

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ПЛЕВЕН
ФАКУЛТЕТ „МЕДИЦИНА“
КАТЕДРА „ДЕТСКИ БОЛЕСТИ“

ГЕНА СТОЙКОВА ПЕТКОВА

**Имунологични аспекти на дефицита на витамин D
при деца със заболявания на дихателната система**

АВТОРЕФЕРАТ

Дисертационен труд за придобиване на образователна и научна
степен „Доктор“

Област на висше образование 7. Здравеопазване
и спорт

Професионално направление 7.1. Медицина

Докторска програма „Педиатрия“

Научен ръководител: Доц. Д-р Бойко Шентов, д.м.

ПЛЕВЕН

2026г.

Съдържание

Тема на дисертационен труд

Списък на използваните съкращения

На кирилица

На латиница

I. Въведение

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

IV. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

1. Резултати и обсъждане по задача 1
2. Резултати и обсъждане по задача 2
3. Резултати и обсъждане по задача 3
4. Резултати и обсъждане по задача 4

V. ИЗВОДИ

VI. ПРИНОСИ

VII. ПРИЛОЖЕНИЯ

Списък на използваните съкращения

На кирилица

ОРИ	Остри респираторни инфекции
СЗО	Световна здравна организация
ППО	Придобита в обществото пневмония
КЕНИД	Комисия по етика на научноизследователската дейност

На латиница

VDR	рецептори за витамин D
1,25(OH) ₂ D ₃ /1,25(OH) ₂ D	1,25-дихидрокси витамин D ₃ ; калцитриол
UVB	ултравиолетово В-лъчение
7-DHC	7-дехидрохолестерол
DBP	Vit D binding protein; витамин-D-свързващия протеин
SZA	solar zenith angle; соларен зенитен ъгъл
CYP	цитохром P450
25(OH)D ₃ /25(OH)D	25-хидрокси витамин D ₃ ; калцидиол
CYP2R1	цитохром P450 2R1; 25-хидроксилаза
ALB	албумин
CYP27B1	1α-хидроксилаза
CYP24A1	24-хидроксилаза
PTH	паратиреоиден хормон/паратхормон
FGF23	фибробластен растежен фактор 23
RXR	ретиноид X рецептор
VDREs	витамин D-отговорни елементи
HPLC	high-performance liquid chromatography; високоефективната течна хроматография
LC-MS/MS	liquid chromatography–tandem mass spectrometry; течна хроматография, съчетана с тандемна масспектрометрия

DEQAS	Vitamin D External Quality Assurance Scheme; е програмата за външен контрол на качеството
NIST	National Institute of Standards and Technology; Национален институт по стандарти и технологии
VDSP	Vitamin D Standardization Program; Програма за стандартизиране на витамин D
NIH	National Institutes of Health; Национален здравен институт
CDC	Centers for Disease Control and Prevention; Центрове за контрол и превенция на заболяванията
IOM/NAM	Institute of Medicine / National Academy of Medicine; Институт по медицина / Национална академия по медицина на САЩ
Endocrine Society	Дружество по ендокринология
EFSA	European Food Safety Authority; Европейски орган за безопасност на храните
SACN	Scientific Advisory Committee on Nutrition; Научен консултативен комитет по хранене на Обединеното кралство
ECTS	European Calcified Tissue Society; Европейско дружество по калцифицирани тъкани
NNR	Nordic Nutrition Recommendations; Северноевропейски хранителни препоръки

PRRs	pattern recognition receptors; рецептори, разпознаващи молекулни модели на патогени
PAMPs	патоген-асоциирани молекулни модели
DAMPs	damage-associated molecular patterns
CAMP/LL-37	кателицидин
DEFB2/DEFB4/HBD2	β-дефензин 2
TLRs	Toll-подобни рецептори
TNF-α	тумор-некрозис фактор-алфа
IL-1β	интерлевкин-1β
IL-6	интерлевкин-6
CRP	С-реактивен протеин
M.tb.	Mycobacterium tuberculosis
RSV	респираторно-синцитиален вирус
DC	dendritic cells; дендритни клетки
APCs	антиген-представящи клетки
WHO	World Health Organization; Световна здравна организация
UNICEF	Детски фонд на ООН
ReSVinet	Скала Respiratory Syncytial Virus Network
BTS	British Thoracic Society; Британско торакално дружество
BSS-ped	Скала Bronchitis Severity Scale – pediatric version
RT-PCR	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
ECLIA	електрохемилюминесцентен имуноанализ
ELISA	ензимносвързан имуносорбентен метод
Mean ± SD	средна стойност ± стандартно отклонение
Me	медиана
IQR	интерквартилен размах
Spearman's rho, rs	коефициент на Спирман

RVS	риновируси
HBOV	човешки бокавирус
HMPV	човешки метапневмовирус
ADV	аденовирус
HPIV3	човешки парагрипен вирус тип 3
S.aureus	Staphylococcus aureus
Influenza A	грипен вирус А
Str. Pneumoniae	Streptococcus pneumoniae
SARS-CoV-2	причинител на Covid-19
AAP	American Academy of Pediatrics

I. Въведение

Заболяванията на дихателната система и по – конкретно острите респираторни инфекции (ОРИ) са основна причина за заболяемост и смъртност при децата в световен мащаб. Напоследък се води обширен дебат относно ролята на витамин D в имунния отговор към тези инфекции и потенциалната необходимост от допълнителен прием на витамин D. Повечето проучвания сочат, че ниските нива на витамин D са широко разпространени сред кърмачетата и децата с респираторни инфекции. Въпреки това, поддържането на нормални до повишени серумни нива на 25(OH)D оказва положително влияние върху честотата и тежестта на някои, но не и на всички респираторни инфекции.

Витамин D е мастноразтворим витамин, основно известен със своята съществена роля в регулирането на калциево-фосфорния метаболизъм, който е от решаващо значение за нормалния растеж и развитие на костите. В последните години широко застъпено е изучаването на неговите допълнителните плеiotропни ефекти, станало възможно след откриването на рецептори за витамин D (VDR) в различни периферни (небъбречни) тъкани. Пример за това са клетките на лимфоидната и миелоидната тъкани, антиген-презентиращите дендритни клетки и макрофаги, които повишават своята експресия на VDR при инфекции. Това стимулира синтеза на активната форма на витамин D и образуването на така наречените ендогенни антибиотици (антимикробни пептиди) – кателидин и дефензини, които играят роля в белодробната защита срещу вируси. От друга страна, витамин D инхибира производството на възпалителни цитокини от моноцитите като IL-1, IL-6 и TNF α .

Дефицитът и недостатъчността на витамин D представляват предизвикателство за общественото здраве в глобален мащаб, не само поради участието им в различни заболявания, но и поради ограничените данни за статуса на витамин D в населението на много страни. Данните за статуса на витамин D при българските деца, особено връзката му с честотата на остри респираторни инфекции, остават оскъдни. Налице са единични проучвания на българските деца, изследващи статуса на витамин D, като повечето се фокусират върху специфични заболявания като идиопатична сколиоза, миопия, гастроинтестинални заболявания, нефротичен синдром и др.

Предизвикателство е липсата на универсален консенсус и ограничените насоки за определяне на статуса на витамин D както при деца, така и при възрастни. Институтът по медицина и Европейското общество за калцифицирани тъкани дефинират като

дефицит на витамин D серумни нива на 25(OH)D под 50 nmol/L, тежък дефицит при нива под 30 nmol/L и недостатъчност на витамин D при нива между 52,5 и 72,5 nmol/L. В нашето проучване следвахме критериите, препоръчани от Българското дружество по ендокринология за възрастни, които определят дефицита на витамин D при нива <25 nmol/L и недостатъчност при нива от 25–50 nmol/L.

Чрез настоящото проучване си поставихме за цел да разширим наличните данни относно статуса на витамин D във връзка с респираторните инфекции сред българската педиатрична популация, като се фокусираме върху клинично значимите респираторни инфекции: остра пневмония, остър бронхиолит и остър бронхит.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Цел: Да се анализира ролята на витамин Д и някои възпалителни маркери в клиничното протичане на остри инфекции на долните дихателни пътища в детска възраст.

За постигането на тази цел са поставени следните задачи:

1. Да се направи клинико-епидемиологичен анализ на децата с остри респираторни инфекции на долните дихателни пътища за периода 01.07.2021-30.12.2023г.
2. Да се определи витамин D статуса при децата с остри респираторни инфекции чрез изследване серумните нива на 25(ОН) витамин D и паратхормона (PTH).
3. Да се определи серумната концентрация на проинфламаторните цитокини IL-1, IL-6 и TNF-алфа в хода на острите респираторни инфекции.
4. Да се проучи връзката между витамин D статуса, нивата на проинфламаторните цитокини и клиничното протичане на острите инфекции на дихателните пътища при деца.

III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

1. МАТЕРИАЛ

1.1 Дизайн на проучването

Настоящото проучване е едноцентрово проспективно, клинико-епидемиологично.

Дизайнът е по типа аналитично срезово проучване.

За техническа единица е избрана Клиника по педиатрия към УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ ЕАД, Плевен в периода от 01.07.2021-30.12.2023г.

Основните етапи на клиничното проучване са представени на фиг.1

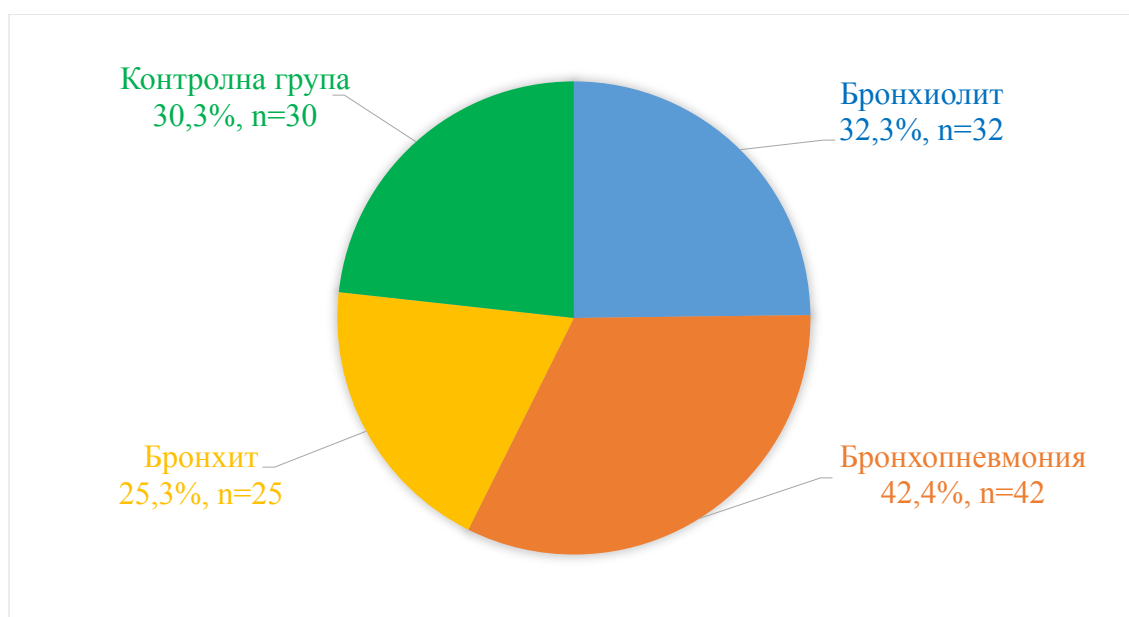


Фигура 1. Основни етапи на клиничното проучване.

1.2. Пациенти

В проучването са включени 129 пациенти на възраст от 0 до 17 години, лекувани в Клиниката по педиатрия по повод остри респираторни инфекции на долните дихателни пътища, които са разпределени в четири групи (фиг.2):

- Остра бронхопневмония (n=42)
- Остър бронхиолит (n=32)
- Остър бронхит (n=25)
- Контролна група (n=30)



Фигура 2. Разпределение на изследваните пациенти по групи

За подбора на пациентите са определени следните включващи и изключващи критерии:

1. Включващи критерии - в проучването са включени деца на възраст от 1 месец до 17 години с остри респираторни инфекции на долните дихателни пътища, наложили хоспитализация. Диагнозата на отделните нозологични единици е поставена въз основа на общоприети клинични и рентгеноморфологични критерии.

2. Изключващи критерии

- пациенти с остри неинфекциозни заболявания на дихателната система (аспирация на чуждо тяло, вродени аномалии);
- пациенти с хронични заболявания на дихателната и сърдечно-съдовата система (бронхиална астма, муковисцидоза, първична цилиарна дискинезия, вродени имунодефицитни състояния, вродени сърдечни малформации);

- пациенти с бъбречни и ендокринни заболявания, които биха могли да повлияят негативно метаболизма на витамин D и да променят неговите нива.

Контролната група включва здрави деца със съпоставим на изследваните пациенти възрастов профил, преминали профилактичен преглед в клиниката.

2. МЕТОДИ

2.1. Клинични и рентгенологични методи за определяне на групите

изследвани деца в съответствие с поставената диагноза

2.1.1. Клинични данни

- **анамнеза** – събрани са данни относно хода на остро заболяване, физическото развитие, фамилна анамнеза, анамнеза за минали и придружаващи заболявания, както и за текущ допълнителен прием на витамин D.
- **сезон на хоспитализация** – за целите на анализа пациентите бяха разпределени според сезона на постъпване в клиниката, както следва: зима (декември–февруари), пролет (март–май), лято (юни–август) и есен (септември–ноември). Сезонността е използвана като допълнителен фактор при оценката на серумните нива на 25(ОН) витамин D.
- **физикален статус** – проведен е стандартен клиничен преглед с оценка на общото състояние на пациента, наличие на физикални данни за остър възпалителен процес, засягащ долните дихателни пътища, както и оценка на тежестта на протичане на заболяването. Извършено е измерване на ръст и телесна маса с цел оценка на физическото развитие.

2.1.2. Рентгенологични данни

Проведена е рентгенография на бял дроб в Клиниката по образна диагностика към УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ ЕАД, Плевен.

2.2. Клинико – лабораторна оценка на тежестта на протичане на заболяването

2.2.1. Остър бронхиолит

Извършена е оценка на тежестта на протичане на заболяването чрез скалата Respiratory Syncytial Virus Network (ReSVinet). Скалата включва седем показателя, както следва -

затруднено хранене, необходимост от медицинска интервенция, респираторен дистрес, дихателна честота, апнея, общо състояние и температура (Табл.1).

Всеки показател се оценява от 0 до 3 точки, като по-високият резултат отразява по-голяма тежест на заболяването, с изключение на апнеята (оценявана с 0 или 3 точки) и температурата (0, 1 или 2 точки). Общият резултат, получен като сбор от всички компоненти, варира от 0 до 20 точки.

Граничните стойности за оценка на тежестта са както следва:

- 0–6 точки – леко протичане;
- 7–13 точки – умерен респираторен дистрес;
- 14–20 точки – тежко респираторно засягане.

Guidelines:

- For each item, please select the option best describing the clinical status of the patient.
- Each item should be given a value between 0 and 3. Please, note that Item "Apnea" can only be either 0 or 3, and that Item "Fever" values range from 0 to 2.
- The final Total Score ranges from 0 to 20.

