

DOI: 10.26693/jmbs02.03.043
УДК 615.06:616.921.5-085.373

Гришина Е. И.¹, Бабинец О. М.¹, Менкус Е. В.¹, Мирошниченко Т. Н.²

ОСОБЕННОСТИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУННОГО ОТВЕТА НА ВАКЦИНАЦИЮ ПРОТИВ ГРИППА У БОЛЬНЫХ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

¹ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова НАМН Украины», Харьков

²КУЗ «Харьковская городская многопрофильная больница №18»

olga.babinets@gmail.com

Целью настоящего исследования явилось изучение показателей клеточного иммунитета, интерлейкина-4 (ИЛ-4), интерферона- γ (ИФН- γ) до и через 3 недели после вакцинации против гриппа у пациентов с сахарным диабетом (СД) 2 типа. Было обследовано 67 пациентов с СД 2 типа. В контрольную группу вошли здоровые лица в количестве 30 человек. Уровни CD4+ и CD8+ на исходном этапе были достоверно ниже в группе «1». Через 3 недели в группе «1» динамики не было, в то время как в группе «2» показатели достоверно повышались. Уровень ИЛ-4 у пациентов с СД значительно не отличался от такового у здоровых лиц до вакцинации и повышался после вакцинации в 2,5 раза. В то же время уровень ИФН- γ , который был достоверно ниже до вакцинации у пациентов СД по сравнению со здоровыми лицами, после вакцинации повышался более значительно (в 2,9 раза). Полученные данные свидетельствуют о том, что неспецифический иммунный ответ на вакцинацию против гриппа у пациентов СД характеризуется менее выраженным повышением CD4+ и CD8+ Т-клеток и разбалансированностью, которая проявляется большей активацией Th1 клеток по сравнению со здоровыми лицами.

Ключевые слова: вакцинация, грипп, сахарный диабет, иммунитет.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Работа выполнена в рамках научно-исследовательской работы, финансируемой Национальной академией медицинских наук Украины, «Влияние вакцинации против гриппа на течение коморбидных состояний у больных с метаболическим синдромом», шифр НАМН 126/2015, № гос. регистрации 0115U000546.

Введение. Развитие инфекционных заболеваний при сахарном диабете (СД) способствует декомпенсации углеводного обмена, что может привести к диабетическому кетоацидозу, гиперосмолярному гипергликемическому состоянию и, как

следствие, повышению летальности. Инфекционные заболевания на фоне СД могут протекать как молниеносно, требуя усиленного контроля и необходимости оказания urgentной медицинской помощи, так и приобретать хроническое, склонное к рецидивированию, торпидное и малосимптомное течение, из-за чего больные не получают необходимой терапии [1].

Результаты 97 проспективных исследований, включивших около 829900 человек, показали, что больные СД имеют в 1,67 раза (95% доверительный интервал (ДИ) 1,45–1,92) более высокий риск смерти от пневмонии, чем лица без СД. Относительный риск других инфекционных заболеваний (исключая пневмонию) при СД достигает 2,39 (95% ДИ 1,95–2,93). Почти у половины больных СД, по разным причинам госпитализированных в отделение реанимации, имеются острые инфекции; повышен риск внутрибольничной бактериемии, сопровождающейся 50-процентной летальностью [18].

Инфекционные заболевания, в частности пневмония, могут развиваться, как осложнения гриппа.

Всемирная организация здравоохранения считает ежегодную вакцинацию наиболее эффективной стратегией профилактики гриппа [19].

Во многих обсервационных исследованиях сравнивали риск смертности от пневмонии и общей смертности во время госпитализации среди вакцинированных и невакцинированных лиц пожилого возраста во время сезона гриппа. При этом было выявлено 50% снижения риска смертности от всех причин для вакцинированных субъектов и 27-33% снижения – от пневмонии и госпитализации, связанной с гриппом, соответственно [3-17, 20, 22].

Целью настоящего исследования явилось изучение показателей клеточного иммунитета, интерлейкина-4 (ИЛ-4), интерферона- γ (ИФН- γ) до и через 3 недели после вакцинации против гриппа у пациентов СД 2 типа.

Объект и методы исследования. Было обследовано 67 пациентов с СД 2 типа, которые

составили группу «1». В контрольную группу «2» вошли здоровые лица в количестве 30 человек.

Диагноз СД устанавливали на основе диагностических критериев Международной федерации диабета (International Diabetes Federation, 2011) [2]. Инсулинорезистентность определяли с помощью индекса HOMA (от англ. The Homeostasis Model Assessment) [21].

