

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ
„ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ“ ВАРНА
Факултет медицина
Катедра “Инфекциозни болести, паразитология и дерматовенерология”

Д-р Севда Симеонова Милева-Михайлова

**ОЦЕНКА НА ЦИНКОВИЯ СТАТУС НА ДЕЦА
В РАННА ВЪЗРАСТ С ОСТРА ДИАРИЯ
И ЕФЕКТИВНОСТ НА ДОПЪЛНИТЕЛНАТА
ТЕРАПИЯ С ЦИНК**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд
за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“
Научна специалност „Инфекциозни болести”

Научни ръководители
Доц. д-р Маргарита Господинова, д.м.
Доц. Бистра Галунска, д.ф.

Варна, 2015

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ
„ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ“ ВАРНА
Факултет медицина
Катедра “Инфекциозни болести, паразитология и дерматовенерология”

Д-р Севда Симеонова Милева-Михайлова

ОЦЕНКА НА ЦИНКОВИЯ СТАТУС НА ДЕЦА
В РАННА ВЪЗРАСТ С ОСТРА ДИАРИЯ
И ЕФЕКТИВНОСТ НА ДОПЪЛНИТЕЛНАТА
ТЕРАПИЯ С ЦИНК

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд
за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“

Научна специалност „Инфекциозни болести”

Научни ръководители

Доц. д-р Маргарита Господинова, д.м.

Доц. Бистра Галунска, д.ф.

Официални рецензенти

Проф. д-р Майда Тихолова, д.м.н.

Проф. д-р Марияна Стойчева, д.м.н.

Варна, 2015

Дисертационният труд съдържа 112 страници, 65 фигури, 10 таблици и 4 приложения. Библиографията включва 196 литературни източника. Прочуването е извършено в Клиника по Инфекциозни болести на МБАЛ „Св. Марина“ – Варна.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита на катедрен съвет на Катедра по Инфекциозни болести, дерматовенерология и паразитология към Факултет „Медицина“, протокол №36/28.05.2015г.

Публичната защита на дисертационния труд ще се проведе на2015 г. от часа ваудитория на открито заседание на Научното жури.

Материалите по защитата са на разположение в библиотеката на Медицински Университет „Проф. д-р П. Стоянов“- Варна, както и на официалния сайт на университета.

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ.....	4
ВЪВЕДЕНИЕ.....	5
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	7
МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ.....	8
РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ.....	12
I. Серумни концентрации на цинк и тимулин.....	12
II. Серумни концентрации на цинк и тимулин – връзка с рискови фактори за цинков дефицит, тежест на заболяването, клиничен тип на диарията, етиология на диарийния синдром и възраст.....	15
1. Връзка между серумен цинк, тимулин и фактори, свързани с повишен риск от цинков дефицит.....	15
2. Серумен цинк и тежест на диарийния епизод преди хоспитализацията.....	17
3. Серумен цинк и клиничен тип на диарията.....	19
4. Серумен цинк и етиология на диарийния епизод.....	19
5. Серумен цинк, тимулин и възраст на пациентите.....	20
III. Витамин D статус на изследваните пациенти.....	23
1. Разпределение на пациентите според витамин D статуса. Значение на сезона и пола.....	23
2. Витамин D статус и хронична желязодефицитна анемия, субоптимален прием на цинк, чести инфекции на гастроинтестиналния тракт и дихателната система.....	25
3. Витамин D статус и тежест на заболяването.....	26
4. Витамин D статус на пациентите и клиничен тип на диарийния синдром.....	27
IV. Оценка на ефекта от добавянето на цинк към стандартната терапия на диарийния синдром.....	29
1. Повлияване на серумния цинк от приема на цинк по време на диарийното заболяване.....	29
2. Оценка на клиничния отговор към терапията с цинк при децата с остра диария.....	30
Основни изводи.....	43
ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	45
ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	46

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

СЗО	– Световна Здравна Организация
УНИЦЕФ	– Детски Фонд на Обединените Нации (United Nations Children’s Fund, UNICEF)
ХЖДА	– хронична желязодефицитна анемия
25OHD3	– 25 хидроксивитамин D3
ESPGHAN	– European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (Европейска Асоциация по Детска Гастроентериология, Хепатология и Хранене)
ESPID	– European Society for Paediatric Infectious Diseases (Европейска Асоциация по детски инфекциозни болести)
Hb	– hemoglobin (хемоглобин)
Ht	– hematocrit (хематокрит)
IZiNCG	– International Zinc Nutrition Consultative Group (Интернационална Консултативна Група по Цинк и Хранене)
MCV	– mean corpuscular volume (среден обем на еритроцита)
NHANES	– National Health and Nutrition Examination Survey (Национално Проучване на Здравето и Храненето)
RDW	– red-cell distribution width (ширина на разпределение на червените кръвни клетки)
FAAS	– flame atomic absorption spectrometry (пламъкова атомно-абсорбционна спектрометрия)
ELISA	– enzyme-linked immunosorbent assay

ВЪВЕДЕНИЕ

Цинкът е най-широкозастъпеният микроелемент в биологичните системи, натоварен с внушителна гама от функции. Наличето на цинков дефицит при хора е открито в края на 60-те години на XX век, като последствията са изоставане в растежа, нервно-психични нарушения, потискане на репродуктивната функция, нарушение в имунната компетентност, рецидивиращи диарийни епизоди. Разпространението на цинковия дефицит в света като цяло е изчислено на 31%, с вариации между 4% и 74% за отделните региони. Поради това, организации като Детския Фонд на Обединените Нации (УНИЦЕФ), Световната Здравна Организация (СЗО), Интернационалната Консултативна Група по Цинк и Хранене (IZiNCG) са ангажирани с проблема. Те определят диетичните нужди от цинк за различните възрастови групи, индикаторите за цинков дефицит в популациите, както и долнограничните стойности на серумния цинк за различните възрасти, който към момента е единственият биохимичен индикатор за цинков статус.

Установено е, че цинковият дефицит е свързан с малнутрицията и диарийните заболявания, като се явява както причина, така и следствие от диарийния синдром. В същото време, в зората на 21-ви век, инфекциозната диария продължава да е една от водещите причини за заболяемост и смъртност, особено в кърмаческа и ранна детска възраст в развиващите се страни. Поради тази причина, от 2004 година СЗО и УНИЦЕФ препоръчват включване на цинк при всяко дете с диария. Нещо повече - процентът на болните от диария деца, получаващи цинк към лечението е посочен като един от индикаторите за оценка на прогреса по изпълняването на Съвместния Глобален План на СЗО и УНИЦЕФ за прекратяване на смъртните случаи от диария и пневмония до 2025 г.

Цинкът не е включен в препоръките на Европейската Асоциация по Детска Гастроентерология, Хепатология и Хранене (ESPGHAN) и Европейската асоциация по детски инфекциозни болести (ESPID) за лечение на остра диария, поради липсата на рандомизирани проучвания по отношение на лечението с цинк при деца в развитите страни, при които липсва недохранване.

От началото на 21-и век се натрупват все повече доказателства за положителни ефекти от приложението на цинк при пациенти с диарийни

заболявания, които не са с цинков дефицит. Това се обяснява с новооткритите му антисекреторни, имуномодулаторни и антибактериални свойства.

Въпросът за клиничното приложение на цинка като допълнително терапевтично средство при инфекциозни заболявания при популации без дефицит става все по-актуален в светлината на съвременната глобализация, емергенция и реемергенция на патогени, разширяване на ендемичните зони на някои заболявания във връзка с промените в климата, и твърде бързото разпространение на антибиотична резистентност.

Друга актуална тема е тази за дефицитът на витамин D, който през последните години значително се увеличи сред населението в цял свят, включително в ранна детска възраст в развитите страни. Тази пандемия от хиповитаминоза D съвпадна с разкриването на редица некалцитропни действия на този витамин, свързани с вродения и придобития имунитет, клетъчната диференциация и антипролиферативното му действие върху различни клетъчни типове. Доказа се ролята му за запазване на бариерната функция на интестиналния тракт срещу инфекциозни причинители, както чрез запазване интегритета на интестиналната мукозна бариера, така и чрез стимулиране продукцията на антимикробни пептиди в чревната лигавица. Установи се, че дефицитът на витамин D е независим рисков фактор за тежко протрахирано протичане и рецидиви на заболявания, протичащи с колитен синдром.

В заключение, съвременната концепция за плеiotропните ефекти на витамин D, в съчетание с разрастващия се през последните десетилетия дефицит в световен мащаб обосновават необходимостта от широк набор по-нататъшни проучвания във връзка с лечебните му възможности, както и въвеждане в клиничната практика на неговото мониториране, особено при пациенти, застрашени от хиповитаминоза.

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

ЦЕЛ

Да се установи цинковия статус и витамин D статуса на деца във възрастта от 3 месеца до 3 години и 6 месеца, с остра диария и да се оцени ефекта от приема на цинк като допълнение към лечението на диарийното заболяване.

ЗАДАЧИ

1. Да се проучат нивата на цинк и тимулин в серума на деца болни от остра диария.
2. Да се потърси връзка между нивата на серумния цинк и:
 - Рисквите фактори за цинков дефицит
 - Тежестта, етиологията и клиничния тип на диарийния синдром
3. Да се определи витамин D статуса на пациентите с остра диария и да се потърси връзка с:
 - Наличие на хронична желязодефицитна анемия, предходни диарийни епизоди и инфекции на дихателната система;
 - Тежестта и клиничния тип на заболяването.
4. Да се направи оценка на ефекта от добавянето на цинк към стандартната терапия на диарийния синдром.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

В проучването участваха общо 167 деца от двата пола (93 момчета и 74 момичета) на средна възраст $18,4 \pm 10,3$ месеца в периода 06.2010-06.2013г.

Сто тридесет и седем от участниците бяха пациенти, лекувани по повод остър диарийен синдром в Инфекционна клиника, УМБАЛ ”Св.Марина” ЕАД – гр.Варна. Те бяха на възраст от 3м до 3гбм., средна възраст $16,9 \pm 9,7$ месеца, 78 от които от мъжки и 59 от женски пол.

КРИТЕРИИ ЗА ВКЛЮЧВАНЕ НА ПАЦИЕНТИ В ПРОУЧВАНЕТО:

- хоспитализация по повод остра диария;
- възраст между 3м. и 3гбм.;
- местоживеене във Варненска област;
- липса на установени заболявания и със тояния, влияещи значително върху серумната концентрация на цинк (хронична диария, малабсорбция, захарен диабет, хипоалбуминемия под 30g/L);
- неприемащи цинк–съдържащ препарат.

КРИТЕРИИ ЗА ИЗКЛЮЧВАНЕ НА ПАЦИЕНТИ ОТ ПРОУЧВАНЕТО:

- хоспитализация с друга диагноза;
- пациенти под 3 месеца и над 3гбмесеца;
- пациенти с установени заболявания и състояния, влияещи значително върху серумната концентрация на цинк (хронична диария, малабсорбция, захарен диабет, хипоалбуминемия под 30g/L);
- прием на цинк–съдържащ препарат;
- местоживеене извън Варненска област.

Останалите 30 участници бяха здрави деца, които сформираха контролната група. Те бяха на възраст от 7м. до 3гбм., средна възраст $25 \pm 10,5$ месеца. От тях 15 бяха от мъжки и 15 – от женски пол. Те бяха включени в проучването след насочване от личните лекари, или директно от членове на екипа.

