

О.І. Грішина

кандидат медичних наук,
провідний науковий співробітник
лабораторії та клінічного відділу молекулярної імунофармакології
ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова НАМН України»,
м. Харків, Україна

О.М. Бабінець

кандидат медичних наук,
старший науковий співробітник
лабораторії та клінічного відділу молекулярної імунофармакології
ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова НАМН України»,
м. Харків, Україна

О.В. Менкус

науковий співробітник
лабораторії та клінічного відділу молекулярної імунофармакології
ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова НАМН України»,
м. Харків, Україна

ВПЛИВ ВІТАМІНУ D3 НА ІМУНОГЕННІСТЬ ВАКЦИНИ ПРОТИ ГРИПУ І ЗАХВОРЮВАНІСТЬ НА ІНФЕКЦІЇ ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ У ПОХИЛИХ ОСІБ

Анотація. Призначення вітаміну D3 у дозі 4000 МО/доб. протягом двох місяців до вакцинації не підвищувало імуногенність вакцини щодо штамів вірусу грипу A/H1N1, A/H3N2, B, однак його подальший прийом призводив до зниження захворюваності інфекціями верхніх дихальних шляхів у похилих осіб.

Ключові слова: вітамін D3, грип, вакцинація, похилий вік, імуногенність.

Доказова медицина не може похвалитися великою кількістю рандомізованих клінічних досліджень ефективності протигрипозної вакцини в осіб похилого віку через етичні проблеми [1]. Водночас усі державні установи охорони здоров'я у своїх рекомендаціях для людей віком 65 років і старше рекомендують вакцинацію як кращий спосіб профілактики грипу. Багато дослідників вважають альтернативою вакцинації прийом холекальциферолу. Так, Adrian R. Martineau і співавт. у 2017 р. опублікували метааналіз «Добавка вітаміну D для профілактики гострих респіраторних інфекцій» [2]. Так, було зроблено висновок, що добавка холекальциферолу була безпечною і захищала від гострих респіраторних захворювань.

Метою статті є вивчення впливу вітаміну D3 на імуногенність вакцини проти грипу і захворюваність на інфекції верхніх дихальних шляхів у похилих осіб.

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження стало 280 осіб, серед яких було 144 (51,4%) жінки і 136 (48,6%) чоловіків віком від 65 до 79 років, середній вік яких склав ($M \pm SD$) ($72,4 \pm 7,1$) років.

Контрольну групу для лабораторних показників склали 70 здорових осіб віком до 65 років, яких було вакциновано проти грипу.

Пацієнти підписали інформовану згоду, складену відповідно до Інструкції щодо заповнення форми первинної облікової документації № 003-6/о «Інформована добровільна згода пацієнта на проведення діагностики, лікування та на проведення операції та знеболення», Наказу МОЗ України № 110 від 14.02.2012 [3].

Для щеплення у 2018 році використовували вакцину «Ваксігріп» (SANOFI PASTEUR, S.A., Франція). Вітамін D3 призначали по 4000 МО/доб.

Уміст антитіл до вірусу грипу типу А (H1N1, H3N2) і типу В у сироватці крові проводили за допомогою реакції гальмування гемаглютинації з використанням наборів готових реактивів «Діагностикум

грипозний для РГГА, тип А (H1N1)», «Діагностикум грипозний для РГГА, тип А (H3N2)», «Діагностикум грипозний для РГГА, тип В» (ВАТ «Укрмедіаснаб», Україна).

Імуногенність вакцини визначали в реакції гальмування гемаглютинації за стандартною методикою шляхом визначення в сироватці крові щеплених антитіл до вірусів грипу А (H1N1), А (H3N2) і В із розрахунком рівнів серопротекції, сероконверсії, середнього геометричного титрів (далі – СГТ) антитіл і фактора сероконверсії. Рівень серопротекції оцінювали за кількістю осіб, у яких титр антитіл після вакцинації склав 1:40 і вище. Рівень сероконверсії визначали за числом щеплених, у яких вихідний титр протигрипозних антитіл збільшувався після імунізації в 4 і більше разів. Фактор сероконверсії розраховували як кратність збільшення СГТ антитіл до кінця періоду спостереження (21-й день після вакцинації) порівняно з фоновим рівнем. Оцінку імуногенності препарату здійснювали відповідно до міжнародних критеріїв Комітету з лікарських засобів для людини Європейської Агенції з лікарських засобів, прийнятих для дорослого населення, зокрема рівня серопротекції (не менше ніж у 70% щеплених), рівня сероконверсії (не менше, чим у 40%), фактора сероконверсії (не менше 2,5).

