

Lek. Kamila Agata Cywińska

**Analiza stężenia wybranych jonów, witaminy D3 oraz Indeksu kwasów Omega 3
w surowicy u dzieci hospitalizowanych z powodu zakażenia wirusem grypy**

Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych w dyscyplinie medycyna

Promotor: dr hab. n. med. Katarzyna Mazur-Melewska

Klinika Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej
Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. n. med. Magdalena Figlerowicz



Kolegium Nauk Medycznych
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, 2021

Pragnę serdecznie podziękować Promotorowi pracy dr hab. n. med. Katarzynie Mazur-Melewskiej za poświęcony czas, motywację oraz liczne, inspirujące wskazówki.

Dziękuję Pani Profesor Magdalenie Figlerowicz za cenne uwagi merytoryczne i okazaną życzliwość.

Dziękuję Mężowi i Synom za cierpliwość i wsparcie.

Pracę dedykuję moim Rodzicom

Wykaz stosowanych skrótów

- 2-AG - ang. *2-arachidonyl glycerol* - 2-arachidonoiloglicerol
- AA - ang. *arachidonic acid* - kwas arachidonowy
- AEA - ang. *arachidonoyl ethanolamide* - etanoloamid arachidonoilu
- ALA - ang. *alpha-linolenic acid*, - kwas α -linolenowy
- ALAT - ang. *alanine transaminase* - aminotransferaza alaninowa
- ASPAT - ang. *aspartate aminotransferase* - aminotransferaza asparaginianowa
- CK - ang. *creatine kinase* - kinaza fosfokreatynowa
- CK-MB - ang. *creatine kinase isoenzyme MB* - izoenzym MB kinazy kreatynowej
- COX - ang. *cyclooxygenase* - cyklooksyzgenaza
- CRP - ang. *C-reactive protein* - białko C-reaktywne
- DBP - ang. *vitamin D binding* - białko wiążące witaminę D
- DHA - ang. *docosahexaenoic acid* - kwas dokozaheksaenowy
- EPA - ang. *eicosapentaenoic acid* - kwas eikozapentaenowy
- HA - ang. *hemagglutinin* - hemaglutynina
- HEF - ang. *hemagglutinin - esterase - fusion* - białko fuzyjne hemaglutyniny i esterazy
- IAM - ang. *influenza-associated myositis* - zapalenie mięśni związane z grypą
- IFN- γ - ang. *interferon γ* - interferon γ
- IL-1 - ang. *interleukin 1* - interleukina 1
- IL-10 - ang. *interleukin 10* - interleukina 10
- IL-4 - ang. *interleukin 4* - interleukina 4
- IL-5 - ang. *interleukin 5* - interleukina 5
- LA - ang. *linolic acid* - kwas linolowy
- LOX - ang. *lipooxygenase* - lipooksyzgenaza
- LTB4 - ang. *leukotriene B4* - leukotrien B4
- MUFA - ang. *monounsaturated fatty acids* - jednonienasycone kwasy tłuszczowe
- NA - ang. *neuraminidase* - neuraminidaza
- NK - ang. *natural killer* - komórki „urodzeni zabójcy”
- NP - ang. *nucleoprotein* - nukleoproteina
- PGE2 - ang. *prostaglandin E2* - prostaglandyna E2
- PLT - płytki krwi
- PUFA - ang. *polyunsaturated fatty acids* - wielonienasycone kwasy tłuszczowe
- RIDT - ang. *rapid influenza diagnostics test* - szybki test diagnostyczny
- RNA - ang. *ribonucleic acid*, kwas rybonukleinowy

RNP - ang. *ribonucleoprotein* - kompleks rybonukleoprotein

RT-PCR - ang. *polimerase chain reaction in real time* - reakcja łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkryptazą w czasie rzeczywistym

SFA - ang. *saturated fatty acids* - nasycone kwasy tłuszczowe

TNF- α -ang. *tumor necrosis factor α* - czynnik martwicy nowotworów α

TXA2 - ang. *thromboxane A2* - tromboksan A2

VDR - ang. *vitamin D receptor* - receptor witaminy D

WBC - białe krwinki, leukocyty

WHO - ang. *World Health Organization* - Światowa Organizacja Zdrowia

Wykaz stosowanych skrótów	4
1. Wstęp	10
1.1.1 Budowa wirusa grypy	10
1.1.2 Epidemiologia grypy	12
1.1.3 Patofizjologia grypy	13
1.1.4 Przebieg kliniczny grypy	13
1.1.5 Powikłania zakażenia wirusem grypy	13
1.1.5.1 Zapalenie płuc.....	14
1.1.5.2 Podgłośniowe zapalenie krtani	15
1.1.5.3 Powikłania ze strony ośrodkowego układu nerwowego (OUN)	15
1.1.5.4 Zapalenie ucha środkowego	16
1.1.5.5 Zapalenie mięśni związane z grypą (IAM).....	16
1.1.5.6 Zapalenie mięśnia sercowego	17
1.1.6 Diagnostyka wirusa grypy.....	18
1.1.7 Leczenie.....	18
1.1.8 Profilaktyka	19
1.2. Krótkie omówienie wybranych pierwiastków, witamin oraz kwasów tłuszczowych analizowanych w pracy doktorskiej.	20

1.2.1 Witamina D3.....	20
1.2.2 Żelazo	22
1.2.3 Cynk	23
1.2.4 Selen	24
1.2.5 Wielonienasycone kwasy tłuszczowe.....	26
1.2.6 Indeks kwasów Omega 3	28
2. Cel pracy	29
3. Materiał i metody	30
3.1 Pacjenci.....	30
3.2 Wybrane dane z dokumentacji medycznej	31
3.3 Badania laboratoryjne.....	31
3.4 Badania obrazowe.....	33
3.5 Badanie ankietowe.....	33
3.6 Metody statystyczne	33
4. Wyniki badań.....	34
4.1 Analiza statystyczna grupy badanej pod względem istotnych danych	34
4.1.1 Płeć	34
4.1.2 Wiek.....	35
4.1.4 Długość hospitalizacji	36
4.1.5 Długość gorączki	36
4.1.6 Przebieg kliniczny grypy w grupie badanej	37
4.1.6.1 Zapalenie płuc i oskrzeli.....	38

4.1.6.2 Zapalenie mięśni.....	38
4.1.6.3 Powikłania neurologiczne	38
4.1.6.4 Powikłania kardiologiczne	39
4.1.6.5 Objawy ze strony przewodu pokarmowego	39
4.1.6.6 Podsumowanie przebiegu klinicznego w grupie badanej.....	39
4.1.7 Witamina D3.....	41
4.1.8 Selen	42
4.1.9 Cynk	44
4.1.10 Żelazo	46
4.1.11 Wybrane kwasy tłuszczowe	47
4.1.11.1 Indeks kwasów Omega 3	47
4.1.11.2. Kwas eikozapentaenowy	48
4.1.11.3. Kwas dokozaheksaenowy	51
4.2 Analiza statystyczna grupy kontrolnej pod względem istotnych danych.....	53
4.2.1 Płeć	53
4.2.2 Wiek.....	53
4.2.3 Analiza grupy kontrolnej	54
4.3 Porównanie grupy badanej i grupy kontrolnej	55
4.3.1 Witamina D3.....	55
4.3.2 Selen	55
4.3.3 Cynk	56
4.3.4 Żelazo	57

4.3.5 Wybrane kwasy tłuszczowe	57
4.4 Badanie ankietowe.....	59
4.5 Szczepienie przeciwko grypie	61
5. Omówienie wyników i dyskusja.....	61
6. Wnioski.....	71
7. Streszczenie	72
8. Summary	74
9. Bibliografia	75
10. Spis tabel	88
11. Spis rycin	89
12. Załączniki	91

1. Wstęp

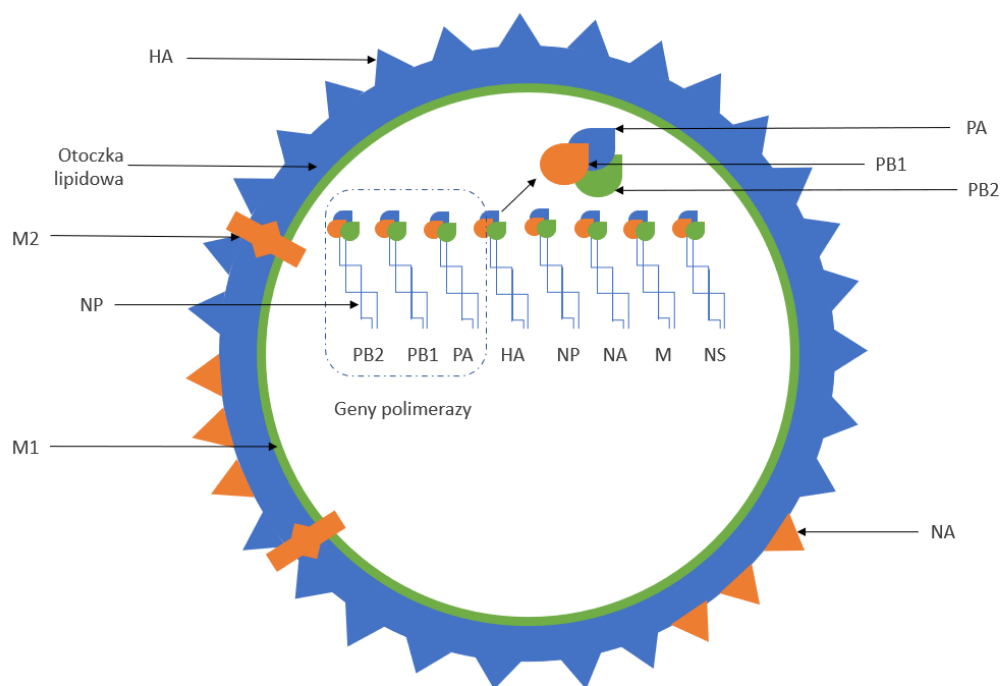
1.1.1 Budowa wirusa grypy

Wirus grypy został wyizolowany w 1933 roku w Londynie, przez: Ch. Andrews, W. Smith oraz P. Laidlaw [1]. Należy on do rodziny Orthomyxoviridae. Wiriony najczęściej mają kształt sferyczny, a ich średnica waha się między 80 a 120 nm [2]. W zależności od budowy wyróżnia się 3 typy wirusa: A, B lub C. Wirion grypy A posiada podwójną osłonkę lipidową, w której znajdują się białko błonowe M2 oraz dwie glikoproteiny: hemagglutynina (HA, ang. *hemagglutinin*) i neuraminidaza (NA, ang. *neuraminidase*), które budują charakterystyczne wypustki. Stosunek HA do NA na powierzchni osłonki wynosi około 4 do 1. Otoczka wraz z białkami błonowymi (HA, NA oraz M2) pokrywają macierz proteiny M1, wewnątrz której znajduje się rdzeń wirionu. Proteina M1 zbudowana jest z fragmentu białkowego (białko transportujące jądro, NEP) oraz kompleksu rybonukleoprotein (RNP), na który składają się RNA pokryty nukleoproteiną (NP, ang. *nucleoprotein*) oraz RNA zależne od polimerazy, zbudowane jest z podjednostek: dwóch „zasadowych” (PB1, PB2) i jednej „kwaśnej” (PA). Wirion grypy typu B zbudowany jest z czterech białek otoczki: HA, NA oraz NB i BM2 (zamiast białka M2). Wirion grypy C zawiera tylko jedną glikoproteinę powierzchniową - HEF (białko fuzyjne hemagglutyniny i esterazy) oraz mniejsze białko otoczki CM2 [3]. Na rycinie 1 przedstawiono schemat budowy wirusa grypy.

Genom wirusów z rodziny Orthomyxoviridae składa się z 7-8 segmentów jednoniciowego RNA o ujemnej polaryzacji. Sekwencje powtarzalne występują na obu końcach genomu. Koniec 5' zawiera sekwencje o długości 12-13 nukleotydów, natomiast na końcu 3' 9-11 nukleotydów. Ciągłą ewolucję wirusy grypy zawdzięczają gromadzeniu w genomie mutacji punktowych, ale także zjawisku reasortacji: wymianie fragmentów jednoniciowego RNA. Liczne błędy w procesie replikacji wirusa wynikają z braku funkcji naprawczej polimerazy RNA [3, 4].

Wirusy grypy różnią się między sobą nie tylko budową, ale także patogennością. Wirus grypy A infekuje wiele gatunków zwierząt (ludzie, ptaki, świnie, konie i wiele innych), natomiast zakażenia wirusem grypy B lub C dotyczą prawie wyłącznie ludzi.

Zgodnie z zasadami dotyczącymi nomenklatury najpierw opisuje się typ wirusa (A,B,C), w następnej kolejności gospodarza, miejsce gdzie wyizolowano szczep, numer oraz rok izolacji. Wirus grypy typu A został sklasyfikowany w 16 podtypów w zależności od rodzaju zawartej w nim hemagglutyniny (H1-H16) i neuraminidazy (N1-N9). Przykładowo: A / Panama / 2007/1999 (H3N2) izolat numer 2007 wirusa ludzkiej grypy A, wyizolowany w Panamie w 1999 r. podtyp HA 3 oraz podtyp 2 NA [3, 5].



Ryc. 1. Budowa wirionu wirusa grypy typu A. Rycina przedstawia wirion wirusa grypy typu A. Wewnątrz znajduje się osiem jednociowych segmentów RNA. Za syntezę RNA i namnażanie w zakażonych komórkach odpowiadają podjednostki polimeraz RNA. Hemaglutynina (HA) kodowana jest przez czwarty segment RNA. W następnej kolejności segment piąty RNA koduje neuraminidazę (NA) odpowiedzialną za rozprzestrzenianie się wirusa, poprzez wiązanie z niefunkcjonalnymi receptorami. Nukleporoteina (NP) wiąże genom wirusa. Segmenty od 6 do 8 kodują większą ilość białek w tym białko macierzy (M1), które stanowi rusztowanie wirionu oraz białko błonowe (M2), które jest protonowym kanałem jonowym. Białko NS1 hamuje odpowiedź przeciwwirusową w zakażonych komórkach gospodarza [6 w modyfikacji własnej].

1.1.2 Epidemiologia grypy

W klimacie umiarkowanym coroczne zachorowania na grypę sezonową przypadają w okresie od października do kwietnia, ze szczytem zachorowań w styczniu lub w lutym. W Polsce w sezonie 2018/2019 (od września do kwietnia) zarejestrowano 3 954 235 zachorowań, w sezonie 2019/2020 w tym samym okresie zanotowano 3 769 480 chorych. Zakażenie wirusem grypy było przyczyną hospitalizacji 15 719 chorych w 2018/2019 roku, natomiast w latach 2019/2020 pobytu w szpitalu wymagało 16 684 pacjentów [7].

Wirus grypy może być przyczyną cyklicznych epidemii lub pandemii. Przyczyną tego zjawiska jest mechanizm mutacji antygenowej wirusa, do którego należy przesunięcie antygenowe (ang. *drift*) i skok antygenowy (ang. *shift*). Proces przesunięcia antygenowego jest spowodowany miejscową delecją, podstawieniem lub insercją w obrębie genów hemaglutyniny i neuraminidazy. Skok antygenowy polega na wymianie całych fragmentów RNA, do której może dojść zarówno pomiędzy wirusami typowo ludzkimi, jak i pomiędzy ludzkimi i zwierzęcymi. Zjawisko to prowadzi do powstania zupełnie nowych wariantów wirusa, o nieznanych dotąd podtypach hemaglutyniny i neuraminidazy. Konsekwencją zjawiska jest brak odporności populacji i jej zwiększona zachorowalność na zakażenia wywołane nowopowstałymi wirusami [8, 9]. Przykładem wariantu wirusa grypy, który powstał w wyniku przemieszczenia segmentów genów pomiędzy wirusem ludzkim, świńskim i ptasim jest szczep H1N1, będący przyczyną światowej pandemii 2009 roku [9, 10].

W Polsce regulację prawną dotyczącą nadzoru epidemiologicznego nad grypą stanowią ustawa z dnia 5 grudnia 2008r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi [11]. oraz rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 10 lipca 2013 r. w sprawie zgłoszeń podejrzenia lub rozpoznania zakażenia, choroby zakaźnej lub zgonu z powodu zakażenia lub choroby zakaźnej, która nakłada na lekarzy obowiązek raportowania zachorowań [12]. Ponadto Polska dołączyła w 1957 roku do Międzynarodowego Programu Nadzoru and Grypą, nad którą pieczę sprawuje Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*, WHO). W Polsce od 2004 roku prowadzony jest europejski system nadzoru epidemiologicznego i wirusologicznego nad grypą SENTINEL, który polega na co tygodniowym raportowaniu szczegółowych danych o zachorowaniach [13].

1.1.3 Patofizjologia grypy

Rezerwuarem wirusa grypy są ludzie oraz zwierzęta (ptaki domowe, dzikie; świnie, konie). Zakażenie wirusem przenoszone jest drogą kropelkową lub poprzez kontakt bezpośredni ze skażonymi przedmiotami [14, 15].

Cykl replikacyjny wirusa grypy trwa od 6 do 12h. Za proces penetracji wirusa grypy do wnętrza komórek układu oddechowego odpowiada hemaglutynina. Ma ona zdolność wiązania się z kwasem sjałowym na komórkach gospodarza. Neuraminidaza dzięki aktywności enzymatycznej ułatwia przenikanie wirusa do receptorów komórkowych w drogach oddechowych. Po wnikięciu wirionu do komórki dochodzi do zwiększenia kwasowości wewnątrz endosomu, aktywacji hemaglutyniny i utworzenia peptydu fuzyjnego. W wyniku namnażania wirusa wewnątrz komórki dochodzi do jej uszkodzenia i uwolnienia około 1000 nowych wirionów. Jest to mechanizm w wyniku którego dochodzi do rozprzestrzeniania wirusa w komórkach nabłonkowych dróg oddechowych [14, 16].

Okres wylęgania zakażenia wirusem grypy wynosi od 1 do 4 dni. Osoba dorosła staje się zakaźna 24h przed wystąpieniem objawów do 5 dni po wystąpieniu, w populacji dziecięcej okres ten jest dłuższy, do 10 dni od pierwszych symptomów [14].

1.1.4 Przebieg kliniczny grypy

Grypa jest ostrą, samoograniczającą infekcją dróg oddechowych zazwyczaj o niepowikłanym przebiegu. Do klasycznych objawów zakażenia zaliczamy gorączkę, ból głowy (najczęściej w okolicy czołowej, zlokalizowany zagłębowo), bóle mięśni, osłabienie, kaszel, ból gardła oraz mierny nieżyt nosa. W przebiegu grypy w populacji dziecięcej mogą pojawić się także objawy ze strony przewodu pokarmowego takie jak wymioty, biegunka czy brak apetytu [17]. Długość trwania grypy w przypadku jej niepowikłanego przebiegu wynosi około 7 dni.

1.1.5 Powikłania zakażenia wirusem grypy

W populacji możemy wyodrębnić osoby szczególnie narażone na wystąpienie powikłań a nawet zgonu w przypadku zakażenia wirusem grypy (Tab.1).

Tabela 1. Osoby szczególnie narażone na powikłania pogrypowe [18]

Grupy narażone na powikłania w wyniku zakażenia wirusem grypy
osoby starsze > 65 roku życia
dzieci < 2 roku życia
osoby z otyłością z BMI > 40
osoby z chorobami przewlekłymi: • choroby układu oddechowego: astma, przewlekła obturacyjna choroba płuc, mukowiscydoza • choroby układu krążenia: choroba niedokrwienna serca, niewydolność serca, stan po przebytym udarze • choroby układu nerwowego • choroby hematologiczne: niedokrwistość • choroby endokrynologiczne: cukrzyca • choroby nerek, wątroby • choroby metaboliczne: wrodzone oraz mitochondrialne
osoby z niedoborami odporności z powodu zakażenia wirusem HIV, choroby nowotworowej, stosowania przewlekłej kortykosteroidoterapii, chemioterapii, leków immunosupresyjnych
osoby < 19 roku życia przyjmujące przewlekłe preparaty kwasu salicylowego

1.1.5.1 Zapalenie płuc

Zapalenie płuc jest jednym z najczęstszych powikłań grypy. W populacji pediatrycznej szczególnie narażeni są pacjenci chorujący na astmę oskrzelową, choroby układu sercowo-naczyniowego, z opóźnieniem rozwoju psychoruchowego oraz z zaburzeniami ze strony układu nerwowo-mięśniowego. Niemal dwukrotnie częściej zapalenie dolnych dróg oddechowych w przebiegu grypy dotyczy najmłodszych dzieci, poniżej <5 roku życia. Predyspozycja ta może wynikać ze zwiększonej ekspozycji na patogeny układu oddechowego w instytucjach opieki dziennej takich jak żłobki, przedszkola oraz braku wcześniejszego narażenia na wirusa grypy. Dzieci z zapaleniem płuc w przebiegu grypy częściej rozwijają niewydolność oddechową wymagającą wentylacji mechanicznej w oddziale intensywnej terapii, w porównaniu do dzieci bez towarzyszącej pneumonii. Zakażenie wirusowe jest czynnikiem sprzyjającym wtórnym nadkażeniom bakteryjnym [19].

Najczęstszymi patogenami bakteryjnymi wtórnymi izolowanymi u dzieci z powikłaniami ze strony układu oddechowego (tj. zapalenie płuc, ropień, ropniaki) lub posocznica są *Streptococcus pneumoniae* oraz *Staphylococcus aureus* [20, 21]. Uszkodzenie komórek nabłonka oddechowego powstałe w wyniku procesu uwolnienia potomnych wirionów grypy sprzyja adhezji *Streptococcus pneumoniae*. Dysfunkcja transportu śluzowo – rzęskowego, nadmierna produkcja surfaktantu, obrzęku stwarza warunki do powstania obturacji drobnych

oskrzelików i jednocześnie stwarza idealne środowisko do rozwoju bakterii. Infekcja wirusowa może być przyczyną leukopenii, która sprzyja nadkażeniom bakteryjnym i wiąże się z gorszym rokowaniem [22, 23, 24].

1.1.5.2 Podgłośniowe zapalenie krtani

Typowym powikłaniem grypy u dzieci jest podgłośniowe zapalenie krtani tzw. pseudo krup. Częściej jego przyczynę stanowią wirusy paragrypy, natomiast wirus grypy powoduje postać o cięższym przebiegu klinicznym [25, 26]. Ponadto wirus grypy typu A może być czynnikiem predysponującym do bakteryjnego zapalenia tchawicy [27].

1.1.5.3 Powikłania ze strony ośrodkowego układu nerwowego (OUN)

Do najczęściej opisywanych powikłań ze strony OUN należą: drgawki, encefalopatia, ostre rozsiane zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego, ostra encefalopatia martwicza, zespoły Reye'a oraz Guillain Barre'a [28]. Objawy neurologiczne mogą pojawić się zarówno na początku zakażenia wirusem grypy jak i w późniejszym czasie, a za najważniejszy czynnik ryzyka uważa się niski wiek, szczególnie dotyczy to dzieci poniżej 5 roku życia. Niektórzy badacze wskazują na związek między współistniejącymi dysfunkcjami neurologicznymi a możliwością rozwoju powikłań poinfekcyjnych [29, 30, 31].

Drgawki gorączkowe to napady toniczne, kloniczne lub toniczno-kloniczne z towarzyszącymi zaburzeniami świadomości występujące u dzieci wieku od 6 miesięcy do 5 roku życia, które są związane z gorączką. Częściej dotyczą chłopców niż dziewcząt [32]. U dzieci zakażonych wirusem grypy częściej obserwuje się występowanie napadów częściowych [33]. Badania sugerują, że u dzieci zakażonych typem A grypy występuje większa skłonność do występowania drgawek gorączkowych, a przy podobnych czynnikach ryzyka i tej samej temperatury ciała wzrasta ilość i nawrotowość napadów [32]. Od niedawna istnieją publikacje dotyczące nowej substytucji aminokwasów w miejscu wiązania receptora w genach hemaglutyniny wirusa typu A, która może mieć powiązanie z jego neurotropizmem [34].

Zapalenie mózgu, ostra encefalopatia martwicza stanowią powikłania grypy typowe dla populacji dziecięcej. Pierwsze symptomy pojawiają się w ciągu tygodnia od początku choroby, a śmiertelność sięga nawet 30%. Dotychczas najwięcej przypadków tego typu powikłań opisano w Japonii [35]. Patogeneza zapalenia mózgu, encefalopatii jest niejasna. U większości pacjentów nie wykrywa się wirusowego RNA w płynie mózgowo-rdzeniowym, a badanie patologiczne tkanek mózgu nie wykazuje obecności antygeny wirusowego [36, 37, 38]. Inwazja

oraz namnażanie wirionów w tkankach mózgu, prowadzących do destrukcji komórek OUN wydają się mało prawdopodobne [29, 35]. Yokota i współautorzy sugerują, iż w patogenezie grypowego zapalenia mózgu oraz ostrej martwiczej encefalopatii istotną rolę odgrywa hipercytokinemia (podwyższone stężenie TNF-1 (ang. *tumor necrosis factor*), IL-1b (ang. *interleukin 1b*), IL-6 (ang. *interleukin 6*) w surowicy i płynie mózgowo-rdzeniowym) i uszkodzenie śródbłonna naczyniowego naczyń krwionośnych [39]. Analogiczne zjawisko obserwuje się w chorobie Kawasaki, gdzie dochodzi do uogólnionej reakcji zapalnej oraz uszkodzenia naczyń. Choroba Kawasaki często występuje wśród populacji azjatyckiej, co może być spowodowane genetyczną predyspozycją do nadmiernej produkcji cytokin zapalnych. Tym samym tłumaczyłoby to skłonność do rozwoju grypowego zapalenia mózgu i encefalopatii wśród Japończyków [35].

Zespół Reye'a to ostra choroba przebiegająca z encefalopatią oraz degeneracją wątroby, która pierwszy raz została opisana w 1963 roku w Australii [40]. Charakteryzuje się wymiotami, zaburzeniami świadomości takimi jak splątanie, majaczenie oraz śpiączka. W badaniach laboratoryjnych obserwuje się hiperamonemię oraz podwyższoną aktywność aminotransferazy alaninowej (ang. *alanine transaminase*, ALAT) oraz asparaginianowej (ang. *aspartate aminotransferase*, ASPAT). Wykazano związek przyczynowy występowania zespołu Reye'a ze stosowaniem salicylanów podczas infekcji wirusowych takich jak grypa czy ospa wietrzna. Ograniczenie przyjmowania salicylanów u dzieci znacznie wpłynęło na zmniejszenie częstości występowania zespołu Reye'a, który charakteryzował się wysoką śmiertelnością [41].

1.1.5.4 Zapalenie ucha środkowego

Zakażenie wirusem grypy u dzieci predysponuje do ostrego zapalenia ucha środkowego (OZUŚ), które z kolei jest najczęstszym powodem stosowania antybiotykoterapii w warunkach ambulatoryjnych [42, 43, 44]. Udowodniono, iż stosowanie szczepień przeciwko grypie oraz stosowanie leczenia grypy doustnym inhibitorem neuraminidazy znacząco ogranicza zachorowalność na ostre zapalenie ucha środkowego [44, 45, 46].

1.1.5.5 Zapalenie mięśni związane z grypą (IAM)

Pierwszy opis zapalenia mięśni związanego z grypą został przedstawiony przez Lunberga w 1957 roku, który opisał grupę 70 dzieci i 4 dorosłych z objawami. Lunberg nazwał to schorzenie „myalgia cruris epidemica” i wysunął podejrzenie jego wirusowej etiologii. Autor opisywanej publikacji nie wykonywał badań aktywności kinazy fosfokreatynowej (ang.

creatine kinase, CK), ani też badań które mogłyby potwierdzić korelację z wirusem [47]. Dopiero w 1970 roku Middelton dostarczył dowody laboratoryjne potwierdzające związek wirusa grypy z objawami ze strony układu mięśniowego. Opisywane schorzenie nazwano w nomenklaturze zapaleniem mięśni, pomimo braku charakterystycznych cech histopatologicznych typowych dla tego schorzenia [48]. Powikłanie to jest rzadkie i dotyczy przede wszystkim chłopców [49, 50]. Może to wynikać z dużej wrażliwości na zakażenie niedojrzałych komórek mięśniowych [51, 52]. Okres od pierwszych objawów grypy do pojawienia się zapalenia mięśni średnio trwa 3 dni [49]. IAM częściej towarzyszy zakażeniu wirusem grupy B niż pozostałym wariantom [50, 52, 53].

W obrazie klinicznym dominują bóle kończyn, zwłaszcza nóg. Dolegliwości pojawiają się nagle, mogą być bardzo nasilone doprowadzając tym samym do zaburzeń chodu lub odmowy poruszania się. W IAM w badaniu przedmiotowym nie stwierdza się odchyleń w badaniu neurologicznym, choć zdarza się, że nasilone dolegliwości bólowe mogą spowodować osłabienie siły mięśniowej u dzieci. W badaniach laboratoryjnych zawsze występuje podwyższona aktywność kinazy fosfokreatynowej. Dodatkowo ze względu na ryzyko wystąpienia rabdomiolizy i tym samym uszkodzenie nerek należy u każdego pacjenta monitorować parametry funkcji nerek oraz badanie ogólne moczu [49, 52].

1.1.5.6 Zapalenie mięśnia sercowego

Rzadkim powikłaniem grypy może być zapalenie mięśnia sercowego. Wirus grypy jest przyczyną 1-2% przypadków myocarditis. Obraz kliniczny jest bardzo zróżnicowany, od bezobjawowego przebiegu, wstrząsu kardiogennego oraz nagłego zgonu. Pierwsze objawy takie jak duszność, ból w klatce piersiowej, zaburzenia rytmu serca, nietolerancja wysiłku pojawiają się między 4 a 7 dobą od początku choroby. W badaniach laboratoryjnych notuje się podwyższone stężenie kinazy kreatynowej, izoenzymu MB kinazy kreatynowej (ang. *creatine kinase isoenzyme MB*, CK-MB) oraz troponin. Nieprawidłowe zapisy elektrokardiograficzne (obniżenie lub uniesienie odcinka ST, ujemne załamki T) oraz obrazy echokardiogramu (uogólnione lub odcinkowe zaburzenia kurczliwości prawej i/lub lewej komory) są podstawą w diagnostyce powikłań kardiologicznych grypy [54]. Charakterystyczne jest szybkie narastanie objawów co wiąże się potrzebą intensywnej farmakoterapii (leczenie przeciwwirusowe oraz objawowe niewydolności serca). Niekiedy w wyniku braku poprawy po zastosowanym leczeniu pacjent wymaga przeszczepu serca [55, 56].

