *Front Immunol.*, 2014, vol. 5:520. doi: 10.3389/fimmu.2014.00520

27. Widhe M., Ekerfelt C., Forsberg P., Bergström S., Ernerudh J. IgG subclasses in Lyme borreliosis: a study of specific IgG subclass distribution in an interferon-gamma-predominated disease. *Scand. J. Immunol.*, 1998, vol. 47, no. 6, pp. 575–581.
28. Yamamoto T., Mizoguchi Y., Kaneno H., Yamamoto K., Inoue Y., Kawashima H., Kase T., Shimotsuji T. Serum immunoglobulin G subclass levels and estimated clinical severity caused by possible influenza A (H1N1) pdm 2009 infection. *J. Infect. Chemother.*, 2013, vol. 19, no. 5, pp. 833–842. doi: 10.1007/s10156-013-0570-4

**Авторы:**

**Кривицкая В.З.**, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Васильева А.А.**, научный сотрудник лаборатории биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Войцеховская Е.М.**, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Петрова Е.Р.**, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Писарева М.М.**, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии и геномной инженерии ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Бузицкая Ж.В.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии и геномной инженерии ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Елпаева Е.А.**, научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии и геномной инженерии ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Го А.А.**, к.м.н., зав. отделением респираторных вирусных инфекций у взрослых ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Волощук Л.В.**, к.м.н., старший научный сотрудник отделения респираторных вирусных инфекций у взрослых ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Львов Н.И.**, к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВПО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Смирнова Т.Д.**, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных культур ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Соминина А.А.**, д.б.н., профессор, зав. лабораторией биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

**Authors:**

**Krivitskaya V.Z.**, PhD, MD (Biology), Leading Researcher, Laboratory Biotechnology of Diagnostic Reagents, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

**Vasilieva A.A.**, Researcher, Laboratory Biotechnology of Diagnostic Reagents, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

**Voytsekhovskaya E.M.**, Senior Researcher, Laboratory Biotechnology of Diagnostic Reagents, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

**Petrova E.R.**, Junior Researcher, Laboratory Biotechnology of Diagnostic Reagents, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

**Pisareva M.M.**, PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Virology and Genetic Engineering, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

**Buzitskaya J.V.**, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Virology and Genetic Engineering, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

**Elpaeva E.A.**, Researcher, Laboratory of Molecular Virology and Genetic Engineering, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

**Go A.A.**, PhD (Medicine), Head of the Department of Respiratory Viral Infections in Adults, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

**Voloshchuk L.V.**, PhD (Medicine), Senior Researcher, Department of Respiratory Viral Infections in Adults, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

**Lvov A.I.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Infectious Diseases, Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation;

**Smirnova T.D.**, PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Cell Cultures, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

**Sominina A.A.**, PhD, MD (Biology), Professor, Head of the Laboratory Biotechnology of Diagnostic Reagents, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation.