

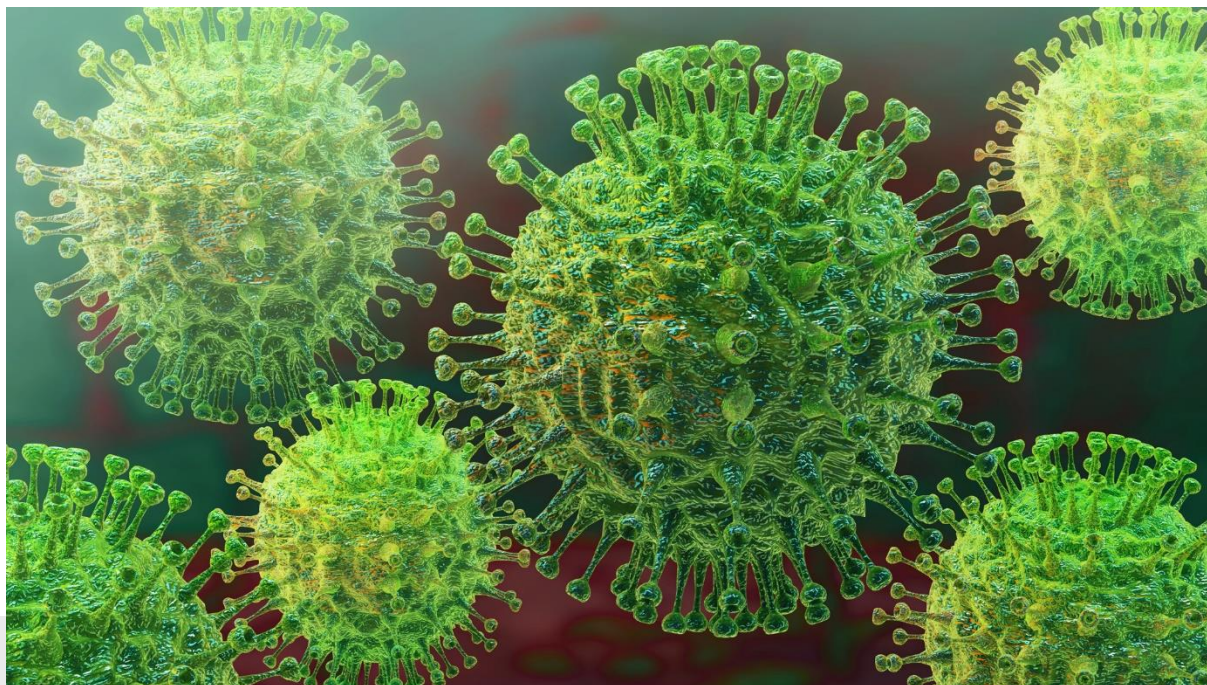


دانشگاه علوم پزشکی
وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی
دانشکده پزشکی



جمهوری اسلامی ایران
وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

پاسخ های ایمنی در کرونا ویروس ۲۰۱۹



۱۵ اسفند ۱۳۹۸

کارگروه علمی پیشگیری و کنترل کووید ۱۹

دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دانشکده پزشکی

الحمد لله
الذي هدانا لهذا
ما كنا لنهتدي لولا
أن هدانا الله

پدیدآورندگان:

دکتر بهزاد برادران دکترای تخصصی ایمنی شناسی عضو هیئت علمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دکتر پرینا لطفی نژاد