Subject ID:

Date: ____/____/____

The ReSVinet Scale (Professional)					
ITEM	0 points	1 point	2 points	3 points	POINTS
1 Feeding Intolerance	No	Mild Decreased appetite and/or isolated vomits with cough.	Partial Frequent vomits with cough, rejected feed but able to tolerate fluids sufficiently to ensure hydration.	Total Oral intolerance or absolute rejection of oral feed, not able to guarantee adequate hydration orally. Required nasogastric and/or intravenous fluids	
2 Medical Intervention	No	Basic Nasal secretions aspiration, physical examination, trial of nebulized bronchodilators, antipyretics.	Intermediate Oxygen therapy required. Complementary exams were needed (chest X-rays, blood gases, hematology...). Maintained nebulized therapy with bronchodilators.	High Required respiratory support with positive pressure (either non-invasive in CPAP, BiPAP or high-flow O ₂ or invasive through endotracheal tube).	
3 Respiratory Difficulty	No	Mild Not in basal situation but does not appear severe. Wheezing only audible with stethoscope, good air entrance. If modified Wood Downes, Wang score or any other respiratory distress score is applied, it indicates mild severity.	Moderate Makes some extra respiratory effort (intercostal and/or tracheosternal retraction). Presented expiratory wheezing audible even without stethoscope, and air entrance may be decreased in localized areas. If modified Wood Downes, Wang score or any other respiratory distress score is applied, it indicates moderate severity.	Severe Respiratory effort is obvious. Inspiratory and expiratory wheezing and/or clearly decreased air entry. If modified Wood Downes, Wang score or any other respiratory distress score is applied, it indicates high severity.	
4 Respiratory Frequency	Normal < 2 m: 40-50 bpm 2-6 m: 35-45 bpm 6-12m: 30-40 bpm 12-24m: 25-35 bpm 24-36m: 20-30 bpm	Mild or occasional tachypnea Presented episodes of tachypnea, well tolerated, limited in time by self-resolution or response to secretion aspiration or nebulization.	Prolonged or recurrent tachypnea Tachypnea persisted or recurred despite secretion aspiration and/or nebulization with bronchodilators.	Severe alteration Severe and sustained tachypnea. Very superficial and quick breath rate. Normal/low breath rate with obvious increased respiratory effort and/or mental status affected. Orientative rates of severe tachypnea: < 2 m: > 70 bpm 2-6 m: > 60 bpm 6-12m: > 55 bpm 12-24m: > 50 bpm 24-36m: > 40 bpm	
5 Apnea	No			Yes At least one episode of respiratory pause medically documented or strongly suggested through anamnesis.	
6 General Condition	Normal	Mild Not in basal situation, child was mildly uncomfortable but does not appear to be in a severe condition not impress of severity. Parents are not alarmed. Could wait in the waiting room or even stay at home.	Moderate Patient looks ill, and will need medical exam and eventually further complementary exams and/or therapy. Parents are concerned. Cannot wait in the waiting room.	Severe Agitated, apathetic, lethargic. No need of medical training to realise severity. Parents are very concerned. Immediate medical evaluation and/or intervention was required.	
7 Fever	No	Yes, mild Central T ≥ 38°C and < 38.5°C	Yes, moderate Central T ≥ 38.5°C or < 35°C		
TOTAL SCORE					

Signature:

Таблица 1. Оценка на тежестта на остър бронхиолит по скалата ReSVinet

Показател	0 точки	1 точка	2 точки	3 точки
-----------	---------	---------	---------	---------

Хранене / прием на храна	Нормално	Леко намален прием	Значително намален прием	Невъзможност за хранене
Медицинска интервенция	Не се налага	Само наблюдение	Необходима кислородотерапия	Необходима интензивна терапия / вентилация
Респираторен дистрес	Липсва	Лек	Умерен	Тежък
Дихателна честота	В норма за възрастта	Леко учестена	Умерено учестена	Силно учестена / апнея
Апнея	Липсва	—	—	Налице
Общо състояние	Добро	Леко увредено	Умерено увредено	Тежко увредено / летаргия
Температура	< 37.5°C	37.5–38.0°C	38.1–38.5°C	> 38.5°C

2.2.2. Остра пневмония

Оценката на тежестта на клиничното протичане е извършена въз основа на общоприети клинични критерии, съгласно препоръките на Световната здравна организация и Британското торакално дружество (British Thoracic Society), включващи общо състояние, честота на дишане, участие на допълнителната дихателна мускулатура, наличие на експираторно стенене, цианоза, нарушения в съзнанието, както и показатели от кръвно-газовия анализ и сатурацията на кислород (Табл 2).

Таблица 2. Обобщени клинични критерии за оценка на тежестта на пневмонията при деца, съгласно препоръките на Световната здравна организация и Британското торакално дружество.

Клиничен показател	Леко протичане	Среднотежко протичане	Тежко протичане
Общо състояние	Запазено	Умерено увредено	Тежко увредено, летаргия/нарушено съзнание
Дихателна честота	В норма за възрастта: < 2 месеца: < 60/мин 2–12 месеца: < 50/мин 1–5 години: < 40/мин	Учестена за възрастта: ≥ 60/мин (< 2 месеца) ≥ 50/мин (2–12 месеца) ≥ 40/мин (1–5 години)	Силно учестена над възрастовите норми или апнея
Дихателен дистрес	Липсва или лек	Наличие на тираж	Изразен тираж, участие на допълнителна мускулатура
Експираторно стенене	Липсва	Възможно	Често изразено

Ноздрено дишане	Липсва	Възможно	Изразено
Цианоза	Липсва	Периорална (възможна)	Централна цианоза
Хранене/прием на течности	Запазен	Намален	Невъзможност за хранене
Сатурация (SpO₂)	≥ 94%	90–93%	< 90%
Кръвно-газов анализ (pO₂)*	≥ 80 mmHg	60–79 mmHg	< 60 mmHg
Капилярен рефил	< 2 сек	Забавено	≥ 2 сек
Други признаци	Липсват	Лека дехидратация	Гърчове, тежка дехидратация

* Стойностите на pO₂ са ориентировъчни при интерпретация на резултати от капилярна кръв.

2.2.3. Остър бронхит

Оценката на тежестта на острия бронхит е извършена чрез скалата BSS-ped (Bronchitis Severity Scale – pediatric version), базирана на оценка на три основни клинични симптома – кашлица, хрипове при аускултация и диспнея, всеки от които се оценява по петстепенна скала от 0 до 4 точки. Общият резултат варира от 0 до 12 точки и отразява тежестта на заболяването (Табл 3).

Таблица 3. Оценка на тежестта на острия бронхит в детска възраст (по BSS-ped)

Клиничен показател	Леко протичане	Среднотежко протичане	Тежко протичане
Кашлица	Лека, епизодична	Честа, изразена	Интензивна, пристъпна
Хрипове при аускултация	Оскъдни или липсват	Налични, двустранни	Изразени, дифузни
Диспнея	Липсва или лека	Умерена	Изразена
Общ резултат (BSS-ped)	2–4 точки	5–7 точки	≥ 8 точки

2.3. Идентифициране на етиологичните причинители на инфекциите

Изследването на етиологичните причинители на инфекциите е извършено чрез следните методи:

- изследване на назофарингеален секрет за доказване на вирусни причинители в Национална референтна лаборатория „Грип и ОРЗ“ към НЦЗПБ – София, чрез Real-Time RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction);

- изследване на гърлен секрет за микробиологично изследване в Микробиологичната лаборатория към УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен.
- изследване на назофарингеален секрет за доказване на вирусни причинители чрез антигенен тест за SARS-CoV-2, Influenza A и Influenza B в Микробиологичната лаборатория към УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен.

2.4. Лабораторни методи

2.4.1 Количествено определяне на серумно ниво на 25 (ОН) Vitamin D3 и паратхормон (PTH).

Проучването на серумните нива на 25(ОН) витамин D₃ и паратхормон (PTH) е реализирано в рамките на научноизследователски проект № 8/2021 г. „Оценка на витамин D статуса при деца с остри респираторни инфекции“ на Катедра „Детски болести“ към Медицински университет – Плевен и Клиничната лаборатория към Медицински център „Екзакта медика“ АД, Плевен. Проектът е финансиран от Медицински университет – Плевен.

Изследването е проведено на базата на Клиниката по педиатрия към УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен и Клиничната лаборатория към Медицински център „Екзакта медика“ АД, Плевен.

Проучването е одобрено от Комисията по етика на научноизследователската дейност (КЕНИД) към Медицински университет – Плевен (вж. Приложение 1). Участниците са включени доброволно след предварително информирано съгласие от родителите или настойниците (вж. Приложение 2). Изработена е клинична карта на пациента по проучването (вж. Приложение 3).

От всички пациенти е взета венозна кръвна проба в деня на хоспитализацията. След центрофугиране серумът е използван за определяне на нивата на 25(ОН) витамин D и PTH.

2.4.1.1. Серумно ниво на 25(ОН)D

Определянето на 25(ОН) витамин D₃ е извършено чрез имуноанализ in vitro, базиран на конкурентен принцип, с използване на имунологичен анализатор Roche Cobas e411. Методът се основава на електрохемилюминесцентен имуноанализ (ECLIA), при който концентрацията на изследваната субстанция се определя автоматично въз основа на калибрационна крива, генерирана чрез двуточкова калибрация и еталонна информация, заложена в баркода на реактива.

Аналитични характеристики на метода:

- измервателен диапазон: 4–100 ng/mL (10–250 nmol/L);
- долна граница на откриване: 4 ng/mL (10 nmol/L);
- аналитична точност: до 4 ng/mL.

Конверсионни фактори:

- $\text{ng/mL} \times 2.5 = \text{nmol/L}$;
- $\text{nmol/L} \times 0.4 = \text{ng/mL}$.

Оценката на витамин D статуса е извършена съгласно препоръките на Българското дружество по ендокринология (2019 г.), както следва:

- $>120 \text{ nmol/L}$ хипервитаминоза;
- $50\text{--}120 \text{ nmol/L}$ – достатъчно ниво;
- $25\text{--}49 \text{ nmol/L}$ – недостатъчност;
- $< 25 \text{ nmol/L}$ – дефицит.

2.4.1.2. Серумно ниво на паратхормон (ПТХ, PTH)

Серумното ниво на PTH е определено чрез електрохемилюминесцентен имуноанализ (ECLIA) с използване на анализатор Roche Cobas e411. Методът е базиран на имуноанализ тип „сандвич“ за определяне на интактен PTH. Концентрацията на хормона се изчислява чрез калибрационна крива, генерирана чрез двуточкова калибрация и еталонна информация от баркода на реактива. За анализа е използван серум, получен от венозна кръв, центрофугирана непосредствено след вземането, поради краткия полуживот на PTH.

Аналитични характеристики на метода:

- измервателен диапазон: 1.20–5000 pg/mL;
- долна граница на откриване: 1.20 pg/mL.

Оценката на резултатите е извършена съгласно референтните стойности на метода:

- $15\text{--}65 \text{ pg/mL}$ – нормални стойности;
- $>65 \text{ pg/mL}$ – повишени нива;
- $>100 \text{ pg/mL}$ – изразено повишение.

2.4.2. Количествено определяне на интерлевкин – 1 – бета (IL-1 β), интерлевкин – 6 (IL-6) и тумор некрозис фактор – алфа (TNF- α)

Проучването на IL-1 β , IL-6 и TNF- α е реализирано по научно –

изследователски проект №21/2022г. „Имунологично аспекти на дефицита на витамин Д при деца с остри респираторни заболявания“ на Катедра „Детски болести“ към Медицински университет-Плевен и Имунологична лаборатория към УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ ЕАД, гр. Плевен. Проектът е финансиран от Медицински университет-Плевен.

Работата по проекта е осъществена на база Клиника по педиатрия УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ гр. Плевен и Имунологична лаборатория към УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ ЕАД, гр. Плевен.

Проучването е одобрено от Комисията по етика на научно- изследователската дейност (КЕНИД) към Медицински университет - гр. Плевен.(вж. Приложение 4).

Участниците са включени доброволно след предварително информирано съгласие от родителите или настойниците (вж. Приложение 5). Изработена е клинична карта на пациента по проучването (вж. Приложение 6).

От всички пациенти е взета венозна кръвна проба в деня на хоспитализацията. След центрофугиране серумът е съхраняван при -20°C до момента на анализа.

Лабораторен метод:

Количественото определяне на серумните нива на IL-1 β , IL-6 и TNF- α е извършено чрез ензимносвързан имуносорбентен метод (ELISA), използвайки търговски тестови комплекти на Thermo Fisher Scientific (Invitrogen). Методът е базиран на имуноанализ тип „сандвич“, при който съответният цитокин от изследваната проба се свързва със специфични антитела, фиксирани върху микроплака, последвано от добавяне на биотинилирано антитяло и стрептавидин–HRP комплекс. След добавяне на субстрат (TMB) се развива цветна реакция, пропорционална на концентрацията на анализирания цитокин. Оптичната плътност се измерва при 450 nm (референтна дължина на вълната 620–630 nm) с ELISA-четец Stat Fax 2100, като концентрациите се определят чрез калибрационна крива.

Измервателен диапазон:

- IL-1 β : 3.9 – 250 pg/mL
- IL-6: 1.56 – 100 pg/mL
- TNF- α : 7.8 – 500 pg/mL

Чувствителност (LOD):

- IL-1 β : 0.3 pg/mL
- IL-6: 0.92 pg/mL
- TNF- α : 2.3 pg/mL

Поради липсата на унифицирани референтни стойности за серумните нива на IL-1 β , IL-6 и TNF- α , резултатите са анализирани като количествени променливи и са сравнени между изследваните групи.

2.4.3. Други лабораторни изследвания

Извършени са стандартни лабораторни изследвания в Клиничната лаборатория към УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен, включващи кръвно-газов анализ, пълна кръвна картина и С-реактивен протеин (CRP), проведени по стандартни методики:

- изследване на С-реактивен протеин чрез имунотурбидиметричен метод
- изследване на пълна кръвна картина с автоматичен хематологичен анализатор (3-diff и 5-diff)
- кръвно-газов анализ чрез потенциометричен метод с използване на анализатор Medica Easy Blood Gas

2.5. Статистически методи за обработка на получените резултати

Данните са въведени и обработени със статистическия пакет IBM SPSS Statistics v.26.0 за Windows и Microsoft Excel 2019. За ниво на статистическа значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза, е прието $p < 0.05$.

Приложени са следните статистически методи:

- **Дескриптивен анализ** – резултатите са представени чрез абсолютни и относителни честоти (брой и %) за качествените променливи, както и чрез показатели за централна тенденция и разсейване за количествените променливи – средна стойност $\pm$ стандартно отклонение (Mean $\pm$ SD) при нормално разпределение и медиана (Me) с интерквартилен размах (IQR) при ненормално разпределение.
- **Тестове за нормалност** – използван е тестът на Колмогоров–Смирнов за оценка на разпределението на количествените променливи.
- **Параметрични методи** – t-тест на Стюдънт и дисперсионен анализ (ANOVA) при нормално разпределение на данните.
- **Непараметрични методи** – тест на Ман–Уитни и тест на Крускал–Уолис при ненормално разпределение на данните.
- **Анализ на категориен променливи** – χ^2 -тест за оценка на зависимости между качествени показатели.

- **Корелационен анализ** – извършен чрез коефициента на Спирман (Spearman's rho, rs), а при нормално разпределение – чрез коефициента на Пирсън.

IV. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

1. Резултати и обсъждане по задача 1:

Да се направи клинико-епидемиологичен анализ на децата с остри респираторни инфекции на долните дихателни пътища за периода 01.07.2021-30.12.2023г.

Проучването обхваща 129 деца с остри респираторни инфекции, лекувани в Клиника по педиатрия на УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ ЕАД гр. Плевен за периода 01.07.2021-30.12.2023г.

1.1 Разпределение на изследваните деца по възраст

Средната възраст на изследваната популация (0–17 години) е 2.58 ± 3.90 години. Децата с остри респираторни инфекции (болни) са със средна възраст 2.63 ± 3.65 години, докато в контролната група (здрави) тя е 2.38 ± 4.69 години. В таблица 4 възрастта е представена в месеци.

Пациентите с остър бронхиолит са във възрастов диапазон от 2 месеца до 2 години, съответно на характерната възрастова честота на това заболяване. Включването на тези пациенти обуславя по-ниските средни стойности на възрастта.

Не се установиха статистически значими различия между болни и здрави по отношение на възрастта, ръста и теглото (табл 4). Това показва добра съпоставимост между изследваните групи по основни демографски и антропометрични показатели. Липсата на статистически значими различия предполага, че тези фактори не оказват съществено влияние като смущаващи променливи върху изследваните зависимости и позволява по-надеждна интерпретация на получените резултати.

Таблица 4. Описателна статистика на демографските характеристики на пациентите

Показатели	Болни (n=99)	Здрави (n=30)	P-статистическа значимост (p-value)
ДЕМОГРАФСКИ ХАРАКТЕРИСТИКИ			
Пол (% , брой) – момичета – момчета	40 (40.4%) 59 (59.6%)	12 (40.0%) 18 (60.0%)	> 0.05
Възраст – месеци (Mean±SD; Me, IQR)	31.6 ± 43.815 12, 29	28.6 ± 56.284 5, 13	> 0.05
Ръст – см (Mean±SD; Me, IQR)	85.1 ± 28.585 75, 33	74.9 ± 40.955 60, 21	> 0.05
Тегло – кг (Mean±SD; Me, IQR)	14.8 ± 13.623 11, 7.8	16.3 ± 23.555 6.2, 5.2	> 0.05

1.2 Разпределение на изследваните деца по пол

Разпределението по пол показва превес на мъжкия пол – 77 деца (59.7%) спрямо 52 деца (40.3%) от женски пол. В групата на децата с остри респираторни инфекции също се наблюдава по-висок относителен дял на мъжкия пол – 59.6% в сравнение с женския – 40.4% (Табл. 4).

Получените резултати съответстват на данните от световната литература, които показват по-висока честота на остри респираторни инфекции при мъжкия пол в детска възраст. Наблюдаваните различия се обясняват с полови особености в имунния отговор, като е установено, че мъжкият пол е по-податлив към инфекции, причинени от вируси, бактерии и други патогени. Данни от проспективни проучвания показват, че мъжкият пол е сред факторите, най-често асоциирани с хоспитализация при инфекции с респираторно-синцитиален вирус (RSV). Съвременни изследвания при деца с бронхиолит също установяват по-висока честота на хоспитализация при момчета. В допълнение, многогодишни анализи показват по-висока честота на остри респираторни инфекции при мъжкия пол, особено в най-ранна възраст.

1.3. Етиологична характеристика на инфекциите

За установяване на етиологичните причинители на инфекциите при всички пациенти беше проведено микробиологично изследване на гърлен секрет за бактериални причинители и антигенен тест за вирусни причинители. Допълнително при всички деца с остър бронхиолит беше извършена PCR диагностика за респираторни вируси с цел по-прецизно определяне на вирусната етиология на заболяването.

- Вирусни причинители се установиха при всички пациенти в групата на децата с остър бронхиолит (n=32), изследвани чрез PCR диагностика, като при две от тях беше изолиран и *Staphylococcus aureus* от гърлен секрет. Сред вирусните причинители най-често се установява RSV, следван от RVS, докато останалите вируси се срещат с по-ниска честота.
- В групата на пациентите с бронхопневмония (n=42) при 4 деца бяха доказани вирусни причинители – грипен вирус А и SARS-CoV-2 - а при 2 деца бяха изолирани *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus aureus* от гърлен секрет.
- В групата на децата с остър бронхит (n=25) при 3 деца се установи етиологичен причинител, като при две деца се доказва инфекция със SARS-CoV-2, а при едно дете беше изолиран *Streptococcus pneumoniae* от гърлен секрет (фиг.3).