КРИТЕРИИ ЗА ВКЛЮЧВАНЕ НА УЧАСТНИЦИ В КОНТРОЛНАТА ГРУПА:

- здрави деца - без данни за остра инфекция в момента на изследването, както и установени хронични заболявания;
- липса на анамнестични данни за заболяване в двете седмици, предхождащи изследването;
- възраст между 3м. и 3гбм.;
- местоживееене във Варненска област;
- неприемащи цинк-съдържащ препарат.

КРИТЕРИИ ЗА ИЗКЛЮЧВАНЕ НА УЧАСТНИЦИ ОТ КОНТРОЛНАТА ГРУПА:

- деца с клиничноанамнестични данни за оста инфекция, както и такива с анамнеза за установени хронични заболявания;
- липса на анамнестични данни за заболяване в двете седмици, предхождащи изследването;
- възраст под 3м. или над 3гбм.
- местоживееене извън Варненска област;
- приемащи цинк-съдържащ препарат.

Всички участници бяха включвани при изрично съгласие на родителите, заявено в писмена форма в декларация за информирано съгласие.

Пациентите бяха разделени в две групи – такива с висок риск за цинков дефицит (група А) и група В – без рискови фактори.

В група А бяха разпределени 66 пациенти с: нисък за възрастта ръст, хипотрофия, прием на цинк под препоръчителните дневни количества, наличие на хронична желязодефицитна анемия (ХЖДА), чести диарийни и респираторни заболявания на долни дихателни пътища. Минималната възраст на пациентите от група А е 3м., а максималната – 41 месеца, средната възраст съответно е $14,4 \pm 9,5$ месеца. От тях 37 бяха от мъжки пол, а останалите 29 – от женски.

В група В попаднаха 71 деца, 41 от които от мъжки, а 30 от женски пол. Минималната възраст на пациентите от групата е 3м., а максималната – 42м., средната възраст в групата е $19,2 \pm 9,2$ месеца.

МЕТОДИ

1. Концентрацията на серумен цинк се изследва чрез метода на пламъкова атомно-абсорбционна спектрометрия (FAAS), разработен и валидиран в Катедра по аналитична и компютърна химия, ПУ „П.Хилендарски“. Използва се венозна кръв, взета в момента на постъпването при пациентите и сутрин на гладно при здравите контроли.
2. Серумен тимулин се определи чрез ELISA метод с готов тестов набор на фирма Immunodiagnostik, Германия в Лаборатория по клинична имунология, УМБАЛ „Св.Марина“ - Варна.
3. Витамин D статуса е оценяван чрез измерване на концентрация на 25-хидрокси-витамин D3 с помощта на течно-хроматографски метод с тандемна масспектрометрична детекция в Лабораторията по лекарствено мониториране, УМБАЛ „Александровска“, София.
4. Извършени са антропометрични измервания на пациентите (ръст и тегло), които са сравнени с националните референтни стойности за същата възраст и с универсалните референтни стойности, утвърдени от СЗО. В основната група се включиха пациентите с хипотрофия и нисък ръст (с антропометрични показатели под 2 стандартни отклонения от нормата за възрастта).
5. Определено е присъствието на цинк в диетата на пациентите, ползвайки метода на интерактивното 24-часово припомняне с помощта на анкетна карта, разработена за целите на проучването. Резултатите се сравниха с преработените от IZINCG дневни нужди от цинк в менюто съобразно възрастта и типа диета.
6. Клинико-епидемиологично проучване.
 - а/ Като критерии за тежест на диарийния епизод послужиха:
 - Брой на диарийните изхождания
 - Продължителност на заболяването в часове
 - Отклонения в левкоцитния брой, киселинно-алкалното равновесие, състава на електролитите в серума.
 - б/ Като индикаторни за чести остри диарийни и респираторни заболявания се приеха анамнестични данни за 3 или повече предходни диарийни епизода, съответно заболявания на долни дихателни пътища.
 - в/ За определяне наличието на ХЖДА са изследвани стойностите на хемоглобина (Hb), хематокрита (Ht), средния обем на еритроцита (MCV) и ширината на разпределение на червените кръвни клетки (RDW), които

са сравнени с нормалните референтни стойности. Горепосочените изследвания се извършиха в клиничната лаборатория на УМБАЛ „Св.Марина”Е-АД.

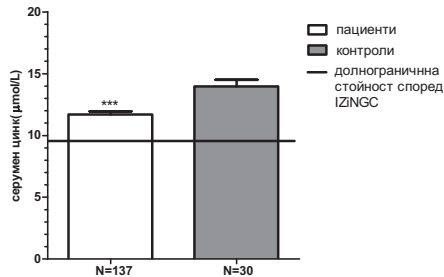
г/ Диарията при всеки конкретен пациент се отнесе към съответния клиничен тип на протичане, както следва:

- Ентеритен – наличие на воднисти, обилни изхождания, без патологични примеси, без коремна болка.
 - Колитен – многобройни оскъдни воднисти изхождания, коремна болка, добре изразен токсинфекциозен синдром, наличие на слюз и/или кръв.
 - Извършиха се микробиологични изследвания (копрокултури) в микробиологичната лаборатория на УМБАЛ”Св.Марина”.
 - Изследванията за доказване на ротавируси във фекални маси се осъществиха във вирусологична лаборатория на УМБАЛ”Св.Марина”-Варна.
 - Половината от пациентите получаваха по време на престоя еднократно дневно по 10мг цинк глюконат на прах, произведен от Walmark, а останалите пациенти - плацебо под формата на прах Sachari albi.
7. Резултатите се обработиха статистически чрез вариационен анализ, One-way ANOVA и корелационен анализ, ползвайки софтуерна програма GraphPad Prism5. Като статистически значими се интерпретираха резултатите с $p < 0,05$.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

I. СЕРУМНИ КОНЦЕНТРАЦИИ НА ЦИНК И ТИМУЛИН

Анализът на серумните проби при постъпване на пациентите с остра диария показва по-ниска средна концентрация на цинк (с 16,3%), от тази на здравите деца, съответно $11,69 \pm 0,25 \mu\text{mol/L}$ спрямо $13,97 \pm 0,55 \mu\text{mol/L}$, ($p < 0,001$) (фигура 1).



Фиг. 1 Средна концентрация на цинк в серума на деца с остра диария и здрави контроли на същата възраст, ($x \pm \text{SEM}$), $p < 0,001$

И двете стойности са над $9,9 \mu\text{mol/L}$ – долна граница на референтната област за тази възраст, утвърдена от IZiNCG на базата на II Национално Проучване на Здравето и Храненето в САЩ (NHANES II). Четиридесет и две (30%) от болните деца са със стойности на серумния цинк под тази стойност, а в контролната група те са само 2.

По-ниската средна концентрация на цинк при пациентите се дължи както на промени в метаболизма му по време на инфекциозния процес, така и на масивната му загуба през гастроинтестиналния тракт в хода на диарийния синдром. Например, при определяне на долната гранична стойност на серумния цинк при здрави хора в проучването NHANES II, са изключени пациентите с диария, тъй като диарийният синдром се счита за една от променливите, способни значително да повлияят концентрацията на цинк в серума.

На таблица 1 са представени средните стойности на серумния цинк при здравите деца от настоящото проучване и тези, установени при здрави деца в четири големи проучвания от различни части на света. Данните

са съпоставени с долнограничните стойности на серумния цинк, предложени от IZiNCG при здрави деца до 10 годишна възраст.

Табл.1. Средни стойности ($x \pm SD$) на серумния цинк в $\mu\text{mol/L}$ при контролната група деца от настоящото проучване и здрави деца в други проучвания

здрави контроли (n=30)	13,97 \pm 2,99
Канг et al., (Австралия) (93) (n=241)	13,92 \pm 2,6
Van Biervliet et al.(Белгия) (178) (n=267)	12,55 \pm 2,75
Lockitch et al. (Канада) (109) (n=77)	14,23 \pm 1,99
NHANES II (83) (n=333)	12,24 \pm 1,99
IZiNCG долногран. стойности (84)	9,95

Установиха се съизмерими средни стойности на цинка в серума на здравите деца от настоящото проучване с тези, измерени в четирите проучвания и 1,4 пъти по-високи стойности в сравнение с долната граница на серумния цинк за здрави деца според IZiNCG.

Трябва да се отбележи, че в най-обширното цитирано тук проучване - NHANES II, данните се отнасят за деца от 3 до 9 годишна възраст. Lockitch и съавтори са изследвали деца само над 12 месеца, а Канг и съавтори - над 9 месечна възраст. В настоящото проучване здравите деца са на възраст от 7 месеца до 3 години и 6 месеца, но средната възраст е 2 години. Под една година са само 2 деца.

На таблица 2 са представени средните стойности на серумния цинк при постъпването на пациентите, сравнени със средните стойности на серумния цинк при деца с остра диария в същата възрастова група при други проучвания.

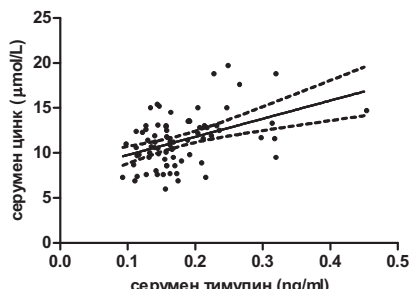
Табл.2. Средна стойност ($x \pm SD$) на серумен цинк в $\mu\text{mol/L}$ при постъпването на пациентите от настоящото проучване и при деца с остра диария при 3 други проучвания

Настоящо проучване (n=137)	Плевен (8) (n=25)	Бангладеш (151) (n=111)	Бразилия (7) (n=81)
11,69 \pm 0,25	12.87 \pm 2.42	11,9 \pm 2.2	9,15

Изходните нива на серумен цинк в настоящото проучване не се различават съществено от тези, измерени в проучването в Плевен, както и от

това, проведено в Бангладеш. По-нисък изходен цинк от този в настоящото проучване (с 21%) се открива единствено сред изследваните Бразилски деца с остра диария.

Средната концентрация на серумния тимулин при изследваните деца е $0,178 \pm 0,06 \text{ ng/ml}$, $n=77$. Установи се статистически значима положителна корелационна зависимост между стойността на серумния цинк и тимулина (Pearson $r = 0,43$, $p < 0,05$), (фигура 2).



Фиг. 2. Зависимост между серумния цинк и тимулин на пациентите при постъпването в болничното заведение, $N=77$. Pearson $r = 0,43$

Наблюдаваната положителна корелация между стойностите на цинк и тимулин в серума на пациентите е очаквано следствие от факта, че тимулинът е хормон, пряко зависим от цинковия статус на индивидите, и отговорен отчасти за нарушенията в интегритета на имунната система при цинков дефицит. Сходни резултати са получени при няколко проучвания, паралелно изследващи цинк и тимулин в серума на деца с диария. Методът, използван от другите автори, базиращ се на способността на овнешки еритроцити в отсъствие на комплемент да свързват *in vitro* лимфоцити от периферна кръв на човек и да образуват розетки, не е сравним с ELISA методите.

Подобно паралелно изследване на тимулин и серумен цинк при деца с диария, с ELISA метод не е правено до момента. Полученият резултат е интересен, поради това, че представя тоталното количество на хормона (активен и неактивен, несвързан с цинк).

II. СЕРУМНИ КОНЦЕНТРАЦИИ НА ЦИНК И ТИМУЛИН – ВРЪЗКА С РИСКОВИ ФАКТОРИ ЗА ЦИНКОВ ДЕФИЦИТ, ТЕЖЕСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕТО, КЛИНИЧЕН ТИП НА ДИАРИЯТА, ЕТИОЛОГИЯ НА ДИАРИЙНИЯ СИНДРОМ И ВЪЗРАСТ.