افشین درخشانی



پاسخ‌های ایمنی در کرونا ویروس ۲۰۱۹ COVID-19

دانشگاه علوم پزشکی تبریز
کارگروه علمی پیشگیری و کنترل COVID-19

۱۵ اسفند ۱۳۹۸



و $TNF\alpha$ در بیماران مبتلا به COVID-19 مشاهده شد. این یافته ها که مطابق با SARS و MERS است نشان می دهد که حضور لنفوپنی و "طوفان سایتوکایینی" ممکن است نقش مهمی در پاتوژنز COVID-19 داشته باشد. این به اصطلاح "طوفان سایتوکایینی" می تواند آغازگر عفونت ویروسی و آسیب ریه ناشی از التهاب باشد که منجر به عوارض دیگری می شود از جمله پنومونی، سندرم دیسترس تنفسی حاد (ARDS)، نارسایی تنفسی، شوک، نارسایی اندام و نهایتاً در برخی موارد مرگ را منجر می شود که اتوپسی یا بیوپسی برای درک جزئیات بیشتر در مورد این بیماری ضروری است.

پاسخ های ایمنی ذاتی در برابر ویروس COVID-19

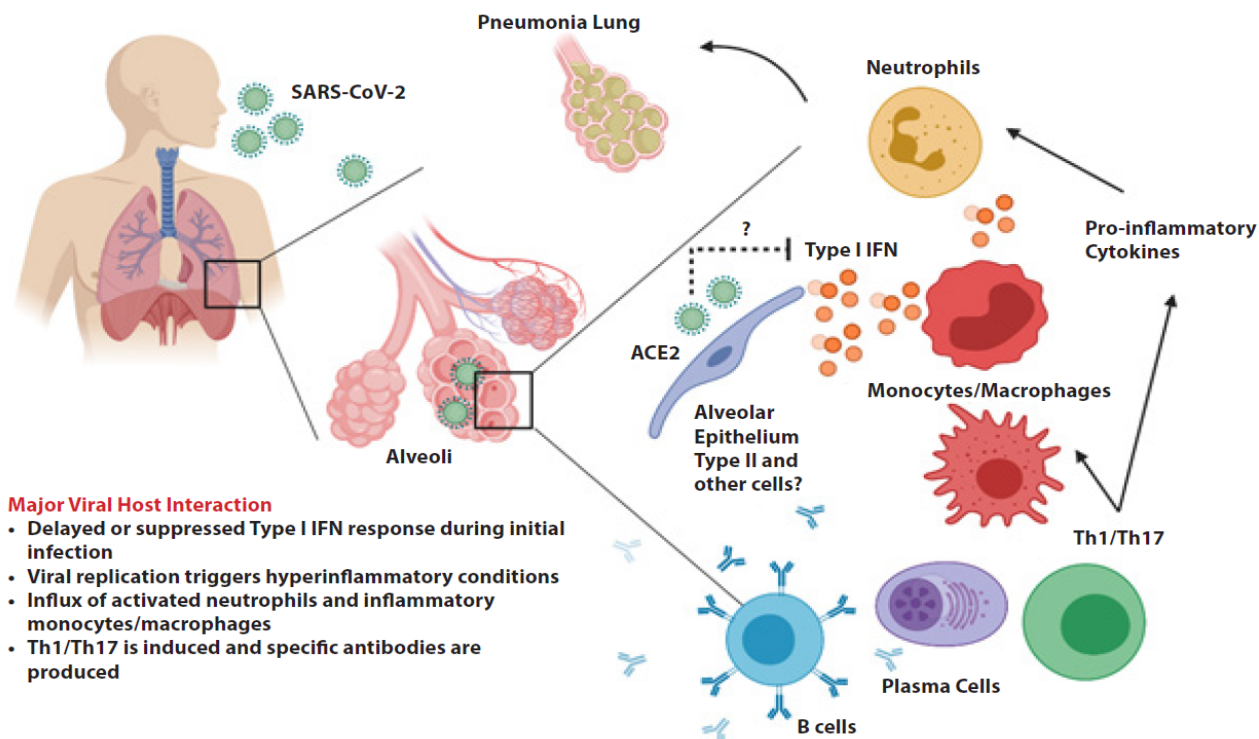
در حال حاضر، اطلاعات محدودی در مورد وضعیت ایمنی ذاتی بیماران مبتلا به SARS-CoV-2 میزبان در دسترس است. در یک گزارش که 99 مورد در ووهان مورد بررسی قرار گرفت، افزایش نوتروفیل (38٪)، کاهش لنفوسیتها (35٪)، افزایش IL-6 سرم (52٪) و افزایش CRP (84٪) مشاهده شد. علاوه بر این، بیمارانی که به مراقبت های ویژه ای (ICU) نیاز دارند، سطح پلاسمایی بیشتری در بسیاری از سایتوکاین های ذاتی همچون MIP-1A، MCP-1، IP-10 و $TNF\alpha$ داشتند. این ویژگی های بالینی احتمال وجود شرایط التهابی را در پیشرفت و شدت بیماری نشان می دهد. این افزایش زودرس سطح سرمی سایتوکاین های ضد التهابی نیز در عفونت های SARS-CoV و MERS-CoV مشاهده شد. رسپتور ACE2، که ویروس COVID-19، از آن برای ورود به سلول میزبان استفاده می کند عمدتاً در یک زیر مجموعه کوچک از سلولهای موجود در ریه به نام سلولهای آلوئول نوع 2 (type 2 alveolar cells) بیان می شود. تنها درصد کمی از مونوسیت ها / ماکروفاژها در ریه ACE2 را بیان می کنند. باتوجه به اینکه ACE2

