

**Міністерство охорони здоров'я України**  
**Запорізький державний медико-фармацевтичний університет**

Факультет ІІ Медичний  
УДК: 616-002-031.13-02:[616.98:578.834COV]-06]-053.2-074

Ярослава Віталіївна Тесленко

Група І

**ЗНАЧИМІ ЛАБОРАТОРНІ ПОКАЗНИКИ СИСТЕМНОГО  
ЗАПАЛЕННЯ ПРИ МУЛЬТИСИСТЕМНОМУ ЗАПАЛЬНОМУ  
СИНДРОМІ У ДІТЕЙ, АСОЦІЙОВАНОГО З COVID-19**

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА МАГІСТРА**

зі спеціальності

224 «Технології медичної діагностики та лікування»

Галузь знань 22 «Охорона здоров'я»

Освітня програма «Лабораторна діагностика»

**Науковий керівник:**

професор, доктор медичних наук  
завідувач кафедри дитячих інфекційних хвороб,  
Олена Віталіївна Усачова

Запоріжжя 2024 р

**Міністерство охорони здоров'я України**

**Запорізький державний медико-фармацевтичний університет**

Факультет II медичний

Кафедра дитячих інфекційних хвороб

Галузь знань 22 «Охорона здоров'я»

Спеціальність 224 «Технології медичної діагностики та лікування»

Освітня програма «Лабораторна діагностика»

Освітня програма вищої освіти України Другий магістерський рівень

Кваліфікація освіти, що присвоюється Магістр

## **КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

на тему

**Значимі лабораторні показники системного запалення при мультисистемному запальному синдромі у дітей, асоційованого з covid-19**

Студентка Тесленко Ярослава Віталіївна

Група З л

КЕРІВНИК РОБОТИ професор, доктор медичних наук завідувач кафедри

дитячих інфекційних хвороб, Олена Віталіївна Усачова

(підпис)

РЕЦЕНЗЕНТ завідувач кафедри інфекційних хвороб, професор, доктор

медичних наук Рябоконт Олена В'ячеславівна (підпис)

Робота розглянута на засіданні кафедри (протокол №1 від 18.01.2024 р.)  
і допущена до захисту.

ЗАВІДУВАЧ КАФЕДРИ дитячих інфекційних хвороб, доктор медичних наук

Усачова Олена Віталіївна

(підпис)

Запоріжжя 2024 р.

## РЕФЕРАТ

Робота виконана на 63 сторінках тексту, містить 5 таблиць, список літератури складає 30 джерел.

Мультисистемний запальний синдром у дітей, пов'язаний з COVID-19, є серйозним захворюванням, що може призвести до розвитку ускладнень та смерті. В основі патогенезу MIS-C лежить імунна відповідь на антигени SARS-CoV-2. Імунна система дитини виробляє надмірну кількість прозапальних цитокінів, що призводить до розвитку системного запалення.

**Ключові слова:** Мультисистемний запальний синдром, асоційований із COVID-19, діти, С-реактивний білок, прокальцитонін, D-димер, ШОЕ, імуноферментний аналіз, імунохроматографічні тести, ураження печінки та нирок.

**Актуальність:** Мультисистемний запальний синдром у дітей - це рідкісний, але серйозний стан, який може виникнути у дітей після інфікування COVID-19. MIS-C характеризується системним запаленням, яке може вражати різні органи, включаючи серце, легені, нирки та шлунково-кишковий тракт.

MIS-C може мати серйозні наслідки, включаючи летальний випадок. За даними Центру з контролю та профілактики захворювань США (CDC), станом на 14 листопада 2023 року в США було зареєстровано 8 052 випадки МСВС, 60 з яких закінчилися летальним результатом.

Лабораторні дослідження відіграють важливу роль у діагностиці та прогнозуванні MIS-C. Ряд лабораторних показників можуть бути свідченням системного запалення, що може допомогти у діагностиці MIS-C.

Дослідження, яке вивчає значущі лабораторні показники MIS-C, може мати цінність з кількох причин:

- Дослідження може допомогти у розробці більш чітких критеріїв діагностики МСВС, що може призвести до більш раннього та точного діагнозу.

- Дослідження може допомогти у визначенні факторів, які пов'язані з більш серйозним перебігом MIS-C, що може допомогти у прогнозуванні ризику ускладнень та летального результату.

- Дослідження значущих лабораторних показників MIS-C може допомогти у розробці нових методів лікування, які спрямовані на системне запалення.

**Предмет дослідження** - значимі лабораторні показники крові, що свідчать про системне запалення.

**Мета дослідження:** визначити значущість лабораторних показників системного запалення у дітей з Мультисистемним запальним синдромом, асоційований з COVID-19 (MIS-C).

**Задачами роботи були:** аналіз сучасних літературних даних щодо системного запалення при MIS-C; визначення найбільш типових змін у загальному аналізі крові; значущість біохімічних показників системного запалення, таких як С-реактивний білок, прокальцитонін, D-дімер; визначення кореляційних зв'язки між лабораторними ознаками системного запалення та клініко-лабораторними проявами MIS-C.

**Об'єкт дослідження** - Мультисистемний запальний синдром у дітей, асоційований з COVID-19.

**Методи дослідження:** загальноклінічні методи – оцінка клінічного стану пацієнтів та ЗАК; імунологічні методи - ІФА імуноферментний аналіз (ELISA), імунохроматографічні тести для вимірювання рівнів С-реактивного білка, прокальцитоніну, D-дімеру в крові; молекулярно-біологічні методи - полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР); біохімічні методи дослідження крові - визначення рівнів АЛТ, АСТ, білірубину, тимолової проби, креатиніну, сечовини.

Для реалізації мети було проаналізовано клініко-лабораторний перебіг MIS-C у 16 дітей, що були госпіталізовані у багатопрофільний педіатричний стаціонар. Використано наступні методи дослідження: загальноклінічні методи – оцінка клінічного стану пацієнтів та ЗАК; імунологічні методи – ІФА,

імунохроматографічні тести для вимірювання рівнів С-реактивного білка, прокальцитоніну, D-дімеру в крові; молекулярно-біологічні методи - полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР); біохімічні методи дослідження крові - визначення рівнів АЛТ, АСТ, білірубіну, тимолової проби, креатиніну, сечовини.

В результаті аналізу було з'ясовано, що MIS-C є тяжким станом в основі патогенезу якого є розгортання гіперзапальної відповіді, що потребує визначення ролі лабораторних показників в трактуванні його реалізації. Найбільш значущими змінами загального аналізу крові у хворих MIS-C є лейкоцитоз, який реєструється у 93,3%, прискорення ШОЕ - у 93,3%, лімфопенія - у 81,2% та паличкоядерний зсув лейкоцитарної формули - у 87,5%. У 10 з 16 хворих відмічені лабораторні ознаки пошкодження гепатоцитів у вигляді зростання рівню АЛТ та у 53,3% порушення функції нирок із зростанням рівню креатиніну крові. Кожен пацієнт з MIS-C має лабораторні зміни, що вказують на системне запалення, а саме у 70,0% - підвищений рівень СРБ та у 56,3% - прокальцитоніну. При цьому, рівні СРБ прямо корелюють як з клінічними проявами запалення у вигляді загального стану, температурної реакції та наявності висипки ( $r= 0,30$  та  $0,47$  та  $0,34$  відповідно), так і з лабораторними ознаками ураження печінки ( $r= 0,91$ ) та виразністю лімфопенії ( $r= -0,47$ ), тоді як вміст прокальцитоніну лише з лабораторними. Рівень D-дімеру, як маркер надлишкового тромбоутворення, є підвищений у кожного другого із MIS-C і його вміст сильно прямо корелює із ураженням нирок з підвищенням рівню креатиніну ( $r= 0,94$ ).

### Галузі застосування

**1. Клінічна практика:** дослідження може допомогти у розробці більш чітких критеріїв діагностики MIS-C, що може призвести до більш раннього та точного діагнозу; у визначенні факторів, які пов'язані з більш серйозним перебігом MIS-C, що може допомогти у прогнозуванні ризику ускладнень та

летального результату; у розробці нових методів лікування, які спрямовані на системне запалення.

**2. Наукові дослідження:** дослідження значущих лабораторних показників MIS-C може допомогти у кращому розумінні патогенезу, що може призвести до розробки нових методів діагностики та лікування; допомогти у розробці нових біомаркерів для діагностики MIS-C.

**3. Громадська охорона здоров'я:** дослідження може допомогти у розробці національних та міжнародних рекомендацій щодо діагностики та лікування MIS-C, а також у розробці методів профілактики MIS-C.

**4. Освіта:** Дослідження може допомогти у підвищенні обізнаності про MIS-C серед медичних працівників та широкої громадськості, а також до підготовки медичних працівників до діагностики та лікування MIS-C.

## ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, скорочень	6
Вступ	7
Розділ 1 Сучасні уявлення про мультисистемний запальний синдром у дітей, асоційований з COVID-19, та його діагностику (Огляд літератури).....	12
1.1. Уявлення про Мультисистемний запальний синдром у дітей - підходи до клінічної діагностики та патогенезу .....	12
1.2. Лабораторні маркери запалення.....	18
1.3. Характеристика лабораторних методів визначення тяжкості запальної реакції організму.....	26
Розділ 2 Матеріали та методи дослідження.....	43
2.1. Дизайн дослідження та характеристика групи дослідження .....	45
2.2. Специфічні методи дослідження.....	46
2.3. Методи статистичної обробки результатів .....	48
Розділ 3 Зміни загального аналізу крові при Мультисистемному запальному синдромі у дітей, асоційованого з COVID-19.....	52
Розділ 4 Зміни лабораторних показників системного запалення та біохімічних ознак ураження печінки та нирок при мультисистемному запальному синдромі у дітей, асоційованого з COVID-19.....	52
4.1. Лабораторні показники системного запалення та біохімічних проявів ураження органів при Мультисистемному запальному синдромі у дітей, асоційованого із COVID-19.....	54
4.2. Особливості кореляційних взаємозв'язків лабораторних показників запалення із іншими клінічними та лабораторними показниками при Мультисистемному запальному синдромі у дітей, асоційованого із COVID-19.....	57
Висновки.....	58
	59

Практичні рекомендації.....	
Список використаних джерел літератури.....	



## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ

BNP - натрійуретичний пептид

ELISA - enzyme-linked immuno sorbent assay

IFN- $\gamma$  - інтерферон- $\gamma$

IL-1 $\beta$  - інтерлейкіни-1 $\beta$

IL-4 - Інтерлейкін-4

IL-6 - інтерлейкін-6

IL-10 - Інтерлейкін-10

IL-13 - Інтерлейкін-13

IL-1RA – рецептор-антагоніст

JAK-STAT - янус-киназ/сигнал-трансдукція і активація транскрипції

LAT - Метод латексної аглютинації

MIS-C - Мультисистемний запальний синдром у дітей

TGF- $\beta$  - трансформуючий фактор росту бета

TNF- $\alpha$  - фактор некрозу пухлин

АЛТ – Аланінамінотрансфераза

АСТ – Аспартатамінотрансфераза

АЧТЧ - активований частковий тромбопластиновий час

БСА - бичачий сироватковий альбумін

ІРМА - імунорадіометричний аналіз

ІХА - Імунохроматографічний аналіз

ЛДГ – лактатдегідрогенази

ПЛР - полімеразна ланцюгова реакція

ПЧ - протромбіновий час

РА - Метод радіоімунного аналізу

СРБ - С-реактивний білок

ТТГ - Тиреотропний гормон

ЦНС – центральна нервова система

ШОЕ - швидкість осідання еритроцитів

## ВСТУП

Мультисистемний запальний синдром у дітей, пов'язаний з COVID-19, є серйозним захворюванням, що може призвести до розвитку ускладнень та смерті.

Вірус SARS-CoV-2, що викликає це захворювання, не тільки викликає гостре респіраторне захворювання, але й може мати серйозні наслідки для дитячого здоров'я в подальшому. Одним із найбільш серйозних ускладнень є Мультисистемний запальний синдром, що пов'язаний з COVID-19.

Мультисистемний запальний синдром (MIS-C) у дітей, асоційований з COVID-19, є рідкісним, але серйозним станом, який вимагає негайної діагностики та лікування. Цей синдром характеризується системним запаленням, що впливає на різні органи та системи організму дитини, такі як серце, легені, шкіра, кровоносна система та шлунково-кишковий тракт. Він розвивається після перенесеної коронавірусної хвороби (COVID-19), і може виникати у дітей будь-якого віку, включаючи немовлят, дітей молодшого та старшого дошкільного віку, шкільного віку та підлітків. У травні 2020 року стало відомо про можливість виникнення у дітей та підлітків Мультисистемного запального синдрому, який є наслідком коронавірусної хвороби (COVID-19), з високою летальністю [25]. MIS-C виникає після того, як організм вже переміг COVID-19. Причиною цього стану може стати те, що організм продукує антитіла, щоб боротися з вірусом, але ці антитіла можуть також атакувати власні тканини тіла, викликаючи запалення. Цей процес може бути дуже шкідливим, особливо для дітей, оскільки може спричинити пошкодження внутрішніх органів [25, 27]. Клінічна картина MIS-C складається з лихоманки, зниження артеріального тиску, інших розладів серцево-судинної системи, шлунково-кишкового та сечовивідного тракту. У багатьох дітей відзначаються ознаки васкуліту за типом хвороби Кавасакі та порушення нервово-психічного стану [30].

Дослідження особливостей перебігу цього стану у дітей та накопичення досвіду з лікування є важливим для успішної боротьби з хворобою.

MIS-C відноситься до групи захворювань, які називаються "гіперімунні синдроми" або "цитокінові бурі", оскільки вони спричиняють викид великої кількості прозапальних цитокінів в кров, що може призвести до запалення та пошкодження різних органів і систем організму. Це надмірна та дисбалансована реакція імунної системи на інфекцію, травму або інші стимули [10].

Цитокіни - це сигнальні білки, які виробляються різними клітинами імунної системи. Вони відіграють важливу роль у комунікації між клітинами імунної системи та регулюванні запальної відповіді. Коли виникає інфекція або травма, імунна система активується і починає виробляти більше цитокінів.

У разі "цитокінової бурі" прозапальні цитокіни продукуються в надмірній кількості і швидкому темпі. Це може бути наслідком несистемної реакції імунної системи, коли вона втрачає здатність регулювати імунну відповідь. Цитокіни, такі як інтерлейкіни-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), інтерлейкін-6 (IL-6), інтерферон- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) та інші, можуть викликати запалення, збільшити проникність капілярів, привести до активації запальних клітин (наприклад, макрофагів) та інших цитокінів. Ці цитокіни мають назву "прозапальні" [10].