Статистичний аналіз проводився з використанням пакета статистичних програм SPSS версії 15.0. Поріг статистичної похибки різних тестів було встановлено на рівні 5%. Характер даних описової статистики залежав від типу змінних. Розраховували середнє значення, суму, стандартне відхилення, мінімум і максимум для безперервних змінних, частоту і процентні частини для порядкових або номінальних змінних. Для порівняння даних використовували t-тест (Ст'юдента), Вілкоксона і критерій хі квадрат.

Отримані результати. У дослідження було залучено 280 осіб, яких після рандомізації розділили на 4 групи. Пацієнти в групі 1 почали прийом вітаміну D3 і отримали вакцину проти грипу. Пацієнти в групі 2 отримали тільки вакцину проти грипу. Пацієнти в групі 3 – тільки вітамін D3. Пацієнти групи 4 обмежилися виконанням загальногігієнічних заходів.

Групу 1 склало 70 осіб, серед яких було 36 (51,4%) жінок і 34 (49,6%) чоловіки віком від 65 до 79 років, середній вік яких склав (M ± SD) (72,4 ± 7,5) років. У групу 2 увійшло 69 осіб, із яких було 34 (49,3%) жінки і 35 (50,7%) чоловіків віком від 65 до 77 років, середній вік яких склав (M ± SD) (71,9 ± 7,2) років. Групу 3 склало 72 особи, серед яких було 36 (50%) жінок і 36 (50%) чоловіків віком від 65 до 78 років, середній вік яких склав (M ± SD) (72,1 ± 6,1) років. У групу 4 увійшло 69 осіб, із яких було 36 (52,2%) жінок і 33 (47,8%) чоловіки віком від 65 до 77 років, середній вік яких склав (M ± SD) (70,5 ± 6,4) років. Усі групи було зіставлено за віком і статтю, $p > 0,05$.

У всіх пацієнтів було діагностовано поліморбідну патологію, що розподілилася за частотою так (наведено перші 10 нозологій): 1) артеріальна гіпертензія; 2) ішемічна хвороба серця; 3) остеоартроз, зокрема остеохондроз; 4) хронічний панкреатит; 5) хронічний холецистит, зокрема жовчно-кам'яна хвороба; 6) хронічне обструктивне захворювання легень; 7) сечо-кам'яна хвороба; 8) хронічний пієлонефрит; 9) ожиріння; 10) остеопенія/остеопороз.

ВООЗ щодо імунологічної ефективності грипозних вакцин установила вимоги, які вміщують такі критерії оцінки: а) кількість осіб із захисним рівнем антитіл ($> 70\%$ для всіх, $> 60\%$ для похилих); б) величину приросту антитіл до якого зі штамів, що входять у склад вакцин ($> 2,5$ для всіх, > 2 для похилих); у 6 разів рівень сероконверсії – чотирикратних приростів антитіл ($> 40\%$ для всіх, $> 30\%$ для похилих). Результати обстеження наших пацієнтів представлено нижче.

Показники було визначено на день вакцинації (безпосередньо перед введенням вакцини) і через 21 день після вакцинації.