Определение количества лимфоцитов в периферической крови с антигенными детерминантами CD проводили с использованием моноклональных антител «Анти-CD 4», «Анти-CD 8» («Гранум», Украина). Уровень инсулина в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с использованием наборов готовых реактивов производства «DRG», Германия.

ИЛ-4 и ИФН-γ определяли в сыворотке крови твердофазным иммуноферментным методом с помощью наборов готовых реактивов «Интерлейкин-4 - ИФА - БЕСТ», «Интерферон-γ - ИФА - БЕСТ», (ЗАО «Вектор-Бест», РФ), соответственно.

Исследование проведено с соблюдением основных биоэтических положений Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине (от 04.04.1997г.), Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения научных медицинских исследований с участием человека (1964-2008 гг.), а также приказа МЗ Украины № 690 от 23.09.2009 г.

Статистический анализ проводили с использованием пакета статистических программ Excel Microsoft Office 2007. Порог статистической погрешности разных тестов был установлен на уровне 5 %. Характер данных описательной статистики зависел от типа переменных. Для сравнения данных использовали t-тест (Стьюдента), Вилкоксона и критерий хи квадрат.

Результаты исследований и их обсуждение.

Среди пациентов СД была 31 (46 %) женщина и 36 (54 %) мужчин в возрасте от 43 до 79 лет, средний возраст которых составил (M ± SD) (63,1 ± 15,8) лет. В контрольной группе было 14 (47 %) женщин

и 16 (53 %) мужчин в возрасте от 42 до 77 лет, средний возраст которых составил (M ± SD) (60,7 ± 17,8) лет. То есть группы были сопоставимы по полу и возрасту.

HOMA-индекс до вакцинации в группах «1» и «2» составил (4,5 ± 1,8) vs (2,3 ± 0,6), p = 0,00. Также достоверно более высокий HOMA-индекс был в группе «1» через 3 недели после вакцинации (5,2 ± 1,7) против (2,0 ± 0,6), p = 0,00. В отличие от показателей группы «2», p = 0,06, в группе «1» наблюдали достоверное увеличение данного показателя, p = 0,01.

Уровень CD4+ на исходном этапе был достоверно ниже в группе «1» (24,4 ± 6,9) % против (29,1 ± 7,4) % в группе «2», p = 0,03. Через 3 недели этот показатель в группе «1» не менялся, а в группе «2» было достоверное его повышение: (26,5 ± 8,6) %, p = 0,12, против (33,5 ± 8,6) %, p = 0,04, в группе «2». При сравнении показателей между группами через 3 недели также получены достоверные различия. Аналогичную картину наблюдали при определении уровня CD8+: первичные показатели в группе «1» были ниже, чем таковые в группе «2»: (19,6 ± 6,8) % против (23,0 ± 6,1) %, p = 0,02. Через 3 недели уровень данного показателя достоверно повысился в группе «2» (28,3 ± 8,7), p = 0,01. В группе «1» уровень CD8+ составил (21,8 ± 6,9) %, p = 0,07 по сравнению с исходными данными и p = 0,00 по сравнению с данными группы «2» (табл.).

Уровень ИЛ-4 у пациентов с СД значимо не отличался от такового у здоровых лиц до вакцинации и повышался после вакцинации в 2,5 раза. При этом содержание ИЛ-4 у пациентов СД после вакцинации становилось достоверно ниже, чем у здоровых. Это может служить свидетельством меньшего увеличения активности Th2 клеток. В то же время уровень ИФН-γ, который был достоверно ниже до вакцинации у пациентов СД по сравнению со здоровыми лицами, после вакцинации повышался более значимо (в 2,9 раза). Соответственно, соотношение ИФН-γ/ИЛ-4 после вакцинации

Таблица – Динамика сывороточных цитокинов у пациентов с СД и здоровых лиц под влиянием вакцинации против гриппа

Группы		ИЛ-4, пг/мл	ИФН-γ, пг/мл	ИФН-γ/ ИЛ-4
Группа «1», n = 67	До вакцинации	(3,27 ± 1,09)	(7,4 ± 2,4)	(2,38 ± 0,7)
	После вакцинации	(8,01 ± 2,6) ¹⁾	(21,87 ± 7,3) ¹⁾	(3,12 ± 1,0) ¹⁾
Группа «2», n = 30	До вакцинации	(3,81 ± 1,2) ³⁾	(8,3 ± 2,8) ³⁾	(2,06 ± 0,7) ³⁾
	После вакцинации	(11,02 ± 3,7) ^{2) 4)}	(22,46 ± 7,4) ²⁾	(2,44 ± 0,8) ⁴⁾

Примечания: N – количество пациентов, ¹⁾ – достоверность разницы показателей внутри группы «1», ²⁾ – достоверность разницы показателей внутри группы «2», ³⁾ – достоверность разницы показателей между группами «1» и «2» до вакцинации, ⁴⁾ – достоверность разницы показателей между группами «1» и «2» после вакцинации.