در سال های 2002 و 2003 توسط ویروس مولد سارس Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) و در سال 2011 توسط ویروس مرس Middle East Respiratory Syndrome (MERS)، شیوع عفونت ویروس کرونا در دنیا گزارش شد. در پایان سال 2019 شیوع دیگری که در آن کروناویروس باعث بیماری تنفسی می شود در ووهان، هوبی، چین گزارش شد، بیماری ای که "Corona Virus Disease 2019; COVID-19" نامیده می شود. از نظر توالی ژنومی، ویروس COVID-19 مشابه SARS-CoV و MERS-CoV، اما در برخی نقاط از سایر ویروس های خانواده کرونا مجزا است.

ماه ها و شاید سال ها زمان نیاز است تا تصویری کامل از خصوصیات پاتوژن ها و منشأ احتمالی آن ها، علائم و پاسخ ایمنی میزبان برای مبارزه با عفونت را شناسایی کنیم. از آنجا که ویروس تازه شناخته شده ی COVID-19 از نظر تشابه، ارتباط نزدیکی با SARS-CoV و MERS-CoV دارد و همچنین بر اساس داده های بالینی و تجربی که در مورد ویروس های قبلی داریم، می توان پیش بینی نمود که چگونه سیستم ایمنی بدن میزبان با این ویروس خاص مقابله می کند و چگونه ویروس ممکن است از پاسخ های ایمنی میزبان فرار کند.

ایمونوپاتولوژی COVID-19

بیماران دچار تب، سرفه، خستگی، گلودرد، لنفوپنی و پنومونی، تنگی نفس در 20 تا 25 درصد موارد اسهال می شوند. علاوه بر این در مطالعه ای بر روی 41 بیمار بستری شده سطح بالای سایتوکاین های التهابی شامل IL-2، IL-7، IL-10، G-CSF، IP-10، MCP-1، MIP-1A



به طور کلی، پاسخ ایمنی از نوع Th1 نقش مهمی در ایمنی اکتسابی علیه عفونت های ویروسی دارد. سایتوکاین های ایجاد شده توسط سلول های ارائه دهنده آنتی ژن، پاسخ سلول T را رهبری می کنند. سلول های T کمکی به طور کلی با تولید سایتوکاین پاسخ های ایمنی اکتسابی را پیش می برند، در حالی که سلول های T سایتوتوکسیک در کشتن سلول های آلوده به ویروسی ضروری هستند. پاسخ ایمنی هومورال، به خصوص تولید آنتی بادی خنثی کننده، با محدود کردن عفونت در مرحله بعدی نقش محافظتی ایفا می کند و از جلوگیری مجدد در آینده جلوگیری می کند. عفونت با SARS-CoV باعث seroconversion در اوایل روز چهارم پس از شروع بیماری می شود و تا 14 روز در بیشتر بیماران مشاهده شده بود. IgG اختصاصی با ماندگاری طولانی و آنتی بادی خنثی کننده تا 2 سال پس از عفونت گزارش شده است ولی در مورد عفونت، MERS-CoV، seroconversion در هفته دوم یا سوم شروع بیماری مشاهده شده و در کل در رابطه با هر دو نوع عفونت کروناویروس، تأخیر و پاسخ ضعیف آنتی بادی با پیامد