Механізм виникнення та активації "цитокінової бурі" є складним, який включає різноманітні клітини та молекулярні взаємодії. Основні етапи цитокінової бурі включають:

- Активація імунної системи - під час інфекцій, травм або інших запальних станів, патоген або пошкодження тканин активують клітини імунної системи, такі як макрофаги, дендритні клітини та лімфоцити;

- Продукція цитокінів - активовані клітини імунної системи починають виробляти та виділяти різні цитокіни, як то інтерлейкін-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), інтерлейкін-6 (IL-6), інтерферон- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), фактор некрозу пухлин (TNF- $\alpha$ ) та інші;

- Позитивний зворотний зв'язок - цитокіни, такі як IL-1 $\beta$  та IL-6, можуть посилювати синтез інших цитокінів, що призводить до посилення запальної реакції;

- Активація інших клітин - цитокіни можуть активувати інші клітини імунної системи, такі як нейтрофіли, еозинофіли та лімфоцити, що призводить до подальшого посилення запальної реакції та виробництва цитокінів;

- Порушення регуляції – регуляція цитокінів порушується, і звичайний баланс між протизапальними та прозапальними цитокінами порушується, що може призвести до запалення та пошкодження органів і тканин [5].

Цитокіни зазвичай знаходяться у місцях запалення, де вони взаємодіють з клітинами імунної системи та виконують свої функції. Прозапальні цитокіни мобілізують і активують імунні клітини, збільшують проникність судин та сприяють запаленню. Вони важливі для боротьби з інфекціями та розвитку запальних процесів [5].

Протизапальні цитокіни, навпаки, пригнічують запальний відгук, знижуючи активність імунних клітин і сприяючи процесам ремонту тканин. Вони регулюють запальні процеси та допомагають запобігти надмірній запальній відповіді, яка може призвести до пошкодження тканин [5].

Отже у патогенезі розвитку MIS-C основну роль відіграє неконтрольоване гіперзапалення. Тому одним з ключових моментів при діагностиці MIS-C є визначення лабораторних показників системного запалення. Ці показники можуть включати в себе збільшення кількості лейкоцитів, збільшення ШОЕ, збільшення рівня С-реактивного білка та інших білків активності запалення, а саме прокальцитоніни, D-дімер, тощо.

Дослідження лабораторних показників системного запалення у дітей з MIS-C може допомогти уточнити діагноз, визначити ефективні патогенитичні методи лікування. Крім того, дослідження можуть допомогти з'ясувати потенційні фактори ризику для розвитку цього захворювання, що може бути використано при профілактиці. Все це і визначає актуальність обраної теми дослідження.

**Мета дослідження:** визначити значущість лабораторних показників системного запалення у дітей з Мультисистемним запальним синдромом, асоційований з COVID-19.

**Задачі роботи:**

1. Проаналізувати сучасні літературні дані щодо системного запалення при Мультисистемному запальному синдромі у дітей, асоційованого з COVID-19.

2. Визначити найбільш типові зміни у загальному аналізі крові при Мультисистемному запальному синдромі у дітей, асоційованому з COVID-19.

3. З'ясувати зміни значущих біохімічних показників системного запалення, таких як С-реактивний білок, прокальцитонін, D-дімер у дітей з Мультисистемним запальним синдромом, який асоціюється з COVID-19.

4. Визначити кореляційні зв'язки між лабораторними ознаками системного запалення та клініко-лабораторними проявами Мультисистемного запального синдрому у дітей, асоційованого з COVID-19.

**Об'єкт дослідження** - Мультисистемний запальний синдром у дітей, асоційований з COVID-19.

**Предмет дослідження** - значимі лабораторні показники крові, що свідчать про системне запалення.

**Методи дослідження:** загальноклінічні методи – оцінка клінічного стану пацієнтів та ЗАК; імунологічні методи - ІФА імуноферментний аналіз (ELISA), імунохроматографічні тести для вимірювання рівнів С-реактивного білка, прокальцитоніну, D-дімеру в крові; молекулярно-біологічні методи - полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР); біохімічні методи дослідження крові - визначення рівнів АЛТ, АСТ, білірубину, тимолової проби, креатиніну, сечовини.

**Наукова новизна** полягає в розкритті ролі визначення рівня СРБ, прокальцитоніну, D-дімеру та ШОЕ при Мультисистемному запальному синдромі, асоційованому з COVID-19 у дітей. Показано, що підвищення кількості лейкоцитів в крові та ШОЕ є характерними змінами ЗАК відповідних пацієнтів. Виявлено, що типовим для хворих із MIS-C є лімфоцитоз із значним

зростанням відсоткового показнику паличкоядерних нейтрофілів. З'ясовано, що лабораторні ознаки ураження печінки та нирок при MIS-C зустрічаються у кожного другого пацієнта і асоціюються із додатковим тромбоутворенням, показником якого є зростання рівню D-дімеру.

Визначено, що у переважної більшості хворих із MIS-C паралельно із суттєвим зростанням ШОЕ підвищується рівень СРБ, що асоціюється з виразністю як клінічних ознак запалення (температурна реакція, висипка та ураження печінки і нирок), так і з провідними змінами ЗАК (виразність лейкопенії).

**Практичне значення** полягає в розумінні місця лабораторних показників системної запальної відповіді у встановленні тяжкості стану пацієнта та прогнозуванні перебігу MIS-C. Так, високі рівні СРБ асоціюються із виразною температурною реакцією, виникненням висипки та абдомінального болю, в той час як підвищенні рівні D-дімеру та прокальцитоніну переважно - з ураженням печінки та нирок.

# РОЗДІЛ 1

## СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО МУЛЬТИСИСТЕМНИЙ ЗАПАЛЬНИЙ СИНДРОМ У ДІТЕЙ, АСОЦІЙОВАНИЙ З COVID-19, ТА ЙОГО ДІАГНОСТИКУ (ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД)

### 1.1. Уявлення про Мультисистемний запальний синдром у дітей - підходи до клінічної діагностики та патогенезу

Одним з найважчих проявів постковідного синдрому у дітей є MIS-C стан, при якому запальні процеси торкаються різних органів і систем, зокрема, серця, легень, нирок, мозку, шкіри, очей або органів шлунково-кишкового тракту [4, 9].

Клінічно для MIS-C у дітей характерні: тривала лихоманка, біль у шлунку, блювота, діарея, крововиливи в очні кон'юктиви, запаморочення та висипи на шкірі. Поки практичні фахівці остаточно не знають причин виникнення цього синдрому на фоні COVID-19 у конкретних випадках, які можуть завершитися стійкими серйозними і навіть смертельними наслідками для пацієнтів, хоча, здебільшого, діти з MIS-C одужують після надання кваліфікованої медичної допомоги [4, 7].

За даними Американської академії педіатрії, станом на кінець 2022 року майже у 6,4 мільйонів дітей було діагностовано COVID-19, але дослідження, що визначають кількість випадків тривалого захворювання на COVID-19 та пост-COVID у дітей, дуже відрізняються (і лише частина дітей з тривалим терміном пост-COVID звертається за медичною допомогою) [14].

Попри переважно легший перебіг COVID-19 у дітей, батьки часто відмічають комплекс скарг та клінічних проявів, характерний для дітей різного віку після перенесеного гострого періоду захворювання: втому, нездужання, головний біль, задишку, втрату відчуття запаху, болі в ділянці серця та психічні поведінкові розлади [14, 15].

Провідні медичні спільноти ретельно вивчають MIS-C, пов'язаний з коронавірусною хворобою (COVID-19), який може, також, мати ознаки схожі

на хворобу Кавасакі. У таких пацієнтів спостерігається лихоманка тривалістю 5 і більше днів та принаймні 4 з наступних 5 клінічних ознак: висип, шийна лімфаденопатія (не менше 1,5 см в діаметрі), двосторонній кон'юнктивіт, запалення слизової оболонки ротової порожнини та зміни периферійних судин кінцівок. Пацієнти, чиє захворювання не відповідає наведеному вище визначенню хвороби Кавасакі, але мають лихоманку та аномалії коронарних артерій, класифікуються як хворі з атиповою або неповною хворобою Кавасакі [7, 8, 13, 27].

Найновіші дослідження, проведені в березні 2022 року лікарями з коледжу Колумбійського університету імені Вагелоса, виявили унікальні особливості MIS-C, рідкісного, але потенційно смертельного ускладнення COVID-19 у дітей, які свідчать про те, як починається синдром. Дослідження під керівництвом Марка Гореліка та Роберта Вінчестера було опубліковано в березневому номері *Journal of Allergy and Clinical Immunology*: «Одним із головних питань про MIS-C без відповіді є те, як імунологічно хвороба еволюціонує від початкового інфекційного епізоду до останнього, імуноопосередкованого нападу», говорить Горелік. «Одним із способів вивчення цього може бути визначення унікальності імунологічної відповіді мультисистемного запального синдрому». У пацієнтів з MIS-C порівняно з іншими хворими були активовані лише деякі імунні клітини, які помилково спрямовували імунну систему атакувати кровоносні судини в організмі, пошкодженому вірусом, а потім доводили природні клітини-вбивці пацієнтів - до виснаження [5, 7, 8, 9].

Нові відкриття стосуються легшого способу діагностики MIS-C, який важко відрізнити від інших синдромів. Це, насамперед, пов'язано з інтерлейкіном-27 - запальними молекулами, рівень яких дуже різко підвищувався у пацієнтів з MIS-C у порівнянні з іншими дітьми з лихоманками [5, 7, 8].

Згідно рекомендацій ВООЗ до діагностичних критеріїв MIS-C відносять:



1. **Персистуюча гарячка  $>38^{\circ}\text{C}$**  — ключовий симптом MIS-C (вважається, що температура є набагато вищою і зберігається довше, ніж при інших типових дитячих захворюваннях);

2. **Клінічно-лабораторний зв'язок з інфекцією, спричиненою SARS-CoV-2** - позитивний результат дослідження на наявність SARS-CoV-2 методом ПЛР або серологічного тесту, передуюче захворювання, що нагадує COVID-19, або тісний контакт із особами з підтвердженим COVID-19, або підозрою на його наявність за останні 4 тижні;

3. **Як мінімум 2 з клінічних симптоми, що вказують на можливість цього діагнозу:**

а) висип (поліморфний, плямисто-папульозний або петехіальний, але не везикулярний),

б) шлунково-кишкові симптоми (діарея, біль в животі або блювання),

в) набряк кистей/стоп,

г) зміни на слизовій оболонці порожнини рота (гіперемовані і/або потріскані губи, "полуничний" язик або почервоніння слизової оболонки рота і глотки),

д) кон'юнктивіт (двосторонній, без ексудації),

е) лімфаденопатія,

є) неврологічні симптоми (змінені стани свідомості, енцефалопатія, вогнищевий неврологічний дефіцит, менінгізм або набряк диску зорового нерва);

4. Виключення найчастіших етіологічних причин симптоматики [6, 24].

Патофізіологія MIS-C багато в чому залишається неясною. Очевидно, в його основі лежить вірус-індукована гіперімунна реакція. MIS-C розглядається як аналог "цитокінового шторму" у дорослих. У його патогенезі простежуються механізми, властиві синдрому Кавасакі, синдрому активації макрофагів і синдрому вивільнення цитокінів [7, 19].

Найважливішу роль у патогенезі відіграє активація Т-лімфоцитів, гіперпродукція прозапальних цитокінів (інтерлейкінів 1, 2, 6, 8, 10, ГМ-КСФ),

відкладення імунних комплексів у судинній стінці. Ці механізми обумовлюють розвиток мультисистемної запальної відповіді і пояснюють більшість клініко-лабораторних ознак синдрому: лихоманку, гіперферритінемію, коагулопатію, підвищення маркерів запалення [19].

Основні етапи патогенезу MIS-C, від дії інфекційного агента до розвитку мультиорганної дисфункції:

- Викликальний фактор - патогенез MIS-C починається з присутності інфекційного агента, такого як бактерія, вірус або інший мікроорганізм. Інфекційний агент може потрапити в організм дитини через дихальні шляхи, кишкові тракти або кров.

- Ініціація запальної відповіді - при зустрічі інфекційного агента із спеціалізованими клітинами імунної системи, такими як макрофаги та дендритні клітини, відбувається активація імунної відповіді. Ці клітини виробляють цитокіни - сигнальні молекули, які регулюють запальну відповідь.

- "Цитокінова буря" - під впливом інфекційного агента імунна система може виділяти велику кількість цитокінів у кров. Ця надмірна імунна відповідь може призвести до так званої "цитокінової бурі". Це може спричинити значне поширення запальних процесів у різних органах та системах організму.

- Поширення запалення - "цитокінова буря" може призвести до поширення запалення по всьому організму, оскільки запальні медіатори переносяться через кров до різних тканин і органів. Запалення може впливати на кров'яні судини, нервову систему, серцево-судинну систему, шкіру та інші органи.

- Пошкодження тканин - під впливом запалення та імунних відповідей на органи та тканини може траплятися пошкодження. Запалення може призвести до пошкодження судин, утворення тромбів, некрозу тканин і утворення в'язких утворень, таких як ексудати та пухирі.

- Мультиорганна дисфункція - пошкодження тканин і органів може призвести до дисфункції різних органів, таких як легені, серце, печінка, нирки

та нервова система. Це може призвести до серйозних ускладнень і загрози життю дитини.

- Результатом цих всіх механізмів може бути мультисистемний запальний синдром. Це є комплексний стан, що характеризується одночасною дисфункцією кількох органів, який потребує негайної медичної допомоги. [20].

Отже, патогенез MIS-C пов'язаний із не збалансованою відповіддю імунної системи на інфекційний агент. Надмірна імунна активація може призвести до поширення запальних процесів і дисфункції багатьох органів. Раннє виявлення та лікування MIS-C є ключовим для запобігання серйозних ускладнень та покращення прогнозу хвороби [2].

Прозапальні цитокіни грають ключову роль у викликаному імунітетом запаленні. Вони активують та координують запальну відповідь організму, залучаючи імунні клітини до місця запалення і сприяючи виробленню прозапальних молекул.

- Інтерлейкін-1 (IL-1) виробляється макрофагами, моноцитами та іншими клітинами вродженого імунітету. Він активує ендотеліальні клітини (клітини внутрішнього оболонкового шару судин) для вироблення молекул, що притягують імунні клітини, а також збільшує проникність судин. IL-1 також сприяє виробленню інших прозапальних цитокінів, таких як IL-6 та TNF- $\alpha$ .

