

IDENTIFICAREA PRECOCE A VÂRSTNICILOR NONRESPONSIVI LA VACCINAREA ANTIGRIPALĂ

*Early identification of elderly patients non-responsive at
influenza vaccination*

Dr. Iuliana Apostol de Jong¹, Dr. Petre Calistru²

¹Centrul de Diagnostic și Tratament „Dr. Victor Babeș”, București

²Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București

REZUMAT

Vârștii asociază o susceptibilitate crescută la infecții și un răspuns imun slab la vaccinare, datorat deficiențelor în sistemul imun îmbătrânit (imunosenescența) și excesului de inflamație asociat îmbătrânirii („inflamm-aging”). Totuși identificarea clară a elementelor care predispun către această fragilitate geriatrică nu a fost realizată. Obiectivul studiului a fost să evaluăm dacă statusul inițial al nivelului de citokine circulante și de proteină C reactivă serică este diferit la subiecții responsivi și nonresponsivi la vaccinarea antigripală.

Am efectuat un studiu retrospectiv pe 46 subiecți vârstnici, vaccinați antigripal în sezonul de iarnă 2006/07, în cadrul Centrului de Diagnostic și Tratament „Dr. Victor Babeș”. Testările efectuate au inclus măsurarea nivelului de anticorpi specifici la momentele inițial L0 și postvaccinal L1 și determinarea citokinelor circulante serice (IL2R, IL6, IL8, TNF α) și a proteinei C reactive la momentul L0.

Vaccinarea în cadrul lotului a îndeplinit criteriile Agenției Europene a Medicamentului (EMA) de eficiență la vârstnici și a fost testată pe baza unor endpoint-uri serologice specifice. Cercetarea noastră originală a identificat un număr de 5/46 subiecți nonresponsivi și 21/46 subiecți partial responsivi, adică 56,9% subiecți. Pe baza testului Mann Whitney am observat o singură diferență semnificativă pentru unul din testele administrate: IL6 (U = 156,0, p = 0,031, tulpina B/Malaysia/2506/2004).

Deși concluziile acestui studiu sunt încă limitate, este necesară continuarea cercetării cu îmbunătățirea designului studiului, în special prin lărgirea panelului de citokine serice și alegerea unei metode de testare a acestora cu acuratețe superioară. Statusul inflamator cronic asociat îmbătrânirii, care inițiază apariția bolilor asociate vârstei, poate sta și la baza susceptibilității crescute la infecții și a răspunsului slab la vaccinare, iar identificarea parametrilor imuno-inflamatori cu rol de biomarkeri precoce va deschide noi direcții în diagnosticul precoce în geriatrie.

Cuvinte cheie: vaccinare antigripală, imunosenescență, citokine circulante, proteină C reactivă

ABSTRACT

Elderly people have an increased susceptibility to infections and a weaker immune response to vaccination, caused by deficiencies in the aged immune system (immunosenescence) and by an age-associated excessive inflammation („inflamm-aging”). However the clear identification of key elements that predispose toward this geriatric frailty has not been completed. Our objective was to evaluate whether the initial level of circulatory cytokines and serum C reactive protein is different between responders and non-responders at influenza vaccination.

We have accomplished a retrospective study on 46 elderly subjects, who were influenza vaccinated for the winter season 2006/07, inside the Centre for Diagnostic and Treatment „Dr. Victor Babeș”. The investigations were included the measuring of the level of specific antibodies at initial moment L0 and postvaccinal L1 and determination of circulatory cytokines (IL2R, IL6, IL8, TNF α) and serum C reactive protein at the moment L0.

Vaccination inside the sample has met the European Medicines Agency (EMA)'s criteria of efficiency in the elderly and it has been made on the bases of specific serologic endpoints. Our original research has identified a number of 5/46 non-responders and 21/46 partial responders, that means 56.9% subjects. On the bases of Mann Whitney test we have observed a single significant difference for one of the tests applied: IL6 (U=156.0, p=0.031, B/Malaysia/2506/2004 vaccine stain).

Adresă de corespondență:

Dr. Iuliana Apostol de Jong, Centrul de Diagnostic și Tratament „Dr. Victor Babeș”, Șos. Mihai Bravu nr. 281, București

Although the conclusions of this study are yet limited it is vital to continue this research together with an improvement of the study design, especially through broadening the panel of circulator cytokines and through choosing a diagnostic test with a superior accuracy. Aged-associated chronic inflammatory status, which triggers the appearance of age-related diseases, can also form the bases of the increased susceptibility to infections and of the weak response to vaccination, and the identification of some immune-inflammatory parameters with a role of early biomarkers will open new directions in early diagnosis in geriatrics.