1. ВРЪЗКА МЕЖДУ СЕРУМЕН ЦИНК, ТИМУЛИН И ФАКТОРИ, СВЪРЗАНИ С ПОВИШЕН РИСК ОТ ЦИНКОВ ДЕФИЦИТ

Факторите, свързани с риск за цинков дефицит са нисък за възрастта ръст, хипотрофия, прием на цинк под препоръчителните дневни количества, наличие на хронична желязодефицитна анемия, чести диарийни и респираторни заболявания на долни дихателни пътища. Именно въз основа на тях пациентите, участващи в проучването се разпределиха в две групи - А (деца с повишен риск от цинков дефицит) и В (деца, при които не се очаква състояние на цинков дефицит).

При 39 (28,5%) от пациентите, се откри анемиен синдром, при 24 (17,5%) – хипотрофия, при 12 (8,8%) се установиха анамнестично чести диарийни епизоди, или инфекции на долни дихателни пътища, при 14 (10,2%) – нисък за възрастта ръст, при 17 (12,4%) – по-малко количество на цинк в диетата от препоръчаното количество на денонощие за съответната възраст и типа диета. Двадесет и осем от децата (20,4%) имаха повече от един рисков фактор за цинков дефицит.

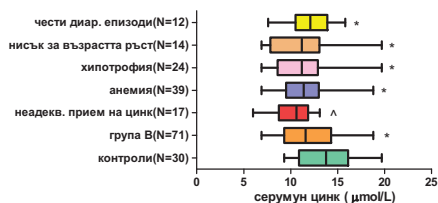
В група А попаднаха 66 деца (48,2%). Останалите 71 деца (51,8%) оформиха група В пациенти с диария.

Установи се, че средната концентрация на цинк в серума на здрави деца ($13,97 \pm 0,55 \mu\text{mol/L}$) е с 15% по-висока спрямо тази при пациентите с диария от група В ($11,89 \pm 0,35 \mu\text{mol/L}$), $p < 0,01$. При здравите деца серумният цинк е с 18% по-висок спрямо този при пациентите с диария от група А ($11,48 \pm 0,35 \mu\text{mol/L}$), като различията са статистически значими ($p < 0,001$). Серумните концентрации на цинк при децата от група А са незначимо по-ниски спрямо тези при децата от група В, ($p > 0,05$).

За да се изясни оказва ли влияние съчетанието от два и повече рискови фактора върху серумния цинк, пациентите от група А се разделиха допълнително на две подгрупи при анализа на резултатие. В подгрупа А1

се включиха деца с наличие на един критерий за включване в групата, а в подгрупа А2 - такива с два и повече критерии. Установи се с 8% по-ниска средна стойност на серумния цинк за децата от подгрупа А2 ($10,95 \pm 0,53 \mu\text{mol/L}$) в сравнение с тази в подгрупа А1 ($11,87 \pm 0,47 \mu\text{mol/L}$) и група В ($11,89 \pm 0,35 \mu\text{mol/L}$), но разликите не са статистически значими, $p > 0,05$.

Следвайки логиката на проучването се потърси зависимост между отделните рискови фактори за цинков дефицит, използвани от нас за формиране на основните групи пациенти и серумния цинк при постъпването. Получените резултати са представени на фигура 3.



Фиг. 3. Средна концентрация на серумния цинк ($x \pm SD$) при пациентите, разделени в групи според рисковите фактори, предполагащи цинков дефицит, пациенти без такива фактори (група В) и здрави контроли. $\wedge p < 0,05$ спрямо здравите контроли и група В, $*p < 0,05$ спрямо здравите контроли

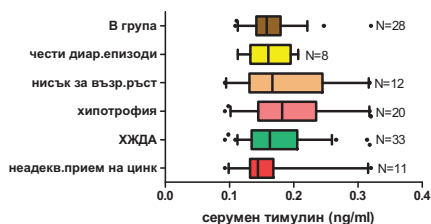
Най-нисък серумен цинк е измерен при пациентите с по-малко количество цинк в обичайната диета на децата ($10,17 \pm 0,50 \mu\text{mol/L}$), което е с 14,5% по-малко в сравнение със серумния цинк в група В, $p < 0,05$. Според резултатите от проведените анкети, обичайните диети на всички проучени пациенти се прецениха като смесен тип според разделението на IZiNCG, с моларно съотношение фитати/цинк под 18. При този тип диета бионаличността на цинка е висока, като абсорбцията му варира между 26 и 34% при отделните индивиди.

При пациентите с анемия средната концентрация на цинк в серума е $11,34 \pm 0,41 \mu\text{mol/L}$, при тези с хипотрофия – $11,33 \pm 0,66 \mu\text{mol/L}$, с нисък за възрастта ръст – $11,10 \pm 0,93 \mu\text{mol/L}$ и при тези с чести диарийни епизоди – съответно $12,01 \pm 0,68 \mu\text{mol/L}$. Не се установи значима разлика в средните нива на серумен цинк в нито една от тези 4 групи спрямо пациентите от група В.

Четиридесет и девет от общо 77-те пациенти (63,6%), при които се из-

мери серумния тимулин при постъпването, поради наличието на фактори за цинков дефицит попаднаха в група А, а останалите 38(49,3%) – в група В. Двадесет и пет от пациентите от група А имаха два или повече фактори за цинков дефицит, т.е. сформираха подгрупа А2, останалите 24 пациенти от групата с един рисков фактор за цинков дефицит сформираха група А1. Установихме следните средни стойности на тимулина при така разделени-те на групи пациенти: $0,172 \pm 0,01 \text{ ng/ml}$ за група А1, $0,186 \pm 0,01 \text{ ng/ml}$ за подгрупа А2 и съответно $0,176 \pm 0,01 \text{ ng/ml}$ за група В, $p > 0,05$.

Не се откри статистически значима разлика и между средните стойности на тимулина при подгрупите пациенти със следните фактори за цинков дефицит: хронична желязодефицитна анемия ($0,174 \pm 0,01 \text{ ng/ml}$), хипотрофия ($0,197 \pm 0,02 \text{ ng/ml}$), нисък за възрастта ръст ($0,186 \pm 0,01 \text{ ng/ml}$), недостатъчен прием на цинк с диетата ($0,169 \pm 0,02 \text{ ng/ml}$), чести диарийни епизоди и/или инфекции на долни дихателни пътища ($0,161 \pm 0,01 \text{ ng/ml}$) (фиг.4).



Фиг. 4. Средна концентрация на тимулин (медиана, 10-90 перцентил) в серума на пациентите, разделени на групи според рисковите фактори, предполагащи цинков дефицит и без наличие на такива (група В), $p > 0,05$

2. СЕРУМЕН ЦИНК И ТЕЖЕСТ НА ДИАРИЙНИЯ ЕПИЗОД ПРЕДИ ХОСПИТАЛИЗАЦИЯТА

а/ серумен цинк и давност на диарийния синдром

Установи се средна давност на заболяването от $86,12 \pm 9,85$ часа до момента на приемане в болницата. Серумният цинк е средно $11,25 \pm 0,36 \mu\text{mol/L}$ при пациентите с давност на диарийния синдром до 2 денонощия преди хоспитализацията, $12,53 \pm 0,45 \mu\text{mol/L}$ при тези с давност от 3 до 4 денонощия и $11,61 \pm 0,52 \mu\text{mol/L}$ при тези с над 5 денонощия.

Не се установи статистически значима зависимост между давността на диарията и стойността на измерения цинк, както и корелация между серумния цинк при постъпването и давността на диарията (Pearson $r = -0,02$).

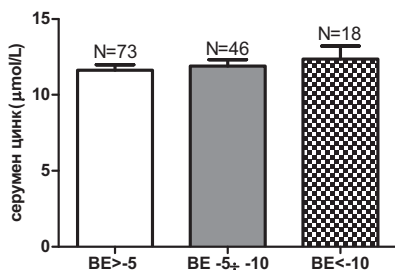
б/ серумен цинк и брой изхождания преди хоспитализацията

За цялата изследвана група деца с диарийен синдром средният брой диарийни изхождания от началото на заболяването до хоспитализацията е $14,91 \pm 1,59$. В зависимост от стойността на този показател пациентите се разделиха в три подгрупи. При тези с до 10 диарийни изхождания се измери средна серумна концентрация на цинк $11,44 \pm 0,40 \mu\text{mol/L}$, при тези с 11 до 20 изхождания – $12,47 \pm 0,42 \mu\text{mol/L}$, а при тези с над 20, съответно $11,00 \pm 0,37 \mu\text{mol/L}$.

Не се установи значима разлика между средните серумни концентрации на цинка в групите пациенти с различен брой изхождания преди хоспитализацията, нито корелационна зависимост между стойността на серумния цинк и броя на изхожданията (Pearson $r = -0,138$).

в/ серумен цинк и нарушения в киселинно-алкалния профил

На фигура 5 са отразени средните стойности на цинка от постъпването на пациентите, разделени на 3 подгрупи според стойността на излишъка от бази (BE) в киселинно-алкалния профил (КАП) при приемането.



Фиг. 5. Средна стойност на серумния цинк ($\bar{x} \pm SEM$) на пациентите според BE в КАП, $p > 0,05$

Серумният цинк при постъпването на пациентите с BE в КАП над -5 е средно $11,62 \pm 0,37 \mu\text{mol/L}$, при тези с BE между -5 и -10 - $11,89 \pm 0,43 \mu\text{mol/L}$, а при тези под -20 - $12,35 \pm 0,86 \mu\text{mol/L}$, $p > 0,05$. Налице е тенденция за по-висок серумен цинк при намаляване на BE.

г/ серумен цинк и левкоцитен брой

Средните стойности на серумния цинк при пациентите с левкоцити под и над $12 \times 10^9/L$ (един от четирите критерия за синдром на системен възпалителен отговор) е съответно $11,50 \pm 0,32 \mu\text{mol}/L$ и $11,96 \pm 0,40 \mu\text{mol}/L$. Разликата не е статистически значима.

д/ серумен цинк и хипокалиемия

При пациентите с наличие на хипокалиемия при постъпването се установи средна концентрация на серумния цинк $11,75 \pm 0,92 \mu\text{mol}/L$, а при пациентите с нормални стойности на калия – съответно $11,66 \pm 0,26 \mu\text{mol}/L$, като разликата е несигнификантна.

3. СЕРУМЕН ЦИНК И КЛИНИЧЕН ТИП НА ДИАРИЯТА

При проучване на медицинската документация, се установи, че 104 от изследваните от нас пациенти са с ентеритен синдром, а останалите 33 – с колитен. Не се откри разлика в средните стойности на серумния цинк при постъпването между двете групи пациенти. Стойностите на цинка са съответно $11,88 \pm 0,28 \mu\text{mol}/L$ при пациентите с ентеритен и $11,10 \pm 0,53 \mu\text{mol}/L$ при тези с колитен синдром.

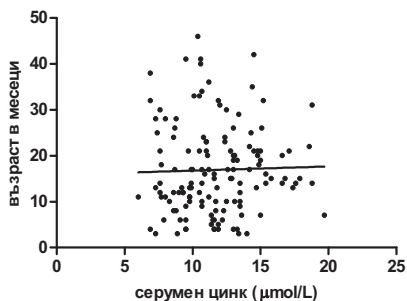
Липсва статистически значима разлика между средната концентрация на серумния цинк при пациентите с различно изразен интензитет и давност на диарийния синдром преди постъпването в зависимост от клиничния тип на диарията. Не се откри и корелация между серумния цинк при постъпването и интензитета на заболяването преди началото на лечението, както при пациентите с ентеритен, така и с колитен синдром.