достовірно підвищалося, як всередині групи, так і порівняно зі здоровими людьми.

Таким чином, ми можемо говорити про початкове зниження імунологічної активності у пацієнтів СД і розбалансованості імунної системи, яка проявляється більшою активацією Th1 кліток.

При високій концентрації глюкози в крові посилюється системний запальний відповідь із надмірного утворення вільних радикалів, посиленої експресії цитокінів і інших медіаторів запалення, лімфопенії зі зниженням числа CD4+ і CD8+ Т-кліток.

Крім того, порушується регуляторна функція CD4+, що проявляється різними ступенями активації Th1 і Th2 кліток.

Проаналізувавши отримані дані можна зробити **висновок**, що неспецифічний імунний відповідь на вакцинацію проти грипу у пацієнтів СД характеризується менш вираженим підвищенням CD4+ і CD8+ Т-кліток і розбалансованістю, яка проявляється більшою активацією Th1 кліток порівняно зі здоровими людьми.

Перспективи подальших досліджень передбачають наступне спостереження за пацієнтами впродовж кількох епідеміологічних сезонів дозволить виділити фактори ефективності вакцинації у хворих СД і розробити на цій основі способи підвищення її ефективності.

References

1. Kukushkin GV, Starostina EG. Infektsii u bolnykh sakharnym diabetom (lektsiya). *RMZh*. 2016; 20: 1327–33. [Russian].
2. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2011; 1: S62–S69. doi: 10.2337/dc11-S062
3. Fedson DS, Wajda A, Nicol JP, Hammond GW, Kaiser DL, Roos LL. Clinical effectiveness of influenza vaccination in Manitoba. *JAMA*. 1993 Oct 27; 270 (16): 1956–61.
4. Fleming DM, van der Velden J, Paget WJ. The evolution of influenza surveillance in Europe and prospects for the next 10 years. *Vaccine*. 2003 May 1; 21 (16): 1749–53.
5. Foster DA, Talsma A, Furumoto-Dawson A, Ohmit SE, Margulies JR, Arden NH, Monto AS. Influenza vaccine effectiveness in preventing hospitalization for pneumonia in the elderly. *Am J Epidemiol*. 1992; 136: 296–307.
6. Hak E, Buskens E, Essen GA, de Bakker DH, Grobbee DE, Tacken MA, van Hout BA, Verheij TJ. Clinical effectiveness of influenza vaccination in persons younger than 65 years with high-risk medical conditions: the PRISMA study. *Arch Intern Med*. 2005; 165: 274–80. DOI: 10.1001/archinte.165.3.274
7. Mangtani P, Cumberland P, Hodgson CR, Roberts JA, Cutts FT, Hall AJ. A cohort study of the effectiveness of influenza vaccine in older people, performed using the United Kingdom general practice research database. *J Infect Dis*. 2004; 190: 1–10. <https://doi.org/10.1086/421274>
8. Mullooly JP, Bennett MD, Hornbrook MC, Barker WH, Williams WW, Patriarca PA, Rhodes PH. Influenza vaccination programs for elderly persons: cost-effectiveness in a health maintenance organization. *Ann Intern Med*. 1994; 121: 947–52.
9. Nichol KL, Baken L, Nelson A. Relation between influenza vaccination and outpatient visits, hospitalization, and mortality in elderly persons with chronic lung disease. *Ann Intern Med*. 1999; 130: 397–403.
10. Nichol KL, Margolis KL, Wuorenma J, Von Sternberg T. The efficacy and cost effectiveness of vaccination against influenza among elderly persons living in the community. *N Engl J Med*. 1994; 331: 778–84. DOI: 10.1056/NEJM199409223311206
11. Nichol KL, Nordin J, Mullooly J, Lask R, Fillbrandt K, Iwane M. Influenza vaccination and reduction in hospitalizations for cardiac disease and stroke among the elderly. *N Engl J Med*. 2003; 348: 1322–32. DOI: 10.1056/NEJMoa025028
12. Nichol KL, Nordin JD, Nelson DB, Mullooly JP, Hak E. Effectiveness of influenza vaccine in the community-dwelling elderly. *N Engl J Med*. 2007; 357: 1373–81. DOI: 10.1056/NEJMoa070844
13. Nichol KL, Wuorenma J, Sternberg T. Benefits of influenza vaccination for low-, intermediate-, and high-risk senior citizens. *Arch Intern Med*. 1998; 158: 1769–76.
14. Nordin J, Mullooly J, Poblete S, Strikas R, Petrucci R, Wei F, Rush B, Safirstein B, Wheeler D, Nichol KL. Influenza vaccine effectiveness in preventing hospitalizations and deaths in persons 65 years or older in Minnesota, New York, and Oregon: data from 3 health plans. *J Infect Dis*. 2001; 184: 665–70. DOI: 10.1086/323085
15. Ohmit SE, Monto AS. Influenza vaccine effectiveness in preventing hospitalization among the elderly during influenza type A and type B seasons. *Int J Epidemiol*. 1995; 24: 1240–8.
16. Puig-Barberà J, Díez-Domingo J, Pérez Hoyos S, Varela ÁB, Vidald DG. Effectiveness of the MF59-adjuvanted influenza vaccine in preventing emergency admissions for pneumonia in the elderly over 64 years of age. *Vaccine*. 2004; 23: 283–9. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.07.017>
17. Puig-Barberà J, Márquez-Calderón S, Masoliver-Fores A, Lloria-Paes F, Ortega-Dicha A, Gil-Martín M, Calero-Martínez MJ. Reduction in hospital admissions for pneumonia in non-institutionalised elderly people as a result of influenza vaccination: a case-control study in Spain. *J Epidemiol Community Health*. 1997; 51: 526–30.