- Інтерлейкін-6 (IL-6) виробляється макрофагами, моноцитами, фібробластами та іншими клітинами. Він сприяє активації імунних клітин, посиленню фагоцитозу, а також збільшує синтез прозапальних білків. IL-6 сприяє виробленню прозапальних білків, збільшує температуру тіла (як один з факторів запалення), стимулює активацію імунних клітин і сприяє гострофазовій відповіді на інфекцію.

- Тумор некрозуючий фактор альфа (TNF- $\alpha$ ) виробляється моноцитами, макрофагами та іншими клітинами. Цей цитокін сприяє запаленню, збільшенню проникності судин та активації імунних клітин, залучає імунні клітини до місця запалення, сприяє виходу цих клітин з крові в тканини і

активує запальну відповідь. TNF- $\alpha$  також стимулює фагоцитоз (процес, у якому імунні клітини поглинають та знищують мікроорганізми) та сприяє виробленню інших прозапальних молекул.

Протизапальні цитокіни допомагають знизити запалення, підтримують гомеостаз (рівновагу) і запобігають надмірній запальній відповіді.

- Інтерлейкін-10 (IL-10) виробляється різними клітинами, включаючи лімфоцити Т та В, макрофаги, моноцити. Його головна функція - пригнічення запальної відповіді, зниження активності моноцитів та макрофагів. IL-10 також зменшує вироблення прозапальних цитокінів, таких як IL-1 і TNF- $\alpha$ .

- Інтерлейкін-4 виробляється лімфоцитами Т та В, мастоцитами. Цей цитокін сприяє пригніченню запальної відповіді та активації клітин, які залучаються до відновлення тканин. IL-4 також стимулює вироблення протизапальних молекул, таких як IL-10.

- Інтерлейкін-13 (IL-13) виробляється лімфоцитами Т та В, мастоцитами. Він подібний до IL-4 у своїй дії, сприяючи пригніченню запальної відповіді та стимуляції процесів відновлення тканин [28].

Гіперзапалення (також відоме як "цитокінова буря", гіперінфламація) є ключовим аспектом патогенезу MIS-C. Воно характеризується надмірною і неконтрольованою продукцією цитокінів та інших медіаторів, які викликають запалення в різних органах та системах організму. Гіперзапалення відіграє важливу роль у розвитку важких ускладнень MIS-C, а саме мультиорганної дисфункції [29].

При гіперзапаленні можуть бути присутні наступні основні характеристики:

- Підвищені рівні цитокінів - інтерлейкінів (IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-8), фактору некрозу (TNF- $\alpha$ ), інтерферонів (IFN- $\gamma$ ) та інших запальних цитокінів.

- Системне запалення, яке виникає в різних органах та тканинах, призводить до розширення судин, підвищення проникності судинних стінок, акумуляції води та інфільтрації запальних клітин в тканини.

- Активація коагуляції через гіперзапалення із активацією системи згортання крові, що може призвести до утворення тромбів у судинах і зменшення кровотоку до органів.
- Пошкодження органів через запалення і тромбообразування із пошкодженням органів, зокрема легень, серця, нирок, печінки та нервової системи.
  - Респіраторний дистрес-синдром із гіпер запаленням легенів.
  - Кардіогенний шок із зниженням систолічного кров'яного тиску.
  - Зміни в рівні протизапальних цитокінів із пригніченням продукції протизапальних цитокінів, таких як інтерлейкін-10 (IL-10) та інтерлейкін-1, рецептор-антагоніст (IL-1RA). Це може сприяти продовженню запального процесу [29].

## 1.2. Лабораторні маркери запалення

Що стосується змін у крові під час гіперзапалення при MIS-C, то можуть спостерігатись наступні зміни:

- Зміни в кількості та функції лейкоцитів: гіперзапалення може впливати на рівень та функції різних типів лейкоцитів. Зокрема, може спостерігатись збільшення кількості нейтрофілів та високий вміст проінфламаторних медіаторів у них.
  - Зміни у співвідношенні лейкоцитів: збільшується кількість нейтрофілів (нейтрофіліоз) і знижується кількість лімфоцитів (лімфоцитопенія), що може вказувати на активний запальний процес.
  - Збільшення С-реактивного білка (СРБ): це показник загального запалення, який зазвичай збільшується при гіперзапаленні.
  - Зміни в рівні цитокінів: у крові можуть виявлятись підвищені рівні прозапальних цитокінів, таких як IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  [10].

Як свідчать дані певних досліджень, з метою лабораторного підтвердження MIS-C слід провести ряд тестів. Так спочатку проводяться дослідження **першої лінії**, які зазвичай доступні в більшості медичних

установ. До них відносяться: загальний аналіз крові, повна панель біохімічних досліджень Na, K, CO<sub>2</sub>, Cl, сечовина, креатинін, глюкоза, Ca, альбумін, загальний білок, АСТ, АЛТ, лужна фосфатаза, білірубін, ШОЕ, С-реактивний білок, ПЛР та серологічні тести щодо SARS-CoV-2 (діти з MIS-C мають позитивні результати серологічних тестів набагато частіше [80–90 %], ніж ПЛР [20–40%], але рекомендуються обидва тести) [18, 19].

Дослідження другої лінії слід призначати, якщо **результати першого набору досліджень викликають занепокоєння**, зокрема: СРБ  $\geq 5$  мг/дл або ШОЕ  $\geq 40$  мм/год, а також принаймні 1 із наступних параметрів: абсолютна кількість лімфоцитів  $< 1000$ /мкл, кількість тромбоцитів  $< 150\,000$ /мкл, Na  $< 135$  ммоль/л, нейтрофілоз, гіпоальбумінемія. У більшості дітей із MIS-C спостерігаються дуже високі маркери запалення (СРБ часто  $> 10$  мг/дл і навіть 20 мг/дл) [12].

Дослідження другої лінії включають: визначення концентрації натрійуретичного пептиду (BNP), тропоніну Т, прокальцитоніну (якщо є доступним, тоді також панель цитокінів, так часто підвищена концентрація IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ ) і феритину, а також протромбіновий час (ПЧ), активований частковий тромбoplastиновий час (АЧТЧ), концентрація D-димеру, фібриногену і лактатдегідрогенази (ЛДГ), загальний аналіз сечі, визначення концентрації тригліцеридів, мікроскопію мазка крові, ЕКГ та ехокардіографію [12].

Відомо, що під час інфікування вірусом COVID-19, імунна система виробляє різні типи антитіл для боротьби з вірусом. Основні типи антитіл, які борються з вірусом COVID-19, включають:

1. IgM - це перше антитіло, яке виробляється імунною системою під час інфікування вірусом. Воно виявляється в крові вже через декілька днів після початку симптомів та допомагає організму розпізнати та боротися з вірусом.

2. IgG - це антитіло, яке виробляється пізніше, після IgM, та зазвичай залишається в крові на довший час після того, як інфекція була подолана. IgG

допомагає забезпечити імунітет на майбутнє та захищає від повторної інфекції вірусом COVID-19.

3. Neutralizing antibodies (нейтралізуючі антитіла) - це антитіла, які мають здатність заблокувати вірус та запобігти його входу до клітин. Ці антитіла є особливо важливими в боротьбі із COVID-19 та можуть бути вироблені як IgM, так і IgG.

4. IgA - це антитіло, яке зазвичай знаходиться на слизових оболонках та допомагає захищати органи дихання та шлунково-кишковий тракт від інфекцій. Деякі дослідження показують, що IgA може також бути важливим у боротьбі з COVID-19.

У більшості випадків люди, які перехворіли на COVID-19, в крові тривало мають IgG-антитіла до вірусу [20, 21].

Як вже було вказано, показники запалення є важливими біомаркерами, що вказують на наявність та ступінь запального процесу в організмі. Збільшення рівнів показників запалення може спостерігатися при різних захворюваннях та станах, і воно часто корелює з клінічною картиною.

Один з найбільш вивчених показників запалення - є С-реактивний білок (СРБ). Високі рівні СРБ свідчать про наявність запального процесу в організмі [26].

СРБ поза запальним процесом виробляється головним чином печінкою. У стані спокою його рівень у крові досить низький, однак при настанні запалення його продукція активно збільшується.

Коли в організмі виникає інфекційний процес, будь-які патогени, такі як бактерії, віруси або грибки, стимулюють систему імунітету. Це призводить до активації цитокінів, зокрема інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) і інших медіаторів запалення. Інтерлейкін-6 індукує печінку на вироблення СРБ.

Окрім того, патогени та імунна відповідь можуть спричинити пошкодження тканин, що викликає некроз (знищення клітин). Під час некрозу звільняються різноманітні молекули, такі як цитокіни і хемокини, що також стимулюють виробництво СРБ.

Також, при запаленні судин (васкуліті), що може бути спричинено інфекцією або імунними реакціями, ендотеліальні клітини починають продукувати СРБ [26].

Отже, основна причина збільшення СРБ - це активація запального процесу. Коли організм виявляє загрозу (інфекція або пошкодження тканин), імунна система активовано працює, і це призводить до викиду запальних медіаторів, що в свою чергу активує печінку на вироблення СРБ.

Незважаючи на те, що СРБ є маркером запалення, певні протизапальні цитокіни, такі як інтерлейкін-10 (IL-10), можуть стримувати його продукцію. Однак, у випадку гіперзапалення, протизапальні механізми зазвичай не переважають над запальними, тому рівень СРБ все одно збільшується [18].

Механізм збільшення рівня СРБ у випадку запалення ґрунтується на взаємодії патогенів, запальних медіаторів та імунної системи. Що до детального вивчення цих механізмів, то відомо, що: запалення може бути спричинене різними факторами, такими як інфекції, травми, автоімунні реакції тощо. Одним з перших кроків в запальному процесі є активація макрофагів та інших імунних клітин, які починають виробляти спеціальні білки, відомі як цитокіни, включають інтерлейкін-6 (IL-6) та інші запальні медіатори. IL-6 поширюється через кров до печінки, де він зв'язується зі специфічними рецепторами, які знаходяться на поверхні гепатоцитів - основних клітинах печінки. Зв'язування IL-6 з рецепторами гепатоцитів спричинює активацію внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, зокрема шляху JAK-STAT (янускиназа/сигнал-трансдукція і активація транскрипції). Після активації сигнальних шляхів активуються транскрипційні фактори, які взаємодіють з певними ділянками генетичного матеріалу (ДНК) гену СРБ, що призводить до активації транскрипції гену СРБ та початку його синтезу. Після активації гену СРБ рибосоми, що знаходяться в цитоплазмі гепатоцитів, починають активно синтезувати молекули СРБ. Після синтезу СРБ у гепатоцитах білок вивільняється в кровотік. СРБ має здатність зв'язуватися з різними компонентами патогенів, таких як бактерії, віруси або грибки, що сприяє



нейтралізації та усуненню інфекційних агентів. Зв'язування СРБ з патогенами утворює комплекси, які можуть активувати імунні клітини, такі як фагоцити, для боротьби з інфекцією [18].

Важливо підкреслити, що СРБ є лише одним з багатьох біомаркерів запалення, і його рівень може змінюватися в залежності від характеру інфекції або запального процесу.

Цей показник є недосконалим, оскільки збільшення СРБ може спостерігатися не тільки при запаленнях, але й при інших станах, таких як інфекції, травми, онкологічні захворювання та інші. Однак, в комбінації з клінічними даними вимірювання СРБ може бути корисним для оцінки тяжкості запальних захворювань і визначення ефективності лікування [18].

Інший важливий показник запалення - швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ). Високий рівень ШОЕ може свідчити про наявність запалення, оскільки під впливом запальних медіаторів еритроцити згруповуються і осідають швидше, ніж за звичайних умов. Проте, аналіз ШОЕ є менш специфічним і менш чутливим порівняно з іншими методами, і на результати його вимірювання можуть вплинути різні фактори, такі як анемія, вагітність, хронічні захворювання та інші [12].

Існують інші показники запалення, такі як трансформуючий фактор росту бета (TGF- $\beta$ ), туморний некротичний фактор (TNF- $\alpha$ ), інтерлейкін-6 (IL-6) та інші, які вивчаються у контексті запальних захворювань та їх взаємозв'язку з клінічною картиною.

Прокальцитоніни є прекурсорами гормону кальцитоніну, який виробляється у щитоподібній залозі (щитовидній залозі) організму. Кальцитонін зазвичай відповідає за регулювання рівня кальцію в крові. Однак при запаленні, особливо при важких інфекційних станах, рівень прокальцитоніну може підвищуватися значно [5].

Є декілька місць утворення прокальцитоніну в організмі, основні з них:

- Парафолікулярні клітини щитовидної залози: це головне місце утворення прокальцитоніну. При запаленні, зокрема при бактеріальних інфекціях, імунітет виробляє велику кількість прокальцитоніну.

- Нейроендокринні клітини органів нейроектодермального походження: такі клітини можуть виробляти прокальцитонін, і їх вклад у загальний рівень прокальцитоніну під час запалення може бути значним.

- Макрофаги та інші імунні клітини: під час запалення різні типи імунних клітин можуть виробляти прокальцитонін у відповідь на стимулюючі фактори, зокрема на бактеріальні токсини.

Основною причиною збільшення рівня прокальцитоніну є відповідь імунної системи на інфекцію або запалення, зокрема при бактеріальних інфекціях, сепсисі та інших важких інфекційних станах. Сепсис є небезпечним станом, при якому інфекція поширюється по всьому організму через кров. Бактеріальні токсини спричиняють велике збільшення рівня прокальцитоніну. Запалення легенів, спричинене бактеріями або іншими патогенами, може також призводити до підвищення рівня прокальцитоніну.

Інші бактеріальні інфекції, як то інфекції сечовивідних шляхів, мозку, черевної порожнини тощо можуть також збільшувати рівень прокальцитоніну [5].

Механізм збільшення рівня прокальцитоніну пов'язаний з активацією імунної системи під час запалення. Звичайно, рівень прокальцитоніну в організмі є дуже низьким, але під впливом інфекції чи запалення активуються механізми, що сприяють його збільшенню. Так, коли імунітет розпізнає наявність бактерій, він може виробляти реагенти, які стимулюють клітини щитовидної залози, нейроендокринні клітини та імунні клітини для вироблення більше прокальцитоніну. Крім того, імунні клітини, такі як макрофаги, могутні стимулятори прокальцитоніну, виробляють його під час боротьби з інфекцією; певні цитокіни, такі як інтерлейкіни, можуть також активувати клітини, які виробляють прокальцитонін [5].