Таблиця 1

Показники імуногенності у обстежених пацієнтів до вірусу грипу А (H1N1), (M ± SD)

Показник	Контроль, n = 50	Група 1, n = 70	Група 2, n = 69
Фактор сероконверсії	6,87 ¹⁾²⁾	5,23	5,31
Рівень серопротекції, (MD ± SD), %	(82,3 ± 12,2) ¹⁾²⁾	68,7 ± 20,1	70,7 ± 23,8
Рівень сероконверсії, (MD ± SD), %	(76,2 ± 14,5) ¹⁾²⁾	57,3 ± 18,4	58,7 ± 16,2
СГТ антитіл [Медіана, 95% ДІ]	89,3 ¹⁾²⁾ [39,4–185]	81,9 [40,3–178]	82,5 [41,4–169]

Примітка: n – кількість пацієнтів; 1) $p < 0,05$ під час порівняння групи 1 і контролю; 2) $p < 0,05$ під час порівняння групи 2 і контролю.

Під час порівняння імуногенності вакцини у осіб похилого віку з молодими (контрольна група), основні показники були достовірно нижче для всіх досліджуваних серотипів вірусів грипу.

Так, у наших пацієнтів, які отримували вакцину, відмічався достатньо високий фактор сероконверсії як для серотипу А (H1N1) (табл. 1), так і для серотипу А (H3N2) (табл. 2) і серотипу В (табл. 3). Хоча в групі контролю, тобто у молодих, він був достовірно вищим. Рівень серопротекції незначно перевищив рекомендовані ВООЗ 60% для похилих осіб як для А (H1N1), А (H3N2), В, залишаючись достовірно нижчим ніж у контролі. Рівень сероконверсії також перевищив рекомендовані ВООЗ 30% для похилих осіб, як для А (H1N1), А (H3N2), В, будучи достовірно нижчим ніж у контролі. Середнє геометричне титрів (далі – СГТ) антитіл найбільш високі в групі контролю (молоді особи) і значущим чином підвищувалися після вакцинації у похилих осіб як для серотипу А (H1N1), так і для А (H3N2) і В.

Таблиця 2

Показники імуногенності у обстежених пацієнтів до вірусу грипу А (H3N2), (M ± SD)

Показник	Контроль, n = 50	Група 1, n = 70	Група 2, n = 69
Фактор сероконверсії	6,73 ¹⁾²⁾	5,34	5,12
Рівень серопротекції, (MD ± SD), %	(83,4 ± 11,8) ¹⁾²⁾	68,4 ± 19,9	71,2 ± 24,2
Рівень сероконверсії, (MD ± SD), %	(77,4 ± 15,2) ¹⁾²⁾	56,9 ± 18,6	58,4 ± 17,7
СГТ антитіл [Медіана, 95% ДІ]	90,1 ¹⁾²⁾ [40,5–187]	82,3 [41,1–183]	83,4 [40,9–175]

Примітка: n – кількість пацієнтів; 1) p < 0,05 під час порівняння групи 1 і контролю; 2) p < 0,05 під час порівняння групи 2 і контролю.

Таблиця 3

Показники імуногенності у обстежених пацієнтів до вірусу грипу В, (M ± SD)

Показник	Контроль, n = 50	Група 1, n = 70	Група 2, n = 69
Фактор сероконверсії	4,97 ¹⁾²⁾	4,53	4,07
Рівень серопротекції, (MD ± SD), %	(78,5 ± 11,4) ¹⁾²⁾	63,1 ± 22,6	68,2 ± 21,7
Рівень сероконверсії, (MD ± SD), %	(72,5 ± 13,8) ¹⁾²⁾	50,6 ± 17,3	53,1 ± 15,5
СГТ антитіл [Медіана, 95% ДІ]	84,2 ¹⁾²⁾ [38,5–171]	78,6 [42,1–184]	79,4 [43,5–172]

Примітка: n – кількість пацієнтів; 1) p < 0,05 під час порівняння групи 1 і контролю; 2) p < 0,05 під час порівняння групи 2 і контролю.

Таким чином, імунологічна ефективність грипозної вакцини у наших похилих пацієнтів відповідає вимогам ВООЗ.

Станом на 01 квітня 2019 р., обстежені пацієнти в кожній групі перенесли ті чи інші захворювання верхніх дихальних шляхів. Було обрано композитну кінцеву точку: грип + гострі респіраторні захворювання. Найбільш благополучними виглядали пацієнти в групах 1 (вакцинація + вітамін D3) і 3 (вітамін D3). Також не було отримано достовірних розбіжностей між цими групами і групою 2 (вакцинація), хоч там і відмічалася тенденція до збільшення захворюваності. Достовірно більша кількість пацієнтів хворіла в групі 4, p < 0,05 під час порівняння з групами 1, 2, 3.