1.1.6 Diagnostyka wirusa grypy

W celu potwierdzenia zakażenia wirusem grypy wykorzystuje się kilka metod różniących się czułością i swoistością. Szybki test diagnostyczny (ang. *rapid influenza diagnostics test*, RIDT) identyfikuje obecność antygenów nukleoprotein wirusa grypy A i B. Zaletą tej metody jest krótki czas oczekiwania na wynik, lecz niestety charakteryzuje się stosunkowo niską czułością, która obniża się w trakcie trwania infekcji. Jest to najczęstsza metoda stosowana w izbach przyjęć, szpitalnych oddziałach ratunkowych. Najbardziej czule i swoiste są badania genetyczne wykonywane metodą reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkryptazą w czasie rzeczywistym (ang. *polimerase chain reaction in real time*, RT-PCR). Pozwalają one na szczegółowe sklasyfikowanie typu oraz podtypu wirusa grypy. Wadą tej metody może być brak możliwości zastosowania jej w celach przesiewowych w warunkach ambulatoryjnych, szpitalnych izbach przyjęć z uwagi na czas oczekiwania na wynik badania. Wirusa grypy można jeszcze zidentyfikować poprzez wykonanie szybkich testów genetycznych, wykrywających kwas nukleinowy wirusa grypy. Czas oczekiwania na wynik trwa około 30 minut. W porównaniu do badań genetycznych RT-PCR charakteryzują się one nieco mniejszą czułością sięgającą 95%. Rzadziej stosowaną metodą w identyfikacji zakażenia są testy immunofluorescencyjne wykrywające antygen wirusa grypy. Metoda charakteryzuje się umiarkowaną czułością oraz wysoką swoistością. Nie umożliwia identyfikacji typu wirusa grypy. Metodą, która pozwala na szeroką diagnostykę antygenową i genetyczną wirusa grypy jest hodowla. Czas oczekiwania na wynik wynosi od 3-10 dni, dlatego nie jest przydatna w postępowaniu klinicznym [57, 58].

Materiał do badania stanowią aspirat/popłuczyny z nosa i części nosowej gardła. Alternatywnie dokonuje się wymazu z nosa i gardła. W obu przypadkach zaleca się pobieranie w ciągu pierwszych 48 h od początku trwania infekcji, maksymalnie do 5 dni. Po upływie tego czasu dopuszcza się pobranie u osób z utrzymującymi się, bądź nasilającymi się objawami wśród dzieci oraz u osób z niedoborami odporności [57].

1.1.7 Leczenie

W leczeniu zakażenia wirusem grypy możemy wyróżnić dwie grupy farmaceutyków. Pierwsza grupa to blokery kanału jonowego, zaliczamy do niej amantadynę oraz rymantadynę. Działają one na białko M2, które wchodzi w skład wirionu grypy typu A. Drugą grupę stanowią leki szerszym zastosowaniu z uwagi na działanie na wszystkie typy wirusa grypy, są to inhibitory neuraminidazy tj. zanamiwir, oseltamiwir [59]. Inhibitory neuraminidazy różnią się między

sobą drogą podawania, oseltamiwir jest stosowany doustnie, zanamiwir wziewnie. W Polsce jedynym dostępnym lekiem przeciw grypowym jest oseltamiwir. Długość leczenia trwa 5 dni [59].

Zastosowanie leczenia przeciwwirusowego wpływa na skrócenie trwania choroby, zmniejszenie ryzyka pojawienia się powikłań oraz zmniejszenie śmiertelności. Zaleca się włączenie leczenia przyczynowego w ciągu pierwszych 48 h trwania choroby. W przypadku ciężkiego przebiegu należy włączyć oseltamiwir niezależnie od czasu trwania grypy [57, 60].

1.1.8 Profilaktyka

Metody profilaktyki możemy podzielić na swoiste i nieswoiste. Do swoistych metod profilaktyki należy coroczne szczepienie przeciwko grypie preparatem o zaktualizowanym składzie, które jest rekomendowane przez Światową Organizację Zdrowia. W sezonie 2020/21 dostępne były 4 rodzaje szczepionek czterowalentnych, trzy z nich inaktywowane, natomiast jedna w formie donosowej była szczepionką żywą zawierającą atenuowane wirusy grypy. W ubiegłych latach dysponowano szczepionkami inaktywowanymi trój i czterowalentnymi [61]. Szczepienie zalecane jest dla wszystkich osób powyżej 6 miesiąca życia, szczególnie w grupie dzieci poniżej 2 lat, których najczęściej dotyczy hospitalizacja z powodu grypy [60]. W celu zapobiegania powikłaniom grypy ważną rolę odgrywają szczepienia przeciwko *Streptococcus pneumoniae*, które znacznie ograniczają występowanie inwazyjnej choroby pneumokokowej, na którą szczególnie narażone są dzieci zakażone wirusem grypy, bądź zaraz po przechorowaniu [23, 24]. Dzieci poniżej 6 miesiąca życia mogą być chronione przed zakażeniem dzięki „strategii kokonu” (wszystkie osoby z otoczenia niemowlęcia są zaszczepione), ale także za pomocą przeciwciał odmatczyń, które zostały nabyte przez matkę w ciąży na skutek szczepienia lub przechorowania. Dzieci karmione piersią, uzyskują działanie ochronne poprzez swoiste IgA zawarte w mleku kobiecym [62, 63].

U osób z czynnikami ryzyka ciężkiego przebiegu choroby, narażonymi na kontakt z osobą z potwierdzonym zakażeniem wirusem grypy zaleca się profilaktykę poekspozycyjną w oparciu o oseltamiwir. W ramach profilaktyki poekspozycyjnej zmniejsza ryzyko wystąpienia zakażenia o 55% [57].

Do metod nieswoistych w profilaktyce zakażeń wirusem grypy należą: izolacja chorych w okresie zakaźności, częste mycie rąk, stosowanie masek ochronnych [57].

1.2. Krótkie omówienie wybranych pierwiastków, witamin oraz kwasów tłuszczowych analizowanych w pracy doktorskiej.

1.2.1 Witamina D3

Witaminę D opisał McCollum w 1922 roku. W przyrodzie występuje w dwóch postaciach: ergokalcyferol (D2) oraz cholekalcyferol (D3). Należy do grupy witamin rozpuszczalnych w tłuszczach.

Główne źródła witaminy D3 dla człowieka stanowią dieta, suplementy oraz endogenna synteza skórna, a w okresie prenatalnym transport przezłożyskowy. Endogenna synteza skórna polega na przekształceniu 7-dehydrocholesterolu pod wpływem promieniowania UVB. Cholekalcyferol powstały w skórze oraz pochodzący z diety, suplementów wchłonięty w jelicie cienkim jest transportowany w połączeniu z białkiem wiążącym witaminę D (ang. *vitamin D binding*, DBP) do wątroby, gdzie ulega procesowi hydroksylacji do 25-hydroksywitaminy D3 (kalcydiol), następnie w nerkach pod wpływem 1 α -hydroksylazy do 1 α , 25-dihydroksywitaminy D3 (kalcytriol). Enzym 1 α -hydroksylaza przekształca kalcydiol do kalcytriolu również poza nerkami (trzustka, prostata, przytarczycy, mózg, jelito grube, kości, gruczoł sutkowy, komórki endotelium, makrofagi, keratynocyty).

W przypadku nadmiernej ekspozycji na promieniowanie słoneczne dochodzi do powstawania nieaktywnych form (lumisterol, suprasterol, tachysterol), co zapobiega hiperwitaminozie. Powyżej 35 stopnia szerokości geograficznej północnej, w której leży Polska, efektywna synteza zachodzi od kwietnia do września podczas ekspozycji w czasie 15 minut z odsłonięciem przedramion i częściowo kończyn dolnych w godzinach od 10 do 15. Aktualnie znaczenie endogennej syntezy skórnej jako źródła witaminy D jest ograniczone z uwagi na popularność stosowania kremów z wysokimi filtrami UV, zanieczyszczenie powietrza. Dodatkowo styl życia uniemożliwia zażywania kąpielei słonecznych w wyżej wymienionych porach dnia.

Polacy należą do społeczeństwa o niskiej konsumpcji produktów o wysokiej zawartości witaminy D3. U podstaw tego leży niewielkie spożycie tłustych ryb, takich jak węgorz, śledź, łosoś, makrela. Ponadto niewiele produktów spożywczych jest wzbogaconych w witaminę D3. Do produktów wzbogacanych należą mleka modyfikowane dla niemowląt, kaszki mleczno-zbożowych oraz niektóre płatki śniadaniowe. Ze względu na brak możliwości pokrycia zapotrzebowania na witaminę D3 poprzez dietę oraz endogenną syntezę skórą popularność zyskały suplementy. Na rynku dostępne są różnorodne preparaty, zarejestrowane jako leki, ale także liczne suplementy diety, środki spożywcze specjalnego przeznaczenia medycznego,

preparaty wielowitaminowe, które istotnie różnią się zawartością witaminy D3 [64, 65]. W załączonej tabeli 2 przedstawiono wytyczne suplementacji.

Tabela 2. Wytyczne suplementacji witaminy D3 [66]

Grupa wiekowa (lata)	Dobowe dawki witaminy D3 (IU)
0 - 6 miesięcy	400 IU
6 - 12 miesięcy	400 - 600 IU (zależne od ilości zawartej w pokarmie)
1 - 10 lat	600 - 1000 IU
11 - 18 lat	800 - 2000 IU
19 - 65 lat	800 - 2000 IU
> 65 roku życia, osoby z ciemną karnacją	800 - 2000 IU
> 75 roku życia	2000 - 4000 IU
Kobiety w czasie ciąży, laktacji	2000 IU
Noworodki urodzone przedwcześnie poniżej 32 tygodnia ciąży	800 IU
Noworodki urodzone między 33 a 36 tygodniem ciąży	400 IU

Aktywna forma witaminy D3 działa na tkanki docelowe w mechanizmie genomowym i niegenomowym. Kalcytriol łącząc się z receptorem witaminy D (ang. *vitamin D receptor*, VDR) w jądrze komórkowym tworzy heterodimer o właściwościach czynnika transkrypcyjnego, co uruchamia działania genomowe. W ten sposób witamina D3 staje się regulatorem wielu genów w ludzkim genomie. W działaniach niegenomowych celem jest receptor zlokalizowany w błonie komórkowej, który uruchamia wewnątrzkomórkowe szlaki metaboliczne wpływające na działania pochodzące z ekspresji genowej.

Dotychczas najlepiej poznaną rolą witaminy D3 w organizmie był wpływ na metabolizm kości i gospodarkę wapniowo-fosforanową. Przełomowa w historii badań nad witaminą D była publikacja Stumpfa w 1979 r. Odkrycie receptora VDR poza układem szkieletowym, w większości układów i narządów człowieka zrewolucjonizowało świat nauki [67].

Aktualną uwagę badaczy skupia pleiotropowe działanie kalcytriolu, który bierze udział w wielu procesach fizjologicznych ludzkiego organizmu. Ma działanie przeciwnowotworowe poprzez wpływ na apoptozę i spowolnienie namnażania komórek nowotworowych. Ogromny wpływ witamina D3 wywiera na układ immunologiczny, między innymi zwiększa produkcję

naturalnych antybiotyków katelicydyny oraz betadefensyny, moduluje ilość cytokin zwiększając stężenie przeciwzapalnych interleukiny 4 (ang. *interleukin 4*, IL-4), interleukiny 5 (ang. *interleukin 5*, IL-5), interleukiny 10 (ang. *interleukin 10*, IL-10) jednocześnie zmniejszając stężenie prozapalnych interleukiny 1 (ang. *interleukin 1*, IL-1) i czynnika martwicy nowotworów alfa (ang. *tumor necrosis factor*, TNF α). Witamina D3 odgrywa znaczącą rolę walce z ostrymi i przewlekłymi procesami chorobowymi, w tym schorzeniami z zakresu autoagresji, za czym przemawia duża zawartość receptorów dla kalcytriolu w makrofagach, limfocytach T i B oraz komórkach dendrytycznych. Ponadto kalcytriol wpływa na układ renina - angiotensyna - aldosteron zmniejszając wydzielanie reniny, hamuje proces zwapnienia naczyń krwionośnych oraz angiogenezę [68].

1.2.2 Żelazo

Szacuje się, że w ludzkim organizmie zawiera się 40 -70 mg/kg masy ciała żelaza, z czego największa część zawarta jest w hemoglobinie. 60 %, w mioglobinie znajduje się około 9% zasobów tego pierwiastka, 20-30% stanowi żelazo zapasowe, 1% wchodzi w skład enzymów [66]. Wchłanianie żelaza zachodzi w odcinku proksymalnym dwunastnicy. Wydalanie odbywa się w niewielkich ilościach w moczu, żółci oraz w wyniku złuszczenia nabłonka jelitowego. Proces wchłaniania jest ściśle regulowany przy udziale hepcydyny i erytropoetyny. Zwiększoną absorpcję żelaza zapewnia obecność kwasu askorbinowego, białek zwierzęcych, aminokwasów (glicyna, cysteina, lizyna, metionina), fruktozy, sorbitolu, kwasu solnego.

W przeciwieństwie do wapnia, manganu, miedzi, błonnika, węglanów, fitynianów, salicylanów, szczawianów, cynku, zasadowego odczynu w przewodzie pokarmowym, które zmniejszają wchłanianie żelaza [69, 70, 71].

Żelazo magazynowane jest w postaci ferrytyny, w mniejszym stopniu hemosyderyny. Źródłem żelaza dla człowieka są zawarte w diecie trójwartościowe żelazo niehemowe i dwuwartościowe żelazo hemowe.

Tabela 3. Źródła żelaza w diecie człowieka [70, 72]

Źródła żelaza niehemowego	Źródła żelaza hemowego
Fasola, szpinak, sałata, natka pietruszki, szczypiorek, bób, pszenica, soja, suszone owoce (morele, daktyle), orzechy nerkowca, sezam, pestki dyni, otręby, mak	Produkty odzwierzęce zwłaszcza czerwone mięso i podroby (wątroba, serce, nerki)

Tabela 4. Zapotrzebowanie na żelazo u dzieci [72]

Grupa wiekowa (lata)	Dawka żelaza na dobę
Niemowlęta do 6 miesiąca życia	6 mg
Od 6 do 12 miesiąca życia	10 mg
Od 1 do 10 lat	10 mg
Chłopcy od 11 do 18 lat	12 mg
Dziewczęta od 11 do 18 lat	15 mg

Zarówno niedobór jak i nadmiar żelaza w organizmie może mieć negatywny wpływ na jego funkcjonowanie. Niedobór żelaza przyczynia się do nieprawidłowego działania układu odpornościowego. Jest to związane z obecnością żelaza w składzie enzymów biorących udział w procesach immunologicznych. Jednym z przykładów jest redukcja aktywności mieloperoksydazy zawartej w granulocytach obojętnochłonnych tym samym przyczyniając się do zmniejszonego powstawania kwasu podchlorawego o działaniu przeciwzapalnym i przeciwwirusowym. Ponadto niedobór opisywanego pierwiastka wpływa na produkcję cytokin, osłabia działanie bakteriobójcze monocytów oraz zmniejsza proliferację limfocytów, zwłaszcza limfocytów T [72, 73, 74, 75].

1.2.3 Cynk

Cynk jest drugim, zaraz po żelazie najważniejszym mikropierwiastkiem dla organizmu człowieka. 50% cynku jest zawarte w mięśniach, do 30% w tkance kostnej. W surowicy krwi prawidłowe stężenie waha się między 0,73 mg/l a 1,33 mg/l [76]. Funkcje cynku dzielimy na katalityczną, gdzie będąc budulcem enzymów aktywuje je oraz strukturalną, gdzie stanowi budulec dla domen wiążących kwas nukleinowy. Pierwiastek wchodzi w skład kilkuset enzymów, bierze aktywny udział w transformacji białek, tłuszczu oraz węglowodanów. Odpowiada za odczuwanie smaku, zapachu (jest składnikiem białka gustyny) oraz wpływa na regulację przewodzenia sygnałów w ośrodkowym układzie nerwowym [76, 77]. Reguluje układ immunologiczny poprzez bezpośredni wpływ na aktywność leukocytów, komórek NK (ang. *natural killer*) oraz makrofagów [78]. Co więcej pełniąc funkcję kofaktora w procesie tworzenia tymuliny, bierze udział w tworzeniu oraz różnicowaniu limfocytów T oraz ich dojrzewaniu, natomiast niedobory pierwiastka przyczyniają się do zaniku grasicy, upośledzając produkcję limfocytów T [72]. Zapobiega zatruciom metalami ciężkimi, szczególnie ołowiem [76].

Wchłanianie cynku zachodzi w jelicie cienkim, w mniejszym stopniu w żołądku, jelicie grubym, przy udziale białka bogatego w cysteinę. Ponadto ważny dla procesu absorpcji jest kwas pikolinowy zawarty w soku trzustkowym [76]. Lepszą wchłanialność cynku zapewnia towarzystwo białka zwierzęcego (histydyna, cysteina), laktozy. Negatywny wpływ na przyswajanie mają żelazo, wapń, miedź, fosforany, alkohol. Cynk wydala się w 90% z kałem, w mniejszym stopniu z moczem. Źródłem cynku w diecie człowieka są produkty pochodzenia zwierzęcego oraz zboża (tj. mięso, podroby, ostrygi, ciemne pieczywo, kasza gryczana, sery podpuszczkowe, jaja, ryż) [76, 79].

Niedobór cynku u najmłodszych może być przyczyną zahamowania wzrostu, opóźnienia dojrzewania płciowego, pojawienia się zmian skórnych łuszczycopodobnych, biegunki. Natomiast u dorosłych jest przyczyną gorszego gojenia ran, wypadania włosów, zmian skórnych rumieniowych, zaburzeń węchu i smaku. Niedobór prowadzi do rozwoju hepatosplenomegalii, atrofii jąder i jajników. Możliwe są także objawy psychiatryczne: depresja, fobia, jądłowstręt psychiczny, zmienność nastroju. Bardzo rzadko mamy do czynienia z sytuacją odwrotną, nadmiarem cynku. Dochodzi do tego w wyniku nieprawidłowej, nadmiernej suplementacji tego pierwiastka często w dawkach wielokrotnie większych niż zalecane. Skutkuje to zaburzeniami w metabolizmie żelaza oraz miedzi, powodując zaburzenia neurologiczne oraz osłabiając reakcje obronne organizmu [75, 77]. Prawidłowe stężenie nie powinno być wyższe niż 30 $\mu\text{mol/L}$ [72].

Największe zapotrzebowanie na cynk mają dzieci i młodzież, w okresie szybkiego wzrostu tj. w okresie dzieciństwa i dojrzewania.

1.2.4 Selen

Selen został pierwszy raz opisany przez Jacoba Berzeliusa w 1817 roku w Sztokholmie. W postaci nieorganicznej (seleniny, seleniany) oraz organicznej (selenometionina, selenocysteina) występuje w roślinach, natomiast wśród zwierząt występuje w postaci organicznej. Największe zasoby selenu w ludzkim organizmie znajdziemy w mięśniach, wątrobie, krwi oraz układzie kostnym, łącznie 91,5%. Do zmierzenia zawartości selenu najlepszym parametrem jest aktywność peroksydazy glutationowej w erytrocytach, ale także pomiar stężenia mikropierwiastka w surowicy [80].

Dla człowieka źródło selenu stanowi dieta bogata w mięso (zwłaszcza podroby), ryby, owoce morza, orzechy (szczególnie brazylijskie), grzyby, mleko, produkty zbożowe. Dieta warzywna ma mniejsze znaczenie w dostarczaniu selenu, niż spożywanie produktów pochodzenia

zwierzęcego. Przyswajanie selenu z diety zwiększają witaminy A, E i C, metionina, związki antyoksydacyjne [81]. Natomiast w towarzystwie jonów siarki, metali ciężkich wchłanianie selenu maleje. Proces wchłaniania zachodzi w jelicie cienkim na drodze transportu biernego (selen nieorganiczny) i aktywnego (postać organiczna), zaś wydalany jest w postaci trimetyloselenków z moczem [80, 81].

Rola selenu w fizjologii człowieka jest znacząca. Przede wszystkim jest budulcem wielu enzymów biorących udział w procesach antyoksydacyjnych. Przykładowo jako składnik izoenzymów peroksydazy glutationowej, zapewnia rozkład między innymi: nadtlenu wodoru, kwasów tłuszczowych, hydronadtlenków cholesterolu, fosfolipidów, kwasu linolowego. Wchodzi w skład selenoprotein P, G i W. Wpływa na produkcję hormonów tarczycowych oraz steroidowych. Reguluje układ immunologiczny na wielu płaszczyznach, między innymi: pobudza aktywność limfocytów, makrofagów, neutrofilii, uczestniczy w produkcji immunoglobulin, prostaglandyn. Zapobiega aktywności związków kancerogennych bezpośrednio przyczyniając się do obniżenia ryzyka wystąpienia niektórych nowotworów [72, 81, 82].

Stężenie tego pierwiastka w surowicy jest zależne od ilości selenu w pożywieniu, ale także od wieku człowieka. Najczęściej waha się między 60-120 $\mu\text{g/L}$ [81, 83]. Wartości referencyjne dla dzieci są zależne od wieku, niższe normy opracowane są dla niemowląt poniżej 1 roku życia [83]. Maksymalne stężenie selenu człowiek osiąga do 60 roku życia, następnie stężenie tego pierwiastka maleje. W populacji europejskiej obserwuje się niedobór tego cennego pierwiastka. Prawidłowe stężenie we krwi wynosi 70-150 $\mu\text{g/L}$. Ciekawostką jest, że u Polaków średnie stężenie selenu wynosi 63,5 $\mu\text{g/L}$, natomiast w badaniu przeprowadzonym wśród ludności Stanów Zjednoczonych (NHANES 2003-2004) wykazano znacznie wyższe średnie stężenie selenu we krwi (136,7 $\mu\text{g/L}$) [84, 85]. Wynika to z uwarunkowań środowiskowych w poszczególnych miejscach na świecie.

Niedobór selenu przyczynia się do rozwoju chorób cywilizacyjnych: choroba niedokrwienna serca, cukrzyca, niektóre nowotwory, udar mózgu. W latach 70. XX wieku opisano zespół objawów (niewydolność serca, arytmia) powiązany z niedoborem selenu, który nazwano kardiomiopatią młodzieńczą inaczej chorobą Keshan. Kolejną chorobą związaną ze znacznym niedoborem selenu jest choroba Kashin-Becka, której objawy to dystrofia chrząstek stawowych [86, 87].

Nadmierna suplementacja może prowadzić do zatrucia tzw. selenozy, która objawia się zaburzeniami neurologicznymi, nieżytem żołądkowo-jelitowym, wypadaniem włosów,

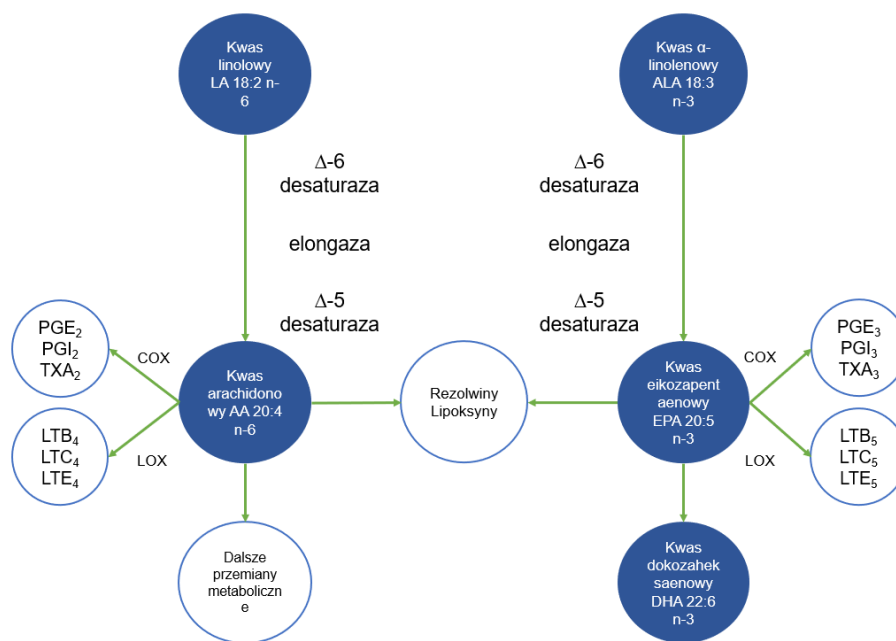
łamliwością paznokci, charakterystycznym czosnkowym zapachem z ust, wahaniami nastroju, depresją. Może prowadzić do zgonu [81].

1.2.5 Wielonienasycone kwasy tłuszczowe

Kwasy tłuszczowe dzieli się na trzy grupy w zależności od liczby podwójnych wiązań:

- nasycone (ang. *saturated fatty acids*, SFA),
- jednonienasycone (ang. *monounsaturated fatty acids*, MUFA),
- wielonienasycone (ang. *polyunsaturated fatty acids*, PUFA).

Najważniejsze wielonienasycone kwasy tłuszczowe to kwas linolowy (ang. *linolic acid*, LA), który należy do rodziny kwasów Omega 6 (ω -6) oraz należący do szeregu Omega 3 (ω -3) kwas α -linolenowy (ang. *alpha-linolenic acid*, ALA). Są one niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka, co więcej nie mogą być przez niego syntetyzowane, muszą być dostarczone z dietą [88, 89]. Często wielonienasycone kwasy tłuszczowe nazywane są witaminą F [90]. ALA oraz LA są substratami w procesie powstawania długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (ang. *long chain polyunsaturated fatty acid*, LC-PUFA). W organizmie w wyniku szeregu reakcji, przy udziale enzymów desaturazy oraz elongazy powstają z kwasu linolowego kwas arachidonowy (ang. *arachidonic acid*, AA), natomiast z kwasu α -linolenowego kwas eikozapentaenowy (ang. *eicosapentaenoic acid*, EPA) i dokozaheksaenowy (ang. *docosahexaenoic acid*, DHA) [91].



Ryc. 2. Schemat syntezy długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych – LC-PUFA. Rycina przedstawia syntezę długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych – LC-PUFA. Synteza EPA i AA zachodzi w retikulum endoplazmatycznym zaś synteza DHA zachodzi w peroksysomach. Wyjaśnienie skrótów: COX: cyklooksigenaza, LOX: lipooksigenaza [91 w modyfikacji własnej].

Najbardziej bogate w kwas linolowy produkty to orzechy włoskie, olej lniany, rzepakowy, natomiast największą zawartość kwasu α -linolenowego posiadają nasiona roślin, oliwa z oliwek, olej lniany, sezamowy, arachidowy, sojowy, bawełniany. W toku wielu badań wykazano, iż dostarczenie dużych ilości LA oraz ALA nie daje gwarancji wytworzenia satysfakcjonującej liczby LC-PUFA. Dotyczy to szczególnie wcześniaków, osób starszych, chorych przewlekle. Przyczyn upatruje się w niskiej wydajności enzymów (desaturazy, elongazy), utracie sprawności enzymatycznej, ale także nieprawidłowo zbilansowanej diecie z przewagą kwasu linolowego nad α -linolenowym. W celu zapewnienia odpowiedniego stężenia kwasu eikozapentaenowy oraz dokozaheksaenowy zaleca się spożywanie produktów takich jak ryby (śledź, pstrąg, łosoś, dorsz, sardynka, tuńczyk, makrela) oraz owoce morza, ewentualnie dołączenie dodatkowej suplementacji [91].

Pierwsze doniesienia o właściwościach prozdrowotnych kwasów tłuszczowych opublikowano już w latach 70 XX wieku. Wówczas Bang i Dyerberg prowadząc badania wśród populacji Eskimosów, zanotowali niską zapadalność na choroby układu krążenia, cukrzycę, choroby alergiczne i nowotworowe. U badanych nie stwierdzano miażdżycy naczyń. Powiązano to z dietą Eskimosów, opartą na rybach, ssakach morskich zapewniającą dużą ilość EPA

i DHA [92]. Z biegiem lat wykazano, że jak ważne jest nie tylko dostarczanie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, ale zachowanie właściwego stosunku kwasów Omega 3 do Omega 6. Stosunek Omega 6 do Omega 3 powinien oscylować 5:1, nie powinien przekraczać 10:1. U źródeł tych zaleceń stoi mechanizm powstawania produktów reakcji przemian wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Eikazonoidy (prostaglandyny, prostacykliny, tromboksany, leukotrieny) powstające z kwasów n- 6 różnią się pod względem funkcji od hormonów tkankowych pochodzących z kwasów n-3 [91].