Фигура 3. Разпределение по брой на отделните етиологични причинители в трите групи деца с остри респираторни инфекции

RSV – респираторно-синцитиален вирус; RVS – риновируси; HBOV – човешки бокавирус; HMPV – човешки метапневмовирус; ADV – аденовирус; HPIV3 - човешки парагрипен вирус тип 3; S.aureus – *Staphylococcus aureus*;; Influenza A – грипен вирус А; Str. Pneumoniae – *Streptococcus pneumoniae*; SARS-CoV-2– причинител на Covid-19.

Получените резултати показват преобладаване на вирусната етиология при децата с остър бронхиолит, като най-често изолиран причинител беше респираторно-

синцитиалният вирус (RSV). Това съответства на литературните данни, според които RSV е водещ причинител на бронхиолит в кърмаческа и ранна детска възраст.

В групата на децата с бронхопневмония етиологичен причинител беше установен при сравнително малък брой пациенти. Това вероятно се дължи на ограниченията на използваните диагностични методи и на факта, че при значителна част от пневмониите в детска възраст причинителят остава недоказан въпреки проведените микробиологични и вирусологични изследвания. Ниската честота на микробиологично потвърждение при бронхопневмониите съответства на данни от литературата, според които етиологичният причинител често не може да бъде идентифициран поради трудностите при получаване на подходящ материал от долните дихателни пътища, предходна антибиотична терапия или ограничената чувствителност на диагностичните методи.

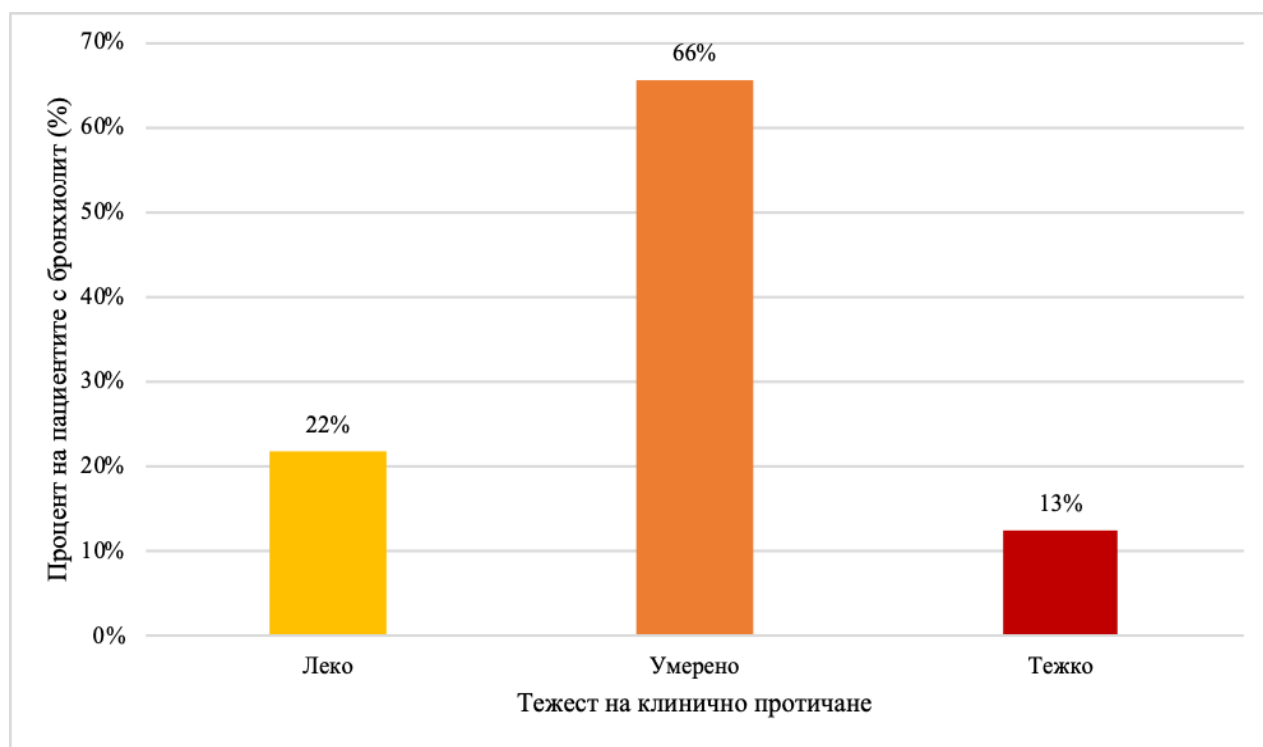
При пациентите с остър бронхит етиологичен причинител също беше доказан само при ограничен брой случаи. Това вероятно се дължи на ограниченията на използваните диагностични методи, различния стадий на инфекцията към момента на вземане на пробите, както и на факта, че не всички вирусни причинители могат да бъдат установени чрез използваните диагностични тестове.

1.4. Оценка на тежестта на протичане на заболяванията

1.4.1. Остър бронхиолит

При пациентите с остър бронхиолит ($n=32$) се установи следното разпределение по тежест на протичане (фиг. 4):

- лека степен – 7 деца (21,9%);
- умерено тежка степен – 21 деца (65,6%);
- тежка степен – 4 деца (12,5%).



Фигура 4. Разпределение на пациентите с остър бронхиолит според тежестта на клиничното протичане (n=32).

1.4.1.1. Оценка на тежестта на клинично протичане в подгрупата на децата с бронхиолит с изолиран причинител респираторно-синцитиален вирус (RSV)

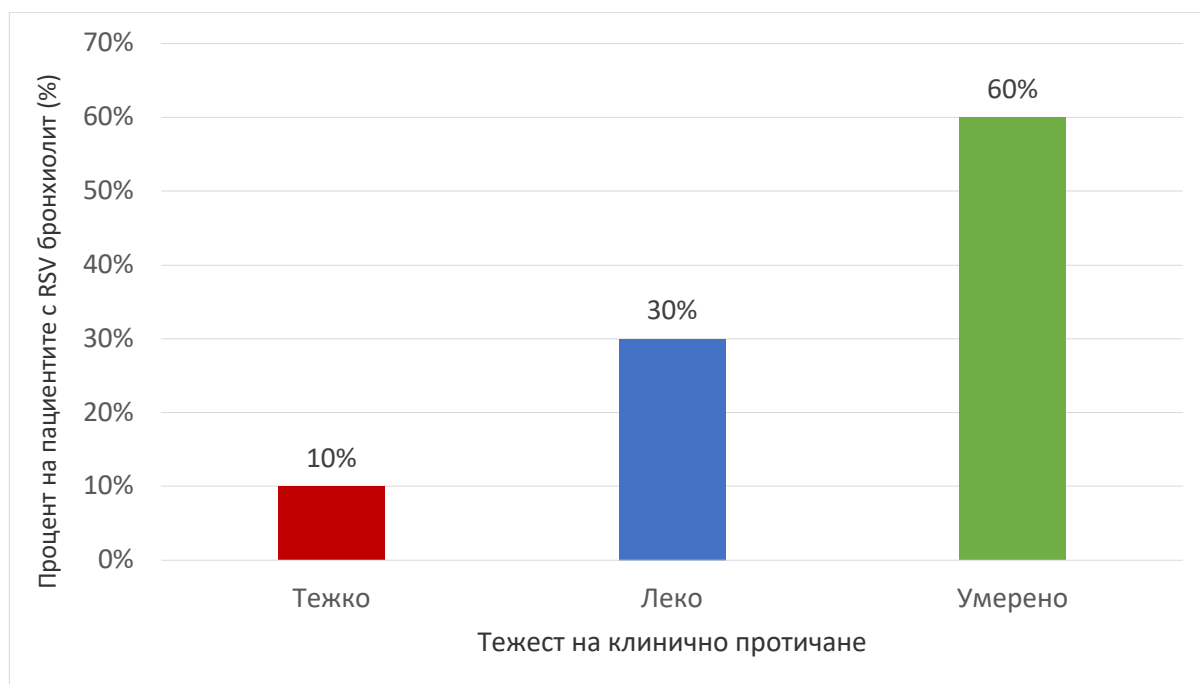
В подгрупата на децата с остър бронхиолит (n = 32), при 20 пациенти беше изолиран респираторно-синцитиален вирус (RSV). С цел по-задълбочен анализ беше извършена оценка на тежестта на клиничното протичане и в тази подгрупа.

Съгласно скалата ReSVinet се установи, че:

- 2 деца (10%) са с тежко протичане;
- 6 деца (30%) – с леко протичане;
- 12 деца (60%) – с умерено протичане.

Преобладават случаите с умерена тежест на протичане, докато тежките форми са представени с относително малък дял.

Резултатите са представени на фигура 5.



Фигура 5. Разпределение на пациентите с RSV бронхиолит според тежестта на клиничното протичане (n = 20)

1.4.2. Остра пневмония

Съгласно обобщените клинични критерии, базирани на препоръките на WHO и BTS, всички пациенти с остра бронхопневмония бяха оценени с умерена степен на тежест на протичане.

1.4.3. Остър бронхит

Съгласно скалата BSS-red всички пациенти с остър бронхит бяха оценени с лека степен на протичане.

Наблюдаваното преобладаване на умерено тежките форми при пациентите с бронхиолит съответства на данни от литературата, според които тежките случаи при хоспитализираните деца са сравнително редки. Повечето случаи на бронхиолит протичат леко и се повлияват спонтанно в рамките на няколко дни, като само малка част от пациентите изискват болнично лечение. При хоспитализираните деца развитието на тежко протичане с дихателна недостатъчност, налагащо интензивно лечение, се наблюдава в ограничен процент от случаите (около 3–10%).

По отношение на наблюдаваната умерена тежест на клиничното протичане при пациентите с бронхопневмония, получените резултати също съответстват на данни от литературата. Така например мултинационално проспективно кохортно проучване, обхващащо 73 спешни отделения в 14 държави, установява, че при деца с придобита в

обществото пневмония преобладават леките и умерените форми на протичане, докато тежките случаи са сравнително редки (около 5%). В други проучвания се съобщава, че необходимостта от интензивно лечение при деца с пневмония варира в широки граници, като между 10.3% и 37.2% от случаите изискват хоспитализация в педиатрично интензивно отделение. В друго проспективно изследване едва 6.0% от хоспитализираните деца покриват критериите за тежка пневмония.

Лекото протичане при пациентите с остър бронхит е в съответствие с клиничната характеристика на заболяването като самоограничаваща се инфекция, която обикновено отзвучава в рамките на 2–3 седмици.

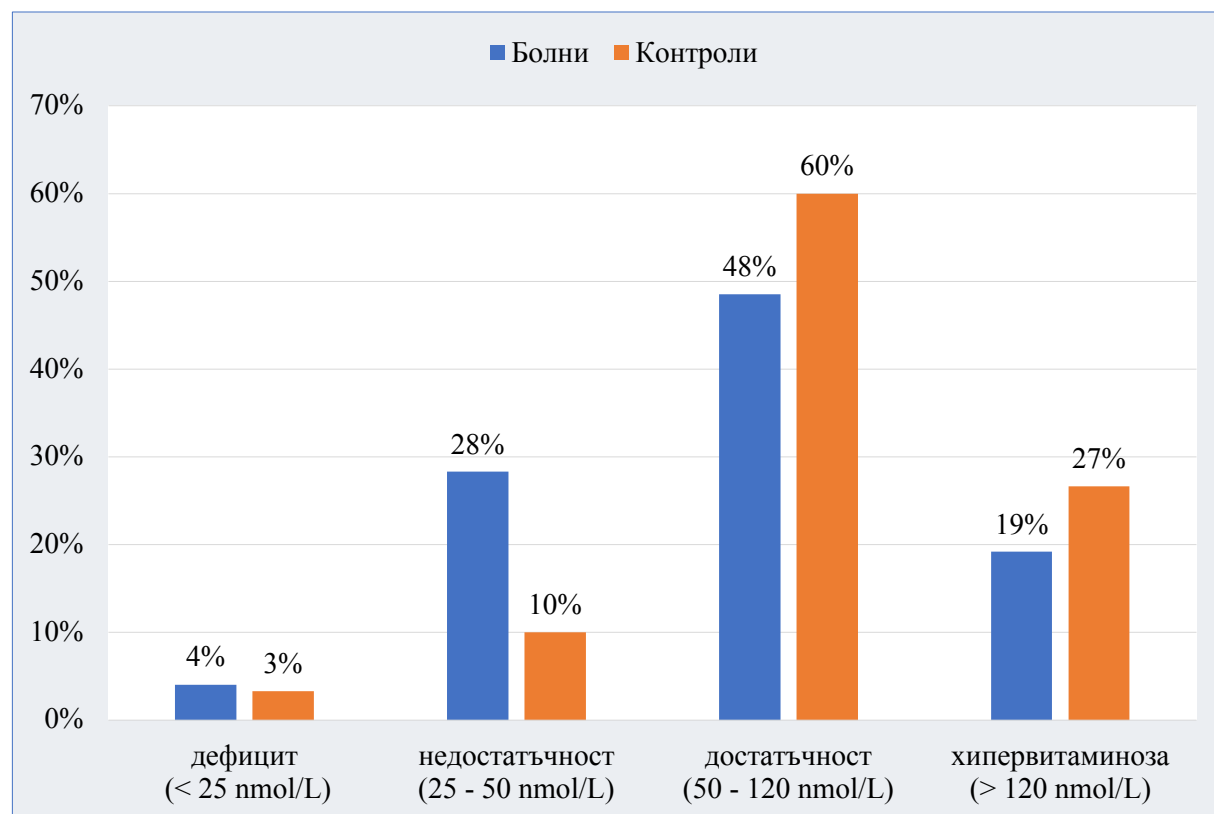
2. Резултати и обсъждане по задача 2:

Да се определи витамин D статуса при децата с остри респираторни инфекции чрез изследване серумните нива на 25(ОН) витамин D и паратхормона (PTH).

2.1. Сравнение на серумните нива на 25(ОН)D и PTH между деца с остри респираторни инфекции (ОРИ) и здрави контроли

Сравнението на серумните нива на 25(ОН) витамин D между децата с ОРИ и здравите контроли показва следното разпределение (фиг.6):

- 28% от пациентите с ОРИ бяха с недостатъчни серумни нива на 25(ОН) витамин D, в сравнение с 10% от здравите деца.
- 4% от децата с ОРИ бяха с дефицитни серумни нива на 25(ОН) витамин D, спрямо 3% в контролната група.
- По-висок процент деца с повишени серумни нива на 25(ОН) витамин D (хипервитаминоза) беше установен при здравите деца (27%) в сравнение с пациентите с ОРИ (19%).
- Достатъчни серумни нива на 25(ОН) витамин D се наблюдаваха при 60% от здравите деца срещу 48% от децата с ОРИ.



Фигура 6. Витамин D статус в общата популация деца с ОРИ (n=99) в сравнение с

контролната група (n=30)

Не се установи статистически значимо различие в средните серумните нива на 25(ОН) витамин D и PTH между децата с остри респираторни инфекции и здравите контроли (табл. 5).

Таблица 5. Сравнителен анализ на серумните нива на 25(ОН) витамин D и паратхормон (PTH) при болни и здрави деца

Показатели	Болни (n=99)	Здрави (n=30)	P-статистическа значимост (p-value)
25OHD (Mean±SD; Me, IQR)	81.1 ± 47.018 69.2, 67.8	93.7 ± 55.974 81.5, 60.1	>0.05
PTH (Mean±SD; Me, IQR)	18.9 ± 15.914 16.8, 15.1	25.3 ± 19.337 21.1, 13.5	>0.05

Въпреки това, анализът на разпределението на витамин D статуса по категории разкри статистически значими различия между двете групи (табл. 6):

- Установи се значимо по-висок дял деца с недостатъчни серумни нива на 25(ОН) витамин D сред пациентите с ОРИ (28.3%) в сравнение със здравите деца (10.0%) ($\chi^2 = 20.161$, $p < 0.001$).
- Достатъчни серумни нива на 25(ОН) витамин D се наблюдаваха по-често при здравите деца (60.0%) в сравнение с пациентите с ОРИ (48.5%) ($\chi^2 = 13.636$, $p < 0.001$).
- По-висок дял деца с повишени серумни нива на 25(ОН) витамин D (хипервитаминоза) беше установен при здравите деца (26.7%) в сравнение с пациентите с ОРИ (19.2%) ($\chi^2 = 5.538$, $p = 0.019$).
- При децата с дефицитни серумни нива на 25(ОН) витамин D не се установи статистически значима разлика между двете групи ($p > 0.05$).