Підвищений рівень прокальцитоніну не є специфічним індикатором конкретної інфекції, але він є важливим біомаркером для діагностики та оцінки тяжкості інфекційного процесу. Він також може використовуватися для моніторингу ефективності лікування та рішення про призначення антибіотиків [5].

D-дімер - це маркер утворення фібринового сгустку та його розчинення. В наслідок цих процесів в крові людини з'являються фрагменти цього тромба. В нормі у здорової людини виявляються невеликі кількості D-дімера внаслідок того, що приблизно 2-3% нормально виробленого фібриногену проходить бесперервний фізіологічний цикл [1].

З березня 2020р., коли COVID-19 розпочав набирати темпи стали відмічати, що до 16 % пацієнтів, які серйозно хворі на коронавірус демонструють ознаки небезпечних тромбозів. COVID-19 змінює властивості крові, роблячи її більш густою, що в свою чергу може привести до формування тромбів. І тут може бути корисним D-дімер. У людей з венозною тромбоемболією розпад кров'яних згустків, перекриваючих судини, призведе приблизно до 8-разового підвищення рівня D-дімера в плазмі, який надалі згодом повинен знижуватись на тлі специфічної терапії. Рівень D-дімера при аналізі за допомогою високочутливого тесту підвищений майже у всіх пацієнтів з гострим венозним тромбозом, тому у пацієнтів з нормальним його рівнем наявність тромбозів є малоімовірним [3].

Але D-дімер — не є специфічним показником венозної тромбоемболії, його підвищення спостерігається і при багатьох інших станах, які супроводжуються активацією згортання та розчинення тромбів, ось деякі з них: інфекція, запалення (наприклад кишківника), рак, хірургічні операції, травма, опіки, гострий респіраторний дістрес-синдром (один з видів дихальної недостатності), печінкова або ниркова недостатність, вагітність, похилий вік, серцева недостатність, наявність фібриляції передсердь, серцевої недостатності, інсульт, гостре розшарування аорти, захворювання периферичних артерій, тощо. А тому D-дімер ніколи не слід використовувати

як єдиний метод виключення тромбозів і будь-який результат теста треба оцінювати у сукупності із клінічними особливостями конкретної людини [3].

Коли в організмі відбувається запалення або утворення тромбів, фібрин починає утворюватися із збільшеною швидкістю. Зазвичай, фібрин розщеплюється на розчинний продукт (фібрин-деградаційний продукт) під дією фібринолітичної системи, що попереджає зайве згортання крові. Однак, при інфекції або ускладненні інших захворювань, цей процес може порушитися. В такому випадку збільшений рівень D-дімерів відбувається через посилення активації згортання крові та зниження її розщеплення. Під час запалення виштовхується зайвий фібрин, і згортання крові відбувається на швидкість вищу, ніж розщеплення, що призводить до збільшення рівня D-дімерів у крові [3].

Щодо ситуації в Україні, можна зауважити, що дослідження показників запалення та їх кореляція з клінічною картиною не є широко поширеним напрямком. Багато лікарень та діагностичних центрів в Україні можуть вимірювати окремі показники запалення, але вони не завжди використовуються систематично або інтегруються в клінічну практику.

У світі дослідження щодо показників запалення та їх кореляції з клінічною картиною є багатограними і суперечливими. Існують деякі контрольовані дослідження, що підтверджують зв'язок між показниками запалення та ступенем запального процесу, а також їх значущість в прогнозуванні ходу захворювань. Однак, інші дослідження можуть давати протилежні результати або бути недостатньо переконливими. [3].

У цілому, дослідження показників запалення та їх кореляції з клінічною картиною є актуальним напрямком, але вимагає подальшого наукового дослідження та уточнення, як на місцевому, так і на глобальному рівнях.

### **1.3. Характеристика лабораторних методів визначення тяжкості запальної реакції організму**

### 1.3.1. Імуноферментний метод

Існує кілька підходів до класифікації методів ІФА. Один із підходів - це класифікація за типом реагентів, які використовуються на першій стадії ІФА. [23].

*Конкурентний ІФА* - це метод, у якому на першій стадії в системі присутні одночасно аналізоване з'єднання і його аналог, мічений ферментом і конкуруючий за центри специфічного зв'язування з аналізованим антигеном або антитілами.

*Неконкурентний ІФА* - це метод, у якому на першій стадії в системі присутні тільки аналізоване з'єднання і специфічні до нього антигени або антитіла, що сорбовані.

Інший підхід до класифікації методів ІФА - це класифікація за фазами, в яких проходить реакція. [23].

*Гомогенні методи ІФА* - це методи, у яких всі три стадії ІФА проходять в розчині. У цих методах немає необхідності в додаткових етапах для відділення імунних комплексів, що утворилися, від компонентів, які не реагували.

*Гетерогенні методи ІФА* - це методи, у яких реакція проходить в двофазній системі з участю твердої фази - носія. У цих методах обов'язкова стадія відділення імунних комплексів, що утворилися, від компонентів, які не реагували, за допомогою відмивання.

Гетерогенні методи ІФА можна розділити на два типи:

*Твердофазні методи ІФА* - це методи, у яких формування імунних комплексів на першій стадії відбувається на твердій фазі.

*Жидкостні методи ІФА* - це методи, у яких формування імунних комплексів на першій стадії відбувається в рідкій фазі [22].

Характеристика компонентів, що використовуються в ІФА.

#### **Ферменти**

Ферменти використовуються в ІФА в якості міток. Вони мають ряд переваг перед іншими мітками, такими як радіоактивні ізотопи або флуоресценти.

Ферменти мають дуже високу каталітичну активність. Це означає, що одна молекула ферменту може реагувати з великою кількістю молекул субстрату. Завдяки цьому фермент, присутній в дуже малих кількостях, можна виявити і кількісно визначити за утворенням продуктів, в реакції яких він каталізує.

Ферменти мають в своїй молекулі численні функціональні групи (сульфгідрильних, карбоксильних, залишків тирозин та інших), через які можна хімічно приєднати його молекули до антигенів або антитіл. Це дозволяє отримати мітки з високою специфічністю і чутливістю [22].

### **Субстрати**

Поряд з ферментативною активністю кон'югату, великий вплив на чутливість аналізу надає тип субстрату. Продукт ферментативного перетворення субстрату повинен володіти новим фізико-хімічними параметром, що дозволяє детектувати його з високою чутливістю. Такими параметрами є: поглинання світла у видимій області (хромофорних субстрати), флуоресценція у видимій області (флуоресцентні субстрати) і хемілюмінесценція (хемілюмінесцентні субстрати) [22].

- Хромофорні субстрати мають здатність поглинати світло в видимій області спектру. При ферментативному перетворенні вони утворюють продукти, які поглинають світло з більшою інтенсивністю. Це дозволяє виявити продукти ферментативних реакцій за допомогою спектрофотометричного методу.

- Флуоресцентні субстрати мають здатність випромінювати світло в видимій області спектру. При ферментативному перетворенні вони утворюють продукти, які випромінюють світло з більшою інтенсивністю. Це дозволяє виявити продукти ферментативних реакцій за допомогою флуориметричного методу.

- Хемілюменісцентні субстрати. Хемілюмінесцентними субстратами, які найбільш широко застосовуються в ІФА, є люмінол і ізолюмінол. На стадії вимірювання ферментативної активності вони окислюються перекисом водню в присутності кон'югатів з пероксидазою. Випромінювання світла в результаті люмінол - пероксидазної реакції може бути посилене в кілька сотень разів за рахунок використання підсилювачів хемілюменісценції, якими є 6-гідроксібензотіазол, п-іодфенол, п-фенилфенол, 1-бром-2-нафтол та ін. Цей підхід забезпечує значне посилення хемілюменісценції і відповідне підвищення чутливості аналізу [22].

Одним з найбільш важливих компонентів у ІФА є антитіла. Чутливість ІФА залежить від концентрації, активності та специфічності використовуваних антитіл. Використовувані антитіла можуть бути полі – або моноклональними, різного класу (IgG або IgM) та підкласу (IgG1, IgG2). При низькій афінності антитіл розпад комплексу антиген-антитіло призводить до видалення пов'язаного антигену з системи. Чутливість і специфічність методу підвищується при використанні моноклональних антитіл. У цьому випадку з'являється можливість виявляти низькі концентрації антигену у випробовуваних зразках [22, 24].

Тверда фаза - це поверхня, на якій відбувається зв'язування антигену або антитіла з міченими антитілами. Тверда фаза може бути виготовлена з різних матеріалів, таких як полістирол, полівінілхлорид або поліпропілен. Вона може бути представлена стінками пробірки, лунками пластини, смужками або мембранами [22, 24].

#### *Формування імуносорбенту.*

Антиген або антитіло, які будуть зв'язуватися з твердою фазою, зазвичай попередньо адсорбуються на ній. Цей процес називається формуванням імуносорбенту. Адсорбція може здійснюватися фізико-хімічними або біологічними методами.

#### *Фізико-хімічна адсорбція.*

При фізико-хімічній адсорбції антиген або антитіло зв'язується з твердою фазою за рахунок електростатичних, гідрофобних або інших взаємодій. Цей метод є простим і швидким, але він не завжди забезпечує високоефективну адсорбцію [22].

#### *Біологічна адсорбція.*

При біологічній адсорбції антиген або антитіло зв'язується з твердою фазою за допомогою специфічних взаємодій, наприклад, між антигеном і антитілом або між антигеном і лектином. Цей метод забезпечує більш ефективну адсорбцію, але він також більш складний і дорогий.

#### *Блокування неспецифічного зв'язування.*

Після адсорбції антигену або антитіла на твердій фазі можуть залишатися вільні ділянки, які можуть зв'язуватися з іншими молекулами, включаючи кон'югати. Це може призвести до підвищення фонових сигналів і зниження чутливості тесту. Для запобігання неспецифічного зв'язування тверду фазу обробляють нейтральними речовинами, такими як бичачий сироватковий альбумін або казеїн. Ці речовини зв'язуються з вільними ділянками на поверхні твердої фази, запобігаючи їх взаємодії з іншими молекулами [22].

#### *Вибір блокуючого агента.*

Вибір блокуючого агента залежить від типу твердої фази, чутливості системи і інших факторів. Бичачий сироватковий альбумін і казеїн є найбільш популярними блокуючими агентами, оскільки вони є відносно недорогими і ефективними.

#### *Вимірювання ферментативної активності.*

Останнім компонентом специфічного комплексу на твердій фазі є кон'югат. Його ферментативна активність, а, отже, і концентрація, буде пропорційною концентрації решти компонентів комплексу, один з яких підлягає визначенню. Визначення ведуть з урахуванням кінетичних особливостей ферменту-мітки. [19].



*Кінетичні особливості ферменту-мітки.* На величину ферментативної активності впливають такі фактори:

- рН. Ферменти мають оптимальний рН, при якому вони проявляють максимальну активність. Наприклад, оптимальний рН для лужної фосфатази становить 8,6, а для пероксидази - 6,5.

- Температура. Ферменти також мають оптимальну температуру, при якій вони проявляють максимальну активність. Наприклад, оптимальна температура для лужної фосфатази становить 37°C, а для пероксидази - 25°C.

- Концентрація субстрату. Чим вища концентрація субстрату, тим швидше відбувається ферментативна реакція. Однак при дуже високій концентрації субстрату швидкість реакції може почати знижуватися.

- Конформація ферменту. Зміни конформації ферменту можуть призвести до зміни його ферментативної активності [22].

#### *Вимірювання ферментативної активності в ІФА.*

Для вимірювання ферментативної активності в ІФА використовують різні методи, такі як спектрофотометричний, флуориметричний або хемілюмінесцентний.

При спектрофотометричному методі вимірюють поглинання світла продуктом ферментативної реакції. При флуориметричному методі вимірюють випромінювання продуктом ферментативної реакції. При хемілюмінесцентному методі вимірюють хемілюмінесценцію продуктом ферментативної реакції.

#### *Інтерпретація результатів ІФА.*

Залежність величини ферментативної активності специфічного комплексу з ферментною міткою від кількості будь-якого компонента комплексу зображується у вигляді дозопропорційної кривої. На осі абсцис позначають концентрацію реагента, що визначається в пробі, а на осі ординат - інтенсивність сигналу субстрату після його ферментативного перетворення [22].

#### *Чутливість ІФА.*

Чутливість ІФА - це мінімальна концентрація реагента, що визначається, при якій помітна відмінність сигналу для цієї концентрації та нульового стандарту, тобто зразка, що свідомо не містить визначаемого реагента. Ця різниця у величинах сигналів повинна становити 2-3 величини стандартного відхилення.

*Основні принципи постановка твердофазного імуноферментного аналізу.*

Широке розповсюдження отримали різні варіанти твердофазного імуноферментного аналізу (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA). Основні принципи твердофазного ІФА, незалежно від модифікації, полягають в наступному [22].

Етап 1: Адсорбція антигену або антитіла на тверду фазу.

На першому етапі адсорбції антиген або антитіло іммобілізується на твердій фазі, наприклад, пластиковій пластині або мембрані. Цей процес здійснюється за допомогою різних методів, таких як фізична адсорбція, біологічна адсорбція або хімічна адсорбція.

Етап 2: Інкубація досліджуваного зразка.

На другому етапі досліджуваний зразок інкубується з іммобілізованим антигеном або антитілом. Якщо в зразку присутня певна речовина, вона зв'яжеться з іммобілізованим антигеном або антитілом. Інші компоненти зразка видаляються змиванням.

Етап 3: Додавання кон'югату антитіла-ферменту.

На третьому етапі до зразка додається кон'югат антитіла-ферменту. Цей кон'югат складається з антитіла, яке специфічно зв'язується з антигеном, що міститься в зразку, і ферменту, який каталізує реакцію, що дає видимий сигнал. Антитіло в кон'югаті зв'яжеться з антигеном, що зв'язався з іммобілізованим антигеном або антитілом на першому етапі.

Етап 4: Інкубація субстрату ферменту

На четвертому етапі інкубується субстрат ферменту, який каталізується ферментом у кон'югаті. Цей процес призводить до утворення видимого сигналу, наприклад, зміни кольору або флуоресценції.

#### Етап 5: Оцінка сигналу

Інтенсивність видимого сигналу оцінюється за допомогою спектрофотометра, флуориметра або іншого приладу. Інтенсивність сигналу є пропорційною концентрації речовини, що визначається в зразку [22].