18. Rao Kondapally Seshasai S, Kaptoge S., Thompson A, Di Angelantonio E, Gao P, Sarwar N, Whincup PH, Mukamal KJ, et al. Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death. The emerging risk factors collaboration. *New Engl J Medicine*. 2011; 364 (9): 829–41. DOI: 10.1056/NEJMoa1008862
19. Vaccines against influenza WHO position paper – November 2012. *Wkly Epidemiol Rec*. 2012; 87: 461–76.
20. Voordouw BC, van der Linden PD, Simonian S, van der Lei J, Sturkenboom MC, Stricker BH. Influenza vaccination in community-dwelling elderly: impact on mortality and influenza-associated morbidity. *Arch Intern Med*. 2003 May 12; 163 (9): 1089–94. DOI: 10.1001/archinte.163.9.1089
21. Wallace T. M. Use and Abuse of HOMA modeling [Text] / Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. *Diabetes Care*. 2004; 27: 1487–95.
22. Wang ST, Lee LT, Chen LS, Chen TH. Economic evaluation of vaccination against influenza in the elderly: an experience from a population-based influenza vaccination program in Taiwan. *Vaccine*. 2005; 23: 1973–80. DOI: 10.1016/j.vaccine.2004.10.011

УДК 615.06:616.921.5-085.373

ОСОБЛИВОСТІ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ НА ВАКЦИНАЦІЮ ПРОТИ ГРИПУ У ХВОРИХ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

Грішина О. І., Бабінець О. М., Менкус О. В., Мирошниченко Т. М.

Резюме. Метою цього дослідження було вивчення показників клітинного імунітету, інтерлейкіну-4 (ІЛ-4), інтерферону-γ (ІФН-γ) до і через 3 тижні після вакцинації проти грипу у пацієнтів з цукровим діабетом (ЦД) 2 типу. Було обстежено 67 хворих на ЦД 2 типу. До контрольної групи увійшли здорові особи в кількості 30 чоловік. Рівні CD4 + і CD8 + на вихідному етапі були достовірно нижче в групі «1». Через 3 тижні в групі «1» динаміки не було, в той час як в групі «2» показники достовірно підвищувалися. Рівень ІЛ-4 у хворих на ЦД значимо не відрізнявся від такого у здорових осіб до вакцинації і підвищувався після вакцинації в 2,5 рази. У той же час рівень ІФН-γ, який був достовірно нижче до вакцинації у пацієнтів СД в порівнянні зі здоровими особами, після вакцинації підвищувався більш значуще (в 2,9 рази). Отримані дані свідчать про те, що неспецифічна імунна відповідь на вакцинацію проти грипу у пацієнтів з ЦД характеризується менш вираженим підвищенням CD4 + і CD8 + Т-клітин і розбалансованістю, яка проявляється більшою активацією Th1 клітин в порівнянні зі здоровими особами.

Ключові слова: вакцинація, грип, цукровий діабет, імунітет.

UDC 615.06:616.921.5-085.373

Nonspecific Immune Response Peculiarities to Influenza Vaccination in Patients with Diabetes Mellitus

Grishyna O. I., Babinets O. M., Menkus O. V., Myroshnychenko T. M.