Таблица 6. Разпределение на витамин D статуса при деца с остри респираторни инфекции и здрави контроли (брой и %)

25OHD	Здрави(брой, %)	Болни(брой, %)	P-статистическа значимост (p-value)
дефицит (<25 nmol/l)	2 (3.3)	4 (4.0)	> 0.05
недостатъчност (25 - 50 nmol/l)	3 (10.0)	28 (28.3)	< 0.001

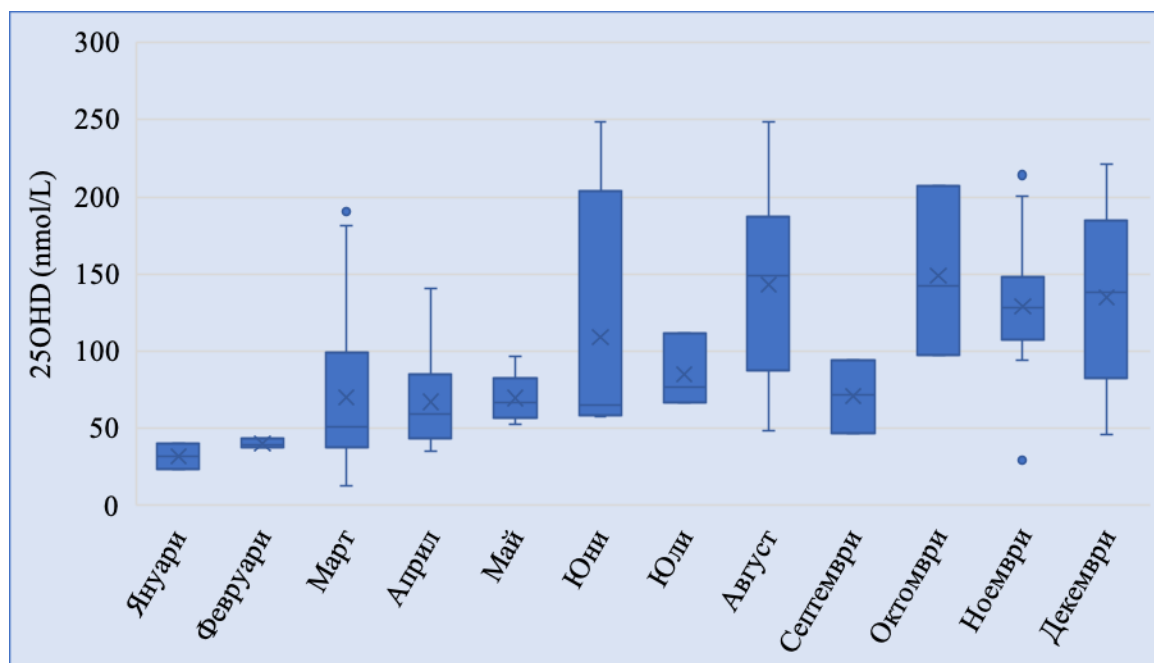
достатъчност (50 - 120 nmol/l)	18 (60.0)	48 (48.5)	< 0.001
хипервитаминоза (>120 nmol/l)	7 (26.7)	19 (19.2)	< 0.05
Общо	30 (100.0)	99 (100.0)	

2.2. Анализ на серумните нива на 25(OH)D според месеца на изследване

С оглед на влиянието на сезонността върху серумните нива на 25(OH) витамин D беше извършен анализ според месеца на провеждане на изследването. Данните показват ясно изразена сезонна вариабилност. Най-ниски стойности се наблюдават през зимните месеци, след което се отчита постепенно повишаване през пролетта и началото на лятото.

През летните и есенните месеци се установяват по-високи стойности на 25(OH) витамин D, съпроводени със значителна вариабилност между отделните пациенти. Най-широко разпределение на стойностите се наблюдава през юни, август, октомври и декември.

Получените резултати потвърждават същественото влияние на сезонността върху серумните нива на 25(OH) витамин D при изследваните деца (фиг. 7).



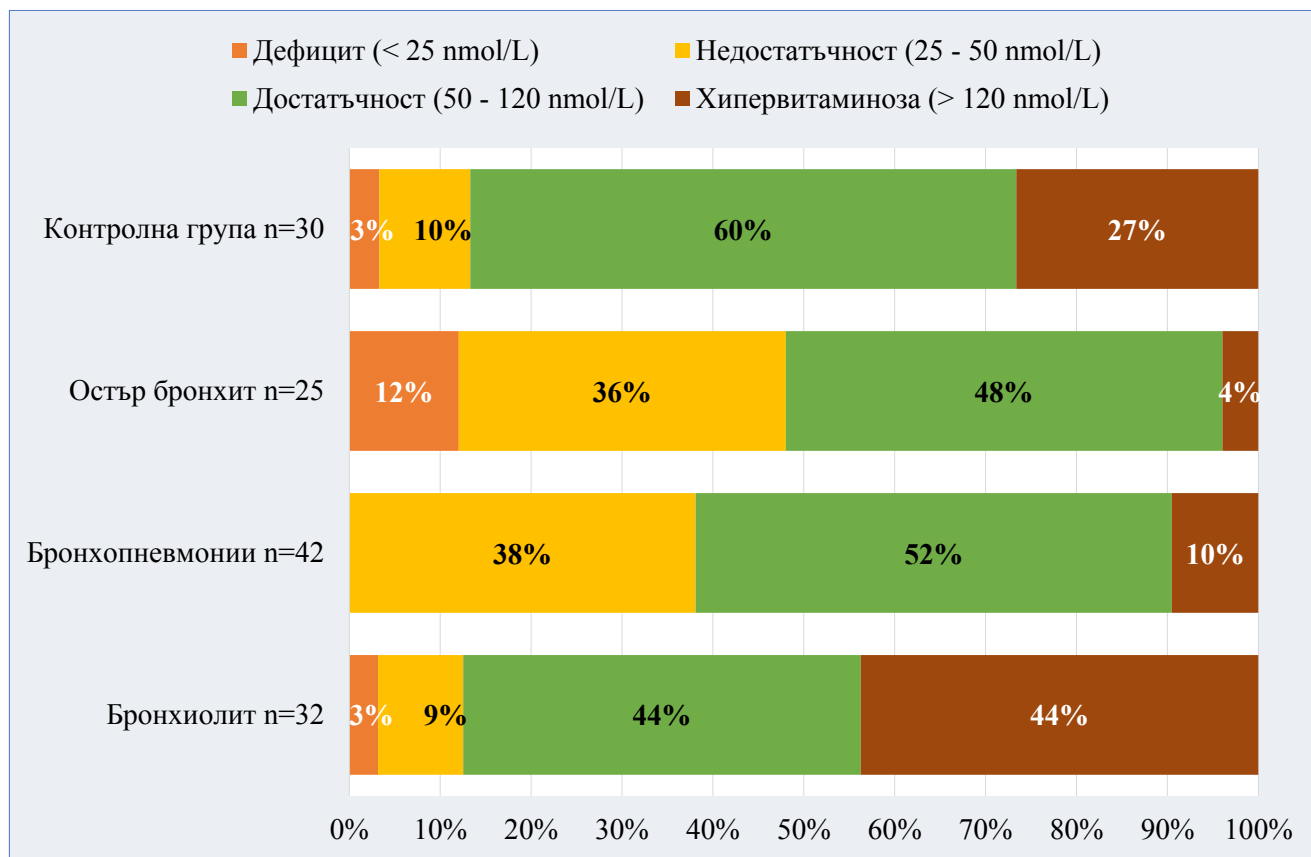
Фигура 7. Разпределение на серумните нива на 25(OH) витамин D при всички изследвани деца по месеци на изследване (nmol/L)

2.3. Сравнение на серумните нива на 25(OH)D между

отделните групи и контролната група

Проведе се допълнителен анализ на нивата на 25(ОН) витамин D между отделните диагностични подгрупи (фиг. 8):

- В групата с остър бронхит 9 деца (36%) бяха с недостатъчни серумни нива на 25(ОН) витамин D, 3 деца (12%) – с дефицитни серумни нива, а 1 дете (4%) – с повишени серумни нива (хипервитаминоза). Останалите 12 деца (48%) бяха с достатъчни серумни нива на 25(ОН) витамин D.
- Сред децата с бронхопневмония 16 (38%) бяха с недостатъчни серумни нива на 25(ОН) витамин D, а при 4 (10%) бяха установени повишени серумни нива (хипервитаминоза). При останалите 22 деца (52%) серумните нива на 25(ОН) витамин D бяха в границите на достатъчност, без установени случаи на дефицит.
- Отклонения в серумните нива на 25(ОН) витамин D бяха установени и при децата с остър бронхиолит: 3 деца (9%) бяха с недостатъчни серумни нива, 1 дете (3%) – с дефицитни серумни нива, а 14 деца (44%) – с повишени серумни нива (хипервитаминоза). Останалите 14 деца (44%) бяха с достатъчни серумни нива на 25(ОН) витамин D.
- В контролната група 1 дете (3%) беше с дефицитни серумни нива на 25(ОН) витамин D, 3 деца (10%) – с недостатъчни серумни нива, 8 деца (27%) – с повишени серумни нива (хипервитаминоза), а 18 деца (60%) бяха с достатъчни серумни нива на 25(ОН) витамин D.

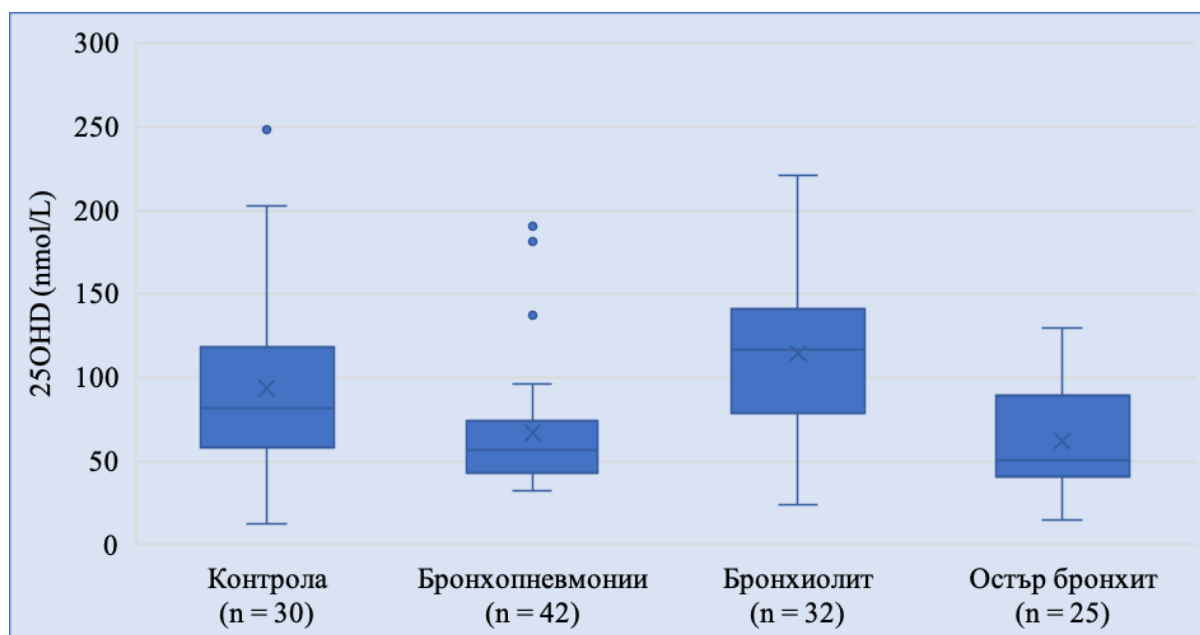


Фигура 8. Разпределение на изследваната популация според серумните нива на 25(ОН) витамин D ($p = 0.01$).

Установи се статистически значимо различие в нивата на 25(ОН) витамин D между отделните групи според диагнозата (Kruskal–Wallis test: $H = 25.001$, $df = 3$, $N = 129$, $p < 0.001$).

При последващия анализ с Mann–Whitney U тест се установи (фиг. 9):

- статистически значима разлика между контролната група и децата с бронхопневмония ($U = 399.000$, $z = -2.639$, $p = 0.008$);
- статистически значима разлика между контролната група и децата с остър бронхит ($U = 229.000$, $z = -2.468$, $p = 0.014$);
- липса на статистически значима разлика между контролната група и децата с остър бронхиолит ($U = 350.000$, $z = -1.831$, $p = 0.067$).



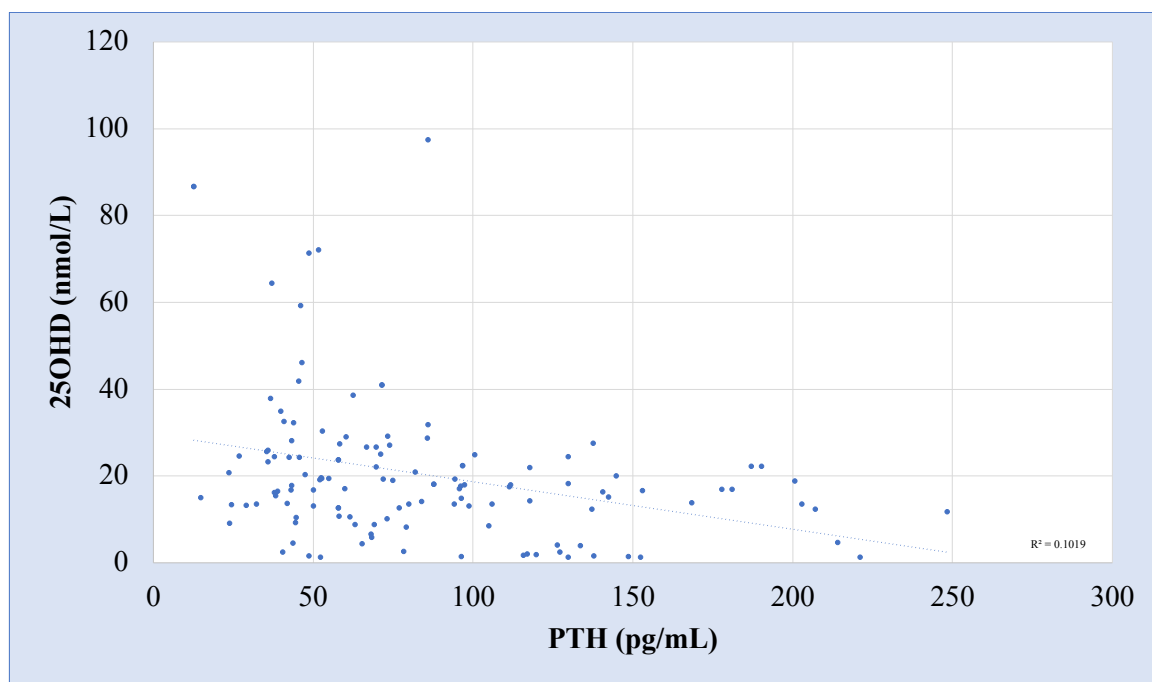
Фигура 9. Сравнение на серумните нива на 25(ОН) витамин D между диагностичните групи и контролната група

2.4. Корелационен анализ – връзка между 25(ОН) витамин D и PTH

Проведеният корелационен анализ с помощта на коефициента на Спирман установи наличие на статистически значима зависимост между серумните нива на 25(ОН) витамин D и паратхормона (PTH) ($r_s = -0.313$, $N = 123$, $p < 0.001$).

Наблюдаваната корелация е отрицателна, което показва, че с повишаване на серумните нива на 25(ОН) витамин D се наблюдава намаляване на стойностите на PTH. Силата на корелацията е слаба до умерена, което предполага наличие на връзка между двете променливи, но и участие на допълнителни фактори в регулацията на PTH.

Графичното представяне на зависимостта чрез диаграма на разсейване (фиг. 10) потвърждава наличието на обратна тенденция между двете променливи, въпреки относително широкото разпределение на индивидуалните стойности.



Фигура 10. Диаграма на разсейване (корелограма) на връзката между 25OHD и PTH

2.5. Сравнение на серумните нива на 25(OH)D и PTH в групата на децата с RSV бронхиолит

От проведенния анализ не се установи статистически значимо различие между болни и здрави деца по отношение на серумните нива на 25(OH) витамин D ($U = 174.000$, $N = 44$, $z = -1.556$, $p = 0.120$).

За разлика от това, се установи статистически значимо различие между двете групи по отношение на паратхормона (PTH) ($U = 391.000$, $N = 44$, $z = 3.560$, $p < 0.001$), като стойностите при децата с RSV инфекция са по-ниски в сравнение със здравите контроли (табл. 7).