Важливим етапом будь-якого варіанту твердофазного аналізу є процедура змивання від незв'язаних реагентів. Важливо не просто сполоснути фіксовані на твердій фазі компоненти, а видалити реагенти з усієї глибини шару. Це найбільш тривалі та трудомісткі етапи аналізу. Промивання проб може проводитися в автоматичному режимі за допомогою спеціального приладу - вошер або вручну за допомогою багатоканальної піпетки [22].

Для проведення ІФА необхідні:

- полістироловий планшет або інші варіанти твердої фази, що використовуються;
- відмиваючий розчин;
- кон'югат (мічені ферментної міткою антигени або антитіла); – суміш використовуваних субстратів;
- розчин, що зупиняє реакцію (стоп-реагент – розчин для зупинення реакції);
- зразки, що використовуються для позитивного та/або негативного контролю;
- стандартний антиген (для побудови калібрувальної кривої);
- одно - і багатоканальні піпетки;
- вошер (промивач);
- оптичний прилад для визначення оптичної щільності досліджуваного розчину (ІФА-зчитувач, який послідовно фотометрирує всі лунки);
- 5-100 мкл досліджуваного біологічного матеріалу [22].

Прямий ІФА.

Антигени можуть адсорбуватися на різних типах пластику в залежності від їх хімічної природи речовин (білки, вуглеводи або ліпопротеїни). Часто в прямому ІФА використовують клітини або інші корпукулярні антигени.

В якості контролю використовують лунки з адсорбованим позитивним контрольним зразком, в якому обов'язково міститься шуканий антиген, і негативним контрольним зразком, що свідомо не містить досліджуваного антигену. При наявності очищеного стандартного антигену реакцію проводять у кількох розведеннях, так щоб можна було побудувати калібрувальну криву.

Вільні місця зв'язування, що залишилися на твердій фазі, блокують за допомогою бичачого сироваткового альбуміну (БСА), казеїну тощо (для запобігання неспецифічній сорбції кон'югату на твердій фазі).

В лунки вносять антигенспецифічні мічені поліклональні антитіла (кон'югат), інкубують. Зв'язування кон'югату з твердою фазою буде відбуватися лише у випадку комплементарності обох компонентів системи. Після інкубації з кон'югатом лунки відмивають, видаляючи, таким чином, частину кон'югату, яка не зв'язалась.

Потім в лунки вносять субстрат, специфічний для використовуваного ферменту, і інкубують. По досягненні оптимального рівня забарвлення в лунках з позитивним контролем, ферментативну реакцію зупиняють [22].

ІФА використовується в різних областях медицини, зокрема для діагностики інфекційних захворювань, визначення аутоімунних захворювань, виявлення онкомаркерів тощо.

Облік реакції. Спочатку результати реакції враховують візуально. Для більш точного обліку результатів інтенсивність фарбування оцінюють на ІФА-зчитувачі з відповідним світлофільтром.

Непрямий ІФА для визначення антитіл. Основні етапи непрямого ІФА для визначення антитіл різних класів.

Цей варіант ІФА використовують звичайно для виявлення специфічних антитіл. У лунках панелей адсорбують стандартний антиген і інкубують із зразками сироватки або іншого біологічного матеріалу, отриманого від

хворого (спинномозкова рідина, слина та ін.). Специфічні антитіла, зв'язавшись з антигеном на твердій фазі, виявляють за допомогою антиглобулінового кон'югату. Основна перевага методу полягає в універсальності кон'югату. Один і той же кон'югат може служити для виявлення антитіл людини до самих різних антигенів у будь-яких зразках [22].

Основні етапи непрямого ІФА для визначення антитіл.

Схема постановки непрямого ІФА залежить від класу антитіл, які визначають.

1. В лунки вносять досліджуваний матеріал, інкубують, проводять процедуру відмивання. Паралельно ставлять проби з позитивним і негативним контролем.

2. Додають анти-IgG кон'югат в робочому розведенні, інкубують, відмивають від незв'язаних компонентів.

3. Вносять субстрат, інкубують. По досягненні оптимального рівня забарвлення в лунках з позитивним контролем реакцію зупиняють, додаючи стоп-розчин.

4. Вимірюють кількість продукту реакції на ІФА-зчитувачі. За оптимальних умов проведення аналізу метод високо специфічний і чутливий. Він дозволяє виявляти нанограмові кількості антитіл у сироватках досліджуваних хворих. [22].

Конкурентний ІФА.

Конкурентний ІФА відрізняється від неконкурентного, як правило, більшою специфічністю за рахунок того, що в якості конкурента в реакцію вводять реагент, що пройшов спеціальний строгий відбір на специфічність.

1. На твердій фазі іммобілізують специфічні для виявляється антигену моноклональні антитіла.

2. В лунки панелей вносять у відомій концентрації антиген, мічений ферментом, і досліджуваний зразок.

Проводять інкубацію і відмивання. Паралельно в сусідніх лунках ставлять позитивний і негативний контролі. Для побудови калібровочної кривої використовують стандартний немічений антиген в різних розведеннях.

3. Додають субстрат, інкубують, зупиняють реакцію при розвитку оптимального забарвлення в лунках з позитивним контролем.

4. Облік реакції на ІФА-зчитувачі. У цьому випадку кількість антигену в досліджуваному зразку оборотне пропорційна ферментативної активності на твердій фазі.

За такою схемою ІФА визначають: вільний тироксин, загальний тироксин, вільний трийотиронін, загальний трийодтрионін, кортизон, оксипрогестерон, естрадіол, дегідроепіандростерон сульфат, мікроальбумін. [22].

Для виявлення антитіл використовується конкурентний метод ІФА. У цьому методі досліджуваний зразок змішується з міченим антитілом, яке зв'язується з антигеном, адсорбованим на твердій фазі. Кількість міченого антитіла, що зв'язується з антигеном, залежить від кількості антитіл у досліджуваному зразку.

Конкурентний метод ІФА має ряд переваг:

- Він простий у виконанні і не вимагає великої кількості реагентів.
- Його легко автоматизувати.
- Він чутливий, оскільки мічене антитіло зв'язується з єдиним епітопом адсорбованого на твердій фазі антигену.

Конкурентний метод ІФА використовується для виявлення різних сполук, включаючи імуноглобуліни людини, раково-ембріональний антиген, інсулін і гормони небілкової природи. Він також використовується для виявлення антитіл до діагностично значущих епітопів інфекційних агентів. [22].

### 1.3.2. Імунохроматографічні методи

Імунохроматографічний аналіз (ІХА) - заснований на реакції між антигеном і специфічним до нього антитілом в біологічних матеріалах (сеча, цільна кров, сироватка або плазма крові, слина, фекалії і т.д.). Даний вид аналізу здійснюється за допомогою індикаторних смужок, паличок, панелей або тест-касет. ІХА часто позначається в літературі також як стрип-тест, QuikStrip cassette, QuikStrip dipstick, експрес-тест або експрес-аналіз. Ці назви пов'язані з швидкістю проведення цього методу аналізу. Результати визначаються візуально в період з 3 по 20 хвилину. [22].

У ІХА- тестах використовується три типи антитіл:

1. Рухомі моноклональні антитіла - це антитіла, які зв'язані з барвником, наприклад, колоїдним золотом. Вони рухаються по тест-смужці разом з біологічним зразком. Ці антитіла нанесені поблизу ділянки занурення тест-смужки у фізіологічну рідину (сечу, кров).

2. Поліклональні антитіла - це антитіла, які зв'язуються з антигеном, що досліджується. Вони жорстко іммобілізовані в тестовій зоні тест-смужки.

3. Вторинні антитіла - це антитіла, які зв'язуються з моноклональними антитілами. Вони жорстко іммобілізовані в контрольній зоні тест-смужки.

Принцип дії імунохроматографічного тесту полягає в тому, що при зануренні тест-смужки в біологічний зразок, антиген, що досліджується, зв'язується з поліклональними антитілами в тестовій зоні. Якщо в зразку присутній антиген, то він також зв'язується з рухомими моноклональними антитілами. Ці антитіла з барвником рухаються по тест-смужці разом з біологічним зразком.

Якщо в зразку присутній антиген, то він також зв'язується з вторинними антитілами в контрольній зоні. Цей зв'язок утворює червону лінію в контрольній зоні, яка є ознакою того, що тест працює правильно. [22].

Основними перевагами використання імунохроматографічних тест-систем є:

1. Простота і зручність — дозволяє отримати результат (аналіз і первинне уявлення про причину захворювання) без устаткування і спеціальних навичок.

2. Надійність — достовірність тестів досягає 99,9%, при цьому кожен тест має вбудований внутрішній контроль.

3. Економічність — мінімальні витрати на придбання тесту і економія часу на проведення обстеження.

4. Анонімність — особливо важлива при виявленні захворювань, що передаються статевим шляхом, інших інфекційних захворювань, а також виявлення фактів вживання наркотичних речовин.

5. Незалежність — не вимагає лабораторії, може бути проведене у будь-який час, коли необхідне обстеження. [22].

Швидкі тести – перший крок, що надає лікарю надійну первинну інформацію про стан хворого та зорієнтує щодо подальших кроків.

### **1.3.3. Ластекс-аглотинація**

Латисна дифузія - це процес хаотичного теплового переміщення молекул ліпідів і білків у площині мембрани. При латеральній дифузії молекули ліпідів, розташовані поруч, змінюють місцями, стрибками, і внаслідок таких послідовних стрибків з одного місця в інше молекула переміщується уздовж поверхні мембрани. [22].

Швидкість латеральної дифузії залежить від температури і складу мембрани. При зниженні температури мембрана стає твердішою, а при підвищенні температури вона переходить в рідкокристалічний стан, в якому молекули ліпідів можуть вільно переміщуватися. [22].

У мембранах, де представлені різні класи ліпідів, фазовий перехід може відбуватися в широкому інтервалі температур. При цьому в мембрані одночасно можуть існувати області, де молекули знаходяться в стані гелю, а інші - в стані рідкого кристала. Цей фазовий розподіл обумовлений швидкістю латеральної дифузії ліпідів в рідкокристалічному стані [13].



Залежно від температури і складу мембрана може існувати в різних фізичних фазах. При зниженні температури мембрана виявляє властивості твердих тіл, при підвищенні температури вона переходить в рідкокристалічний стан, який характеризується більшою рухливістю молекул у площині мембрани. В рідкокристалічному стані коефіцієнти латеральної дифузії майже такі ж високі, як і в воді. Як правило, в такому стані перебувають біологічно активні мембрани при фізіологічних умовах [13].

Латекс-агглютинаційна реакція представляє собою метод діагностики, який використовує адгезію або агглютинацію частинок в присутності специфічних антитіл. Цей метод є швидким і надійним і зазвичай використовується в клінічних лабораторіях для визначення різних аналізів.

Тест включає використання латексних частинок, які складаються з різних органічних матеріалів та можуть бути адаптовані до бажаного діаметру. Ці частинки латексу можуть бути функціоналізовані хімічними групами для полегшення приєднання молекул. Першим застосуванням латексної агглютинації в діагностичному тесті був тест на ревматоїдний фактор, запропонований Зінгером і Плотцем в 1956 році.

Реакція латекс-агглютинації може використовуватися виявлення як антигенів, так і антитіл. Він класифікується як реакція пасивної агглютинації, в якій або антиген, або антитіло наносять на штучні частинки носія, відомі як латексні кульки. Ці тести також називають тестами на латексну фіксацію.

Два основних види тестів, які використовують латексну агглютинацію, включають виявлення антитіл і виявлення антигенів. У випадку тестів для виявлення антитіл, латексні частинки обгортаються специфічними антигенами, а в тестах для виявлення антигенів латексні частинки покриваються відповідними антитілами.

Під час змішування частинок або нерозчинного антигену з відповідними антитілами в присутності електролітів при встановленій температурі і рівні рН, частинки починають об'єднуватися або агглютинувати. Реакції агглютинації можна розділити на прямі, непрямі (пасивні) і зворотно-пасивні.

У прямій реакції аглютинації антиген безпосередньо взаємодіє з антитілом. Навпаки, тест непрямой або пасивної аглютинації включає покриття антигеном поверхні молекули-носія, такої як латексні частинки, і антитіло зв'язується з покриттям антигеном, що призводить до аглютації на поверхні молекули-носія [25].

Тест латекс-аглютинації можна розділити на два основні типи залежно від процесів виявлення: тест латексної аглютинації (LAT) для виявлення антитіл і LAT для виявлення антигену.

Метод латексної аглютинації застосовується для двох основних завдань: виявлення антитіл та виявлення антигенів. В першому випадку це є реакцією пасивної аглютинації, де латексні кульки покриваються специфічними антигенами з метою виявлення наявності антитіл у зразку. Під час змішування зразка (наприклад, сироватки або інших біологічних рідин) з такими кульками, антитіла в зразку взаємодіють з антигенами на кульках. Це взаємодія призводить до злипання або аглютинації латексних кульок, що свідчить про наявність антитіл у зразку.

У випадку виявлення антигенів, це є реакцією зворотної пасивної аглютинації. Поверхню латексних кульок покривають специфічними антитілами з метою виявлення наявності антигенів у зразку. Коли зразок змішується з латексними кульками, покритими антитілами, антигени у зразку зв'язуються з антитілами на кульках. Ця взаємодія також викликає аглютинацію латексних кульок, свідчаючи про наявність антигенів у зразку.

Обидва типи тестів латексної аглютинації дозволяють отримувати цінну інформацію для різних випадків. Тест для виявлення антитіл корисний для визначення наявності конкретних антитіл у зразку пацієнта, що може свідчити про минулу або поточну імунну реакцію на певний антиген. З іншого боку, тест для виявлення антигенів корисний для визначення наявності конкретних антигенів, які можуть свідчити про інфекцію або наявність інших речовин в організмі.

Обидва ці типи тестів латексної аглютинації мають численні переваги, такі як швидкість отримання результатів, простота використання і висока чутливість. Вони широко використовуються в клінічних лабораторіях для діагностики різних аналізів та сприяють виявленню і лікуванню інфекційних захворювань та станів, пов'язаних з імунітетом. [25].

**1.3.4. Метод радіоімунного аналізу (RIA)** представляє собою спосіб виявлення біологічно активних речовин у рідинах, оснований на реакціях антигенів з антитілами в присутності мічених радіонуклідами аналогічних їм речовин, які мають особливі системи зв'язування. Після їх взаємодії утворюється імунний комплекс, який відокремлюється і вивчається його радіоактивність. Відомо, що радіоімунний аналіз проводиться за допомогою стандартних наборів реагентів [23].