4. СЕРУМЕН ЦИНК И ЕТИОЛОГИЯ НА ДИАРИЙНИЯ ЕПИЗОД

Не открихме съществена разлика в серумния цинк при постъпването между пациентите с различна етиология на заболяването. Средната концентрация на цинк, измерен в серума на пациентите с доказана инфекциозна етиология е $11,60 \pm 0,45 \mu\text{mol}/L$, при тези с ротавирусна етиология - $12,03 \pm 0,55 \mu\text{mol}/L$, при дизентерия – $10,46 \pm 0,97 \mu\text{mol}/L$, салмонелоза - $10,78 \pm 1,83 \mu\text{mol}/L$, а при тези с недоказан инфекциозен причинител на настоящото заболяване - $11,75 \pm 0,30 \mu\text{mol}/L$.

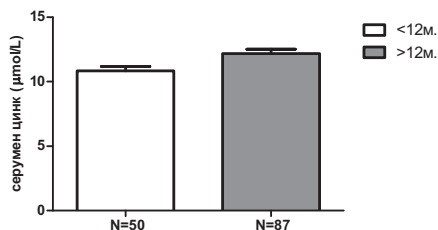
5. СЕРУМЕН ЦИНК, ТИМУЛИН И ВЪЗРАСТ НА ПАЦИЕНТИТЕ

Не се откри корелация между серумния цинк и възрастта на пациентите при постъпването (фигура 6).



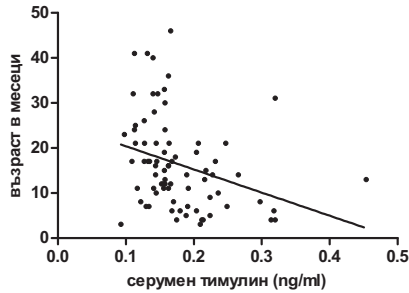
Фиг. 6. Зависимост между серумния цинк и възрастта на пациентите, $N=137$; $Pearson\ r = 0,03$

При кърмачетата се установи средна концентрация на серумния цинк $10,83 \pm 0,35 \mu\text{mol/L}$, а при децата над 12 месеца - $12,19 \pm 0,33 \mu\text{mol/L}$. Разликата от 11,1% е статистически значима, $p < 0,01$ (фигура 7).



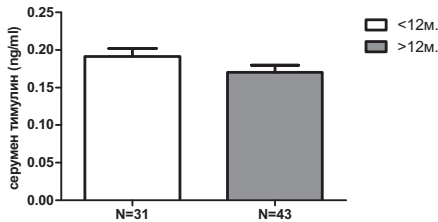
Фиг. 7. Средна концентрация на серумния цинк ($\bar{x} \pm SEM$) според възрастта, $p < 0,01$

Установи се обратна корелация между възрастта на пациентите и серумния тимулин, $p < 0,01$ (фигура 8).



Фиг. 8. Зависимост между серумния тимулин и възрастта на пациентите, $N= 77$; Pearson $r = -0,31$

Средната концентрация на тимулин при пациентите под 12 месеца е незначимо по-висока, в сравнение с тази при пациентите над 12 месеца (съответно $0,19 \pm 0,01 \text{ ng/ml}$ и $0,17 \pm 0,001 \text{ ng/ml}$) (фигура 9).



Фиг. 9. Средна концентрация на серумния тимулин ($\bar{x} \pm SEM$) според възрастта на пациентите, $p > 0,05$

Връзката между цинковия статус и растежната крива при деца до 5 годишна възраст е потвърдена при рандомизирани проучвания със суплементиране на популации с цинков дефицит. Друг мета-анализ на няколко проучвания при деца до 48 месечна възраст, проведени от 1996 до 2008г, както и голямо рандомизирано проучване при повече от 2000 индийски деца, не откриват значим положителен ефект от приема на цинк върху растежната крива. Според IZiNCG положителните резултати от суплементирането с цинк върху растежната крива са наблюдавани в проучванията, обхващащи деца само със значителна белтъчно-калорийна малнутриция и изоставане в ръста.

Наличието на хипотрофия и нисък за възрастта ръст не показаха прог-

ностична стойност по отношение цинковия статус при отделните индивиди, включени в настоящото проучване. Този резултат според нас се дължи на малкия брой пациенти с нисък за възрастта ръст (14 от 137) и липсата на значителна хипотрофия – само 2 от 24-те пациенти са с III-та степен хипотрофия, 9 са с II-ра степен, а останалите 17 - с I-ва степен. Следователно, при болшинството от нашите пациенти липсват данни за изразена малнутриция, съответно ниският ръст и хипотрофията се дължат на причини, непридружени от цинков дефицит.

Връзката между наличието на желязодефицитна анемия и цинковия дефицит се корени в общите хранителни източници на желязо и цинк. В няколко проучвания е установена положителна корелация между стойността на хемоглобина и серумния цинк. В две големи национални проучвания при деца в Мексико и Виетнам такава зависимост не се установява, което се обяснява с широкото разпространение на малария в изследваните контингенти, факт, който не може да обясни резултатите от нашето проучване. Конкретно при нашите пациенти, считаме, че има 2 основни причини за наличие на желязодефицитна анемия, която не се придружава от цинков дефицит: анемичен синдром на майката по време на бременността и ексцесивен прием на квасено краве мляко от кърмачето, вместо адаптирана, обогатена с желязо формула още преди 6-7 месечна възраст.

Установи се зависимост между количеството на цинк в диетата на децата, изчислено на базата на проведените хранителни анкети и концентрацията на серумния цинк. Тъй като тази зависимост е запазена и в условията на диарийно заболяване, субоптималното присъствие на цинк в диетата на децата може да бъде използвано като фактор със самостоятелна тежест, предполагащ наличие на субоптимален цинков статус, както при здрави деца в ранна възраст, така и при пациенти с диария.

Съвсем логично, факторите, предполагащи цинков дефицит, които не се оказаха прогностични по отношение на цинковия статус при нашите пациенти, се оказаха непрогностични и по отношение на серумния тимулин.

Диарийните заболявания водят неминуемо до масивна загуба на цинк от ГИТ, водещо до влошаване на цинковия статус в различна степен в зависимост от продължителността и интензитета на епизодите. Въпреки теоретично обоснованото очакване за зависимост между тежестта на диарийното заболяване, клиничния тип на диарията и нивата на серумния

цинк, при нашите пациенти такава зависимост не се установи.

Набелязаната тенденция за обратна връзка между стойността на ВЕ и серумния цинк може да се обясни с положителната зависимост между ацидозата в КАП при болните с диария и дехидратацията, съответно хемоконцентрацията. Хемоконцентрацията, от своя страна води до относителна хиперпротеинемия, включително повишение на серумните белтъци, свързващи цинк. Имайки предвид, че 80-90% от серумния цинк е свързан с албумин, а 10-20% с алфа2-макроглобулин, може да се предположи, че хемоконцентрацията при дехидратация би довела до относително повишение в серумните нива на цинка.

Въпреки набелязаната тенденция за по-ниски средни концентрации на серумния цинк при пациентите с шигелоза, статистически значима зависимост между цинковия статус и етиологията на заболяването не се установи. Това може да се дължи на малкия брой пациенти с бактериална дизентерия, участващи в проучването.

Доказа се значимо по-ниска средна концентрация на серумен цинк при болните кърмачета, в сравнение с пациентите на възраст над 12 месеца. Съответно възрастта може да се разглежда като фактор, влияещ значително върху цинковия статус в условията на диарийно заболяване. Подобни проучвания, при които пациентите са разделени на подгрупи според възрастта, не са налични за сравнение. Възможно е да се касае за релативно по-големи загуби на цинк на единица маса през ГИТ в хода на диарийен синдром в тази възрастова група.

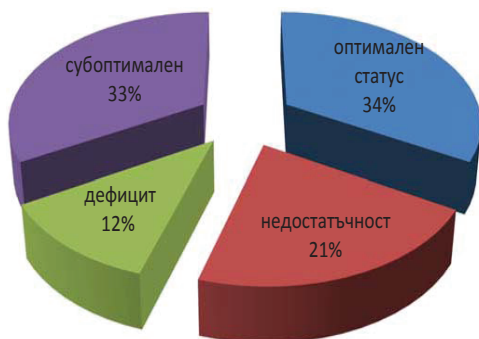
Въпреки липсата на значима разлика между концентрацията на тимулин при децата под и над 12 месеца, се установи слаба обратна корелация с възрастта, което вероятно се обяснява с физиологичната инволюция на тимуса, започваща около една годишна възраст.

III. ВИТАМИН D СТАТУС НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ПАЦИЕНТИ

1. РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА ПАЦИЕНТИТЕ СПОРЕД ВИТАМИН D СТАТУСА. ЗНАЧЕНИЕ НА СЕЗОНА И ПОЛА.

При 75 произволно избрани деца, включени в проучването се измериха серумните нива на циркулиращата форма на витамин D3. Стойностите варират между 7,5nmol/L и 102,2nmol/L. Средната концентрация на

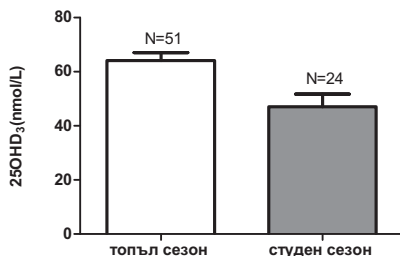
25ОНD3 при пациентите е $58,96 \pm 2,72 \text{ nmol/L}$. При 50 от 75-те пациенти (66,67%) серумните концентрации на 25ОНD3 се измериха над 50 nmol/L , което отговаря на оптимален статус за нормално костно изграждане, но при 25 от тях (33,5%) стойностите бяха под 75 nmol/L , което отговаря на субоптимален статус по отношение на некалциемичните ефекти на този витамин. При 16 от децата (21,33%) серумният витамин D3 е в рамките на $25\text{-}50 \text{ nmol/L}$ (недостатъчност), а 9 деца (12,0%) бяха с витамин D дефицит, със стойности на 25ОНD3 под 25 nmol/L . Тези резултати са отразени на фигура 10.



Фиг. 10. Витамин D статус на изследваните пациенти, $N=75$

Поради изразената зависимост на този витамин от сезона пациентите се разделиха на две групи – такива, които са изследвани през студените месеци на годината (от 01.10. до 01.06.) и такива, изследвани през топлите месеци (от 01.06. до 01.10.). Целта бе да се провери съществува ли сезонна зависимост на нивата на 25ОНD3 при нашите пациенти по време на диарийно заболяване. Изследваните през топлите месеци са над 2 пъти повече от тези през студените месеци, което е отражение на изразената сезонност на диарийните заболявания в нашата страна.

Средната концентрация на 25ОНD3 в серума на децата, изследвани през топлите месеци е $64,1 \pm 2,98 \text{ nmol/l}$ ($n=51$), а на изследваните през студените месеци – $47,07 \pm 4,64 \text{ nmol/l}$ ($n=24$). Разликата е 26,6% и е статистически значима ($p<0,005$) (фигура 11).