Таблиця 4

Захворюваність на інфекції верхніх дихальних шляхів обстежених пацієнтів, n (%)

	Група 1, n = 70	Група 2, n = 69	Група 3, n = 72	Група 4, n = 69
Кількість пацієнтів, що хворіли	8 (11,4%)	11 (15,9%)	9 (12,5%)	19 (27,5%) ¹⁾

Примітка: n – кількість пацієнтів, 1) – достовірність різниці показників між групою «4» та іншими групами.

Нещодавні дослідження продемонстрували сильний вплив вітаміну D3 на продукцію цитокінів і на регуляцію нормальних вроджених і адаптивних імунних функцій у тварин і людей [4, 5]. Імуномодулювальні ефекти вітаміну D3, як вважають, опосередковуються через його дію на антигенпрезентувальні клітини з найбільш сильним із зареєстрованих ефектів на дендритні клітини [6], проліферацію Т-клітин і продукцію цитокінів з інгібуванням Th1-подібних цитокінів (інтерлейкін (ІЛ)-2, інтерферон γ), збільшення Th2-подібних цитокінів (ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-10 і ІЛ-13) і Th17-подібних цитокінів (ІЛ-17) [7; 8], через пряму дію на В-клітинний гомеостаз, проліферацію і продукцію імуноглобулінів [9]. Також припускалося, що потенційна дія на четверту групу CD4+ Т-клітин, що мають супресивні, а не ефекторні функції і відомих як регуляторні Т-клітини [10–13]. У результаті було показано, що вітамін D3 (сумісно з тривалентною інактивованою протигрипозною вакциною у мишей) підсилює відповідь антитіл проти гемаглютиніну й імунітет слизової оболонки [14]. Водночас результати метааналізу [15] 9 досліджень у

дітей і дорослих не показали підсилення впливу вітаміну D3 на імуногенність триплетної протигрипоної вакцини (позитивний зв'язок було виявлено у двох дослідженнях, негативний – також у двох, а в п'яти інших дослідженнях не було встановлено зв'язку між вітаміном D3 та імуногенною відповіддю).

Оскільки вітамін D3, на думку більшості дослідників, усе ж знижує захворюваність на інфекції верхніх дихальних шляхів, можна припускати, що він діє як модулятор імунної системи, перешкоджаючи надмірній продукції запальних цитокінів, підвищуючи активність макрофагів, стимулюючи продукцію потужних антимікробних пептидів, зокрема в епітеліальних клітинах верхніх дихальних шляхів.