تعداد محدودی از سلول های ایمنی هدف بیان می شود، ممکن است که گیرنده های دیگری نیز وجود داشته باشند، یا راه های ورود دیگری به سلول برای ویروس وجود داشته باشد که می توان به antibody-dependent enhancement اشاره کرد (شکل 1). برای پاسخ ضد ویروسی در ایمنی ذاتی، سلول های ایمنی ذاتی اغلب از الگوهای مولکولی پاتوژن (PAMPs) استفاده می کنند. برای ویروس هایی که اسید نوکلئیک آنها RNA است مانند coronavirus، مشخص شده که PAMP ها به واسطه گیرنده هایی همچون TLR3 و TLR7 و سنسور RNA سیتوزولی، RIG-I / MDA5 شناسایی می شوند که این شناسایی منجر به فعال شدن آبشار سیگنالینگ پایین دست، یعنی NF-KB و IRF3 می شود.

پاسخ های ایمنی اکتسابی در برابر ویروس COVID-19

COVID-19 به طور بالقوه شبیه به SARS-CoV و MERS-CoV است. مکانیسم چگونگی تعدیل پاسخ ایمنی میزبان توسط SARS-CoV و MERS-CoV به طور گسترده مورد بررسی و بحث قرار گرفته است (شکل ۲).

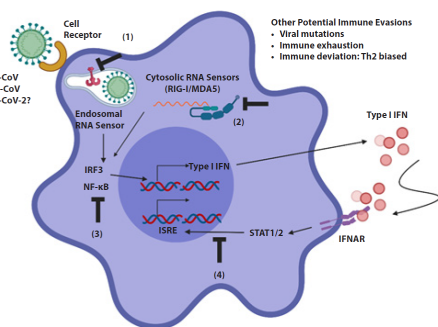


Figure 3. Potential immune evasion mechanisms shared by SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2. Coronaviruses interfere with multiple steps during initial innate immune response, including RNA sensing (1 and 2), signaling pathway of type I IFN production (3), STAT1/2 activation downstream of IFN/IFNAR (4) as indicated by suppressive marks. This delayed or dampening type I IFN responses impinge upon adaptive immune activation. Prolonged viral persistence exacerbates inflammatory responses that may lead to immune exhaustion and immune suppression as a feedback regulatory mechanism. Biased Th2 type response also favors poor outcome of the disease.

شکل ۲. مکانیسم های ایمنی زایی و فرار ایمنی توسط ویروس کرونا

بیشتر مکانیسم های فرار مربوط به مهار پاسخ های ایمنی ذاتی، به ویژه تشخیص و سیگنالینگ اینترفرون نوع I می باشد. پروتئین های ویروسی شامل پروتئین های غشایی (M) یا غیر ساختاری (NS) nonstructural (مانند NS4a، NS4b، NS15) مولکول های اصلی در تعدیل و یا مهار ایمنی میزبان هستند. آنالیز نتایج دو فرد آلوده به MERS-CoV با شدت متفاوت نشان داد که میزان تولید اینترفرون نوع I در بیمار با پیش آگهی ضعیف به طور چشمگیری در بیمار بهبود یافته، کمتر است. در رابطه با فرار از سیستم ایمنی اختصاصی نیز نشان داده شده که ارائه آنتی ژن از طریق کلاس MHC I و کلاس II در بیماران مبتلا به MERS-CoV کاهش دارد زیرا که MERS-CoV ماکروفاژها و یا سلولهای دندریتیک را آلوده می کند، که به طور قابل توجهی باعث کاهش فعالسازی و کاهش پاسخ در سلولهای T می شود.