Радіоімунний аналіз знаходить широке застосування в медицині та мікробіології. З його допомогою проводиться діагностика серцевих і судинних захворювань, хвороб ендокринної та інших систем організму. Також часто RIA використовуються для виявлення причин безпліддя, патології розвитку плоду. В онкології цей аналіз проводять з метою визначення маркерів новоутворень, щоб мати можливість контролювати ефективність лікування. За допомогою RIA в біологічних рідинах визначають концентрації гормонів, факторів росту, ферментів, автоантитіл, маркерів злоякісних новоутворень та інших речовин (наприклад, лікарських засобів та наркотиків).

В основі RIA лежить феномен конкуренції: зв'язування антитіл з антигеном, позначеним радіоактивним ізотопом, пригнічується в присутності непозначеного антигену.

Сьогодні цей аналіз дозволяє виявляти концентрацію різних гормонів до мільйонної частини одного грама. Таким чином, радіоімунний аналіз крові широко використовується в кардіології, онкології, ендокринології, гінекології та вірусології [23].

В аналізі розрізняють кілька методів, залежно від природи реакції:

- Неконкурентний метод передбачає наступні компоненти реакції: стандартні та визначені антигени, буферний розчин, антитіла, позначені ізотопом, певні антитіла, які зв'язуються на сорбенті. До антитіл додається антиген, який вивчається. Після інкубації утворюються комплекси антиген-антитіло, сорбент промивають, додають позначені антитіла, які вступають у зв'язок з антигеном у складі комплексу. Радіоактивність залежить від концентрації антигену, який вивчається.

- Конкурентний радіоімунний аналіз базується на конкуренції антигену. Тут є такі компоненти реакції, як контрольні і визначені антигени, буферний розчин, певні антитіла, які зв'язуються на сорбенті, а також антиген, позначений ізотопом. Діагностика розпочинається з введення антигену, який вивчається. На сорбенті утворюється комплекс антиген-антитіло. Потім промивають сорбент і додають позначені антитіла. При цьому вони вступають у зв'язок з антитілом. За допомогою лічильників вимірюють реакцію і величину радіоактивності. Вона буде у зворотній пропорції до кількості антигену в пробі.

- Непрямий метод є найпоширенішим. У цьому випадку компоненти реакції мають такі складові, як контрольна і досліджувана сироватка, антигени або антитіла, які пов'язані на сорбенті, антитіла, позначені ізотопами, розчини буферів. Антитіла або антигени, які діагностуються, вступають у реакцію з антигенами або антитілами, які пов'язані на сорбенті. Потім видаляють інкубат, вводять позначені антитіла, які вступають у зв'язок з комплексами антиген-антитіло [23].

Існують численні варіанти РІА (радіоімунний аналіз). Методика називається рідинофазним РІА, де всі реагенти перебувають у розчиненому стані. Також існує твердофазний РІА, де антитіла іммобілізовані на водорозчинному носії, наприклад, на полістиролі. Особливий варіант методу - імунорадіометричний аналіз (ІРМА), де використовуються мічені антитіла, а не мічений антиген.

Принцип РІА застосовується і в інших імунохімічних та неімунохімічних методах аналізу. Наприклад, у ІФА (імуноферментний аналіз) замість радіоактивного ізотопу в якості мітки використовують ферменти, а в імунофлуориметричному аналізі - флуоресцентні речовини. У неімунохімічних методах роль антитіл виконують реагенти, які специфічно зв'язують речовину, що визначається. Цими реагентами можуть бути рецептори гормонів або білки плазми, які зв'язуються. Наприклад, в радіорецепторному аналізі для вимірювання тиреостимулюючих і тиреоблокуючих антитіл використовуються очищені рецептори ТТГ, а для вимірювання рівня вільного Т4 іноді застосовується тироксинзв'язуючий глобулін.

Усі ці методи аналізу називаються методами конкурентного зв'язування.

Оцінка результатів в РІА відбувається по-іншому, ніж в біологічних методах аналізу. РІА є кількісним імунохімічним методом і дає можливість точно виміряти вміст речовини (антигену) в пробі. Результат РІА залежить виключно від співвідношення компонентів реакції антиген-антитіло [23].

### **Резюме**

Як свідчать дані літературних джерел, Мультисистемний запальний синдром, асоційований із COVID-19, у дітей є новим тяжким станом, який розвивається після коронавірусної інфекції. В основі патогенезу цього синдрому є гіперімунна реакція із системною запальною відповіддю організму. Існує кілька лабораторних показників запалення, а саме ШОЕ, СРБ, прокальцитонін, D-дімер, проте їх роль в діагностиці виразності і тяжкості перебігу MIS-C повністю не з'ясована. Дані показники відмічаються у крові пацієнтів різними методами і є потреба у з'ясуванні значущості лабораторних показників системного запалення у дітей із Мультисистемним запальним синдромом, асоційованим із COVID-19.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Дизайн дослідження та характеристика групи дослідження

Проведено спостереження за групою з 16 дітей віком від 1 до 16 років, які отримували лікування в багатопрофільній дитячій лікарні м. Запоріжжя. Усі діти мали діагноз "Мультисистемний педіатричний запальний синдром, асоційований із COVID-19", який був встановлений на підставі клініко-лабораторних критеріїв, рекомендованих ВООЗ та МОЗ України [19].

Вибір пацієнтів для дослідження здійснювався за поточною методологією, включаючи всіх хворих з відповідним діагнозом, які отримували лікування у проміжку від квітня 2020 року до вересня 2021 року.

Середній вік у цій групі становив 8 років зі стандартним відхиленням 4,2. З 11 хлопчиками та 5 дівчатками. З 16 дітей 13 мали діагноз, не пов'язаний з COVID-19: двоє дітей були направлені в стаціонар з підозрою на гострий апендицит, у 4 попередньо діагностований дерматит, по одній дитині попередньо мали такі діагнози, як скарлатина, енцефаліт, флебіт ворітної вени, кавернозна трансформація ворітної вени, токсико-гіпоксичне ураження ЦНС та розлад поведінки, ДВЗ-синдром, реактивний коксит.

Терміни госпіталізації коливались від 1 до 20 днів хвороби, з середньою тривалістю госпіталізації 5 днів і стандартним відхиленням 5,1. П'ятеро з 16 дітей потрапили до лікарні у важкому стані. З них 11 перебували на лікуванні у відділенні інтенсивної терапії в середньому 8 днів зі стандартним відхиленням 4,1.

Щодо COVID-19, 9 дітей мали анамнез інфекції. Проміжок часу від перенесеної коронавірусної хвороби до появи перших симптомів наявного захворювання становив від 8 до 60 днів, тобто від 1 до 8 тижнів. З метою підтвердження перенесеної або наявної коронавірусної хвороби (COVID-19) всім дітям було проведено дослідження методом ПЛР (у 2 з них результат був позитивним) та серологічне дослідження на виявлення антитіл до COVID-19 у

крові. Згідно дослідження, у 12 дітей виявлено антитіла IgG до COVID-19, у 5 дітей - антитіла IgM, а у 3 дітей були знайдені обидва класи антитіл.

Усі діти виявили лихоманку в середньому на 2-й день хвороби, яка тривала 4 дні. Максимальна температура варіювала від 37,2° до 40,4°. З 16 пацієнтів, 9 відзначили виражену слабкість, а 3 – сильний головний біль.

Виражена екзантема спостерігалася у 8 дітей, зазвичай мала дрібнокрапковий характер. Її поява припадала в середньому на 4-й день, а тривалість становила 7 днів. Абдомінальний синдром був виявлений у 8 дітей, і його прояви включали блювання (5 дітей, з'явилося середньо на 3-й день, тривалість 1 день), біль у животі (8 дітей, тривалість 2 дні, з'явився середньо на 2-й день), і діарея (3 дітей, тривалість в середньому 3 дні).

Захворювання також проявилось гепатомегалією (10) та спленомегалією (3). В одного пацієнта спостерігалась одночасно гепатоспленомегалія з лімфаденопатією. Були також зазначені ураження слизової оболонки рота та глотки: фарингіт виявився у 12 дітей з 16, при цьому у 2 з них спостерігався глосит, а у по одній - афтозний стоматит і хейліт.

Міотонічний синдром виявлено у 3 дітей з 16, з них в одного він поєднувався з міальгією, що з'явилася в перший день і тривала 3 дні. Пневмонія виявлена у 3 дітей, гепатит – у 8. У 3 дітей спостерігалися комбінації міотонічного синдрому, пневмонії та гепатиту, а також поєднання міотонічного синдрому з пневмонією або гепатитом в окремих випадках.

Артралгія виявлена лише в 1 дитини. Кардіопатія спостерігалася у 12 дітей, з порушеннями серцевого ритму включаючи синусову аритмію (5), тахікардію (6), брадикардію (4). Дисметаболичні зміни в міокарді виявлені у 9 дітей. Нефропатія виявилася у 8 дітей, а цитопенічний синдром – у 2.

## **2.2. Специфічні методи дослідження**

Всім дітям групи спостереження окрім загальноклінічних методів дослідження було проведено забір крові для специфічного обстеження.

З метою оцінки значимості лабораторних показників запалення у перебігу MIS-C брали до уваги виразність описаних клінічних симптомів та їх тривалість, а також результати дослідження ЗАК, біохімічні показники крові (АЛТ, креатинін, загальний білок) і рівнів СРБ, прокальцитоніну та D-дімеру крові в динаміці спостереження за пацієнтами. Брали до уваги результати показників, які отримані у перший день стаціонарного лікування, та найбільш змінені в динаміці.

Рівні СРБ, прокальцитоніну та D-дімеру визначали за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) – вид імуноаналізу, який використовує реакцію антиген-антитіло для виявлення мітки-ферменту за активністю.

Антиген - це речовина, яка викликає імунну відповідь. Антитіло - це білок, який виробляється організмом у відповідь на антиген. Антитіла зв'язуються з антигенами, щоб їх нейтралізувати.

Різні ферменти можна ковалентно приєднувати до антигену або антитіла різними хімічними методами за умови збереження біологічної активності та імунологічної специфічності антигену, антитіл, ферментів.

Більшість антигенів і антитіл мимовільно сорбується на поверхні пластику (полістиролу) і зберігає при цьому здатність до специфічного зв'язування відповідно антитіл та антигену.

ІФА використовує фермент, який прикріплюється до антитіла. Коли антитіло зв'язується з антигеном, фермент активується і починає каталізувати хімічну реакцію. Ця реакція може бути виявлена за допомогою специфічної речовини, яка змінює свій колір або флуоресценцію.

Сорбцію антигену або антитіл на поверхні пластику називають сенсibilізацією. Сорбовані на пластику антиген та антитіло не змиваються буфером, що містить детергент, не пов'язані антиген та антитіло легко віддаляються відмиванням. Пластик з сорбованими на ньому антитілами або антигеном отримав назву імуносорбент. Досліджуваний зразок і стандартні реагенти інкубують в сенсibilізованих лунках пластикових планшетів. При



інкубації на поверхні лунок формуються імунні комплекси антиген-антитіло [23].

Будь – який варіант ІФА містить 3 обов'язкові стадії:

1) стадія впізнавання шуканого з'єднання специфічним до нього антитілом, що веде до утворення імунного комплексу;

2) стадія формування зв'язку кон'югату (мічені ферментної міткою антигени або антитіла) з імунним комплексом або з вільними місцями зв'язування;

3) стадія перетворення ферментної мітки в реєстрований сигнал [23].

Імунохроматографічні методи використали для підтвердження наявності інфікування COVID-19. Це були «швидкі» тести.

Час отримання результатів таких тестів займає 10 – 20 хвилин. Точність досліджень досягає 100%.

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) використовувалась з метою підтвердження наявності COVID-19 на слизових оболонках. ПЛР - це метод молекулярної біології, який використовується для ампліфікації фрагментів ДНК. Ампліфікація - це процес множення кількості молекул ДНК. ПЛР широко використовується в лабораторіях для діагностики захворювань, дослідження генетики та біотехнології.

ПЛР відбувається в кілька етапів:

- Денатураційний етап: ДНК розривається на два окремих ланцюги за допомогою високої температури.

- Аплікація праймерів: На розірвані ланцюги ДНК додаються праймери, які є короткими молекулами ДНК, які комплементарні до певних ділянок ДНК.

- Елонгаційний етап: ДНК-полімераза додає нуклеотиди до праймерів, розширюючи ланцюги ДНК.

- Температурна пауза: Температура знижується, щоб праймери могли зв'язатися з новими ланцюгами ДНК.

Ці етапи повторюються багато разів, що призводить до експоненціального зростання кількості молекул ДНК.

### **2.3. Методи статистичної обробки результатів**

Для статистичної обробки отриманих результатів було використано методи параметричної статистики. Середнє значення ( $M$ ) використали для розрахунку середнього значення величини в наборі даних. Воно обчислюється як сума всіх значень, поділена на їхню кількість. Середнє значення є показником центральної тенденції.

Стандартне відхилення ( $m$ ) визначали як ступінь розкиду даних навколо середнього значення. Стандартне відхилення є квадратним коренем дисперсії і використовується для вимірювання розкиду даних. Ці параметри дозволяють оцінити стабільність та варіабельність вимірювань.

За допомогою коефіцієнта кореляції Спірмена ( $r$ ) вимірювали ступінь взаємозв'язку між двома змінними величинами. Це дозволяє визначити, чи і наскільки зміна одного показника пов'язана зі зміною іншої.

### РОЗДІЛ 3

## ЗМІНИ ЗАГАЛЬНОГО АНАЛІЗУ КРОВІ ПРИ МУЛЬТИСИСТЕМНОМУ ЗАПАЛЬНОМУ СИНДРОМІ У ДІТЕЙ, АСОЦІЙОВАНОГО З COVID-19

Нами був проведений аналіз результатів дослідження рівнів лейкоцитів, ШОЕ та гемоглобіну у 16 дітей із MIS-C (табл. 3.1, 3.2). Порівнювали показники під час надходження до стаціонару та максимальні для лейкоцитів і ШОЕ, а також мінімальні для гемоглобіну і еритроцитів. За результатами аналізу виявлено, що середнє значення кількості лейкоцитів становило  $19,22 \pm 12,12 \times 10^9/\text{л}$ . При цьому в 9 з 16 (56,25%) дітей мав місце підвищений рівень лейкоцитів, і лише в однієї дитини спостерігалось їх зниження (6,25%). Щодо максимальних рівнів лейкоцитів в динаміці хвороби, то в 14 з 15 (93,3%) дітей він був підвищений, а середнє значення максимальної кількості лейкоцитів становило  $26,0 \pm 16,21 \times 10^9/\text{л}$ . Отже цей показник не тільки був високим на момент надходження до стаціонару, а і зростав в динаміці хвороби і практично у всіх був значно підвищений.

