

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ПЛЕВЕН
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНА
КАТЕДРА ДЕТСКИ БОЛЕСТИ

Д-р Станимира Мирчева Елкина

**Проучване върху инфекциите на пикочните пътища и гениталиите при
диабет тип 1 в детско-юношеска възраст**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

**на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен
„ДОКТОР”**

Научна специалност: 03.01.50 - Педиатрия

Научен ръководител: Доц. д-р Чайка Петрова, д.м.

Научно жури:

Доц. Д-р Калинка Коприварова, д.м.
Проф. Д-р Мая Константинова, д.м., д.н.
Проф. Д-р Ваня Недкова, д.м.
Доц. Д-р Елисавета Стефанова, д.м.
Доц. Д-р Чайка Петрова, д.м.

Плевен, 2017 г.

Дисертационният труд е разработен върху 155 страници, съдържа 17 фигури, 33 таблици и 5 приложения. Библиографията включва 288 източника, от които 24 на кирилица, останалите на латиница, в голямата си част от последните 10 години.

Авторът е редовен докторант към катедра „Детски болести”, Факултет по Медицина, Медицински университет – Плевен.

Дисертационният труд е обсъден и определен за защита на разширен Катедрен съвет на Катедра „Детски болести”, Факултет по Медицина, Медицински университет – Плевен, състоял се на 13.01.2017г.

Материалите по защитата са на разположение в Научен отдел на Факултет по Медицина, МУ – Плевен и на сайта на университета – www.mu-pleven.bg

Състав на Научното жури:

Председател:

Проф. Д-р Ваня Недкова, д.м.

Членове:

Доц. Д-р Калинка Коприварова, д.м. – рецензент

Проф. Д-р Мая Константинова, д.м., д.н. – рецензент

Доц. Д-р Елисавета Стефанова, д.м.

Доц. Д-р Чайка Петрова, д.м.

Резервни членове:

Доц. Д-р Радка Савова, д.м.

Доц. Д-р Бойко Шентов, д.м.

Защитата ще се състои на от в зала
..... на МУ – Плевен.

СЪДЪРЖАНИЕ

| | | |
|--------------|---|-----------|
| I. | УВОД | 5 |
| II. | ЦЕЛ И ЗАДАЧИ | 6 |
| III. | МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ | 7 |
| 1. | Материал | 7 |
| 2. | Методи | 9 |
| IV. | РЕЗУЛТАТИ | 12 |
| 1. | Обща характеристика на изследваните деца с диабет и контролни групи | 12 |
| 2. | Честота на ИПП и ГИ при деца и юноши с Т1Д | 13 |
| 3. | Инфекции на пикочните пътища - клинична характеристика и микробиологична структура при Т1Д в детската и юношеска възраст..... | 15 |
| 4. | Генитални инфекции - клинична характеристика и микробиологична структура при Т1Д в детската и юношеска възраст..... | 17 |
| 5. | Рискови фактори, свързани с развитието на ИПП и ГИ при Т1Д в детска и юношеска възраст | 21 |
| 6. | Параметри на хуморалния и клетъчен имунитет при деца и подрастващи с Т1Д | 24 |
| 6.1. | Хуморален имунитет | 24 |
| 6.2. | Клетъчен имунитет | 27 |
| 7. | Лечение на инфекции на пикочните пътища и гениталиите при деца и юноши с Т1Д | 34 |
| 7.1. | Лечение на децата с ИПП | 34 |
| 7.2. | Лечение на децата с ГИ | 35 |
| 7.3. | Клинични случаи с рекурентна ГК – анализ на индивидуални особености | 36 |
| 8. | Препоръки за превенция, диагноза и лечение на генитална кандидоза в детска възраст | 42 |
| V. | ОБСЪЖДАНЕ | 45 |
| VI. | ОБЩИ ИЗВОДИ | 59 |
| VII. | ПРИНОСИ | 61 |
| VIII. | ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ПРОЯВИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД | 63 |

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

АИ – адаптивен имунитет

АПК – антиген представящи
клетки

АСБ – асимптомна бактериурия

АТ – антитела

БВ – бактериална вагиноза

ВИ – вроден имунитет

ГИ – генитални инфекции

ГК – генитална кандидоза

ДКА – диабетна кетоацидоза

ИПП – инфекции на пикочните
пътища

ИС – имунна система

КВВ – кандидозен вулвовагинит

КИ – клетъчен имунитет

Мо – моноцити

ОВК – остра вагинална кандидоза

ОКБ – остър кандидозен баланит

ОПН – остър пиелонефрит

ПНК – полинуклеарни клетки

T1Д – тип 1 диабет

УГТ – урогенитален тракт

ХБН – хронична бъбречна
недостатъчност

ХИ – хуморален имунитет

ХПН – хроничен пиелонефрит

B-Ly – B-лимфоцити

CFU - Colony-forming units

GBS - Groupe B streptococcus

Ig – имуноглобулини

MHC - Major histocompatibility
complex

NK кл. - NK клетки

T-Ly - T-лимфоцити

Th – T-хелпери

Treg - регулаторни T клетки

Ts – T-супресори/килъри

I. УВОД

Тип 1 захарен диабет (Т1Д) е най-честото метаболитно заболяване с непрекъснато нарастваща честота и клинична изява във все по-ранна възраст при децата. Характеризира се с абсолютен инсулинов дефицит, водещ до хронична хипергликемия и засягане на въглехидратния, мастния и белтъчен метаболизъм с късни съдови полиорганни усложнения (ISPAD 2014). Поради това заболяването има глобална социална значимост с негативно отражение върху продължителността и качеството на живот. Диабетът продължава да бъде обект на непрекъснати научни проучвания, насочени главно към неговата етиопатогенеза, късните хронични усложнения и новостите в комплексното му лечение. Един от малко проучените досега проблеми са промените в имунните механизми в хода на Т1Д, предразполагащи към развитието на диабет-асоциирани инфекции. Известно е, че чувствителността на пациентите с диабет към инфекции е по-голяма, с по-тежко протичане и по-лоша прогноза отколкото при здрави хора. В реалната клинична практика най-чести се оказват инфекциите на уро-гениталния тракт (УГТ). Рисковите фактори за това все още не са напълно изяснени. В българската литература по този проблем има недостатъчно проучвания. Няма единна терапевтична стратегия при гениталната кандидоза и нейната профилактика при деца и юноши.

Актуалността на посочения проблем ни дава основание да обобщим нашите резултати от 3 годишно наблюдение на деца и юноши с Т1Д. Проучва се честотата на инфекциите на пикочните пътища и гениталиите, клиничната им и етиологична характеристика както и основните рискови фактори за проявата им при диабет. Потърсени са промени в някои от параметрите на хуморалния и клетъчния имунитет като възможна предпоставка за диабет-асоциирани инфекции.

Подобни комплексни проучвания при децата с Т1Д са рядкост в медицинската литература и се извършват главно през последните години. В българската педиатрична литература има единични съобщения за диабет-асоциираните инфекции, а връзката им с имунния статус се проучва за първи път у нас.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

ЦЕЛ:

Да се проучат клиничните и лабораторни особености на инфекциите на пикочните пътища и гениталиите при деца и юноши с тип 1 диабет. Да се анализира връзката им с давността и метаболитния контрол на диабета, както и с някои параметри на хуморалния и клетъчния имунитет.

ЗАДАЧИ:

1. Да се определи честотата на инфекциите на пикочните пътища и гениталиите при деца и юноши с Т1Д в Плевенски регион.
2. Да се проучат характерните клинични особености и микробиологичната структура на инфекциите на пикочните пътища при Т1Д в детската и юношеска възраст.
3. Да се проучат клиничната изява и микробиологична характеристика на гениталните инфекции при деца и подрастващи с Т1Д.
4. Да се определят ролята на давността и метаболитния контрол като рискови фактори, свързани с развитието на генитални инфекции при деца и юноши с Т1Д от Плевенски регион.
5. Да се изследват някои параметри на хуморалния и клетъчен имунитет при деца и подрастващи с Т1Д, за да се потърсят отклонения като вероятна предпоставка за асоциирани инфекции.
6. Да се анализират собствени резултати от лечението на инфекции на пикочните пътища и гениталиите инфекции при деца и юноши с Т1Д от Плевенски регион.
7. Да се изготви примерен алгоритъм, който да служи за диагностика, лечение и профилактика на остра и рецидивираща генитална кандидоза при деца и юноши с Т1Д.

III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

1. МАТЕРИАЛ

С оглед изпълнението на поставените цел и задачи се проведе проспективно клиничко епидемиологично проучване от типа случай-контрола с подбор на участниците според вида на заболяването, възрастта и пола.

В периода от юни 2013г. до март 2016г са скринирани 495 пациента на възраст от 2 до 18 години, хоспитализирани в Детска клиника на УМБАЛ „Георги Странски” – гр. Плевен. От тях са проучени 243 деца, разпределени в четири групи – една основна и три контролни.

1.1. Основна група – деца с тип 1 диабет (Т1Д)

Обхваща 141 деца (88 момичета и 53 момчета) на средна възраст 12,6г.±0,57 с Т1Д, диагностициран според критериите на ISPAD 2009/2014 [75] на интензифицирана базал-болусна терапия с човешки или аналогов инсулин, подбрани според уточнени включващи и изключващи критерии. (Табл. 1.)

Табл. 1. Критерии за подбор на участниците в Основната група

| Критерии за включване | Критерии за изключване |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none">• Диагностициран Т1Д (вкл. новооткрит или в рамките на Автоимунен полиендокринен синдром).• Възраст 2 – 18 години.• На инсулинова терапия.• Доброволно подписано Информирано съгласие за участие в изследването от родителите/настойник и детето (над 14г.) | <ul style="list-style-type: none">• Възраст под 2 г. или над 18г.• Наличие на остра или хронична инфекция на други системи извън отделителната и външните гениталии по време на скрининга.• Прием на антибиотици, кортикостероиди или имуномодулатори през последните 4 седмици преди скрининга.• Отказ да се подпише Информирано съгласие. |

1.2. Първа контролна група – деца без диабет с инфекции на пикочните пътища

Включени са 40 деца (28 момичета и 12 момчета) на възраст $11,8 \pm 1,13$ г. без диабет с клинични и лабораторни данни за **инфекция на пикочните пътища**, подбрани според критериите, представени на **Табл. 2**.

Табл. 2. Критерии за подбор на участниците в I-ва контролна група – деца с ИПП без ГИД

| Критерии за включване | Критерии за изключване |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none">• Възраст 2 – 18 години.• Клинични и лабораторни данни за ИПП.• Изолиран от урокултура причинител.• Подписано Информирано съгласие за участие в изследването | <ul style="list-style-type: none">• Възраст под 2 г. или над 18 г.• Наличие на остра или хронична инфекция на други системи извън отделителната.• Диагностициран диабет (тип 1 или тип 2).• Отказ да се подпише Информирано съгласие. |

1.3. Втора контролна група – деца без диабет с генитални инфекции.

Обхваща 32 деца (27 момичета и 5 момчета) на възраст $12,9 \pm 1,04$ г. без диабет с клинични данни за **инфекция на външните гениталии**, скринирани според представените на **Табл. 3** критерии:

Табл. 3. Критерии за подбор на участниците в II-ра контролна група – деца с ГИ без ГИД

| Критерии за включване | Критерии за изключване |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none">• Възраст 2 – 18 години.• Клинични и лабораторни данни за генитална инфекция.• Изследван микробиологично секрет от външни гениталии.• Доброволно подписано Информирано съгласие | <ul style="list-style-type: none">• Възраст под 2 г. или над 18 г.• Продължителен прием на антибиотик и кортикостероид преди или по време на скрининга.• Диагностициран диабет (тип 1 или тип 2).• Отказ да се подпише Информирано съгласие. |

1.4. Трета контролна група – клинично здрави деца без диабет.

С цел коректното интерпретиране на резултатите от имунологичните изследвания се сформира контролна група от 30 клинично здрави деца (18 момичета и 12 момчета) на средна възраст $11,3 \pm 0,95$ г., отговарящи на следните критерии (**Табл. 4.**):

Табл. 4. Критерии за подбор на участниците в III-та контролна група – деца без Т1Д и без инфекции

| Критерии за включване | Критерии за изключване |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none">• Възраст 2 – 18 години.• Клинично здрави по време на скрининга деца.• Доброволно подписано Информирано съгласие за участие в изследването от родителите/настойник и детето (над 14г.) | <ul style="list-style-type: none">• Възраст под 2 г. или над 18г.• Наличие на остра или хронична инфекция по време на скрининга.• Диабет или друго аутоимунно заболяване по време на скрининга.• Прием на антибиотици, кортикостероиди, имunosупресори или имуномодулатори през последните 4 седмици преди скрининга.• Отказ да се подпише Информирано съгласие. |

2. МЕТОДИ

2.1. Медицинско интервю

С цел скриниране на пациентите според критериите за включване или изключване от изследването се проведе интервю с родителите и детето (при възраст над 14г.) със снемане на пълна медицинска анамнеза за минали и придружаващи заболявания, прием на антибиотици, кортикостероиди или имуномодулатори през последния месец и желание за участие в проучването. При децата с Т1Д се събра информация за началото и давността на диабета, режима и вида на инсулиновата терапия, анамнеза за предходни епизоди на ИПП или ГИ.

Родителите и децата над 14 г. бяха помолени да подпишат доброволно Информирано съгласие.

2.2. Физикален преглед

На всички включени в изследването пациенти е извършен стандартен физикален преглед за цялостен обективен статус, включително оглед на външни гениталии за клинични признаци на възпаление.

Проведена е антропометрия с измерване на ръст, тегло, обиколка на талията и изчисляване индекс на телесната маса. Оцениха се етапите на пубертетно развитие според критериите на Танер (1976) [258].

2.3. Лабораторни методи

Изследването на хематологичните показатели (ПКК и СУЕ) и на гликиран хемоглобин (HbA_{1c}) е извършено в Медико-диагностична лаборатория (МДЛ) по Клинична лаборатория към УМБАЛ „Г. Странски” - Плевен.

Стойностите на хемоглобин се определени чрез автоматична колорометрия, а стойностите на еритроцити, левкоцити, лимфоцити, моноцити и гранулоцити чрез автоматично апаратно изброяване. Скоростта на утаяване на еритроцитите (СУЕ) се определи по микрометода на Панченко

Гликираният хемоглобин е измерен в цяла кръв чрез имунотурбидиметричен метод.

2.4. Микробиологични методи

Микробиологичните изследвания са реализирани по Научно-изследователски проект D1/2014г. „Проучване върху гъбичните инфекции при диабет тип 1 в детско-юношеската възраст”, финансиран от МУ-Плевен и одобрен от Комисия по етика на научно-изследователската дейност (КЕНИД) към МУ-Плевен. Участниците от основната и контролните групи са включвани доброволно след писмено съгласие. Изследването на пробите се извърши в МДЛ по Микробиология към УМБАЛ „Г. Странски” - Плевен.

При всички пациенти с Т1Д и децата с ИПП без диабет (I-ва контролна група) се изследва стерилна проба урина за търсене на бактериални патогени и кандидурия.

При децата с Т1Д и тези с клинични данни за ГИ (II-ра контролна група) се изследва проба на секрет от външни гениталии за търсене на бактериални и гъбични патогени.

Пробите са изпратени до 30-та минута от предоставянето в МДЛ по Микробиология за директна микроскопия и посевки върху кръвен агар, среда на Сабуро, хромогенни среди: CPS ID 3 и BBL™CHROMagar™Candida. Посевките са инкубирани за 24-48 часа на температура 37°C. Изолираните патогени са дигностицирани с конвенционални и апаратни методи.

Микологичната диагностика е основана на характерни културелни и микроскопски особености. *Candida albicans* се отдиференцира чрез способността ѝ да формира герминативни тръби, псевдохифи и хламидоспори.

2.5. Имунологични методи

Имунологичните изследвания са реализирани по Научно-изследователски проект №8/2015г. „Промени в имунния статус на деца и подрастващи с тип 1 диабет с кандидозна инфекция на пикочните пътища и гениталиите”, финансиран от МУ-Плевен и одобрен от КЕНИД към МУ-Плевен. Участниците от основната и контролната група са включвани доброволно след писмено съгласие. Изследването на пробите се извърши в МДЛ по Имунология към УМБАЛ „Г. Странски” - Плевен.

На 71 от пациентите с Т1Д и на клинично **здравите** деца без диабет (III-та контролна група) са изследвани параметри на хуморалния имунитет – общи серумни имуноглобулини (IgA, IgG, IgM) и C3 фракция на комплемента, както и някои параметри на клетъчния имунитет – общи T-Ly (CD₃₊), T_s (CD₈₊), T_h (CD₄₊), общи B-Ly (CD₁₉₊), общи NK клетки (CD₅₆₊)

Чрез **турбидиметричен анализ** на серум са определени нива на общите имуноглобулини и C3 фракция на комплемента, а чрез **флоуцитометрия** на цяла кръв с лизирани еритроцити са определени нивата на общи T-Ly, T-хелпери, T-супресори, общи B-Ly и NK клетки. Анализът на резултатите е извършен с компютърен софтуер Cell Quest.

Получените резултати за серумни нива на изследваните параметри са сравнени с референтни стойности, предоставени от лабораторията.

2.6. Статистически методи

Получените данни от проучването са обработени със софтуерни статистически пакети Statgraphics Plus Version 2.1; SPSS и Exel for Windows. Резултатите са описани чрез таблици, графики и числови показатели за структура, честота, средни стойности, корелационни коефициенти и др.

При анализа на резултатите са приложени следните параметрични тестове за проверка на хипотези при нормално и близко до нормалното разпределение на случаите: t – test, ANOVA с post hoc tests Tukey, Scheffe, Bonferroni, Newman-Keuls, Duncan и непараметричните тестове при различно от нормалното разпределение на случаите Pearson' χ^2 - test, Mann-Whitney, Kruscal-Wallis H-test.

За моделиране и прогнозиране на корелационни зависимости са използвани регресионни модели. За моделиране и сравняване на данни от типа време-събитие е приложен теста Kaplan-Maier.

Значимостта на резултатите, изводите и заключенията е определена при $p < 0,05$.

IV. РЕЗУЛТАТИ

1. Обща характеристика на изследваните деца с диабет и контролни групи

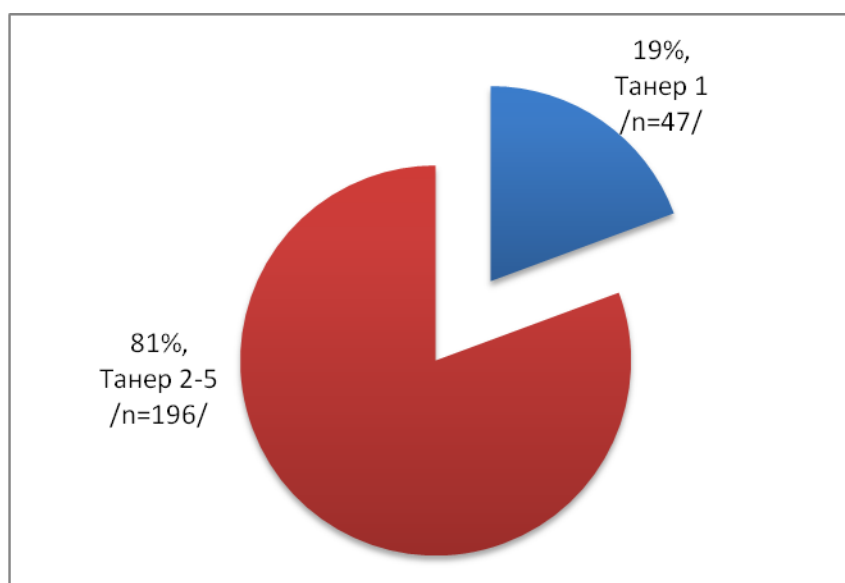
1.1. Разпределение на изследваните деца по възраст

В проучването са включени 243 деца на средна възраст $12,3 \pm 0,4$ години (от 2 до 18г.). Средната възраст на децата с Т1Д от основна група и на тези от контролните групи е представена на Табл. 5.

Табл. 5. Средна възраст на изследваните деца

| Възраст в год. | Общ брой деца /n=243/ | Децата с Т1Д /n=141/ | I-ва контролна група с ИПП /n=40/ | II-ра контролна група с ГИ /n=32/ | III-та контролна група – здрави /n=30/ | p |
|----------------|-----------------------|----------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--|--------|
| Mean | 12,3 | 12,5 | 11,9 | 12,9 | 11,3 | p>0,05 |
| SD | 0,4 | 0,6 | 1,1 | 1,03 | 0,9 | |

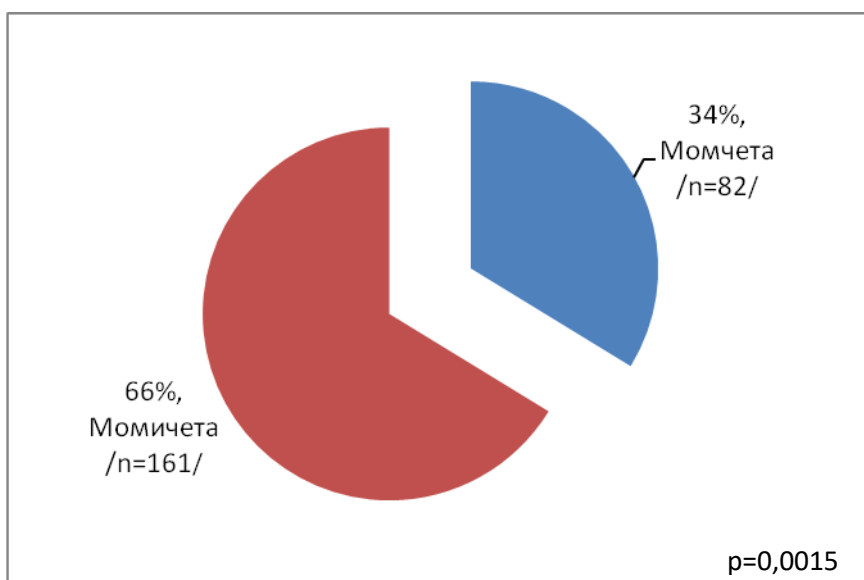
Според стадия на пубертетно развитие, определен по критериите на Танер всички изследвани деца се разпределят в две групи – деца в предпубертетен стадий (Танер 1) – 47 (19%) и деца в пубертетен стадий (Танер 2-5) – 196 (81%). В проучването са обхванати основно деца в пубертетна възраст. (Фиг. 1)



Фиг. 1. Разпределение на изследваните деца според пубертетния стадий

1.2. Разпределение на изследваните деца по пол.

При разпределението по пол статистически значимо повече са момичетата – 161 (66%) спрямо 82 момчета (34%) ($p=0,0015$) (Фиг. 2)

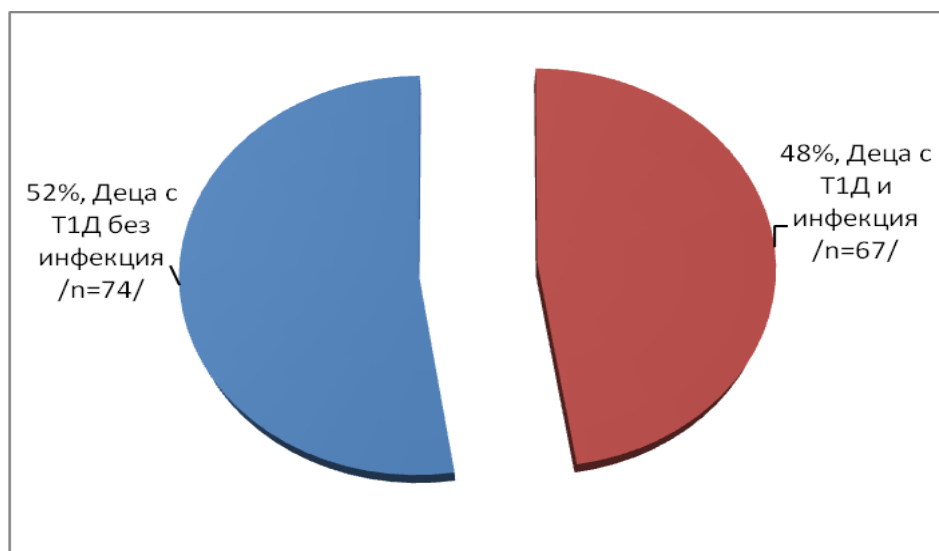


Фиг. 2. Разпределение на изследваните деца с диабет и контроли по пол

2. Честота на инфекциите на пикочните пътища и гениталиите при деца и юноши с Т1Д.

2.1. Обща честота на инфекциите на урогениталния тракт при деца и юноши от изследваната група с Т1Д.

След подробна анамнеза, клиничен преглед и микробиологично изследване инфекции на урогениталния тракт (УГТ) се установяват общо при 67 (48%) от децата с Т1Д, а при 74 (52%) от тях не се доказва инфекция. (Фиг. 3)

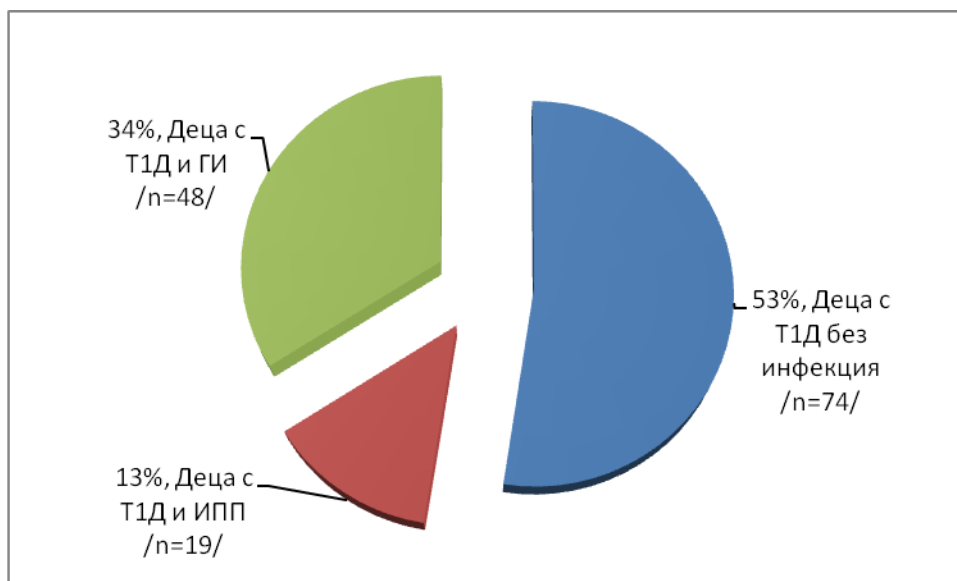


Фиг. 3. Разпределение на децата с Т1Д според наличието на инфекция

2.2. Честота на ИПП и ГИ при деца и юноши с Т1Д.

Разпределението на пациентите с Т1Д според локализацията на асоциираната инфекция е представено на Фиг. 4. Инфекции на пикочните пътища с изолиран при посевка причинител в сигнификантно микробно

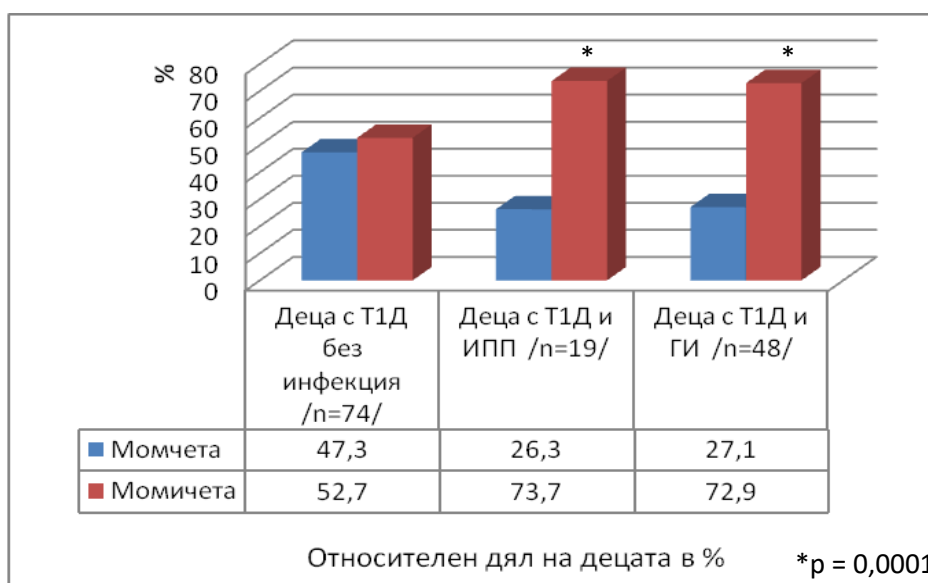
число ($>10^5$ CFU/mL) се доказват при 19 (13,5%), а ГИ по клинични данни се установяват при 48 (34%) от изследваните деца с Т1Д.



Фиг. 4. Разпределение на децата с Т1Д според локализацията на асоциирана инфекция

2.3. Разпределение по пол в изследваната група с Т1Д.

Половото разпределение на децата с Т1Д според локализацията на инфекцията е представено на Фиг. 5. При децата без инфекция относителният дял на двата пола е приблизително еднакъв – 47,3 % момчета и 52,7% момичета. Момичетата са значително повече при децата с ИПП – 73,7% спрямо 26,3% момчета ($p=0,0001$) и при тези с ГИ – 72,9% спрямо 27,1% момчета ($p=0,0001$).



Фиг. 5. Полово разпределение на изследваните деца с Т1Д според локализацията на инфекцията

3. Инфекции на пикочните пътища – клинична характеристика и микробиологична структура при Т1Д в детската и юношеска възраст.

3.1. Клинична картина на ИПП при Т1Д в детска и юношеска възраст

От всички 19 деца с Т1Д с доказана сигнификантна бактериурия или кандидурия ($>10^5$ CFU/mL урина) при 12 (63%) липсват субективни оплаквания и отклонения в обективния статус. При 7/19 (37%) деца се установяват симптоми: дизурия и промяна в цвета на урината при 7; лумбална болка при 5, олигурия – 4 и фебрилитет при 2 деца. При повечето изследвани пациенти има комбинация на няколко симптома. (Табл. 6)

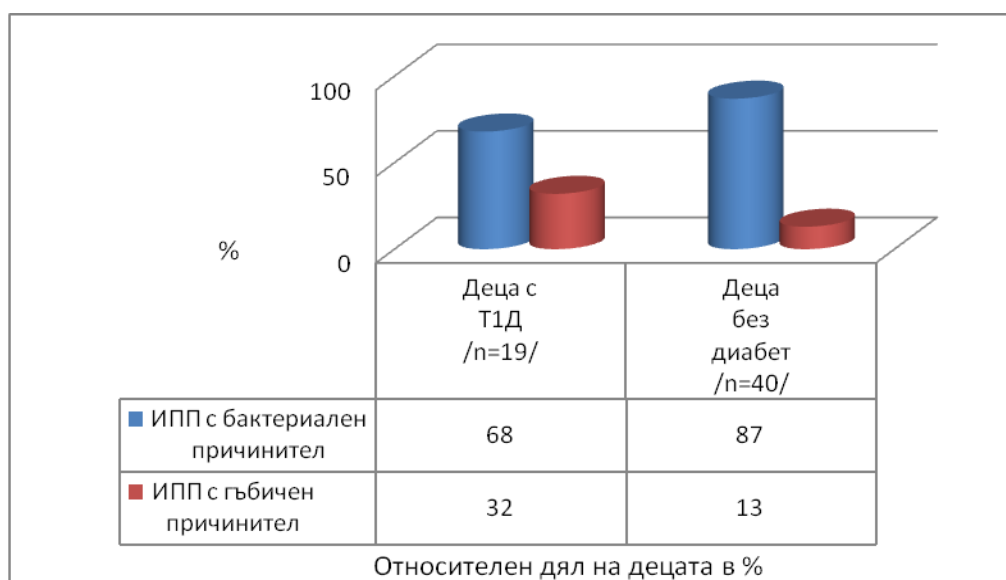
Табл. 6. Клинична картина на ИПП при деца с Т1Д /n=19/

| Симптом | n | % |
|----------------------------|----|------|
| Асимптомни | 12 | 63 |
| Дизурия | 7 | 37 |
| Промяна в цвета на урината | 7 | 37 |
| Лумбална болка | 5 | 26 |
| Олигурия | 4 | 21 |
| Фебрилитет | 2 | 10,5 |

3.2. Микробиологична структура на инфекциите на пикочните пътища при Т1Д в детската и юношеска възраст.

След микробиологично изследване на урина на децата с Т1Д се установява по-голям относителен дял на бактериалните ИПП – при 13/19 (68%) деца в сравнение с гъбична инфекция - 6/19 (32%).

При децата от I-ва контролна група също се установява по-голям дял на бактериалните ИПП – 35/40 (87%) в сравнение с гъбичните – 5/40 (13%). (Фиг. 6.)



Фиг. 6. Относителен дял на бактериалните и гъбични ИПП при деца с Т1Д и деца без диабет от I-ва контролна група

Етиологичната структура на ИПП при децата с Т1Д и тези от I-ва контролна група е представена на **Табл. 7**. От бактериалните патогени при изследваните деца с диабет се установява наличието главно на Грам позитивни (Грам⁺) бактерии – *Streptococcus agalactiae* при 4 (21%) деца, *Enterococcus faecalis* при 3 (15,8%) деца и *Staphylococcus aureus* при 2 (10,5%) деца. Грам негативни бактерии като причинители на ИПП се изолират в 3 (15,8%) случая *Escherichia coli* и в 1 (5,3%) случай – *Proteus mirabilis*.

Бактериалната флора при I-ва контролна група е представена главно от Грам негативни (Грам⁻) микроорганизми: *Escherichia coli* при 23 (57,5%), *Proteus mirabilis* - при 5 (12,5%), *Pseudomonas aeruginosa* – при 2 (5%) и *Klebsiella pneumonia* също при 2 (5%) деца. От Грам положителните бактерии се установява само *Enterococcus faecalis* при 3 (7,5%) деца.

От гъбичната флора и при двете изследвани групи се откриват единствено представители на род *Candida*. Сред **децата с Т1Д** преобладават ИПП, причинени от non-albicans видове. Установяват се еднакъв брой инфекции съответно с *C. tropicalis* при 2 (10,5%) и *C. krusei* при 2 (10,5%), следвани от *C. pseudotropicalis* при 1 (5,3%) дете. *C. albicans* се изолира само в един случай (5,3%) от ИПП при децата с Т1Д.

При **контролите** случаите на ИПП, причинени от *C. albicans* и от non-albicans видове са почти изравнени. *C. albicans* се изолира при 2 (5%) от децата, а non-albicans представителите *C. tropicalis* и *C. krusei* съответно при 2 (5%) и 1 (2,5%) от децата.