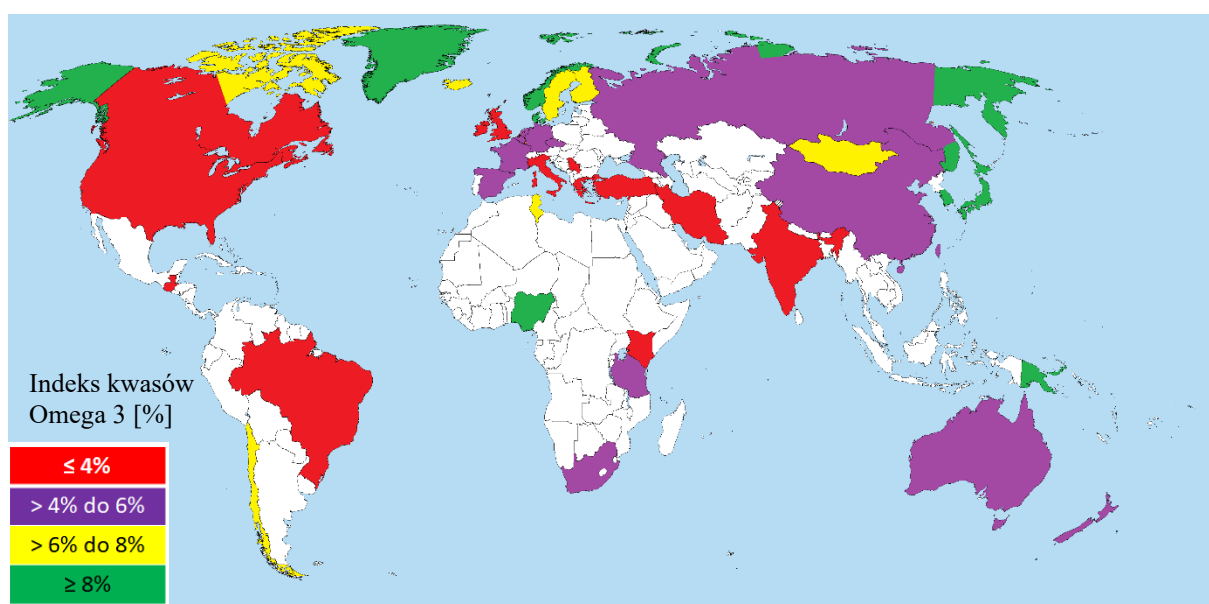
Powstające w nadmiarze produkty kwasu arachidonowego (związki dienowe: prostaglandyna E2 (ang. *prostaglandin E2*, PGE2), tromboksan A2 (ang. *thromboxane A2*, TXA2), leukotrien B4 (ang. *leukotriene B4*, LTB4) posiadają działanie aterogenne, prozapalne, stymulują proliferację komórek, w tym komórek nowotworowych. Pochodne kwasów Omega 3 mogą przeciwdziałać niekorzystnym działaniom eikazonoidów dienowych na różne sposoby. Po pierwsze kwas eikozapentaenowy konkurując o enzymy z kwasem arachidonowym zmniejsza ilość powstających szkodliwych enzymów tkankowych. W procesach elongacji i desaturacji z EPA powstają eikazonoidy trienowe o działaniu przeciwzapalnym, przeciwnowotworowym, przeciwzakrzepowym, antyaterogennym, wazodylatacyjnym. Dodatkowo kwasy Omega 3 regulują profil lipidowy, działając przeciwmiażdżycowo, kardioprotekcyjnie. Wykazano korzystny wpływ kwasów Omega 3 na przebieg chorób infekcyjnych, alergicznych oraz autoimmunologicznych, co aktualnie wzbudza największe zainteresowanie naukowców [91, 93].

Wolne kwasy tłuszczowe są budulcem błon komórkowych ośrodkowego układu nerwowego, zapewniając jego prawidłowe funkcjonowanie. W celu zapewnienia prawidłowego rozwoju neurologicznego dzieci i młodzieży niezmiennie istotna jest dieta, która zapewni odpowiednią ilość kwasów tłuszczowych, które nie mogą być syntetyzowane przez ludzki organizm [94]. Ponadto w aktualnych zaleceniach dla kobiet ciężarnych oraz karmiących przywiązuje się olbrzymią uwagę do suplementacji kwasami LC-PUFA, aby zapewnić jak najlepszy rozwój struktur nerwowych płodu a następnie niemowlęcia [91, 94, 95]. Wzbogaca się także mieszanka mleka modyfikowanego przeznaczone dla niemowląt, a szczególnie wcześniaków w LC-PUFA.

1.2.6 Indeks kwasów Omega 3

Indeks kwasów Omega 3 to zawartość kwasu eikozapentaenowego oraz kwasu dokozaheksaenowego w błonach erytrocytów wyrażony jako procent całkowitej zawartości kwasów tłuszczowych. Stężenie EPA i DHA w erytrocytach koreluje z ich zawartością w innych

komórkach organizmu. Pomiar indeksu doskonale odzwierciedla oddziaływanie metabolizmu i spożycia pokarmów bogatych w kwasy Omega 3. Indeks kwasów Omega 3 oscyluje pomiędzy 2 % a 20 % [96]. Po wykonaniu kilkuset pomiarów u Europejczyków stwierdzono, że aż u 76,15% indeks miał wartość suboptymalną, czyli poniżej 8% [97, 98]. Indeks kwasów Omega 3 pierwotnie miał zastosowanie jako marker zwiększonego ryzyka zgonu w chorobie wieńcowej. Harris podaje trzy grupy ryzyka indeksu Omega-3: indeks wynoszący 4% świadczy o wysokim ryzyku nagłej śmierci sercowej, pośrednie ryzyko dotyczy 4 - 8%, wartości powyżej 8% związane są z niskim ryzykiem [99]. Szacuje się, że indeks kwasów Omega 3 będzie użytecznym wskaźnikiem ryzyka nie tylko w zakresie schorzeń kardiologicznych, ale także chorób zapalnych, zaburzeń neuropsychiatrycznych i wielu innych [99, 100].



Ryc. 3. Rycina wartości indeksu kwasów Omega 3 u ludzi na świecie według von Schacky [98 w modyfikacji własnej].

2. Cel pracy

Celem pracy jest ocena wpływu wybranych substancji takich jak: witamina D3, selen, cynk, żelazo oraz indeksu kwasów Omega 3 na przebieg zakażenia wirusem grypy. Inspiracją do przeprowadzenia badania były częste prośby rodziców pacjentów kierowane do pediatrii o polecenie tzw. „preparatów na odporność”. Popularnym aktualnie zjawiskiem w populacji pediatrycznej jest stosowanie różnych suplementów diety, tranu, witamin i minerałów. Rodzice sami, nierzadko inspirowani reklamami, a czasem po rozmowie z lekarzem, podejmują decyzję o podawaniu dzieciom różnych środków. W badaniu zaplanowano ocenę stężenia wybranych substancji o działaniu immunomodulującym w surowicy u dzieci z gripą hospitalizowanych

w Klinice Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu oraz ich wpływ na zachorowanie oraz przebieg grypy u dzieci.

Cele szczegółowe:

- charakterystyka grupy chorych na grypę pod względem wieku, płci, typu wirusa grypy, długości hospitalizacji, czasu trwania gorączki, wyników wybranych badań laboratoryjnych oraz obrazowych,
- ustalenie stężenia witaminy D3, selenu, cynku, żelaza, Indeksu kwasów Omega 3 u dzieci z badanej grupy i kontrolnej
- porównanie wyników stężenia witaminy D3, selenu, cynku, żelaza, Indeksu kwasów Omega 3 dzieci z grupy badanej i kontrolnej,
- ustalenie zależności pomiędzy stężeniem witaminy D3, selenu, cynku, żelaza oraz Indeksu kwasów Omega 3 a przebiegiem zakażenia wirusem grypy u dzieci.

3. Materiał i metody

3.1 Pacjenci

Analizie poddano 113 pacjentów hospitalizowanych w okresie od 1.01.2019 do 1.04.2020 w Klinice Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. W analizowanym czasie wydzielono 2 okresy występowania grypy sezonowej w Polsce (tj. od października do kwietnia w latach 2018-2020).

Dzieci podzielono na dwie grupy. Pierwsza z nich to pacjenci z potwierdzonym zakażeniem wirusem grypy. Potwierdzenia dokonywano na podstawie testu wykrywającego materiał genetyczny wirusa w materiale pochodzącym z wymazu z nosa i gardła (test RT-PCR). Badanie wykonywane było w Centralnym Laboratorium Szpitala Klinicznego im. K. Jonschera Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu.

Drugą grupę stanowili pacjenci przyjmowani w celu wykonania badań diagnostycznych w związku z występowaniem u nich bólów głowy, zaburzeń rozwoju psychomotorycznego, padaczki. Warunkiem kwalifikacji do grupy kontrolnej było wykluczenie rozwijającej się infekcji obejmujące: obserwację kliniczną pacjenta uzupełnianą codziennym badaniem pediatrycznym (prowadzoną w okresie 3-dni pobytu pacjenta diagnostycznego na oddziale) oraz rutynowo wykonywane w trakcie hospitalizacji badania (CRP, morfologia z rozmazem, OB) wykorzystywane w kwalifikacji do zabiegów diagnostycznych w znieczuleniu ogólnym.

3.2 Wybrane dane z dokumentacji medycznej

W obu grupach w analizie uwzględniono wiek oraz płeć. W grupie dzieci z gripą włączono do badania dane o długości hospitalizacji, długości trwania gorączki oraz powikłaniach zakażenia.

3.3 Badania laboratoryjne

U wszystkich pacjentów (grupa badana i kontrolna) w pierwszej dobie hospitalizacji pobierano krew, którą następnie odwirowywano aby uzyskać surowicę.

W surowicy analizie poddano:

- profil kwasów tłuszczowych w fosfolipidach metodą chromatografii gazowej z detektorem FID (GC – 7890A, Agilent). Zawartość kwasów tłuszczowych została wyrażona jako odsetek zawartości wszystkich kwasów tłuszczowych oraz stężenie poszczególnych kwasów tłuszczowych wyrażone w ug/mL,
- stężenie selenu (ug/L) wykonano metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej (ASA, Thermo Scientific™ iCE™ 3000 Series),
- stężenie cynku (mg/l). Oznaczenie wykonano metodą FAAS - płomieniowa spektrometria atomowa. Sprzęt: ASA, Thermo Scientific™ iCE™ 3000 Series,
- stężenie żelaza (mg/l) wykonano metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej (ASA, Thermo Scientific™ iCE™ 3000 Series).

Wyżej wymienione badania zostały wykonane we współpracy z Pracownią Analityki Klinicznej i Badań Czynnościowych Przewodu Pokarmowego przy Klinice Gastroenterologii Dziecięcej i Chorób Metabolicznych - Kierownik Kliniki Prof. dr hab. med Jarosław Walkowiak.

W grupie badanej do analizy dodatkowo włączono wybrane parametry hematologiczne oraz biochemiczne:

- liczba krwinek białych (WBC $10^3/\text{ul}$), oznaczona przy pomocy detektora optycznego opartego na zasadzie cytometrii przepływowej z użyciem lasera półprzewodnikowego (SYSMEX XN-1000),
- liczba płytek krwi (PLT $10^3/\text{ul}$), analizowana przy pomocy detektora RBC z użyciem metody hydroogniskowania dynamicznego oraz pomiar płytek krwi metodą optyczną (SYSMEX XN-1000),
- białko C-reaktywne (CRP mg/dl), oznaczane metodą immunoturbidymetryczną (analizator ALINITY firmy Abbot),

- kinaza kreatynowa (CK U/I), oznaczana metodą kinetyczną 37 stopni C (analizator ALINITY firmy Abbot),
- troponina T (ng/l), oznaczana metodą chemiluminescencji (analizator ALINITY firmy Abbot),
- witamina D3 (ng/ml). oznaczana metodą chemiluminescencji (analizator ALINITY firmy Abbot).

Powyższe badania wykonano w Centralnym Laboratorium Szpitala Klinicznego im. K. Jonschera Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu (kierownik laboratorium mgr anal. med. Justyna Krawczyk). Normy laboratoryjne wyżej wymienionych badań przedstawiono w tabelach 5-8.

Tabela 5. Normy laboratoryjne liczby leukocytów

Grupa wiekowa (lata)	Liczba leukocytów (WBC) ($10^3/\mu\text{l}$)
Dzieci do 7 dni	7,0 - 40,0
Od 7 dni do 12 miesiąca życia	4,0 - 20,0
Od 2 do 6 lat	4,5 - 13,0
Od 7 do 12 lat	4,0 - 12,0
Powyżej 12 lat	4,0 - 10,0

Tabela 6. Normy laboratoryjne stężenia troponiny

Grupa wiekowa (lata)	Troponiny (ng/l)
Dzieci do 15 dni	< 74
Od 16 dni do 3 miesiąca życia	< 14
Od 3 miesięcy do 19 lat	< 9
Kobiety powyżej 19 lat	< 15,6
Mężczyźni powyżej 19 lat	< 34,2

Tabela 7. Normy laboratoryjne liczby płytek krwi

	Wartości prawidłowe
Liczba płytek (PLT)	150-400 x 103/ml
Witamina D3+	30 - 50 ng/ml
CRP	do 0,5 mg/dl (do 0,005 g/l)

Tabela 8. Normy laboratoryjne aktywności kinazy kreatynowej

Grupa wiekowa (lata)	CK- kinaza kreatynowa
Dzieci do 5 dni	< 652 U/l
Od 6 dni do 6 miesiąca życia	< 295 U/l
Od 7 do 12 miesięcy	< 203 U/l
Od roku do 3 lat	< 228 U/l
Od 4 do 6 lat	< 149 U/l
Dziewczynki od 7 do 12 lat	< 154 U/l
Chłopcy od 7 do 12 lat	< 247 U/l
Dziewczynki od 13 do 17 lat	< 123 U/l
Chłopcy od 13 do 17 lat	< 270 U/l

3.4 Badania obrazowe

W grupie badanej, u 43 pacjentów wykonano zdjęcie rentgenowskie klatki piersiowej. Badanie wykonano aparatem stacjonarnym Discovery XR 656 GE Healthcare w Zakładzie Radiologii Pediatrycznej Szpitala Klinicznego im. Karola Jonschera Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu (kierownik: dr hab. n. med. Katarzyna Jończyk-Potoczna).

3.5 Badanie ankietowe

Wśród pacjentów przeprowadzono badanie ankietowe, na które wyraziło zgodę 82 rodziców. Badanie ankietowe zawierało pytania otwarte o suplementację w okresie jesienno-zimowym oraz o stosowanie diety uzupełnionej o dodatkowe składniki. (załącznik 1)

3.6 Metody statystyczne

Obliczenia wykonano przy użyciu programu Statistica 13 firmy TIBCO. Jako poziom istotności przyjęto $\alpha=0,05$. Wynik uznano za istotny statystycznie, gdy $p<\alpha$. Normalność rozkładu

zmiennych sprawdzono za pomocą testu Shapiro Wilka. W celu porównania zmiennych pomiędzy 2 grupami, w przypadku zgodności z rozkładem normalnym i równych wariancji, obliczono test t-Studenta dla prób niepowiązanych. W przypadku braku zgodności z rozkładem normalnym obliczono test U Manna-Whitneya. W celu zbadania zależności pomiędzy zmiennymi ciągłymi obliczono współczynnik korelacji rangowej R_s Spearmana. W celu zbadania zależności pomiędzy zmiennymi kategorialnymi obliczono test niezależności chi lub test dokładny Fishera. Obliczono również ilorazy szans (OR) wraz z 95% przedziałami ufności.

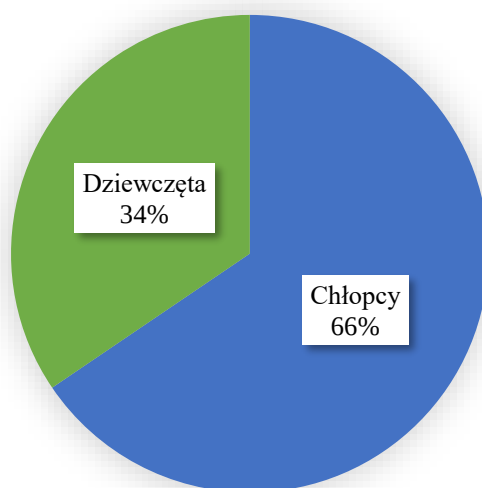
4. Wyniki badań

4.1 Analiza statystyczna grupy badanej pod względem istotnych danych

Do badania zakwalifikowano 58 pacjentów hospitalizowanych z powodu grypy.

4.1.1 Płeć

Wśród 58 pacjentów liczebność dziewcząt wynosiła 20 (34,48%), natomiast chłopców 38 (65,52%).



Ryc. 4. Struktura płci pacjentów w grupie badanej

4.1.2 Wiek

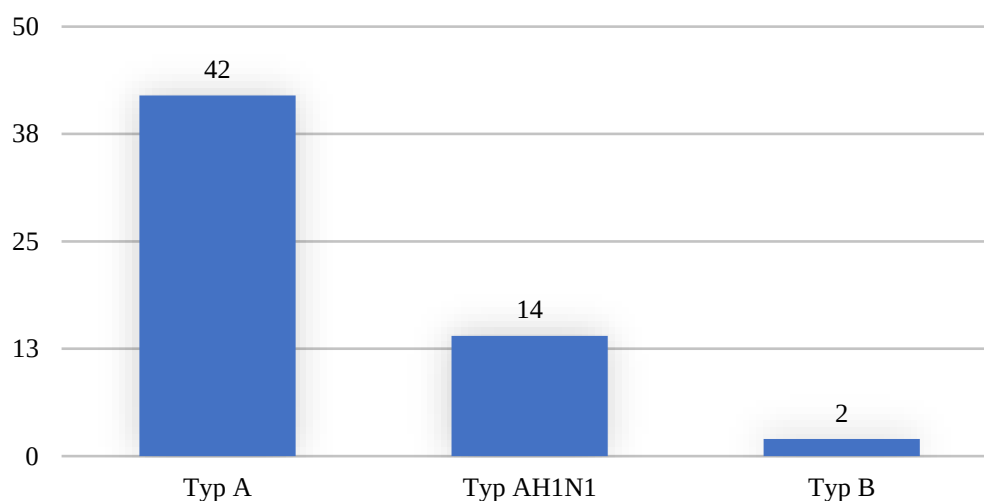
Analizując wiek grupy badanej zanotowano iż, najmłodszy pacjent w chwili rozpoznania miał 0,08 lat, najstarszy zaś 16,08 (mediana: 4,875). W tabeli przedstawiono liczebność dzieci w poszczególnych grupach wiekowych.

Tabela 9. Liczebność dzieci z grypą w poszczególnych podgrupach wiekowych

Wiek	Liczba chorych
Noworodki (do 4 tygodnia życia)	1
Niemowlęta (od 2 do 12 miesiąca życia)	4
Dzieci młodsze (od roku do 3 lat)	14
Dzieci przedszkolne (od 4 do 6 lat)	17
Dzieci szkolne (od 7 do 12 roku życia)	17
Dzieci powyżej 12 roku życia	5

4.1.3 Typ wirusa grypy

Wśród badanej grupy pacjentów (n=58) dominowało zakażenie wirusem grypy typu A (n= 42, 72,41 %), w dalszej kolejności podtypem AH1N1 (n=14, 24,14 %). Zakażenie wirusem typu B stwierdzano najrzadziej (n=2, 3,45 %). Dane przedstawiono na wykresie.



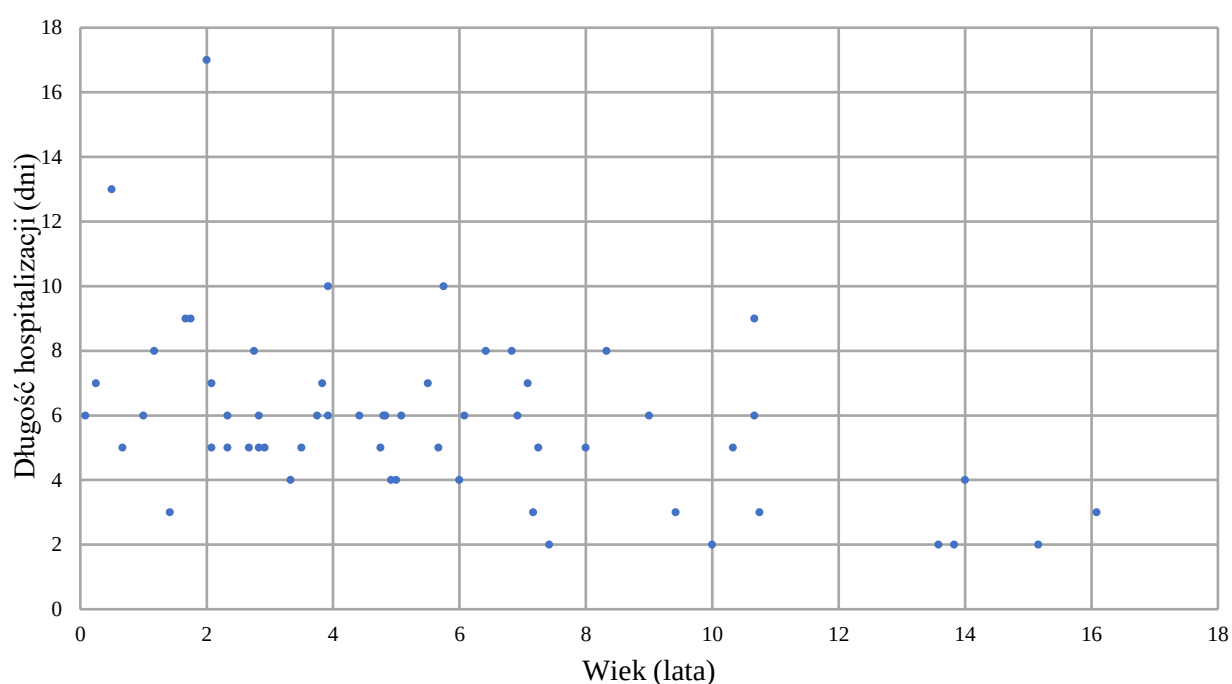
Ryc. 5. Liczba chorych w zależności od typu wirusa grypy

Średnia wieku wśród zakażonych typem A wynosiła 5,74 lat, wirusem typu AH1N1 4,39 lat,

typem B to 12,29 lat. Testem U Manna-Whitneya nie wykazano istotnej statystycznie różnicy między rodzajem wirusa grypy a wiekiem ($p=0,460$). W teście pominięto zakażonych typem B ze względu na małą liczebność grupy.

4.1.4 Długość hospitalizacji

Hospitalizacja dzieci z grypą ($n=58$) trwała minimum 2 dni. Najdłuższy pobyt w oddziale trwał 17 dób (mediana: 6,0). Korelacja porządku rang Spearmana wykazała, że im starsze dziecko tym długość hospitalizacji była krótsza ($p=0,0010$, $R_s=-0,4221$).



Ryc. 6. Korelacja długości hospitalizacji a wiekiem pacjentów z grypą

4.1.5 Długość gorączki

Analizowano długość gorączki u dzieci z grypą ($n=58$). Zanotowano pacjentów, u których nie obserwowano podwyższonej ciepłoty ciała oraz dzieci z gorączką trwającą maksymalnie do 8 dni (mediana: 2,0 dni).

W zakażeniu wirusem typu A ($n=41$) mediana trwania gorączki to 2,0 dni, w typie AH1N1 ($n=14$) mediana to 3,0 dni, natomiast w typie B ($n=2$) mediana to 1,0 dzień. W Teście U Manna-

Whitneya nie wykazano zależności pomiędzy typem wirusa grypy a długością podwyższonej temperatury ciała ($p=0,7600$).

W badaniu wykonano szczegółową analizę danych klinicznych oraz laboratoryjnych. Z uwagi na znaczną ilość otrzymanych wyników, zdecydowano przedstawić szczegółowo w dalszej części tylko istotne rezultaty przeprowadzonych badań. W tabeli 10 przedstawiono zbiorczo zestawienie otrzymanych wyników badań.

Tabela 10. Zbiorcze zestawienie wyników badań w grupie zakażonych wirusem grypy

	Witamina D3	Cynk	Selen	Żelazo	Indeks kwasów Omega 3	DHA	EPA	Powikłania grypy
Wiek	+	-	-	-	-	-	-	+
Płeć	-	-	-	-	-	-	+	-
Typ wirusa grypy	-	-	-	-	-	-	-	-
CRP	-	+	+	-	-	+	+	-
WBC	-	-	-	-	-	-	-	-
PLT	-	-	+	-	-	-	-	-
CK	-	-	-	-	-	+	-	-
Troponiny	-	-	-	-	-	-	-	-
Długość hospitalizacji	-	+	-	-	-	-	-	+
Długość gorączki	-	-	-	-	-	-	+	+
Powikłania grypy	-	-	-	-	-	-	+	-

Legenda:

+ korelacja - brak korelacji

4.1.6 Przebieg kliniczny grypy w grupie badanej

Przeprowadzono analizę retrospektywną dokumentacji medycznej grupy badanej ($n=58$). Zanonotowano 42 przypadki powikłanego przebiegu grypy. Wyodrębniono kilka rodzajów powikłań:

- Choroby układu oddechowego,
- Zapalenie mięśni w przebiegu grypy,
- Powikłania neurologiczne,

- Choroby układu krążenia,
- Choroby układu pokarmowego.

4.1.6.1 Zapalenie płuc i oskrzeli

U 43 dzieci wykonano RTG klatki piersiowej. U 33 dzieci stwierdzono zmiany zapalne w drogach oddechowych (opisane jako okołoskrzelowe, odoskrzelowe lub/i miąższowe). Zapalenie płuc rozpoznano u 10 dzieci. Mediana wieku wynosiła 3, 08 lat, chłopcy stanowili w tej grupie (n=10) 90%, dziewczynki 10%. Zapalenie oskrzeli rozpoznano u 23 pacjentów. Mediana wieku to 4,42, rozkład pod względem płci: 16 przypadków wśród płci męskiej, 7 wśród żeńskiej. U jednego pacjenta rozpoznano klinicznie podgłośniowe zapalenie krtani.

4.1.6.2 Zapalenie mięśni

Charakterystyczne dla zakażenia wirusem grypy zapalenie mięśni rozpoznano u 6 dzieci. W grupie dzieci z grypą (n=50) zbadano aktywność kinazy kreatynowej, mediana wynosiła 79,50 U/l. U sześciorga dzieci, u których rozpoznano IAM aktywność kinazy kreatynowej wynosiła maksymalnie 28684 U/l, minimalnie 675 U/l (mediana: 3790,50 U/l). Wszyscy pacjenci z tym powikłaniem byli płci męskiej. U czterech chłopców z IAM potwierdzono zakażenie wirusem grypy typu A, zaś u pozostałych dwóch AH1N1.

4.1.6.3 Powikłania neurologiczne

W analizowanej grupie (n=58) wyodrębniono 8 dzieci z powikłaniami neurologicznymi:

- 4 pacjentów zaprezentowało przy przyjęciu do szpitala drgawki gorączkowe proste lub złożone. 1 pacjent został przyjęty do oddziału po epizodzie drgawek bez towarzyszącej gorączki,
- rozpoznanie limfocytarnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych postawiono u jednego dziecka,
- ponadto rozpoznano jeden przypadek przyzakaźnego zapalenia mózgu w przebiegu grypy,
- u jednego pacjenta wystąpiły objawy neuropsychiatryczne.

Wśród pacjentów z powikłaniami neurologicznymi było siedmioro chłopców i jedna dziewczynka. Brak zależności w teście 2-stronnym ($p=0,2412$).

Z 42 pacjentów z zakażeniem wirusem grypy typu A sześciorgu dzieciom towarzyszyły objawy neurologiczne (14,29%). Wśród 12 zakażonych typem AH1N1 dwoje miało powikłania neurologiczne (14,29%).

4.1.6.4 Powikłania kardiologiczne

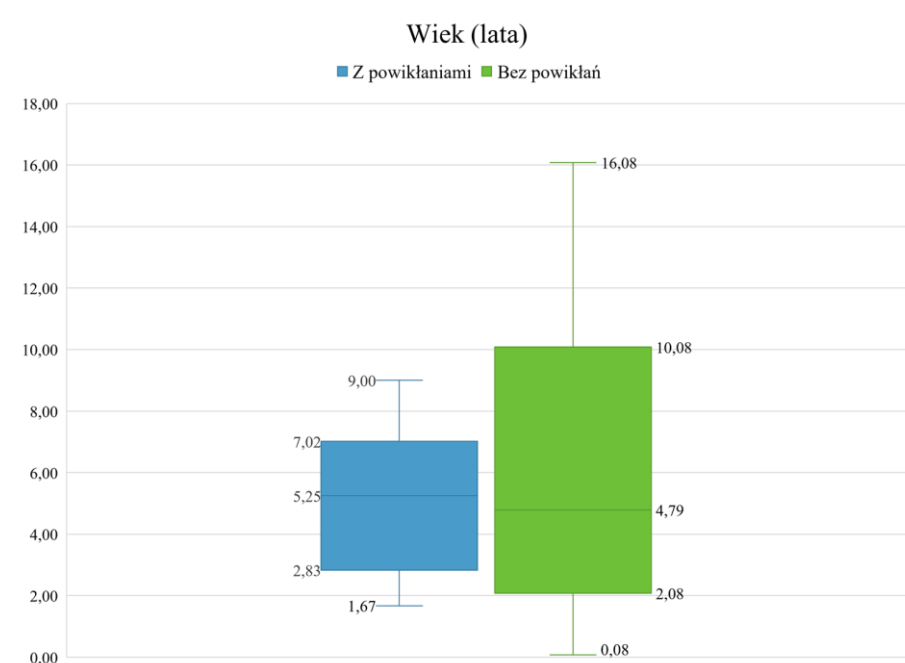
Zapalenie mięśnia sercowego rozpoznano u dwójki pacjentów w analizowanej grupie. Dodatkowo wyróżniono 4 dzieci, które zostały przyjęte do szpitala po utracie przytomności, u których w następnej kolejności potwierdzono zakażenie wirusem grypy.