واکسن

و خیم بیماری همراه است اما در رابطه با ویروس COVID-19 جزئیات سرولوژیکی محدودی در دست است. به عنوان مثال در یک مطالعه مقدماتی، در یک بیمار IgM اختصاصی در روز 9 پس از شروع بیماری به بیشترین میزان خود رسید و دو هفته بعد به سمت IgG تغییر شیفیت داد. پاسخ سلول T در SARS-CoV به طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است. در یک مطالعه با استفاده از 128 نمونه بیمار، نشان داد که پاسخ های سلول CD8 + T نسبت به پاسخهای سلول CD4 + T افزایش یافته بود و همچنین در آنها علاوه بر این مشخص شد، سلول های T اختصاصی ویروس در گروه بیماران با علایم شدیدتر، لنفوسیت های خاخره CD4 + T (IFN γ ، TNF α و IL-2) و CD8 + T دارند در مقایسه با گروه بیماران با علایم متوسط. در صورتیکه در گروه بیمارانی که مرگ و میر بیشتری داشتند پاسخ سلول T به طور چشمگیری با افزایش آنتی بادی های خنثی کننده ارتباط داشت این در حالی بود که سایتوکین های Th2 (IL-4، IL-5، IL-10) در سرم بیماران این گروه افزایش داشت. شواهد موجود نشان می دهد که پاسخ Th1 فاکتور مهمی برای کنترل موفقیت آمیز SARS-CoV و MERS-CoV است و احتمالاً در مورد ویروس COVID-19 نیز صادق است.

ایمنی زایی ویروس کرونا

شواهد موجود نشان می دهد که ویروس های خانواده کرونا به خوبی سازگاری یافته اند تا از شناسایی توسط سیستم ایمنی میزبان فرار کنند و پاسخ های ایمنی میزبان را کاهش دهند. این تا حدی توضیح می دهد که چرا آنها تمایل به دوره کمون طولانی تر دارند، یعنی به طور متوسط 2 تا 11 روز در مقایسه با آنفلانزا که حدوداً 1-4 روز است. به عنوان یکی از اعضای خانواده Betacoronavirus، مکانیسم فرار سیستم ایمنی ویروس

با توجه به افزایش سریع عفونت های SAR-CoV-2، تلاش برای ایجاد واکسن موثر علیه COVID-19 در بسیاری از کشورها قوت گرفته است. با آگاهی از مسیر توسعه واکسن های SARS و MERS، چندین گروه تحقیقاتی توانستند تنها در طی چند هفته پس از شیوع عفونت، تولید واکسن علیه COVID-19 را شروع کنند که احتمالاً انتخاب آنتی ژن هدف و بستر واکسن مبتنی بر مطالعات واکسن علیه SARS-CoV و MERS-CoV است. که در این رابطه (S) Full-length spike یا S1 که حاوی دومین (RBD) Receptor Binding Domain است ممکن است به عنوان یک آنتی ژن واکسن خوب در نظر گرفته شود زیرا می تواند آنتی بادی های خنثی کننده را که مانع از اتصال ویروس به سلول ها شوند را القا کنند.

البته در رابطه با ایمنی زایی این ویروس ابهامات زیادی مطرح هست بطوریکه گزارش شده است که تست فرد بهبود یافته از بیماری کرونا، دوباره مثبت گردیده است لذا لازم هست مطالعات بیشتری در این رابطه صورت پذیرد.