Фиг. 11. Сезонна зависимост на витамин D статуса на пациентите; $p < 0,01$

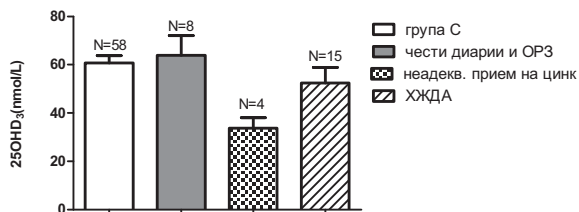
Средните стойности, които се установиха през студените месеци отговарят на витамин D3 недостатъчност, т.к. са в рамките на 25-50nmol/l. Общо девет от изследваните деца (12%) са с витамин D дефицит (25OHD3 под 25nmol/l), като 5 от тях са изследвани през студените месеци на годината, а 4 – през топлите. От децата с установена недостатъчност, 9 (12%) са изследвани през студените месеци, а 7 (9%) – през топлите.

Резултатите показват ясно, че нивата на витамин D при децата, изследвани през топлите и студените месеци са по-ниски от 75nmol/L – cut-off стойност за изява на некалциемичните ефекти на витамин D3, като имуностимулиращо действие и активиране секрецията на антимикробни пептиди в стомашно-чревния тракт.

Не се установи съществена разлика по отношение средната концентрация на 25OHD3 в серума според пола, $p > 0,05$.

2. ВИТАМИН D СТАТУС И ХРОНИЧНА ЖЕЛЯЗОДЕФИЦИТНА АНЕМИЯ, СУБОПТИМАЛЕН ПРИЕМ НА ЦИНК, ЧЕСТИ ИНФЕКЦИИ НА ГАСТРОИНТЕСТИНАЛНИЯ ТРАКТ И ДИХАТЕЛНАТА СИСТЕМА

Витамин D статуса на пациентите с наличие на ХЖДА, субоптимално количество цинк в диетата, чести инфекции на гастроинтестиналния тракт и дихателната система и при пациентите без наличие на такива (група С) са отразени на фигура 12.



Фиг. 12. Витамин D статус на пациентите, групирани според наличието на някои неблагоприятни състояния, $p > 0,05$

Средните концентрации на серумния 25OHD₃ при пациентите, групирани по този начин са както следва: 60,77 ± 3,00 nmol/L при пациентите, при които липсват гореизброените неблагоприятни фонове състояния (група С); 63,81 ± 8,20 nmol/L за болните с анамнеза за чести инфекции на дихателните пътища и гастроинтестиналния тракт; 33,75 ± 4,36 nmol/L за тези с неадекватен прием на цинк с диетата; 52,43 ± 6,41 nmol/L за пациентите с ХЖДА. Прави впечатление изразено по-ниска средна стойност на 25OHD₃ при болните с по-малко прием на цинк с диетата – с 45,5% в сравнение с група С, отговарящо на недостатъчност. Подобна тенденция, макар и много по-слабо изразена се наблюдава при пациентите с ХЖДА, при които средната стойност на 25OHD₃ е с 13,7% по-ниска от тази в група С.

3. ВИТАМИН D СТАТУС И ТЕЖЕСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕТО

а/ 25OHD₃ при постъпването и давност на диарийния синдром

Установи се средна стойност на 25OHD₃ при пациентите с давност на заболяването до 2 денонощия 62,27 ± 3,71 nmol/L, при тези с давност от 3 до 4 денонощия включително - 53,32 ± 5,75 nmol/L, а при тези с над 5 денонощия – съответно 57,49 ± 4,82 nmol/L. Разликата между серумния 25OHD₃ на пациентите в трите групи е несигнификантна ($p > 0,05$), не установихме и корелация между давността на диарията и серумната концентрация на 25OHD₃ (Pearson $r = -0,09$).

б/ 25OHD₃ при постъпването и брой изхождания

Разделихме пациентите на 3 групи според броя на дефекациите от началото на заболяването до момента на хоспитализацията – с до 10 диарийни изхождания, между 11 и 20 изхождания включително и над 21

дефекации. Средната концентрация на 25ОНD3 на децата с до 10 диарийни изхождания преди постъпването е $55,95 \pm 4,48 \text{ nmol/L}$, при тези с 11 до 20 изхождания - $60,81 \pm 4,08 \text{ nmol/L}$, а при пациентите с над 21 дефекации - $62,99 \pm 5,89 \text{ nmol/L}$. Разликата в 25ОНD3 в серума на пациентите с различна интензивност на заболяването преди хоспитализацията е несигнификантна.

Не установихме и корелация между витамин D статуса при постъпването и броя на изхожданията от началото на заболяването (Pearson $r = 0,08$).

в/ витамин D статус на пациентите и левкоцитен брой в периферна кръв

При разделяне на пациентите според наличието, или липсата на левкоцитоза в периферна кръв в момента на хоспитализацията, не открихме зависимост между левкоцитния брой и витамин D нивата. Средната концентрация на 25ОНD3 на децата с левкоцитен брой до $12.109/L$ е $60,06 \pm 3,54 \text{ nmol/L}$, а при тези с левкоцитен брой над $12.109/L$ - $57,47 \pm 4,31 \text{ nmol/L}$, като разликата между тях е несигнификантна.

г/ витамин D статус на пациентите и нарушения в киселинно-алкалния профил

Не се откри разлика между серумните нива на 25ОНD3 при пациентите, разделени в три групи според недостига на бази в КАП. Средната концентрация на 25ОНD3 на децата с ВЕ до -5 е $57,12 \pm 3,70 \text{ nmol/L}$, при тези с ВЕ между -5 и -10 е $61,59 \pm 4,92 \text{ nmol/L}$, а при тези с ВЕ под -10 - съответно $60,10 \pm 7,99 \text{ nmol/L}$ ($p > 0,05$).

4. ВИТАМИН D СТАТУС НА ПАЦИЕНТИТЕ И КЛИНИЧЕН ТИП НА ДИАРИЙНИЯ СИНДРОМ

Петдесет и седем от 75-те пациенти (76%), при които е изследван 25ОНD3 в серума са с ентеритен синдром, а останалите 18 (24%) – с колитен. Не се откри разлика в средните стойности на циркулиращата форма на витамин D при постъпването между двете групи пациенти - $61,31 \pm 2,98 \text{ nmol/L}$ при пациентите с ентеритен и $58,18 \pm 4,97 \text{ nmol/L}$ при тези с колитен синдром ($p > 0,05$).

Независимо от благоприятния климат в нашата страна с пет слънчеви месеца в годината, при 33% от изследваните от нас деца се наблюдава неудовлетворителен витамин D статус. Това съвпада с тревожната тенден-

ция за разрастване на витамин D дефицита в световна пандемия, наблюдение, подкрепено от множество мащабни проучвания, като например NHANES III. Подобни проучвания в България са изключително малко, изследвани са по-малък брой индивиди, като резултатите са еднопосочни.

Въпреки изразената сезонност по отношение на серумната концентрация на този витамин, общо 14,3% от пациентите със субоптимален витамин D статус са изследвани през топлите месеци. Това показва недостатъчно излагане на слънце дори през това време на годината, вероятно съчетано с фактори като висока запрашеност на въздуха и недостатъчен прием на витамин D3 с храната.

Установеният неудовлетворителен витамин D статус при пациентите с недостатъчен прием на цинк с обичайната диета може да се обясни с общите хранителни източници на витамин D и цинк, а именно хранителни продукти от животински произход, съчетано с недостатъчно излагане на слънчева светлина.

Въпреки теоретичните очаквания за установяване на връзка между витамин D статуса на пациентите и чести заболявания на дихателните пътища и диарийни заболявания, поради имуномодулаторните му ефекти и благоприятния му ефект върху фекалния микробиом, в нашето проучване такава не се доказва. Това не съвпада с литературните данни за повишена заболяемост от диария и инфекции на дихателните пътища при деца с витамин D недостатъчност.

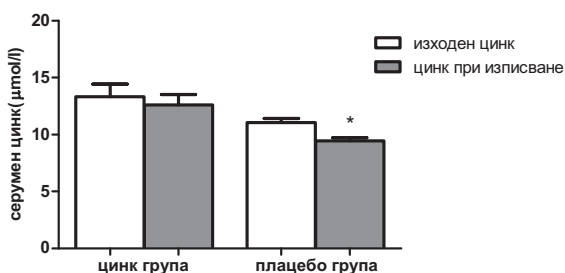
Не се установи и връзка между витамин D статуса на пациентите с остра диария и тежестта на заболяването и клиничния тип на диарията, въпреки многото проучвания, доказващи значението на витамин D дефицита за тежестта на протичане на диарийните заболявания, особено при колитен синдром.

Възможна причина за липсата на статистическа значимост е сравнително малкия брой изследвани деца (75), който още спада при разпределение по групи.

IV. ОЦЕНКА НА ЕФЕКТА ОТ ДОБАВЯНЕТО НА ЦИНК КЪМ СТАНДАРТНАТА ТЕРАПИЯ НА ДИАРИЙНИЯ СИНДРОМ

1. ПОВЛИЯВАНЕ НА СЕРУМНИЯ ЦИНК ОТ ПРИЕМА НА ЦИНК ПО ВРЕМЕ НА ДИАРИЙНОТО ЗАБОЛЯВАНЕ

Изследва се серумен цинк при изписването при 23 деца, 9 от които бяха на лечение с цинк със среден престой 8,8 денонощия, а останалите 14 на плацебо със среден престой 8,6 денонощия, т.е. групите са хомогенни по отношение продължителността на лечението. Резултатите са представени на фигура 13.



Фиг. 13. Серумен цинк ($\bar{x} \pm SEM$) при приемане и изписване на пациентите според приема на цинк или плацебо към терапията, * $p < 0,01$ спрямо изходните нива в плацебо групата

Средната концентрация на серумен цинк при приемането на деветте деца с добавен цинк към лечението е $13,32 \pm 3,32 \mu\text{mol/L}$, а при изписване - $12,58 \pm 2,68 \mu\text{mol/L}$. В плацебо групата средната концентрация на цинка при приемане на 14-те изследвани деца е $11,04 \pm 2,06 \mu\text{mol/L}$, а при изписване - $9,46 \pm 1,32 \mu\text{mol/L}$. Следователно, наблюдава се спад в концентрацията на серумния цинк и в двете групи пациенти, като в групата, приемала цинк той е 3,8% ($p > 0,05$), а в плацебо групата - 14,3% ($p < 0,05$).

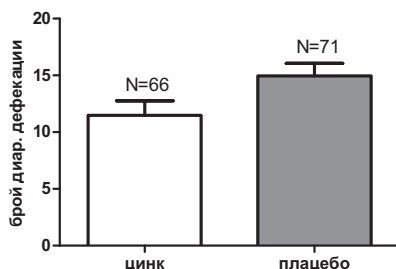
Серумният цинк неминуемо претърпява спад при диарийно заболяване, което се дължи най-вече на масивната му загуба през гастроинтестиналния тракт. Приемът на допълнително количество цинк по време на диария логично предотвратява част от загубите и допринася за по-бързото възстановяване на нарушения баланс. Повлияването на серумния цинк от

приема, се наблюдава неизменно при всички подобни проучвания, като при продължителност над 14 дни е набелязано и покачване на цинка над базовото му ниво, независимо от наличието, или липсата на клиничен ефект от терапията. Резултатите от нашето проучване, показващи незначителен спад от изходното ниво при пациентите, получаващи цинк, за разлика от тези на плацебо, корелира напълно с предходните проучвания, въпреки сравнително кратките срокове на лечението – малко над 8 дни.