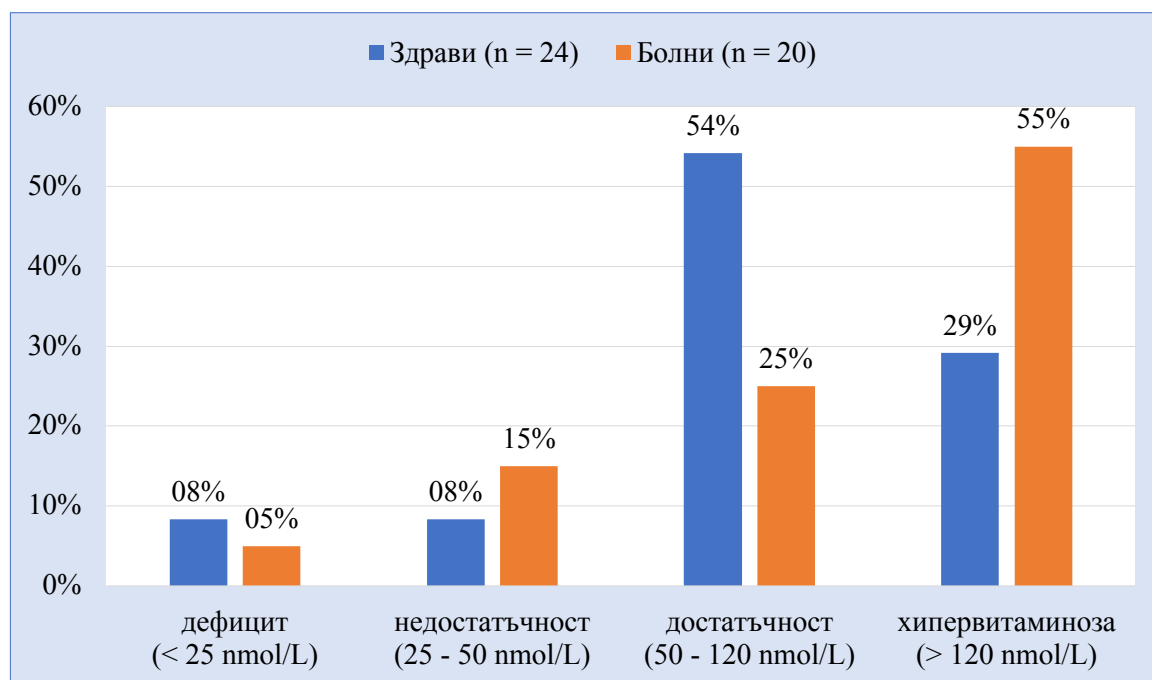
Таблица 7. Сравнителен анализ на серумните нива на 25(OH) витамин D и PTH при деца с RSV инфекция и здрави контроли (Mean $\pm$ SD; Me, IQR)

Показатели	Здрави (n=24)	Болни (n=20)	P-статистическа значимост (p-value)
25OHD , nmol/L (Mean $\pm$ SD; Me, IQR)	102.2 $\pm$ 59.082 91.1, 82.5	125.6 $\pm$ 58.847 129.9, 52.2	> 0.05
PTH , pg/mL (Mean $\pm$ SD; Me, IQR)	25.7 $\pm$ 18.585 18.6, 13.9	8.6 $\pm$ 8.053 4.2, 15.7	< 0.001

При разпределение на витамин D статуса по категории се установяват следните особености:

- Установи се по-висока честота на недостатъчни серумни нива на 25(OH) витамин D при децата с RSV инфекция (15.0% срещу 8.3%), докато честотата на дефицитни серумни нива остава сходна в двете групи (5.0% срещу 8.3%).
- Достатъчни серумни нива на 25(OH) витамин D се наблюдаваха значително по-често сред здравите деца (54.2% срещу 25.0%).
- При пациентите с RSV инфекция се установи значително по-висок дял деца с повишени серумни нива на 25(OH) витамин D (хипервитаминоза) в сравнение със здравите контроли (55.0% срещу 29.2%).

Данните са представени на фигура 11.



Фигура 11. Разпределение на витамин D статуса при деца с RSV инфекция и здрави контроли (%)

Обсъждане:

Острите респираторни инфекции продължават да бъдат водеща причина за заболяемост и смъртност в световен мащаб. През последните години все повече проучвания изследват последствията от недостатъчните нива на витамин D в контекста на неговите извънскелетни (плейотропни) ефекти, свързани с регулацията на имунната система. В тази връзка се счита, че витамин D има съществена роля в ограничаването на възпалителния отговор. Доказано е, че неговият активен метаболит 1,25(OH)₂D

(калцитриол) участва в регулацията както на вродения, така и на придобития имунитет чрез активиране на антимикробни механизми срещу бактериални, вирусни и гъбични патогени в клетките на вродения имунен отговор. Съвременната литература представя множество данни, свързващи ниските серумни нива на 25(OH)D с повишен риск от остри респираторни инфекции както в общата популация, така и при деца. Въпреки това резултатите относно ефективността на допълнителния прием на витамин D за намаляване честотата и тежестта на тези инфекции остават противоречиви между отделните проучвания.

В нашето проучване на витамин D статуса при деца с остри респираторни инфекции (ОРИ) не се установи статистически значимо различие в средните серумни нива на 25(OH) витамин D и PTH при сравнение с контролната група. Въпреки това при допълнителния анализ на витамин D статуса по категории се установи статистически значимо по-висок дял на недостатъчните нива на витамин D ($25(\text{OH})\text{D} < 50 \text{ nmol/L}$) при децата с ОРИ. При здравите деца по-често се наблюдаваха достатъчни серумни нива на витамин D ($>50 \text{ nmol/L}$), както и хипервитаминоза ($>120 \text{ nmol/L}$). По отношение на дефицитните серумни нива на витамин D ($25(\text{OH})\text{D} < 25 \text{ nmol/L}$) не се установи статистически значима разлика между двете групи.

Липсата на статистически значима разлика в средните серумни нива на 25(OH) витамин D между децата с остри респираторни инфекции и здравите контроли вероятно се дължи на разпределението на индивидуалните стойности в двете групи. Наличието както на ниски, така и на високи стойности на витамин D води до взаимното им компенсиране и формиране на сходни средни стойности. В същото време анализът на витамин D статуса по категории разкрива съществени различия между групите и предоставя по-точна представа за реалното разпределение на нивата на 25(OH) витамин D.

Данните от европейската и световната литература също показват значителна хетерогенност в резултатите относно връзката между витамин D статуса и острите респираторни инфекции в детска възраст. Систематичен обзор и метаанализ, включващ 12 проучвания с общо 2279 участници, установява, че децата с инфекции на долните дихателни пътища имат статистически значимо по-ниски серумни нива на 25(OH) витамин D в сравнение с контролните групи, както и по-висока честота на витамин D дефицит. Авторите обаче подчертават значителната хетерогенност между отделните проучвания по отношение на възрастовите групи, използваните диагностични

критерии и референтните стойности за определяне на витамин D статуса, което затруднява директното сравнение на резултатите.

При сравнение на нашите резултати с данните от други съвременни проучвания трябва да се отчете различната интерпретация на витамин D статуса и използваните референтни стойности в отделните изследвания, което затруднява директното съпоставяне на резултатите.

Така например ретроспективно проучване в Китай, включващо 948 деца на възраст 1–16 години, от които 295 с остри респираторни инфекции, определя витамин D статуса въз основа на препоръките на Endocrine Society, както следва: тежък дефицит <25 nmol/L, дефицит <50 nmol/L, недостатъчност <75 nmol/L и достатъчни нива между 75.1 – 120 nmol/L. Въз основа на тези критерии авторите установяват по-висока честота на дефицит и недостатъчност на витамин D сред децата с ОРИ и обсъждат, че серумни концентрации на 25(OH) витамин D под 50 nmol/L са свързани с повишен риск от остри респираторни инфекции. Подобно на нашите резултати, те също установяват статистически значими различия във витамин D статуса между децата с ОРИ и контролната група. За разлика от нашето проучване обаче, при тях се наблюдава статистически значима разлика и в средните серумни нива на 25(OH) витамин D между децата с ОРИ и здравите контроли. В цитираното проучване не е изследван паратхормон (PTH).

Сходни резултати относно по-ниските серумни нива на витамин D при деца с респираторни инфекции съобщава и проучване, проведено в Нигерия, включващо 250 деца под 5-годишна възраст с остри респираторни инфекции и 250 деца без респираторни симптоми като контролна група. Всички случаи на ОРИ са класифицирани като инфекции на горните дихателни пътища и инфекции на долните дихателни пътища (пневмония и бронхиолит). Витамин D статусът е определен въз основа на препоръките на American Academy of Pediatrics (AAP) и Institute of Medicine (IOM), както следва: тежък дефицит <12.5 nmol/L, дефицит 12.5 – 37.5 nmol/L, недостатъчност 37.5 – 50 nmol/L, достатъчност 50 – 250 nmol/L и излишък 250 – 372.5 nmol/L. Авторите установяват статистически значимо по-ниски средни серумни нива на 25(OH) витамин D при децата с остри респираторни инфекции в сравнение с контролната група (52.2 ± 25.6 ng/mL срещу 57.0 ± 23.9 ng/mL). Освен това по-висок дял от децата с инфекции на долните дихателни пътища са били с тежък дефицит, дефицит и недостатъчност на витамин D в сравнение с децата с инфекции на горните дихателни пътища.

Подобни данни съобщава и проучване в Китай, включващо 797 деца на възраст от 3 дни до 14 години с придобита в обществото пневмония и 785 здрави контроли. За категоризация на витамин D статуса авторите използват следните референтни стойности: тежък дефицит <25 nmol/L, дефицит 25–50 nmol/L, недостатъчност 50–75 nmol/L и достатъчност >75 nmol/L. Средната серумна концентрация на 25(OH) витамин D е значително по-ниска при децата с пневмония в сравнение с контролната група (19.04 ± 9.86 ng/mL срещу 31.71 ± 14.82 ng/mL). Подобно на нашето проучване делът на децата с достатъчни нива на витамин D е по-нисък в групата с пневмония, докато честотата на дефицит и тежък дефицит е по-висока в сравнение със здравите контроли. Съвременното българско проучване на Римпова и колектив, включващо 98 деца с тежка пневмония и 102 здрави контроли, използва различни референтни стойности за определяне на витамин D статуса съгласно препоръките на Institute of Medicine (IOM): достатъчност >75 nmol/L, недостатъчност 50–75 nmol/L, дефицит 25–50 nmol/L и тежък дефицит <25 nmol/L. Всички включени деца имат средна серумна концентрация на 25(OH) витамин D 52.4 nmol/L, което според използваните от авторите критерии попада в диапазона на недостатъчност на витамин D. В контролната група половината от децата са с дефицит на витамин D, като едва 16.7% имат достатъчни нива, а 33.3% – недостатъчност. При децата с пневмония достатъчните нива на витамин D се наблюдават по-често (33.8%), докато 31.7% са с недостатъчност и 34.5% – с дефицит. При анализа на подгрупите авторите установяват, че децата с неусложнена пневмония по-често са с достатъчни нива на витамин D (40.3%), докато при усложнената пневмония преобладават дефицитът (47.2%) и недостатъчността (30.6%). При интерпретацията на тези резултати следва да се отчете, че използваните от авторите референтни стойности се различават съществено от критериите, приложени в нашето проучване. В цитираното изследване стойности между 50–75 nmol/L се приемат като недостатъчност, докато според използваните от нас критерии тези стойности попадат в диапазона на достатъчност на витамин D. По аналогичен начин стойности между 25–50 nmol/L се дефинират като дефицит, докато в нашето проучване този диапазон се интерпретира като недостатъчност, а дефицит се приема едва при стойности под 25 nmol/L. Ако резултатите на Римпова и колектив бъдат интерпретирани според използваните в нашето проучване референтни стойности, делът на децата с достатъчен витамин D статус би бил значително по-висок, а честотата на дефицит – по-ниска. Това още веднъж подчертава затрудненията при

директното сравнение между отделните проучвания и необходимостта резултатите да се интерпретират в контекста на използваните диагностични критерии.

Наблюдаваната в нашето проучване сезонна вариабилност на серумните нива на 25(ОН) витамин D е в съответствие с известните механизми на кожния синтез на витамин D под влияние на UVB-лъчението. Географското разположение на България в умерения климатичен пояс между 41° и 44° северна географска ширина е свързано с ясно изразена сезонност на витамин D синтеза. През късната есен и зимните месеци слънцето се издига ниско над хоризонта, което води до значително намаляване на количеството UVB-лъчение, достигащо земната повърхност, и до ограничен кожен синтез на витамин D. Това обяснява установените в нашето проучване най-ниски серумни нива на 25(ОН) витамин D през зимните месеци и постепенното им повишаване през пролетта и лятото. Подобна сезонна динамика е описана и в други проучвания. Така например Li и колектив установяват най-високи серумни нива на 25(ОН) витамин D през летния сезон и най-ниски – през зимата при изследване на деца с придобита в обществото пневмония и здрави контроли в Китай.

В нашето проучване през летните месеци се наблюдава не само повишаване на средните серумни нива на 25(ОН) витамин D, но и по-голяма вариабилност на индивидуалните стойности, включително наличие както на високи, така и на ниски концентрации. Това вероятно отразява влиянието не само на сезонността, но и на поведенчески и индивидуални фактори, свързани с експозицията на слънчева светлина. Въпреки високата интензивност на слънчевото греене през летния период, в региони като Южна Европа високите температури могат да доведат до ограничаване на престоя на открито и намалена директна слънчева експозиция, което от своя страна може да повлияе върху кожния синтез на витамин D. Допълнително влияние могат да оказат използването на слънцезащитни средства, различията в хранителния прием и допълнителният прием на витамин D, както и индивидуалните особености на метаболизма.

В нашето проучване се установиха различия в разпределението на витамин D статуса между отделните диагностични подгрупи. Най-висок дял на недостатъчност на витамин D се наблюдава при децата с бронхопневмония и остър бронхит, докато при пациентите с остър бронхиолит по-често се установяват достатъчни нива и хипервитаминоза. Проведеният анализ показва статистически значими различия в серумните нива на 25(ОН) витамин D между отделните групи според диагнозата, като при последващия анализ статистически значими разлики се установиха между

контролната група и децата с бронхопневмония и остър бронхит, но не и при децата с остър бронхиолит.

Липсата на статистически значима разлика между децата с бронхиолит и контролната група вероятно се обуславя от възрастовите характеристики на тази подгрупа.

Пациентите с бронхиолит са предимно кърмачета и малки деца до 2-годишна възраст, при които профилактичният прием на витамин D се прилага по-активно, особено през първата година от живота. Това вероятно допринася за по-високите серумни нива на 25(ОН) витамин D и по-високия дял на хипервитаминоза в тази подгрупа.

Получените резултати частично са в съответствие с данни от други проучвания.

Подобно на нашето проучване, изследване в Индия при деца с остър бронхиолит не установява статистически значима разлика в средните серумни нива на 25(ОН) витамин D между пациентите и здравите контроли.

За разлика от нашите резултати, в Израел установяват значително по-ниски серумни нива на 25(ОН) витамин D при децата с бронхиолит в сравнение с контролната група, както и по-висока честота на витамин D дефицит при пациентите с бронхиолит.

Разликите между двете проучвания вероятно се дължат на различните използвани референтни стойности за витамин D статус, особеностите на изследваните популации и различията в профилактичния прием на витамин D.

Проучване в Индонезия при хоспитализирани деца с остра пневмония също установява сравнително ниска честота на витамин D дефицит. Липсата на контролна група в това изследване обаче ограничава възможността за директно сравнение между болни и здрави деца.

Данните при децата с бронхопневмония в нашето проучване са в съответствие и с резултатите от проучване в Армения, включващо деца с инфекции на долните дихателни пътища и здрави контроли. Авторите установяват значително по-ниски серумни нива на 25(ОН) витамин D при децата с инфекции на долните дихателни пътища в сравнение със здравите контроли, както и по-висока честота на хиповитаминоза D сред пациентите. Подобно на нашите резултати, най-често се установяват недостатъчни нива на витамин D, докато тежкия дефицит се среща сравнително по-рядко. В нашето проучване при децата с бронхопневмония също се наблюдава висок дял на недостатъчност на витамин D, като над една трета от пациентите са с нива под 50 nmol/L, докато при контролната група по-често се установяват оптимални нива на витамин D. За разлика от арменското проучване, при нас не се установиха случаи на изразен дефицит при децата с бронхопневмония, което

вероятно се дължи на различия в използваните диагностични критерии, възрастовия състав на изследваните групи, сезонността и приложението на профилактичен прием на витамин D.

При децата с остър бронхит в нашето проучване също се наблюдава висок дял на недостатъчност и дефицит на витамин D, както и статистически значима разлика спрямо контролната група. Тези резултати предполагат, че недостатъчните нива на витамин D могат да бъдат свързани не само с инфекции на долните дихателни пътища като пневмонията, но и с по-широк спектър остри респираторни инфекции в детска възраст.

Като цяло, сравняването на резултатите между отделните проучвания остава затруднено поради липсата на унифицирани критерии за определяне на витамин D статуса, различията във възрастта на изследваните популации, сезонността на изследването и вариабилността в приложението на профилактичен прием на витамин D.

По отношение на наблюдаваната отрицателна корелация между 25(OH)D и PTH резултатите са в съответствие с известните физиологични механизми, при които витамин D участва в регулацията на калциево-фосфорната хомеостаза чрез потискане на секрецията на PTH. При по-ниски нива на витамин D се наблюдава компенсаторно повишаване на PTH, докато при достатъчни или високи нива на витамин D се отчита супресия на паратхормоновата секреция. Наличието на обратна зависимост между 25(OH) витамин D и PTH в нашето проучване съответства и на данни от литературата, които разглеждат PTH като индиректен функционален маркер за витамин D статуса. Въпреки това, наличната умерена сила на корелацията в нашите данни показва, че връзката не е линейна и може да бъде повлияна от редица фактори, включително възраст, допълнителен прием на витамин D и индивидуални особености на метаболизма.

Наличните литературни данни относно едновременното изследване на серумните нива на 25(OH)D и PTH при деца с остри респираторни инфекции са ограничени. В българската детска популация промените в серумните нива на PTH като критерий за достатъчност на витамин D са анализирани основно при деца с идиопатичен нефротичен синдром.