4.1.6.5 Objawy ze strony przewodu pokarmowego

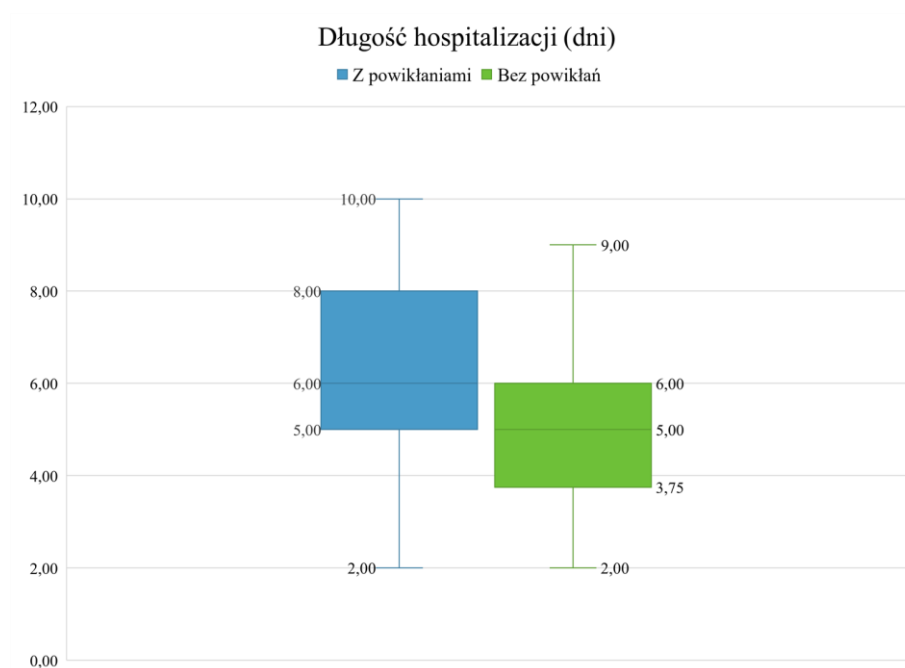
W populacji dziecięcej objawy ze strony przewodu pokarmowego często towarzyszą grypie. W analizowanej grupie (n=58) u 4 dzieci obserwowano objawy nieżytu żołądkowo-jelitowego. U 2 z tych pacjentów potwierdzono występowanie innej możliwej dla biegunki etiologii: rotawirusowej i adenowirusowej. U pozostałej dwójki nie udało się ustalić etiologii biegunki.

4.1.6.6 Podsumowanie przebiegu klinicznego w grupie badanej

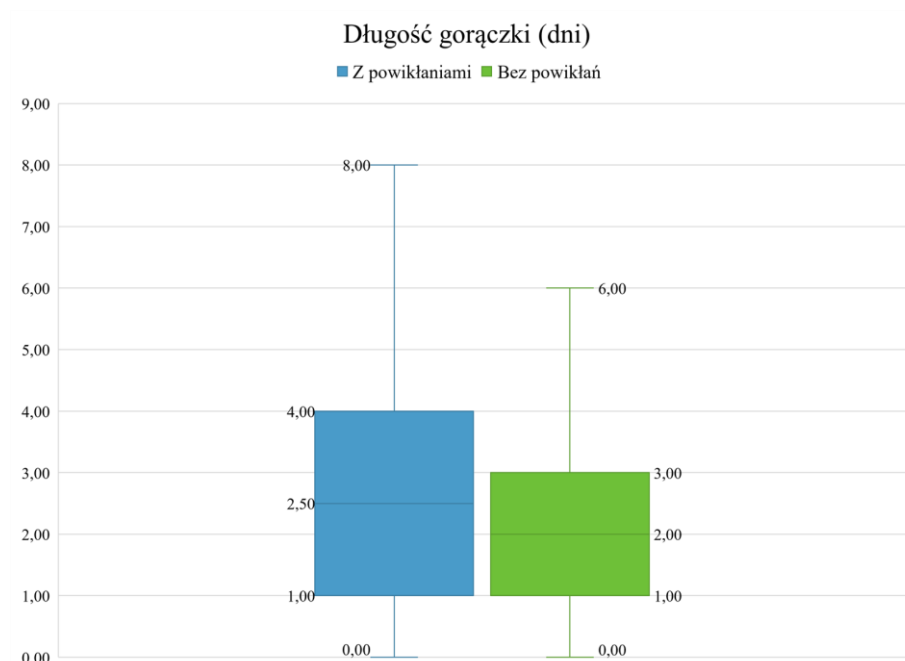
Podsumowując, w grupie dzieci z grypą częstość występowania powikłań była odwrotnie proporcjonalna do wieku (Test U Manna-Whitneya, $p=0,0128$). Dodatkowo hospitalizacja trwała istotnie dłużej (Test U Manna-Whitneya, $p=0,0070$) oraz obserwowano znacznie dłużej podwyższoną temperaturę ciała u dzieci z powikłaniami w przebiegu zakażenia wirusem grypy (Test U Manna-Whitneya, $p=0,0045$).



Ryc. 7. Wiek pacjentów w grupie badanej z podziałem na podgrupy z powikłaniami i bez towarzyszących powikłań



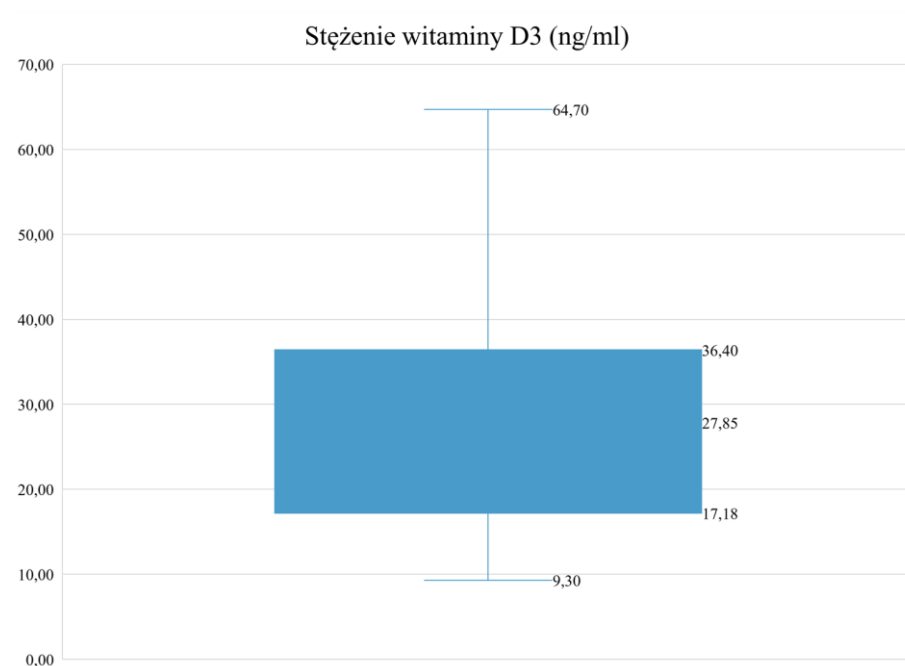
Ryc. 8. Długość hospitalizacji pacjentów w grupie badanej z podziałem na podgrupy z powikłaniami i bez towarzyszących powikłań



Ryc. 9. Długość gorączki pacjentów w grupie badanej z podziałem na podgrupy z powikłaniami i bez towarzyszących powikłań

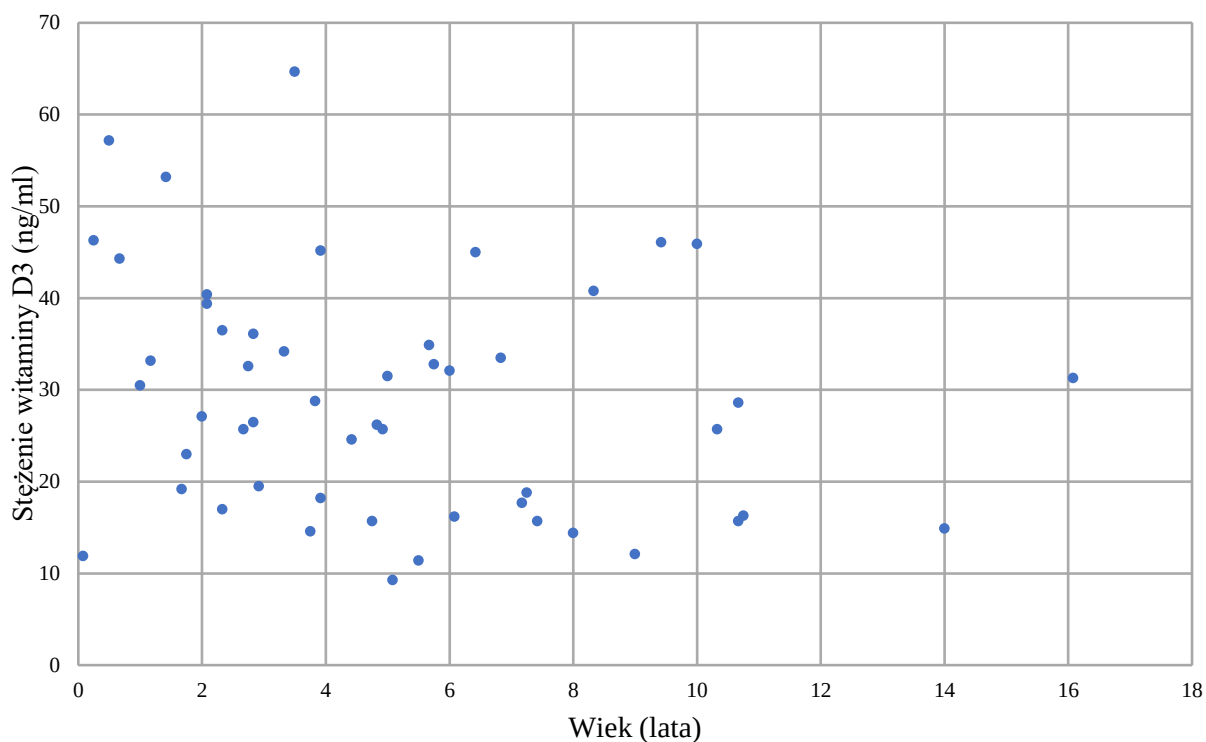
4.1.7 Witamina D3

W grupie dzieci z grypą (n=52) mediana stężenia witaminy D3 wynosiła 27,85 ng/ml; wartość minimalna to 9,30 ng/ml, a maksymalna 64,70 ng/ml.



Ryc. 10. Stężenie witaminy D3 w grupie dzieci chorujących na grypę

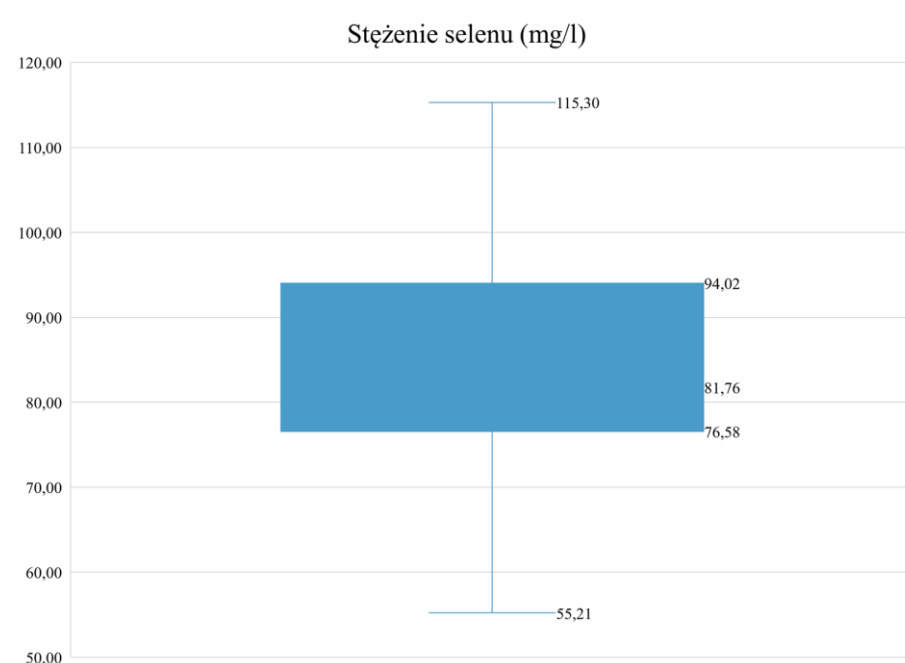
W wyniku korelacji rang Spearmana ($p=0,0456$, $R_s=-0,2781$) zarejestrowano zależność między niskim stężeniem witaminy D, a starszym wiekiem pacjentów.



Ryc. 11. Korelacja stężenia witaminy D3 a wieku pacjentów w grupie badanej

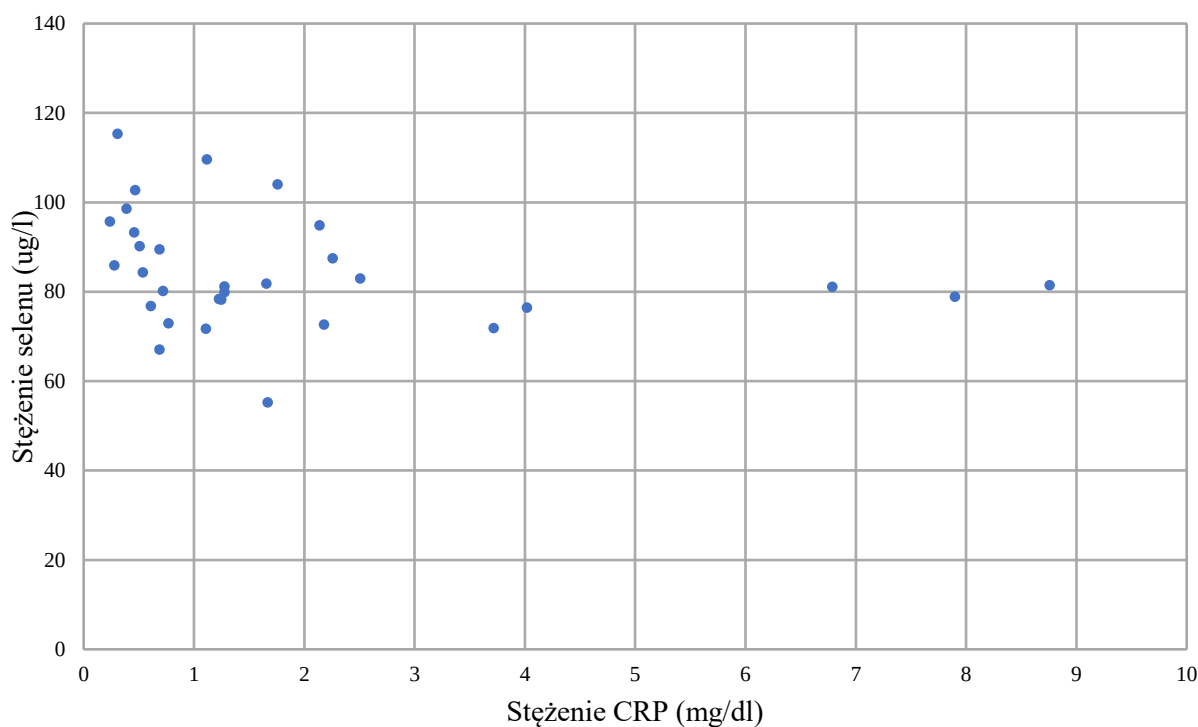
4.1.8 Selen

W grupie 49 dzieci z grypą mediana stężenia selenu w surowicy wynosiła 81,76 mg/l.



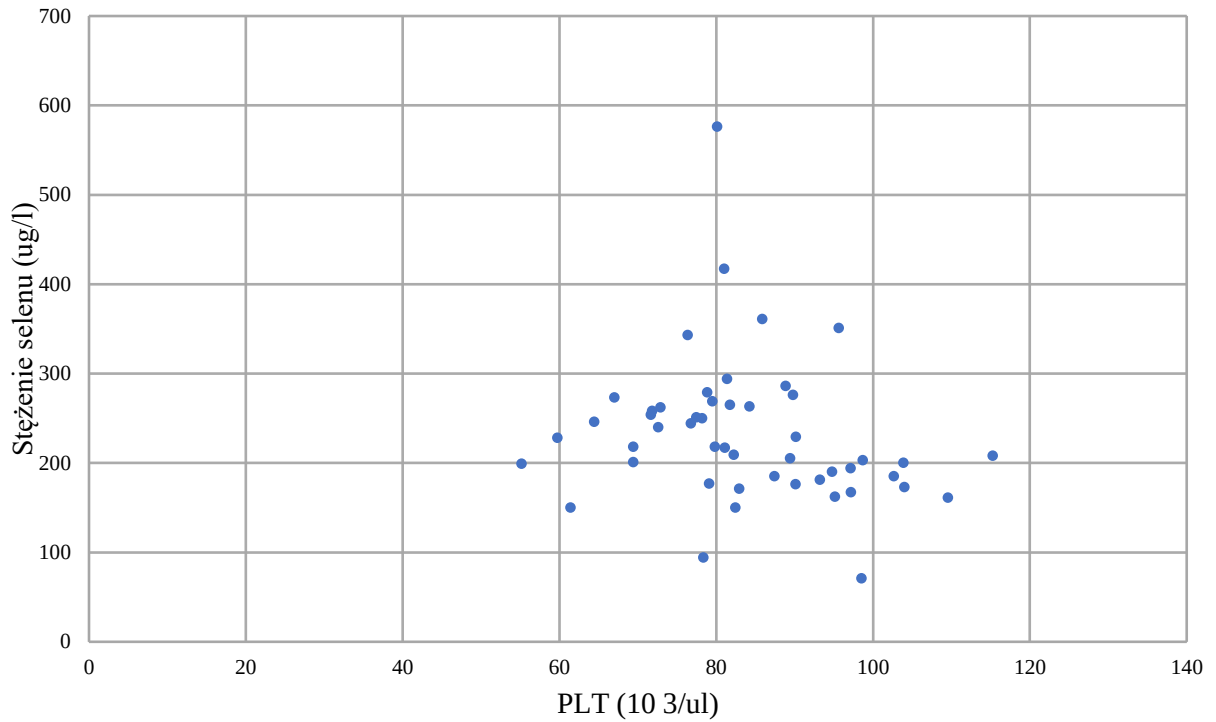
Ryc. 12. Stężenie seleniu w grupie badanej

W toku analizy statystycznej zaobserwowano zależność między stężeniem seleniu a stężeniem CRP (n=31). Im wyższe stężenie CRP tym niższe stężenie seleniu w surowicy dzieci zakażonych wirusem grypy (korelacja rang Spearmana, $p=0,0273$, $R_s=-0,3962$).



Ryc. 13. Korelacja stężenia seleniu i CRP w grupie badanej

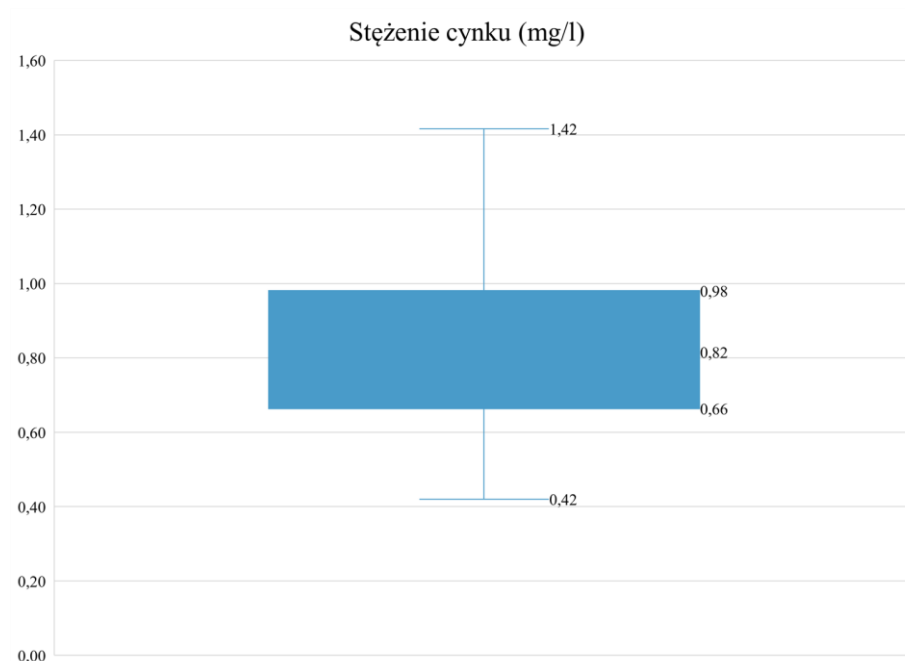
Dodatkowo zarejestrowano korelację między niskim stężeniem selenu a wyższą liczbą płytek krwi (korelacja rang Spearmana, $p=0,0235$, $R_s=-0,3232$).



Ryc. 14. Korelacja stężenia selenu i płytek krwi w grupie badanej

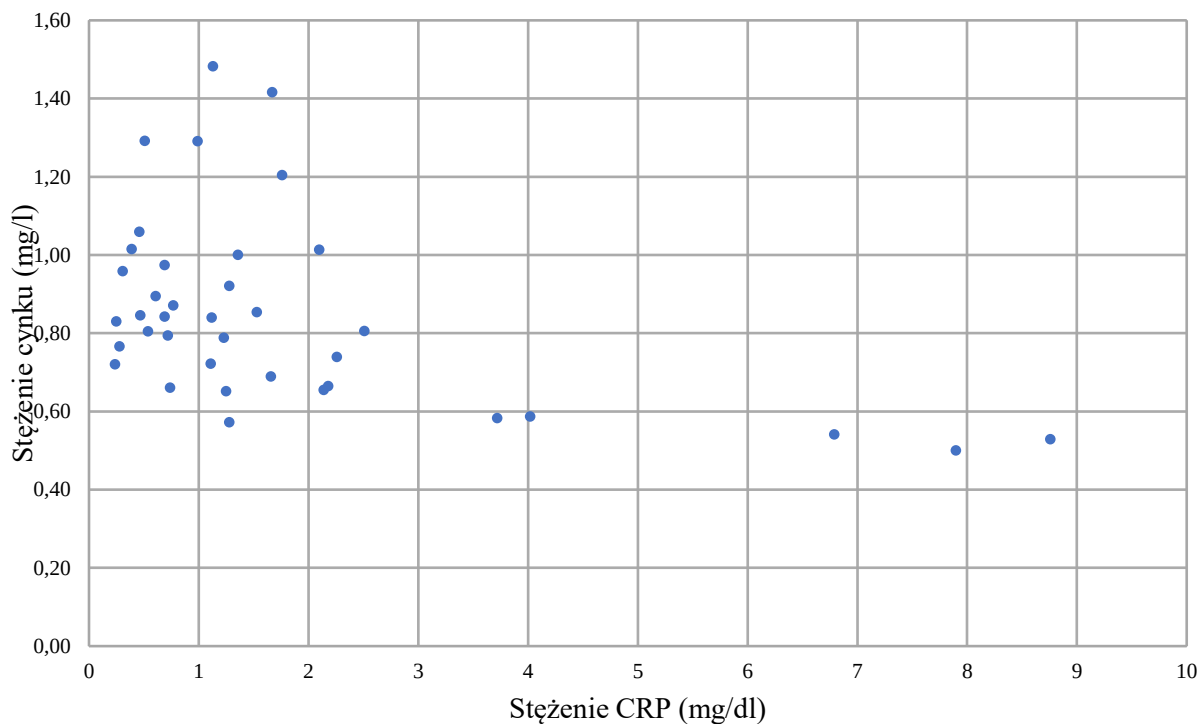
4.1.9 Cynk

W grupie 58 dzieci mediana stężenia cynku w surowicy wynosiła 0,8159 mg/l. Minimalne stężenie 0,42 mg/l, maksymalne 1,42 mg/l.



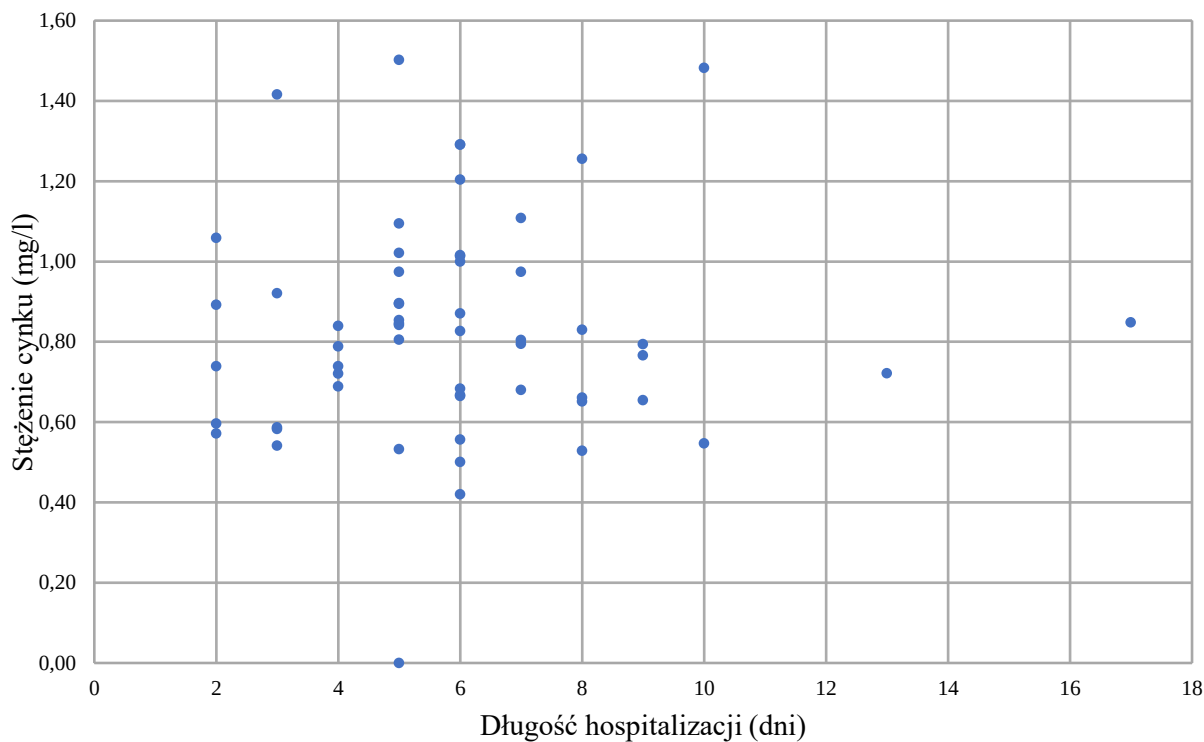
Ryc. 15. Stężenie cynku w grupie badanej

Zarejestrowano zależność między wyższym stężeniem CRP a niższym stężeniem cynku w surowicy chorych na grypę ($n=38$), (korelacja porządku rang Spearmana, $p=0,0067$, $R_s=-0,4324$).



Ryc. 16. Korelacja stężenia cynku i CRP w grupie badanej

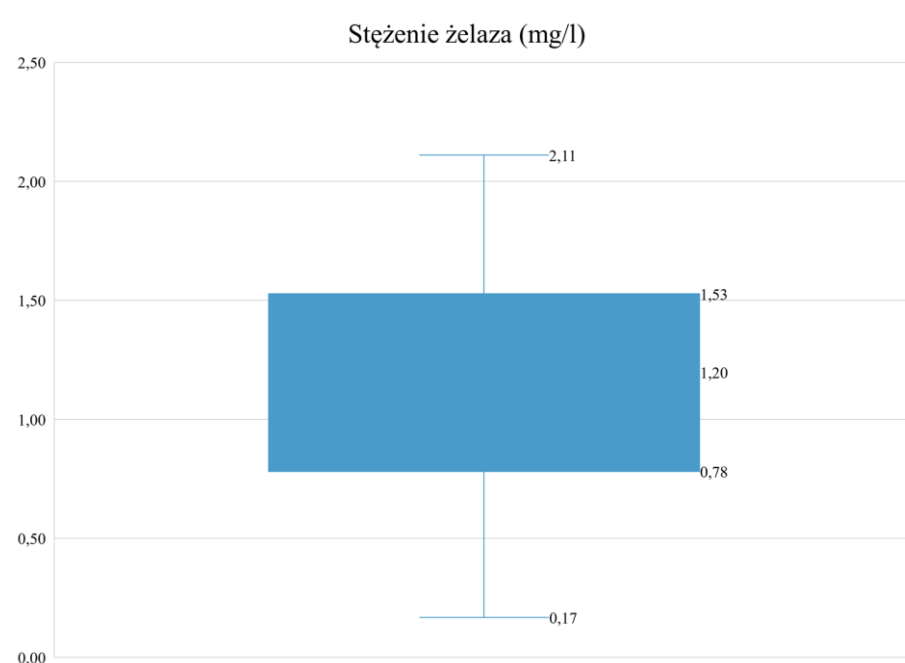
Ponadto w analizie statystycznej wykazano związek między niższym stężeniem cynku a dłuższą hospitalizacją (korelacja rang Spearmana, $p=0,0279$, $R_s=0,2888$).



Ryc. 17. Korelacja stężenia cynku i długości hospitalizacji w grupie badanej

4.1.10 Żelazo

Wśród chorych z grypą u 28 dzieci analizowano stężenie żelaza w surowicy. Mediana stężenia to 1,1979 mg/l. Minimalne stężenie 0,17 mg/l, maksymalne 2,11 mg/l.