نقش ویتامین ها در تقویت سیستم ایمنی

سیستم ایمنی می تواند برای مقابله با عفونت های ایجاد شده توسط ویروس ها، کمک کند و روند بهبودی پس از عفونت را نیز تسریع بخشد. ویتامین های مختلفی باعث افزایش کارایی سیستم ایمنی و در نتیجه افزایش سطح ایمنی فرد در برابر عوامل پاتوژن مثل ویروس ها و باکتری ها می شوند. یکی از مهمترین ویتامین هایی که سیستم ایمنی بدن را تقویت می کند ویتامین C است. کمبود ویتامین C می تواند انسان را مستعد ابتلا به بیماری کند. مکمل های ویتامین C در آزمایشات بالینی در وهان برای کمک به درمان ریه افراد مبتلا کرونایروس 2019 مورد استفاده قرار میگیرد. Ruan Guangfeng محقق مرکز اطلاعات غذایی چین در مورد ویتامین C معتقد هست، این گفته که ویتامین C به

بهبود ایمنی کمک می کند، از دانش مردم در مورد سرماخوردگی ناشی می شود، که از نظر علمی بی اساس است. چرا که هیچ مدرکی مبنی بر تسکین و درمان سرما خوردگی به وسیله ی ویتامین C وجود ندارد. به گفته ی این محقق لازم نیست افراد سالم مکمل های اضافی مصرف کنند تا از ابتلا به این بیماری جلوگیری کنند، تا زمانی که از یک رژیم غذایی متعادل، ویتامین های مورد نیاز را تامین می کنند. از این رو افراد سالم بایستی از سبزیجات و میوه جات تازه استفاده کنند و در صورت عدم دسترسی می توانند از ویتامین C استفاده کنند (100 میلی گرم برای بزرگسالان و بیش از 200 میلی گرم برای کسانی که باردار هستند).

از دیگر ویتامین ها می تواند به ویتامین B6، که در تنظیم واکنشهای بیوشیمیایی در سیستم ایمنی بدن بسیار حیاتی است و همچنین ویتامین E که به عنوان یک آنتی اکسیدان قدرتمند که به بدن کمک می کند تا از عفونت ها جلوگیری کند، اشاره کرد.

بسیاری از مطالعات ارتباط ویتامین D بر روی تقویت و تعدیل سیستم ایمنی را نشان داده اند. مصرف مواد غذایی غنی از ویتامین ها می تواند در جهت افزایش سطح ایمنی فرد تاثیر ویژه ای داشته باشد. ولی هیچ مطالعه ای تاثیر مستقیم ویتامین ها را که در این بیماری مشخص کند، گزارش نشده است. محققان نشان دادند که ویتامین D نقش بسیار مهمی در بهبود بیماری های مرتبط با ریه را دارد.

نقش ویتامین D در جلوگیری از عفونت دستگاه تنفسی به طور عمده در کودکان کمتر از 16 سال موثر می باشد. این در حالی است که در سنین بالاتر نقش موثری ندارد. محققین همچنین نشان دادند که اگر ویتامین D وقتی به صورت دوزهای روزانه منفرد مصرف شود، بسیار موثرتر خواهد شد. مطالعات نشان دادند که دوز مصرفی مربوط به ویتامین D نقش بسیار مهمی در بهبود بیماری های

تنفسی را داشته به این صورت که دوز 800 واحد بین المللی یا کمتر از عفونتهای دستگاه تنفسی محافظت می کنند ، اما دوزهای بالاتری این اثر را ندارند.

دکتر پیتر آزیورن از انجمن آزاد گلوتن، مصرف روزانه 5.000 میلی گرم ویتامین C و 150.000 واحد بین المللی ویتامین D برای کمک به افزایش سطح ایمنی بدن را پیشنهاد میدهد، حتی موسسه ملی بهداشت فقط 400 واحد بین المللی را در روز برای نوزادان و 600-800 برای افراد تا سن 70 سال را توصیه کند. مصرف بیش از 4000 واحد بین المللی از ویتامین D می تواند باعث درد شکم، استفراغ، سردرگمی، آریتمی قلب و آسیب کلیه شود.