В подгрупата на децата с RSV бронхиолит в нашето проучване не се установи статистически значима разлика в средните серумни нива на 25(OH) витамин D при сравнение със здравите контроли. Въпреки това, анализът на витамин D статуса по

категории показва определени различия между двете групи. При децата с RSV инфекция се наблюдава по-висока честота на недостатъчност на витамин D и значително по-висок дял на хипервитаминоза, докато достатъчните нива на витамин D се срещат по-често при здравите деца. Честотата на дефицит на витамин D остава сходна между двете групи.

Установеното изместване на разпределението към по-високи стойности на 25(OH) витамин D при децата с RSV бронхиолит вероятно се обуславя от възрастовите характеристики на тази подгрупа. Пациентите с RSV бронхиолит са предимно кърмачета и малки деца, при които профилактичният прием на витамин D се прилага по-интензивно, особено през първата година от живота. Това вероятно обяснява високия дял на хипервитаминоза и липсата на статистически значима разлика в средните нива на 25(OH) витамин D спрямо контролната група.

Получените резултати са частично сходни с проучване, проведено в Ташкент през 2022 г., при което 51.28% от децата с остър бронхиолит са с достатъчни нива на витамин D (>75 nmol/L), 20.51% – с недостатъчност (52.5–72.5 nmol/L), а 28.2% – с дефицит (<50 nmol/L). Следва обаче да се отчете, че в цитираното проучване не са изследвани вирусните причинители в групата на пациентите, както и че използваните референтни стойности за витамин D статус се различават от приложените в нашето изследване. Сходни резултати по отношение на дела на децата с достатъчни нива на витамин D са съобщени и в проучване от Турция, при което 52.2% от пациентите с остър бронхиолит са с нормални стойности на 25(OH) витамин D (>50 nmol/L). В същото време авторите установяват по-висока честота на недостатъчност (29.7%) и дефицит (18%) на витамин D в сравнение с нашите резултати.

За разлика от нашите резултати, проучване в Китай от 2023 г. установява статистически значимо по-ниски серумни нива на 25(OH) витамин D при деца с RSV-асоциирани остри респираторни инфекции в сравнение със здравите контроли.

Интерес представлява установеното статистически значимо понижение на серумните нива на PTH при децата с RSV инфекция в сравнение със здравите контроли. Този резултат вероятно е свързан с по-високите серумни нива на 25(OH) витамин D и по-високия дял на хипервитаминоза в RSV групата, което може да доведе до супресия на паратхормоновата секреция. Наблюдаваните резултати са в съответствие с физиологичната обратна зависимост между 25(OH) витамин D и PTH, установена и в общата изследвана популация.

3. Резултати и обсъждане по задача 3

Да се определи серумната концентрация на проинфламаторните цитокини IL-1 β , IL-6 и TNF- α в хода на острите респираторни инфекции.

От проведения анализ се установи, че е налице статистически значимо различие между болни и здрави при TNF- α : $t = 2.023$, $df = 87.867$, $p = 0.046$.

Не се установи статистически значимо различие между болни и здрави при IL-1 β и IL-6. (табл.8)

Таблица 8. Сравнителен анализ на серумните нива на IL-1 β , IL-6 и TNF- α при болни и здрави деца (Mean $\pm$ SD; Me, IQR)

Показатели	Болни (n=99)	Здрави (n=30)	P-статистическа значимост (p-value)
IL-1 β (Mean $\pm$ SD; Me, IQR)	8.6 $\pm$ 4.055 9.1, 5.2	8.8 $\pm$ 3.520 8.40, 4.11	> 0.05
IL-6 (Mean $\pm$ SD; Me, IQR)	12.7 $\pm$ 21.038 4.5, 9.9	24.0 $\pm$ 46.251 6.2, 17.9	> 0.05
TNF- α (Mean $\pm$ SD; Me, IQR)	3.6 $\pm$ 3.174 2.0, 2.6	2.6 $\pm$ 1.773 2.0, 0.6	< 0.05

За установяване на статистически значими различия между отделните диагностични групи и контролната група беше приложен непараметричен тест на Kruskal–Wallis (табл.9).

Установи се статистически значимо различие между отделните групи по отношение на:

- IL-1 β : $W = 47.674$, $df = 3$, $N = 129$, $p = 0.000$;
- IL-6: $W = 14.489$, $df = 3$, $N = 129$, $p = 0.002$;
- TNF- α : $W = 46.928$, $df = 3$, $N = 129$, $p = 0.000$.

Таблица 9. Серумни нива на IL-1 β , IL-6 и TNF- α по диагностични групи (Mean $\pm$ SD; Me, IQR)

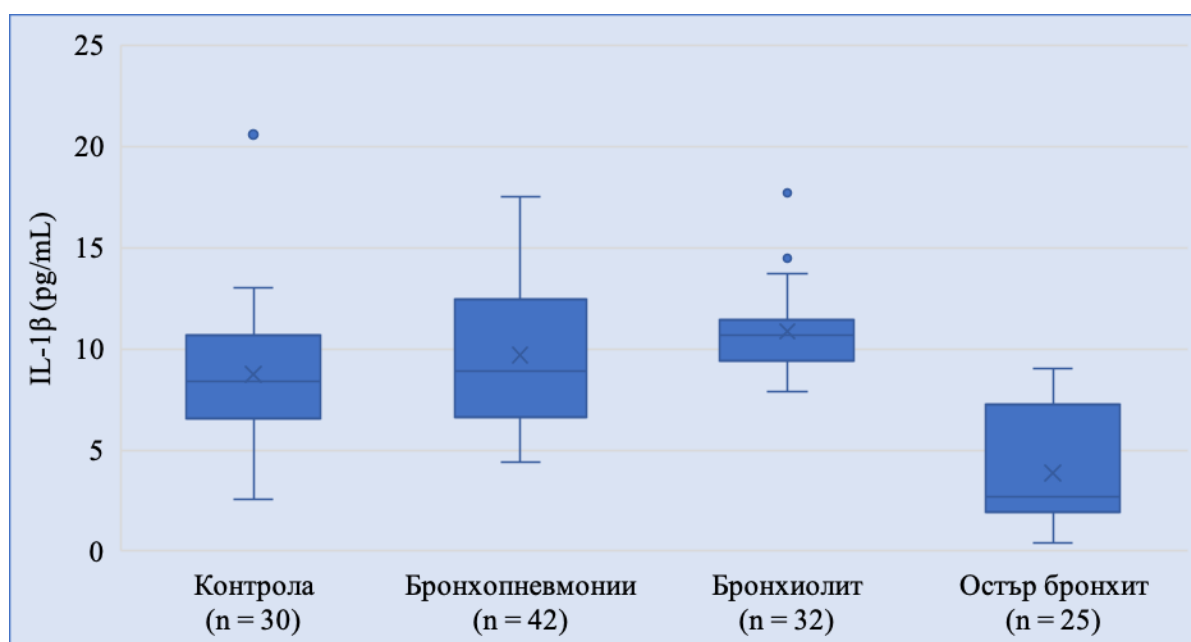
Клинични показатели	Контрола (n = 30)	Бронхиолит (n = 32)	Бронхопневмония (n = 42)	Остър бронхит (n = 25)	P-статистическа значимост (p-value)
IL-1 β , pg/mL	8.0 $\pm$ 2.796 8.2, 3.8	10.9 $\pm$ 1.985 10.7, 2.0	9.7 $\pm$ 3.651 8.9, 5.9	3.9 $\pm$ 2.649 2.7, 5.4	< 0.001
IL-6, pg/mL	25.9 $\pm$ 51.67	11.7 $\pm$ 16.142	5.7 $\pm$ 7.325	25.7 $\pm$ 33.418	

	5.0, 15.7	4.8, 9.3	4.2, 2.2	14.5, 17.8	
TNF-α, pg/mL	2.6 $\pm$ 1.556	1.5 $\pm$ 0.268	4.7 $\pm$ 4.037	4.2 $\pm$ 2.085	< 0.001
	2.0, 0.5	1.5, 0.4	2.3, 5.9	4.0, 4.1	

3.1. Сравнение на серумните нива на IL-1 β между диагностичните подгрупи и контролната група

При анализ с Mann–Whitney U тест (фиг. 12):

- не се установи разлика в серумните нива на IL-1 β между контрола и бронхопневмония ($p = 0.332$);
- установи се значимо по-високо ниво на IL-1 β в групата на децата с остър бронхиолит ($U = 251.000$, $p = 0.001$);
- установи се значимо по-ниско ниво при остър бронхит ($U = 95.000$, $p < 0.001$).



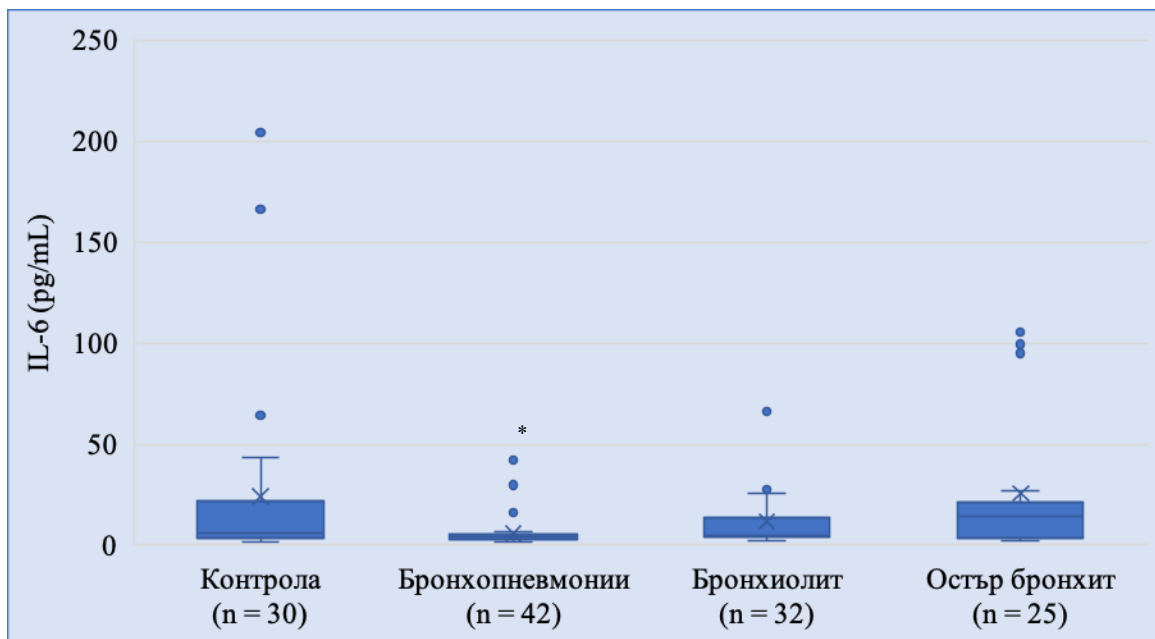
Фигура 12. Сравнение на серумните нива на IL-1 β между диагностичните групи (pg/mL)

3.2. Сравнение на серумните нива на IL-6 между диагностичните подгрупи и контролната група

При Mann–Whitney U тест (фиг.13):

- установи се разлика между контрола и бронхопневмония ($U = 428.000$, $z = -2.308$, $p = 0.021$);
- не се установиха значими разлики при бронхиолит ($U = 446.500$, $z = -0.472$, $p = 0.637$)

- не се установиха значими разлики и при остър бронхит ($U = 318.000$, $z = -0.964$, $p = 0.335$).

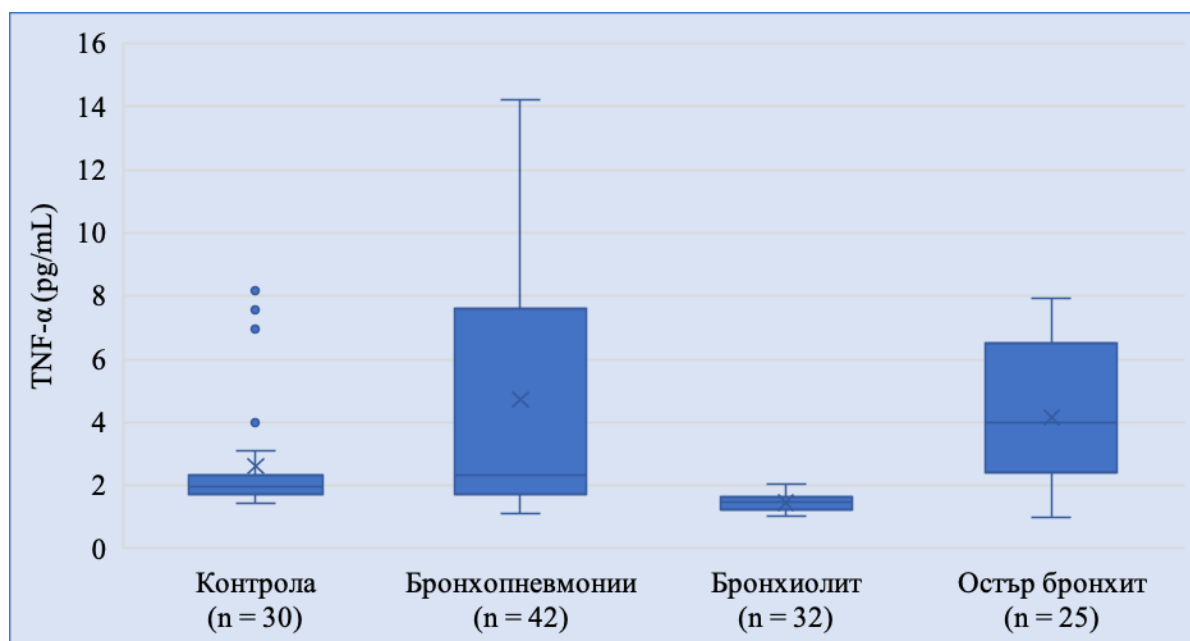


Фигура 13. Сравнение на серумните нива на IL-6 между диагностичните групи (pg/mL)

3.3. Сравнение на серумните нива на TNF- α между диагностичните подгрупи и контролната група

При провеждане на Mann–Whitney U тест (фиг. 14):

- не се установи разлика между контрола и бронхопневмония ($U = 480.000$, $z = -1.715$, $p = 0.086$);
- установи се значимо по-ниско ниво при бронхиолит ($U = 106.000$, $z = -5.281$, $p = 0.000$);
- установи се значимо по-високо ниво при остър бронхит ($U = 198.500$, $z = -2.989$, $p = 0.003$).



Фигура 14. Сравнение на серумните нива на TNF- α между диагностичните групи (pg/mL)

3.4. Анализ на серумната концентрация на проинфламаторните цитокини IL-1 β , IL-6 и TNF- α в подгрупата деца с RSV инфекция

От проведеня анализ се установи наличие на статистически значими различия между болни и здрави деца по отношение на:

- IL-1 β ($U = 121.000$, $N = 44$, $z = -2.807$, $p = 0.005$);
- TNF- α ($U = 409.500$, $N = 44$, $z = 4.007$, $p < 0.001$).

Не се установи статистически значимо различие между двете групи по отношение на IL-6 ($U = 278.500$, $N = 44$, $z = 0.908$, $p = 0.364$) (табл. 10).

По-високи стойности на IL-1 β се наблюдават при децата с RSV инфекция в сравнение със здравите контроли, докато нивата на TNF- α са по-ниски при болните деца. Нивата на IL-6 не показват съществена разлика между двете групи.

Таблица 10. Сравнителен анализ на серумните нива на IL-1 β , IL-6 и TNF- α при деца с RSV инфекция и здрави контроли (Mean $\pm$ SD; Me, IQR)

Показатели	Общо (n=44)	Здрави (n=24)	Болни (n=20)	P-статистическа значимост (p-value)
IL-1 β , pg/mL (Mean $\pm$ SD; Me, IQR)	9.9 $\pm$ 2.994 10.2, 3.2	9.0 $\pm$ 3.543 8.4, 3.9	11.0 $\pm$ 1.712 10.7, 1.7	< 0.01

IL-6 , pg/mL (<i>Mean ± SD; Me, IQR</i>)	13.5 ± 25.403 5.1, 12.3	18.2 ± 33.230 7.7, 17.2	7.9 ± 7.859 4.3, 1.8	> 0.05
TNF-α , pg/mL (<i>Mean ± SD; Me, IQR</i>)	2.1 ± 1.555 1.7, 0.6	2.7 ± 1.942 1.9, 0.6	1.5 ± 0.285 1.5, 0.4	< 0.001

Обсъждане:

От проведенения анализ на серумните концентрации на проинфламаторните цитокини IL-1β, IL-6 и TNF-α се установи наличие на различия в цитокиновия профил между децата с остри респираторни инфекции и здравите контроли. При сравнение между общата група болни деца и контролната група статистически значимо различие се установи единствено по отношение на TNF-α, чиито серумни нива бяха по-високи при децата с остри респираторни инфекции. По отношение на IL-1β и IL-6 не се установиха статистически значими различия между болни и здрави деца.

При анализа на отделните диагностични подгрупи се установиха статистически значими различия и за трите изследвани цитокина. Най-високи серумни нива на IL-1β се наблюдаваха при децата с остър бронхиолит, докато при пациентите с остър бронхит нивата бяха значително по-ниски в сравнение с контролната група. При децата с бронхопневмония не се установи статистически значима разлика в серумните нива на IL-1β спрямо здравите контроли.

По отношение на IL-6 статистически значима разлика се установи единствено между децата с бронхопневмония и контролната група. При бронхиолит и остър бронхит не се наблюдаваха значими различия в серумните нива на IL-6 спрямо здравите деца.