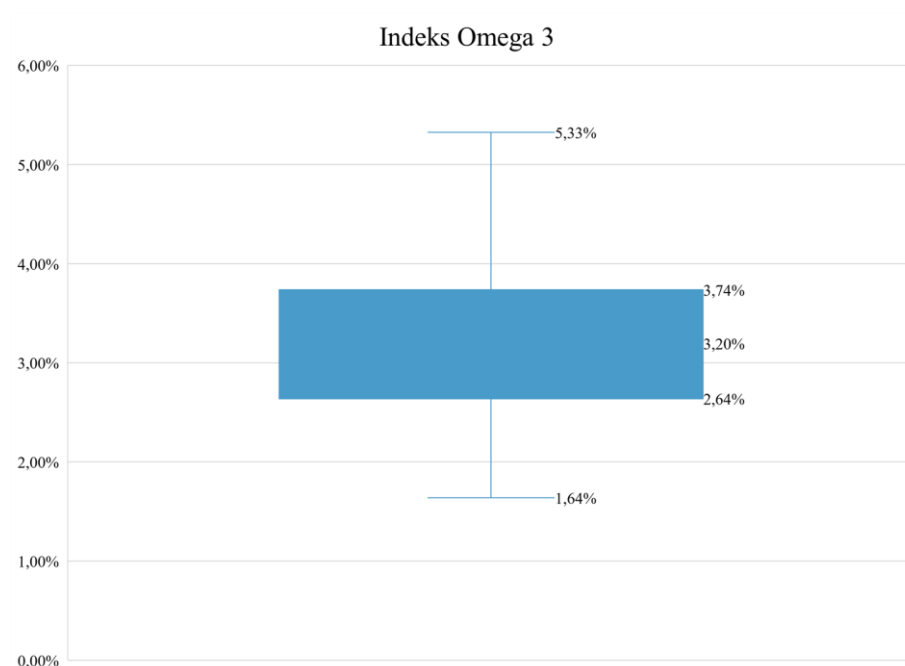


Ryc. 18. Stężenie żelaza w grupie badanej

4.1.11 Wybrane kwasy tłuszczowe

4.1.11.1 Indeks kwasów Omega 3

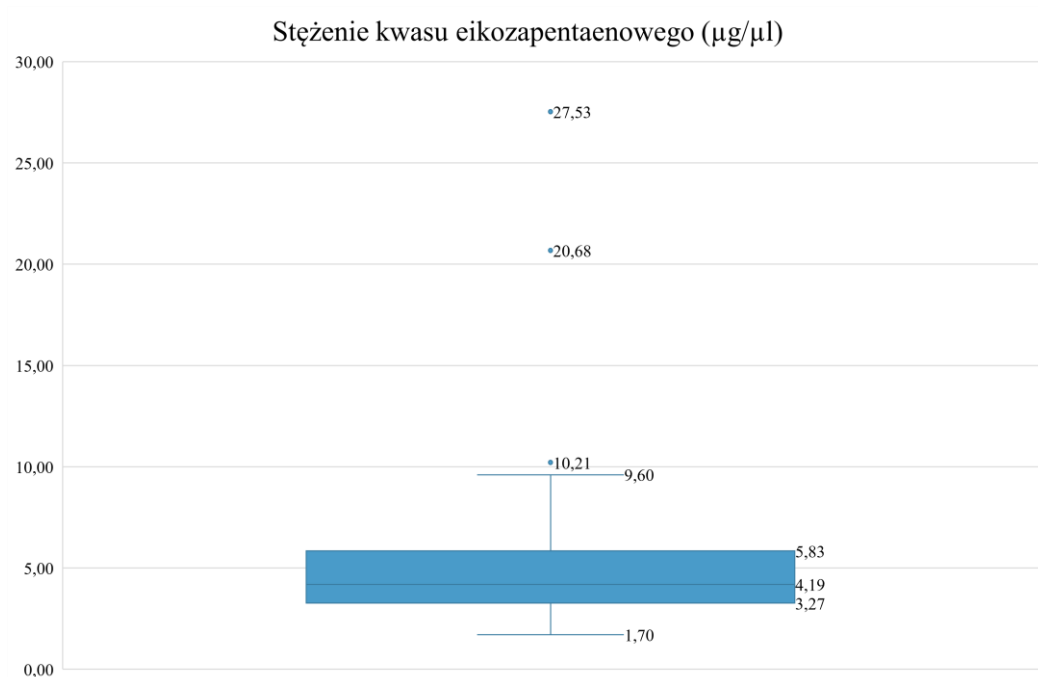
W grupie pacjentów z grypą (n=58) indeks kwasów Omega 3 wahał się od wartości minimalnej 1,6% do wartości maksymalnej 7,6%, z medianą wynoszącą 3,2%.



Ryc. 19. Wartość indeksu kwasów Omega 3 w grupie badanej

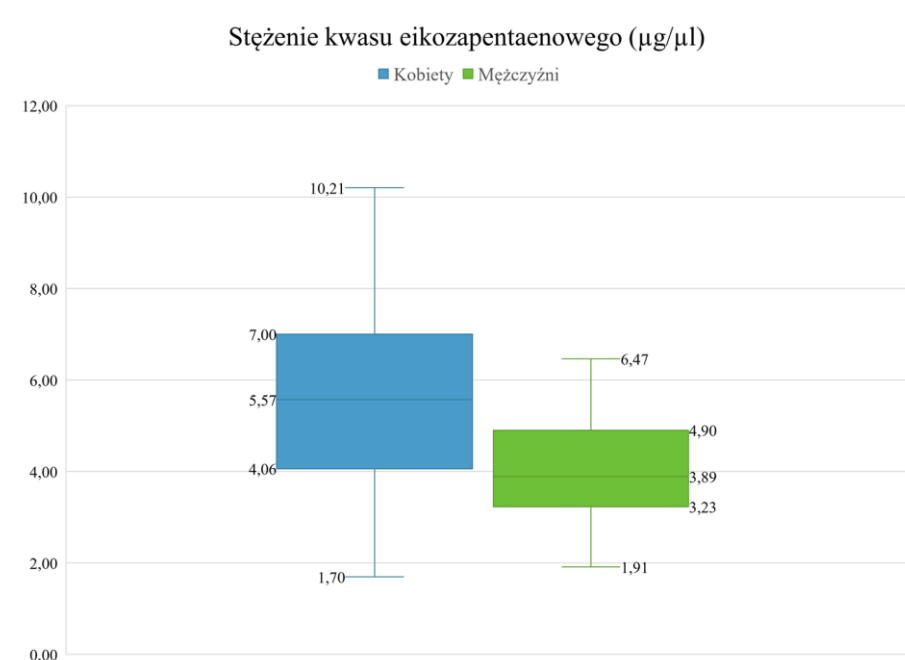
4.1.11.2. Kwas eikozapentaenowy

Wśród 58 pacjentów stężenie kwasu eikozapentaenowego wynosiło od 1,7 ug/ul do 27,53 ug/ul. Mediana 4,19 ug/ul.



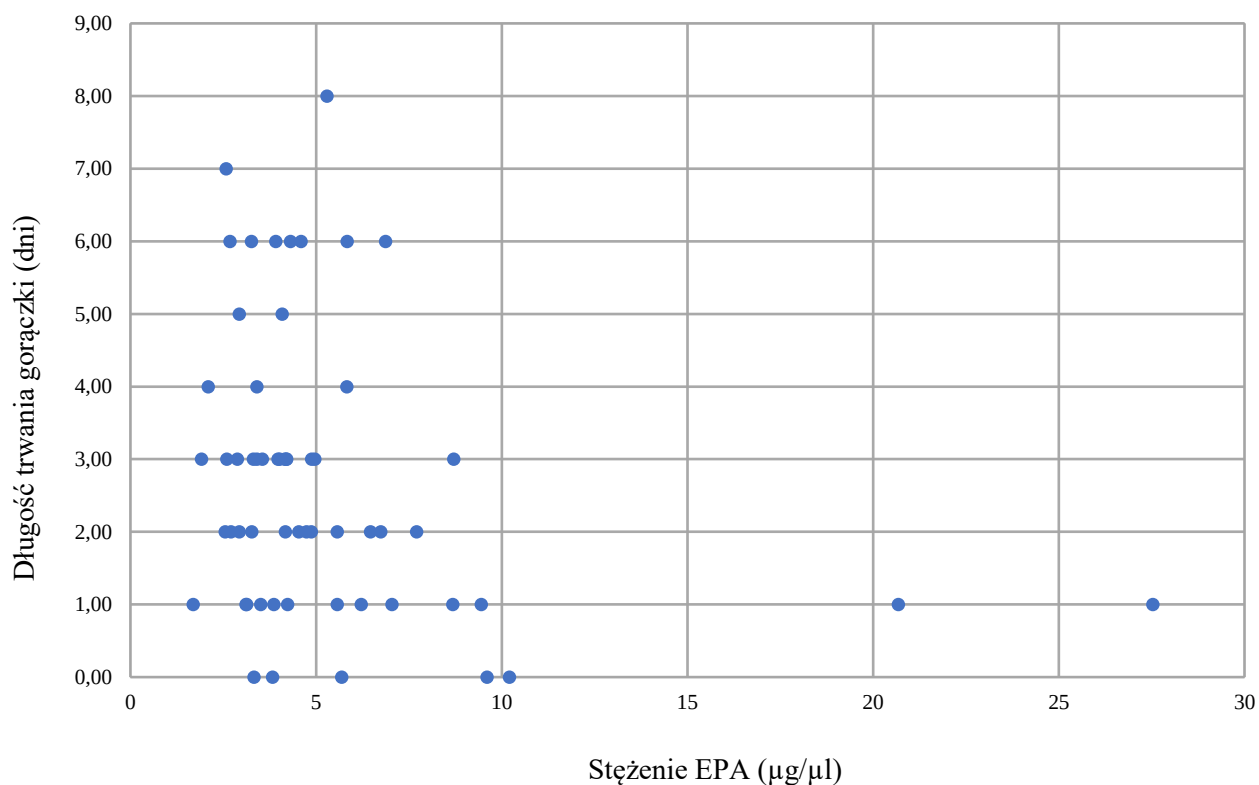
Ryc. 20. Stężenie EPA w grupie pacjentów z grypą

W analizie statystycznej zarejestrowano korelację pomiędzy płcią a stężeniem EPA (Test U Manna-Whitneya, $p=0,0400$). Istotnie wyższe stężenia EPA obserwuje się u płci żeńskiej.



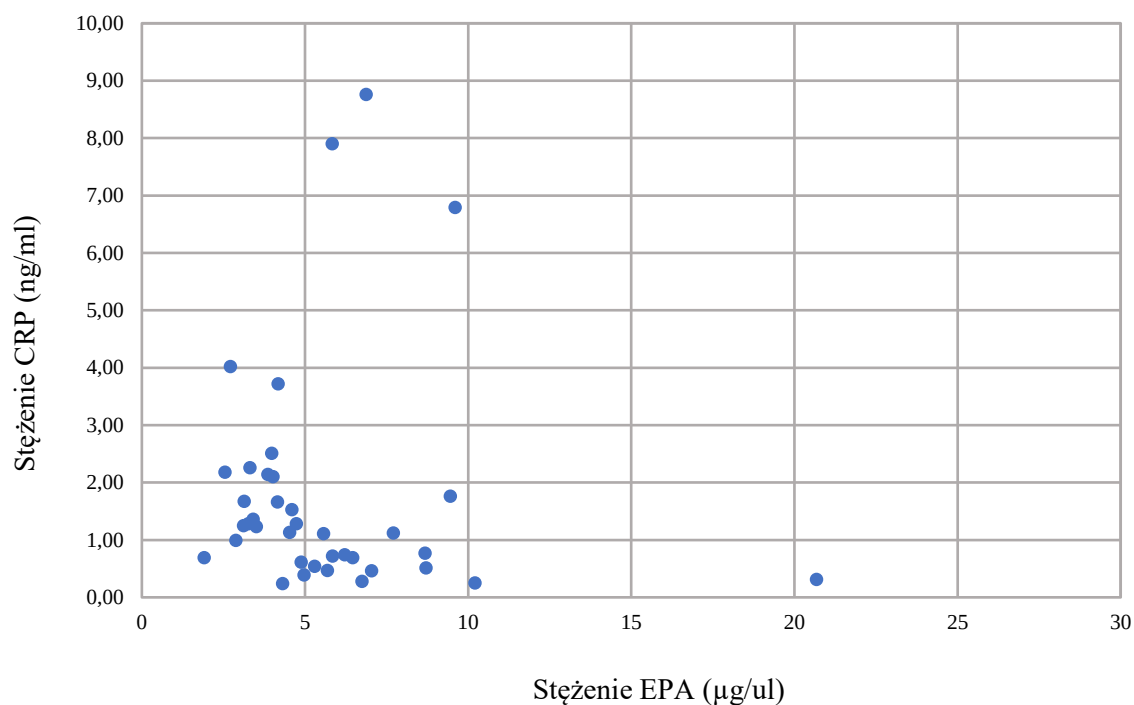
Ryc. 21. Stężenie EPA w grupie badanej z podziałem na płeć

Ponadto zaistniała zależność pomiędzy stężeniem EPA a długością trwania gorączki u pacjentów z grypą (n=57) (korelacja porządku rang Spearmana, $p=0,0238$, $R_s=-0,2992$). Im dłuższa gorączka tym niższe stężenie kwasu eikozapentaenowego.



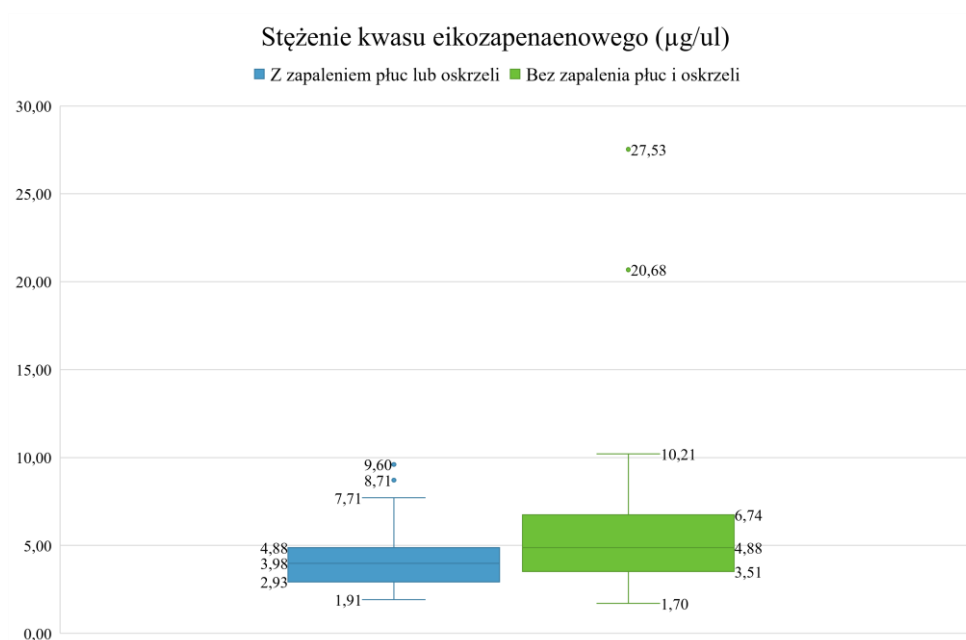
Ryc. 22. Korelacja stężenia EPA i długości trwania gorączki w grupie badanej

W wyniku analizy statystycznej zarejestrowano korelację między wyższym stężeniem CRP, a niższym stężeniem EPA w surowicy chorych na gripę (n=38) (korelacja rang Spearmana, $p=0,0275$, $R_s=-0,3576$).



Ryc. 23. Korelacja stężenia EPA i CRP w grupie badanej

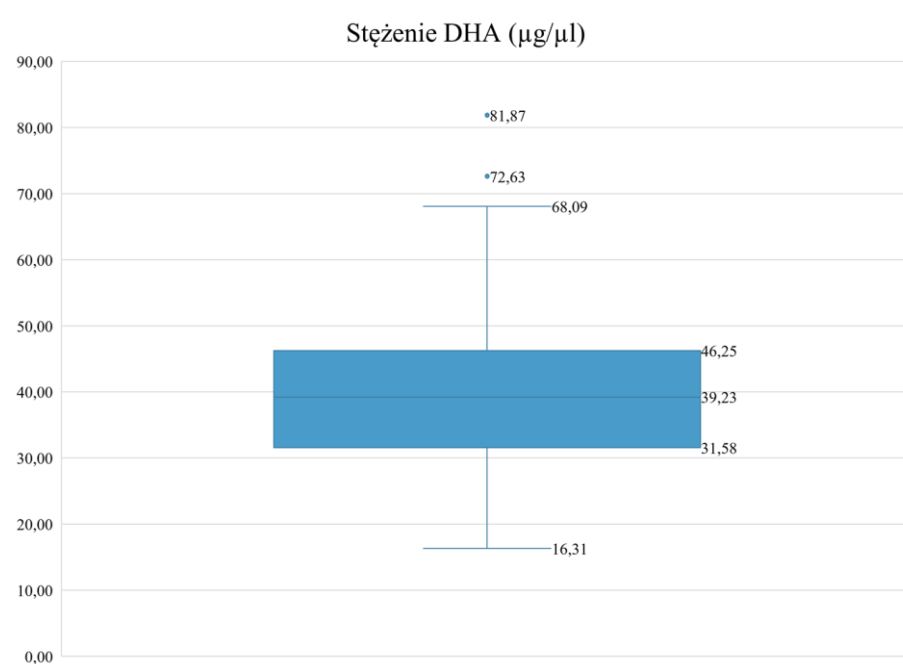
W wyniku porównania stężenia EPA w grupie dzieci z powikłaniami, zarejestrowano istotną różnicę w stężeniu EPA między pacjentami z zapaleniem płuc lub oskrzeli a dziećmi bez tego rodzaju powikłań (Test U Manna-Whitneya, $p=0,0333$).



Ryc. 24. Stężenie EPA w grupie badanej z podziałem na podgrupy: dzieci z zapaleniem płuc lub oskrzeli oraz dzieci bez zapalenia płuc i oskrzeli

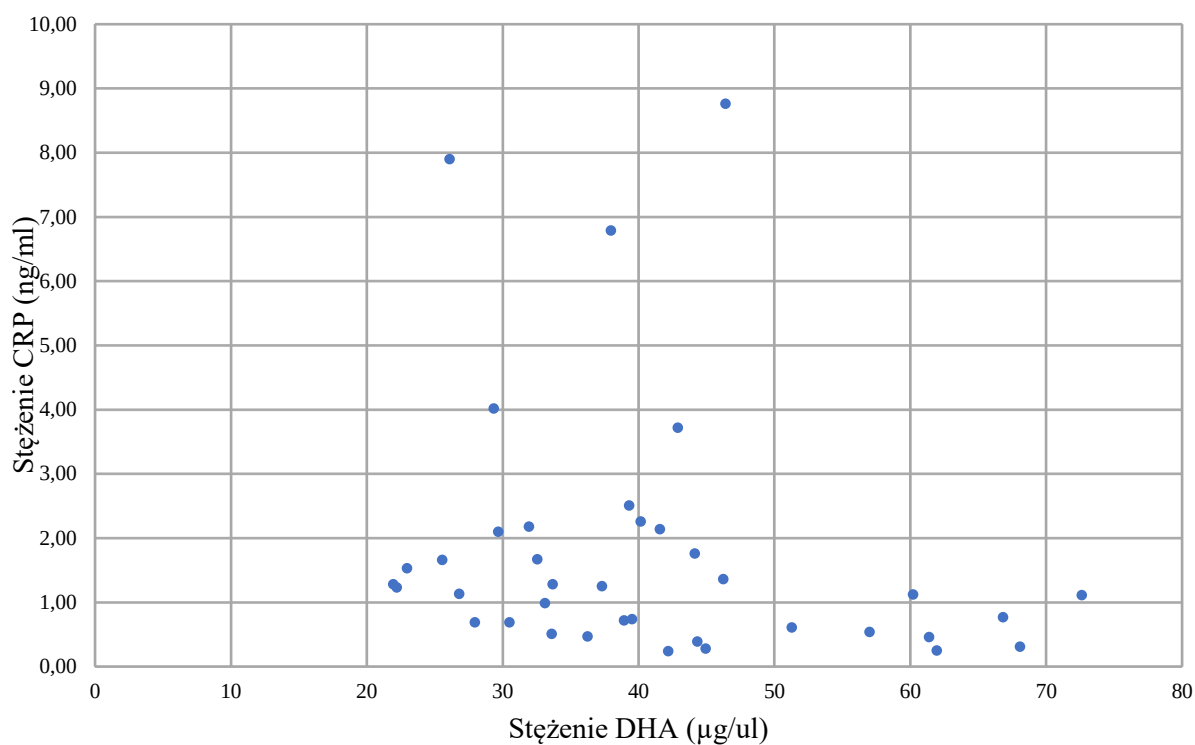
4.1.11.3. Kwas dokozaheksaenowy

Stężenie DHA wśród chorych na grypę (n=58) wahało się od 16,31 ug/ul do 81,87 ug/ul, z medianą 39,23 ug/ul.



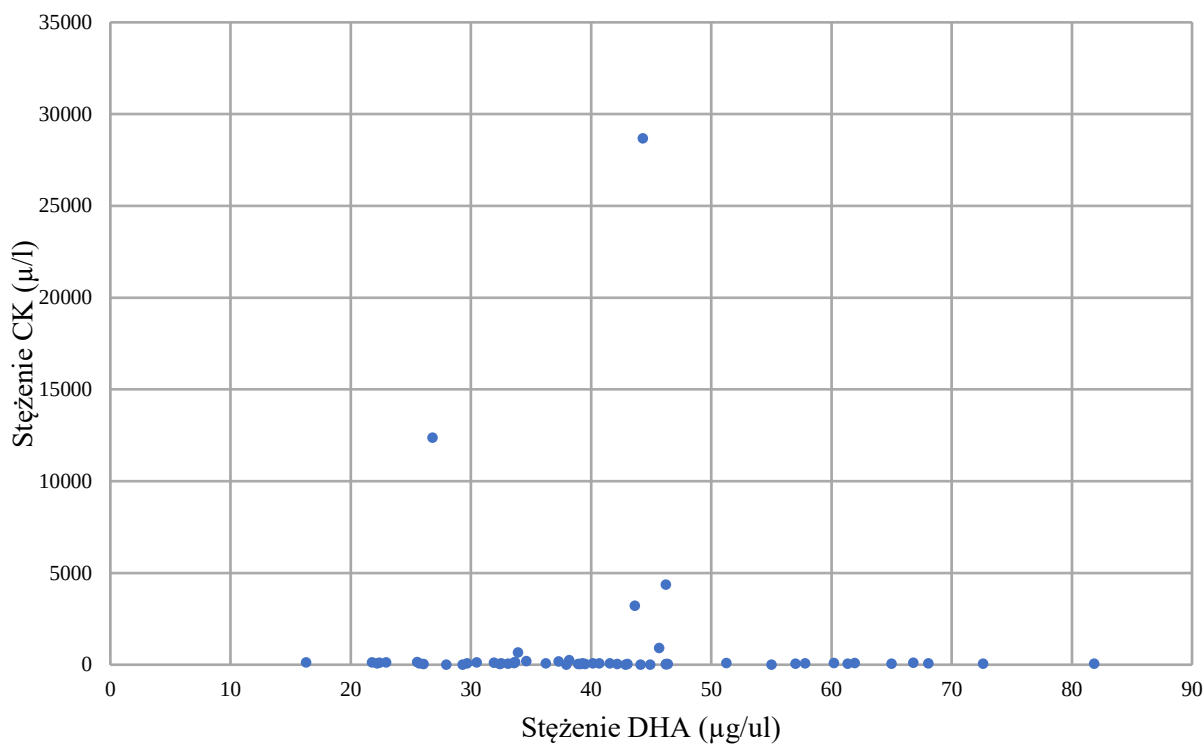
Ryc. 25. Stężenie DHA w grupie badanej

W dokładnej analizie statystycznej zarejestrowano zależność między wysokimi wartościami CRP a niskim stężeniem DHA w surowicy (n=38) (korelacja rang Spearmana, $p=0,2305$, $R_s=-0,3679$).



Ryc. 26. Korelacja stężenia DHA i CRP w grupie badanej

Dodatkowo zarejestrowano zależność między niskim stężeniem DHA, a wysoką aktywnością kinazy kreatynowej (n=50) (korelacja porządku rang Spearmana, $p=0,0446$, $R_s=-0,2852$).



Ryc. 27. Korelacja stężenia DHA i CK w grupie badanej

4.2 Analiza statystyczna grupy kontrolnej pod względem istotnych danych

4.2.1 Płeć



Ryc. 28. Struktura płci pacjentów w grupie kontrolnej

4.2.2 Wiek

W grupie kontrolnej (n=55) mediana wieku wynosiła 6,5 roku.

4.2.3 Analiza grupy kontrolnej

Dokonano analizy statystycznej zależności parametrów biochemicznych grupy kontrolnej. Wyniki zachodzących korelacji przedstawiono w tabeli 11, a istotnie statystycznie zależności przedstawiono na rycinie 35.

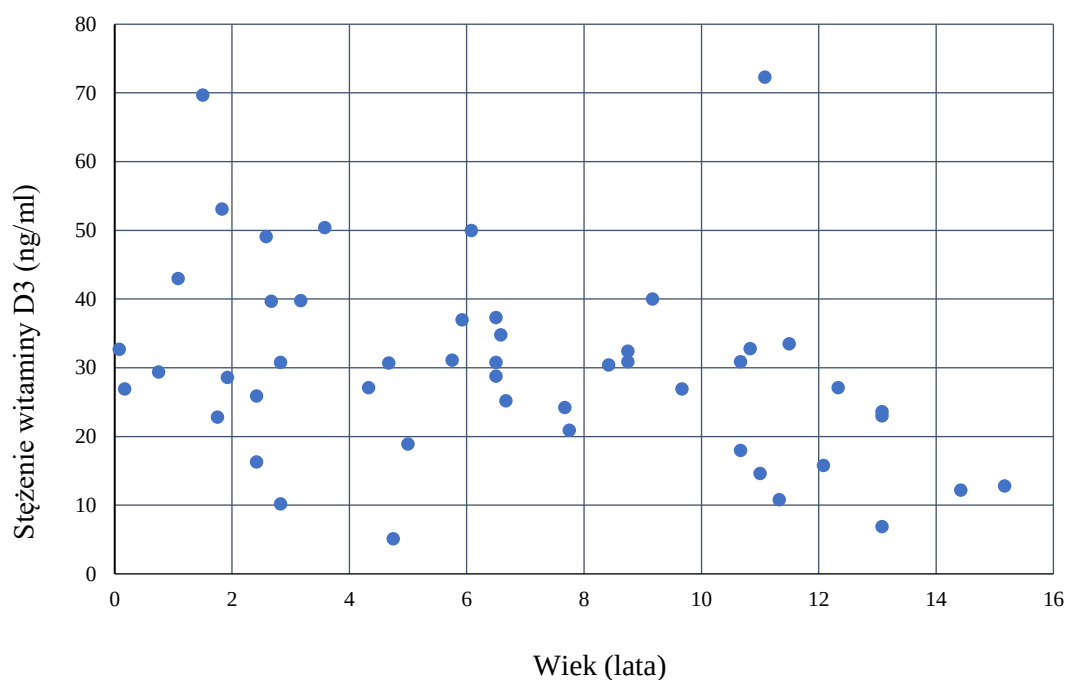
Tabela 11. Schemat korelacji wybranych parametrów laboratoryjnych w grupie kontrolnej

	Witamina D3	Cynk	Selen	Żelazo	Indeks kwasów Omega 3	DHA	EPA
wiek	+	-	-	-	-	-	-
płeć	-	-	-	-	-	-	-

Legenda:

+ korelacja - brak korelacji

Korelacja porządku rang Spearmana wykazała istotną statystycznie zależność pomiędzy wiekiem a stężeniem witaminy. Im starsze dziecko tym stężenie witaminy D3 niższe ($n=49$) ($p=0,0176$, $R_s=-0,3379$).

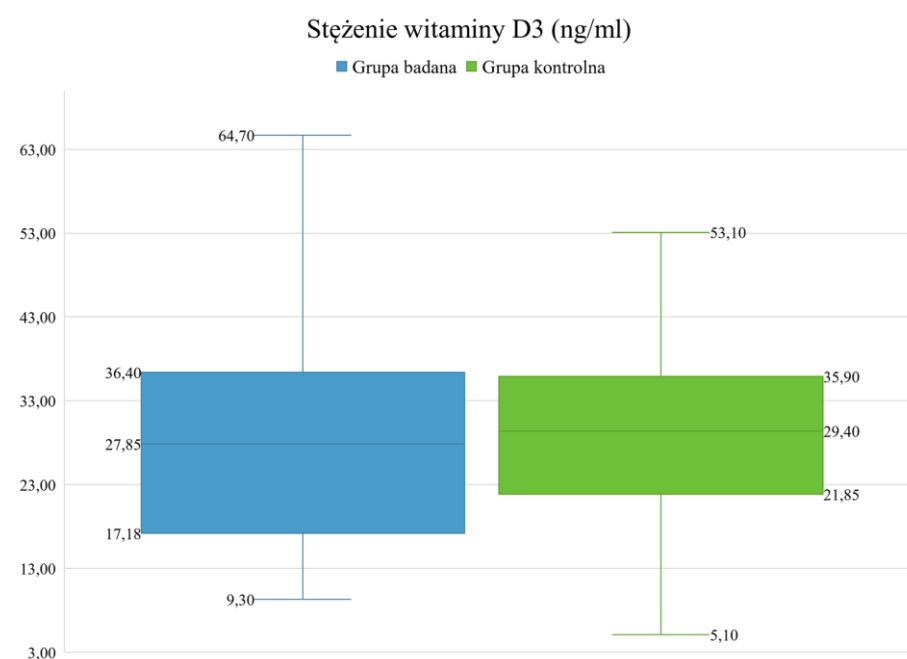


Ryc. 29. Korelacja stężenia witaminy D3 i wieku w grupie kontrolnej

4.3 Porównanie grupy badanej i grupy kontrolnej

4.3.1 Witamina D3

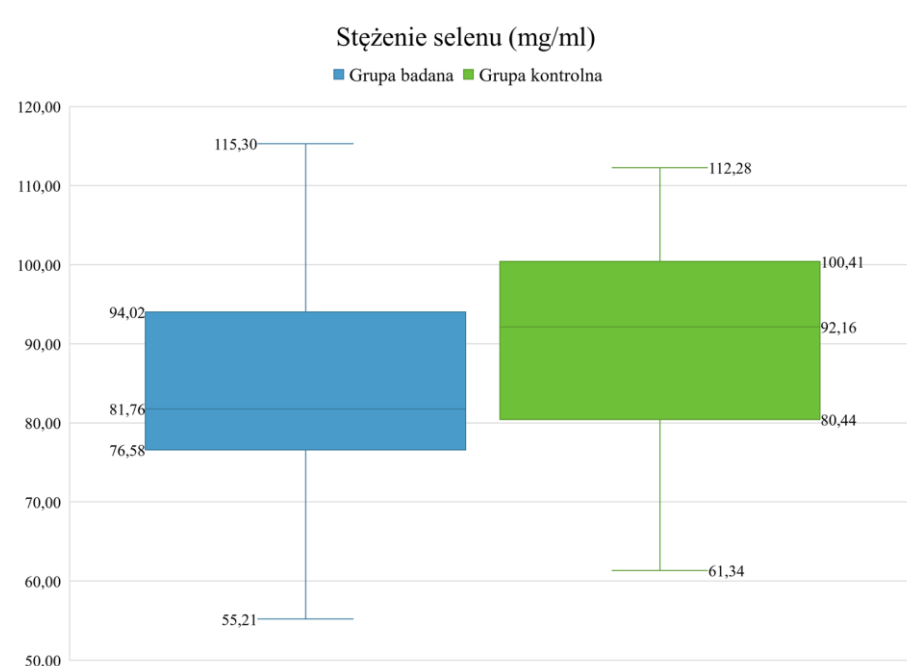
W wyniku porównania stężenia cholekalcyferolu w surowicy w grupie zakażonych wirusem grypy i w grupie kontrolnej nie wykazano istotnie statystycznej różnicy (Test U Manna-Whitneya, $p=0,8385$). Dane przedstawiono na wykresie.