توصیه ها برای همه بیماران پیشگیرانه و مناسب نیست. ویتامین درمانی بی خطر است، به خصوص اگر به طور صحیح کنترل شوند ولی این به این معنی نیست که به طور نامحدود از پروتکل درمانی با دوز بالا استفاده کنند. استفاده از این روش (دوز بالا)، قبلاً برای درمان کمبود ویتامین D تحت عنوان (Stoss Therapy) در موارد بالینی مورد استفاده قرار گرفته است. استفاده از دوزهای بالاتر یک روش پیشگیری است که به سیستم ایمنی بدن انسان برای آماده سازی بهتر در مقابل پاتوژن ها از جمله ویروس ها کمک کند.

به طور کلی با توجه به اهمیت و نقش اساسی ویتامین ها بر روی سیستم ایمنی که منجر به فعال سازی و عملکرد بهتر آنها در مقابل عوامل بیماریزا (ویروسی و یا باکتریایی) می شود و از آنجایی که این ویروس نوپا شیوع بسیار زیادی داشته و فرصت مطالعه کافی برای شناخت و درمان بیماری وجود نداشته است، لذا بهترین راهکار برای مبارزه با این ویروس، پیشگیری در درجه ی اول و همچنین استفاده از رژیم سالم غذایی که غنی از ویتامین ها باشد، میتواند در نظر گرفته شود.

References:

١. Prompetchara, E., C. Ketloy, and T. Palaga, *Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic*. Asian Pac J Allergy Immunol, 2020.
٢. Wu F, Z.S., Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, et al, *A new coronavirus associated with human respiratory disease in China*. Nature 2020
٣. Chan JF, Y.S., Kok KH, To KK, Chu H, Yang J, et al, *A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster*. Lancet, 2020. **395**: p. 514-23.
٤. Huang C, W.Y., Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al, *Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China*. Lancet, 2020. **395**: p. 497–506.
٥. Nicholls JM, P.L., Lee KC, Ng WF, Lai ST, Leung CY, et al, *Lung pathology of fatal severe acute respiratory syndrome*. Lancet, 2003. **361(9371)**: p. 1773-8.
٦. Mahallawi WH, K.O., Zhang Q, Makhdom HM, Suliman BA, *MERS-CoV infection in humans is associated with a pro-inflammatory Th1 and Th17 cytokine profile*. Cytokine, 2018. **104**: p. 8-13.
٧. Zhou P, Y.X., Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al, *A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin*. Nature 2020 p. 15.
٨. Zhu N, Z.D., Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al, *A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China*. N Engl J Med, 2020. **382(8)**: p. 727-33.
٩. de Wit E, v.D.N., Falzarano D, Munster VJ, *SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses*. Nat Rev Microbiol, 2016. **14(8)**: p. 523-34.
١٠. Liu WJ, Z.M., Liu K, Xu K, Wong G, Tan W, et al, *T-cell immunity of SARS-CoV: Implications for vaccine development against MERS-CoV*. Antiviral Res, 2017. **137**: p. 82-92.
١١. Liu W, F.A., Zhang PH, Zhan L, Xin ZT, Baril L, et al, *Two-year prospective study of the humoral immune response of patients with severe acute respiratory syndrome*. J Infect Dis, 2006. **193(6)**: p. 792-5.
١٢. Li CK, W.H., Yan H, Ma S, Wang L, Zhang M, et al, *T cell responses to whole SARS coronavirus in humans*. J Immunol, 2008. **181(8)**: p. 5490-500.
١٣. Kindler E, T.V., Weber F, *Interaction of SARS and MERS Coronaviruses with the Antiviral Interferon Response*. Adv Virus Res, 2016. **96**: p. 219-43.
١٤. Shokri S, M.S., Taherkhani R, Farshadpour F, *Modulation of the immune response by Middle East respiratory syndrome coronavirus*. J Cell Physiol, 2019. **234(3)**: p. 2143-51.
١٥. M, K., *Innate Immune Evasion by Human Respiratory RNA Viruses*. J Innate Immun, 2020. **12(1)**: p. 4-20.
١٦. Faure E, P.J., Goffard A, Fournier C, Kipnis E, Titecat M, et al, *Distinct immune response in two MERS-CoV-infected patients: can we go from bench to bedside?* PLoS One, 2014. **9(2)**: p. e88716.
١٧. Al-Amri SS, A.A., Siddiq LA, Alghamdi A, Sanki MA, Al-Muhanna MK, et al, *Immunogenicity of Candidate MERS-CoV DNA Vaccines Based on the Spike Protein*. Sci Rep, 2017. **7**: p. 44875.