Анализът на TNF-α показва различен модел на разпределение между отделните диагностични групи. При децата с остър бронхит се установиха значително по-високи серумни нива на TNF-α в сравнение с контролната група, докато при децата с бронхиолит нивата бяха значително по-ниски. При бронхопневмония не се установи статистически значима разлика спрямо здравите контроли.

В подгрупата на децата с RSV инфекция се установиха статистически значими различия по отношение на IL-1β и TNF-α. Децата с RSV бронхиолит показаха по-високи серумни нива на IL-1β и по-ниски стойности на TNF-α в сравнение със здравите контроли. Не се установи статистически значима разлика по отношение на IL-6 между двете групи. Получените резултати показват наличие на различен проинфламаторен цитокинов профил при отделните форми на остри респираторни инфекции в детска възраст.

Ролята на проинфламаторните цитокини при бронхопулмоналните заболявания в детска възраст се описва в обзорна статия от Узбекистан, разглеждаща патогенетичната роля на микроциркулаторните нарушения при бронхиолит, бронхит и пневмония. Авторите подчертават значението на IL-1 β , IL-6 и TNF- α за развитието на ендотелна дисфункция, повишена съдова пропускливост и нарушения в микроциркулацията при остри респираторни инфекции. Според тях тези възпалителни медиатори участват в активирането на ендотела, повишаване експресията на адхезионни молекули и развитието на микротромбози, които могат да допринесат за по-тежко протичане на бронхопулмоналните заболявания.

По отношение на децата с остър бронхиолит, нашите резултати частично съответстват на данните от проучване на Cortegano и колектив, изследващо нивата на проинфламаторни цитокини в назална промивна течност (nasal lavage fluid, NLF) при деца с леки до умерени форми на бронхиолит, които не изискват хоспитализация. Въпреки съществените различия в дизайна на двете проучвания – както по отношение на използваната методика (локално определяне на цитокини в назална промивна течност спрямо серумно изследване в нашето проучване), така и по отношение на клиничната характеристика на пациентите – резултатите представляват интерес. Авторите установяват повишени нива на IL-1 β , IL-6 и TNF- α при децата с бронхиолит в сравнение със здравите контроли. Същевременно при пациентите с RSV бронхиолит се наблюдават по-ниски нива на IL-1 β и IL-6 в сравнение с децата, при които бронхиолитът е причинен от други вирусни причинители. Както беше посочено, в нашето проучване при сравнение на нивата на проинфламаторните цитокини при децата с остър бронхиолит спрямо контролната група се установиха по-високи серумни нива на IL-1 β , по-ниски нива на TNF- α и липса на статистически значими различия в серумните нива на IL-6. В подгрупата на децата с RSV бронхиолит също се наблюдаваха по-високи серумни нива на IL-1 β и по-ниски стойности на TNF- α в сравнение със здравите контроли. Съвременните литературни данни показват, че IL-6 се разглежда като потенциален прогностичен маркер при RSV инфекции. Обзорна статия на Vázquez и колектив, обобщаваща актуалните данни относно ролята на цитокините при RSV инфекция, посочва, че повишените нива на IL-6 са свързани с по-тежко клинично протичане и по-неблагоприятна прогноза при RSV бронхиолит. В цитирания обзор са представени данни от няколко проучвания, според които високите нива на IL-6 при деца с RSV инфекция корелират с по-изразена клинична симптоматика, по-висок риск от

хоспитализация, необходимост от кислородотерапия и по-тежко протичане на бронхиолита.

Липсата на статистически значими различия в серумните нива на IL-6 при децата с бронхиолит и RSV бронхиолит в нашето проучване вероятно се обуславя от преобладаващо умерената тежест на клиничното протичане в изследваната група (60–66%), както и от сравнително ниския дял на пациенти с тежък бронхиолит (10–13%)

По отношение на групата на децата с бронхопневмония в нашето проучване се установиха статистически значимо по-ниски серумни нива на IL-6 в сравнение с контролната група, докато нивата на IL-1 β и TNF- α не показаха статистически значима разлика. Данните от литературата показват, че тежестта на пневмонията е свързана с нивата и профила на циркулиращите цитокини. Проспективно проучване, включващо 1886 пациенти с пневмония, показва, че високите серумни концентрации на IL-6 са свързани с по-тежко протичане и по-висок риск от летален изход. Сходни резултати съобщават и при деца с тежка пневмония, изискваща механична вентилация, където се установяват значително по-високи серумни нива на IL-6 при пациентите в сравнение със здравите контроли, докато за TNF- α не се наблюдават статистически значими различия.

В нашето проучване всички деца с бронхопневмония бяха с умерена тежест на клиничното протичане, което вероятно обяснява по-ниските нива на IL-6 спрямо контролната група и липсата на статистически значими различия при TNF- α . Това се подкрепя и от систематичен обзор и метаанализ, който показва, че повишените нива на IL-6 са характерни предимно за тежките форми на придобита в обществото пневмония при деца и могат да бъдат потенциален маркер за тежестта на заболяването.

По отношение на острия бронхит данните в литературата, разглеждащи цитокиновия профил в педиатричната популация, са ограничени. Данни за участието на проинфламаторните цитокини при остър бронхит в детска възраст съобщават Yusupova и Alieva, които изследват серумните нива на IL-1 β , IL-6 и TNF- α при деца с остри бронхопулмонални заболявания. Авторите установяват повишени нива на IL-1 β , IL-6 и TNF- α при децата с остър бронхит в сравнение със здравите контроли, като цитокиновият отговор е по-изразен при пневмония и при по-тежките форми на заболяването.

За разлика от данните в цитираното проучване, в нашето изследване при децата с остър бронхит се наблюдава статистически значимо повишение единствено на TNF- α , докато нивата на IL-1 β са по-ниски, а при IL-6 не се установяват статистически значими

различия спрямо контролната група. Тези различия вероятно се дължат на особеностите на изследваните популации, възрастовия състав на пациентите, както и на тежестта на клиничното протичане. В нашето проучване децата с остър бронхит бяха предимно с леко клинично протичане на инфекцията, което вероятно обяснява липсата на изразен системен проинфламаторен отговор. Това е в съответствие с литературните данни, според които серумните нива на проинфламаторните цитокини корелират с тежестта на инфекциозния процес и са по-високи при по-тежките форми на остри респираторни заболявания.

4. Резултати и обсъждане по задача 4

Да се проучи връзката между витамин D статуса, нивата на проинфламаторните цитокини и клиничното протичане на остриите инфекции на дихателните пътища при деца.

4.1. Корелационен анализ за оценка на връзката между серумните нива на 25(OH) витамин D и проинфламаторните цитокини

Проведе се корелационен анализ (Spearman) за оценка на връзката между серумните нива на 25(OH) витамин D и проинфламаторните цитокини, както в общата изследвана популация, така и в отделните диагностични подгрупи.

Общият корелационен анализ показва наличие на статистически значими връзки между (табл.11):

- 25OHD и IL-1 β ($r_s=0.211$, $N=129$, $p=0.016$);
- 25OHD и TNF- α ($r_s= -0.360$, $N=129$, $p=0.000$).

Не се установи статистически значима връзка между 25OHD и IL-6 ($r_s= -0.014$, $N=129$, $p=0.879$).

Връзката между 25(OH) витамин D и IL-1 β е положителна, което означава, че с повишаване на нивата на витамин D се наблюдава тенденция към повишаване на IL-1 β . От друга страна, връзката между 25(OH) витамин D и TNF- α е отрицателна, т.е. при по-високи стойности на витамин D се наблюдават по-ниски стойности на TNF- α .

Таблица 11. Корелация между серумните нива на 25(OH) витамин D, IL-1 β , IL-6 и TNF- α в изследваната популация (Spearman r_s)

		25OHD	IL-1 β	IL-6	TNF- α
25OHD	Correlation Coefficient (r_s)	1,000	<u>,211*</u>	-,014	<u>-,360**</u>
	Sig. (2-tailed)	.	,016	,879	,000
	N (брой пациенти)	129	129	129	129
IL-1 β	Correlation Coefficient (r_s)	<u>,211*</u>	1,000	<u>-,221*</u>	-,131
	Sig. (2-tailed)	,016	.	,012	,139
	N (брой пациенти)	129	129	129	129
IL-6	Correlation Coefficient (r_s)	-,014	<u>-,221*</u>	1,000	<u>,344**</u>
	Sig. (2-tailed)	,879	,012	.	,000
	N (брой пациенти)	129	129	129	129
TNF- α	Correlation Coefficient (r_s)	<u>-,360**</u>	-,131	<u>,344**</u>	1,000
	Sig. (2-tailed)	,000	,139	,000	.
	N (брой пациенти)	129	129	129	129

* $p < 0.05$
** $p < 0.01$

Оценката на корелационните зависимости по 5-степенна скала (табл.12) показва:

- слаба корелация между 25OHD и IL-1 β ;
- умерена корелация между 25OHD и TNF- α .

Таблица 12. 5-степенна скала за оценка на корелация

Степени на корелация	Стойност на r
слаба	до 0,3
умерена	от 0,31 до 0,5
значителна	от 0,51 до 0,7
голяма	от 0,71 до 0,9
изключително голяма	над 0,9

Корелационният анализ в отделните диагностични групи установи (табл. 13):

- Бронхопневмония (n = 42)
 - статистически значима положителна корелация между TNF- α и IL-1 β ($r_s = 0.523$, $p < 0.001$) – значителна зависимост;
 - статистически значима положителна корелация между TNF- α и IL-6 ($r_s = 0.409$, $p = 0.007$) – умерена зависимост.
- Остър бронхит (n = 25)
 - TNF- α и IL-1 β – отрицателна значителна корелация ($r_s = -0.606$, $p = 0.001$);
 - TNF- α и IL-6 – положителна значителна корелация ($r_s = 0.633$, $p = 0.001$);
 - IL-6 и IL-1 β – отрицателна значителна корелация ($r_s = -0.645$, $p = 0.001$).
- Контролна група (n = 30)
 - TNF- α и IL-6 – положителна умерена корелация ($r_s = 0.389$, $p = 0.034$).
- В нито една от диагностичните групи не се установи статистически значима корелация между 25(OH) витамин D и проинфламаторните цитокини. Не се установиха статистически значими корелации и при пациентите с остър бронхиолит.

Таблица 13. Корелации между 25(OH) витамин D, IL-1 β , IL-6 и TNF- α в отделните диагностични групи (Spearman r_s)

Диагноза		25OHD	IL-1-b	IL-6
Бронхиолит (n = 32)	IL-1-b	0,147		
	IL-6	- 0,182	0,100	
	TNF-a	- 0,167	0,225	0,287
Бронхопневмонии	IL-1-b	- 0,091		

(n = 42)	IL-6	- 0,215	0,149	
	TNF-a	- 0,203	0,523***	0,409**
Остър бронхит (n = 25)	IL-1-b	0,095		
	IL-6	- 0,237	- 0,645**	
	TNF-a	0,000	- 0,606**	0,633**
Контрола (n = 30)	IL-1-b	0,095		
	IL-6	0,288	- 0,332	
	TNF-a	- 0,119	0,090	0,389*
* $p < 0.05$				
** $p < 0.01$				
*** $p < 0.001$				

4.2. Корелационен анализ за оценка на връзката между серумните нива на 25(OH) витамин D, проинфламаторните цитокини и тежестта на клиничното протичане на инфекциите

Поради наличие на вариабилност в тежестта на клиничното протичане единствено при пациентите с остър бронхиолит, корелационен анализ между тежестта на заболяването, серумните нива на 25(OH) витамин D и проинфламаторните цитокини беше извършен само в тази група. При пациентите с бронхопневмония и остър бронхит тежестта на протичане беше еднородна — съответно умерена при бронхопневмония и лека при остър бронхит — поради което аналогичен корелационен анализ не беше приложим.

При пациентите с остър бронхиолит не се установи статистически значима корелация между тежестта на клиничното протичане и нивата на 25(OH) витамин D, IL-1 β , IL-6, TNF- α и CRP. Въпреки това, се установи статистически значима положителна корелация между нивата на IL-6 и CRP ($r_s = 0.487$, $p = 0.005$), което показва съгласувана активация на възпалителния отговор при тези пациенти. Останалите корелации между изследваните показатели не достигнаха статистическа значимост. (табл. 14).

Таблица 14. Корелационен анализ за оценка на връзката между серумните нива на 25(OH) витамин D, проинфламаторните цитокини и тежестта на клинично протичане на острия бронхиолит

		Тежест	25OHD	IL-1-b	IL-6	TNF-a	CRP
Тежест на клинично протичане	Correlation Coefficient	1,000	-,053	,271	,143	,149	,179
	Sig. (2-tailed)	.	,773	,134	,435	,417	,335
	N	32	32	32	32	32	31
25OHD	Correlation Coefficient	-,053	1,000	,147	-,182	-,167	-,313
	Sig. (2-tailed)	,773	.	,423	,318	,362	,087
	N	32	32	32	32	32	31
IL-1-b	Correlation Coefficient	,271	,147	1,000	,100	,225	-,032
	Sig. (2-tailed)	,134	,423	.	,588	,216	,864
	N	32	32	32	32	32	31
IL-6	Correlation Coefficient	,143	-,182	,100	1,000	,287	0,487**
	Sig. (2-tailed)	,435	,318	,588	.	,111	0,005
	N	32	32	32	32	32	31
TNF-a	Correlation Coefficient	,149	-,167	,225	,287	1,000	,099
	Sig. (2-tailed)	,417	,362	,216	,111	.	,597
	N	32	32	32	32	32	31
CRP	Correlation Coefficient	,179	-,313	-,032	0,487**	,099	1,000
	Sig. (2-tailed)	,335	,087	,864	0,005	,597	.
	N	32	32	32	32	32	32
** p<0.01 level							

4.3. Анализ на подгрупата деца с RSV инфекция

Общият корелационен анализ показва наличие на статистически значими връзки между (табл.15:)

- 25(OH)D и IL-1 β - положителна умерена корелация ($r_s = 0.329$, $p = 0.029$);
- 25(OH)D и TNF- α - отрицателна умерена корелация ($r_s = -0.326$, $p = 0.031$);
- IL-6 и TNF- α - положителна умерена корелация ($r_s = 0.466$, $p = 0.001$).

Таблица 15. Корелационни връзки между 25OHD, IL-1 β , IL-6 и TNF- α при пациенти с RSV и контролната група (n=44)

		CRP	25OHD	IL-1 β	IL-6	TNF- α
CRP	Correlation Coefficient	1,000	-,158	,181	-,170	-,130
	Sig. (2-tailed)	.	,306	,240	,271	,399
	N	44	44	44	44	44
25OHD	Correlation Coefficient	-,158	1,000	,329*	-,056	-,326*
	Sig. (2-tailed)	,306	.	0,029	,719	0,031
	N	44	44	44	44	44
IL-1 β	Correlation Coefficient	,181	,329*	1,000	-,053	-,072
	Sig. (2-tailed)	,240	0,029	.	,732	,644
	N	44	44	44	44	44

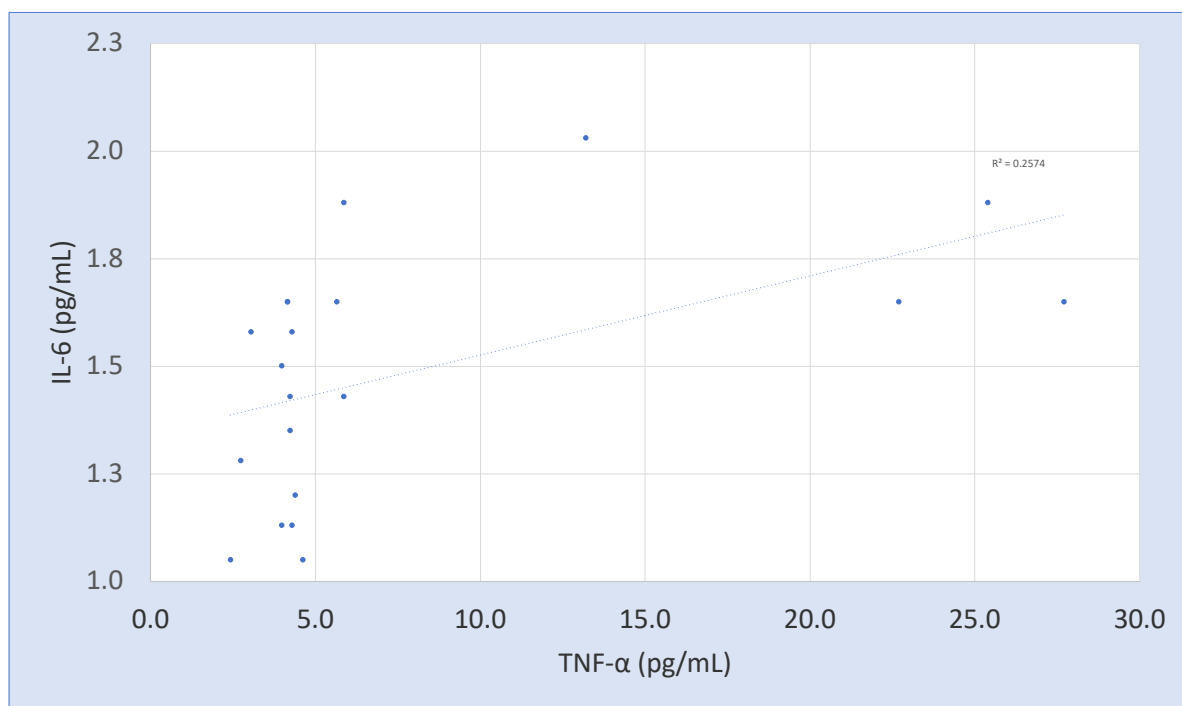
IL-6	Correlation Coefficient	-,170	-,056	-,053	1,000	,466**
	Sig. (2-tailed)	,271	,719	,732	.	,001
	N	44	44	44	44	44
TNF-α	Correlation Coefficient	-,130	-,326*	-,072	,466**	1,000
	Sig. (2-tailed)	,399	,031	,644	,001	.
	N	44	44	44	44	44
* $p < 0.05$ level						
** $p < 0.01$ level						

При корелационен анализ само при децата с RSV инфекция се установи:

- статистически значима положителна корелация между IL-6 и TNF- α ($r_s = 0.544$, $p = 0.013$), със значителна сила на зависимостта;
- Останалите корелации не достигнаха статистическа значимост. (табл. 16, фиг. 15)

Таблица 16. Корелационни връзки между 25OHD, IL-1 β , IL-6 и TNF- α при пациенти с RSV

		25OHD	IL-1 β	IL-6	TNF- α
25OHD	Spearman's rho	1,000	,148	-,384	-,235
	Sig. (2-tailed)	.	,533	,094	,318
	N	20	20	20	20
IL-1 β	Spearman's rho	,148	1,000	,180	,403
	Sig. (2-tailed)	,533	.	,447	,078
	N	20	20	20	20
IL-6	Spearman's rho	-,384	,180	1,000	0,544*
	Sig. (2-tailed)	,094	,447	.	,013
	N	20	20	20	20
TNF- α	Spearman's rho	-,235	,403	0,544*	1,000
	Sig. (2-tailed)	,318	,078	,013	.
	N	20	20	20	20
* $p < 0.05$ level					



Фигура 15. Диаграма на разсейване на връзката между IL-6 и TNF- α при пациенти с RSV

При пациентите с RSV бронхиолит не се установи статистически значима корелация между тежестта на клиничното протичане и серумните нива на 25(OH) витамин D, IL-1 β , IL-6, TNF- α и CRP (табл. 17). Всички наблюдавани корелационни зависимости са слаби и не достигат статистическа значимост ($p > 0.05$). Не установихме връзка между тежестта и тези маркери, вероятно поради малкия брой пациенти и комплексния характер на заболяването.