Ryc. 30. Stężenie witaminy D3 z podziałem na grupę badaną i kontrolną

4.3.2 Selen

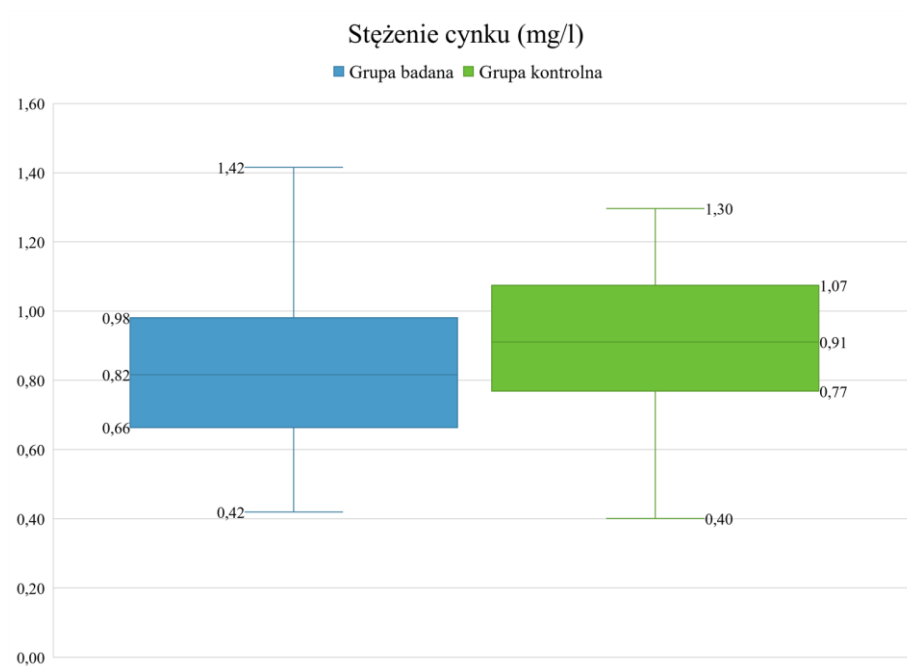
W toku analizy statystycznej po porównaniu obu grup wykazano istotnie wyższe stężenie selenu w grupie kontrolnej (Test U Manna-Whitneya, $p=0,0189$). Dane przedstawiono na poniższym wykresie.



Ryc. 31. Stężenie selenu z podziałem na grupę badaną i kontrolną

4.3.3 Cynk

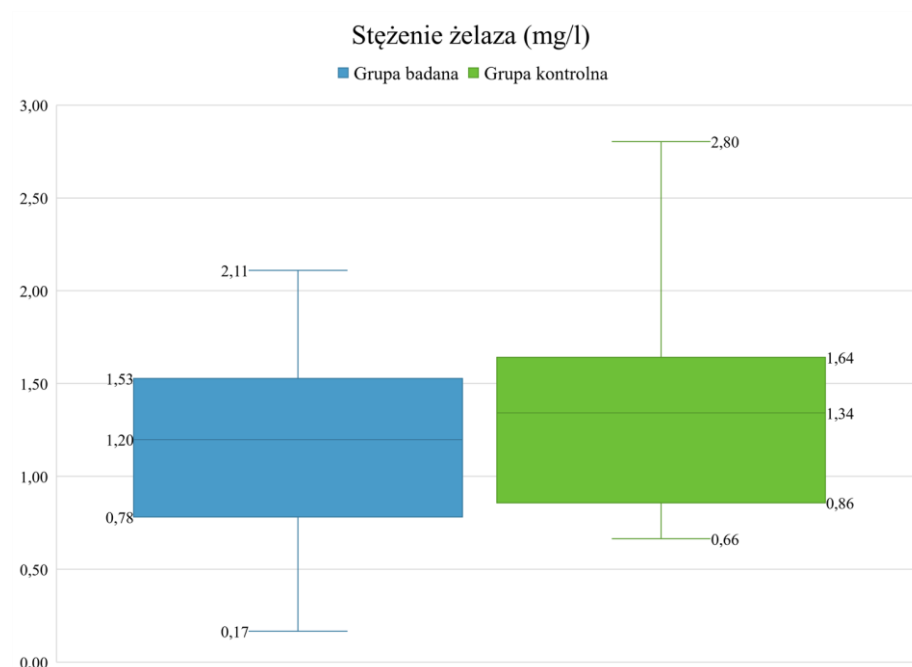
W wyniku porównania obu grup dostrzeżono istotnie statystycznie wyższe stężenie cynku w grupie kontrolnej (Test U Manna=Whitneya, $p=0,0243$). Dane przedstawiono na wykresie.



Ryc. 32. Stężenie cynku z podziałem na grupę badaną i kontrolną

4.3.4 Żelazo

Po porównaniu grupy badanej i kontrolnej nie wykazano istotnie statystycznej różnicy między grupami (Test U Manna-Whitneya, $p=0,6356$). Dane przedstawiono na wykresie.

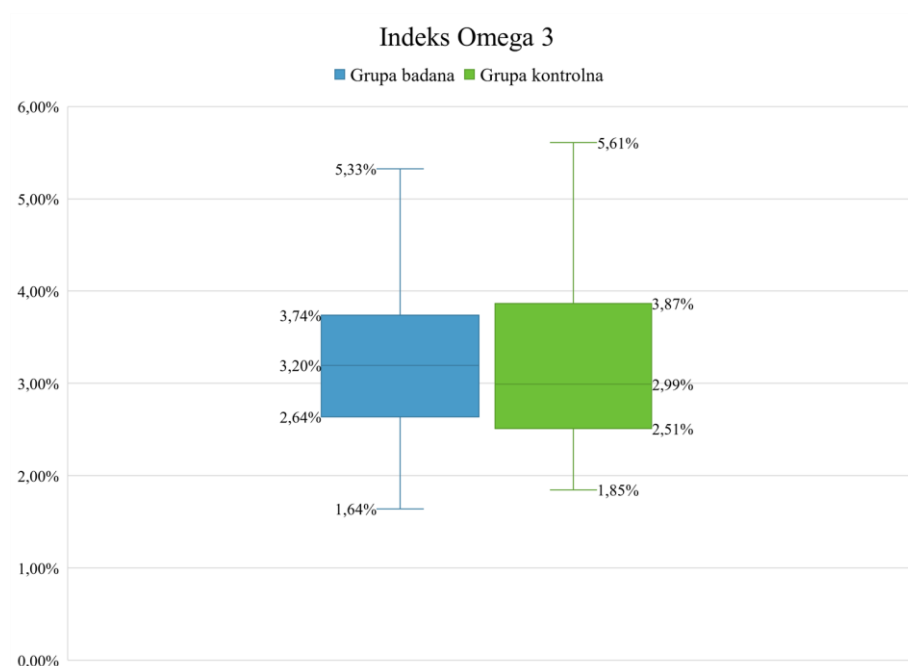


Ryc. 33. Stężenie żelaza z podziałem na grupę badaną i kontrolną

4.3.5 Wybrane kwasy tłuszczowe

4.3.5.1 Indeks kwasów Omega 3

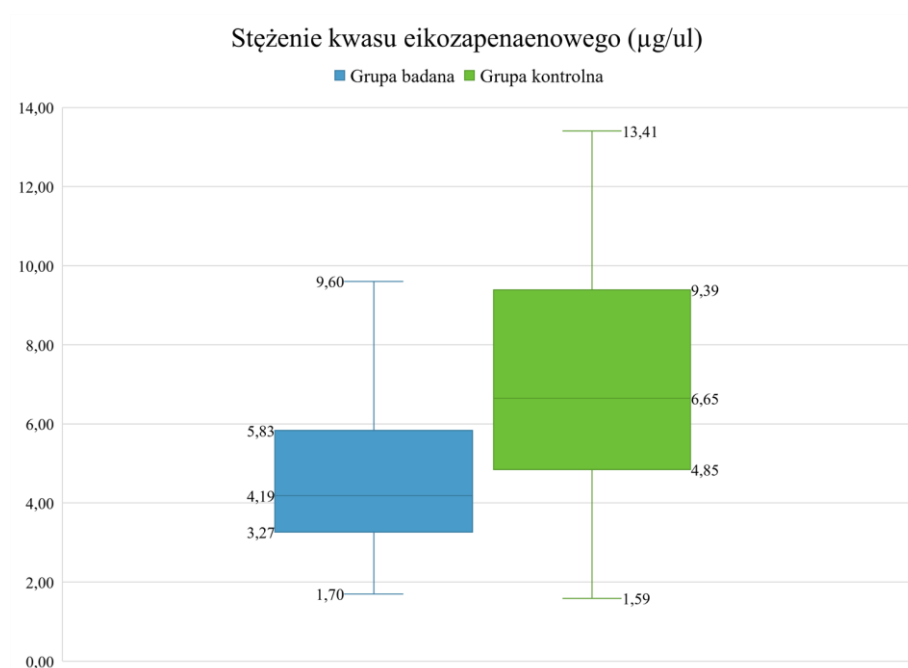
W wyniku analizy statystycznej nie zarejestrowano różnicy między grupą badaną a kontrolną w zakresie wartości indeksu kwasów Omega 3 (Test U Manna-Whitneya, $p=0,7982$).



Ryc. 34. Wartość indeksu Omega 3 z podziałem na grupę badaną i kontrolną

4.3.5.2 Kwas eikozapentaenowy

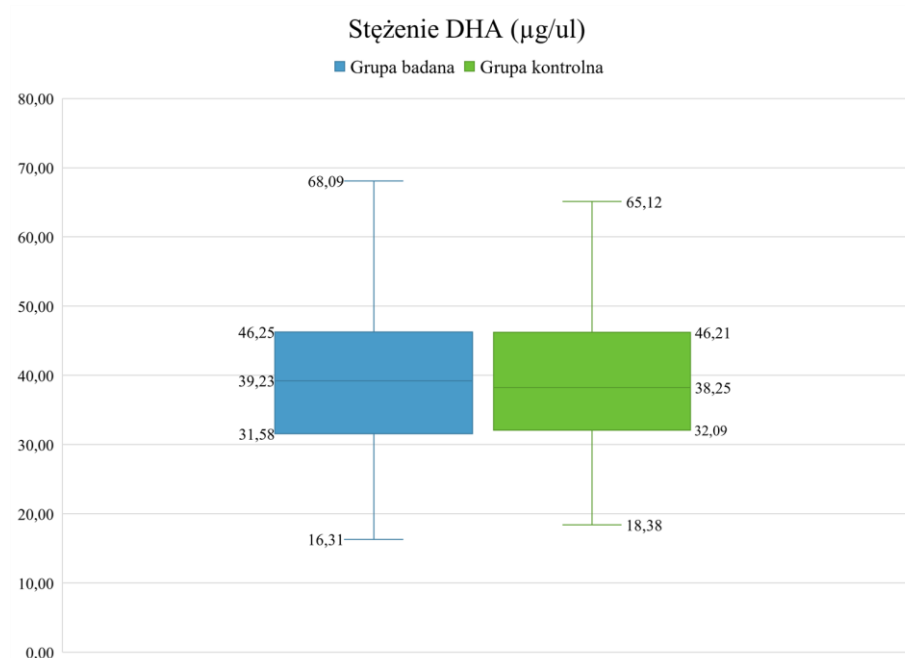
Podczas analizy stężeń kwasu EPA wykazano istotną różnicę między grupami (Test U Manna-Whitneya, $p=0,0001$).



Ryc. 35. Stężenie EPA z podziałem na grupę badaną i kontrolną

4.3.5.3 Kwas dokozaheksaenowy

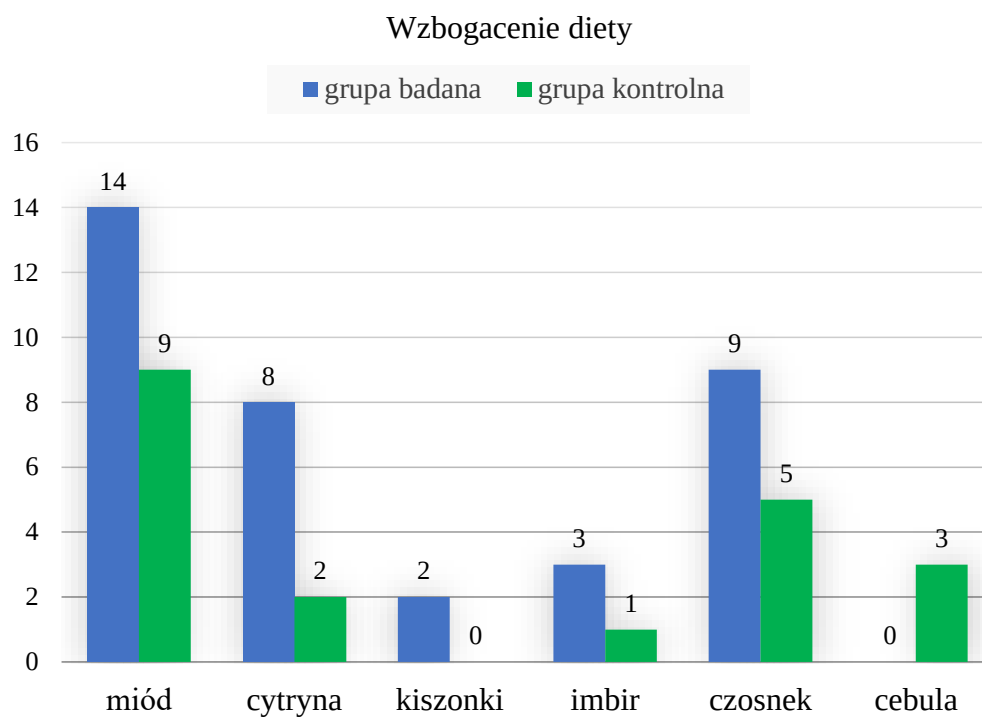
W wyniku analizy statystycznej nie zarejestrowano różnicy między grupą badaną a kontrolną w zakresie wartości indeksu kwasów Omega 3 (Test U Manna-Whitneya, $p=0,7982$).



Ryc. 36. Stężenie DHA z podziałem na grupę badaną i kontrolną

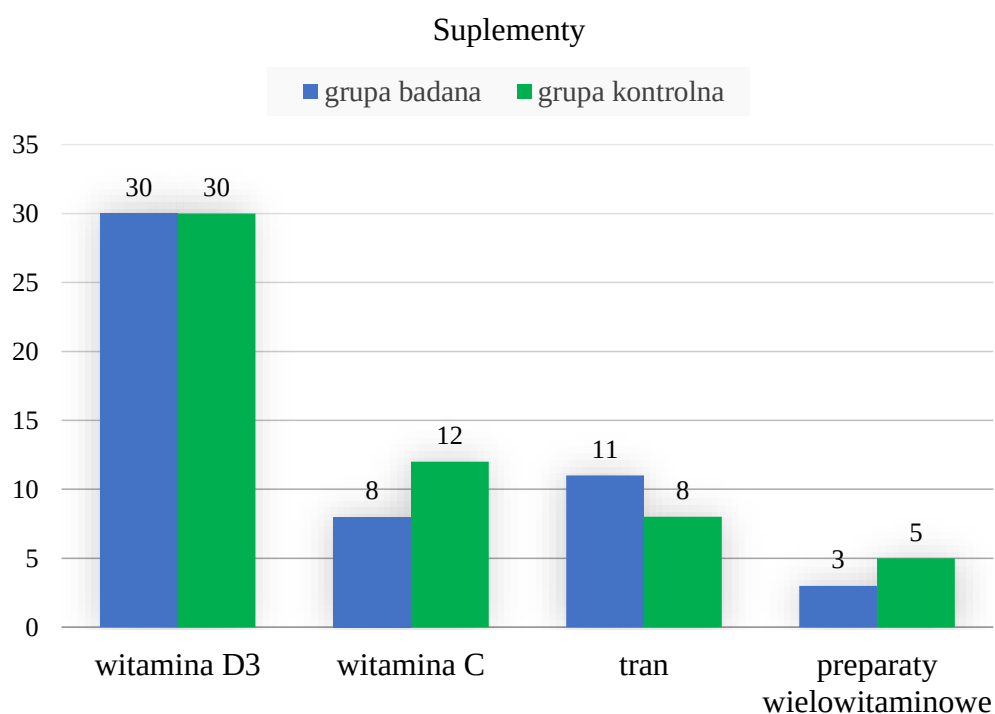
4.4 Badanie ankietowe

Wśród rodziców dzieci w grupie badanej i kontrolnej przeprowadzono ankietę (N=82). W badaniu ankietowym wzięło udział 41 rodziców pacjentów z grypą oraz 41 z grupy kontrolnej. Wyniki ankiety przedstawiono na rycinach 37 i 38.



Ryc. 37. Dane z ankiety dotyczące najczęściej stosowanych produktów żywnościowych z podziałem na grupę badaną i kontrolną

Wzbogacanie diety okresie jesienno-zimowym zadeklarowały 34 osoby ankietowane, 14 z grupy kontrolnej, 20 w grupie dzieci z grypą. Na rycinie 37 przedstawiono najczęściej wymieniane produkty.



Ryc. 38. Dane z ankiety dotyczące suplementacji z podziałem na grupę badaną i kontrolną

4.5 Szczepienie przeciwko grypie

W grupach poddanych analizie oceniono częstość wykonywania szczepienia przeciwko grypie. W grupie pacjentów zakażonych wirusem grypy (n=58) tylko 1 osoba była zaszczepiona. Była to dziewczynka zakażona wirusem grypy typu A, zaszczepiona jedną dawką preparatu czterowalentnego. W grupie kontrolnej (n=55) 100% badanych nie otrzymało szczepienia.

5. Omówienie wyników i dyskusja

Zakażenia wirusem grypy to powszechny problem dla publicznego sektora zdrowia. Według WHO grypa sezonowa jest przyczyną hospitalizacji 3-5 milionów osób oraz 250-500 tys. Zgonów w skali roku [101]. Ostre zakażenia układu oddechowego są główną przyczyną zachorowalności i śmiertelności na świecie, stąd szerokie zainteresowanie badaczy praktykami, które mogą ograniczyć rozprzestrzenianie infekcji.

W przeprowadzonej analizie własnej, w grupie badanej (n=58) przeważali chłopcy. W badaniu przeprowadzonym przez Kam Cheong Wong w populacji australijskiej w latach 2009-2015 wykazano istotnie większą zapadalność na gripę wśród płci męskiej u dzieci poniżej 14 roku

życia [102]. Co więcej Jensen-Fangel sugeruje, iż płeć może odgrywać rolę w podatności na infekcje układu oddechowego u dzieci [103]. W badaniu większość hospitalizowanych pacjentów to małe dzieci poniżej 6 roku życia (n=36). Obserwacje dotyczące wieku pacjentów zakażonych są spójne z wynikami analiz dostępnych w literaturze, gdzie największy odsetek hospitalizowanych z powodu grypy dotyczył dzieci poniżej 5 roku życia [104, 105]. Dla przykładu w australijskim badaniu przeprowadzonym pod nadzorem Li-Kim-Moyw przedstawiono, że spośród 740 pacjentów z grypą, aż 64% stanowiły dzieci poniżej 5 roku życia [106].

Wśród badanych dominowało zakażenie wirusem grypy typu A, stanowiąc aż 72,41 %. Drugim z kolei czynnikiem etiologicznym był podtyp AH1N1. W zebranej grupie najmniej zakażeń było wywołanych przez wirusa typu B. Mattila w swojej pracy porównał zakażenia wywołane przez wirusa grypy typu A i B. Podobnie zaobserwował większą częstość występowania grypy typu A. Zauważył natomiast, że nie ma klinicznych różnic w przebiegu choroby u dzieci w zależności od rodzaju wirusa [107]. W materiale własnym zaistniały pewne różnice pomiędzy zakażeniami różnymi typami wirusa grypy. W dokładnej analizie wybranych parametrów laboratoryjnych wykazano, że u 71,19% pacjentów zanotowano podwyższone stężenie białka C-reaktywnego. Zdecydowana większość bo aż 61,90% nieprawidłowych wyników towarzyszyła zakażeniom spowodowanych wirusem grypy typu A. W przypadku grypy typu AH1N1, tylko 28,57% pacjentów miało podwyższone wykładniki stanu zapalnego.

Analizując przebieg kliniczny grypy potwierdzono występowanie wśród badanych pacjentów powikłań będących konsekwencją zakażenia. Najczęściej dotyczyły one układu oddechowego i przyjmowały formę zapalenia oskrzeli lub płuc. Zarejestrowano kilku pacjentów z powikłaniami neurologicznymi czy też typowym dla grypy zapaleniem mięśni. Najrzadziej występowały powikłania kardiologiczne. W wyniku analizy potwierdzono cięższy przebieg grypy u najmłodszych dzieci. Tym samym oczywiste było wykazanie znacznie dłuższej hospitalizacji w tej grupie chorych. W testach statystycznych potwierdzono zależność występowania przedłużającej się gorączki z występowaniem powikłań. Nie wykazano natomiast różnic w laboratoryjnych wykładnikach stanu zapalnego w tej grupie. Wyniki badania jednoznacznie wskazują, że właśnie najmłodsze dzieci najczęściej ulegają hospitalizacji i zdecydowanie częściej obserwuje się u nich ciężki przebieg zakażenia wirusem grypy, co potwierdzają także doniesienia ze światowej literatury [104, 106].

W obliczu częstych infekcji u dzieci, w praktyce pediatrycznej powszechne są pytania rodziców o możliwości „wzmocnienia odporności”. W poszukiwaniu skutecznych, alternatywnych

metod chroniących przed zakażeniami dróg oddechowych zainteresowanie wzbudza plejotropowy wpływ składników odżywczych na funkcjonowanie układu odpornościowego.

W ostatnich latach jedną z najbardziej popularnych substancji, posiadającą działanie immunomodulujące jest cholekalcyferol. Wedle najnowszych wytycznych suplementacji zaleca się stosowanie witaminy D3 w dawkach dostosowanych do wieku przez całe życie człowieka. W szczegółowej analizie wykazano istotnie statystyczną zależność między stężeniem aktywnej formy witaminy D3 a wiekiem dziecka. Starsze dzieci charakteryzowały się niższym stężeniem witaminy w surowicy w porównaniu do młodszych. W grupie dzieci zakażonych wirusem grypy, aż 48% pacjentów miało stężenie witaminy D3 poniżej normy (30-50 ng/ml). Nie wykazano związku z niższym poziomem cholekalcyferolu a cięższym przebiegiem chorób w grupie badanej. U pacjentów w grupie kontrolnej wyniki poniżej normy uzyskano u 45%. Jak wspomniano wyżej, zwrócono uwagę na korelację pomiędzy obniżeniem stężenia witaminy, a starszym wiekiem dzieci, zjawisko to dotyczyło zarówno dzieci chorych jak i z grupy kontrolnej. Cashman w dużym badaniu w populacji europejskiej zauważył, że nastolatki mają większe ryzyko występowania niedoboru witaminy D3 w stosunku do dzieci młodszych. Wykazano, że niedobory dotyczyły od 12-40 % dzieci w wieku od 15 do 18 lat, podczas gdy w próbkach dzieci od roku do 6 lat i 7 do 14 niedobór wynosił odpowiednio 4-7% i 1-8% [108]. W ramach badania przeprowadzono ankietę, w której rodzice pytani o suplementację witaminy D3 zgłaszali jej stosowanie. Analizując wyniki ankiety i wyniki stężeń cholekalcyferolu u dzieci, wydaje się, że rzetelną suplementację stosują rodzice najmłodszych dzieci. W materiale własnym nie uzyskano różnicy w stężeniach cholekalcyferolu pomiędzy dziećmi zakażonymi wirusem grypy a grupą kontrolną, choć dane płynące z literatury mogły sugerować, że będzie inaczej. Cannel z współpracownikami zauważył, iż niedobór witaminy D3, może skutkować zwiększoną podatnością na zakażenie wirusem grypy w okresie zimowym [109]. Działanie cholekalcyferolu w układzie immunologicznym jest szczególnie dobrze wyjaśnione. Sato przedstawił, iż przypadku wirusa grypy istnieją różnice w wydzielaniu cytokin zapalnych w zależności od jego rodzaju. Zauważono istotnie wyższe stężenia IFN- γ i IL-4 u pacjentów z grypą typu A. Powyższe różnice mogą skutkować innym efektem prewencyjnym witaminy D3 w zakażeniach spowodowanych wirusem grypy A lub B [110]. W przeprowadzonym przez Urashima w Japonii badaniu randomizowanym z podwójnie ślepą próbą z placebo oceniono wpływ suplementacji witaminy D3 na zachorowalność na grypę typu A. We wnioskach z badania autor podkreśla zmniejszenie zapadalności na grypę typu A w grupie otrzymującej 1200 IU witaminy D3 [111]. Podobne obserwacje miał Ginde, który w latach 1988-1994 badając dorosłych Amerykanów

zauważył odwrotny związek pomiędzy stężeniem witaminy D3 w surowicy a występowaniem infekcji dróg oddechowych [112]. Pomimo wielu dowodów na ochronne działanie cholekalcyferolu w chorobach układu oddechowego, nie wszystkie dotychczas przeprowadzone badania wykazują związek pomiędzy infekcjami a witaminą D3 w surowicy. Dla przykładu w badaniu przeprowadzonym przez zespół Li-Ng wśród populacji dorosłych nie udowodniono wpływu suplementacji cholekalcyferolu na zapadalność na infekcje górnych dróg oddechowych [113].

Selen uważany jest za niezbędny mikroelement funkcjonowania organizmu. Food and Nutrition Board (FNB) za właściwą dawkę dobową dla dzieci uznała 25 µg, ale podaż doustną selenu uzależniła od rejonu geograficznego [114]. Ma to związek z różną zawartością mikropierwiastka w glebie [81]. Selen wchodząc w skład peroksydazy glutationowej (GPX) chroni organizm przed wolnymi rodnikami [115]. Ponadto budując selenoproteiny na drodze licznych szlaków metabolicznych kontroluje działalność antyoksydacyjną. Pod wpływem stężenia selenu regulowana jest transkrypcja genów selenoprotein, które odpowiadają za ochronę przed stresem oksydacyjnym [116]. Selen w suplementach występuje w postaci nieorganicznej (np. w postaci seleninu sodu) lub organicznej - najczęściej selenometionina, która wchodzi w skład drożdży selenowych. Forma organiczna preferowana jest w celu bieżącego uzupełnienia niedoborów pierwiastka, natomiast postać nieorganiczna selenu wykorzystywana jest w sytuacji, gdy niezbędny jest szybki efekt działania np. podczas leczenia nowotworowego. Suplementacja oparta na preparatach zawierających drożdże selenowe jest bezpieczna oraz cechuje się lepszą biodostępnością. Wielu badaczy wykazało związek niedoboru selenu w diecie z podatnością na infekcje wirusowe dróg oddechowych. Jest to spowodowane dwoma mechanizmami, po pierwsze deficyt selenu upośledza funkcjonowanie układu odpornościowego. Dodatkowo niskie stężenie tego mikropierwiastka stymuluje wirusy do powstawania ich bardziej zjadliwej wersji. Badanie Barnarda potwierdziło skuteczność suplementacji ZnAL42 w profilaktyce grypy H5N1 lub H1N1 u myszy [117]. Z kolei w badaniu przeprowadzonym przez zespół Lei Yu stworzono modele in vivo myszy z niedoborem selenu, z których część poddano suplementacji i określono stężenie selenu, śmiertelność, produkcję cytokin TNF-α i interferon-gamma (IFN-γ) oraz poziom wiremii wirusa grypy. Uzyskano następujące wyniki: myszy suplementowane charakteryzowały się zależnym od dawki selenu wzrostem przeżywalności oraz mniejszą utratą masy ciała, która była wskaźnikiem ciężkości zakażenia. Myszy z niedoborem selenu pozbawione suplementacji wykazywały się wysoką śmiertelnością, wyraźną utratą masy ciała. Analizowano także poziom wiremii wirusa w płucach myszy. Uzyskano niższą wiremię u zwierząt z prawidłowym stężeniem selenu we

krwi. Co więcej nie wykazano różnic w ilości wirusa w grupie myszy z niedoborem poddanych suplementacji a bez dodatkowej podaży selenu. Uzyskując takie wyniki zasugerowano pośredni wpływ ochronny selenu poprzez oddziaływanie na mechanizmy układu immunologicznego. Przeprowadzono dodatkowe doświadczenia wpływu suplementacji na poziom TNF- α i IFN- γ , które wykazało zmniejszoną produkcję cytokin u myszy z niższym stężeniem selenu [118]. W innym badaniu przeprowadzonym przez Shojadoost i współpracowników udowodniono zwiększenie ekspresji INF- α , INF- β oraz IFN- γ pod wpływem leczenia selenem w zakażeniu wirusem grypy H9N2 [119]. Kilka badań z kolei wykazało, że niski poziom selenu w surowicy był związany z niskim odsetkiem komórek NK [120]. Autorka prześledziła stężenia selenu w materiale własnym. Pacjenci zakwalifikowani do grupy kontrolnej charakteryzowali się istotnie wyższymi stężeniami selenu w surowicy w porównaniu do pacjentów z gripą. Dodatkowo wykazano, że w grupie zakażonych istnieje korelacja między wysokimi wartościami białka C-reaktywnego a niskim stężeniem selenu w surowicy, co może sugerować większą skłonność do rozwoju nasilonej odpowiedzi zapalnej u pacjentów z niższym stężeniem tego mikroelementu. Działanie ochronne selenu polega na tym, że jest niezbędnym kofaktorem w działaniu enzymów, które po połączeniu z witaminą E ograniczają powstawanie reaktywnych form tlenu. W przypadku niedoboru selenu dochodzi do niewydolności obrony antyoksydacyjnej co może powodować nasilenie odpowiedzi zapalnej u gospodarza [121]. Ponadto badanie Beck'a sugeruje, iż niedobór selenu istotnie zwiększa produkcję cytokin prozapalnych u chorych z gripą [122]. Z kolei szwedzkie randomizowane badanie kontrolowane placebo wykazało zmniejszenie odpowiedzi zapalnej (mierzoną CRP oraz innymi wskaźnikami zapalenia) pod wpływem suplementacji selenu wraz z koenzymem Q10 [123, 124]. Badanie to było przeprowadzone wśród osób w podeszłym wieku. Podsumowując wyniki uzyskanych badań oraz dane płynące z literatury uzasadnione wydaje się utrzymywanie odpowiedniego stężenia selenu w organizmie w celu prawidłowego funkcjonowania układu immunologicznego i ochrony przed powstawaniem nadmiernej reakcji zapalnej w odpowiedzi na patogeny.