Key words: influenza vaccination, immunosenescence, circulatory cytokines, C reactive protein

INTRODUCERE

Cercetările de imunosenescență au adus noi clarificări privind defectele în imunitatea înăscută și adaptativă asociate vârstei, cât și dovedirea unui status inflamator cronic asociat vârstei (10). O consecință clinică a imunosenescenței este susceptibilitatea crescută la infecții, cât și răspunsul imun slab la vaccinare (6,7). Infecțiile oportuniste nu apar mai frecvent la vârstnici, dar susceptibilitatea crescută la infecții se explică prin creșterea frecvenței și severității unor boli: pneumonii, infecții de tract urinar, infecții de țesuturi moi, reactivarea herpes zoster și creșterea semnificativă în morbiditatea și mortalitatea dată de virusul gripal. Răspunsul postvaccinal, care necesită imunitate celulară intactă pentru inițierea unui răspuns umoral adecvat, este diminuat atât în diferite populații de vârstnici, cât și pe modele animale de îmbătrânire.

Studiile de imunogerontologie, derulate pe modele animale și pe populații umane sănătoase, au identificat modificări fenotipice și funcționale în limfocitul T, considerat un element cheie al imunosenescenței; cu toate acestea, nu există încă dovezi clare că aceste modificări ar avea relevanță directă pentru infecțiile comune sau răspunsul imun vaccinal insuficient al vârstnicilor. Responsabile de diminuarea răspunsului vaccinal la vârstnici pot fi: alterări în limfocitele B; alterări în prezentarea antigenului și în interacția între limfocitul B-T; alterări funcționale și morfologice în limfocitele T, cu apariția „fenotipului îmbătrânit“ (senescența replicativă cu scurtarea telomerilor; celule T înalt diferențiate cu exprimarea în exces a CD28-). Raportul Centrului de Control și Prevenire a Bolilor (CDC) privind prevenția și controlul gripei subliniază că, atunci când potrivirea antigenică între vaccin și virusurile circulante este bună, infecția este prevenită în 70-90% la subiecții < 65 ani și în 30-40% la subiecții ≥ 65 ani (2). O meta-analiză a studiilor privind răspunsul în anticorpi la imunizarea antigripală au arătat: 10 studii au indicat un declin

în răspunsul de anticorpi specifici la vârstnici, 16 studii au indicat lipsa modificărilor între loturi, iar 4 studii au arătat un răspuns crescut la vârstnici (1,4,5). Această variabilitate este explicată prin diferențele între populațiile studiate și diferențele în definirea răspunsului umoral protectiv. Studiile de evaluare a eficienței vaccinării antigripale la vârstnici sunt complicate de factori suplimentari: rata scăzută de infecție gripală, dificultăți în confirmarea infecției gripale actuale și dificultăți în definirea răspunsului în anticorpi, întrucât vârstnicii au niveluri prevaccinale crescute prin infecții sau vaccinări anterioare.

În ciuda unui răspuns redus la vaccinare la vârstnici, vaccinarea rămâne un instrument util în prevenția gripei, care cauzează morbiditate și mortalitate semnificativă în această populație, fiind totodată mai eficace decât tratarea bolii. În aceste circumstanțe, devine necesar depășirea răspunsului imun slab la vaccinare care ar putea fi realizată prin două căi: administrarea unui vaccin optimizat la vârstnici sau determinarea unor biomarkeri de identificare precoce a subiecților cu răspuns slab vaccinal (subiecți nonresponsivi) și aplicarea unor măsuri de diminuare a imunosupresiei. Dintre studiile care urmăresc clasificarea vârstnicilor prevaccinal și identificarea celor care vor fi nonresponsivi, ne-a reținut atenția un studiu axat pe determinarea fenotipului CD8+DC28- (8). Conform acestui studiu, predominanța la vârstnici a clonelor celulare T tip CD8+DC28- și a unui dezechilibru în producerea de citokine tip Th1 și Th2 cu predominanța citokinelor tip Th1, este asociat cu o producție insuficientă de anticorpi specifici după vaccinarea antigripală. Definirea unor markeri de identificare precoce a defectului imun asociat unui răspuns imun inadecvat la vaccinare este o nouă direcție de cercetare.