Таблица 17. Корелационен анализ за оценка на връзката между серумните нива на 25(OH) витамин D, проинфламаторните цитокини, CRP и тежестта на клинично протичане на острия RSV бронхиолит.

		Тежест	25OHD	IL-1 β	IL-6	TNF- α	CRP
тежест на протичане	Correlation Coefficient	1.000	0.136	0.264	0.146	0.149	-0.107
	Sig. (2-tailed) (p-value)	.	0.566	0.261	0.538	0.530	0.653
	N	20	20	20	20	20	20

Обсъждане:

В изпълнение на задача 4 беше проведен корелационен анализ за оценка на връзката между серумните нива на 25(OH) витамин D, проинфламаторните цитокини и клиничното протичане на острите респираторни инфекции при децата.

При анализа на общата изследвана популация се установиха статистически значими зависимости между серумните нива на 25(OH) витамин D и част от изследваните проинфламаторни цитокини. Установена беше слаба положителна корелация между 25(OH) витамин D и IL-1 β , което показва тенденция към повишаване на IL-1 β при по-високи стойности на витамин D. Наред с това се установи умерена отрицателна корелация между 25(OH) витамин D и TNF- α , при която по-високите нива на витамин D се асоциират с по-ниски стойности на TNF- α . Не се установи статистически значима връзка между серумните нива на 25(OH) витамин D и IL-6.

В нито една от диагностичните подгрупи не беше доказана статистически значима връзка между 25(OH) витамин D и изследваните проинфламаторни цитокини. При анализа на отделните диагностични групи обаче се установиха различни модели на взаимовръзки между самите проинфламаторни цитокини. При децата с бронхопневмония се наблюдаваха статистически значими положителни корелации между TNF- α и IL-1 β , както и между TNF- α и IL-6, което показва синхронизирана активация на възпалителния отговор при тази група пациенти. При пациентите с остър бронхит се установиха статистически значими корелационни зависимости между всички изследвани проинфламаторни цитокини. Наблюдаваха се отрицателни корелации между TNF- α и IL-1 β , както и между IL-6 и IL-1 β , докато между TNF- α и IL-6 се установи положителна значителна корелация. В контролната група беше установена единствено положителна умерена корелация между TNF- α и IL-6. При пациентите с остър бронхиолит не се установиха статистически значими корелации между отделните проинфламаторни цитокини.

Поради наличието на вариабилност в тежестта на клиничното протичане единствено при пациентите с остър бронхиолит, анализът на връзката между тежестта на заболяването, серумните нива на 25(OH) витамин D и проинфламаторните цитокини беше проведен само в тази група. При пациентите с бронхопневмония и остър бронхит тежестта на протичане беше еднородна — съответно умерена при бронхопневмония и лека при остър бронхит — поради което аналогичен корелационен анализ не беше приложим.

При пациентите с остър бронхиолит не се установи статистически значима корелация между тежестта на клиничното протичане и нивата на 25(OH) витамин D, IL-1 β , IL-6,

TNF- α и CRP. Установена беше единствено статистически значима положителна корелация между IL-6 и CRP, което показва съгласувана активация на възпалителния отговор при децата с остър бронхиолит. Останалите корелации между изследваните показатели не достигнаха статистическа значимост.

В подгрупата на децата с RSV инфекция общият корелационен анализ показва наличие на статистически значими връзки между 25(OH) витамин D и част от изследваните проинфламаторни цитокини. Установи се положителна умерена корелация между 25(OH) витамин D и IL-1 β , както и отрицателна умерена корелация между 25(OH) витамин D и TNF- α . Освен това беше установена положителна умерена корелация между IL-6 и TNF- α . При корелационния анализ само в групата на децата с RSV инфекция се установи статистически значима положителна корелация между IL-6 и TNF- α със значителна сила на зависимостта. Останалите корелационни зависимости не достигнаха статистическа значимост.

Подобно на резултатите при общата група с бронхиолит, и при пациентите с RSV бронхиолит не се установи статистически значима връзка между тежестта на клиничното протичане и серумните нива на 25(OH) витамин D, IL-1 β , IL-6, TNF- α и CRP. Всички наблюдавани корелационни зависимости бяха слаби и не достигнаха статистическа значимост. Не се установи връзка между тежестта на клиничното протичане и изследваните лабораторни маркери, което вероятно се дължи на ограничения брой пациенти и комплексния характер на заболяването. Резултатите показват, че при RSV инфекция възпалителният отговор се характеризира с координирана активация на проинфламаторните цитокини, без наличие на пряка зависимост от серумните нива на витамин D или от тежестта на клиничното протичане.

Получените резултати показват, че въпреки наличието на връзка между витамин D и част от проинфламаторните цитокини в общата изследвана популация, тези зависимости не се запазват при анализ на отделните диагностични групи. За разлика от това, между самите проинфламаторни цитокини се установяват по-силни и специфични зависимости, което предполага, че възпалителният отговор е по-тясно свързан с патофизиологичните особености на отделните заболявания, отколкото със серумните нива на витамин D.

Наличието на статистически значими корелации между 25(OH) витамин D и част от проинфламаторните цитокини в общата изследвана популация, при липса на такива в отделните диагностични групи, вероятно се дължи на по-голямата вариабилност на данните в комбинираната извадка, включваща деца с остри респираторни инфекции и

зdravi контроли. Обединяването на хетерогенни групи пациенти с различни възрастови характеристики, клинични диагнози и имунен отговор води до по-широк диапазон на стойностите и увеличава вероятността за установяване на статистически значими зависимости. От друга страна, анализът в рамките на отделните подгрупи се характеризира с по-малък брой пациенти и по-хомогенен клиничен профил, което ограничава статистическата мощност и вероятността за установяване на значими корелации. Допълнително, различията в патофизиологичните механизми между отделните заболявания могат да обуславят липсата на универсална връзка между витамин D и възпалителните маркери.

Проучванията, разглеждащи връзката между витамин D статуса и проинфламаторните цитокини при деца с остри респираторни инфекции са ограничени. В литературата преобладават изследванията, анализиращи ефекта на допълнителния прием на витамин D върху имунния отговор при здрави деца. Рандомизирано контролирано проучване, проведено при здрави деца на възраст 4–11 години, изследва ефекта на допълнителния прием на витамин D върху витамин D статуса и свързаните с него здравни показатели. Авторите анализират и редица възпалителни маркери, включително TNF- α , IL-1 β и IL-6, с цел оценка на потенциалното влияние на витамин D върху вродения и придобития имунен отговор. Децата са категоризирани с недостатъчност на витамин D при серумни нива ≤ 50 nmol/L и достатъчност при ≥ 50 nmol/L. След проведения допълнителен прием не са установени деца с витамин D дефицит, а при участниците с достатъчни изходни нива на витамин D се наблюдават по-високи стойности на TNF- α в групата, получавала витамин D, в сравнение с плацебо групата. Авторите предполагат, че това може да отразява поддържането на по-балансиран Th1/Th2 имунен профил при по-добър витамин D статус. Въпреки това те подчертават, че данните относно влиянието на витамин D върху проинфламаторните цитокини при деца остават противоречиви, особено по отношение на IL-6. Сходни резултати се съобщават и в проучване при здрави малки деца, живеещи на 45.5° северна географска ширина. Авторите установяват, че при деца със серумни нива на 25(OH) витамин D над 75 nmol/L се наблюдават значително по-високи циркулиращи концентрации на IL-6 и TNF- α . Авторите обсъждат, че серумни нива на 25(OH) витамин D над 75 nmol/L вероятно имат роля за поддържането на балансиран имунен отговор.

От друга страна, Nauger и колектив установяват, че зимния профилактичен прием на витамин D3 в доза 10 µg/ден, поддържаща серумни нива около 60 nmol/L, не води до съществени промени в маркерите на вродения имунен отговор, включително IL-6, при здрави деца, живеещи в северни географски ширини.

Получените в нашето проучване резултати са в съответствие с тази хетерогенност в литературните данни. В общата изследвана популация се установи умерена отрицателна корелация между 25(OH) витамин D и TNF-α, което подкрепя известните имуномодулиращи свойства на витамин D и способността му да потиска синтеза на част от проинфламаторните цитокини. В същото време не беше установена статистически значима връзка между 25(OH) витамин D и IL-6, а положителната корелация с IL-1β беше слаба. Липсата на устойчиви зависимости между витамин D и отделните цитокини в диагностичните подгрупи вероятно се дължи както на ограничения брой пациенти, така и на сложния и мултифакторен характер на възпалителния отговор при острите респираторни инфекции.

Подобни изводи са представени и в систематичен обзор и метаанализ, оценяващ ефекта на допълнителния прием на витамин D върху имунния отговор при респираторни инфекции и възпалителни състояния. Авторите установяват статистически значимо понижение на CRP след допълнителен прием на витамин D, но не доказват значим ефект върху нивата на IL-6.

По отношение на липсата на корелация между тежестта на клиничното протичане на острия бронхиолит и нивата на 25(OH) витамин D, IL-1β, IL-6, TNF-α и CRP, получените резултати съответстват на част от литературните данни. Подобно на нашето проучване, Golan-Tripto и колектив, както и Mittal и колектив, не установяват статистически значима връзка между серумните нива на витамин D и тежестта на клиничното протичане при деца с остър бронхиолит.

Като цяло наличните литературни данни и резултатите от нашето проучване показват, че връзката между витамин D статуса и проинфламаторните цитокини в детска възраст е сложна и нееднозначна. Вероятно върху тези зависимости влияние оказват множество фактори, включително възрастта на пациентите, тежестта и етиологията на инфекцията, сезонността, степента на витамин D недостатъчност и особеностите на индивидуалния имунен отговор.

V. ИЗВОДИ

1. При децата с остри респираторни инфекции се наблюдават различия във витамин D статуса, като по-ниските нива на 25(OH) витамин D са по-чести при остър бронхит и бронхопневмония.
2. Острите респираторни инфекции в детска възраст са свързани с промени в проинфламаторния цитокинов профил, като отделните клинични форми, включително RSV бронхиолитът, показват различни особености на имунния отговор.
3. Установените зависимости между серумните нива на 25(OH) витамин D и проинфламаторните цитокини потвърждават участието на витамин D в регулацията на възпалителния имунен отговор в детска възраст.
4. Не се установява връзка между серумните нива на 25(OH) витамин D, проинфламаторните цитокини и тежестта на клиничното протичане на острите респираторни инфекции, което не подкрепя необходимостта от рутинен прием на витамин D с цел повлияване на възпалителния отговор или тежестта на заболяването и потвърждава комплексния и многофакторен характер на взаимодействието между витамин D статуса, имунния отговор и клиничната изява на заболяването.

VI. ПРИНОСИ

Приноси, иновативни за България:

1. Извършено е комплексно изследване на серумните нива на 25(ОН) витамин D, паратхормон (PTH) и проинфламаторните цитокини IL-1 β , IL-6 и TNF- α при деца с остри респираторни инфекции и здрави контроли.
2. Установени са особености във витамин D статуса и цитокиновия профил при различни клинични форми на острите респираторни инфекции в детска възраст.
3. Анализирани са взаимовръзките между серумните нива на 25(ОН) витамин D и проинфламаторните цитокини IL-1 β , IL-6 и TNF- α при деца с остри респираторни инфекции.

Приноси с научно-теоретичен характер:

1. Разширени са съществуващите знания относно връзката между витамин D статуса и възпалителния отговор при остри респираторни инфекции в детска възраст.
2. Получените резултати могат да послужат като основа за бъдещи клинични, епидемиологични и интервенционни проучвания, насочени към изясняване на ролята на витамин D във възпалителния отговор и клиничното протичане на острите респираторни инфекции в детска възраст.

VII. ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1.

1.1. Списък на научните публикации във връзка с дисертацията

1. Stoykova G., Shentov B. (2023) Study on 25 (OH) D status in hospitalized children with acute respiratory infections – preliminary results. Journal of biomedical and clinical research. 16(2); 131-135. <https://doi.org/10.2478/jbcr-2023-0017>
2. Petkova GS, Mineva EN, Petkova MP. Study on correlation between Vitamin D status and proinflammatory cytokines in children with RSV bronchiolitis. World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences. 2024;20(2):321–9. <https://doi.org/10.30574/wjbphs.2024.20.2.0882>
3. Petkova, G. S., Mineva, E. N., & Botsova, V. T. (2024). Clinical Study of Vitamin D Levels in Hospitalized Children with Acute Respiratory Infections. Pediatric Reports, 16(4), 1034-1041. <https://doi.org/10.3390/pediatric16040088>

1.2. Списък на участия в научни конференции във връзка с дисертацията

1. Постер на тема – „Дефицит на витамин Д при деца с остри респираторни инфекции.“ - Стойкова Г, Шентов Б., Боцова В., представен на XV Национален Конгрес по педиатрия с международно участие, 23-26 Септември 2021, Боровец, България
2. Постер на тема „Предварителни резултати от клинично проучване на нивата на витамин Д при хоспитализирани деца с остри респираторни инфекции.“ - Стойкова Г., Боцова В., Шентов Б., представен на VIII-ма Великотърновска национална научно-педиатрична конференция “От симптома към диагнозата - клинични случаи”, 9-11.06.2023г., Арбанаси
3. Постер на тема „Предварителни резултати от клинично проучване на нивата на витамин Д при хоспитализирани деца с остри респираторни инфекции“- Стойкова Г., Боцова В., Шентов Б., представен на XXV-та Юбилейна Национална конференция за педиатри и ОПЛ с международно участие, 23-26 май 2024, хотел „Маджестик“, к.к. Слънчев бряг

4. Постер на тема „Предварителни резултати от клинично проучване на нивата на витамин Д при хоспитализирани деца с остри респираторни инфекции“- Стойкова Г., Боцова В., Шентов Б., представен на IX-та Великотърновска национална научно-педиатрична конференция „От симптома към диагнозата – клинични случаи”, 31 май-02 юни 2024, Арбанаси

5. Постер на тема „Резултати от клинично проучване на нивата на вит. Д при хоспитализирани деца с остри респираторни инфекции“ - Стойкова Г., Боцова В., Шентов Б., представен на Юбилейна Научна Конференция „50 години Медицински Университет-Плевен“, 1-3 ноември 2024, Плевен

1.3 Участие в научни проекти

1. Участие в научноизследователски проект №8 от 2021г. на тема „Оценка на витамин Д статуса при деца с остри респираторни инфекции.“ с водещ изследовател доц. Д-р П. Лалева, д.м. Базово звено за изпълнение: Клиника по педиатрия УМБАЛ „Д-р Г. Странски“, гр. Плевен.

2. Участие в научноизследователски проект № 21 от 2022г. на тема: „Имунологични аспекти на дефицита на Витамин D при деца с остри респираторни заболявания“ с водещ изследовател проф. д-р Аделаида Русева, д.м. Базово звено за изпълнение: Клиника по Педиатрия към УМБАЛ „Д-р Г. Странски“ гр. Плевен. Финансиране: от МУ-Плевен