Kolejnym mikroelementem, którego stężenie analizowano w badaniu był cynk. Cynk jest istotny dla rozwoju układu odpornościowego, a niedobór pierwiastka skutkuje upośledzeniem tworzenia, aktywacji i dojrzewania limfocytów, zaburza wytwarzanie cytokin [125]. Udowodniono także zwiększoną zachorowalność na choroby układu oddechowego u dzieci z niedoborem cynku [126]. W wyniku porównania stężenia cynku zarejestrowano istotnie niższe stężenie u pacjentów zakażonych wirusem grypy w stosunku do dzieci z grupy kontrolnej. Analogicznie jak w przypadku selenu wykazano korelację pomiędzy wysokim

stężeniem CRP a niskim stężeniem cynku w surowicy pacjentów z grypą. Podobne obserwacje opisywane są w literaturze, gdzie niedobór cynku przyczynia się do wzrostu wykładników stanu zapalnego [125]. Lassi wykazał, że suplementacja cynkiem znacznie ogranicza występowanie infekcji dróg oddechowych u dzieci w krajach o niskim statusie ekonomicznym [126]. Dodatkowo w wielu randomizowanych badaniach sugerowano skrócenie czasu trwania przeziębienia pod wpływem stosowania preparatów z cynkiem w pierwszych dniach choroby [127, 128]. Potwierdzono także skrócenie czasu biegunki u dzieci podczas stosowania cynku doustnie. Na tej podstawie w 2016 r. WHO zmodyfikowała wytyczne leczenia ostrej biegunki u dzieci, zalecając włączenie do leczenia preparatów z cynkiem [129]. Istnieją przesłanki, że cynk poza działaniem ograniczającym powstawanie stanu zapalnego może bezpośrednio zmniejszać replikację różnych wirusów RNA [130, 131, 132].

Światowa literatura opisuje związek między metabolizmem żelaza a reakcją organizmu na zakażenie [133, 134]. Żelazo jest przedmiotem konkurencji między patogenem a gospodarzem [135, 136, 137]. Wang i współpracownicy zauważyli istotną korelację między ciężkim stanem pacjentów zakażonych wirusem ptasiej grypy H7N9 a niskim stężeniem żelaza i wysokim stężeniem ferrytyny. Stwierdzono, że niskie stężenie żelaza może być biomarkerem ciężkiego przebiegu choroby u zakażonych H7N9 [138]. W aktualnym badaniu dokonano dokładnej analizy stężenia żelaza w surowicy dzieci z grypą. Nie wykazano żadnego związku między ciężkim przebiegiem a niskim stężeniem tego pierwiastka. Porównując stężenia w surowicach dzieci chorych do grupy kontrolnej nie zauważono istotnej różnicy między nimi.

W badaniu poddano analizie wybrane kwasy tłuszczowe i indeks Omega 3 u zakażonych wirusem grypy. Kwas eikozapentaenowy oraz kwas dokozaheksaenowy są kwasami tłuszczowymi n-3. Istnieje wiele dowodów na ich działanie przeciwzapalne w wielu jednostkach chorobowych. Mechanizm działania jest bardzo różnorodny. W miejscu zapalnym dochodzi do uwalniania substancji chemicznych zwanych chemoatraktantami, które powodują przemieszczanie się leukocytów w kierunku zapalenia (tzw. chemotaksja). Kwasy PUFA n-3 zapobiegają chemotaksji zmniejszając ekspresję lub działając antagonistycznie na receptory chemoatraktantów [139]. Ponadto badania nad EPA i DHA donoszą o ich wpływie na zmniejszenie ekspresji cząstek adhezyjnych na powierzchni monocytów, limfocytów, makrofagów oraz komórek śródbłonna tym samym zmniejszając nasilenie ogniska zapalnego [140]. Do mediatorów zapalnych należą także eikazonoidy, których prekursorem jest kwas arachidonowy uwalniany z fosfolipidów błonowych pod wpływem bodźca zapalnego. Z uwolnionego kwasu arachidonowego pod wpływem aktywności enzymatycznej cyklooksygenazy (ang. *cyclooxygenase*, COX) powstają prostaglandyny i tromboksany.

Działanie lipooksygenazy (ang. *lipooxygenase*, LOX) skutkuje powstaniem leukotrienów, a aktywność cytochromu P450 do kwasów hydroksyeikozatetraenowego oraz epoksyeikozatrienoinowego. Eikazonoidy są powszechnie uznane za mediatory stanu zapalnego. Liczne badania na zwierzętach wykazały zmniejszenie produkcji eikazonoidów pod wpływem suplementacji EPA, DHA [141]. W badaniach z udziałem ludzi pod wpływem suplementacji dużymi dawkami EPA i DHA uzyskano podobny rezultat. U źródeł tego mechanizmu leży konkurencja pomiędzy EPA a kwasem arachidonowym, które są substratami dla enzymów COX, LOX i cytochromu P450. Mediatory pochodzące z reakcji, gdzie substratem jest EPA charakteryzują się inną budową oraz słabszą aktywnością biologiczną. Podsumowując EPA powoduje zmniejszenie produkcji silnych eikazonoidów pochodzących z kwasu arachidonowego i powstawanie słabszych biologicznie form, dzięki którym stan zapalny zostaje osłabiony [142]. Kwas arachidonowy jest także prekursorem bardziej złożonych eikazonoidów - endokannabinoidów. Najważniejsze z nich to etanoloamid arachidonoilu (ang. *arachidonoyl ethanolamide*, AEA) oraz 2-arachidonoiloglicerol (ang. *2-arachidonoyl glycerol*, 2-AG) [143]. Wykazano, iż zwiększona dostępność EPA oraz DHA powoduje powstawanie endokannabinoidów o działaniu przeciwzapalnym zawierających właśnie te kwasy [144]. Odkryciem ostatnich lat są mediatory pochodzące z morskich n-3 PUFA, rezolwiny z EPA i DHA oraz protektyny z DHA. Ich działanie przeciwzapalne wykazano w badaniach opartych na modelach zwierzęcych i hodowlach komórkowych [145]. Ponadto EPA, DHA zmniejszają wytwarzanie cytokin zapalnych takich jak TNF, IL-6, IL-1b oraz reaktywność limfocytów T.

W wyniku analizy stężeń kwasu eikozapentaenowego w surowicy pacjentów z gripą oraz pacjentów z grupy kontrolnej dostrzeżono pomiędzy nimi istotnie statystyczną różnicę. Dodatkowo uzyskano istotnie niższe miana kwasu eikozapentaenowego długo gorączkujących podczas trwania choroby. Co więcej u dzieci z podwyższonym stężeniem białka C-reaktywnego obserwowano niższe stężenia EPA oraz DHA w surowicy. W badaniu stwierdzono różnice stężenia kwasu eikozapentaenowego w zależności od płci badanych. Dziewczynki charakteryzowały się większą zawartością tego kwasu w surowicy. Podobne wyniki otrzymała Walker w swoim badaniu na populacji dorosłych [146]. Doniesienia tego nie potwierdzają inni badacze. Co więcej Crowe i współautorzy, zarejestrowali niższy poziom EPA u kobiet [147]. Zdecydowanie więcej dowodów, pochodzących z analiz przekrojowych dotyczy DHA i jego wyższego stężenia w osoczu kobiet, na co najprawdopodobniej mają wpływ estrogeny [148, 149].

Dodatkowo w materiale własnym dokładnie analizowano zawartość kwasów tłuszczowych wśród pacjentów z powikłanym przebiegiem grypy. Dostrzeżono, że pacjenci z grypowym zapaleniem mięśni, z wysoką aktywnością kinazy kreatynowej charakteryzowali się niskim stężeniem kwasu DHA. W przypadku kwasu eikozapentaenowego jego niskie stężenia towarzyszyły dzieciom z zapaleniem płuc w przebiegu grypy.

Dotychczas najczęściej doniesień o wpływie indeksu Omega 3 opisano w jednostkach chorobowych z układu sercowo-naczyniowego. W toku przeprowadzonej analizy nie zarejestrowano związku niskiego miana indeksu kwasów Omega 3 z cięższym przebiegiem grypy. Moosavian w dużej metaanalizie przedstawił, że suplementacja kwasami tłuszczowymi Omega-3 i witaminą E miała znaczący wpływ na zmniejszenie stężenia CRP [150]. W materiale własnym nie zaobserwowano istotnej korelacji między badanymi parametrami laboratoryjnymi. W populacji europejskiej średnia wartość indeksu kwasów Omega 3 osiąga wartość suboptymalną, tj <8%. W przypadku badanej grupy mediana wyniosła 3,2%, zaś w grupie kontrolnej 2,99%. Jak wynika z analizy w badanej grupie indeks kwasów Omega 3 jest stosunkowo niski, zdecydowanie poniżej wartości optymalnej. Co więcej między grupami nie było istotnej różnicy w zakresie indeksu kwasów Omega 3. Marker ten nie miał wpływu na zakażenie wirusem grypy u dzieci.

Rodzice chętnie decydują się na wspieranie odporności swojego dziecka poprzez stosowanie rozmaitych suplementów, preparatów wielowitaminowych. Działanie to jest zdecydowanie bardziej rozpowszechnione niż szczepienie przeciwko grypie. Opierając się na przeprowadzonych badaniach ankietowych, obliczono że 90 % opiekunów deklaruje stosowanie dodatkowych witamin, suplementów w okresie jesienno-zimowym. Najczęściej stosowanym preparatem była witamina D3, którą stosowało 81% ankietowanych. W strefie klimatycznej w której znajduje się Polska rekomenduje się suplementację cholekalcyferolu niezależnie od wieku. W populacji pediatrycznej stosowanie witaminy D3 jest powszechne, lecz zdaje się, że regularnie podawana jest dzieciom w najmłodszych grupach wiekowych. Mogą na to wskazywać wyniki badania, gdzie wykazano istotnie statystyczną zależność między stężeniem aktywnej formy witaminy D a wiekiem dziecka. Na drugim miejscu rodzice zadeklarowali stosowanie preparatów witaminy C oraz tranu. Ponadto w badaniu ankietowym analizowano wzbogacanie diety w składniki posiadające potencjalny wpływ na zwiększenie odporności. 34 osoby potwierdziły ich stosowanie. Do najczęściej wymienianych składników należą miód (n=24) i czosnek (n=14). Właściwości ochronnych miodu znane są od lat. W swoim składzie zawiera wiele związków chemicznych, takich jak: cukry, związki fenolowe, aminokwasy, kwasy organiczne, witaminy oraz minerały [151]. Cheng i Wang przedstawili

działanie protekcyjne kwasów fenolowych przed indukowanym nadtlenkiem wodoru oksydacyjnym uszkodzeniem DNA w limfocytach [152]. Dodatkowo oprócz kwasów fenolowych i flawonoidów, w miodzie zawarte są substancje takie jak cukry, białka, aminokwasy, karoteny, kwasy organiczne, które także wykazują aktywność antyoksydacyjną [153]. Działanie antyoksydacyjne poparto w wielu badaniach na modelach ludzkich i zwierzęcych [152, 154]. Spożycie 1200 mg/kg miodu może zwiększyć poziom antyoksydantów takich jak reduktaza glutationowa, β -karoten, witamina C u zdrowych ludzi [155]. Nantz natomiast sugeruje zmniejszenie ciężkości grypy w wyniku suplementacji ekstraktu z czosnku [156]. Najmniej ankietowanych wzbogaca dietę w cytryny, imbir oraz kiszonki. Porównując deklaracje rodziców w obu grupach, zauważono, że opiekunowie dzieci z gripą częściej stosowali wzbogacanie diety w rozmaite produkty.

Badanie wskazuje na znaczenie profilaktyki i ochrony przed zakażeniem wirusem grypy, szczególnie w grupie małych dzieci u których choroba przebiega ciężiej i zdecydowanie częściej dochodzi do rozwoju powikłań. Niewątpliwie do działań prewencyjnych przed zakażeniem, ciężkim przebiegiem, rozwojem powikłań zalicza się szczepienie przeciwko grypie. Ze względu na znaczną zmienność antygenową wirusa grypy, skład szczepionki co roku wymaga aktualizacji tak, aby zapewnić ochronę przed szczepami wirusa panującego w danym sezonie epidemicznym. Szczepienie zapewnia ochronę przed zachorowaniem u 40-70% osób zaszczepionych [157]. Szczepionka przeciwko wirusowi grypy nie cieszy się szczególnym zainteresowaniem w populacji polskiej, mimo najmniejszej liczby zarejestrowanych niepożądanych odczynów poszczepiennych. Według Rogalskiej rodzice akceptują szczepienia w celu zapobiegania chorobom zakaźnym, ale wyrażają obawy związane z ich bezpieczeństwem. Rogalska obserwuje to zjawisko szczególnie w grupie rodziców starszych, posiadających wyższe wykształcenie oraz mieszkańców miast [158]. Jak wynika z danych w przeprowadzonym badaniu tylko jedna osoba została zaszczepiona. Co ciekawe, było to dziecko, które zostało zakażone wirusem grypy. Polska znajduje się na jednym z ostatnich miejsc w Europie pod kątem wyszczepialności na gripę. Największe zainteresowanie szczepionką było w sezonie epidemicznym w latach 2001/2002, wówczas zaszczepiono 10,57% populacji polskiej. W ostatnich latach zanotowano spadek wyszczepialności, w sezonie 2019/2020 4,12% Polaków zostało zaszczepionych na gripę, w sezonie 2018/2019 3,9%. Większość zaszczepionych stanowiła populacja osób po 65 roku życia [159]. Podobne obserwacje mieli autorzy australijskiego badania, w którym niewielki odsetek pacjentów został zaszczepiony, mimo iż w Australii istnieje bezpłatny program szczepień dla dzieci z chorobami współistniejącymi [106]. Zupełnie inaczej sytuacja szczepień przeciwko grypie wygląda

w Stanach Zjednoczonych, Kanadzie i Wielkiej Brytanii. W wymienionych krajach istnieją programy powszechnych szczepień, a wyszczepialność dzieci sięga aż 60 % [170, 160, 161, 162].

Stale pojawiające się nowe warianty wirusa grypy stanowią wyzwanie dla działań zapobiegających rozprzestrzenianiu się wirusa. Corocznie opracowywane szczepionki są skuteczną metodą ochrony przed grypą, ale ciągle poszukiwane są dodatkowe, opłacalne strategie wspierające układ odpornościowy. Zapewnienie odpowiedniego żywienia, bogatego w mikroskładniki odżywcze, kwasy tłuszczowe Omega 3 oraz suplementacja witamin mogą zapewnić odpowiednie funkcjonowanie układu odpornościowego, zmniejszając podatność na infekcje wirusowe.

6. Wnioski

- Zakażenie wirusem grypy częściej dotyczy płci męskiej. W grupie pacjentów hospitalizowanych z powodu grypy z powikłaniami dominują dzieci poniżej 6 roku życia.
- Witamina D3 nie ma wpływu na zachorowanie i przebieg grypy u dzieci. Niedobór cholekalcyferolu jest powszechny i dotyczy niemal połowy pacjentów objętych badaniem, zarówno chorych jak i w grupie kontrolnej. Dodatkowo, stwierdzono zależność między starszym wiekiem dziecka, a niższym stężeniem cholekalcyferolu w surowicy.
- Wyższe stężenia cynku i selenu w surowicy krwi mają korzystny wpływ na przebieg grypy u dzieci.
- Stężenie żelaza w surowicy nie ma wpływu na przebieg grypy u dzieci.
- Indeks kwasów Omega 3 nie stanowi czynnika wpływającego na przebieg zakażenia wirusem grypy u dzieci.
- Niższe stężenie EPA w surowicy koreluje z cięższym przebiegiem zakażenia wirusem grypy u dzieci. Wykazane w badaniu niższe stężenie EPA w surowicy chłopców może być odpowiedzialne za częstsze występowanie choroby u płci męskiej. Wyższe stężenie DHA koreluje z łagodniejszym przebiegiem choroby.
- W profilaktyce schorzeń infekcyjnych wybieranej przez rodziców pacjentów pediatrycznych dominują suplementy diety i preparaty wielowitaminowe, natomiast stosowanie szczepień ochronnych przeciw grypie stanowi zjawisko marginalne.

7. Streszczenie

WSTĘP: Grypa stanowi powszechny problem dla zdrowia publicznego. W populacji pediatrycznej w okresie jesienno-zimowym szczególnie częste jest rozprzestrzenianie się licznych infekcji wirusowych oraz bakteryjnych. Grypa jest jedną z przyczyn hospitalizacji dzieci poniżej 5 roku życia. Skuteczną metodą profilaktyki przed zakażeniem jest coroczne szczepienie. Coraz częściej obserwuje się stosowanie przez rodziców „preparatów na odporność” w celu zapobiegania infekcjom.

METODY: Badaniem objęto 58 pacjentów z zakażeniem wirusem grypy w okresie od października do kwietnia w latach 2018-2020. Grupę kontrolną (n=55) stanowiły dzieci hospitalizowane w tym samym czasie, u których nie stwierdzano cech infekcji. W obu grupach analizie poddano surowicę, w której oznaczano stężenie witaminy D3, selenu, cynku, żelaza, indeksu kwasów Omega 3 oraz wybranych kwasów tłuszczowych. Uzyskane wyniki badań poddano analizie porównawczej między grupami. W grupie badanej analizowano wpływ wybranych pierwiastków, witamin oraz kwasów tłuszczowych na przebieg zakażenia wirusem grypy.

WYNIKI: W wyniku analizy wykazano, że nie ma różnic w stężeniu witaminy D3 w grupie dzieci z grypą i kontrolnej. Zanotowano istotnie wyższe stężenia pierwiastków cynku i selenu w grupie kontrolnej. Wykazano zależność między niskimi stężeniami cynku, selenu a stężeniem CRP. W przypadku stężenia żelaza nie wykazano różnic w stężeniu pomiędzy grupami. W wyniku porównania wartości indeksu Omega 3 nie dostrzeżono różnic w obu grupach. Badano także wybrane kwasy tłuszczowe. Stężenie EPA było istotnie wyższe u dzieci z grupy kontrolnej. Wykazano wyższe stężenie EPA u płci żeńskiej. Dodatkowo zauważono zależność między niskim stężeniem EPA w surowicy a wyższym stężeniem CRP oraz dłuższym trwaniem gorączki u pacjentów. Co więcej zanotowano znacznie niższe stężenia EPA u chorych z zapaleniem płuc. W wyniku analizy stężenia DHA wykazano zależność między niskim stężeniem a wyższym stężeniem CRP.

WNIOSKI: Stężenie witaminy D3 nie ma wpływu na przebieg grypy u dzieci. Powszechny jest niedobór witaminy D3, zwłaszcza u starszych dzieci. Stężenie selenu oraz cynku ma istotny wpływ na przebieg grypy. Żelazo pozostaje bez wpływu na przebieg zakażenia. Indeks kwasów Omega 3 nie ma wartości prognostycznej w grypie. W wyniku analizy wybranych kwasów tłuszczowych na przebieg grypy u dzieci wpływ mają kwas eikozapentaenowy, kwas dokozaheksaenowy. Szczepienie przeciwko grypie jest rzadko praktykowane w populacji

pediatrycznej. Powszechne jest stosowanie suplementów diety, preparatów wielowitaminowych.

8. Summary

INTRODUCTION: Influenza is a common public health problem. The spread of multiple viral and bacterial infections is particularly common in the pediatric population during the autumn and winter months. Influenza is one of the causes of hospitalization of children under 5 years old. Annual vaccination is an effective method of prevention. The use of ‘immune preparations’ by parents to prevent infections is becoming more and more common.

METHODS: There are fifty-eight patients with influenza virus infection between October and April in 2018-2020 included in the study. The control group (n=55) consisted of children hospitalized at the same time with no signs of infection. Serum levels of vitamin D3, selenium, zinc, iron, Omega 3 acid index and selected fatty acids were analyzed in both groups. The obtained results were subjected to comparative analysis between those two groups. The influence of selected elements, vitamins and fatty acids on the course of influenza virus infection was analyzed in the study group.

RESULTS: The analysis showed that there were no differences in vitamin D3 concentration in the group of children with influenza and the control group. Significantly higher concentrations of the zinc and selenium were reported in the control group. There was a correlation between low concentrations of zinc, selenium and CRP concentration.

In case of iron concentration no differences between the groups were found. The comparison of Omega 3 index values showed no differences in both groups. Selected fatty acids were also studied. Concentration of EPA was significantly higher in children from control group. EPA concentration was found to be higher in females. In addition, a correlation between low serum EPA levels and higher CRP levels and longer duration of fever in patients was observed. Moreover, EPA concentrations were significantly lower in patients with pneumonia. The analysis of DHA concentration showed a correlation between low concentration and higher CRP concentration.

CONCLUSION: Vitamin D3 concentration has no influence on the course of influenza in children. Vitamin D3 deficiency is common, especially in older children. Selenium and zinc concentrations have a significant effect on influenza. Iron has no effect on the course of infection. Omega 3 acids index has no predictive value in influenza. In the analysis of selected fatty acids, eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid have an influence on the course of influenza in children. Influenza vaccination is rarely practiced in the pediatric population. The use of dietary supplements, multivitamin preparations is common.

9. Bibliografia

1. Juozapaitis M, Antoniukas L. Gripo virusas [Influenza virus]. *Medicina (Kaunas)*. 2007;43(12):919-929.
2. Gultyaev AP, Fouchier RA, Olsthoorn RC. Influenza virus RNA structure: unique and common features. *Int Rev Immunol*. 2010;29(6):533-556.
3. Bouvier NM, Palese P. The biology of influenza viruses. *Vaccine*. 2008;26 Suppl 4:D49-D53.
4. Stefańska I, Dzieciatkowski T, Młynarczyk G. Zakażenia ortomyksowirusami u osób z zaburzeniami odporności. *Post. Mikrobiol*. 2012; 51, (2):99-108.
5. A revision of the system of nomenclature for influenza viruses: a WHO memorandum. *Bull World Health Organ*. 1980;58(4):585-591.
6. Krammer F, Smith GJD, Fouchier RAM, et al. Influenza. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4(1):3. 2018 Jun 28.
7. Meldunki o zachorowaniach na grypę. Dostępne na stronie: <http://wwwold.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/grypa/index.htm>.
8. Karwat I, Jabłoński L. Podstawy Epidemiologii Ogólnej, Epidemiologia Chorób Zakaźnych. Lublin, Polska: Czelej; 2002: 280.
9. Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team, Dawood FS, Jain S, et al. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans [published correction appears in N Engl J Med. 2009 Jul 2;361(1):102]. *N Engl J Med*. 2009;360(25):2605-2615.
10. Gray GC, Baker WS. Editorial commentary: the problem with pigs: it's not about bacon. *Clin Infect Dis*. 2011;52(1):19-22.
11. Ustawa z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi. Dostępna na stronie: <https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/download.xsp/WDU20082341570/T/D20081570L.pdf>.
12. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 10 lipca 2013 r. w sprawie zgłoszeń podejrzenia lub rozpoznania zakażenia, choroby zakaźnej lub zgonu z powodu zakażenia lub choroby zakaźnej. Dostępne na stronie: <https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/download.xsp/WDU20130000848/O/D20130848.pdf>.
13. Nadzór nad wirusami wywołującymi zachorowania na grypę oraz zachorowania grypopodobne w Polsce. Dostępne na stronie: <https://sentinel.pzh.gov.pl>.
14. Ernest Kuchar, Jacek Mrukowicz, Piotr Sawiec, Andrzej Gładysz. Grypa. Dostępne na stronie: <https://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.18.1.1>.

15. World Health Organization (WHO). Influenza (Avian and other zoonotic). WHO (2018). Dostępne na stronie: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(avian-and-other-zoonotic\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(avian-and-other-zoonotic)).
16. Machała MK, Brydak LB. Grypa w różnych aspektach. Część I--Budowa, replikacja i zmienność wirusów grypy oraz przebieg kliniczny choroby, odpowiedź immunologiczna i diagnostyka laboratoryjna [Various sides of influenza, part I--structure, replication, changeability of influenza viruses, clinical course of the disease, immunological response and laboratory diagnostics]. *Pol Merkur Lekarski*. 2006;21(123):270-276.
17. Price DA, Postlethwaite RJ, Longson M. Influenzavirus A2 infections presenting with febrile convulsions and gastrointestinal symptoms in young children. *Clin Pediatr (Phila)*. 1976;15(4):361-367.
18. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). People at High Risk For Flu Complications. CDC (2021). Dostępne na stronie: <https://www.cdc.gov/flu/highrisk/index.htm>
19. Dawood FS, Fiore A, Kamimoto L, et al. Influenza-associated pneumonia in children hospitalized with laboratory-confirmed influenza, 2003-2008. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29(7):585-590.
20. Klein EY, Monteforte B, Gupta A, et al. The frequency of influenza and bacterial coinfection: a systematic review and meta-analysis. *Influenza Other Respir Viruses*. 2016;10(5):394-403.
21. Dawood FS, Chaves SS, Pérez A, et al. Complications and associated bacterial coinfections among children hospitalized with seasonal or pandemic influenza, United States, 2003-2010. *J Infect Dis*. 2014;209(5):686-694.
22. Rothberg MB, Haessler SD, Brown RB. Complications of viral influenza. *Am J Med*. 2008;121(4):258-264.
23. McCullers JA. Insights into the interaction between influenza virus and pneumococcus. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19(3):571-582.
24. Gerone PJ, Ward TG, Chappell WA. Combined infections in mice with influenza virus and *Diplococcus pneumoniae*. *Am J Hyg*. 1957;66(3):331-341.
25. Peltola V, Heikkinen T, Ruuskanen O. Clinical courses of croup caused by influenza and parainfluenza viruses. *Pediatr Infect Dis J*. 2002;21(1):76-78.
26. Kim HW, Brandt CD, Arrobio JO, Murphy B, Chanock RM, Parrott RH. Influenza A and B virus infection in infants and young children during the years 1957-1976. *Am J Epidemiol*. 1979;109(4):464-479.

27. Bernstein T, Brill R, Jacobs B. Is bacterial tracheitis changing? A 14-month experience in a pediatric intensive care unit. *Clin Infect Dis*. 1998;27(3):458-462.
28. Paksu MS, Aslan K, Kendirli T, et al. Neuroinfluenza: evaluation of seasonal influenza associated severe neurological complications in children (a multicenter study). *Childs Nerv Syst*. 2018;34(2):335-347.
29. Khandaker G, Zurynski Y, Buttery J, et al. Neurologic complications of influenza A(H1N1)pdm09: surveillance in 6 pediatric hospitals. *Neurology*. 2012;79(14):1474-1481.
30. Newland JG, Laurich VM, Rosenquist AW, et al. Neurologic complications in children hospitalized with influenza: characteristics, incidence, and risk factors. *J Pediatr*. 2007;150(3):306-310.
31. Kedia S, Stroud B, Parsons J, et al. Pediatric neurological complications of 2009 pandemic influenza A (H1N1). *Arch Neurol*. 2011;68(4):455-462.
32. Chiu SS, Tse CY, Lau YL, Peiris M. Influenza A infection is an important cause of febrile seizures. *Pediatrics*. 2001;108(4):E63.
33. Kwong KL, Lam SY, Que TL, Wong SN. Influenza A and febrile seizures in childhood. *Pediatr Neurol*. 2006;35(6):395-399.
34. Mori SI, Nagashima M, Sasaki Y, et al. A novel amino acid substitution at the receptor-binding site on the hemagglutinin of H3N2 influenza A viruses isolated from 6 cases with acute encephalopathy during the 1997-1998 season in Tokyo. *Arch Virol*. 1999;144(1):147-155.
35. Morishima T, Togashi T, Yokota S, et al. Encephalitis and encephalopathy associated with an influenza epidemic in Japan. *Clin Infect Dis*. 2002;35(5):512-517.
36. Ito Y, Ichiyama T, Kimura H, et al. Detection of influenza virus RNA by reverse transcription-PCR and proinflammatory cytokines in influenza-virus-associated encephalopathy. *J Med Virol*. 1999;58(4):420-425.
37. McCall S, Henry JM, Reid AH, Taubenberger JK. Influenza RNA not detected in archival brain tissues from acute encephalitis lethargica cases or in postencephalitic Parkinson cases. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2001;60(7):696-704.
38. Maricich SM, Neul JL, Lotze TE, et al. Neurologic complications associated with influenza A in children during the 2003-2004 influenza season in Houston, Texas. *Pediatrics*. 2004;114(5):e626-e633.
39. Yokota S, Imagawa T, Miyamae T, et al. Hypothetical pathophysiology of acute encephalopathy and encephalitis related to influenza virus infection and hypothermia therapy. *Pediatr Int*. 2000;42(2):197-203.