Стосовно ШОЕ, то середнє значення становило  $26 \pm 16,21$  мм/год. У 13 з 16 (81,25%) дітей було виявлено вищі за норму показники, а у одного - нижчі (6,25%). ШОЕ при оцінці максимальної величини було підвищене у 14 з 15 дітей (93,3%), тоді як його зниження в жодного пацієнта не виявлено. В динаміці хвороби ще у обох дітей підвищується показник ШОЕ і середнє значення становило  $34,06 \pm 15,46$  мм/год.

Щодо рівнів еритроцитів при надходженні в лікарню, то середнє значення становило  $4,30 \pm 0,68 \times 10^{12}/\text{л}$ . В 3 з 16 дітей він був підвищеним (18,75%), а в однієї дитини - зниженні (6,25%). Отже, анемія була вірним проявом MIS-C.

Середнє значення гемоглобіну при надходженні було  $113,62 \pm 15,62$  г/л, при цьому у 5 з 16 (31,25%) дітей він був знижений, а підвищення не спостерігалось у жодного. Мінімальний рівень гемоглобіну на зниженому

рівні був у 8 дітей під час перебування в лікарні (72,73%). Середнє значення рівнів гемоглобіну в найменшому рівні становило  $100,81 \pm 15,06$  г/л. Всі дані результати були наведені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1.

**Показники кількості лейкоцитів, ШОЕ та гемоглобіну крові дітей із Мультисистемним запальним синдромом, асоційованим із COVID-19**

	Лейк · ДН ( $\times 10^9$ /л)	Лейк · Макс ( $\times 10^9$ /л)	ШОЕ ДН (мм/год)	ШОЕ макс (мм/год)	Еритроцит и ДП ( $10^*12$ /л)	Ер. Мін. ( $10^*12$ /л)	Гемоглобі н (г/л)	Гем · Мін · (г/л)
1	55,8	55,8	20	22	3,5	2,8	93	75
2	6,4	13,1	40	40	4,2	4	108	98
3	12	23,6	50	50	4,5	4,1	119	106
4	13,3	14,9	65	65	4,11		112	
5	9,1	18,3	15	18	4,2		120	
6	10,6	23,7	29	58	4,5	4,1	120	102
7	11	12,4	13	24	5,5		148	
8	1,9	1,7	6	10	5,36		117	
9	8,2	14	26	27	4,1	4,1	106	106
10	8,5		3		5		124	
11	16,1	12	18	30	2,9	2,9	85	85
12	6,3	17,3	27	35	4,4	4,3	123	119
13	6,4	10,2	24	24	4,6	4	124	108
14	13,9	28	40	48	4	4	116	116
15	24,7	24,7	25	25	3,36	2,6	87	79
16	18,2	18,6	15	35	4,7	4,3	116	115

Примітка: ДН - день надходження

мін – мінімальне значення показника

макс – максимальне значення показника

Проведений аналіз стану лейкоцитарної формули показав, що середнє значення відсотків еозинофілів крові серед 16 дітей становило  $2,81 \pm 4,32\%$ . Під час госпіталізації в лікарню у 2 (12,5%) дітей було виявлено підвищені показники еозинофілів, тоді як у 7 (43,75%) спостерігалась норма, і ще в 7 зниження показників (43,75%). При цьому за норму приймали показник 0,5-7% клітин.

Показник паличкоядерних нейтрофілів на момент госпіталізації у 14 з 16 (87,5%) дітей перевищував норму, яка для дітей становить 0,7-5,0%. Середнє значення паличкоядерних нейтрофілів у пацієнтів складало  $32,37 \pm 21,83\%$ . Максимальне підвищення показників паличкоядерних нейтрофілів впродовж спостереження мало місце у 16 з 16 (100%) дітей, при чому середнє значення цього показнику у динаміці хвороби зростало до  $40,85 \pm 18,26\%$ , не дивлячись на проходження терапії. Наведені результати представлені у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2.

**Відсоткові показники лейкоцитарної формули крові дітей із  
Мультисистемним запальним синдромом, асоційованим із COVID-19**

	Е ДН (%)	Пя ДН (%)	Пя макс (%)	Ся ДН (%)	Лімф ДН (%)	Лімф макс (%)	Моноц ДН (%)	Моноц макс (%)
1	1	0	18	35	2	2	2	
2	2	45	45	29	20	20	4	4
3	0	31	31	61	6	6	2	2
4	0	26	26	56	11	11	7	5
5	0	75	75	8	12	12	5	5
6	3	24	45	44	22	6	7	3
7	3	49	49	29	11	11	8	8
8	1	38	38	10	39	39	12	7
9	0	5	15	72	17	17	6	2
10	7	6	28	50	33		4	
11	3	24	24	62	9	9	2	2
12	10	41	41	23	17	30	9	9
13	0	64	64	22	10	29	10	10
14	0	57	65	38	2	35	2	8
15	0	15	15	80	3	22	2	7
16	15	18	39	54	10	31	0	5

Примітка: Е – еозинофіли;  
Пя – паличкоядерні нейтрофіли;  
Ся – сегментоядерні нейтрофіли;  
ДН - день надходження  
мін – мінімальне значення показника  
макс – максимальне значення показника

Щодо сегментоядерних нейтрофілів, то при надходженні в лікарню 4 з 16 (25%) дітей мали підвищені їх показники, при тому, що ще 4 з 16 (25%) мали його зниження. Середнє значення між даними % у 16 дітей складало  $42,06 \pm 21,38\%$ , отже було доволі варіабельним.

Показник % лімфоцитів був знижений у 13 з 16 (81,25%) дітей при надходженні в лікарню, а його підвищення спостерігалось лише у 2 (12,5%). Середнє значення цього показника склало  $14 \pm 10,50\%$ , що свідчить про наявність лімфопенії у більшості пацієнтів з MIS-C.

Відсоток моноцитів був підвищений лише у 1 з 16 (6,25%) дітей і середнє значення цього показнику у групі спостереження становило  $5,12 \pm 3,46\%$ , отже не відрізнялося від норми.

### **Резюме**

В дослідженні було виявлено зміни у рівнях лейкоцитів, ШОЕ та гемоглобіну у дітей під час перебування в лікарні з MIS-C. Підвищений рівень лейкоцитів та ШОЕ були характерними ознаками запального процесу, тоді як знижені рівні гемоглобіну рідко свідчили про анемію. Дані дослідження можуть бути корисними для більш ефективної діагностики та моніторингу стану дітей з інфекційними захворюваннями під час госпіталізації.

Слід також звернути увагу на зміни лейкоцитарної формули ЗАК у дітей з MIS-C, а саме на підвищення відсоткового показника паличкоядерних нейтрофілів та зниження лімфоцитів.

## РОЗДІЛ 4

### ЗМІНИ ЛАБОРАТОРНИХ ПОКАЗНИКІВ СИСТЕМНОГО ЗАПАЛЕННЯ ТА БІОХІМІЧНИХ ОЗНАК УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ТА НИРОК ПРИ МУЛЬТИСИСТЕМНОМУ ЗАПАЛЬНОМУ СИНДРОМІ У ДІТЕЙ, АСОЦІЙОВАНОМУ З COVID-19

#### 4.1. Лабораторні показники системного запалення та біохімічних проявів ураження органів при Мультисистемному запальному синдромі у дітей, асоційованому із COVID-19

Дослідження біохімічних показників крові 16 дітей на час госпіталізації (табл. 4.1.1.) показало наявність змін рівнів аланінамінотрансферази (АЛТ), креатиніну та загального білка. При порівнянні з нормальними значеннями виявлено, що 10 з 16 (62,5%) дітей мали підвищені рівні АЛТ. Середнє значення АЛТ крові пацієнтів склало  $1,36 \pm 1,55$  ммоль/л/год. Ми також зауважили, що в динаміці хвороби ще у двох дітей рівень АЛТ зріс. Отже, переважна більшість пацієнтів з MIS-C мали лабораторні прояви ушкодження печінки.

Стосовно креатиніну було з'ясовано, що у 8 дітей з 15 (53,3%) спостерігалось збільшення цього показника вище нормального діапазону, який становить 35-110 мкмоль/л. Середнє значення креатиніну в групі склало  $161,73 \pm 118,06$  ммоль/л. В подальшому спостереженні ми відмітили, що ще в однієї дитини зріс рівень креатиніну й середнє значення цього показнику в динаміці виросло до  $162,66 \pm 117,63$  ммоль/л.

Щодо загального білка, на момент надходження до стаціонару було виявлено зниження цього показника у 5 дітей з 13 (38,5%), а середнє значення загального білка крові склало  $63,07 \pm 10,06$  г/л, при нормі 60-80 г/л. В динаміці спостереження було відмічено зниження рівня загального білку крові ще у двох хворих і середнє значення стало дорівнювати  $56,77 \pm 7,25$  г/л.

**Біохімічні показники крові дітей із Мультисистемним запальним синдромом, асоційованим із COVID-19**

	АЛТ ДН (ммоль/л/год)	АЛТ макс (ммоль/л/год)	Креат ДН (ммоль/л)	Креат. макс (ммоль/л)	Заг. білок ДН (г/л)	Заг. білок мін (г/л)
1	1,3	1,4	486	486	42	42
2	4,7	4,7	165	165	56	54
3	1,12	1,12	126	126	77	60
4	1,2	1,8	79	79		
5	1,08	1,08	105	105	62	
6	1,08	1,08	104	118	74	
7	5,7	5,7	94	94	65	
8	0,41	0,41	78	78		
9	0,9	0,9	148	148	70	
10	0,79	0,79	70	70		
11	0,12	0,12	381	381	57	57
12	1,3	1,3			75	58
13	0,43	55	148	148	64	64
14	0,7	31,5	208	208	50	50
15	0,15	0,78	136	136	61	61
16	0,85	0,85	98	98	65	65

Примітка: ДН – день надходження;  
 Макс – найвищій показник;  
 Мін – найнижчій показник

Результати лабораторних досліджень, що свідчать про запальний синдром, наведені в таблиці 4.1.2.

Як впливає з таблиці, рівень СРБ був збільшений у кожного другого - у 6 дітей на час госпіталізації, середнє значення цього показнику становило  $59,15 \pm 107,20$  нмоль/л при нормі нижче 5 нмоль/л. В подальшому у однієї дитини рівень СРБ зріс додатково і середній показник став вище і склав  $60,88 \pm 106,39$  нмоль/л.

Щодо прокальцитоніну, то у всіх обстежуваних дітей спостерігалось збільшення показника вище нормального діапазону, який складає до 0,1 нг/мл і середнє значення прокальцитоніну для крові склало  $5,18 \pm 8,68$  нг/мл.



Таблиця 4.1.2.

**Лабораторні показники запальної відповіді крові дітей із  
Мультисистемним запальним синдромом, асоційованим із COVID-19**

	СРБ ДН (нмоль/л)	СРБ макс (нмоль/л)	ПКТ ДБ (нг/мл)	ПКТ макс (нг/мл)	Д-димер ДН (нг/мл)	Д-димер динаміці (нг/мл)	в
1	100	100	19,7	19,7	12028	12028	
2	2	2					
3			1	1	2765	2765	
4	1	1					
5	10,2	10,2	0,62		1,5		
6	3	3	1,12	1,12	2452	15000	
7							
8			0,196	0,196			
9							
10							
11	1	1					
12	95,9	95,9	1,69	1,69	1632	120	
13			21,25	21,25	4400		
14	343,9	343,9	0,4	0,4	4251		
15	6	23,3	0,66	0,66	4400	4400	
16	28,5	28,5			500	500	

Примітка: ДН – день надходження;  
Макс – найвищий показник;  
Мін – найнижчий показник  
ПКТ - прокальцитонін

Рівень D-димеру також був підвищений практично у всіх (у 8 дітей з 9 обстежених) під час надходження в лікарню. При цьому показники були вкрай варіабельними і середнє значення склало  $3603,27 \pm 3556,37$  нг/мл, при нормі до 250 нг/мл. Ми відмітили, що в подальшому відмічене зростання цього показника в динаміці і середнє значення зросло до  $5802,16 \pm 6244,22$  нг/мл.

**4.2. Особливості кореляційних взаємозв'язків лабораторних показників запалення із іншими клінічними та лабораторними**

**показниками при Мультисистемному запальному синдромі у дітей, асоційованому із COVID-19**

Проведення кореляційного аналізу між лабораторними показниками запалення (СРБ, прокальцитонін, ШОЕ, D-дімер) та іншими клінічними та лабораторними показниками при Мультисистемному запальному синдромі у дітей, асоційованому із COVID-19 (табл. 4.2.1.), продемонструвало певні взаємозв'язки, які впливали на перебіг хвороби.

Таблиця 4.2.1.