۱۸. Du L, H.Y., Zhou Y, Liu S, Zheng BJ, Jiang S, *The spike protein of SARS-CoV-a target for vaccine and therapeutic development*. Nat Rev Microbiol, 2009. **7(3)**: p. 226-36.
۱۹. Du L, Z.G., He Y, Guo Y, Zheng BJ, Jiang S, et al, *Receptor-binding domain of SARS-CoV spike protein induces long-term protective immunity in an animal model*. Vaccine, 2007. **25(15)**: p. 2832-8.
۲۰. Alpert, P.T., *The role of vitamins and minerals on the immune system*. Home Health Care Management & Practice, 2017. **29(3)**: p. 199-202.
۲۱. Magri, A., et al., *High-dose vitamin C enhances cancer immunotherapy*. Science Translational Medicine, 2020. **12**(۵۳۲).
۲۲. <https://www.chinadaily.com.cn/a/202002/20/WS5e4dc4f8a310128217278d15.html>.
۲۳. Chandra, R.K. and L. Sudhakaran, *Regulation of immune responses by vitamin B6*. Annals of the New York Academy of Sciences, 1990. **585(1)**: p. 404-423.
۲۴. Marcos, A., E. Nova, and A. Montero, *Changes in the immune system are conditioned by nutrition*. European journal of clinical nutrition, 2003. **57(1)**: p. S66-S69.
۲۵. Vanherwegen, A.-S., C. Gysemans, and C. Mathieu, *Regulation of immune function by vitamin D and its use in diseases of immunity*. Endocrinology and Metabolism Clinics, 2017. **46(4)**: p. 1061-1094.
۲۶. Greiller, C.L. and A.R. Martineau, *Modulation of the immune response to respiratory viruses by vitamin D*. Nutrients, 2015. **7(6)**: p. 4240-4270.
۲۷. AFP Thailand. *Health experts say there is no evidence vitamin D is effective in preventing novel coronavirus infection*. Available at: <https://factcheck.afp.com/health-experts-say-there-no-evidence-vitamin-d-effective-preventing-novel-coronavirus-infection>.
۲۸. Charan, J., et al., *Vitamin D for prevention of respiratory tract infections: A systematic review and meta-analysis*. Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics, 2012. **3(4)**: p. 300.
۲۹. Martineau, A.R., et al., *Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: systematic review and meta-analysis of individual participant data*. bmj, 201۷. **۳۵۶**: p. i6583.
۳۰. Aponte R. *Vitamin D for prevention of respiratory tract infections*. World Health Organization (WHO). 2017. Available at: https://www.who.int/elena/titles/commentary/vitamin_d_pneumonia_children/en/.
۳۱. <https://nypost.com/2020/02/27/phony-health-gurus-are-advising-deadly-vitamin-doses-to-fight-coronavirus/>.
۳۲. Emel, T., et al., *Therapy strategies in vitamin D deficiency with or without rickets: efficiency of low-dose stoss therapy*. Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism, 2۰۱۷. **2۰(۲-۱)**: p. 107-110.