2. ОЦЕНКА НА КЛИНИЧНИЯ ОТГОВОР КЪМ ТЕРАПИЯТА С ЦИНК ПРИ ДЕЦАТА С ОСТРА ДИАРИЯ

а/ Клиничен отговор към приема на цинк

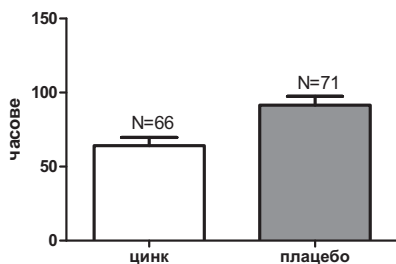
На фигура 14 е отразен средния брой на диарийните изхождания по време на престоя при изследваните болни, разделени на две групи - получаващи цинк, или плацебо към стандартното лечение.



Фиг. 14. Среден брой диарийни изхождания ($x \pm SEM$) при пациентите на цинк и плацебо, $p < 0,05$

Установиха се значително по-малко диарийни дефекации след началото на терапията при приемащите цинк ($11,47 \pm 1,27$) в сравнение с получаващите плацебо ($14,94 \pm 1,13$), като разликата е 3,47 дефекации, или 23,3% ($p < 0,05$).

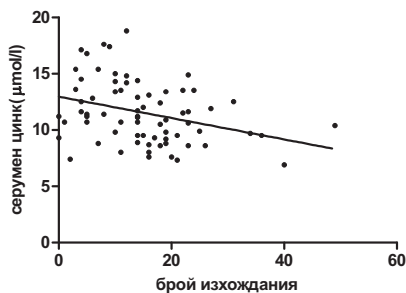
Средната продължителност на диарията в часове при пациентите с включен цинк към лечението е $64,05 \pm 5,64$, а при приемалите плацебо – $91,44 \pm 6,01$ часа, или диарийното заболяване е продължило с 27 часа (30%) по-дълго при децата на плацебо ($p < 0,01$) (фигура 15).



Фиг. 15. Средна продължителност на диарийния епизод в часове ($\bar{x} \pm SEM$) при пациентите на цинк и плацебо, $p < 0,01$

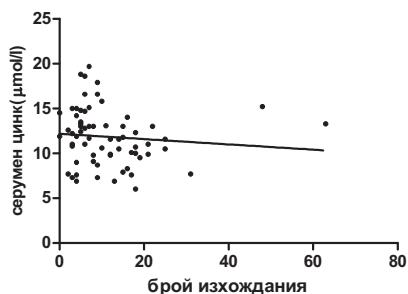
б/ Клиничен отговор към приема на цинк според изходното ниво на серумния цинк

Установи се обратна корелация между концентрацията на серумния цинк при постъпването и интензитета на диарийния синдром, преценен по броя на изхожданията по време на престоя, при пациентите на плацебо, $p < 0,01$ (фиг.16).



Фиг. 16. Зависимост между серумния цинк при постъпването и интензитета на диарийния синдром при пациентите на плацебо, $N=71$; $Pearson r = -0,33$

За разлика от плацебо групата, при пациентите с добавен цинк към основната терапия не се откри зависимост между изходния серумен цинк и интензитета на диарията след началото на лечението, $p > 0,05$ (фиг.17).

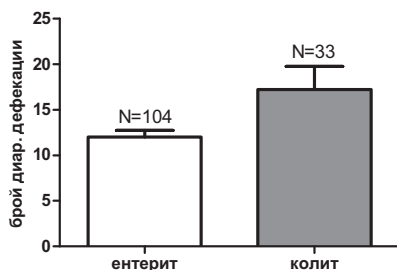


Фиг. 17. Зависимост между серумния цинк при постъпването и интензитета на диарийния синдром при пациентите с добавен цинк към лечението, $N = 66$; $Pearson r = -0,1$

По отношение на продължителността на диарийния синдром в часове, не се установи корелация със стойностите на изходния цинк нито при пациентите на плацебо, нито при тези на цинк към основната терапия, $p > 0,05$.

в/ Клиничен отговор към приема на цинк и клиничен тип на диарийния синдром

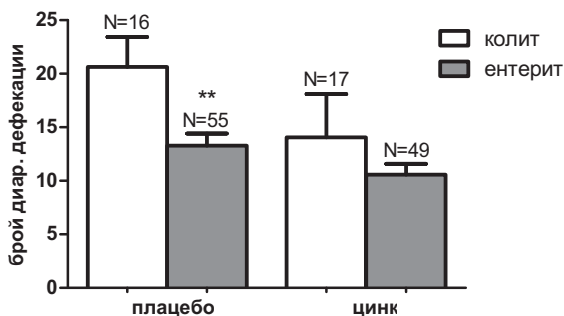
Пациентите с водещ колитен синдром имаха средно $17,24 \pm 2,52$ диарийни дефекации до овладяването на диарийния епизод, което е с 30,4% повече в сравнение с тези с ентеритен синдром със средно $12,00 \pm 0,77$ нестабилни изхождания, $p < 0,01$ (фигура 18).



Фиг. 18. Брой на изхожданията ($x \pm SEM$) според клиничния тип на диарията, $p < 0,01$

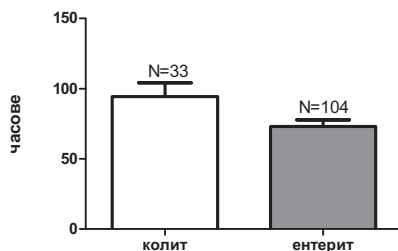
При разделяне на пациентите на подгрупи според приема на цинк или

плацебо, пациентите с колит на плацебо имаха средно $20,63 \pm 2,83$ изхождания, а тези с ентерит на плацебо – съответно $13,29 \pm 1,13$. Разликата е 35,6% и е статистически значима ($p < 0,01$). При пациентите, приемащи цинк, разликата в броя на изхожданията между децата с колитен и ентеритен синдром е от 24,8% (съответно $14,06 \pm 4,03$ и $10,58 \pm 1,01$), $p > 0,05$. (фигура 19).



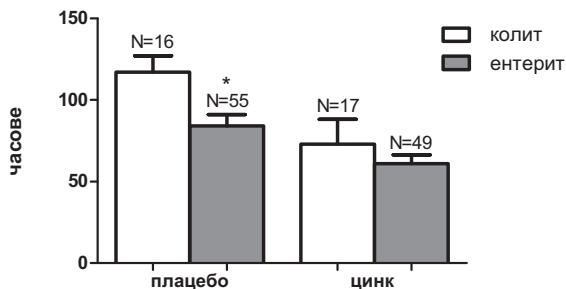
Фиг. 19. Брой диарийни дефекации ($x \pm SEM$) при пациентите на цинк и плацебо според клиничния тип на диарията, $**p < 0,01$ спрямо изходния цинк в плацебо групата

По подобие, при проследяване на продължителността на заболяването в часове, при пациентите с колитен синдром се установи средна продължителност от $94,27 \pm 9,92$ часа, а при тези с ентерит – съответно $73,15 \pm 4,60$, като разликата от 22,4% е статистически значима ($p < 0,05$) (фигура 20).



Фиг. 20. Продължителност на диарията в часове ($x \pm SEM$) според клиничния тип, $p < 0,05$

Значима е и разликата от 28,2% в плацебо-групата между децата с колит ($117,0 \pm 10,01$) и ентерит ($84,00 \pm 6,91$), $p < 0,05$. В цинк групата се установи разлика от 16,3% в средната продължителност на диарията в зависимост от клиничния ѝ тип ($72,88 \pm 15,31$ при колит и $60,98 \pm 5,50$ при ентерит), $p > 0,05$ (фигура 21).

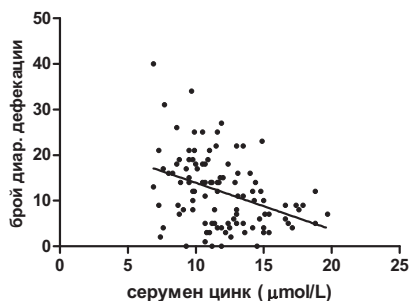


Фиг. 21. Продължителност на диарията в часове ($x \pm SEM$) при пациентите на цинк и плацебо според клиничния тип, $*p < 0,05$ в плацебо групата

Потърси се зависимост между изходния цинк в серума на пациентите с колитен и ентеритен синдром и протичането на диарийния епизод след началото на лечението с цинк и плацебо. Установи се следното:

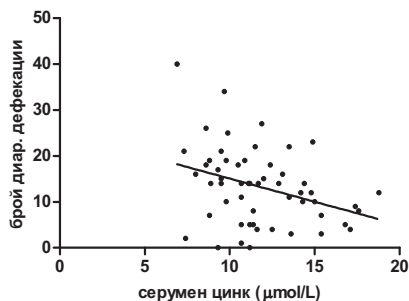
Липсва зависимост между серумния цинк при постъпването при пациентите с водещ колитен синдром като цяло, както и при цинк и плацебо групите с колит, и тежестта на диарийния епизод (преценена като брой на диарийните изхождания и продължителност на диарията в часове до овладяване на епизода).

Установи се обратна корелационна зависимост между серумния цинк при постъпването при пациентите с водещ ентеритен синдром и броя на диарийните изхождания до овладяване на епизода (фигура 22). Не се откри зависимост между изходния цинк и продължителността на диарията в часове при тези пациенти (Pearson $r = -0,19$).



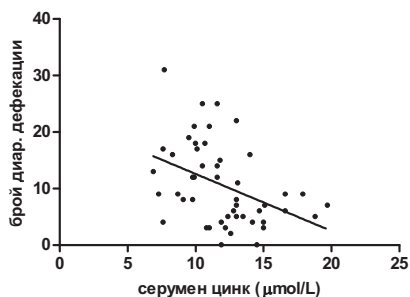
Фиг. 22. Зависимост между серумния цинк и броя на диарийните дефекации при пациентите с ентерит, $N=104$; Pearson $r = -0,37$

Установи се обратна корелационна зависимост между серумния цинк при постъпването при пациентите с водещ ентеритен синдром на плацебо и броя на диарийните изхождания до овладяване на епизода (фигура 23). Не се откри зависимост между изходния цинк и продължителността на диарията в часове при тези пациенти (Pearson $r = -0,13$).



Фиг. 23. Зависимост между серумния цинк и броя на диарийните дефекации при пациентите на плацебо с ентерит, $N=55$; Pearson $r = -0,34$

Установи се обратна корелационна зависимост между серумния цинк при постъпването при пациентите с водещ ентеритен синдром с добавен цинк към лечението и броя на диарийните изхождания до овладяване на епизода (фигура 24). Не се откри зависимост между изходния цинк и продължителността на диарията в часове при тези пациенти (Pearson $r = -0,27$).