În acest studiu ne-am propus să evaluăm dacă statusul inițial al nivelului de citokine circulatorii și de proteină C reactivă serică este diferit la subiecții

responsivi și nonresponsivi după vaccinarea antigripală. Dovedirea acestei ipoteze științifice ar putea deschide alte direcții de cercetare, ca de exemplu demonstrarea existenței unui status inflamator cronic prezent înaintea vaccinării ca un posibil marker precoce de identificare a subiecților nonresponsivi la vaccinarea antigripală.

MATERIAL ȘI METODĂ

1. Studiu populațional și vaccinarea gripală sezonieră

Am efectuat un studiu retrospectiv pe datele culese din evaluarea a 46 pacienți vârstnici, vaccinați antigripal în sezonul de iarnă 2006/07, în cadrul Fundației Dr. Victor Babeș. Studiul național, unicentric, controlat (proba prevaccinală) a fost finanțat prin Planul Național de Cercetare-Dezvoltare, Programul Cercetare de Excelență. Criteriile de includere a subiecților au fost: vârsta ≥ 60 ani, autonomie funcțională păstrată și lipsa infecției/inflamației acute în momentul recrutării. Criteriile de excludere a subiecților a fost: tratament imunosupresiv, boală neoplazică activă, alergii cunoscute la ou, fragilitate geriatrică.

Subiecții au fost vaccinați cu un vaccin gripal standard, care a îndeplinit cerințele europene pentru licență anuală a vaccinului gripal: vaccinul Vaxigrip. Vaccinarea a fost făcută cu vaccin trivalent de virus inactivat, cu aceeași cantitate de antigen per tulpină vaccinală (15 μg HA) și cu o doză standard de 0,5 ml. Compoziția tulpinilor virale din vaccinul sezonier a respectat recomandările OMS pentru vaccinul gripal, în sezonul 2006/07: A/New Caledonia/20/99 (H1N1)-like virus; A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)-like virus; B/Malaysia/2506/2004-like virus.

2. Analiza de imunogenicitate

Titulul de anticorpi hemaglutinoanizanți (HI) se corelează pozitiv cu protecția clinică de boală și, din acest motiv, endpoint-urile serologice sunt cel mai adesea utilizate pentru evaluarea eficienței vaccinale. Pentru fiecare tulpină vaccinală în parte (A/H1N1, A/H3N2 și B), am analizat o serie de parametri serologici: media geometrică a titrului de anticorpi HI (GMT) și rata de creștere a mediei geometrice (GMTR), seroconversia (SC) și seroprotecția (SP). GMTR-rata de creștere a mediei geometrice a titrului de anticorpi este definită ca raportul între GMT la 30 zile postvaccinal și GMT în ziua 0. SP-rata de seroprotecție este definită ca procentajul de pacienți cu titru antiHA ≥ 40 (l/dil). SC-seroconversia reprezintă titrul de anticorpi HA

postvaccinali ≥ 40 (l/dil), dacă titrul prevaccinal < 10 (l/dil) sau o creștere de ≥ 4 ori a titrului anti-HA, pentru subiecți cu titru prevaccinal ≥ 10 (l/dil).

Măsurarea anticorpilor gripali prin tehnica de hemaglutinoanizare HI a fost făcută în momentul vaccinării L0 (titrul prevaccinal) și la o lună L1 (titrul postvaccinal), pentru fiecare subiect și pentru fiecare tulpină vaccinală. Inversul diluției finale reprezintă titrul de anticorpi din serul de testat; pragul de detecție al anticorpilor a fost 10, iar cantitățile de anticorpi sub prag sau nedetectabile au fost exprimate ca 5. Nivelul prag al seroprotecției a fost reprezentat de titrul HI ≥ 40 (l/dil). Recomandările Agenției Europene a Medicamentelor (EMA) pentru grupul de vârstnici: cel puțin unul din următoarele 3 criterii trebuie să fie îndeplinite pentru fiecare tulpină: GMTR > 2 , rata de seroprotecție $\geq 60\%$ și seroconversia sau rata de creștere semnificativă $\geq 30\%$.