Висновки. Призначення вітаміну D3 у дозі 4 000 МО/доб протягом двох місяців до вакцинації не підвищував імуногенність вакцини щодо штамів вірусу грипу H1N1, H3N2, B. Однак його подальший прийом призводив до зниження захворюваності інфекціями верхніх дихальних шляхів у похилих осіб. Для того, щоб рекомендувати «підтримуючі» добавки вітаміну D3 на початку щорічних сезонів грипу в похилих осіб, є потреба проведення контрольованих широкомасштабних досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Kroneman M., Paget W. J., van Essen G. A. Influenza vaccination in Europe: an inventory of strategies to reach target populations and optimise vaccination uptake. *Euro Surveill.* 2003. Vol. 8. P. 130–138.
2. Martineau A. R., Jolliffe D. A., Hooper R. L. et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: systematic review and meta-analysis of individual participant data. *BMJ.* 2017. Vol. 356. P. i6583.
3. Наказ МОЗ України №110 від 14.02.2012 «Про затвердження форм первинної облікової документації та інструкцій щодо їх заповнення, що використовуються у закладах охорони здоров'я незалежно від форми власності та підпорядкування». URL: https://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20120214_110.html (дата звернення 01.04.2019).
4. Bruce D., Ooi J. H., Yu S., Cantorna M. T. Vitamin D and host resistance to infection? Putting the cart in front of the horse. *Experimental Biology and Medicine.* 2010. 235(8). P. 921–927.
5. Mathieu C., Adorini L. The coming of age of 1,25-dihydroxyvitamin D3 analogs as immunomodulatory agents. *Trends in Molecular Medicine.* 2002. Vol. 8(4). P. 174–179.
6. Van Halteren A. G. S., Van Etten E., De Jong E. C. et al. Redirection of human autoreactive T-cells upon interaction with dendritic cells modulated by TX527, an analog of 1,25 dihydroxyvitamin D3. *Diabetes.* 2002. Vol. 51(7). P. 2119–2125.
7. Boonstra A., Barrat F. J., Crain C. et al. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3 has a direct effect on naive CD4+ T cells to enhance the development of Th2 cells. *Journal of Immunology.* 2001. Vol. 167(9). P. 4974–4980.
8. Cippitelli M., Fionda C., Di Bona D., et al. Negative regulation of CD95 ligand gene expression by vitamin D3 in T lymphocytes. *Journal of Immunology.* 2002. Vol. 168(3). P. 1154–1166.
9. Chen S., Sims G.P., Xiao X. C. et al. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *Journal of Immunology.* 2007. Vol. 179(3). P. 1634–1647.
10. Barrat F.J., Cua D. J., Boonstra A. et al. In vitro generation of interleukin 10-producing regulatory CD4+ T cells is induced by immunosuppressive drugs and inhibited by T helper type 1 (Th1)- and Th2-inducing cytokines. *Journal of Experimental Medicine.* 2002. Vol. 195(5). P. 603–616.
11. Gorman S., Kuritzky L. A., Judge M. A. et al. Topically applied 1,25-dihydroxyvitamin D3 enhances the suppressive activity of CD4+CD25+ cells in the draining lymph nodes. *Journal of Immunology.* 2007. Vol. 179(9). P. 6273–6283.
12. Gregori S., Giarratana N., Smiroldo S. et al. A 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 analog enhances regulatory T-cells and arrests autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetes.* 2002. Vol. 51(5). P. 1367–1374.
13. Urry Z., Xystrakis E., Richards D. F. et al. Ligation of TLR9 induced on human IL-10-secreting Tregs by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 abrogates regulatory function. *Journal of Clinical Investigation.* 2009. Vol. 119(2). P. 387–398.
14. Lang P.O., Samaras D. Does the Vitamin D Status (H) Arm the Body? *Journal of Aging Research.* 2012. Article ID 806198. 8 pages.
15. Lee M.D., Lin C.H., Lei W.T. et al. Does Vitamin D Deficiency Affect the Immunogenic Responses to Influenza Vaccination? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients.* 2018. Vol. 10(4). P. 409.

Е.И. Гришина, Бабинец О.М., Менкус О.В. Влияние витамина D3 на иммуногенность вакцины против гриппа и заболеваемость на инфекции верхних дыхательных путей у пожилых лиц. – Статья.

Аннотация. Назначение витамина D3 в дозе 4 000 МЕ/сут в течении двух месяцев до вакцинации не повышал иммуногенность вакцины по отношению к штаммам вируса гриппа А/Н1N1, А/Н3N2, В. Однако его дальнейший прием приводил к снижению заболеваемости инфекциями верхних дыхательных путей у пожилых лиц.

Ключевые слова: витамин D3, грипп, вакцинация, пожилой возраст, иммуногенность.

O. Grishyna, O. Babinets, O. Menkus. Influence of vitamin D3 on the immunogenicity of flu vaccines and morbidity of infections of upper airway in elderly persons. – Article.

Summary. The prescription of vitamin D3 in a dose of 4,000 IU / day for two months prior to vaccination did not increase the immunogenicity of the vaccine against strains of the influenza virus A/H1N1, A/H3N2, B. However, its subsequent administration led to a decrease in the incidence of upper respiratory tract infections in elderly persons.

Key words: vitamin D3, flu, vaccination, elderly age, immunogenicity.