**Кореляційні взаємозв'язки лабораторних показників запалення із іншими клініко-лабораторними проявами MIS-C ( r )**

	СРБ	Прокальцитонін	D-дімер	ШОЕ
Стан при надходжені	<b>0,43*</b>	0,15	0,69	-0,01
t° при надходжені	<b>0,30*</b>	-0,14	<b>-0,37*</b>	<b>0,35*</b>
Тривалість ↑t°	<b>0,47*</b>	0,12	0,15	0,12
Наявність висипки	<b>0,34*</b>	-0,07	0,18	-0,11
Біль у животі	<b>-0,31*</b>	-0,01	<b>-0,38*</b>	<b>0,42*</b>
АЛТ при надходжені	-0,15	0,03	0,05	0,05
АЛТ максимальне	<b>0,91*</b>	<b>0,51*</b>	0,11	-0,01
Креатинін при надходжені	0,22	<b>0,63*</b>	<b>0,94*</b>	-0,04
Креатинін максимальний	0,22	<b>0,63*</b>	<b>0,94*</b>	-0,04
К-ть лімфоцитів при надходжені	<b>-0,47*</b>	<b>-0,31*</b>	<b>-0,55*</b>	<b>-0,41*</b>
К-ть лімфоцитів максимальна	<b>-0,52*</b>	-0,18	<b>-0,35*</b>	-0,23
К-ть лейкоцитів при надходжені	0,11	<b>0,49*</b>	<b>0,85*</b>	-0,01
К-ть лейкоцитів максимальна	<b>0,36*</b>	<b>0,36*</b>	<b>0,85*</b>	0,11
% паличкоядерних при надходжені	0,27	-0,12	<b>-0,51*</b>	0,07
% паличкоядерних максимальна	<b>0,46*</b>	<b>0,33*</b>	-0,21	-0,18
К-ть тромбоцитів при надходжені	<b>-0,39*</b>	0,05	-0,07	-0,03
К-ть тромбоцитів мінімально	<b>-0,99*</b>	<b>0,59*</b>	-0,01	<b>-0,98*</b>

Примітка: \* - достовірність кореляційних взаємозв'язків -  $p < 0,05$

Як можна побачити у таблиці, рівень СРБ на момент надходження до стаціонару прямо корелював із такими клінічними ознаками, як стан хворого, висота температурної реакції та тривалість гіпертермії, наявність висипки, а також зворотньо - із наявністю абдомінального болю. Також було відмічено, що вищим показникам СРБ відповідали найбільш високий рівень ураження печінки (збільшений рівень АЛТ) та найзначуща лейкопенія. Саме цей показник мав найбільшу кількість достовірних кореляційних зв'язків, отже вже на момент надходження до стаціонару відіграє суттєве значення для визначення тяжкості та прогнозування перебігу хвороби.

Ми також з'ясували, що рівень прокальцитоніну крові не мав достовірних кореляційних зв'язків із клінічними показниками запального синдрому, проте суттєво прямо корелював із рівнем АЛТ ( $r = 0,51$ ); креатиніну ( $r = 0,63$ ) та кількістю лейкоцитів ( $r = 0,49$ ), а зворотньо з кількістю лімфоцитів ( $r = -0,30$ ). Отже, показник прокальцитоніну крові не повинен розглядатися як важливий у розвитку клінічних симптомів, як то підвищення температури тіла, наявність висипки та абдомінального болю. Проте, рівень цієї сполуки напряду пов'язаний із формуванням лімфопенії та ушкодженням печінки і нирок.

Щодо такого показника як ШОЕ, то він мав кореляційні зв'язки помірної сили лише із рівнем підвищення температури тіла, абдомінальним больовим синдромом і виразністю лімфопенії. Найбільш сильно з порушенням органів, а саме рівнем АЛТ та креатиніну, корелював рівень D-дімеру ( $r = 0,94$  та  $r = 0,94$ , відповідно), що на нашу думку може свідчити про роль надлишкового тромбоутворення в патогенезі ураження печінки та нирок. Також цей показник має сильний кореляційний зв'язок із виразністю лейкоцитозу ( $r = 0,85$ ) та лімфопенії ( $r = -0,55$ ).

### **Резюме**

У більшості дітей MIS-C має місце лабораторне підтвердження ушкодження гепатоцитів та нирок. Кожен пацієнт з Мультисистемним

запальним синдромом, асоційованим із COVID-19, має лабораторні зміни, що вказують на системне запалення, а саме у 70% - підвищений рівень СРБ та у 56,3% - прокальцитоніну. При цьому, рівні СРБ прямо корелюють як з клінічними проявами запалення у вигляді загального стану, температурної реакції та наявності висипки ( $r = 0,30$  та  $0,47$  та  $0,34$ , відповідно), так і з лабораторними ознаками ураження печінки ( $r = 0,91$ ) та виразністю лімфопенії ( $r = -0,47$ ), тоді як вміст прокальцитоніну лише з лабораторними.

Рівень D-дімеру, як маркер надлишкового тромбоутворення, є підвищений у кожного другого із Мультисистемним запальним синдромом, асоційованим із COVID-19, і його вміст сильно прямо корелює із ураженням нирок підвищенням рівню креатиніну ( $r = 0,94$ ).

## ВИСНОВКИ

1. Мультисистемний запальний синдром, асоційований із COVID-19, є тяжким станом в основі патогенезу якого є розгортання гіперзапальної відповіді, що потребує визначення ролі лабораторних показників в трактуванні його реалізації.
2. Найбільш значущими змінами загального аналізу крові у хворих на Мультисистемний запальний синдром, асоційований із COVID-19, є лейкоцитоз, який реєструється у 93,3% хворих, прискорення ШОЕ - у 93,3%, лімфопенія - у 81,2% та паличкоядерний зсув лейкоцитарної формули - у 87,5%
3. У 10 з 16 хворих відмічені лабораторні ознаки пошкодження гепатоцитів у вигляді зростання рівню АЛТ та у 53,3% порушення функції нирок із зростанням рівню креатиніну крові.
4. Кожен пацієнт з Мультисистемним запальним синдромом, асоційованим із COVID-19, має лабораторні зміни, що вказують на системне запалення, а саме у 70% - підвищений рівень СРБ та у 56,3% - прокальцитоніну. При цьому, рівні СРБ прямо корелюють як з клінічними проявами запалення у вигляді загального стану, температурної реакції та наявності висипки ( $r = 0,30$  та  $0,47$  та  $0,34$ , відповідно), так і з лабораторними ознаками ураження печінки ( $r = 0,91$ ) та виразністю лімфопенії ( $r = -0,47$ ), тоді як вміст прокальцитоніну лише з лабораторними.
5. Рівень D-дімеру, як маркер надлишкового тромбоутворення, є підвищений у кожного другого із Мультисистемним запальним синдромом, асоційованим із COVID-19, і його вміст сильно прямо корелює із ураженням нирок з підвищенням рівню креатиніну ( $r = 0,94$ ).

## **ПРАКТИЧНІ РЕКОМАНДАЦІЇ**

1. З метою прогнозування тяжкості перебігу Мультисистемного запального синдрому, асоційованого із COVID-19, у дітей необхідно з перших днів лікування визначити рівень СРБ крові та при високих значеннях діагностувати важкий перебіг.
2. При важкому перебігу Мультисистемного запального синдрому, асоційованого із COVID-19, у дітей з метою прогнозування розвитку нефропатії слід визначити рівень D-дімеру в крові.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Admission D-dimer levels, D-dimer trends, and outcomes in COVID-19. Leonard Naymagona, Nicole Zubizarretab, Jonathan Felda, Maaike van Gerwenc, Mathilda Alsenc, Santiago Thibauda  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0049384820304709>
2. CDC (2021). Information for Healthcare Providers about Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C).  
[https://www.cdc.gov/mis/mis-c/hcp\\_estecdc/index.html](https://www.cdc.gov/mis/mis-c/hcp_estecdc/index.html)
3. D-дімер  
["HTTPS://RISHON.COM.UA/UK/STATYI/D-DIMER"](https://RISHON.COM.UA/UK/STATYI/D-DIMER)
4. D-лактат, С-реактивний білок, прокальцитонін. Зенькова С.К., Семенов В.М., Веремей і.С., Кубраков К.М., Васильєва М.А., Жильцов і.В.  
<https://core.ac.uk/download/pdf/80151379.pdf>
5. F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z. та ін. Клінічний перебіг і ризик, фактори смертності дорослих пацієнтів із COVID-19. Китай: ретроспективне когортне дослідження. 2020.
6. Heikki T. Мультисистемний запальний синдром у дітей (MIS-C), пов'язаний з інфекцією COVID-19. EBM Guidelines «Клінічні настанови на засадах доказової медицини». 2021.  
<https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2022/01/multysystemnyj-zapalnyj-syndrom-u-ditej-mis-c-covid-19.pdf>
7. MIS-C: A Guide for Families, by the American Academy of Pediatrics (AAP) (AAP, 2022)  
<https://www.aap.org/en/pages/2019-novel-coronavirus-covid-19-infections>
8. Multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) interim guidance.  
<https://www.cdc.gov/mis/mis-c/hcp/index.html>
9. Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) Interim Guidance. Last Updated 11/15/2021.

<https://www.aap.org/en/pages/2019-novel-coronavirus-covid-19-infections/clinical-guidance/multisystem-inflammatory-syndrome-in-children-misc-interim-guidance/>

10. Антонюк Л.В., Прокоф'єв М.В., Климович М.М. Мультисистемний запальний синдром, асоційований з COVID-19 у дітей. КНП «Центральна міська клінічна лікарня» м. івано-Франківськ. 2021.

<http://baltijapublishing.lv/omp/index.php/bp/>

11. Ведення мультисистемного запального синдрому, асоційованого з SARS-CoV-2, та гіперзапалення в ході COVID-19 у дітей. Актуальні клінічні настанови American College of Rheumatology. 1-ша частина.

<https://empendium.com/ua/chapter/B27.1374.98>.

12. Ведення мультисистемного запального синдрому, асоційованого з SARS-CoV-2, та гіперзапалення в ході COVID-19 у дітей. Актуальні клінічні настанови American College of Rheumatology. 2-га частина.

["https://empendium.com/ua/chapter/B27.1374.99"](https://empendium.com/ua/chapter/B27.1374.99)

13. ДИФУЗІЯ ЛАТЕРАЛЬНА

["https://jak.koshachek.com/articles/difuzija-lateralna-dovidnik-himika-21.html"](https://jak.koshachek.com/articles/difuzija-lateralna-dovidnik-himika-21.html)

14. Кеч Н.Р., Гнатейко О.З., Лук'яненко Н.С., Осадчук З.В., Чайковська Г.С. Особливості перебігу мультисистемного запального синдрому у дітей з COVID-19. Львів: «інститут спадкової імунології НАМНУ» 206 с.

15. Коронавірусна хвороба COVID-19

<https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2022/01/koronavirusna-hvoroba-covid-19.pdf>

16. Литвин Г.О., Стасів М. В., Покровська Т.В. Клініко-лабораторні особливості дитячого мультисистемного запального синдрому асоційованого з COVID-19. Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького. 2021. 516 с.

[https://www.researchgate.net/publication/365409235\\_Hatnuk\\_NS\\_Timosevska\\_K\\_U\\_Metelica\\_DU\\_Pravovij\\_status\\_spozivaciv\\_ak\\_sub%27ektiv\\_gospodarskih\\_prav](https://www.researchgate.net/publication/365409235_Hatnuk_NS_Timosevska_K_U_Metelica_DU_Pravovij_status_spozivaciv_ak_sub%27ektiv_gospodarskih_prav)



[ovidnosin I Miznarodna naukovo-practicna konferencia International science conference on multidisciplinary](#)

17. Мультисистемний запальний синдром у дітей  
["HTTPS://IRIN.COM/MEDYTSYNA/MULTISISTEMNIJ-ZAPALNIJ-SINDROM-U-DITEJ.HTML"](https://irin.com/medytsyna/multisistemnij-zapalniy-sindrom-u-ditej.html)

16. Мультисистемний запальний синдром, асоційований з інфекцією SARS-Cov-2, у дітей/ Самофал В.М., Різник А.В., Кіракозова і.В. Мультисистемний запальний синдром (mis-c) у дітей та підлітків як прояв коронавірусної хвороби. Дніпровський державний медичний університет, кафедра педіатрії № 2 КН «ДОДКД» Дніпро. 2021.

17. Мультисистемний запальний синдром у дітей та підлітків тимчасово пов'язані з COVID-19. Scientific Brief. Geneva: World Health Organization. 2020.

18. Павлишин Г.А., Дивоняк О.М., Боярчук О.Р., Томашівська Т.В., Чорнота і.Д., Слива В.В., Горішна і.Л., Панченко О.і. Мультисистемний запальний синдром, асоційований із SARS-COV-2 у дитини. Тернопільський національний медичний університет ім. і.Я. Горбачевського. КНП «Тернопільська міська дитяча комунальна лікарня» 61 с.

19. Н.В. Колісник, Л.О. Омелянчик. МЕТОДИ ЛАБОРАТОРНОЇ ІМУНОЛОГІЇ. Навчальний посібник для спеціалістів і магістрів біологічного факультету с.30

[blob:https://web.telegram.org/ef65da74-34d7-4f26-ae1e-b640bcb82aae](https://web.telegram.org/ef65da74-34d7-4f26-ae1e-b640bcb82aae)

19. Науково-практична конференція з міжнародною участю «іпіп-2023: інтернаціональна платформа інтегративної педіатрії» присвяченої пам'яті видатного українського вченого-педіатра намн україни віталія григоровича майданника 19.04-20.04.2023.

<file:///C:/Users/rrosy/Downloads/977-%D0%A2%D0%B5%D0%BA%D1%81%D1%82%20%D1%81%D1%82%D0%B0%D1%82%D1%82%D1%96-1594-1-10-20230710.pdf>

20. Радіоімунний аналіз у мікробіології: використання, механізм

21. Реакция латексной агглютинации.

<https://microbiologynote.com/ru/latex-agglutination-test-procedure-principle-inhibition-limitation-uses/>

22. Самофал В.М., Різник А.В., Кіракозова і.В. Мультисистемний запальний синдром (MIS-C) у дітей та підлітків як прояв коронавірусної хвороби. In: Новини і перспективи медичної науки : зб. мат. XXі конф. студ. та мол. учених: [під ред. Твердохліба і.В., Бондаренко Н.С.]. МОЗ України, Дніпро, 2021, С. 79-80.

<https://repo.dma.dp.ua>

23. С-реактивний білок - маркер діагностики та тригер імунітету  
<https://fp.com.ua/articles/s-reaktyvnyj-bilok-marker-diaagnostyky-ta-tryger-imunitetu/>

24. СТАНДАРТИ медичної допомоги "Коронавірусна хвороба (COVID-19).

[https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2021/10/2020\\_722\\_standart\\_covid\\_19.pdf](https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2021/10/2020_722_standart_covid_19.pdf)

28. Цитокіни, загальна характеристика, властивості, класифікація, механізми дії. Цитокіни та їх вплив на інші клітини  
[https://biology.univ.kiev.ua/images/stories/Kafedry/Microbiologiya/Library/Rozdil\\_9.pdf](https://biology.univ.kiev.ua/images/stories/Kafedry/Microbiologiya/Library/Rozdil_9.pdf)

29. Що таке синдром цитокінового шторму  
<https://bg.miamiplus1.com/cytokine-storm-syndrome-4c8e4c2b4cb8e4cb-6d4c6d2ba>

30. Ющенко Л.О., Мантак Г.І., Олійник В.С. Клінічна та лабораторно-інструментальна характеристика мультисистемного запального синдрому в дітей. Український журнал Перинатологія і Педіатрія. 2(90): 44-50; doi 10.15574/PP.2022.90.44.