40. Reye RD, Morgan G, Baral J. Encephalopathy and fatty degeneration of the viscera. A disease entity in childhood. *Lancet*. 1963;2(7311):749-752.
41. Belay ED, Bresee JS, Holman RC, Khan AS, Shahriari A, Schonberger LB. Reye's syndrome in the United States from 1981 through 1997. *N Engl J Med*. 1999;340(18):1377-1382.
42. Henderson FW, Collier AM, Sanyal MA, et al. A longitudinal study of respiratory viruses and bacteria in the etiology of acute otitis media with effusion. *N Engl J Med*. 1982;306(23):1377-1383.
43. Heikkinen T, Thint M, Chonmaitree T. Prevalence of various respiratory viruses in the middle ear during acute otitis media. *N Engl J Med*. 1999;340(4):260-264.
44. Neuzil KM, Zhu Y, Griffin MR, et al. Burden of interpandemic influenza in children younger than 5 years: a 25-year prospective study. *J Infect Dis*. 2002;185(2):147-152.
45. Heikkinen T, Ruuskanen O, Waris M, Ziegler T, Arola M, Halonen P. Influenza vaccination in the prevention of acute otitis media in children. *Am J Dis Child*. 1991;145(4):445-448.
46. Clements DA, Langdon L, Bland C, Walter E. Influenza A vaccine decreases the incidence of otitis media in 6- to 30-month-old children in day care. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 1995;149(10):1113-1117.
47. Lundberg A. Myalgia cruris epidemica. *Acta Paediatr*. 1957;46(1):18-31.
48. Bove KE, Hilton PK, Partin J, Farrell MK. Morphology of acute myopathy associated with influenza B infection. *Pediatr Pathol*. 1983;1(1):51-66.
49. Agyeman P, Duppenhaler A, Heininger U, Aebi C. Influenza-associated myositis in children. *Infection*. 2004;32(4):199-203.
50. Ferrarini A, Lava SA, Simonetti GD, Ramelli GP, Bianchetti MG; Swiss Italian Society of Pediatrics. Influenzavirus B-associated acute benign myalgia cruris: an outbreak report and review of the literature. *Neuromuscul Disord*. 2014;24(4):342-346.
51. Davis LE, Kornfeld M. Experimental influenza B viral myositis. *J Neurol Sci*. 2001;187(1-2):61-67.
52. Servidei S, Miranda AF, Gamboa ET. Infectivity of influenza B virus in cultured human muscle. *Acta Neuropathol*. 1987;73(1):67-76.
53. Hu JJ, Kao CL, Lee PI, et al. Clinical features of influenza A and B in children and association with myositis. *J Microbiol Immunol Infect*. 2004;37(2):95-98.
54. Zapolski T, Haratym-Zwolak A, Wysokiński A. Współczesne zasady diagnostyki zapalenia mięśnia sercowego i kardiomiopatii pozapalnej. *Folia Cardiologica*. 2015;10(4):259-267.
55. Mamas MA, Fraser D, Neyses L. Cardiovascular manifestations associated with influenza virus infection. *Int J Cardiol*. 2008;130(3):304-309.

56. Wang J, Xu H, Yang X, et al. Cardiac complications associated with the influenza viruses A subtype H7N9 or pandemic H1N1 in critically ill patients under intensive care. *Braz J Infect Dis*. 2017;21(1):12-18.
57. Diagnostyka wirusa grypy. Dostępne na stronie:
<https://infekcje.mp.pl/wytyczne/217460,profilaktyka-diagnostyka-ileczenie-zakazen-wirusem-grypy-wszpitalachwedlug-stanowiska-ses-2019-cz-1>.
58. Influenza Virus Testing Methods (CDC). Dostępne na stronie:
<https://www.cdc.gov/flu/professionals/diagnosis/table-testing-methods.htm>.
59. Dreitlein WB, Maratos J, Brocavich J. Zanamivir and oseltamivir: two new options for the treatment and prevention of influenza. *Clin Ther*. 2001;23(3):327-355.
60. Peltola V, Ziegler T, Ruuskanen O. Influenza A and B virus infections in children. *Clin Infect Dis*. 2003;36(3):299-305.
61. Szczepionka przeciw grypie. Dostępne na stronie:
<https://szczepienia.pzh.gov.pl/szczepionki/grypa/?strona=8#jakie-szczepionki-przeciw-grypie-sa-dostepne-w-polsce-w-sezonie-2020/2021>.
62. Reuman PD, Ayoub EM, Small PA. Effect of passive maternal antibody on influenza illness in children: a prospective study of influenza A in mother-infant pairs. *Pediatr Infect Dis J*. 1987;6(4):398-403.
63. Zaman K, Roy E, Arifeen SE, et al. Effectiveness of maternal influenza immunization in mothers and infants [published correction appears in *N Engl J Med*. 2009 Feb 5;360(6):648.. Breiman, Robert E [corrected to Breiman, Robert F]]. *N Engl J Med*. 2008;359(15):1555-1564.
64. Gertig H, Przysławski J, Bromatologia: zarys nauki o żywności i żywieniu. Warszawa, Polska: PZWL; 2015: 119-121.
65. Płudowski P. Zasady suplementacji dzieci zdrowych-witamina D. W: Dobrzańska A, Obrycki Ł, Socha P. Suplementacja diety. Wytyczne postępowania u dzieci, kobiet ciężarnych i karmiących piersią. Warszawa, Polska: *Standardy Medyczne*; 2015: 55-59.
66. Buczkowski K, Chlabicz S, Dytfeld J, i wsp. Wytyczne dla lekarzy rodzinnych dotyczące suplementacji witaminy D. *Forum Medycyny Rodzinnej*. 2013;7(2):55-58.
67. Stumpf WE, Sar M, Reid FA, Tanaka Y, DeLuca HF. Target cells for 1,25-dihydroxyvitamin D3 in intestinal tract, stomach, kidney, skin, pituitary, and parathyroid. *Science*. 1979;206(4423):1188-1190.
68. Gruber BM. Fenomen witaminy D [The phenomenon of vitamin D]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2015;69:127-139. Published 2015 Jan 23.

69. Gertig H, Przysławski J, Bromatologia: zarys nauki o żywności i żywieniu. Warszawa, Polska: PZWL; 2015: 211-216.
70. Matysiak M. Zasady suplementacji dzieci zdrowych -żelazo. W: Dobrzańska A, Obrycki Ł, Socha P. Suplementacja diety. Wytyczne postępowania u dzieci, kobiet ciężarnych i karmiących piersią. Warszawa, Polska: *Standardy Medyczne*; 2015: 75-79.
71. Gowin E, Horst-Sikorska W. Żelazne zapasy: komu w XXI wieku grozi niedobór żelaza? *Farm. Współ.* 2010; 3: 139-146.
72. Dymarska E, Grochowalska A, Krauss H. Wpływ sposobu odżywiania na układ odpornościowy. Immunomodulacyjne działanie kwasów tłuszczowych, witamin i składników mineralnych oraz przeciwutleniaczy. *Nowiny Lekarskie.* 2013; 82 (3): 222–231.
73. Beard JL. Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning. *J Nutr.* 2001;131(2S-2):568S-580S.
74. Cichy W, Kobielska-Dubiel N. Immunologiczne aspekty żywienia. *Pediatr. Pol.* 2003;78: 453-463.
75. Krzysik M, Biernat H, Grajeta H. The influence of Chosen Nutrients on Immune System Functioning. Part II. Immunomodulatory Effects of Vitamins and Trace Elements on the Human Body. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2007; 1 (16):123-133.
76. Gertig H, Przysławski J, Bromatologia: zarys nauki o żywności i żywieniu. Warszawa, Polska: PZWL; 2015: 216-221.
77. Szcześniak M., Grimling B., Meler J. Cynk - pierwiastek zdrowia. *Farm Pol.* 2014; 70 (7): 363-366.
78. Ibs KH, Rink L. Zinc-altered immune function. *J Nutr.* 2003;133(5 Suppl 1):1452S-6S.
79. B. Przygoda. Cynk. Medycyna Praktyczna. Dostępne na stronie: <https://www.mp.pl/pacjent/dieta/zasady/74604,cynk>.
80. Gertig H, Przysławski J, Bromatologia: zarys nauki o żywności i żywieniu. Warszawa, Polska: PZWL; 2015: 225-229.
81. Ratajczak M, Gietka-Czernel M. Rola selenu w organizmie człowieka. The influence of selenium to human health. *Postępy Nauk Medycznych.* 2016; 12: 929-933.
82. Allan CB, Lacourciere GM, Stadtman TC. Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. *Annu Rev Nutr.* 1999;19:1-16.
83. Muntau AC, Streiter M, Kappler M, et al. Age-related reference values for serum selenium concentrations in infants and children. *Clin Chem.* 2002;48(3):555-560.

84. Laclaustra M, Stranges S, Navas-Acien A, Ordovas JM, Guallar E. Serum selenium and serum lipids in US adults: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2004. *Atherosclerosis*. 2010;210(2):643-648.
85. Zachara BA, Pawluk H, Bloch-Boguslawska E, et al. Tissue level, distribution, and total body selenium content in healthy and diseased humans in Poland. *Arch Environ Health*. 2001;56(5):461-466.
86. Liu H, Yu F, Shao W, et al. Associations Between Selenium Content in Hair and Kashin-Beck Disease/Keshan Disease in Children in Northwestern China: a Prospective Cohort Study. *Biol Trace Elem Res*. 2018;184(1):16-23.
87. Schepman K, Engelbert RH, Visser MM, Yu C, de Vos R. Kashin Beck Disease: more than just osteoarthritis: a cross-sectional study regarding the influence of body function-structures and activities on level of participation. *Int Orthop*. 2011;35(5):767-776.
88. Marciniak-Łukasiak K. Rola i znaczenie kwasów tłuszczowych Omega-3. *Żywność: nauka -technologia -jakość*. 2011; 6 (79): 24-35.
89. Kłosiewicz-Latoszek L, Cybulska B, Tyszko P. Current state-of-the-art knowledge on the role of omega-3 fatty acids in the prevention of cardiovascular disease. *Ann Agric Environ Med*. 2020;27(4):519-525.
90. Achremowicz K, Szary-Sworst K. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe czynnikiem poprawy stanu żywienia człowieka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. 2005; 3 (44): 23-35.
91. Jańczyk W, Socha P. Kliniczne efekty suplementacji wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi ω-3. *Standardy medyczne.Pediatrica*. 2009; 6: 10–17.
92. Bang HO, Dyerberg J, Hjorne N. The composition of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Med Scand*. 1976;200(1-2):69-73.
93. Grimm H, Mayer K, Mayser P, Eigenbrodt E. Regulatory potential of n-3 fatty acids in immunological and inflammatory processes. *Br J Nutr*. 2002;87 Suppl 1:S59-S67.
94. Kożuchowska-Pac E. Kwasy tłuszczowe omega-3 a stan zdrowia dzieci. *Endokrynologia Pediatryczna*. 2008; T. 7. 4(25):49-54.
95. Ziemiański S, Socha P. Normy i zalecenia dotyczące spożycia tłuszczów ze szczególnym uwzględnieniem dzieci oraz kobiet ciężarnych i karmiących. *Pediatrica Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka*. 1999;1(2/3): 139-148.
96. von Schacky C. Omega-3 fatty acids in cardiovascular disease--an uphill battle. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2015;92:41-47.
97. Harris WS. The omega-3 index: clinical utility for therapeutic intervention. *Curr Cardiol Rep*. 2010;12(6):503-508.

98. von Schacky C. Verwirrung um die Wirkung von Omega-3-Fettsäuren : Betrachtung von Studiendaten unter Berücksichtigung des Omega-3-Index [Confusion about the effects of omega-3 fatty acids : Contemplation of study data taking the omega-3 index into consideration]. *Internist (Berl)*. 2019;60(12):1319-1327.
99. Harris WS. The omega-3 index as a risk factor for coronary heart disease. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(6):1997S-2002S.
100. Harris WS. The omega-3 index: clinical utility for therapeutic intervention. *Curr Cardiol Rep*. 2010;12(6):503-508.
101. World Health Organization. Influenza (seasonal). Dostępné na stronie: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)).
102. Wong KC, Luscombe GM, Hawke C. Influenza infections in Australia 2009-2015: is there a combined effect of age and sex on susceptibility to virus subtypes?. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):42. Published 2019 Jan 10.
103. Jensen-Fangel S, Mohey R, Johnsen SP, Andersen PL, Sørensen HT, Ostergaard L. Gender differences in hospitalization rates for respiratory tract infections in Danish youth. *Scand J Infect Dis*. 2004;36(1):31-36.
104. Iskander M, Kesson A, Dwyer D, et al. The burden of influenza in children under 5 years admitted to the Children's Hospital at Westmead in the winter of 2006. *J Paediatr Child Health*. 2009;45(12):698-703.
105. Lester-Smith D, Zurynski YA, Booy R, Festa MS, Kesson AM, Elliott EJ. The burden of childhood influenza in a tertiary paediatric setting. *Commun Dis Intell Q Rep*. 2009;33(2):209-215.
106. Li-Kim-Moy J, Yin JK, Blyth CC, et al. Influenza hospitalizations in Australian children. *Epidemiol Infect*. 2017;145(7):1451-1460.
107. Mattila JM, Vuorinen T, Heikkinen T. Comparative Severity of Influenza A and B Infections in Hospitalized Children. *Pediatr Infect Dis J*. 2020;39(6):489-493.
108. Cashman KD, Dowling KG, Škrabáková Z, et al. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic?. *Am J Clin Nutr*. 2016;103(4):1033-1044.
109. Cannell JJ, Vieth R, Umhau JC, et al. Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiol Infect*. 2006;134(6):1129-1140.
110. Sato M, Hosoya M, Wright PF. Differences in serum cytokine levels between influenza virus A and B infections in children. *Cytokine*. 2009;47(1):65-68.
111. Urashima M, Segawa T, Okazaki M, Kurihara M, Wada Y, Ida H. Randomized trial of vitamin D supplementation to prevent seasonal influenza A in schoolchildren. *Am J Clin Nutr*. 2010;91(5):1255-1260.

112. Ginde AA, Mansbach JM, Camargo CA Jr. Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med*. 2009;169(4):384-390.
113. Li-Ng M, Aloia JF, Pollack S, et al. A randomized controlled trial of vitamin D3 supplementation for the prevention of symptomatic upper respiratory tract infections. *Epidemiol Infect*. 2009;137(10):1396-1404.
114. Frączek A, Pasternak K. Selenium in medicine and treatment. *Journal of Elementology*. 2013;18(1):145-163.
115. Kieliszek M, Błażej S, Bzducha-Wróbel A, Kot AM. Effect of selenium on growth and antioxidative system of yeast cells. *Mol Biol Rep*. 2019;46(2):1797-1808.
116. Lammi MJ, Qu C. Selenium-Related Transcriptional Regulation of Gene Expression. *Int J Mol Sci*. 2018;19(9):2665. Published 2018 Sep 8.
117. Barnard DL, Wong MH, Bailey K, et al. Effect of oral gavage treatment with ZnAL42 and other metallo-ion formulations on influenza A H5N1 and H1N1 virus infections in mice. *Antivir Chem Chemother*. 2007;18(3):125-132.
118. Yu L, Sun L, Nan Y, Zhu LY. Protection from H1N1 influenza virus infections in mice by supplementation with selenium: a comparison with selenium-deficient mice. *Biol Trace Elem Res*. 2011;141(1-3):254-261.
119. Shojadoost B, Kulkarni RR, Yitbarek A, et al. Dietary selenium supplementation enhances antiviral immunity in chickens challenged with low pathogenic avian influenza virus subtype H9N2. *Vet Immunol Immunopathol*. 2019;207:62-68
120. Ravaglia G, Forti P, Maioli F, et al. Effect of micronutrient status on natural killer cell immune function in healthy free-living subjects aged ≥ 90 y. *Am J Clin Nutr*. 2000;71(2):590-598.
121. Harthill M. Review: micronutrient selenium deficiency influences evolution of some viral infectious diseases. *Biol Trace Elem Res*. 2011;143(3):1325-1336.
122. Beck MA, Nelson HK, Shi Q, et al. Selenium deficiency increases the pathology of an influenza virus infection. *FASEB J*. 2001;15(8):1481-1483.
123. Alehagen U, Alexander J, Aaseth J, Larsson A. Decrease in inflammatory biomarker concentration by intervention with selenium and coenzyme Q10: a subanalysis of osteopontin, osteoprotegerin, TNF α 1, TNF α 2 and TWEAK. *J Inflamm (Lond)*. 2019;16:5. 2019 Mar 18.
124. Alehagen U, Lindahl TL, Aaseth J, Svensson E, Johansson P. Levels of sP-selectin and hs-CRP Decrease with Dietary Intervention with Selenium and Coenzyme Q10 Combined:

- A Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial. *PLoS One*. 2015;10(9):e0137680. 2015 Sep 16.
125. Bonaventura P, Benedetti G, Albarède F, Miossec P. Zinc and its role in immunity and inflammation. *Autoimmun Rev*. 2015;14(4):277-285.
 126. Lassi ZS, Moin A, Bhutta ZA. Zinc supplementation for the prevention of pneumonia in children aged 2 months to 59 months. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;12(12):CD005978. 2016 Dec 4.
 127. Science M, Johnstone J, Roth DE, Guyatt G, Loeb M. Zinc for the treatment of the common cold: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *CMAJ*. 2012;184(10):E551-E561.
 128. Basnet S, Mathisen M, Strand TA. Oral zinc and common childhood infections--An update. *J Trace Elem Med Biol*. 2015;31:163-166.
 129. Lazzerini M, Wanzira H. Oral zinc for treating diarrhoea in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;12(12):CD005436. Published 2016 Dec 20.
 130. Ko WS, Guo CH, Hsu GS, Chiou YL, Yeh MS, Yaun SR. The effect of zinc supplementation on the treatment of chronic hepatitis C patients with interferon and ribavirin. *Clin Biochem*. 2005;38(7):614-620.
 131. te Velthuis AJ, van den Worm SH, Sims AC, Baric RS, Snijder EJ, van Hemert MJ. Zn(2+) inhibits coronavirus and arterivirus RNA polymerase activity in vitro and zinc ionophores block the replication of these viruses in cell culture. *PLoS Pathog*. 2010;6(11):e1001176. 2010 Nov 4.
 132. Zhang L, Liu Y. Potential interventions for novel coronavirus in China: A systematic review. *J Med Virol*. 2020;92(5):479-490.
 133. Martins AC, Almeida JI, Lima IS, Kapitação AS, Gozzelino R. Iron Metabolism and the Inflammatory Response. *IUBMB Life*. 2017;69(6):442-450.
 134. Wessling-Resnick M. Iron homeostasis and the inflammatory response. *Annu Rev Nutr*. 2010;30:105-122.
 135. Weinberg ED. Iron withholding: a defense against infection and neoplasia. *Physiol Rev*. 1984;64(1):65-102.
 136. Braun V, Killmann H. Bacterial solutions to the iron-supply problem. *Trends Biochem Sci*. 1999;24(3):104-109.
 137. Flo TH, Smith KD, Sato S, et al. Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature*. 2004;432(7019):917-921.
 138. Wang H, Wu X, Wu X, et al. Iron status is linked to disease severity after avian influenza virus H7N9 infection. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2020;29(3):593-602.

139. Schmidt EB, Pedersen JO, Varming K, et al. n-3 fatty acids and leukocyte chemotaxis. Effects in hyperlipidemia and dose-response studies in healthy men. *Arterioscler Thromb.* 1991;11(2):429-435.
140. De Caterina R, Cybulsky MI, Clinton SK, Gimbrone MA Jr, Libby P. The omega-3 fatty acid docosahexaenoate reduces cytokine-induced expression of proatherogenic and proinflammatory proteins in human endothelial cells. *Arterioscler Thromb.* 1994;14(11):1829-1836.
141. Peterson LD, Jeffery NM, Thies F, Sanderson P, Newsholme EA, Calder PC. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids alter rat spleen leukocyte fatty acid composition and prostaglandin E2 production but have different effects on lymphocyte functions and cell-mediated immunity. *Lipids.* 1998;33(2):171-180.
142. Goldman DW, Pickett WC, Goetzl EJ. Human neutrophil chemotactic and degranulating activities of leukotriene B5 (LTB5) derived from eicosapentaenoic acid. *Biochem Biophys Res Commun.* 1983;117(1):282-288.
143. Di Marzo V. The endocannabinoid system in obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2008;51(8):1356-1367.
144. Artmann A, Petersen G, Hellgren LI, et al. Influence of dietary fatty acids on endocannabinoid and N-acylethanolamine levels in rat brain, liver and small intestine. *Biochim Biophys Acta.* 2008;1781(4):200-212.
145. Serhan CN, Clish CB, Brannon J, Colgan SP, Chiang N, Gronert K. Novel functional sets of lipid-derived mediators with antiinflammatory actions generated from omega-3 fatty acids via cyclooxygenase 2-nonsteroidal antiinflammatory drugs and transcellular processing. *J Exp Med.* 2000;192(8):1197-1204.
146. Walker CG, Browning LM, Mander AP, et al. Age and sex differences in the incorporation of EPA and DHA into plasma fractions, cells and adipose tissue in humans. *Br J Nutr.* 2014;111(4):679-689.
147. Crowe FL, Skeaff CM, Green TJ, Gray AR. Serum n-3 long-chain PUFA differ by sex and age in a population-based survey of New Zealand adolescents and adults. *Br J Nutr.* 2008;99(1):168-174.
148. Giltay EJ, Gooren LJ, Toorians AW, Katan MB, Zock PL. Docosahexaenoic acid concentrations are higher in women than in men because of estrogenic effects. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(5):1167-1174.
149. Burdge GC, Wootton SA. Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women. *Br J Nutr.* 2002;88(4):411-420.

150. Moosavian SP, Arab A, Mehrabani S, Moradi S, Nasirian M. The effect of omega-3 and vitamin E on oxidative stress and inflammation: Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Vitam Nutr Res*. 2020;90(5-6):553-563.
151. da Silva PM, Gauche C, Gonzaga LV, Costa AC, Fett R. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chem*. 2016;196:309-323.
152. Cheng N, Wang Y, Cao W. The Protective Effect of Whole Honey and Phenolic Extract on Oxidative DNA Damage in Mice Lymphocytes Using Comet Assay. *Plant Foods Hum Nutr*. 2017;72(4):388-395.
153. Özkök D, Silici S. Antioxidant activities of honeybee products and their mixtures. *Food Sci Biotechnol*. 2017;26(1):201-206. 2017 Feb 28. doi:10.1007/s10068-017-0027-0.
154. Dżugan M, Sowa P, Kwaśniewska M, Wesołowska M, Czernicka M. Physicochemical Parameters and Antioxidant Activity of Bee Honey Enriched With Herbs. *Plant Foods Hum Nutr*. 2017;72(1):74-81.
155. Al-Waili NS. Effects of daily consumption of honey solution on hematological indices and blood levels of minerals and enzymes in normal individuals. *J Med Food*. 2003;6(2):135-140.
156. Nantz MP, Rowe CA, Muller CE, Creasy RA, Stanilka JM, Percival SS. Supplementation with aged garlic extract improves both NK and $\gamma\delta$ -T cell function and reduces the severity of cold and flu symptoms: a randomized, double-blind, placebo-controlled nutrition intervention. *Clin Nutr*. 2012;31(3):337-344.
157. Szczepionka przeciw grypie. Dostępne na stronie: <https://szczepienia.pzh.gov.pl/szczepionki/grypa/>.
158. Rogalska J, Augustynowicz E, Gzyl A, Stefanoff P. Postawy rodziców wobec szczepień ochronnych w Polsce [Parental attitudes towards childhood immunisations in Poland]. *Przegl Epidemiol*. 2010;64(1):91-97.
159. Wyszczepialność na grypę w Polsce. Dostępne na stronie: <https://szczepienia.pzh.gov.pl/faq/jaki-jest-poziom-zaszczepienia-przeciw-grypie-w-polsce/>.
160. National Advisory Committee on Immunization (NACI). Statement on seasonal influenza vaccine for 2015–2016. 2015 (<http://www.phac-aspc.gc.ca/naci-ccni/flu-2015-grippe-eng.php>). Accessed 19 April 2016.
161. Department of Health, England, UK. Flu plan: winter 2015 to 2016 (<https://www.gov.uk/government/publications/flu-plan-2015-to-2016>). Accessed 27 August 2015.

162. Government of Canada. Public funding for influenza vaccination by province/territory (as of July 2016) (<http://healthycanadians.gc.ca/healthy-living-vie-saine/immunization-immunisation/schedule-calendrier/influenza-vaccination-grippe-eng.php>). Accessed 19 April 2016.

10. Spis tabel

Tabela 1. Osoby szczególnie narażone na powikłania pogrypowe

Tabela 2. Wytyczne suplementacji witaminy D3

Tabela 3. Źródła żelaza w diecie człowieka

Tabela 4. Zapotrzebowanie na żelazo u dzieci

Tabela 5. Normy laboratoryjne liczby leukocytów

Tabela 6. Normy laboratoryjne stężenia troponiny

Tabela 7. Normy laboratoryjne liczby płytek krwi

Tabela 8. Normy laboratoryjne aktywności kinazy kreatynowej

Tabela 9. Liczebność dzieci z grypą w poszczególnych podgrupach wiekowych

Tabela 10. Zbiorcze zestawienie wyników badań w grupie zakażonych wirusem grypy

Tabela 11. Schemat korelacji wybranych parametrów laboratoryjnych w grupie kontrolnej

11. Spis rycin

- Ryc. 1. Budowa wirionu wirusa grypy typu A
- Ryc. 2. Schemat syntezy długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych – LC-PUFA
- Ryc. 3. Wartość indeksu kwasów Omega 3 u ludzi na świecie według von Schacky
- Ryc. 4. Struktura płci pacjentów w grupie badanej
- Ryc. 5. Liczba chorych w zależności od typu wirusa grypy
- Ryc. 6. Korelacja długości hospitalizacji a wieku pacjentów z grypą
- Ryc. 7. Wiek pacjentów w grupie badanej z podziałem na podgrupy z powikłaniami i bez towarzyszących powikłań
- Ryc. 8. Długość hospitalizacji pacjentów w grupie badanej z podziałem na podgrupy z powikłaniami i bez towarzyszących powikłań
- Ryc. 9. Długość gorączki pacjentów w grupie badanej z podziałem na podgrupy z powikłaniami i bez towarzyszących powikłań
- Ryc. 10. Stężenie witaminy D3 w grupie dzieci chorujących na grypę
- Ryc. 11. Korelacja stężenia witaminy D3 a wiekiem pacjentów w grupie badanej
- Ryc. 12. Stężenie selenu w grupie badanej
- Ryc. 13. Korelacja stężenia selenu i CRP w grupie badanej
- Ryc. 14. Korelacja stężenia selenu i płytek krwi w grupie badanej
- Ryc. 15. Stężenie cynku w grupie badanej
- Ryc. 16. Korelacja stężenia cynku i CRP w grupie badanej
- Ryc. 17. Korelacja stężenia cynku i długości hospitalizacji w grupie badanej
- Ryc. 18. Stężenie żelaza w grupie badanej
- Ryc. 19. Wartość indeksu kwasów Omega 3 w grupie badanej
- Ryc. 20. Stężenie EPA w grupie w grupie pacjentów z grypą
- Ryc. 21. Stężenie EPA w grupie badanej z podziałem na płeć
- Ryc. 22. Korelacja stężenia EPA i długości trwania gorączki w grupie badanej
- Ryc. 23. Korelacja stężenia EPA i CRP w grupie badanej
- Ryc. 24. Stężenie EPA w grupie badanej z podziałem na podgrupy: dzieci z zapaleniem płuc lub oskrzeli oraz dzieci bez zapalenia płuc i oskrzeli
- Ryc. 25. Stężenie DHA w grupie badanej
- Ryc. 26. Korelacja stężenia DHA i CRP w grupie badanej
- Ryc. 27. Korelacja stężenia DHA i CK w grupie badanej
- Ryc. 28. Struktura płci pacjentów w grupie kontrolnej

- Ryc. 29. Korelacja stężenia witaminy D3 i wieku w grupie kontrolnej
- Ryc. 30. Stężenie witaminy D3 z podziałem na grupę badaną i kontrolną
- Ryc. 31. Stężenie selenu z podziałem na grupę badaną i kontrolną
- Ryc. 32. Stężenie cynku z podziałem na grupę badaną i kontrolną
- Ryc. 33. Stężenie żelaza z podziałem na grupę badaną i kontrolną
- Ryc. 34. Wartość indeksu Omega 3 z podziałem na grupę badaną i kontrolną
- Ryc. 35. Stężenie EPA z podziałem na grupę badaną i kontrolną
- Ryc. 36. Stężenie DHA z podziałem na grupę badaną i kontrolną
- Ryc. 37. Dane z ankiety dotyczące najczęściej stosowanych produktów żywnościowych z podziałem na grupę badaną i kontrolną
- Ryc. 38. Dane z ankiety dotyczące suplementacji z podziałem na grupę badaną i kontrolną

12. Załączniki

Załącznik 1 Ankieta

ANKIETA

1. Inicjały dziecka

.....

2. Wiek dziecka (w latach)

.....

3. Czy w okresie zimowym regularnie podaje Pani/Pan dodatkowe preparaty podnoszące odporność dziecka

- Tak - proszę wymienić jakie preparaty (np. tran: Omegamed; witamina D3; witamina C; żelazo; lub inne preparaty zawierające witaminy: Vibovit, Multivitaminol, Sanostol, Meltiki® Sambucus)

.....

- Nie

4. Czy w okresie zimowym regularnie stosuje Pani/Pan u swojego dziecka dietę uzupełnioną o dodatkowe składniki

- Tak - proszę wymienić jakie składniki (np. czosnek, miód, inne - proszę wymienić)

.....

- Nie