3. Determinarea citokinelor circulante și a proteinei C reactive serice

În scopul determinării de citokine circulante (IL2R, IL6, IL8 și TNF- α) s-a utilizat analizorul Immulite-DPC (tehnica chemiluminiscentă). A fost respectat cu strictețe protocolul de recoltare, păstrare și transport: minim 6 ml sânge simplu; separarea serului în 30 de minute de la recoltare și congelare imediată la -20°C ; păstrare maximum 6 luni; transportul imediat al probelor către laborator pentru separare și congelare. Respectarea acestui protocol a fost necesar întrucât citokinele nu sunt foarte stabile după colecția sângelui și astfel rezultatele pot fi modificate.

În scopul determinării proteinei C reactive s-a utilizat analizorul BN ProSpec-Dade Behring (metoda nefelometrică) și kitul CardioPhase hsCRP (SIEMENS). A fost respectat protocolul de recoltare, păstrare și transport: minimum 6 ml sânge simplu; separarea serului în 4 ore de la recoltare; păstrarea probelor la $2-8^{\circ}\text{C}$ maximum 8 zile, iar cele la -20°C până la 1 an; transportul imediat către laborator pentru separare.

4. Analiza statistică

Statistica standard pentru sumarizarea nivelurilor de anticorpi pentru un grup de subiecți este media geometrică a titrului, rata de seroprotecție și seroconversie. Evaluarea imunogenicității în cadrul unui lot vaccinal se face prin verificarea criteriilor EMA pentru vaccinul gripal, în grupul de vârstă ≥ 60 ani, pe fiecare tulpină vaccinală.

Datele au fost prelucrate cu softul SPSS 16.0. Verificarea normalității în distribuția datelor s-a făcut cu testul Shapiro-Wilk, iar analiza datelor cu testul nonparametric Mann-Whitney. Valorile mai mici decât coeficientul $\alpha = 0,05$ au fost considerate semnificative statistic.

REZULTATE

Lotul de studiu a inclus 46 subiecți, cu vârsta medie 70 ± 6 ani, sex feminin 34 (73,91%). Toți subiecții au fost vaccinați cu Vaxigrip, în lunile septembrie-octombrie și au donat probe biologice de sânge periferic la momentul L0-prevaccinal (citokine circulante, CRP și nivel bazal de anticorpi antigripali) și la momentul L1 -postvaccinal (nivel de anticorpi antigripali).

Studiul nostru a început cu evaluarea eficienței vaccinale pentru sezonul 2006/07, conform criteriilor EMA. Această analiză a demonstrat o bună eficacitate a vaccinului Vaxigrip pe lotul studiat: toți parametrii serologici (GTMR, SC, SP) au fost îndepliniți pentru fiecare tulpină vaccinală în parte: $GMTR > 2$ (6,77; 16,49 și 5,24); $SP \geq 60\%$; (97,82; 100; 73,91) și $SC \geq 30\%$ (69,56; 76,08; 56,52) (Tabelul 1).

GMT-titrul mediei geometrice al anticorpilor specifici; GMTR-rata de creștere a tirului mediei geometrice al anticorpilor specifici; L0 = luna 0 (moment prevaccinal); L1 = la o lună postvaccinal.

Deși eficiența pe lotul studiat a îndeplinit toate criteriile EMA, am continuat studiul cu evaluarea subiecților din punct de vedere al numărului de tulpini la care am observat seroconversia: non-responsivi (SC totală = 0; nu există seroconversie pentru nici o tulpină vaccinală); parțial responsivi = 1,2 (SC totală = 1 sau SC totală = 2) și responsivi (SC totală = 3; seroconversie la trei tulpini vaccinale). Am observat un număr de 5 subiecți vârstnici nonresponsivi, fără seroconversie pentru nici una din tulpinile vaccinale și un număr de 21 subiecți parțial responsivi (seroconversie la 1 tulpină vaccinală = 8; seroconversie la 2 tulpini vaccinale = 13) (Tabelul 2).