Abstract. The purpose of the study is to examine the indices of cellular immunity, interleukin-4 (IL-4), interferon-γ (IFN-γ) before and 3 weeks after vaccination against influenza in patients with type 2 diabetes. 67 patients with type 2 diabetes who made up the group "1" were examined. The control group "2" included 30 healthy persons. Among the patients with diabetes there were 31 (46%) women and 36 (54%) men aged 43 to 79 years, whose mean age was (M ± SD) (63.1 ± 15.8) years. In the control group, there were 14 (47%) women and 16 (53%) men aged 42 to 77 years, whose mean age was (M ± SD) (60.7 ± 17.8) years. Thus, the groups were comparable by sex and age.

The diagnosis of diabetes was established based on the diagnostic criteria of the International Diabetes Federation (International Diabetes Federation, 2011). Insulin resistance was determined using the HOMA (The Homeostasis Model Assessment) index. Determination of the number of lymphocytes in peripheral blood with CD antigenic determinants was performed using monoclonal antibodies "Anti-CD4", "Anti-CD8" (Granum, Ukraine). The level of insulin in the blood serum was determined by the enzyme immunoassay using sets of ready-made reagents produced by DRG, Germany. IL-4 and IFN-γ were determined in the blood serum by a solid-phase enzyme immunoassay using sets of ready-made reagents "Interleukin-4-IFA-BEST", "Interferon-γ-IFA-BEST", (Vector-Best CJSC, Russia) respectively. The statistical analysis was carried out using the Microsoft Office 2007 Excel statistical software package. The threshold for the statistical error of different tests was set at 5%. The nature of the descriptive statistics depended on the type of variables. To compare the data, the t-test (Student), Wilcoxon and the chi square test were used.

The NOMA-index before vaccination in groups "1" and "2" was (4.5 ± 1.8) vs (2.3 ± 0.6), p = 0.00. Also significantly higher NOMA-index was in group "1" 3 weeks after vaccination (5.2 ± 1.7) against (2.0 ± 0.6), p = 0.00. Unlike the indices of group "2", p = 0.06, in group "1" there was a significant increase in this index, p = 0.01. The

level of CD4 + at the initial stage was significantly lower in the group "1" ($24.4 \pm 6.9\%$) vs ($29.1 \pm 7.4\%$) in the group "2", $p = 0.03$. After 3 weeks, this index in group "1" did not change, and in group "2" there was a significant increase in it: ($26.5 \pm 8.6\%$), $p = 0.12$, against ($33.5 \pm 8.6\%$), $p = 0.04$, in the group "2". Relative differences were also obtained between the groups after 3 weeks. A similar picture was observed when determining the CD8 + level: the primary indices in the group "1" were lower than those in the group "2": ($19.6 \pm 6.8\%$) against ($23.0 \pm 6.1\%$), $p = 0.02$. After 3 weeks, the level of this indicator significantly increased in the group "2" ($28.3 \pm 8.7\%$), $p = 0.01$. In the group "1", the CD8 + level was ($21.8 \pm 6.9\%$), $p = 0.07$ compared to the baseline data and $p = 0.00$ compared with the group "2" data. The level of IL-4 in patients with diabetes did not significantly differ from that in healthy subjects before vaccination and increased 2.5 times after vaccination. At the same time, the content of IL-4 in SD patients after vaccination became significantly lower than in healthy individuals. This may serve as evidence of a smaller increase in Th2 cell activity. At the same time, the level of INF- γ , which was significantly lower before vaccination in diabetic patients compared with healthy individuals, increased more significantly after vaccination (by 2.9 times). Accordingly, the ratio of INF- γ / IL-4 after vaccination significantly increased, both within the group and in comparison with healthy individuals.

As a result, we can assume the initial decrease in immunological activity in patients with diabetes and the imbalance of the immune system, which is manifested by greater activation of Th1 cells. At a high concentration of glucose in the blood, the systemic inflammatory response is strengthened due to excessive formation of free radicals, increased expression of cytokines and other mediators of inflammation, lymphopenia with a decrease in the number of CD4 + and CD8 + T cells. In addition, the regulatory function of CD4 + is impaired, which is manifested by different degrees of activation of Th1 and Th2 cells. Analyzing the obtained data, it can be concluded that the nonspecific immune response to influenza vaccination in patients with diabetes is characterized by a less pronounced increase in CD4 + and CD8 + T cells and an imbalance that manifests itself by a greater activation of Th1 cells compared to healthy individuals.

Keywords: vaccination, influenza, diabetes, immunity.

Стаття надійшла 22.08.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування