МІНІСТЕРСТВА ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільної оборони та медицини

Кваліфікаційна робота

магістра

на тему: МЕТАБОЛІЧНА АКТИВНІСТЬ НЕЙТРОФІЛІВ КРОВІ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ БРОНХІТ ТА НЕГОСПІТАЛЬНУ ПНЕВМОНІЮ

Виконала: студентка 2 курсу, групи 8.0914-б
спеціальності 091 Біологія та біохімія
освітньої програми Біологія
Горохова М.А.
Керівник к.б.н., доцент Новосад Н. В.
Рецензент к.б.н., доцент Малько М.М.

Запоріжжя – 2025

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет біологічний

Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини

Рівень вищої освіти магістр

Спеціальність 091 Біологія та біохімія

Освітня програма Біологія

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри _Кущ О. Г.

«____»_____2024 року

З А В Д А Н Н Я
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ

Гороховій Марії Анатоліївни

1. Тема роботи Метаболічна активність нейтрофілів крові у дітей, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію Metabolic activity of blood neutrophils in children with acute bronchitis and community-acquired pneumonia
керівник роботи Новосад Наталія Василівна, доцент, к.б.н.
затверджені наказом ЗНУ від «2 8 » березня 2025 року № 455-с
2. Строк подання студентом роботи грудень 2025 року
3. Вихідні дані до роботи: Курсова робота «Метаболічна активність нейтрофілів крові у дітей, хворих на респіраторні хвороби
Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): Складання схеми дослідження; підбір методик та груп обстежених; дослідження стану активності мієлопероксидази та рівня катіонних білків; визначення кількості МПО- та КБ-позитивних нейтрофілів; порівняння метаболічної активності нейтрофілів у дітей з гострим бронхітом та негоспітальною пневмонією
4. Перелік графічного матеріалу: 2 таблиці, 4 рисунки у додатках

5. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
4	Гороховський Є.Ю. к.б.н., доцент		

6. Дата видачі завдання _____

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Підбір групи обстежених	листопад 2024	Виконано
2	Написання глави « Охорона праці»	грудень 2024	Виконано
3	Формування бази даних	листопад 2024 лютий 2025	Виконано
4	Написання літературного огляду	квітень 2025	Виконано
5	Написання глави «Матеріали та методи дослідження»	травень 2025	Виконано
6	Складання списку літератури	червень 2025	Виконано
7	Проведення статистичної обробки результатів дослідження	вересень 2025	Виконано
8	Аналіз отриманих результатів. Складання таблиць, рисунків.	жовтень 2025	Виконано
9	Написання глави «Експериментальна частина», висновків, рекомендацій.	листопад 2025	Виконано
10	Підготовка доповіді і оформлення документів до захисту	листопад 2025	Виконано
11	Попередній захист кваліфікаційної роботи	грудень 2025	Виконано
12	Представлення роботи до захисту	грудень 2025	Виконано

Студент _____ М.А. Горохова

Керівник роботи _____ Н.В. Новосад

Нормоконтроль пройдено

Нормоконтролер _____Є.Ю. Гороховський

РЕФЕРАТ

Робота викладена на 59 сторінках друкованого тексту, містить 2 таблиці та 4 рисунки у додатках. Перелік посилань включає 53 джерела.

Об’єкт дослідження – кров дітей, хворих на гострий обструктивний бронхіт та негоспітальну пневмонію.

Мета роботи – дослідження метаболічної активності нейтрофілів крові у дітей дошкільного віку, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію.

Методи дослідження – цитохімічні і статистичні.

У результаті дослідження встановлено, що найбільша активація та виснаження нейтрофілів спостерігається у дітей із негоспітальною пневмонією. Високі активність МПО та рівень КБ при бронхіті відображає ранній праймований стан нейтрофілів, тоді як зниження кількості МПО/КБ-позитивних клітин при пневмонії відображає пізній, виснажений, активований стан клітин внаслідок тривалого або більш важкого запального процесу.

Новизна роботи – вперше проводиться порівняльні дослідження ключових кисеньзалежних та кисеньнезалежних метаболічних систем нейтрофілів крові у дітей м. Запоріжжя, хворих на гострий обструктивний бронхіт та негоспітальну пневмонію.

Значимість роботи – результати дослідження поширюють уявлення про стан показників МПО- та КБ-негативних нейтрофілів у дітей, що дозволяє їх використовувати як прогностичні біомаркери для оцінки тяжкості запального процесу та ризику прогресування від бронхіту до пневмонії.

Отримані результати можуть бути використані у практиці педіатричних стаціонарів для вдосконалення методів діагностики, прогнозування та комплексного лікування гострих респіраторних інфекцій у дітей.

ГОСТРИЙ БРОНХІТ, ДІТИ, НЕГОСПІТАЛЬНА ПНЕВМОНІЯ, НЕЙТРОФІЛИ, МІЄЛОПЕРОКСИДАЗА, КАТІОННІ БІЛКИ.

ABSTRACT

The thesis is presented on 59 pages of printed text, containing 2 tables and 4 figures in the appendices. The list of references includes 53 sources.

The object of the study was the blood of children suffering from acute obstructive bronchitis and community-acquired pneumonia.

The aim of the work was to investigate the metabolic activity of blood neutrophils in preschool children with acute bronchitis and community-acquired pneumonia. The methods of the study included cytochemical and statistical analyses.

The research established that the greatest activation and exhaustion of neutrophils were observed in children with community-acquired pneumonia. High MPO activity and CP levels in acute bronchitis reflect an early, primed state of neutrophils, whereas a decrease in the number of MPO/CP-positive cells in pneumonia reflects a late, exhausted, activated state of these cells resulting from a prolonged or more severe inflammatory process.

The novelty of this work lies in the first-time comparative study of the key oxygen-dependent and oxygen-independent metabolic systems of blood neutrophils in children from Zaporizhzhia with acute obstructive bronchitis and community-acquired pneumonia.

The significance of the work is that the study results broaden the understanding of the state of MPO- and CP-negative neutrophil indices in children, which allows them to be used as prognostic biomarkers for assessing the severity of the inflammatory process and the risk of progression from bronchitis to pneumonia.

The obtained results can be used in the practice of pediatric hospitals to improve methods of diagnostics, prognosis, and complex treatment of acute respiratory infections in children.

ACUTE BRONCHITIS, CHILDREN, COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA, NEUTROPHILS, MYELOPEROXIDASE, CATIONIC PROTEINS.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ 8
ВСТУП 9
1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ 12
1.1 Епідеміологічний огляд захворювань дихальних шляхів у дітей 12
1.1.1 Загальна епідеміологія гострого бронхіту та негоспітальної пневмонії у дітей 12
1.1.2 Фактори ризику та поширеність захворювань 13
1.1.3 Клінічні особливості та тяжкість перебігу гострого бронхіту та негоспітальної пневмонії у дітей 15
1.2 Метаболічна активність нейтрофілів 18
1.2.1 Фізіологічні властивості нейтрофілів 18
1.2.2 Метаболічні шляхи, залучені у активність нейтрофілів 21
1.2.3 Маркерні системи нейтрофілів та їх значення в клінічній практиці 23
1.2.3.1 Мієлопероксидаза 23
1.2.3.2 Катіонні білки 25
1.3 Особливості активності маркерних систем у дітей та за умови гострого бронхіту та негоспітальної пневмонії 27
2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ 29
2.1. Об'єкт дослідження 29
2.2. Методи дослідження 29
2.2.1. Визначення активності ферменту мієлопероксидази 29
2.2.2. Визначення рівня катіонних білків 30
2.2.3 Оцінка результатів напівкількісним аналізом 31
2.2.4 Статистична обробка результатів 32
3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА 34

3.1 Стан активності мієлопероксидази та рівня катіонних білків у нейтрофілах крові дітей, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію 34
3.2 Інтенсивність специфічного забарвлення нейтрофілів крові у дітей, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію 35
4 ОХОРОНА ПРАЦІ 40
ВИСНОВКИ 46
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ 48
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ 49
ДОДАТКИ 56

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ГБ – гострий бронхіт

КБ – катіонний білок

$КБ^+$ – нейтрофіл, що містить катіонний білок, КБ-позитивний нейтрофіл

МПО – мієлопероксидаза

$МПО^+$ – нейтрофіл, що містить мієлопероксидазу, МПО-позитивний нейтрофіл

НП – негоспітальна пневмонія

HOCl – гіпохлоритна кислота

ВСТУП

Бронхіт та пневмонія - найпоширеніші захворювання органів дихання. Найчастіше гострий бронхіт виявляється після гострої респіраторно інфекції, викликаної різними вірусами. Після пошкодження вірусною інфекцією слизової оболонки респіраторного тракту через епітелій в організм легко проникає бактеріальна інфекція. Найчастіше у дітей збудниками є *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae* та *Moraxella catarrhalis.*

Пневмонія починається з проявів респіраторно-вірусної інфекції і потім через послаблення імунітету приєднується те ж бактеріальна інфекція. Найчастіше це *Streptococcus pneumoniae* та *Haemophilus influenzae.* В результаті виникає гостре інфекційне запалення нижніх дихальних шляхів: альвеол і інтерстиціальних легеневих тканин

Пневмонія, зазвичай, є більш небезпечним станом, оскільки уражає легеневу тканину та може спричинити тяжкі ускладнення. Бронхіт же, переважно, обмежується бронхами і, як правило, легше піддається лікуванню.

Пневмонія є основною окремо взятою інфекційною причиною смерті серед дітей у всьому світі. У 2019 р. від пневмонії померло 740 180 дітей віком до п'яти років, що становить 14% усіх випадків смерті дітей віком до п'яти років, а серед дітей віком від одного до п'яти років на пневмонію припадає 22% всіх випадків смерті [1].

Інфекційна пневмонія може індукувати утворення пластичних зліпків, що являють собою щільні, гумоподібні або пластиліноподібні утворення**,** які формуються в просвіті бронхів. Утворення пластичних зліпків може призводити до закупорки бронхів**,** що значно утруднює дихання, викликає кашель, задишку, зниження рівня кисню в крові. Це загрожує здоров'ю дітей і в тяжких випадках може бути небезпечним для життя [2].

Лейкоцити є головними клітинами захисту від мікроорганізмів, які беруть участь в імунних і запальних процесах. Їх дослідження при цих захворюваннях

важливе для оцінки тяжкості захворювання та ефективності лікування [3]. Патогенетичні порушення при бронхітах та пневмонії тісно пов'язані з особливостями нейтрофілів, що є ефекторами та модуляторами запального процесу, здійснюють фагоцитоз, генерацію різних субстанцій реактивного кисню і, водночас, зазнають апоптоз [4].

Безумовним інтересом є виявлення змін функціонального і метаболічного стану нейтрофілів, який визначає розвиток та наслідки бронхіту та особливо пневмонії [5]. Мієлопероксидаза і неферментні катіонні білки – це головні фактори бактерицидності мікрофагів. Вони є маркерами зміни функціонального стану імунної системи. Розуміння метаболічної активності нейтрофілів у контексті гострого бронхіту та негоспітальної пневмонії є критично важливим для розробки інноваційних стратегій лікування та профілактики цих захворювань.

Метою роботи було дослідження метаболічної активності нейтрофілів крові у дітей дошкільного віку, хворих на гострий обструктивний бронхіт та негоспітальну пневмонію.

Вказана мета реалізувалась вирішенням наступних завдань:

1) визначити у дітей дошкільного віку, хворих на гострий обструктивний бронхіт та негоспітальну пневмонію, стан активності мієлопероксидази та рівень катіонних білків;

2) визначити кількість МПО- та КБ-позитивних нейтрофілів у крові дітей, хворих на гострий обструктивний бронхіт та негоспітальну пневмонію;

3) встановити кількісні відмінності у фракціях МПО- та КБ-позитивних нейтрофілів як індикаторів дегрануляції гранул при гострому обструктивному бронхіті та негоспітальній пневмонії;

4) порівняти метаболічну активність нейтрофілів у дітей з гострим обструктивним бронхітом та негоспітальною пневмонією для диференціації фаз запалення.

Об'єктом дослідження була венозна кров здорових дітей та дітей, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію.

Предмет дослідження – цитохімічні показники нейтрофілів крові.