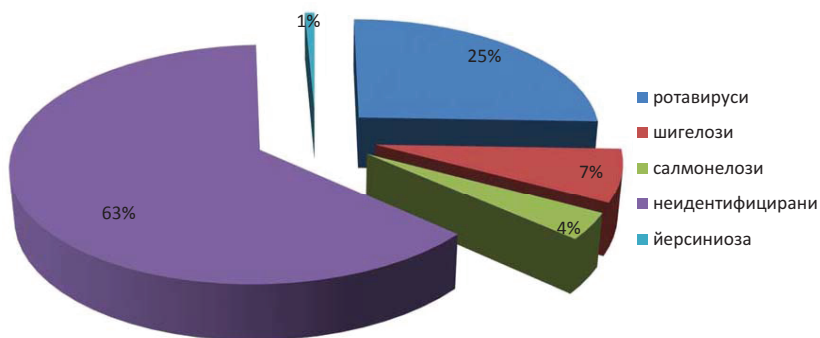


Фиг. 24. Зависимост между серумния цинк и броя на диарийните изхождания при пациентите на цинк с ентерит, $N=49$; $Pearson\ r = -0,41$

г/ Клиничен отговор към приема на цинк и етиология на диарийния епизод

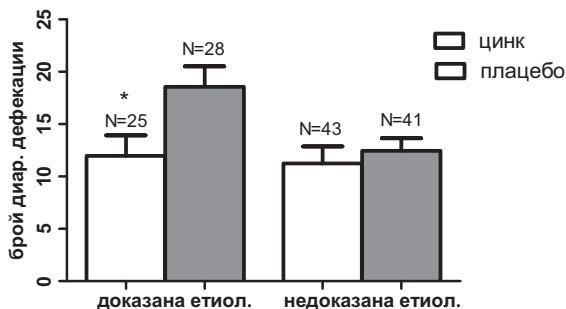
При проследяване на клиничния отговор на пациентите към приема на цинк по време на заболяването, оценен чрез намаляване на броя на изхожданията и продължителността на епизода в сравнение с приемашите плацебо, отнесено към етиологията на настоящия диарийен епизод, се получиха следните резултати:

При 36 от изследваните пациенти се доказа ротавирусна етиология на заболяването, при 10 се установи шигелоза, при 5 – салмонелоза, при 1 – йерсиниоза, а при останалите 85 деца етиологичната причина остана неизяснена (фигура 25).



Фиг. 25. Етиологично разпределение на проучваните болни, $N=137$

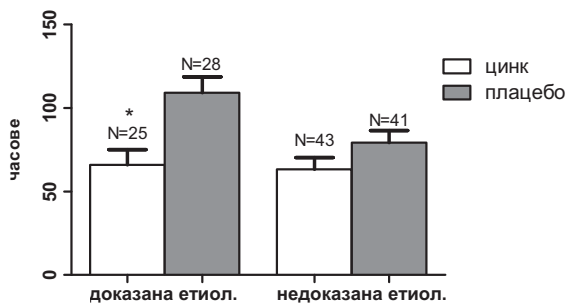
Броят на дефекациите в цинк групата при пациентите с доказана инфекциозна етиология на заболяването е средно $11,96 \pm 1,96$, а в плацебо групата - $18,55 \pm 1,99$. Разликата от 35,5% е статистически значима ($p < 0,01$). При пациентите с недоказана етиология броят на дефекациите в цинк групата е средно $11,23 \pm 1,64$, а в плацебо групата - $12,45 \pm 1,21$. Разликата между тях е 9,8% и е несигнификантна (фигура 26).



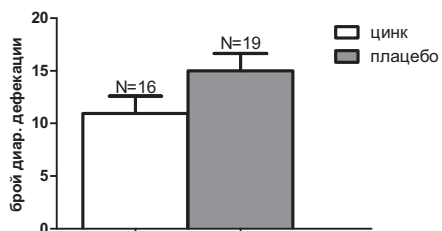
Фиг. 26. Интензитет на диарията при пациентите с доказан и недоказан инфекциозен причинител на заболяването в цинк и плацебо групата, * $p < 0,05$ спрямо плацебо в групата с доказана инфекция

Продължителността на диарийния епизод в цинк групата при пациентите с доказан инфекциозен причинител е средно $65,88 \pm 9,17$ часа, което е с 39,7% по-малко в сравнение с плацебо групата със средна продължителност $109,2 \pm 9,35$ часа ($p < 0,01$). При пациентите с недоказана инфекциозна етиология продължителността на диарийния епизод в цинк групата е средно $63,35 \pm 6,96$ часа, а в плацебо групата - $79,14 \pm 7,35$ часа. Разликата е 20% и е несигнификантна (фигура 27).

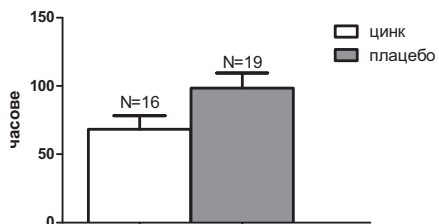
При пациентите с доказана ротавирусна инфекция, броят на диарийните изхождания в цинк групата е $10,94 \pm 1,66$, а в плацебо групата - $15,00 \pm 1,66$. Разликата е съответно 27,1%, но не е статистически значима ($p > 0,05$). Несигнификантна е и 30%-ната разлика в продължителността на заболяването между двете групи пациенти с ротавирусен ентерит ($p > 0,05$). В цинк групата диарията е продължила средно $68,25 \pm 10,02$ часа, а в плацебо групата - $98,53 \pm 11,00$ часа (фигури 28 и 29).



Фиг. 27. Продължителност на диарията в часове при пациентите с доказан и недоказан инфекциозен причинител на заболяването в цинк и плацебо групата. $**p < 0,01$ спрямо плацебо в групата с доказана инфекция



Фиг. 28. Интензитет на диарията при пациентите на цинк и плацебо с ротавирусна инфекция, $p > 0,05$



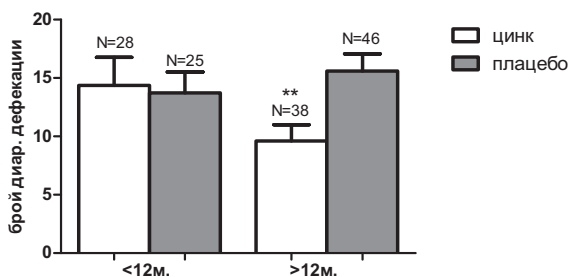
Фиг. 29. Продължителност на диарията в часове при пациентите на цинк и плацебо с ротавирусна инфекция, $p > 0,05$

д/ Клиничен отговор към приема на цинк и възраст на пациентите

Средната възраст на изследваните пациенти е 17 месеца. Точно толкова е и средната възраст в групата с доказана ротавирусна инфекция, като 26 (72%) от децата са над 12 месечна възраст.

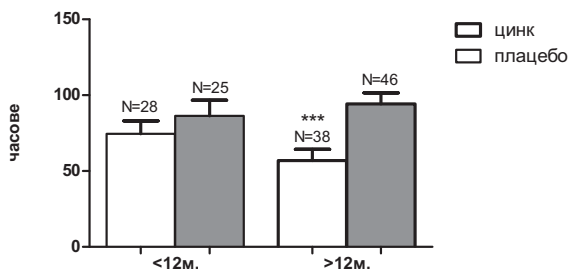
При проследяване интензитета и тежестта на протичане на диарията при пациентите от цинк и плацебо групата, разделени на две подгрупи (под и над 12 месечна възраст), се установи следното:

Броят на дефекациите в цинк групата при пациентите под 12 месечна възраст е средно $14,36 \pm 2,43$, а в плацебо групата - $13,72 \pm 1,78$. Разликата от 5,5% е незначима ($p > 0,05$). При пациентите над 12 месечна възраст в цинк групата броят на изхожданията е средно $9,61 \pm 1,41$, а в плацебо групата - $15,61 \pm 1,46$. Разликата между тях е 38,4% и е значима ($p < 0,01$) (фигура 30).



Фиг. 30. Интензитет на диарията при пациентите на цинк и плацебо според възрастта; ** $p < 0,01$ спрямо плацебо в групата над 12 месечна възраст

Продължителността на диарийния епизод в цинк групата при пациентите под 12 месеца е средно $74,57 \pm 8,49$ часа, което е с 13,7% по-малко в сравнение с плацебо групата, в която диарийният епизод е продължил средно $86,40 \pm 10,37$ часа ($p > 0,05$). При пациентите на възраст над 12 месеца на цинк, продължителността на диарийния епизод е средно $56,92 \pm 7,45$ часа, а в плацебо групата - $94,17 \pm 7,42$ часа. Разликата е 39,6% и е сигнификантна ($p < 0,001$) (фигура 31).



Фиг. 31. Продължителност на диарията в часове при пациентите на цинк и плацебо според възрастта, *** $p < 0,001$ спрямо плацебо в групата над 12 месечна възраст

Наблюдаваното от нас значително намаляване на тежестта на диарийния епизод при приемащите цинк пациенти съвпада с резултатите от множество предходни проучвания, като максималната докладвана редукция на честотата на дефекациите е 33%, а скъсяването на епизода - до 23%. Ефектът между отделните проучвания в различните райони на света варира в широки граници, като може да се обобщи, че той е толкова по-убедителен, колкото по-нисък е социално-икономическият статус на изследваната популация. Силно положителни са резултатите от приложението на цинк в страните от Южна и Югоизточна Азия, умерен, но стабилен положителен ефект е отчетен при множество проучвания в Китай. Единственото известно подобно проучване в Европа (Полша) не отчита положителен ефект от приема на цинк при остра диария.

По отношение на връзката между стойността на изходния цинк, измерен в серума на пациентите и хода на заболяването, установихме липса на корелация по отношение продължителността му. Що се отнася до интензитета му, преценен според броя на изхожданията до овладяването на диарийния синдром, при пациентите на плацебо, по-нисък изходен цинк корелира с по-голям брой изхождания, докато при приемащите цинк липсва такава корелация. Този резултат се обяснява с факта, че при диарийен синдром се отделя голямо количество цинк, което води до влошаване на цинковия статус, намиращ израз в понижението на серумния цинк. Това, от своя страна води до задълбочаване на диарийния синдром и отключване на порочен кръг. При прием на цинк по време на диарийното заболяване този порочен кръг може да бъде прекъснат, което дава обяснение защо

в групата, приемаща цинк липсва тази обратна корелация между изходния цинк и интензитета на диарията. Обратната корелация, която откриваме е слаба, тъй като протичането на диарийното заболяване е многофакторно обусловен процес, зависещ и от клиничния тип на заболяването, възрастта на пациентите, придружаващите заболявания, етиологията, храненето, ефективността на основното лечение и др.

Различните механизми на диарийния синдром при инфекциите, засягащи тънките черва и колона, обуславящи коренно различни клинични картини, ни даде теоретично основание да потърсим разлики в повлияването от лечението с цинк на различните клинични типове диария, както и различия в изходния цинк. Колитният синдром се характеризира с многобройни оскъдни изхождания (над 10 за денонощие) с евентуално наличие на патологични примеси, коликообразни коремни болки и често по-продължително и затегнато протичане. При преобладаващ ентеритен синдром диарийните изхождания са по-малко на брой, но обилни, водещи до изразена дехидратация, ацидоза и диселектролитемия. Не е изненадващо, че откриваме статистически значима разлика в броя на изхожданията и часовете до оздравяването между пациентите с различен тип диарийен синдром в полза на колитния и при нашите пациенти. Тази значима разлика се запазва в групата на плацебо, но при тези с добавен цинк не се наблюдава. Това очевидно повлияване на пациентите с колитен синдром от приема на цинк обясняваме с етиологичните причинители. Зад клиничната презентация „колит” обикновено стоят инвазивни щамове на чревни микроорганизми, от които най-често изолираните в България в тази възрастова група са такива от род *Shigella* и *Salmonella*. *In vitro* проучвания и такива с животински модели са показали, че цинкът потиска възпалението в дебелочревната лигавица, предизвикано от инвазивни чревни микроорганизми чрез редуциране концентрациите на миелопероксидазата, потискане на LPS- и IL-1–индуцираната продукция на азотен окис и протекция на клетките от оксидативен стрес.