TABELUL 2. Distribuția seroconversiilor în cadrul lotului

	SC totală	Cazuri					
		Valide		Lipsă		Total	
		N	Procent	N	Procent	N	Procent
Vârstnici tineri/ Vârstnici bătrâni	0	5	100,0%	0	.0%	5	100,0%
	1	8	100,0%	0	.0%	8	100,0%
	2	13	100,0%	0	.0%	13	100,0%
	3	20	100,0%	0	.0%	20	100,0%

N – număr subiecți; SC totală – număr de tulpini vaccinale/subiect la care s-a obținut seroconversia

Am efectuat verificarea normalității de distribuție a datelor rezultate din testele imunologice aplicate populației vârstnice, înaintea vaccinării: IL2R-L0, IL6-L0, IL8-L0, $TNF\alpha$ -L0 și CRP-L0. În acest sens am aplicat două teste de normalitate (Kolmogorov-Smirnov și Shapiro-Wilk). Valoarea testului Shapiro-Wilk a fost foarte mică ($<\alpha = 0,005$) pentru fiecare test imunologic aplicat; conform acestui test de normalitate, valorile testelor studiate fac parte dintr-o distribuție non-normală și analiza acestor date necesită aplicarea unor teste nonparametrice (Tabelul 3).

TABELUL 3. Teste de normalitate

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IL2R-L0	.166	46	.003	.851	46	.000
IL6-L0	.239	46	.000	.575	46	.000
IL8-L0	.217	46	.000	.861	46	.000
TNF-L0	.308	46	.000	.648	46	.000
CRP-L0	.237	46	.000	.700	46	.000

Verificarea ipotezei că statusul inflamator bazal ar putea influența seroconversia vaccinală și utilizarea ulterioară ca biomarker de identificare a nonresponderilor la vaccinarea antigripală este o direcție atractivă din punct de vedere științific. Dacă această ipoteză ar putea fi demonstrată, am putea clasifica pacienții vârstnici înaintea vaccinării, în responsivi/nonresponsivi, cu aplicabilitate practică. În vederea verificării ipotezei științifice „statusul imunologic bazal (testat prin nivelul unor citokinelor circulante

TABELUL 1. Vaccinarea antigripală pentru sezonul 2006/07 (Vaxigrip)

Antigen	GMT		GTMR	SP		SC
	L0	L1		L0	L1	
A/H1N1 (New Caledonia/20/99 (H1N1))	26,63	180,50	6,77	54,34	97,82	69,56
A/H3N2 (Wisconsin /67/2005 (H3N2))	18,27	301,28	16,49	39,13	100	76,08
B (Malaysia/2506/2004)	10,15	53,26	5,24	17,39	73,91	56,52

și al proteinei C reactive) este diferit pentru subiecții cu seroconversie pozitivă față de cei cu seroconversie negativă”, am aplicat testul nonparametric Mann-Whitney, pentru fiecare test imunologic și pentru fiecare tulpină vaccinală în parte.

A. Pentru tulpina A/New Caledonia/20/99 (H1N1)

Testul Mann-Whitney aplicat pentru variabila SC1 indică că în grupul cu seroconversia negativă (SC1 = 0) sunt obținute valorile cele mai mari pentru CRP-L0 (mean rank = 24,14), IL8-L0 (mean rank = 27,57) și IL6-L0 (mean rank = 24,82) comparativ cu grupul cu seroconversia pozitivă (SC1 = 1). Se poate afirma că valorile mari pentru testele CRP, IL8 și IL6 sunt asociate cu seroconversie negativă pentru tulpina A/New Caledonia/20/99 (H1N1). Aplicarea testului de semnificație statistică U însă nu a găsit diferențe semnificative pentru nici una din testele studiate în momentele bazale, între grupul cu seroconversie negativă și grupul cu seroconversie pozitivă. (TNF α -L0: U = 205,5, p = 0,656; CRP-L0: U = 215,0, p = 0,830; IL2R-L0: U = 219,0, p = 0,950; IL6-L0: U = 214,5, p = 0,820; IL8-L0: U = 167,0, p = 0,173).

TABELUL 4. Testul statistic pentru variabila SC1

	TNF α -L0	CRP-L0	IL2R-L0	IL6 -L0	IL8-L0
Mann-Whitney U	205.500	215.000	219.000	214.500	167.000
Wilcoxon W	310.500	743.000	747.000	319.500	695.000
Z	-.445	-.215	-.119	-.227	-1.361
Asymp. Sig. (2-tailed)	.656	.830	.905	.820	.173

B. Pentru tulpina vaccinală A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)

Testul Mann-Whitney aplicat pentru variabila SC2 arată că în grupul cu seroconversia negativă (SC2=0) sunt obținute valorile cele mai mari pentru IL2R-L0 (mean rank = 24,41), IL6-L0 (mean rank = 24,36) și IL8-L0 (mean rank = 29,14) comparativ cu grupul cu seroconversia pozitivă (SC2 = 1). Se poate afirma că valorile mari pentru testele IL2R, IL6 și IL8 sunt asociate cu seroconversie negativă pentru tulpina A/Wisconsin/67/2005 (H3N2). Aplicarea testului de semnificație statistică U nu a găsit