Табл. 7. Етиологична структура на ИППП при деца с Т1Д и контроли

| Етиологични видове | Деца с Т1Д /n=19/ | | I-ва контролна група /n=40/ | |
|-----------------------------|----------------------|------|-----------------------------------|------|
| | n | % | n | % |
| Бактериални | | | | |
| Грам⁺: | | | | |
| Str. agalactiae | 4 | 21,0 | - | - |
| Ent. faecalis | 3 | 15,8 | 3 | 7,5 |
| St. aureus | 2 | 10,5 | - | - |
| Грам⁻: | | | | |
| E. coli | 3 | 15,8 | 23 | 57,5 |
| Pr. mirabilis | 1 | 5,3 | 5 | 12,5 |
| Ps. aeruginosa | - | - | 2 | 5 |
| Kl. pneumoniae | - | - | 2 | 5 |
| Гъбични | | | | |
| C. albicans | 1 | 5,3 | 2 | 5 |
| Non-albicans видове: | | | | |
| C. tropicalis | 2 | 10,5 | 2 | 5 |
| C. krusei | 2 | 10,5 | 1 | 2,5 |
| C. pseudotropicalis | 1 | 5,3 | - | - |

4. Генитални инфекции - клинична характеристика и микробиологична структура при Т1Д в детската и юношеска възраст.

4.1. Клинична картина на ГИ при деца и юноши с Т1Д

При огледа на външни гениталии признаци за възпалителни промени (вулвовагинит или баланит) се установяват при 48 деца с Т1Д – 35 (72,9%) момичета и 13 (27,1%) момчета. Клиничната картина на ГИ при децата с диабет

е представена от: хиперемия и едем на лигавицата на външните гениталии при всички 48 (100%) деца в комбинация с пруритус – 40 (83,3%) деца, дизурия – 35 (72,9%) деца, наличие на белезникав секрет тип „пресечено мляко” при 23 (47,9%). (Табл. 8)

Табл. 8. Клинична характеристика на ГИ при деца и юноши с Т1Д

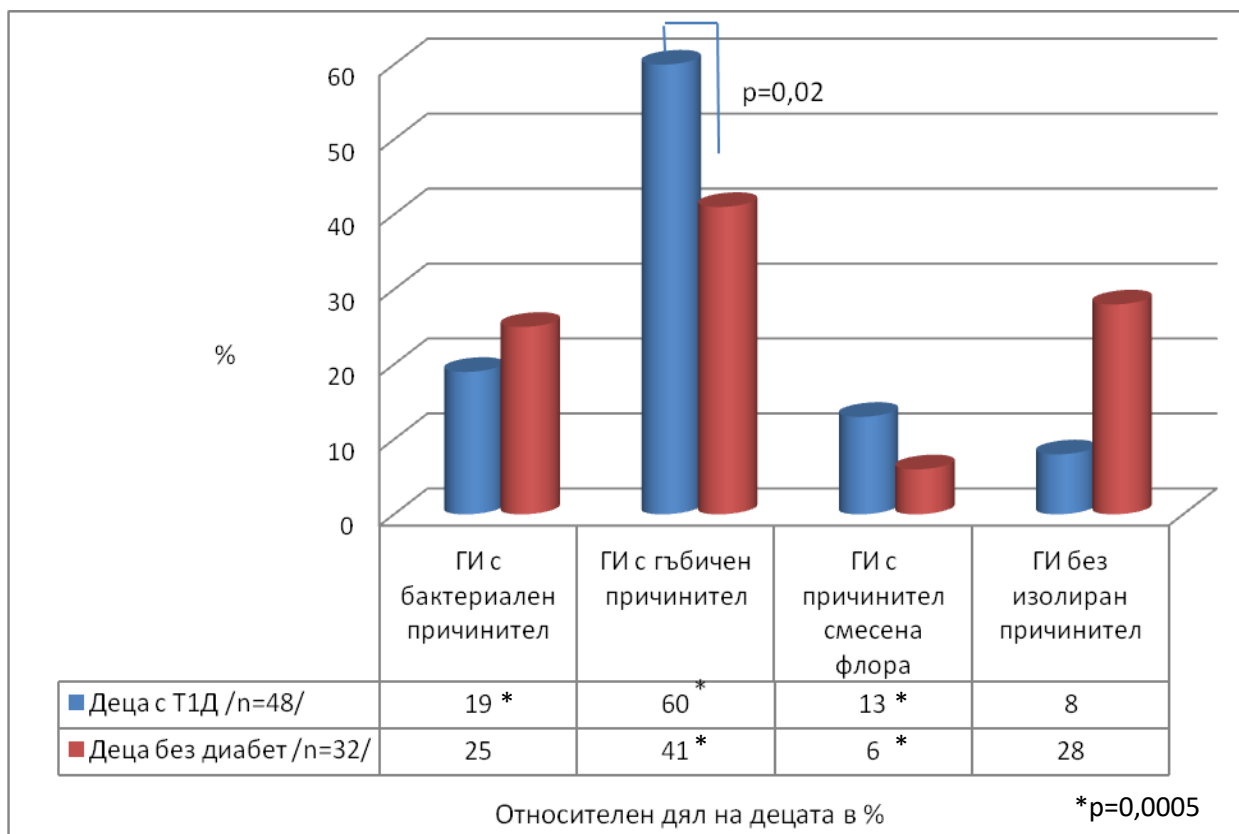
| Симптоми | Момичета /n=35/ | | Момчета /n=13/ | | Общо /n=48/ | |
|--|--------------------|-------|-------------------|------|----------------|------|
| | n | % | n | % | n | % |
| Хиперемия и едем на гениталната мукоза | 35 | 100 | 13 | 100 | 48 | 100 |
| Пруритус | 32 | 91,48 | 8 | 61,5 | 40 | 83,3 |
| Дизурия | 30 | 85,7 | 5 | 38,5 | 35 | 72,9 |
| Патологичен секрет тип „пресечено мляко” | 20 | 57,1 | 3 | 20 | 23 | 47,9 |

4.2. Микробиологична структура на гениталните инфекции при Т1Д в детско-юношеска възраст.

Чрез микробиологична посявка на секрет от външни гениталии при децата с диабет и изявиени симптоми на ГИ се установчва наличието на причинител при 44/48 (92%). При 4/48 (8%) деца не се изолира патоген. Бактериален микроорганизъм като причинител се доказва при 9/48 (19%) деца, гъбичен патоген – при 29/48 (60%), смесена флора (едновременно гъбична и бактериална) – при 6/48 (13%) от децата с Т1Д. Тези резултати показват, че кандидозната ГИ при децата с диабет е значимо по-честа от бактериалните или тези, причинени от смесена флора ($p=0,0005$)

Във II-ра контролна група – деца с ГИ без диабет, микробиологичната посявка не доказва патоген при 23/32 деца. Бактериален микроорганизъм като причинител на ГИ при контролите се доказва при 8/32 (25%) деца, гъбичен патоген – при 13/32 (41%), смесена флора (едновременно гъбична и бактериална) – при 2/32 (6%). Резултатите за контролната група показват, че гъбичните ГИ също са със сигнификантно по-висок относителен дял спрямо ГИ, причинени от смесена флора ($p=0,0005$). (Фиг. 7)

От представените на фигурата данни се вижда, че ГИ с гъбичен причинител са значимо по-чести при децата с диабет – 60% отколкото в контролната група 41% ($p=0,02$).



Фиг. 7. Относителен дял на ГИ при деца с Т1Д и контроли според вида на изолирания причинител

Етиологичната структура на ГИ при изследваните деца е представена на **Табл. 9. Бактериалните** патогени при децата с диабет са представени основно от Грам⁺ бактерии: *Staphylococcus aureus* при 3/48 (6,3%) и *Streptococcus agalactiae* 3/48 (6,3%), следвани от равен брой случаи Грам⁻ бактерии: *Escherichia coli* 1/48 (2,1%), *Proteus mirabilis* 1/48 (2,1%) и 1/48 (2,1%) дете с бактериална вагиноза. При децата от II-ра контролна група структурата на **бактериалната** флора при ГИ също е представена главно от Грам позитивни микроорганизми: *Enterococcus faecalis* при 3/32 (9,3%) и *Staphylococcus aureus* при 2/32 (6,3%) деца. Грам⁻ *Escherichia coli* се изолира при 1/32 (3,1%) деца, а при 2/32 (6,3%) момичета се доказва бактериална вагиноза.

Гъбичната флора и в двете изследвани групи е съставена от представители на род *Candida*. Сред пациентите с Т1Д гениталната кандидоза се причинява най-често от *C. albicans* – при 18/48 (37,5%). Втори е non-albicans видът *C. tropicalis* – 7/48 (14,7%), следван от 1/48 (2,1%) с *C. krusei* и 1/48 (2,1%) с *C. glabrata*. При две деца (4,2%) се изолира комбинация от *C. albicans* с *C. tropicalis*. При децата от II-ра контролна група най-често изолираният кандидозен причинител на ГИ също е *C. albicans* – при 10/32 (31,3%) деца. При 2/32 (6,3%) деца се установи *C. tropicalis*, а при 1/32 (3,1%) дете - *C. krusei*.

Смесена патогенна флора от *C. albicans* и Грам⁺ бактерии в генитален секрет се изолира и в двете изследвани групи - при 6/48 (12,5%) от децата с Г1Д и при 2/32 (6,3%) деца от контролната група.

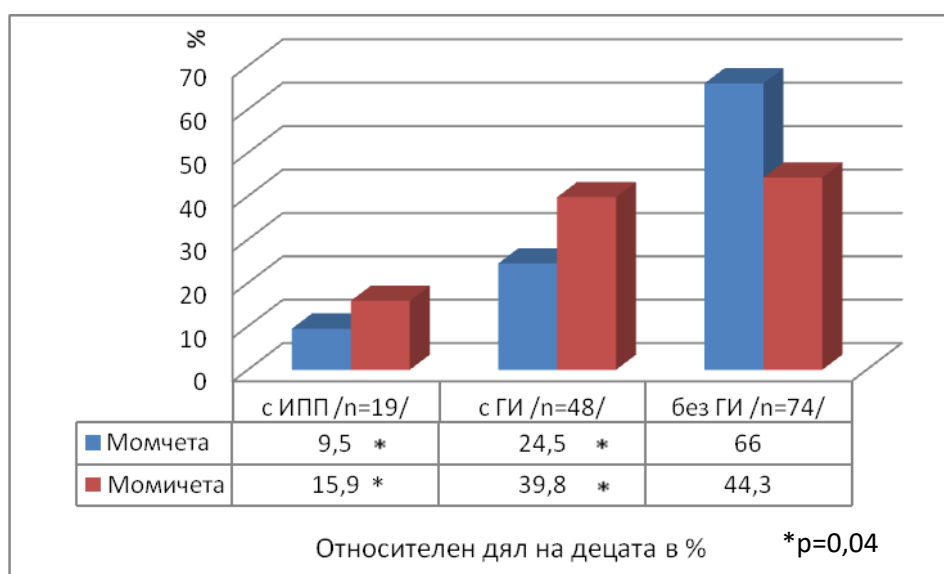
Табл. 9. Етиологична структура на ГИ при деца с Г1Д и контроли

| Етиологични видове | Деца с Г1Д /n=48/ | | II-ра контролна група /n=32/ | |
|--|----------------------|------|------------------------------------|------|
| | n | % | n | % |
| Бактериални | | | | |
| Грам⁺: | | | | |
| Staphylococcus aureus | 3 | 6,3 | 2 | 6,3 |
| Streptococcus agalactiae | 3 | 6,3 | - | - |
| Enterococcus faecalis | - | - | 3 | 9,3 |
| Грам⁻: | | | | |
| Escherichia coli | 1 | 2,1 | 1 | 3,1 |
| Proteus mirabilis | 1 | 2,1 | - | - |
| Бактериална вагиноза | 1 | 2,1 | 2 | 6,3 |
| Гъбични | | | | |
| Candida albicans | 18 | 37,5 | 10 | 31,3 |
| Non-albicans видове: | | | | |
| Candida tropicalis | 7 | 14,7 | 2 | 6,3 |
| Candida krusei | 1 | 2,1 | 1 | 3,1 |
| Candida glabrata | 1 | 2,1 | - | - |
| C. albicans + C. tropicalis | 2 | 4,2 | - | - |
| Смесена флора | | | | |
| C. albicans + Грам ⁺ бактерии | 6 | 12,5 | 2 | 6,3 |
| Без изолиран патоген | | | | |
| | 4 | 8 | 9 | 28 |

5. Рискови фактори, свързани с развитието на инфекции на пикочните пътища и генитални инфекции при Т1Д в детска и юношеска възраст.

5.1. Пол - рисков фактор за ИПП и ГИ

Разпределението по пол на ИПП сред изследваните деца показва значимо по-висока честота сред момичетата - 14/88 (15,9%) спрямо момчетата - 5/53 (9,4%) ($p=0,04$). Същата тенденция се наблюдава и при ГИ. При момичетата наличието на вулвовагинит е значимо по-често - 35/88 (39,8%), отколкото баланитът при момчетата - 13/53 (24,5%) ($p=0,04$). Без инфекция на УГТ са 42/88 (47,7%) момичета и 32/53 (60,4%) момчета. **Фиг.8.**



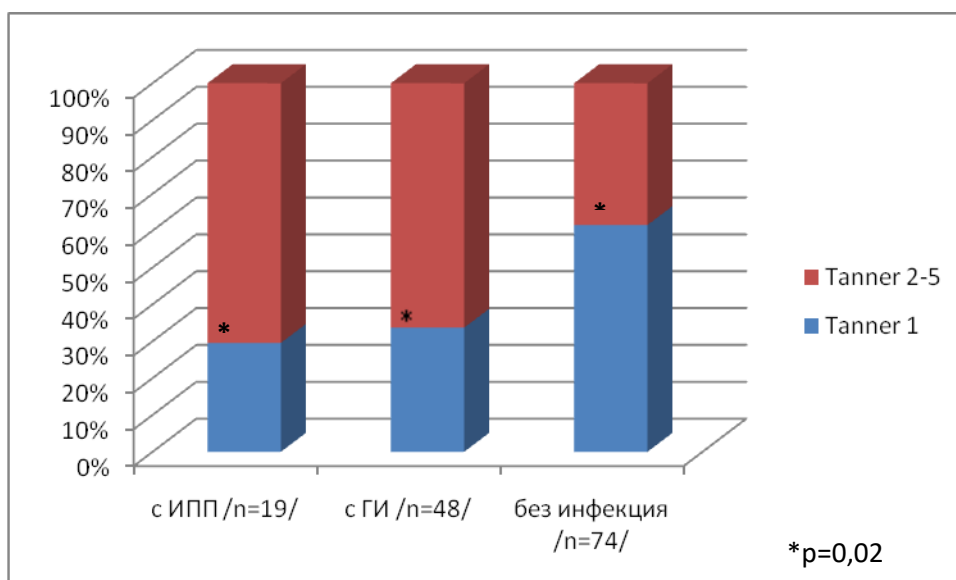
Фиг. 8. Разпределение на децата с Т1Д и инфекция по пол

При изследваните от нас деца се доказва корелация със слаба зависимост между пола и инфекциите на УГТ ($r=0,19$; $p=0,02$).

5.2. Пубертетният стадий като рисков фактор за ИПП и ГИ

Разпределението на децата с Т1Д и инфекция по възраст е следното: децата с ИПП в пубертетен стадий (Tanner 2-5) са 17/110 (15,5%), значимо повече от тези в предпубертетен стадий (Tanner 1) - 2/31 (6,5%). ($p<0,05$) Относителният дял на децата с ГИ в пубертета - 42/110 (38,2%) също е значимо по-висок в сравнение с предпубертета - 6/31 (19,4%). ($p<0,05$) Децата без инфекция, оценени с Tanner 2-5 са 51/110 (46,4%), а тези с Tanner 1 - 23/31 (74,2%). Установява се значително по-често наличие на ГИ при децата в пубертет ($p=0,02$).

Разпределението на децата с Т1Д и инфекция според стадия на пубертетно развитие е представено на **Фиг. 9.**



Фиг. 9. Разпределение на децата с инфекция според стадията на пубертетно развитие

Доказва се слаба сигнификантна корелация между пубертетния стадий и инфекциите на УГТ ($r=0,21$; $p=0,01$).

5.3. Вид на прилагания инсулин като рисков фактор за ИПП и ГИ

При всички изследвани деца с Т1Д се провежда интензифицирана инсулинова терапия на базал-болусен режим с човешки или аналогови инсулини в дневна доза 0,8-1,5 Е/кг.

Не се установява статистически значима разлика в честотата на ИПП и ГИ в зависимост от вида на използваните за лечение инсулини. (Табл. 10)

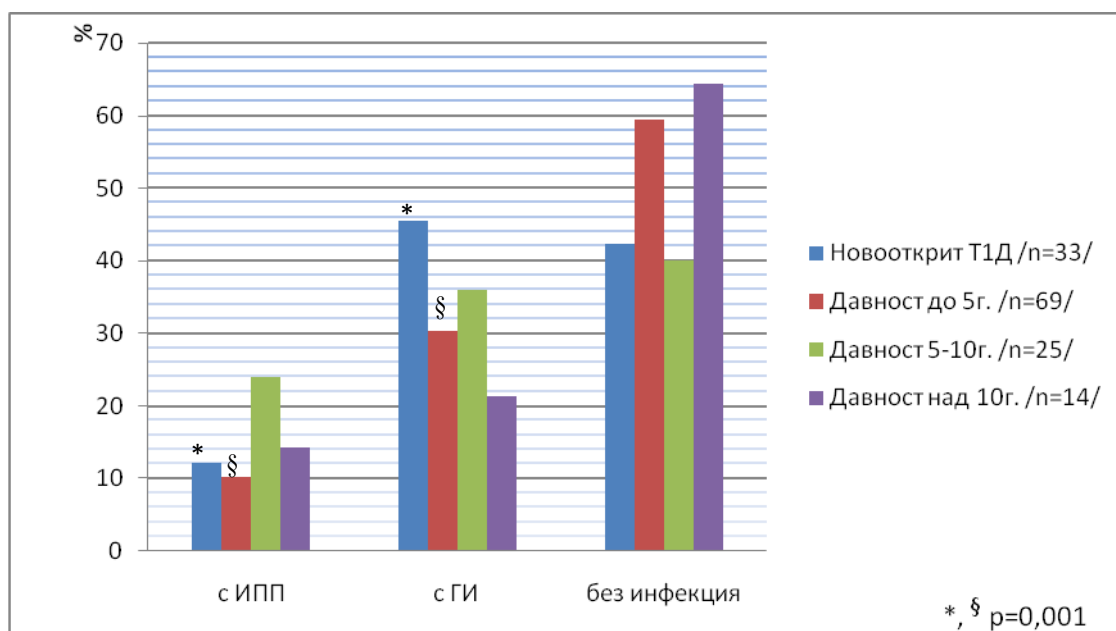
Табл. 10. Разпределение на децата с Т1Д според инсулиновата терапия

| | Човешки инсулин /n=55/ | | Аналогов инсулин /n=86/ | | p |
|-----------------|------------------------|------|-------------------------|------|----------|
| | n | % | n | % | |
| Деца с ИПП | 7 | 12,7 | 12 | 13,9 | $p>0,05$ |
| Деца с ГИ | 24 | 43,6 | 24 | 28 | $p>0,05$ |
| Без инфекция | 24 | 43,7 | 50 | 58,1 | $p>0,05$ |
| Общо деца с Т1Д | 55 | 100 | 86 | 100 | $p>0,05$ |

5.4. Давност на диабета като рисков фактор за ИПП и ГИ

Давността на диабета при пациентите с ИПП – 5,0г. (Q_1 2.0; Q_3 8.0) и на тези с ГИ - 3,5г. (Q_1 2.0; Q_3 7.0) е незначимо по-голяма спрямо 3,09 години (Q_1 2.0; Q_3 7.0) при изследваните деца без инфекция ($p=0,79$).

Значимо по-висок относителен дял на ГИ спрямо ИПП се установява при новооткрит диабет ($p=0,001$) и при децата с давност на заболяването до 5г. ($p=0,001$) (Фиг. 10)



Фиг. 10. Относителен дял на децата с инфекция според давността на диабета

5.5. Метаболитен контрол като рисков фактор за ИПП и ГИ

Според средната стойност на HbA_{1C} децата с Т1Д от изследваната кохорта са с лош метаболитен контрол - $HbA_{1C} 10,09 \pm 2,28\%$.

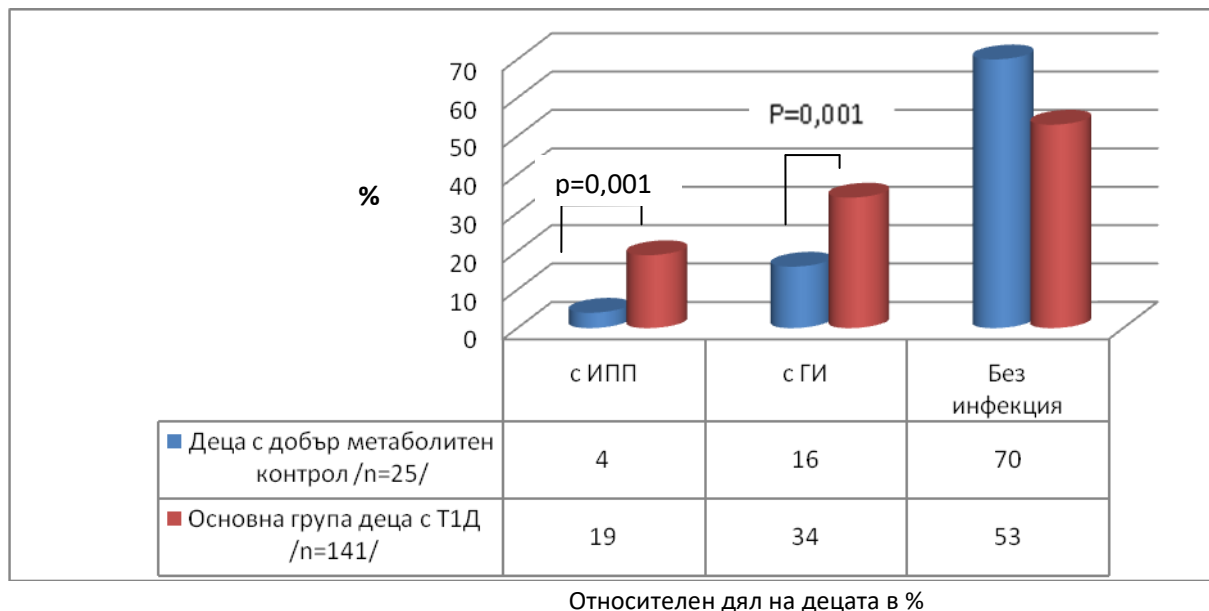
При деца с ИПП средната стойност на HbA_{1C} е незначимо по-висока спрямо тази на децата без инфекция – съответно $10,96 \pm 1,72\%$ спрямо $9,39 \pm 2,18\%$ ($p > 0,100$). Противоположно на тази тенденция при децата с ГИ се наблюдава сигнификантно по-високо средно ниво на гликирания хемоглобин – $11,09 \pm 2,26\%$ в сравнение с децата без ГИ – $9,39 \pm 2,18\%$ ($p = 0,0002$). (Табл. 11)

Таб. 11. Средни стойности на гликиран хемоглобин при изследваните деца

| Групи | Брой деца | HbA_{1C} (%) | |
|-----------------|-----------|----------------|------|
| | | Mean | SD |
| Деца с ИПП | 19 | 10,96 | 1,72 |
| Деца с ГИ | 48 | 11,09* | 2,26 |
| Без инфекция | 74 | 9,39* | 2,18 |
| Общо деца с Т1Д | 141 | 10,09 | 2,28 |

* $p=0,0002$

С добър метаболитен контрол ($HbA_{1c} \leq 7,5\%$) са 25 деца, при които честотата на ИПП – 1/25 (4%) и ГИ – 4/25 (16%) е значимо по-ниска от установената в общата група – съответно 13% за ИПП и 34% за ГИ ($p=0,001$). (Фиг. 11)



Фиг. 11. Относителен дял на инфекциите при децата с Т1Д и добър метаболитен контрол

Установява се статистически значима положителна корелация между стойностите на гликирания хемоглобин и наличието на ГИ ($r=0,35$; $p=0,0001$).

6. Параметри на хуморалния и клетъчен имунитет при деца и подрастващи с тип 1 диабет

6.1. Хуморален имунитет

6.1.1. Серумни имуноглобулини и С3 фракция на комплемента.

На Табл. 12 са представени резултати за средните стойности на серумни имуноглобулини и С3-фракцията на комплемента на общата група пациенти с диабет и на контролите. Средните серумни нива на трите изследвани класа имуноглобулини и С3 фракцията на комплемента при здравите контроли се намират в референтните граници за локалната лаборатория. Сравнението показва, че средните стойности на серумния IgG и IgA при изследваните деца с Т1Д са статистически значимо по-ниски от тези при контролите ($p=0,03$) ($p=0,029$). Средните стойности на IgM и С3-фракцията на комплемента при деца с диабет са в долната част на референтните граници за възрастта, незначимо по-ниски от тези на децата без диабет.

Табл. 12. Серумна концентрация на имуноглобулини и С3 фракция на комплемента при деца с Т1Д и контролна група, представена като $\bar{x} \pm SD$ в mg/dL

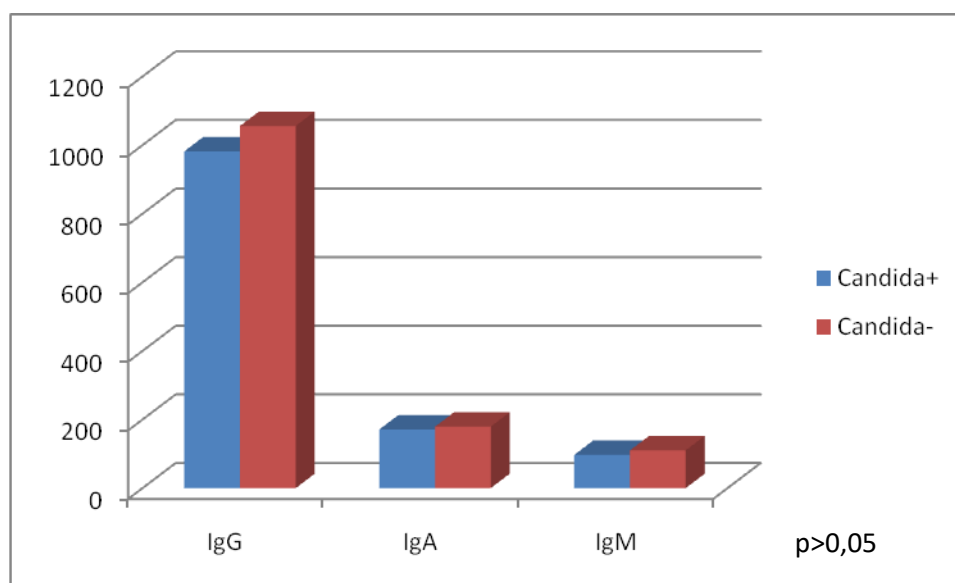
| Показател mg/dL | Деца с Т1Д /n=71/ | | Контролна група /n=30/ | | p |
|--------------------|-------------------|-----|---------------------------|-----|---------|
| | Mean | SD | Mean | SD | |
| IgG 1158+/-305 | 1031 | 312 | 1168 | 218 | p=0,03 |
| IgA 200+/-61 | 172 | 77 | 208 | 69 | p=0,029 |
| IgM 99+/-27 | 106 | 39 | 114 | 28 | p>0,05 |
| С3 135+/-45 | 116 | 35 | 126 | 25 | p>0,05 |

6.1.2. Хуморален имунитет и кандидозни инфекции

С цел да се потърсят отклонения в хуморалния имунитет като предразполагащ фактор за развитие на диабет-асоциирани инфекции са изследвани 71 деца с Т1Д.

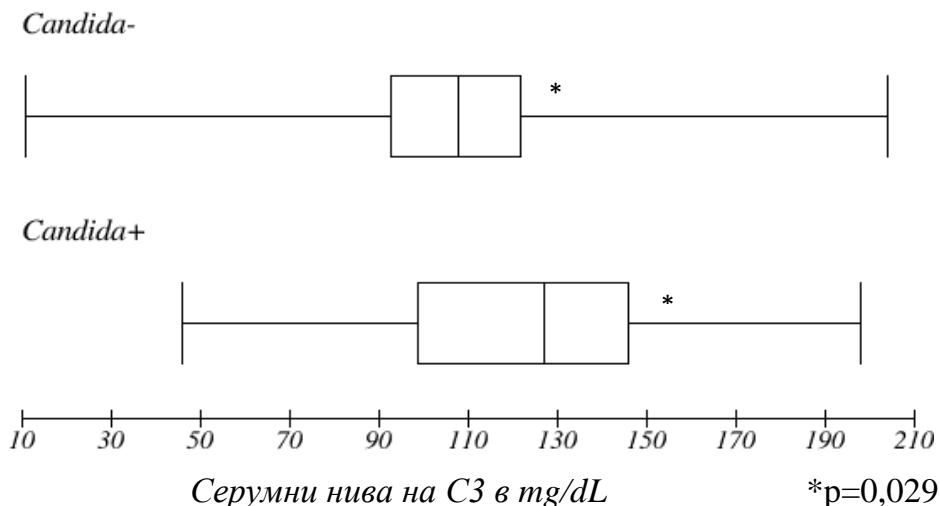
При 24 (33,8%) от изследваните се изолира Candida+, а при 47 (66,2%) не се доказва инфекция (Candida-).

Установява се, че средните стойности на всички Ig и С3 в двете подгрупи също са в долните граници на възрастовите норми. (Фиг. 12)



Фиг. 12. Серумна концентрация на общи имуноглобулини при деца с Т1Д и кандидозни инфекции в mg/dL

Средните серумни нива на С3 при *Candida*⁺ се доказват значимо по-високи: медиана 127,95 mg/dL (с вариране при стойности на долен квантил 99,95 и горен квантил 146,15) спрямо тези при *Candida*⁻ - медиана 108,5 mg/dL (с вариране при стойности на долен квантил 93,65 и горен квантил 122,75) ($p=0,029$). (Фиг. 13)



Фиг. 13. Серумна концентрация на С3-фракция на комплемента при деца с Т1Д и кандида в mg/dL

6.1.3. Хуморален имунитет и давност на диабета

Средната давност на диабета е медиана 3,0 с вариране при стойности на долен квантил 1,0 и горен квантил 7,0. Не се установява корелация между давността на диабета и стойностите на общите серумни имуноглобулини и С3-фракцията на комплемента. ($p>0,05$)

6.1.4. Хуморален имунитет и метаболитен контрол

Направен е сравнителен анализ на средните стойности на Ig и С3 при изследваните деца с Т1Д за връзката им с гликемичния контрол според стойностите на гликирания хемоглобин $A_{1C}\%$. Сравняват се средните стойности на 13 деца с добър метаболитен контрол ($HbA_{1C} - 6,89 \pm 0,5\%$) и без инфекция със средните стойности на група деца с лош контрол ($HbA_{1C} - 10,64 \pm 0,5\%$). За всички класове Ig и С3 получените средни стойности при добър контрол не се различават от тези на групата с лош контрол: за IgG – 1028 ± 189 спрямо 1031 ± 335 mg/dL ; за IgA – 150 ± 76 спрямо 177 ± 77 mg/dL ; за IgM – 95 ± 43 спрямо 108 ± 39 mg/dL; за С3 - 110 ± 25 спрямо 116 ± 37 mg/dL ($p>0,05$).

6.2. Клетъчен имунитет

При 71 деца с Т1Д и 30 здрави контроли са анализирани резултатите от показатели на клетъчния имунитет: левкоцити (WBC), лимфоцити (Ly), общи T-Ly (CD₃₊), T_s (CD₈₊) и T_h (CD₄₊) с цел да се потърсят отклонения като рисков фактор за диабет асоциирани инфекции.

6.2.1. Левкоцити (WBC), лимфоцити (Ly), общи T-Ly (CD₃₊), T_s (CD₈₊) и T_h (CD₄₊)

На **Табл. 13** са представени резултати за относителните дялове и средните стойности на абсолютния брой на левкоцити, лимфоцити, общи T-Ly (CD₃₊), T_s (CD₈₊), T_h (CD₄₊), съотношението T_h/T_s при общата група пациенти с диабет и контролите. Средните серумни нива на изследваните показатели при здравите контроли се намират в референтните за локалната лаборатория граници.

Не се установява статистически значима разлика в средните стойности на изследваните параметри на клетъчния имунитет при изследваните деца с Т1Д и при контролите ($p > 0,05$).

6.2.2. Общи B-Ly (CD₁₉₊)

На **Табл. 14** са представени резултатите от сравнителния анализ на относителните дялове и абсолютния брой на общите B-Ly при децата с Т1Д и контроли.

Установява се **значимо по-нисък относителен дял на B-Ly** при изследваните деца с диабет ($p = 0,001$). При абсолютния брой на общите B-Ly се установява само тенденция за понижаване при Т1Д без да достигне статистическа значимост ($p = 0,12$). (**Табл. 14**)

6.2.3. Общи НК клетки (CD₅₆₊)

На **Табл. 15** са представени резултатите от сравнителния анализ на относителните дялове и абсолютния брой на общите НК клетки при децата с Т1Д и контроли. Наблюдават се същите тенденции като при общите B-Ly за снижение при Т1Д.

Установява се **значимо по-нисък относителен дял на НК клетките** при децата с диабет ($p = 0,017$). При абсолютния брой на общите НК клетки обаче се установява незначимо понижаване при Т1Д в сравнение с контролите – ($p = 0,25$). (**Табл. 15**)

Табл. 13. Средни стойности на левкоцити (WBC), лимфоцити и някои лимфоцитни субпопулации при изследваните деца с Т1Д и контроли

| Параметър | Деца с Т1Д | | | | Контроли | | | | p |
|-------------------------------|------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|----------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|------|
| | Median | Q ₁ (P ₂₅) | Q ₃ (P ₇₅) | IQR | Median | Q ₁ (P ₂₅) | Q ₃ (P ₇₅) | IQR | |
| WBC | | | | | | | | | |
| абсолютен бр. | 7,0 | 5,7 | 8,6 | 2,9 | 6,6 | 5,7 | 8,1 | 2,2 | 0,4 |
| Лимфоцити | | | | | | | | | |
| % | 30,76 | 25,5 | 39,17 | 13,67 | 36,82 | 27,92 | 40,54 | 12,62 | 0,2 |
| Общи T-Ly (CD3+) | | | | | | | | | |
| % | 69,43 | 65,17 | 75,36 | 10,19 | 68,54 | 64,3 | 70,1 | 5,8 | 0,07 |
| абсолютен бр. | 1672 | 1284,5 | 2036,6 | 752,1 | 1544 | 1203,6 | 1662 | 458,4 | 0,1 |
| T-хелпери (CD4+) | | | | | | | | | |
| % | 35,1 | 31,1 | 41,1 | 9,95 | 36,6 | 34,89 | 39,01 | 4,12 | 0,29 |
| абсолютен бр. | 839,7 | 656,7 | 1080,8 | 424,1 | 829,2 | 693,1 | 963,2 | 270,1 | 0,6 |
| T-супресори (CD8+) | | | | | | | | | |
| % | 30,3 | 25,2 | 35,1 | 9,97 | 29,3 | 26,5 | 31,2 | 4,69 | 0,1 |
| абсолютен бр. | 743,6 | 512 | 974,9 | 462,9 | 653,3 | 526,7 | 792,2 | 265,5 | 0,07 |
| Съотношение CD4+: CD8+ | | | | | | | | | |
| | 1,23 | 0,9 | 1,5 | 0,6 | 1,24 | 1,16 | 1,42 | 0,26 | 0,3 |

Табл. 14. Относителен дял на общи В-Лу (CD_{19+}) при деца с Т1Д и контроли

| Параметър | Деца с Т1Д | | | | Контроли | | | | p |
|--|------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|----------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|-------|
| | Median | Q ₁ (P ₂₅) | Q ₃ (P ₇₅) | IQR | Median | Q ₁ (P ₂₅) | Q ₃ (P ₇₅) | IQR | |
| Общи В-Лу (CD_{19+}) | | | | | | | | | |
| % | 11,02 | 8,83 | 13,85 | 5,02 | 14,52 | 12,23 | 17,76 | 5,53 | 0,001 |
| абсолютен бр. | 258,7 | 170,0 | 173,9 | 373,9 | 326,2 | 234,9 | 393,7 | 158,7 | 0,12 |

Табл. 15. Относителен дял на общи НК клетки (CD_{56+}) при деца с Т1Д и контроли

| Параметър | Деца с Т1Д | | | | Контроли | | | | p |
|---|------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|----------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|-------|
| | Median | Q ₁ (P ₂₅) | Q ₃ (P ₇₅) | IQR | Median | Q ₁ (P ₂₅) | Q ₃ (P ₇₅) | IQR | |
| Общи НК клетки (CD_{56+}) | | | | | | | | | |
| % | 12,61 | 8,78 | 16,94 | 8,16 | 15,49 | 13,23 | 18,15 | 4,87 | 0,017 |
| абсолютен бр. | 304,7 | 189,1 | 464,4 | 275,3 | 329,4 | 303,8 | 423,8 | 119,2 | 0,25 |

6.2.4. Клетъчен имунитет и кандидозни инфекции - левкоцити (WBC), лимфоцити (Ly), общи T-Ly (CD₃₊), T_s (CD₈₊), T_h (CD₄₊) и кандидозни инфекции

Изследваните 71 деца с Т1Д са разделени в две субгрупи в зависимост от наличието или липсата на кандидозна инфекция. Направен е сравнителен анализ на имунологичните показатели между двете субгрупи с цел откриване на отклонения като предразполагащ фактор за диабет-асоциирани инфекции, както и за хронифицирането им. Не се установява значима разлика в средните стойности на левкоцити, лимфоцити, общи T-Ly (CD₃₊), T_s (CD₈₊), T_h (CD₄₊), съотношението T_h/T_s при пациенти с диабет и кандидоза (Candida⁺, n=24) и без кандидоза (Candida⁻, n=47). (p.> 0,05) (Табл. 16)

Общи B-Ly (CD₁₉₊) и кандидозни инфекции

Липсват значими разлики в относителния дял на B-Ly при изследваните деца с кандидоза – медиана 10,62% с вариране при стойности на долен квантил 8,51% и горен квантил 13,42% спрямо този при Candida⁻ – медиана 11,29% (вариране при долен квантил 9,13% и горен квантил 13,85%) (p=0,39). При абсолютния брой на общите B-Ly също не се установява значима разлика: Candida⁺ – медиана 268,65 (вариране при долен квантил 188,5 и горен квантил 322,95) в сравнение с Candida⁻ – 243,65 (вариране при долен квантил 167,8 и горен квантил 429,2) (p=0,99).

Общи НК клетки (CD₅₆₊) и кандидозни инфекции

Не се установява значима разлика в относителния дял на НК клетките при децата с кандидоза – медиана 11,39% с вариране при стойностите на долен квантил 9,26% и горен квантил 18,26% спрямо Candida⁻ – медиана 13,05% (вариране на долен квантил 8,59% и горен квантил 16,94%) (p=0,85). Липсват значими различия и при абсолютния брой на общите НК клетки: Candida⁺ – медиана 324,2 (вариране при долен квантил 248,85 и горен квантил 450,75) в сравнение с Candida⁻ – 286,75 (вариране при долен квантил 185,6 и горен квантил 464,4) в сравнение с (p=0,36).

Табл. 16. Средни стойности на левкоцити (WBC), лимфоцити и някои лимфоцитни субпопулации при деца с Т1Д и кандидоза

| Параметър | Candida ⁻ /n=47/ | | | | Candida ⁺ /n=24/ | | | | p |
|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|-----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------|------|
| | Median | Q ₁ (P ₂₅) | Q ₃ (P ₇₅) | IQR | Median | Q ₁ (P ₂₅) | Q ₃ (P ₇₅) | IQR | |
| WBC | | | | | | | | | |
| абсолютен бр. | 7,3 | 5,3 | 8,9 | 3,6 | 6,75 | 6,3 | 7,9 | 1,6 | 0,9 |
| Лимфоцити | | | | | | | | | |
| % | 29,92 | 24,98 | 35,46 | 10,48 | 32,01 | 25,62 | 40,25 | 14,63 | 0,5 |
| Общи Т-Ly (CD3+) | | | | | | | | | |
| % | 67,43 | 65,16 | 75,36 | 10,2 | 69,09 | 65,6 | 75,39 | 9,79 | 0,8 |
| абсолютен бр. | 1656 | 1284,5 | 2036,5 | 752,1 | 1737,3 | 1300,1 | 2096,6 | 796,7 | 0,74 |
| Т-хелпери (CD4+) | | | | | | | | | |
| % | 35,6 | 30,54 | 42,03 | 11,49 | 34,5 | 31,37 | 39,48 | 8,11 | 0,43 |
| абсолютен бр. | 839,7 | 592,9 | 1080,8 | 487,9 | 864,5 | 674,8 | 1094,5 | 419,8 | 0,63 |
| Т-супресори (CD8+) | | | | | | | | | |
| % | 30,7 | 25,22 | 35,84 | 10,62 | 30,5 | 25,29 | 34,49 | 9,2 | 0,72 |
| абсолютен бр. | 743,6 | 480,9 | 941,6 | 460,7 | 742,9 | 581,3 | 1011,2 | 429,85 | 0,5 |
| Съотношение CD4+: CD8+ | | | | | | | | | |
| | 1,27 | 0,9 | 1,5 | 0,6 | 1,14 | 0,94 | 1,45 | 0,52 | 0,55 |

Клетъчен имунитет и метаболитен контрол

Направен е сравнителен анализ за връзката на средните стойности на левкоцити (WBC), лимфоцити, някои лимфоцитни субпопулации и НК клетки при изследваните деца с нивото на гликемичния контрол според стойностите на гликирания хемоглобин $A_{1C}\%$. Сравнени са средните стойности на 13 деца с добър метаболитен контрол ($HbA_{1C} - 6,89 \pm 0,5\%$) и без инфекция със средните стойности на група деца с лош контрол ($HbA_{1C} - 10,64 \pm 0,5\%$). Средни стойности на **левкоцитите** при диабетните деца с добър контрол се доказват значимо по-ниски от тези на групата с лош контрол: за **WBC** медиана 5,2 при вариране на стойностите на долен квартил 4,7 и горен квартил 5,9 спрямо медиана 7,2 (Q_1 6,1 и Q_3 9,0) ($p=0,001$). При останалите показатели на се установява статистически значима разлика. ($p>0,05$) (**Табл. 17**)

Клетъчен имунитет и давност на диабета

Средната давност на диабета при изследваните деца е медиана 3,0 с вариране при стойности на долен квартил 1,0 и горен квартил 7,0. Не се установява корелация между давността на диабета и средните стойности на левкоцити (WBC), лимфоцити, изследваните лимфоцитни субпопулации и НК клетки.

Тъй като при диагнозата на Т1Д са доказани имунни реакции, свързани с патогенезата на заболяването и възникването на инсулит, водещ до инсулинов дефицит, при 12 деца с новооткрит Т1Д (до 6 месеца от диагнозата) са потърсени разлики в параметрите на клетъчния имунитет спрямо с децата с по-голяма давност ($> 6m$). Значими различия в двете групи не се установяват. ($p>0,05$)

Табл. 17. Сравнителен анализ на средни стойности на левкоцити (WBC), лимфоцити, някои лимфоцитни субпопулации и NK клетки при деца с добър и лош метаболитен контрол

| Параметър | Добър контрол | | | | Лош контрол | | | | p |
|-------------------------------|---------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|-------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|-------|
| | Median | Q ₁ (P ₂₅) | Q ₃ (P ₇₅) | IQR | Median | Q ₁ (P ₂₅) | Q ₃ (P ₇₅) | IQR | |
| WBC | | | | | | | | | |
| абсолютен бр. | 5,2 | 4,7 | 5,9 | 1,2 | 7,2 | 6,1 | 9,0 | 2,9 | 0,001 |
| Лимфоцити | | | | | | | | | |
| % | 32,72 | 27,84 | 36,96 | 9,12 | 30,47 | 25,5 | 39,17 | 13,67 | 0,6 |
| Общи T-Ly (CD3+) | | | | | | | | | |
| % | 67,13 | 64,0 | 73,52 | 9,52 | 69,98 | 66,73 | 75,36 | 8,63 | 0,4 |
| абсолютен бр. | 1577,5 | 1279,0 | 1672,0 | 393,0 | 1728,8 | 1334,6 | 2159,0 | 824,4 | 0,1 |
| T-хелпери (CD4+) | | | | | | | | | |
| % | 35,1 | 27,64 | 40,04 | 12,76 | 34,99 | 31,27 | 41,42 | 10,15 | 0,6 |
| абсолютен бр. | 715,9 | 515,8 | 967,0 | 451,2 | 898,5 | 657,6 | 1127,0 | 469,4 | 0,09 |
| T-супресори (CD8+) | | | | | | | | | |
| % | 29,85 | 26,16 | 35,16 | 9,0 | 30,5 | 24,93 | 35,19 | 10,26 | 0,9 |
| абсолютен бр. | 616,0 | 478,0 | 787,0 | 309,0 | 788,3 | 534,8 | 978,9 | 440,1 | 0,15 |
| Съотношение CD4+: CD8+ | | | | | | | | | |
| | 1,23 | 1,0 | 1,5 | 0,5 | 1,22 | 0,9 | 1,47 | 0,57 | 0,9 |
| Общи B-Ly (CD19+) | | | | | | | | | |
| % | 10,98 | 8,45 | 16,09 | 7,65 | 11,02 | 8,91 | 13,07 | 4,16 | 0,6 |
| абсолютен бр. | 220,1 | 165,1 | 430,6 | 265,6 | 261,6 | 177,3 | 356,7 | 179,4 | 0,7 |
| Общи NK клетки (CD56+) | | | | | | | | | |
| % | 14,93 | 8,23 | 22,28 | 7,05 | 12,1 | 8,84 | 16,32 | 7,48 | 0,4 |
| абсолютен бр. | 293,15 | 171,7 | 500,9 | 229,1 | 306,7 | 194,0 | 457,0 | 263,0 | 0,9 |

7. Лечение на инфекции на пикочните пътища и гениталиите при деца и юноши с Т1Д.

7.1. Лечение на децата с ИПП

Направен е анализ на резултатите от проведеното лечение при 19 деца с Т1Д и ИПП на средна възраст $13,19 \pm 3,8$ г.

Лечението на ИПП е проведено съобразно наличието на клинични симптоми, вида на изолирания патоген и изработената антибиограма. След края на медикаментозната терапия за оценка на успеха ѝ се изследва контролна урокултура в амбулаторни условия.

7.1.1. Лечение на асимптомни бактериални ИПП

Асимптомна бактериурия със сигнификантно количество на изолирания патоген се установява при 8/19 (42,1%) деца с ИПП. При тях е проведена терапия с имуностимулиращ препарат, съдържащ лиофилизат от най-често срещаните уропатогени /*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis* и *Klebsiella pneumoniae*/ В зависимост от възрастта на децата се препоръча прием на 1 таблетка дневно от 25 мг. до 14г. и от 50 мг. над 14г в продължение на 1 месец . След края на терапевтичния курс е изследвана урокултура в амбулаторни условия, като при всички лекувани деца се установи стерилна урина.

7.1.2. Лечение на симптомни бактериални ИПП

Бактериален причинител в сигнификантно количество се изолира при 5/19 (26,3%) деца с ИПП. При тях е проведена 7-10 дневна парентерална антибиотична терапия с цефалоспорици III генерация или аминогликозиди съобразно съответната антибиограма, последвана от профилактичен курс с триметоприм/сулфаметоксазол в комбинация с препарат, съдържащ червена боровинка.

За проследяване на терапевтичния ефект са изследвани две контролни урокултури – на 48-я час от старта на антибиотичната терапия (в болнични условия) и след преустановяване на лечението (в амбулаторни условия). При всички деца е постигнато овладяване на симптоматиката и ерадикиране на бактериалния причинител в контролните проби на урината.

7.1.3. Лечение на кандидозни ИПП

Кандидозна ИПП със сигнификантна кандидурия /МЧ $>10^5$ / се установява при 6/19 (31,6%) деца. При всички тях независимо от

наличието или отсъствието на клинични симптоми е проведено перорално лечение с Fluconazole в доза 6мг/кг/24ч., разделен в 2 приема, с продължителност 14 дни [114, 22]. След края на терапевтичния курс в амбулаторни условия се изследва урокултура за кандидурия. При пет от лекуваните деца не се установява гъбичен растеж.

След проведеното лечение, само при едно момиче се установява персистиране на кандидурията, като се доказва *C. krusei* - представител на non-albicans видовете, който по литературни данни е резистентен на лечение с Fluconazole.

7.2. Лечение на деца с ГИ

Представени са резултати от проведеното лечение на 48 деца с Т1Д и ГИ на средна възраст 12,24±3,4г.

7.2.1. Лечение на ГИ с бактериален причинител

Бактериален причинител се изолира при 8/48 (16,7%) деца. Проведено е локално лечение с антибиотичен крем съобразно изработената антибиограма, прилаган двукратно дневно за период от 10-14 дни. След терапевтичния курс е направено контролно микробиологично изследване на секрет от външни гениталии. При всички изследвани деца се установява липса на патологичен растеж.

При едно момиче се установи бактериална вагиноза. Проведена е перорална антибиотична терапия по инструкции, дадени от акушер-гинеколог.

7.2.2. Лечение на ГИ с кандидозен причинител

Лечението на ГК е проведено по две схеми в зависимост от клиничната симптоматика, вида на изолирания патоген и рецидивирация ход на протичане. При 14/48 (29,2%) деца с първи епизод на изява на ГК и без придружаваща кандидурия е приложено локално лечение с Clotrimazole крем 1% двукратно дневно в продължение на 10-14 дни. След преустановяване на терапевтичния курс се направи контролна микробиологично изследване, като само при едно дете повторно се изолира кандидозен причинител - *C. krusei*, резистентна на конвенционалната антифунгална терапия.

При 21/48 (43,8%) деца се установяват данни за рекурентна ГК с придружаваща кандидурия ($\leq 10^3$). Приложено е комбинирано лечение: локално с Clotrimazole крем 1%, съчетано с еднократна перорална доза от

150 мг Fluconazole. Овладяване на клиничната симптоматика и негативни резултати от микробиологично изследване на секрет и урина се постигна при 16/21 (76,2%) от лекуваните деца. При останалите 5/48 деца се доказва ГК с рецидивиращ ход, причинена от non-albicans кандиди или благоприятствана от придружаващи патологични състояния на гениталиите.

7.3. Клинични случаи с рекурентна ГК – анализ на индивидуални особености:

Клиничен случай №1 – Новооткрит диабет с протрахирано начало и първа изява с ГИ

Момиче на 9г.3м. възраст с новооткрит Т1Д, дебютирал с ГИ. Пет месеца преди поставяне на диагнозата детето е с клинично изявена и микробиологично доказана бактериална инфекция на външни гениталии, лекувана амбулаторно с локален антибиотик до изчезване на симптомите. Последват два рецидива на ГИ след спиране на лечението, придружени с дневна и нощна енуреза, които се третират симптоматично с временен ефект. Три седмици преди хоспитализацията в Детска клиника – Плевен стартира полидипсо-, полиуричен синдром, със загуба на тегло и пореден рецидив на ГИ. Появата на коремни болки, гадене и повръщане налагат постъпването на пациентката за болнично лечение по спешност със симптоми на диабетна кетоацидоза. До този момент не е измервана плазмена глюкоза. При микробиологично изследване на секрет от външни гениталии се изолира *Candida tropicalis*.

Не се установяват отклонения в изследваните параметри на хуморалния имунитет (Табл. 18), а от проведената флоуцитометрия се доказват лимфоцитоза – 64,34% с повишени стойности на общи Т-Ly (CD3+) – 80,88%, повишени Th (CD4+) – 46,84% в съчетание с повишено съотношение Th/Ts – 1,62; както и понижени В-Ly – 9,64% . (Табл. 19)

Табл. 18. Параметри на хуморалния имунитет при Кл. случай 1

| Параметър | Стойност /mg/dL/ | Референтни граници | |
|-----------|---------------------|--------------------|------|
| IgM | 116,5 | 72 | 126 |
| IgG | 1079 | 853 | 1463 |
| IgA | 167,7 | 139 | 261 |
| C3 | 117,1 | 90 | 180 |

Табл. 19. Флоуцитометрично имунофенотипизиране на левкоцити при Кл. случай 1

| Лимфоцитни субпопулации | CD маркер | Резултат (%) | Референтни стойности (%) |
|-------------------------|-----------|--------------|--------------------------|
| Лимфоцити | | 64,34 | 36-43 |
| Общи Т-лимфоцити | CD3+ | 80,88 | 66-76 |
| Т-хелпери | CD4+ | 64,84 | 33-41 |
| Т-супресори | CD8+ | 28,88 | 27-35 |
| Съотношение Th/Ts | | 1,62 | 1,1-1,4 |
| В-лимфоцити | CD19+ | 9,64 | 12-22 |
| Общи НК-клетки | CD16+56+ | 10,17 | 9-16 |

Заключение: Установяват се нормални стойности на Ts и НК клетки, с известно активиране на адаптивния имунитета с повишени лимфоцити, общи Т-Ly и Th на фона на понижени В-лимфоцити.

Клиничен случай №2 – ГИ в съчетание с бактериална вагиноза

Момиче на 16г. от малцинствен произход с давност на диабета над 10 години, дълготраен лош метаболитен контрол (HbA_{1c} - 11,95%), хиперхолестеролемия (6.04 mmol/L) и хипертриглицеридемия (ТГ – 6.69 mmol/L). Води полов живот от 13 г. възраст. До момента с 4 епизода на рекурентна ГИ през последната година. Първият епизод е лекуван амбулаторно симптоматично, при два от рецидивите е провеждана терапия след микробиологично изследване на секрет от външни гениталии с изолирани съответно *S. albicans* при първото и комбинация *S. albicans* с *S. tropicalis* при второто изследване.

Поради неспазване на дадените инструкции за профилактика и подобряване на метаболитния контрол последва трети рецидив на ГИ. При поредното микробиологично изследване се установи бактериална вагиноза, придружена от наличие на *S. tropicalis* в генитален секрет. Съобразно инструкциите на АГ специалист за БВ се проведе антибиотична терапия с Metronidazole 500 мг двукратно дневно за 7 дни, а за ГК - 150 мг Fluconazole еднократен прием веднъж месечно в три последователни месеца.

При параметрите на хуморалия имунитет се установяват понижени серумни нива на всички изследвани имуноглобулини: IgM – 45,6 mg/dL, IgG – 587 mg/dL и IgA – 49 mg/dL. Серумните нива на С3 са повишени – 198,5 mg/dL

От проведената флоуцитометрия се установяват леко завишени стойности на общи Т-Ly (CD3+) – 77,86% , долногранични стойности на Th (CD4+) – 33,39% в съчетание с понижено съотношение Th/Ts – 0,97; както и понижени В-Ly – 9,09% (Табл. 20)

Табл. 20. Флоуцитометрично имунофенотипизиране на левкоцити при Кл. случай 2

| Лимфоцитни субпопулации | CD маркер | Резултат (%) | Референтни стойности (%) |
|-------------------------|-----------|--------------|--------------------------|
| Лимфоцити | | 39,84 | 36-43 |
| Общи Т-лимфоцити | CD3+ | 77,86 | 66-76 |
| Т-хелпери | CD4+ | 33,39 | 33-41 |
| Т-супресори | CD8+ | 34,82 | 27-35 |
| Съотношение Th/Ts | | 0,97 | 1,1-1,4 |
| В-лимфоцити | CD19+ | 9,09 | 12-22 |
| Общи NK-клетки | CD16+56+ | 9,58 | 9-16 |

Заключение: Установява се рисков терен за инфекции на УГТ, обусловен от понижените концентрации на серумните имуноглобулини. Наблюдава се известно потискане на клетъчния имунитет с понижени стойности на В-лимфоцитите и понижено съотношение Th/Ts, което би могло да се свърже с голямата давност и лошия контрол на диабета при конкретната пациентка.

Клиничен случай №3 – ГК в съчетание с генитална верукоза

Момче на 17г.2м. от семейство с неблагоприятен социален статус – живее само с майката. С давност на диабета над 10 години и лош метаболитен контрол (HbA_{1C} - 10,21%). Хоспитализиран многократно в Детска клиника – Плевен поради рекурентни епизоди на ДКА. Съобщава за поне 4 епизода на ГИ преди настоящия. При два от тях е провеждано микробиологично изследване на секрет с изолиран причинител С.

tropicalis. Провеждано е лечение по споменатата по-горе схема с временен ефект.

При последната хоспитализация с клинични данни за ГИ – силно хиперемирана мукоза, секрет от гланс пенис както и наличие на множество ендофитни верукозни лезии. Направена посявка на секрет с изолирана *S. tropicalis*. в комбинация със *Staphylococcus epidermidis*. По повод на гениталната верукоза проведена криотерапия от дермато-венеролог. Препоръчано комбинирано лечение на ГК локално с 1% крем Clotrimazole и еднократен прием на 150 мг Fluconazole в три последователни месеца.

Не се установяват отклонения в изследваните параметри на хуморалия имунитет.

От проведената флоуцитометрия се доказват лимфопения – 33%, повишени стойности на Th (CD4+) – 42,04%, понижени Ts (CD8+) в съчетание с повишено съотношение Th/Ts – 1,58; както и НК клетки в стойности близки до долната граница на референтните – 10,13%. (Табл. 21)

Табл. 21. Флоуцитометрично имунофенотипизиране на левкоцити при Кл. случай 3

| Лимфоцитни субпопулации | CD маркер | Резултат (%) | Референтни стойности (%) |
|-------------------------|-----------|--------------|--------------------------|
| Лимфоцити | | 33,00 | 36-43 |
| Общи Т-лимфоцити | CD3+ | 68,54 | 66-76 |
| Т-хелпери | CD4+ | 42,04 | 33-41 |
| Т-супресори | CD8+ | 26,50 | 27-35 |
| Съотношение Th/Ts | | 1,58 | 1,1-1,4 |
| В-лимфоцити | CD19+ | 18,33 | 12-22 |
| Общи НК-клетки | CD16+56+ | 10,13 | 9-16 |

Заключение: Установява се запазена реактивност на адаптивния имунитет с повишени Th и повишено съотношение на Th/Ts на фона на понижени Ts и НК клетки.

Клиничен случай №4 – Инфекция на уро-гениталния тракт след поставяне на пиърсинг

Момиче на 16г.10м. с давност на диабета 3 години. Манипулира диетата си с цел приложение на по-ниски инсулинови дози. С влошен метаболитен контрол през последните три месеца - HbA_{1C} - 9,13%. Постъпва в Детска клиника – Плевен по повод на дизурични оплаквания. При физикалния преглед се установява наскоро поставен пиърсинг в умбиликалната област и в гениталната област (непосредтвено над клитора). Кожата около двата пиърсинга е хиперемирана. Мукозата на малките лабии е оточна, с хиперемия и наличие на секрет с неприятна миризма. Пациентката споделя, че от скоро има полови контакти, а родителите ѝ не са информирани за поставения пиърсинг.

При микробиологично изследване се установява *Proteus mirabilis* (МЧ >10⁵) в урина и *S. albicans* в гениталния секрет. За ИПП е проведено лечение по антибиограма, а за ГК е препоръчана локална терапия с 1% крем Clotrimazole и отстраняване на пиърсинга.

При изследване на хуморалния имунитет се установяват понижени серумни нива на IgM – 47 mg/dL и IgA – 120,8 mg/dL. IgG и C3 са в норма. При проведената флоуцитометрия се установяват повишени стойности на общи T-Ly (CD3+) – 83,46% и понижени НК клетки – 2,51%. (Табл. 22)

Табл. 22. Имунофенотипизиране на левкоцити при Кл. случай 4

| Лимфоцитни субпопулации | CD маркер | Резултат (%) | Референтни стойности (%) |
|-------------------------|-----------|--------------|--------------------------|
| Лимфоцити | | 33,74 | 36-43 |
| Общи Т-лимфоцити | CD3+ | 83,46 | 66-76 |
| Т-хелпери | CD4+ | 44,71 | 33-41 |
| Т-супресори | CD8+ | 38,96 | 27-35 |
| Съотношение Th/Ts | | 1,14 | 1,1-1,4 |
| В-лимфоцити | CD19+ | 10,73 | 12-22 |
| Общи НК-клетки | CD16+56+ | 2,51 | 9-16 |

Заключение: Установяват се предпоставки за понижена лигавична защита в следствие на понижените общи IgA и IgM. Наблюдава се потиснат клетъчен имунитет с понижени НК клетки.

Клиничен случай №5 – Инфекция на уро-гениталния тракт в съчетание с перинеални абсцеси

Момиче на 14г.8мес. от малцинствен произход с давност на диабета от 3 години. Не посещава редовно лекуващия педиатър-ендокринолог, не спазва препоръчаната диета и не поставя редовно инсулин. С много лош диабетен контрол (HbA_{1C} - 14,77%) и синдром на Мориак: Т 42кг. (на Р5), Р 148 см (на Р5), хепатомегалия. Съобщава за рецидивиращи вулвовагинити и ИПП.

От физикалния преглед се установяват суха кожа с рубеоза по бузите и липохипертрофии на апликационните места на инсулина. Мукозата на външните гениталии е оточна с изразна хиперемия и наличие на секрет тип „пресечено мляко”. Наличие на множество абсцеси по перинеума, вкл. и по големите лабии.

При микробиологично изследване от урина се изолираха *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* в сигнификанто количество и *S. krusei* (МЧ = 10⁴). Същата находка се установи и в секрет от външни гениталии. От раневи секрет се изолира *Staphylococcus aureus*. Извърши се инцизия на перианалните и генитални абсцеси от хирург. Проведе се комбинирана антибиотична трапия според антибиограма.

За кандидозата се препоръча прием на еднократна доза 150 мг *Fluconazole* в три последователни месеца.

При изследване на хуморалия имунитет се установяват повишени серумни нива на IgM – 146 mg/dL и IgA – 302 mg/dL. Серумните нива на IgG и C3 са в норма

При проведената флоуцитометрия се доказват лимфопения - 15,44%, повишени общи T-Ly (CD3+) – 81,14%, повишени стойности на Ts (CD8+) – 34,7%, понижени B-Ly – 8,55% и НК клетки – 6,85%.

Заключение: Установяват се запазена реактивност на хуморалния имунитет с повишени стойности на IgA и IgM и потиснат клетъчен имунитет с понижени стойности на по-голямата част от изследваните лимфоцитни субпопулации.

8. ПРЕПОРЪКИ ЗА ПРЕВЕНЦИЯ, ДИАГНОЗА И ЛЕЧЕНИЕ НА ГЕНИТАЛНА КАНДИДОЗА В ДЕТСКА ВЪЗРАСТ

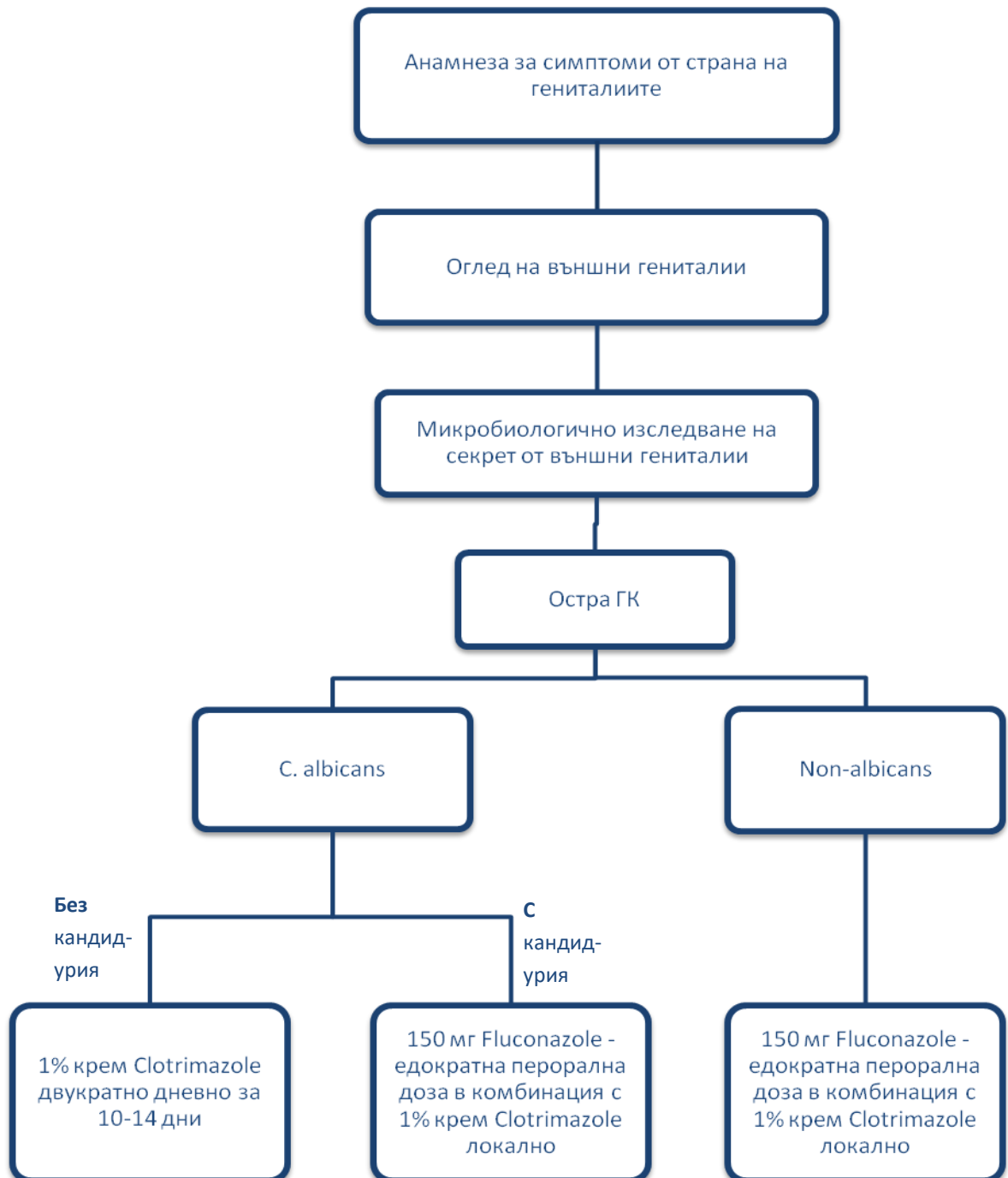
8.1 Препоръки за профилактика на кандидозните генитални инфекции в детска възраст

Гениталната кандидоза (ГК) е често срещан проблем при тийнейджъри с диабет, лесен за диагноза, но с чести рецидиви и проблемно лечение. Провеждането на профилактика чрез обучение и навременна диагностика би допринесло за подобряване на терапевтичните резултати при диабетичите. Комплексната дейност трябва да бъде насочена в няколко аспекта:

1. Поддържане на добър **метаболически контрол** на диабета.
2. **Хранене** – в литературата има препоръки за ежедневна консумация на квасено мляко, внасящо живи млечнокисели бактерии, или прием на пробиотици, съдържащи *Saccharomyces* с. и *Bifidobacterium* L. И в двата случая се постига положителен ефект върху вагиналната микрофлора и се възпрепятства адхезията на гъбичките към гениталната мукоза.
3. **Генитален статус** – пациентите се инструктират за поддържане на външните гениталии в сухо състояние: подсушаване с памучна кърпа след тоалет и изчакване на няколко минути преди да се сложи бельо.
4. **Бельо** – препоръчва се носене на свободно стоящи памучни материи. Да се избягва продължително стоене с мокър бански костюм.
5. **Дразнещи гениталната лигавица процедури** – уместно е да се избягват вагинални промивки, козметични пудри и дезодоранти, пяна за вана и физически травми (пиърсинг или татуировки). Това обикновено води до нарушение в нормалната влагалищна флора и благоприятства неконтролируем растеж на *Candida* и бактерии
6. **След дефекация** задължително да се почиства аналната област с хладка сапунена вода в посока отпред назад, за да се избегне контаминация от червата.
7. **Използване на кондоми** при полово активните подрастващи за предпазване от трансмисия на инфекцията между партньорите.

8.2. Диагностично-терапевтичен алгоритъм за генитална кандидоза в детска възраст

Въз основа на проведените от нас изследвания предлагаме следната схема на поведение при ГК според вида на инфекцията и изолирания причинител, приложима в клиничната практика:





V. ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от проведените изследвания при деца и подрастващи с Т1Д доказват, че инфекциите на пикочните пътища и гениталиите при Т1Д са сериозен здравен проблем не само в зрялата възраст, но и в детството. При почти половината от изследваните деца се доказва наличие на инфекция в пикочните пътища или гениталния тракт, което потвърждава значението на диабета като рисков фактор във всички възрасти. По-често се засяга гениталната система. Сред доказаните причинители преобладават гъбичните спрямо бактериални патогени.

Инфекциите на пикочните пътища се доказват с неголяма честота – 13%. Намерената от нас честота е малко по-висока от тази при здрави деца – 8% при момичета и 2% при момчета [254]. В медицинската литература подобни проучвания на ИПП при децата с диабет са ограничени, което не дава възможност за съпоставка с установената от нас честота. Проспективно проучване при деца с Т1Д и контроли провеждат Roovazhagi и съавт. (2011г.), които съобщават за инфекции при 46,2% от децата с диабет със сигнификантно превалиране на инфекциите на меките тъкани и тези на пикочните пътища [213]. Повече данни намерихме за възрастта над 18г, според които пациентите с диабет са изложени на два пъти по-голям риск от развитие на ИПП в сравнение с недиабетиците, при увеличаваща се с възрастта честота. По данни на различни автори честотата в зрялата възраст варира между 20-30% и нараства с влошаване на диабетния контрол до 35% [155, 239].

В нашето проучване се установява, че клиничната изява на ИПП при повече от половината изследвани деца с Т1Д е под формата на асимптомна бактериурия. Тези резултати съвпадат напълно с литературните данни за превалиране на АСБ пред симптоматичната изява с цистит или пиелонефрит при пациентите с диабет [120]. Противоречиви са становищата относно прогнозата за изхода от АСБ. Според някои автори, без да се лекува, тя протича без усложнения със спонтанно излекуване [114]. Според други автори, АСБ при пациентите с лошо контролиран диабет прогресира до пиелонефрит с хроничен ход [120].

По нашите данни клинична изява със симптоми се доказва при всяко трето изследвано дете с ИПП и диабет. Най-често се наблюдават дизурия, промяна в цвета на урината, лумбална болка, олигурия и много рядко фебрилитет. Според литературните данни именно тази констелация от

клинични симптоми е характерна за ИПП при пациентите с диабет [114, 120, 131].

Проведените от нас микробиологични изследвания на урина доказват бактериалната флора като основен причинител на ИПП. Литературните данни посочват грам негативната *E. coli* като най-често изолирания патоген за всички възрасти в общата популация, включително и сред пациентите с диабет [40, 114], което не съвпада с нашите резултати. При половината деца ние изолирахме като причинител грам позитивни бактерии с представители *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis* и *Staphylococcus aureus*. Други автори също съобщават за превалиране на Грам+ бактерии. Rózsai и сътр. (2003) изолират в *Str. agalactiae* и *Ent. faecalis* при над три четвърти от изследваните от тях деца с Т1Д и АСБ [230]. Saleem и сътр. (2011) доказват *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus faecalis* като най-чести причинители на ИПП сред възрастни пациенти с Т1Д и Т2Д с нисък социален статус [232].

Инфекции на гениталиите се установяват по-често от ИПП и засягат около една трета от всички изследвани деца с Т1Д. Те се изявяват клинично като баланит у момчетата или вулвовагинит у момичетата. Нашите резултати са в унисон с литературните данни, според които честотата на гениталните инфекции нараства с възрастта от 42,8% при деца [161], 46% при млади жени [104] и 80% за възрастта над 50 години [62].

Клиничната картина на вулвовагинит или баланит е представена от хиперемия и едем на гениталната мукоза, придружени от сърбеж, дизурия и наличие на патологичен секрет тип „пресечено мляко”. Според литературни данни клинично проявените ГИ се асоциират с влошен метаболитен контрол, а често могат да бъдат и първата изява при старта на диабет със забавена диагноза [218, 227].

Микробиологичните резултати от секрети на външни гениталии доказват гъбичките от род *Candida* като най-чести причинители на ГИ сред изследваните от нас деца с Т1Д. При близо една трета от тях се изолира *C. albicans*, следвана от non-*albicans* видовете *C. tropicalis*, *C. krusei* и *C. glabrata*. Установената от нас етиологична структура на ГК кореспондира с литературните данни, според които *C. albicans* е най-честият причинител на ГИ както при деца с диабет, така и при здрави контроли. Проучвания от последното десетилетие показва обаче тенденция за промяна в

епидемиологията на ГК с нарастваща честота на non-albicans инфекциите [32, 37, 54].

Доминиращата честота на ГК, причинена от *C. albicans* би могла да се обясни с наличната колонизация с *C. albicans* в лигавицата и на здравите индивиди, както и със специфичните вирулентни фактори на тази гъбичка [133, 263]. Доказано е, че в условията на хронична хипергликемия се индуцира производството на модифицирани протеини от гъбичката, които се свързват с С3-фракцията на комплемента. В резултат на това С3 не разпознава *C. albicans* като патоген, блокира се фагоцитозата и се създават условия за развитие на инфекция [123].

Някои проучвания сочат, че ГИ при пациенти с Т1Д могат да бъдат причинени от бактериални патогени или от смесена флора от кандида, асоциирана предимно с грам позитивни бактерии [72, 169]. В потвърждение на това и ние изолирахме бактериален причинител от гениталиите на всяко четвърто дете с Т1Д и ГИ. Съчетанието на гъбички с Грам+ бактерии не е често срещана находка в изследваната от нас кохорта.

Нашите резултати показват, че ИПП и ГИ преобладават сигнификантно при женския пол в настоящето изследване. Това съвпада с данните от други подобни проучвания за по-висока честота на инфекции на гениталиите и пикочните пътища при жените [2, 8, 87]. Редица публикувани студии са доказали достоверно по-честата изява на ИПП сред женския пол. В метаанализ Renko и съавт. (2011) доказват, че АСБ е 2 пъти по-честа сред жените с диабет [224], а Воуко и съавт. (2002) потвърждават тази тенденция за симптомните ИПП – цистит и пиелонефрит, като отчитат увеличаването им при напредване на възрастта и при бременни с диабет [55].

В предишно проучване сред момичета с Т1Д в Плевенски регион Петрова и сътр. (2004г.) установяват наличието на ГИ в по-висока от настоящата честота - 76,7% (кандидозен вулвовагинит при 62,8% и бактериален при 13,9%) [21]. Близки до тези резултати съобщават и Генова и сътр., 1997 от подобно проучване сред български деца през 90те години [7]. По данни на Ч. Петрова (2005г.) при 31,8% от момчетата с ГК е установена постбаланитна фимоза, наложила оперативно лечение [20]. В нашата кохорта това усложнение на ГК не се наблюдава. Също така не се установяват и други локализации на кандидоза извън УГТ. Сnižаването на честотата на ГИ би могло да се свърже със засиления скрининг и

активното им лечение от страна на детските едокринолози и подобряване на метаболитния контрол през последните 10 години. По-високата честота на инфекциите на УГТ при женския пол се свързва с някои анатомични особености като по-къса уретра и близкото разположение на външните гениталии до аналната област при момичетата [57]. Разпространението на инфекцията може да се благоприятства допълнително от неправилните хигиенни навици, носенето на тясно бельо от изкуствена материя и употребата на ароматизирани козметични продукти [15, 10, 57].

Анализът на възрастовите данни при изследваната от нас популация показва статистически значимо по-висока честота на инфекциите на пикочните пътища и гениталиите по време на пубертета. Според някои автори ИПП зачестяват при полово активните девойки в пубертетния период с пик при бременни и постменопаузални диабетички. (Saleem, Valachadar) Нашите резултати за ГК съвпадат напълно с данните от литературата за по-чести кандидозни вулвовагинити при девойките и жените в зряла възраст с диабет [32, 87, 156]. Например Atabec и сътр. (2013) установяват вагинална колонизация с кандида при 39% от изследваните от тях момичета в пубертета, честота близка до нашата [37].

Редица проучвания представят данни, че пубертетът сам по себе си е рисков фактор за развитие на всички диабетни усложнения. Известен факт е, че през пубертетния период в резултат на физиологична инсулинова резистентност обикновено настъпва влошаване в метаболитния контрол. Главна роля в този процес има повишената секреция на контраинсуларните хормони: кортизолът, растежният хормон и половите стероиди [105]. Доказано е, че при момичетата има по-голяма вероятност да се развият ранни или късни усложнения спрямо момчетата, тъй като през този период от живота си девойките са по-склонни към рязко покачване на телесното тегло, което допълнително увеличава риска за възникване на ГИ [69]. Освен тези физиологични процеси по време на пубертета се наблюдават и психологични промени. Не маловажен е и фактът, че в този период от живота си голяма част от момичетата започват сексуална активност. Всичко това може да доведе до намален комплайънс към лечението на диабета от страна на подрастващите пациенти и да влоши метаболитния им контрол [261].

Честотата на инфекциите на пикочните пътища и гениталиите сред нашите пациенти нараства незначимо с давността на заболяването, повече след третата година от откриването на диабета. Липсата на сигнификантна

връзка с изявата на инфекции на УГТ в случая би могла да се дължи на сравнително малката давност на диабета в изследваната от нас кохорта. От друга страна този период често съвпада с пубертета, което не позволява да се определи значението на давността като самостоятелен рисков фактор за развитие на ИПП и гениталиите при децата с диабет. Литературните данни сочат, че при пациенти с по-голямата давност на Т1Д се наблюдава зачестяване при инфекциите на УГТ. Доказано е, че честотата на АСБ се повишава 1,9 пъти с увеличаване давността на диабета над 10 години [40].

С резултатите от нашето проучване не установихме зависимост между честотата на инфекциите в УГТ с вида на инсулиновите препарати. Оказва се, че лечението с инсулинови аналози дава възможност за подобряване на диабетния контрол без повишаване на телесното тегло [109], но същевременно не се асоциира с по-нисък риск от развитие на инфекции в сравнение с лечението с конвенционален инсулин. В достъпните за нас източници не намерихме проучвания, анализиращи ролята на човешките и аналогови инсулини при диабет-асоциираните инфекции. В литературата има данни основно за връзката между инсулиновия режим и проявата на инфекции. Biotta и сътр. (2007) установяват по-висока честота на инфекциите при пациенти, хоспитализирани в интензивно отделение и лекувани с инсулин на конвенционален режим (42%) спрямо тези на интензифицирана терапия (27%; $p < 0,001$) [49].

Като рисков фактор за инфекции на УГТ, по-специално за ГИ, при децата с Т1Д в нашето изследване се доказва лошият дългосрочен метаболитен контрол, включително и преди диагнозата на Т1Д. При старта на диабета ИПП се диагностицират в единични случаи от изследваните деца, докато ГИ се установяват в близо половината от тях. В медицинската литература съществуват противоречиви мнения относно ролята на метаболитния контрол, но се смята, че продължителната хипергликемия и повишеното ниво на глюкоза в лигавиците благоприятстват адхезията и растежа на патогенните микроорганизми, като улесняват развитието на ГИ [32, 85, 87]. Съобщава се, че в условията на добър гликемичен контрол и нормогликемия честотата на ГИ значително намалява, с което се изтъква рисковата роля на хипергликемията, потвърдено при деца и от български автори [7]. Предполага се, че хроничната хипергликемия влошава функцията на неутрофилите, намалява фагоцитарните функции на полиморфонуклеарните клетки и понижава активността на

антиоксидантните системи. Редица проучвания доказват, че повишеното ниво на глюкоза в кръвта и лигавиците спомагат и за колонизирането с патологични микроорганизми от *Candida spp.* и благоприятстват адхезията на *E. coli* към уротела. [17, 19, 156].

През последните години в клиничната практика при лечението на диабета се въвеждат SGLT-2 инхибитори. Те повлияват фамилия глюкозни транспортери, по-специално Sodium Glucose Linked Transporter-2 (SGLT-2) – ко-транспортер за натрий/глюкозната реабсорбция в проксималния тубул, като чрез увеличена уринарна екскреция снижават кръвната глюкоза. С това се дава възможност за включване на бъбрека като потенциален терапевтичен таргет и то чрез инсулин-независим механизъм, но с повишен риск за уринарни инфекции [67]. Понастоящем има малко данни за приложението и действието им в детската възраст и това вероятно ще бъде обект на бъдещи проучвания.

С цел да се потърсят и други предразполагащи фактори към развитие на инфекции в условията на хронична хипергликемия и нарушени имунни механизми, каквито са налични при пациентите с Т1Д, проведохме целенасочени изследвания на някои от параметрите на хуморалния и клетъчен имунитет. В медицинската литература до момента има малък брой проучвания върху хуморалния имунитет при диабет. За детската възраст през последните години се съобщават данни от страните на Близкия изток и Индия при обхващане на малък брой деца от 20-25. Получените резултати са разнопосочни и засега няма категорично становище за промените в серумните имуноглобулини и протеините на комплемента С3 и С4 при състояние на хипергликемия и лечение с инсулин. Не е търсена пряка връзка с характерните инфекции при диабет. Проучвана е връзката с възрастта, ВМІ и някои адипоцитокени [33, 245].

Получените от нас резултати за средните стойности на IgG, IgA, IgM и С3 фракцията на комплемента при деца с Т1Д са в рамките на лабораторните референтни граници за проучваната възраст, но са разпределени предимно в долната им граница. Серумните нива на IgG и IgA при изследваните деца с диабет са значимо по-ниски спрямо контролите. Не установихме и значими различия за IgM и С3 при диабет в сравнение с децата без диабет. В подобни проучвания други автори също не намират съществени различия за IgG, IgA, IgM и С3 между Т1Д и контроли [33, 223].

За липса на достоверна разлика на серумните нива на IgG при диабетици и здрави контроли съобщават Singh и съавт. (2016) [245]. Z. Moazezi и съавт. (2014) не откриват значима разлика за IgG и IgM при пациенти на възраст от 15-30 г с Т1Д, но получените стойности също са по-ниски от здравите, което съвпада с нашите данни [185].

В литературата има и проучвания, в които се съобщава за понижени стойности на отделните класове имуноглобулини при диабет в сравнение със здрави лица. Някои автори съобщават за понижение само на IgG [103, 115, 255]. Понижение предимно на IgA до степен на дефицит е установено в по-ранни проучвания, проведени преди около 30 г [76, 243]. Има и автори, които намират понижение само на IgM [34]. По-ниски стойности на C3 при Т1Д се установяват от Dezayee и съавт. (2011г.) в проучване при 3 – 14 годишни пациенти с лош контрол и стойности на HbA_{1c}>11% [82].

При диабет, асоцииран с кандида, в нашето проучване се установява незначимо понижение в стойностите на всички изследвани имуноглобулини. Тези резултати не съвпадат с литературните данни, тъй като повечето автори намират повишение на IgA и IgM при диабет, което свързват с предходни инфекции [34, 102, 103, 129, 244]. Някои от тях изтъкват становището, че при патогенна инфекция имунната система при диабет не отстъпва функционално и реагира адекватно [96]. В скорошно проучване Singh (2016) намира повишен IgM при 23,1% от пациенти на възраст 8-33 г и предполага наличието на предходна инфекция, подобно на другите автори [245]. Това повишение на IgM при инфекции се асоциира със снижение на C3 в резултат на фиксирането му в хода на защитните имунологични процеси [88].

Серумните нива на C3 фракцията на комплемента се установяват сигнификантно по-високи при изследваните от нас деца с диабет, асоцииран с кандидоза в сравнение с децата без инфекция. По литературни данни синтезата на серумните протеини на комплемента C3 се увеличават в отговор на възпалителни заболявания и играят важна роля за индукция на специфичната памет както във вродения така и в адаптивния имуноен отговор [88]. Има доказателства, че дисрегулацията в системата на комплемента обяснява патогенезата и клиничната манифестация не само на инфекциите, но и на редица автоимунни заболявания [43, 68].

Общоприето е становището, че пациентите с Т1Д са много чувствителни към инфекции поради хроничната хипергликемия, но

механизмът на тази повишена честота все още не е добре проучен. Предразположението за индуциран от хипергликемията имунен дефицит остава неуточнен въпрос [123, 257]. В някои проучвания има установени дефекти, както в хуморалната така и в клетъчната функция при хипергликемия [99, 100, 192, 207]. Доказано е, че в условията на хронична хипергликемия фагоцитозата е блокирана [123], имунните комплекси не могат да бъдат елиминирани, а системата на комплемента се намира в хронична хиперактивация, което може да доведе до изчерпване на компонентите ѝ С3 и С4 [233]. Обратно, в други се установява, че серумните Ig и факторите на комплемента С3 и С4 на пациентите с Т1Д, лекувани с инсулин са близки до нормалните в сравнение със здравите деца [33]. С нашите резултати не се доказва пряка връзка и зависимост на серумните нива на Ig и С3 фракцията на комплемента с хроничната хипергликемия и стойностите на гликирания хемоглобин. Това кореспондира със становището, че хипергликемията не причинява реално отслабване на хуморалния и клетъчен клон на имунната система [160]. В тази насока авторите са на мнение, че е по-удачно да се използва термина нарушена имунореактивност при Т1Д, а не категорично да се приема и предполага имунен дефицит [185]. Специално в антимикотичния имунен отговор според досегашните проучвания се доказва участие предимно на Т лимфоцитите, НК-клетките (естествените убийци) и фагоцитозата, които са компонент на клетъчния имунитет. Въпреки това е доказано, че гъбите могат да индуцират и хуморален отговор чрез образуване на антитела [52, 147]. Бъдещи целенасочени проучвания върху клетъчния имунитет биха допълнили съществуващите неясноти за имунната реактивност в хода на инфекционните заболявания при Т1Д, включително и в детската възраст.

В медицинската литература на този етап има неголям брой проучвания относно клетъчния имунитет при диабет. През последните години се съобщават данни основно за параметрите му при Т2Д. Проучванията върху Т1Д са малко и предимно при пациенти над 18 години. Данните за промените в клетъчния имунитет при деца и юноши с инсулинозависим диабет са оскъдни и разнопосочни. Засега няма категорично становище за вариациите в серумните нива на лимфоцитните субпопулации при хипергликемия и в хода на инсулиновата терапия. Не е търсена пряка връзка с характерните инфекции при диабет. Проучвана е отчасти връзката с възрастта, пола и някои метаболитни параметри като адипоцитокени и триглицериди [178, 206].

Общоприето е броят на левкоцитите (WBC) да служи от една страна като маркер за наличието на възпаление, а от друга като предиктор за реактивността на организма срещу самото възпаление. В медицинската литература съществуват становища, че пациентите с диабет и лош метаболитен контрол са по-податливи на инфекция независимо от броя на белите им кръвни клетки [159].

Резултатите от нашето изследване не доказват статистическа разлика в стойностите на WBC и общите лимфоцитите при пациентите с Т1Д и контролите. Тези резултати са в унисон с изнесените данни от В. Menart-Houtermans и съавт. (2014), според които стойностите на левкоцити, лимфоцити и гранулоцити при пациенти с Т1Д не се различават от тези при здрави контроли, но са по-ниски спрямо стойностите им при пациенти с Т2Д. В същото проучване авторите не намират корелационна връзка между серумните нива на WBC, лимфоцитите, Th и Ts с диабетния контрол (HbA1c). [178]. Нашите резултати не съвпадат с тези данни относно контрола. Стойностите на WBC при изследваните от нас деца с лош контрол се доказват значимо по-високи спрямо групата с добър контрол. Подобни на нашите резултати за положителна корелация между броя на левкоцитите и нивото на HbA1c съобщават Oh и съавт. (2016), но при пациенти с Т2Д [201]. Повишените стойности на левкоцитите при нашите пациенти с лош контрол би могло да се дължат на значителния брой на деца с налична инфекция на пикочните пътища или гениталиите сред тази кохорта.

В световната литература няма единно становище относно това, кой от двата критерия - процентното съотношение на лимфоцитните субпопулации или абсолютния им брой, е по-информативен и с по-висока научна стойност. Изнасят се данни и с двата вида показатели. В настоящата работа изследваните параметри на клетъчния имунитет са представени както в проценти, така и в абсолютен брой. Забелязва се леко несъответствие в тенденциите, очертани от двете мерни единици, което се дължи на математическото превръщане от проценти в брой. В направеното обсъждане на получените от нас резултати приехме сравнението с данните за процентното съотношение от литературата.

Резултатите от нашето изследване не доказаха разлика между децата с Т1Д и контролите при общите T-Ly (CD3+) и Ts (CD8+), както и при относителният дял на Th (CD4+). Не доказахме връзка и между

стойностите на изследваните лимфоцитни субпопулации и гликирания хемоглобин. Също така, не се доказва достоверно намаление на съотношението Th/Ts, като критерий за имунна дисфункция, при изследваните от нас деца с Т1Д спрямо контролите. Това дава основание да се предполага, че имунният баланс при Т1Д като аутоимунно заболяване е запазен, което съвпада със становището и на други автори [178]. При диабет, асоцииран с кандидата, в нашето проучване не намерихме значимо понижение в стойностите на левкоцитите, лимфоцитите, Th (CD4+) и съотношението Th/Ts. Тези резултати съвпадат с данните от някои предишни проучвания, но противоречат на други.

Ibrahim W. и съавт. (2008) също като нас не установяват значима разлика в стойностите на **Th (CD4+)** и съотношението **Th/Ts** при деца с новооткрит Т1Д спрямо контроли. Те обаче доказват сигнификантно понижение на Ts (CD8+) при децата с новооткрит диабет [127]. Този феномен би могъл да бъде обяснен с мигрирането на Ts (CD8+) от периферна кръв към панкреасните острови, където се установяват във високи нива по време на инсулита и в началото на заболяването [83, 127].

В по-ранно проучване Milicevic и съавт. (2004) също не доказват разлика в нивата на Th (CD4+) и Ts (CD8+) при Т1Д и контроли [183].

Pedicino и съавт. (2013) подобно на нашите резултати не установяват разлика в стойностите на общите T-Ly (CD3+) и Th (CD4+) при пациенти с Т1Д спрямо контроли. В своето проучване те доказват понижен относителен дял на регулаторните T клетки (Treg) и повишен на специфичен субклас T-хелпери - CD4+CD28^{null}, с което асоциират повишения риск от макроваскуларни усложнения при диабет [206].

В литературата се срещат и твърдения, че при новооткрит диабет поради липса на лечение се наблюдава рязка лимфопения, последвана от T клетъчна пролиферация, а продължителната хипергликемия и влошеният метаболитен контрол засилват миграцията на имунните клетки към панкреаса [95, 127].

Резултатите от нашите изследвания показват намаление на общите B-Ly и NK клетки при децата с Т1Д в сравнение с контролите, независимо от нивото на гликемичния контрол. При пациентите с диабет, асоцииран с кандидозна инфекция, тази тенденция на редуциране на имунокомпетентните клетки продължава да се засилва .

Тези данни частично съвпадат с изследванията на Fitas и съавт. (2016), които подобно на нас установяват значимо понижение на НК клетките при новооткрит Т1Д, но за разлика от нашите резултати доказват сигнификантно повишени стойности на Т и В-Лу [127]. При стимул от антиген В лимфоцитите съзряват в плазматични клетки и стартират образуването на антитела (имуноглобулини) [246]. Доказаните от нас значимо понижени стойности на общите В-Лу обясняват тенденцията за по-ниски стойности на серумните имуноглобулини при изследваните от деца с Т1Д, дори когато е асоцииран с кандидоза.

Счита се, че НК клетките участват активно в контрола на автоимунните заболявания. По литературни данни при диабет, астма и др. се наблюдават промени както в количеството, така и във функцията на циркулиращите в периферната кръв НК клетки. Установени са редукция в броя им и потисната цитотоксичност при Т1Д, които според едни автори са транзиторни, а според други – необратими [86, 172]. Допуска се, че те намаляват в периферната кръв поради миграцията им към панкреаса. Някои автори обаче доказват увеличението им в панкреасната тъкан на пациентите с инсулинозависим диабет само по време на предхождаща остра вирусна инфекция, водеща до инсулит [86, 113]. Dotta (2008) и съавт. съобщават за значителна инфилтрация с НК клетки на панкреасните острови при пациенти с Т1Д и ентеровирусна инфекция [86].

Qin и съавт. (2011) подобно на нас установяват сигнификантно намалени нива на НК клетките в периферна кръв на деца с Т1Д спрямо здрави контроли. Намерените от тях стойности ($4,18 \pm 1,66\%$ за Т1Д и $6,58 \pm 2,93\%$ за контролите; $p < 0,0005$) са по-ниски от нашите, което може да се обясни с по-малката средна възраст на изследваните деца ($9,3 \pm 4,5$ г.) и съответстващите ѝ референтни норми. Същите автори не установяват значима разлика в относителните дялове на Th (CD4+), Ts (CD8+) и В-Лу [216].

Разнопосочни са резултатите от подобни проучвания в края на 90те години на миналия век. Повечето автори също установяват редукция в относителния дял на НК клетките в периферна кръв на пациенти с Т1Д [66, 112, 125, 280], но някои не намират разлика в параметрите им при диабетици и контроли [118, 236]. Противоречивите данни намират обяснение в различната и нестандартизирана методология, използвана от изследователите.

НК клетките от една страна могат пряко да ускорят изявата на автоимунните заболявания вкл. Т1Д, унищожавайки собствени клетки и тъкани или от друга – косвено да повлияят адаптивния имунитет като стимулират производството на АТ (Ig) [226]. Би могло да се предположи, че доказаните от нас понижени стойности на НК клетки при изследваните деца с Т1Д имат отношение към по-ниските нива на имуноглобулиновите им класове спрямо здравите контроли.

В медицинската литература се срещат съобщения за възможен имунен дефицит както при деца с ранно начало на Т1Д така и при възрастни с дълга давност на заболяването [119, 180, 186]. Резултатите от нашето изследване добавят данни за известна недостатъчност в параметрите на хуморалния и клетъчния имунитет, но със запазена реактивност от страна на имунния отговор при пациентите с Т1Д.

С оглед на това се направи индивидуален анализ на пет клинични случаи с хронично-рецидивиращ ход на ГК. При всеки един от анализиранияте пациенти се установяват понижени стойности на поне два от изследваните параметри - предимно в клетъчния имунитет и не винаги в комбинация с промени в хуморалния имунитет.

В клиничната практика доброто познаване на рисковите фактори дава възможност за профилактика на диабет-асоцираните инфекции. С настоящето проучване се цели да се засили вниманието на ОПЛ, педиатри и детски ендокринолози към ранна диагностика на инфекциите на пикочните пътища и гениталиите, особено при девоите с диабет. Възникването им дава косвена информация за влошеното състояние на диабетния контрол. Тяхното своевременно лечение осигурява възможност за превенция на хронифицирането им и би повлияло положително прогнозата на диабета.

Лечението на изследваните деца с Т1Д и доказана бактериална ИПП се проведе според антибиограма с продължителност и доза на антибактериалния препарат съобразно препоръките за лечение на уринарни инфекции [1, 106]. Оздравителният процес при диабетичите не показва разлика от този при контролите. Децата със симптомна ИПП се възстановиха в общоприетите срокове, а при тези с АСБ урината не показва растеж след обичаен курс с уросептик. Изходът от бактериалните ИПП при нашите пациенти съответства на данните от

медицинската литература за положителен ефект на стандартната терапия за инфекции на отделителната система при диабетици [98].

Лечението на кандидозните ИПП се проведе според препоръките в медицинската литература. Подобно на другите изследователи не постигнахме излекуването само на инфекцията, причинена от *C. krusei* [114].

Гениталните инфекции при децата с Т1Д се лекуваха според микробиологичния причинител и поредността на рецидива като за бактериалните се приложи локална терапия според антибиограма, а за гъбичните - предварително уточнена от нас схема. Локалното третиране се оказва недостатъчно ефективно при наличие на придружаваща кандидурия или инфекция с non-albicans видове. В литературата се съобщава, че влагалищните глобули и кремове не проникват достатъчно дълбоко в гениталния тракт, не действат срещу всички видове кандида, а поставянето им при деца понякога е затруднено. Добра резорбция с достигане по кръвен път в дълбоките слоеве на гениталната мукоза и ефективност спрямо по-голямата част кандиди показват пероралните антимиотични препарати. Нашите резултати потвърдиха добрия ефект на еднократна перорална доза Fluconazole от 150 мг [23, 15, 54].

Изчезване на клиничните симптоми с ирадикиране на причинителя се наблюдава при 90% от лекуваните локално с 1% Clotrimazole крем от нас деца с Т1Д, асоцииран с първи епизод на остра ГК без кандидурия. Тези резултати съвпадат с известните в литературата данни [36, 54]. Stary и съавт. (1996) за еднаквата успеваемост на локалното лечение с Clotrimazole (92% редуцирана симптоматика и 78% стерилизиране на секрет) и на еднократна перорална доза Fluconazole от 150 мг (91% редуцирана симптоматика и 83 % стерилизиране на секрет) при мъже с диабет и остра ГК [250]. При жените с диабет не се доказва превъзходството на оралната терапия пред локалната при лечението на остра неусложнена вулвовагинална кандидоза [26]. Предимство на оралното лечение се дава при non-albicans причинители или при рецидивирание на симптоматиката [36, 54].

Излекуване на рекурентна ГК, съчетана с кандидурия, постигнахме с комбинация от локално приложение на 1% Clotrimazole крем и еднократна перорална доза Fluconazole от 150 мг при над две трети от нашите пациенти, включително и при изолирани non-albicans кандиди. Sobel и съавт. (2004) също доказват ефикасността на пероралния Fluconazole при

рекурентна ГК като установяват симптоматично подобрене при над 90% от изследваните пациенти. Съобщават се данни за безопасността му при по-продължителен прием [247]. Навлизането в клиничната практика през последните години на пробиотици и имуномодулатори с противогъбично действие дава допълнителна възможност за по-успешно лечение на рецидивираща и системна кандидоза.

В заключение като обобщение на получените резултати, може да се изтъкне, че инфекциите на УГТ при Т1Д имат преобладаваща локализация в гениталната система и се причиняват главно от гъбички. Те са сериозен здравен проблем още от детската възраст и често могат да бъдат първи клиничен признак на заболяването. Като основни рискови фактори в детството се доказват лошият дългосрочен метаболитен контрол, женският пол и пубертетната възраст. Наблюдават се и дискретни промени в някои от параметрите на хуморалния и клетъчния имунитет, което би могло да предположи наличието на по-голям риск от имунна дисфункция като терен за кандидоза и други диабет-асоциирани инфекции.

VI. ИЗВОДИ

1. Инфекциите на пикочните пътища и гениталиите са сериозен здравен проблем не само при възрастните, но и в детско-юношеската възраст и засягат близо половината от изследваните деца с Т1Д – 48%, като преобладава локализацията в гениталната система.
2. Основни патогени при ИПП за децата с Т1Д са Грам+ бактериите, а ГИ се причиняват основно от гъбички от род *Candida*, най-често *C. albicans*.
3. Най-честата изява на ИПП при Т1Д е асимптомна бактериурия. Клиничната картина на симптомните ИПП не се различава от тази при недиабетиците. ГИ се изявява с хиперемия и едем на гениталната мукоза, сърбеж и дизурия. Наличието на патологичен секрет не е задължително.
4. Като основни рискови фактори за ИПП и ГИ се доказват женският пол, пубертетният стадий и лошият метаболитен контрол. Установява се положителна корелация между стойностите на гликирания хемоглобин и честотата на ГИ. Видът на прилагания инсулин не и давността на диабета не са значим рискови фактор за инфекции на УГТ.
5. Не се установяват нарушения в хуморалния имунитет при изследваните деца с Т1Д като предпоставка за инфекции. Стойностите на изследваните общи серумни имуноглобулини и С3- фракция на комплемента при Т1Д се доказват в долните граници на референтните норми, значимо снижени за IgA и IgG спрямо здравите контроли.
6. При клетъчния имунитет се доказват значими отклонения при В-Ly и НК клетките и не се доказват при Т-Ly. Не се установяват разлики в относителните дялове на левкоцитите, лимфоцитите и лимфоцитните субпопулации – общи Т-Ly (CD3+), Т-хелпери (CD4+), Т-супресори (CD8+); както и в съотношението CD4+/ CD8+ между пациентите с Т1Д и контроли. Доказва се значимо понижение в серумните нива на общите В-Ly и общите НК клетки при Т1Д спрямо контролите.

7. Не се установява корелационна зависимост между изследваните параметри на хуморалния и клетъчния имунитет с давността на диабета и метаболитния му контрол, освен повишение на левкоцитите при лош контрол.
8. При диабет асоцииран с кандида значимо нарастват стойностите на С3-фракцията на комплемента като обичаен отговор при инфекции, докато стойностите на IgG, IgM и IgA показват по-изразена тенденция за редуциране. Не се доказват статистически значими отклонения при стойностите на левкоцити, лимфоцити и лимфоцитни субпопулации.
9. Адекватното и своевременно лечение на ИПП и ГК при Т1Д в детско-юношеската възраст води до оздравяване при отсъствие на други медико-социални фактори, което доказва нуждата от задължителен скрининг за инфекции на УГТ както при амбулаторни прегледи, така и при хоспитализация.

VII. ПРИНОСИ

Приноси с научен и оригинален характер

1. Проведеното проучване е първото комплексно изследване за установяване честотата на инфекциите на пикочните пътища и гениталиите при Т1Д в детско-юношеската възраст у нас, с което се потвърждава широко им разпространение с доминиране на ГИ спрямо ИПП.
2. Добавят се научни данни, потвърждаващи, че най-честата диабет-асоциирана инфекция при българските деца е гениталната кандидоза.
3. Проучва се подробно микробиологичната структура на инфекциите на пикочните пътища и гениталиите при Т1Д, като се потвърждава водещото значение на гъбичните патогени от род *Candida*, с преобладаване на *Candida albicans*, като причинител на ГИ при българските деца.
4. За пръв път комплексно се анализират основните рискови фактори за възникване на ИПП и ГИ при български деца и юноши с Т1Д. Потвърждава се сигнификантната роля на пола, пубертетния стадий и метаболитния контрол.
5. Определени са серумните концентрации на имуноглобулини, С3 фракция на комплемента и някои параметри на клетъчния имунитет при деца с Т1Д с цел да се потърсят отклонения като предпоставка за развитие на диабет-асоциираните инфекции. Получените резултати са първите данни в българската литература за имунологични показатели при деца с диабет.

Приноси с приложен характер

1. С настоящия труд се засилва вниманието на педиатри, ОПЛ и педиатри – ендокринолози към широкото разпространение на инфекциите в УГТ при пациентите с диабет още в детско-юношеската възраст, което налага изследването на гениталния статус да бъде задължителна част от физикалния преглед.
2. Доказва се необходимостта от микробиологичен скрининг на урина и секрет от гениталии при данни за възпалителни промени от физикалния преглед на децата с Т1Д.
3. За клиничната практика се предлага диагностично-терапевтичен алгоритъм на поведение при диабет-асоциирани инфекции в УГТ и препоръки за профилактични мерки с цел превенция на хронично-рецидивиращ ход.
4. Намерените отклонения в хуморалния и клетъчен имунитет при деца след диагнозата, дават основание за бъдещи целенасочени проучвания за по-детайлно изясняване на имунния статус в еволюцията на Т1Д и промените в хода на диабет-асоциираните инфекции.

VIII. СПИСЪК С ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ПРОЯВИ

- **Elkina S.**, V. Popova, Ch. Petrova, V. Botsova. *Frequency and etiological distribution of genital infections in children with type 1 diabetes. SSM, 2014, 3: 31-34*
- **Елкина С.**, Ч. Петрова. *Роля на чревната флора в имунорегулаторните механизми, участващи в патогенезата и протичането на диабет тип 1. Педиатрия, 2014, 2: 42-44 стр.*
- **Елкина Ст.**, Ч. Петрова, В. Боцова, В. Недкова, И. Халваджиян, Н. Кръстева, В. Попова *Инфекции на гениталиите при диабет тип 1 – основни рискови фактори в детска възраст. Педиатрия, 2016, 2: 12-15*

- **Elkina S.M.**, V. Popova, Ch. Petrova, V. Botsova, N. Krasteva, V. Nedkova *Vulvovaginal candidiasis in girls with type 1 diabetes, XIIth MDSC, Pleven 2014, Abstract book: 62*
- **Elkina S.**, Ch. Petrova, V. Botsova, V. Popova *Our experience in treatment of vulvovaginal candidiasis in girls with Type 1 diabetes JBCR, 2014, vol 7(1), supp. 1; 63*
- **Elkina S.M.**, Blajeva S.O., Petrova Ch.K., Russeva B.K., Botsova V Tsv., Krasteva N.A., Halvadzhiyan I.B. *Cell-mediated immunological parameters in diabetic children with genital candidiasis, XIIIth MDSC, Pleven 2015, Abstract book: 132-133*
- **Elkina S.**, B. Ruseva, Ch. Petrova, Sv. Blajeva, V. Botzova, I. Halvadzhiyan, N. Krasteva *Are children with Type 1 diabetes immunodeficient? Archives de l'Union Médicale Balkanique, Suppl 1 (2016): 84-85 (The 34th Balkan Medical Week 7-8 Oct 2016, Bucharest, Romania)*
- **Елкина С.**, С. Блажева, Ч. Петрова, И. Халваджиян, В. Боцова, Н. Кръстева *Имунологичен статус при деца с диабет тип 1 XIII Национален конгрес по педиатрия с международно участие, 28-31 май 2015, Несебър, България – постер*