В същото време, не се откри зависимост между изходния серумен цинк при пациентите с колитен синдром и тежестта на диарийния епизод нито в цинк, нито в плацебо групата. Можем да заключим, че ефектът от приема на цинк при тези пациенти не е зависим от цинковия статус. Това съвпада с резултатите от някои клинични проучвания за положителни ефекти от приложението на цинк при пациенти с диарийни заболявания, които не са

с цинков дефицит.

Обяснението на слабата обратна корелация, която се установи между серумния цинк при приемането и интензитета на заболяването при пациентите с ентерит, приемащи както цинк, така и плацебо, се корени в етиологията на ентеритния синдром. В тази възрастова група ротавирусите играят основна роля в диарийната патология. В нашето проучване те са 36 от общо 104 пациенти с ентерит, което е 34%. Установено е, че ротавирусните инфекции на гастроинтестиналния тракт се повлияват по-слабо от приема на цинк.

При обработването на резултатите относно интензитета и продължителността на диарийния епизод, се взе предвид широкият диапазон на отговор към приема на цинк в зависимост от възрастта на пациентите и етиологията на диарийното заболяване при предходни проучвания.

Сред няколко мета-анализи относно ефекта на приложението на цинк при диарийни заболявания, изпъква този на Patel и съавтори от 2011г., който се позовава на 37 проучвания. Според авторите 2 от основните причини за хетерогентността на получените резултати са възрастта на изследваните пациенти и формата, под която се дава цинка.

Например, най-благоприятен ефект се отчита при прием на цинк под формата на цинков глюконат. Именно тази форма е използвана в нашето проучване.

По отношение на възрастта на изследваните пациенти, е установено, че при деца под 12 месечна възраст ефектът от приема на цинк е силно редуциран в сравнение с тези над 1 година, което категорично се подкрепя и от нашите резултати. Обяснението от предходни проучвания и мета-анализи е, че най-честите причинители на инфекциозна диария в кърмаческа възраст са ротавирусите, които се повлияват по-слабо от добавяне на цинк към лечението. Резултатите от нашето проучване не подкрепят тази теза, но и не предоставят алтернативно обяснение. Въпросът остава отворен за по-нататъшни изследвания.

Интересен факт, който се установи е, че при пациентите с недоказана инфекциозна етиология на заболяването липсва ефект от приема на цинк, докато при тези с доказана инфекциозна причина благоприятното повлияване е значимо, като при това 2/3 от пациентите във втората група са с ротавирусна инфекция. Средната възраст на пациентите с доказан инфекциозен причинител е 20 месеца, а на тези с неразшифрована ети-

ология – 15 месеца, разлика която едва ли може да обясни този резултат. Едно от възможните обяснения се корени в клиничния тип на диарийния синдром. Седемнадесет (33%) от пациентите в групата с доказана инфекциозна етиология са с проявления на колит, а в групата с недоказан инфекциозен причинител те са 16 (19%). Установи се, че общо 40 деца са с възпаление на дихателните пътища, придружаващо диарийния синдром, като бронхитът съставлява над 50%. Двадесет и девет от децата с такова придружаващо заболяване (над 72%) се намират в групата с недоказана инфекциозна етиология на диарията. Изкушаващо е да приемем, че поне при част от тях водещото заболяване всъщност е била дихателна инфекция, придружена от диарийен синдром, в чиято патогенеза не е въввлечен чревен патоген. Такава ситуация лесно би могла да обясни неповлияването на тези пациенти от приема на цинк в светлината на новата концепция относно патоген-специфичното действие на този микроелемент.

ОСНОВНИ ИЗВОДИ

1. Средните стойности на цинка в серума на здравите деца и по време на остра диария от настоящото проучване са съизмерими с тези, установени при няколко мащабни проучвания от различни части на света.
2. Доказано е статистически значимо понижаване на серумния цинк в хода на диарийно заболяване. То е по-силно изразено при децата под 12 месечна възраст. При изследваната извадка не се установи зависимост на цинковия статус от клиничния тип и етиологията на диарийния синдром.
3. Доказано е, че цинковият статус на пациентите зависи от количеството на цинк в обичайната диета. Не се установи връзка между цинковият и наличието на нисък за възрастта ръст, хипотрофия, хронична желязодефицитна анемия, чести предходни инфекции на ГИТ и ДС, както и от тежестта на заболяването до момента на хоспитализацията. Не се установява корелация между серумния цинк и продължителността на заболяването.
4. Доказана е значима положителна корелация между серумния тимулин и серумния цинк и отрицателна зависимост от възрастта на пациентите.
5. Тридесет и три процента от изследваните деца са със субоптимален витамин D статус за нормално костно изграждане ($<50\text{nmol/L}$), а 66,6%

- имат нива под 75nmol/L за изява на некалциемичните ефекти на витамин D. Дванадесет процента от децата са с витамин D дефицит(<25nmol/L).
6. Нивата на витамин D при децата, изследвани през топлите и студените месеци са по-ниски от 75nmol/L, необходими за осъществяване на имуномодулиращото действие и активиране секрецията на антимикробни пептиди в лигавиците.
 7. Установена е ясна тенденция за по-ниски 25ОНD3 нива при пациентите с по-малък прием на цинк с диетата. Не се доказва зависимост между серумния 25 ОНD3 и наличието на хронична желязодефицитна анемия, чести предходни инфекции на ГИТ и ДС, тежестта и клиничния тип на диарийното заболяване.
 8. Наблюдава се незначителен спад на серумния цинк по време на диарийното заболяване спрямо изходната стойност при пациентите, приемали цинк, докато при пациентите на плацебо снижението е значимо.
 9. Приемът на цинк към основната терапия значимо намалява тежестта на диарийния епизод. Пациентите с колитен синдром се повлияват по-осезаемо от терапията с цинк, в сравнение с пациентите с ентерит.
 10. Установява се обратна корелация между изходния серумен цинк и интензитета на заболяването, както при цялата изследвана кохорта, така и при тези на плацебо. Липсата на такава зависимост при приемащите цинков препарат пациенти говори за благоприятен ефект от добавянето на цинк.
 11. При пациентите с ентеритен синдром се установява обратна корелация между изходния цинк и броя на диарийните изхождания, докато при пациентите с колитен синдром такава липсва.
 12. Добавянето на цинк при пациентите с доказана етиология, включително при децата с ротавирусна инфекция, намалява значимо тежестта на диарийния синдром спрямо плацебо групата. При болните с неразшифрована етиология е налице същата тенденция, статистически незначима.
 13. Благоприятният ефект от приема на цинк е значимо по-изразен при пациентите над 12 месечна възраст спрямо тези под 12 месеца.
 14. За времето на суплементиране с цинков глюконат не се наблюдаваха странични ефекти от приложението на този цинков препарат към базисната терапия на пациентите.

ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

ПРИНОСИ С ОРИГИНАЛЕН ХАРАКТЕР

1. Това е първото в България системно изследване на цинковия статус в зависимост от етиологията, интензитета и рискови фактори на диарийния синдром при деца до 3 години и 6 месеца.
2. За първи път е доказано значимо повлияване от лечението с цинк в прилаганата доза на пациенти с ротавирусна инфекция и зависимост на ефекта от клиничния тип на диарийния синдром в тази възрастова група.
3. За първи път в България се изследва витамин D статуса при деца с остра диария и се търси взаимовръзка с диетичния внос на цинк, етиологията, интензитета и рискови фактори на диарийния синдром.
4. За първи път бе установено, че 33% от изследваните деца с диарийен синдром са с витамин D недостатъчност ($<50\text{nmol/L}$), а 66,5% с нива под 75nmol/L , независимо от сезона.
5. Доказа се, че и в България съществуват групи от деца с нерационално хранене по отношение на количеството цинк в обичайната диета, при които се наблюдава неудовлетворителен цинков статус.
6. За първи път в България е доказана необходимостта от включване на цинк към лечението и на острите диарийни епизоди в тази възрастова група.

ПРИНОСИ С ПОТВЪРДИТЕЛЕН ХАРАКТЕР

1. Диарийният синдром е свързан със значимо намаляване на серумните нива на цинка при деца в ранна възраст. Добавянето на цинков препарат по време на диарийно заболяване влияе благоприятно върху тежестта на епизода.
2. Доказа се значима положителна корелация между серумния цинк и тимулин.
3. Доказа се значима разлика в отговора към приема на цинк в зависимост от възрастта.
4. За целите на изследването е разработен и валидиран съвременен аналитичен метод за изследване на цинк в минимално количество серум, който може да бъде използван при по-нататъшни проучвания, както и при клинична необходимост при конкретни пациенти.

ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

ПУБЛИКАЦИИ В НАУЧНИ СПИСАНИЯ

1. Mileva S., Stefanova V., Georgieva D, Nenova M. Zinc deficiency in infants with acute diarrhea. Jubilee Scientific Conference”Public health in the 21st century-realities and prospective, 30 September-2 October 2010, Pleven-Proceedings, 2010; 2: 690-4.
2. Mileva S. Zinc-the breakthrough. Acta Medica Bulgarica, 2011, 1:51-63.
3. Милева С, Стефанова В, Георгиева Д, Ненова М. Зависимост между серумния цинк и протичането на острата диария при деца в ранна възраст. Medinfo, 2011; 10:22-4.
4. Милева С, Галунска Б, Герова Д, Ненова М, Червенков Т. Зависимост между серумния цинк, тимулин, витамин Д и протичането на острата диария при деца в ранна възраст. Medinfo, 2012; 11:33-5.
5. Милева С. Цинкът и човешкото здраве - мащабност на проблема. Наука инфектология и паразитология, 2013; 2: 4-10.

УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ

1. Mileva S., Stefanova V., Georgieva D, Nenova M. Zinc deficiency in infants with acute diarrhea. Jubilee Scientific Conference”Public health in the 21st century-realities and prospective, 30 September-2 October 2010, Pleven-Proceedings, 2010; 2: 690-694.
2. Милева С, Галунска Б, Герова Д, Ненова М, Червенков Т. Зависимост между серумния цинк, тимулин, витамин Д и протичането на острата диария при деца в ранна възраст. IX Национален конгрес по инфекциозни болести 11-13 Окт.2012г., гр.София.
3. Милева С, Ненова М, Господинова М, Стефанова М. Оценка на цинковия статус на деца в ранна възраст с остра диария, лекувани в Инфекционна клиника – Варна. X Национална конференция по инфекциозни болести Окт.2013г., гр.Варна.

4. Mileva S., Galunska B., Gospodinova M, Gerova D., Svinarov D. Vitamin D3 status in children with acute diarrhea. 14th International Nutrition & Diagnostics Conference INDC 2014, September 2 - 5, 2014, Prague, Czech Republic. Abstract, Poster N31.

Дисертационният труд е разработен на базата на проект „Оценка на цинковия статус на деца в ранна възраст с остри диария и ефективност на допълнителната терапия с цинк”, с ръководител Доц.д-р М.Ненова, финасиран от ФНИ към МОМН, с договор № 002-336/08.12.2008г.

Изказвам благодарност на всички, които съдействаха за осъществяването на дисертационния труд:

Научните ми ръководители доц. д-р Маргарита Господинова, д.м. и доц.Бистра Галунска, д.ф.

Доц.д-р Марина Ненова д.м., научен ръководител по проекта.

Колектива от катедра по аналитична и компютърна химия, Пловдивски Университет”Паисий Хилендарски с ръководител Доц.Виолета Стефанова, д.ф.

Д-р Даниела Герова, Катедра по обща медицина и клинична лаборатория, УНС по клинична лаборатория.

Д-р Трифон Червенков, Катедра по клинични медицински науки.

Колектива на Клиниката по инфекциозни болести към МБАЛ „Св. Марина“-Варна.