însă diferențe semnificative pentru nici unul din testele studiate în momentele bazale, între grupul cu seroconversie negativă și grupul cu seroconversie pozitivă. (TNF α -L0: U = 134,0, p = 0,129; CRP-L0: U = 183,0, p = 0,807; IL2R-L0: U = 182,5, p = 0,797; IL6-L0: U = 183,0, p = 0,807; IL8-L0: U = 130,5, p = 0,110).

TABELUL 5. Testul statistic pentru variabila SC2

	TNF-L0	CRP-L0	IL2R-L0	IL6 -L0	IL8-L0
Mann-Whitney U	134.000	183.000	182.500	183.000	130.500
Wilcoxon W	200.000	249.000	812.500	813.000	760.500
Z	-1.517	-.245	-.258	-.245	-1.597
Asymp. Sig. (2-tailed)	.129	.807	.797	.807	.110

C. Pentru tulpina B/Malaysia/2506/2004

Testul Mann-Whitney aplicat pentru variabila SC3 indică că în grupul cu seroconversia negativă (SC3 = 0) sunt obținute valorile cele mai mari pentru CRP-L0 (mean rank = 24,17) și IL6-L0 (mean rank = 28,83) comparativ cu grupul cu seroconversia pozitivă (SC3 = 1). Se poate afirma că valorile mari pentru testele CRP și IL6 sunt asociate cu seroconversie negativă pentru tulpina B/Malaysia/2506/2004. Aplicarea testului de semnificație statistică U a găsit diferențe semnificative pentru un singur test: IL6-L0 (U = 156,0, p = 0,031). Pentru celelalte teste studiate în momentele bazale, între grupul cu seroconversie negativă și grupul cu seroconversie pozitivă se poate afirma că nu există diferențe semnificative. (TNF α -L0: U = 217,0, p = 0,428; CRP-L0: U = 240,0, p = 0,787; IL2R-L0: U = 215,0, p = 0,405; IL8-L0: U = 244,0, p = 0,857).

DISCUȚII

Această cercetare face parte din primele studii de imunogerontologie derulate în clinica noastră. Descifrarea nivelului actual de cunoștințe în acest domeniu ne-a condus la citarea a două studii reprezentative legate de răspunsul la vaccinarea anti-gripală la populația vârstnică (3,8). Primul studiu evidențiază asocierea producției insuficiente de anticorpi specifici cu predominanța la vârstnici a

TABELUL 6. Testul statistic pentru variabila SC3

	TNF-L0	CRP-L0	IL2R-L0	IL6 -L0	IL8-L0
Mann-Whitney U	217.000	240.000	215.000	156.000	244.000
Wilcoxon W	388.000	646.000	386.000	562.000	415.000
Z	-.793	-.270	-.833	-2.163	-.180
Asymp. Sig. (2-tailed)	.428	.787	.405	.031	.857

clonelor celulare T CD8+DC28- și un dezechilibru în producerea de citokine tip Th1 și Th2, cu predominanța citokinelor tip Th1. Al doilea studiu evidențiază faptul că producția crescută de IL-10 este asociată cu răspunsul scăzut în anticorpi la vaccinarea antigripală. Cercetarea noastră originală a identificat un număr de 5/46 subiecți nonresponsivi și 21/46 subiecți parțial responsivi, adică 56,9% subiecți din lot. Fiind un studiu retrospectiv, am utilizat citokinele circulante selectate și determinate la derularea studiului (IL2R, IL6, IL8, TNF α), alături de proteina C reactivă. Deși testul Mann Whitney a arătat doar o singură diferență semnificativă pentru unul din testele administrate, totuși nu putem să nu remarcăm că în grupul de seroconversii negative pentru IL6 am obținut întotdeauna valori mai mari decât în grupul de seroconversii pozitive („mean rank“ în SC1, SC2 și SC3 pentru IL6: 24,82; 24,36 și 28,82). Pe baza acestui test, IL6 (U=156,0, p=0,031, tulpina B/Malaysia/2506/2004) ar putea fi utilizată în stratificarea prevaccinală a subiecților: cei cu niveluri bazale mari de IL6 vor fi nonresponsivi pentru tulpina B.

Deși concluziile acestui studiu sunt încă limitate, este necesară continuarea acestei cercetări cu îmbunătățirea designului studiului: alegerea unui panel de citokine mai reprezentativ pentru producerea de citokine de tip Th1 și Th2 (Th1/Th2/Th17); alegerea

unei alte metode de testare a citokinelor cu un nivel crescut de sensibilitate/specificitate, ca de exemplu testarea prin flowcitometrie a citokinelor extracelulare după stimulare in vitro; controlarea unor factori posibili de eroare, ca de exemplu nivelul bazal de anticorpi specifici datorat infecțiilor sau vaccinarilor anterioare.

CONCLUZII

Îmbătrânirea este însoțită de un status inflamator cronic de grad redus demonstrat printr-o creștere de 2-4 ori a nivelurilor serice ale unor mediatori de inflamație (9). Acest status proinflamator interacționează cu zestrea noastră genetică și inițiază apariția bolilor inflamatorii legate de vârstă. Statusul inflamator cronic asociat îmbătrânirii poate sta și la baza susceptibilității crescute la infecții și a răspunsului slab la vaccinare, iar identificarea parametrilor imuno-inflamatori cu rol de biomarkeri precoce va deschide noi direcții în diagnosticul precoce al acestei fragilități geriatrice. O puternică corelație a fost stabilită deja între genetica inflamației și îmbătrânirea sănătoasă („successful ageing“) și deschide calea unor noi abordări farmacogenomice în creșterea rezistenței la infecții a populației vârstnice.

BIBLIOGRAFIE

1. Beyer W.E., Palache A.M., Baljet M., Masurel N. – Antibody induction by influenza vaccines in the elderly: a review of the literature. *Vaccine* 1989; 7(5):385-94
2. Centers for Disease Control and Prevention – Prevention and control of influenza. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 53 (RR-06)1-40 (available: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5306a1.htm>)
3. Corsini E., Vismara L., Lucchi L., Viviani B., Govoni S., Galli C.L., Marinovich M., Racchi M. – High interleukin-10 production is associated with low antibody response to influenza vaccination in the elderly. *Journal of Leukocyte Biology* 2006; 80: 376-382. Doi: 10.1189/jlb.0306190
4. Govaert T.M., Thijs C.T., Masurel N., Sprenger M.J., Dinant G.J., Knottnerus J.A. – The efficacy of influenza vaccination in elderly individuals: a randomised double-blind placebo-controlled trial. *JAMA* 1994; 272:1661-5
5. Gross, P. A., A.W. Hermogenes, H.S. Sacks, J. Lau, R.A. Levandowski – The efficacy of influenza vaccine in elderly persons. A meta-analysis and review of the literature. *Ann. Intern. Med.* 1995, Vol 123 no 7: 518-527
6. Katherine Goodwin, Cecile Viboud, Lone Simonsen – Antibody response to influenza vaccination in the elderly: a quantitative review. *Vaccine* 24 (2006) 1159-1169
7. Nichol, K.L., K. L. Margolis, J. Wuorenma, T. Von Sternberg – 1994. The efficacy and cost effectiveness of vaccination against influenza among elderly persons living in the community. *N Engl J Med* 2007; 357:1373-1381
8. Saurwein-Teissl M., Lung T.L., Marx F., Gschosser C., Asch E., Blasko I., Parson W., Bock G., Schonitzer D., Trannoy E., Grubeck-Loebenstein B. – Lack of Antibody Production Following Immunization in Old Age: Association with CD8+CD28- T Cell Clonal Expansions and an Imbalance in the Production of Th1 and Th2 Cytokines. *J Immunol* 2002; 168:5893-5899.
9. Vasto S., Candore G., Balistreri C.R., Caruso M., Colonna-Romano G., Grimaldi M.P., Listi F., Nuzzo D., Lio D., Caruso C. – Inflammatory networks in ageing, age-related diseases and longevity. *Mech Ageing Dev.* 2007; 128(1):83-91. Epub 2006 Nov 21.
10. Zousfi M.E., Mercier S., Breuille D., Papet I., Mirand P.P., Obled C. – The inflammatory response to vaccination is altered in the elderly. *Mechanisms of Ageing and development* 2005; 126 (8):874-881