Новизна роботи – вперше проводиться порівняльні дослідження ключових кисеньзалежних та кисеньнезалежних метаболічних систем нейтрофілів крові у дітей м. Запоріжжя, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію.

Практичне значення одержаних результатів – надання клініцистам об'єктивних лабораторних інструментів, які підвищують точність оцінки ступеня тяжкості запалення та функціонального стану нейтрофілів у дітей з респіраторними інфекціями.

З теми дослідження опубліковані тези на Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю присвяченій пам’яті члена-кореспондента НАМН України, д.мед.н., професора Ю. Б. Чайковського «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці» (Київ, 8 - 9 червня 2023 р.), XI регіональній, I Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук» (Запоріжжя, 26 квітня 2025 р.). Нагороджена дипломом I ступеня, як переможець Всеукраїнського конкурсу студентських наукових робіт зі спеціальності «Біологія та біохімія» у 2024-2025 н.р. та грамотою в.о. ректора за успішну науково-дослідну роботу у 2024-2025 н.р. та з нагоди Дня науки.

1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Епідеміологічний огляд захворювань дихальних шляхів у дітей

1.1.1 Загальна епідеміологія гострого бронхіту та негоспітальної пневмонії у дітей

Гострий бронхіт та негоспітальна пневмонія є двома поширеними захворюваннями дихальних шляхів серед дітей, які відіграють значну роль у загальній патології педіатричної практики. Згідно зі статистичними даними, гострий бронхіт та негоспітальна пневмонія є серйозними проблемами громадського здоров'я, які становлять значний вплив на якість життя дітей та їхніх сімей. Діти молодшого віку, особливо ті, хто ще не має повноцінно сформованої імунної системи, є особливо вразливими до цих захворювань.

Актуальність подальшого вивчення проблеми гострого бронхіту у дітей обумовлена його високою захворюваністю та поширеністю. Значимість проблеми посилюється через схильність до рецидивів та хронізації процесу, що веде до формування стійких ускладнень [6].

Гострий бронхіт характеризується запаленням слизової оболонки бронхів, що часто супроводжується кашлем, виділенням мокроти та дискомфортом у грудях. У дітей цей стан часто викликається вірусами, зазвичай респіраторними вірусами, такими як риновіруси та респіраторно-синцитіальний вірус.

Хоча гострий бронхіт зазвичай проходить без ускладнень, у деяких випадках він може стати довготривалим або стати причиною інших захворювань, таких як пневмонія [7].

Пневмонія – це гостре інфекційно-запальне захворювання паренхіми легень, що характеризується інфільтративними змінами легеневої тканини і дихальною недостатністю [8].

Негоспітальна пневмонія, у свою чергу, є запальним захворюванням легеней, що виникає за межами лікарні або іншого медичного закладу. Ця патологія також часто викликається вірусами та бактеріями, такими як

Streptococcus pneumoniae та *Haemophilus influenzae*. У дітей симптоми негоспітальної пневмонії можуть включати кашель, важкість у диханні, високу температуру тіла та загальну слабкість. Якщо не лікувати, ця хвороба може призвести до серйозних ускладнень, таких як дихальна недостатність або сепсис.

Аналіз наукових джерел дозволяє стверджувати що пневмонія залишається актуальною медико-соціальною проблемою. Епідеміологія негоспітальної пневмонії у теперішній час характеризується високою захворюваністю та летальністю по всьому світу. Пневмонія, що виникає у дітей, та важкі клінічні прояви що з нею пов'язані, є наслідком комплексної взаємодії організму дитини, збудника та факторами ризику навколишнього середовища, тому негоспітальна пневмонія залишається поширеною та серйозною причиною для госпіталізації дітей та розвитку ускладнень [9].

Епідеміологічні дані показують, що гострий бронхіт та негоспітальна пневмонія становлять значну частку загальної кількості гострого респіраторного захворювання серед дітей [10]. Ці захворювання найчастіше відбуваються взимку та весною, коли підвищується поширення респіраторних вірусів. Фактори ризику для розвитку гострого бронхіту та негоспітальної пневмонії у дітей включають низький вік, недоношеність, присутність хронічних захворювань, пасивне куріння та недостатність вакцинації.

1.1.2 Фактори ризику та поширеність захворювань

Фактори ризику та поширеність гострого бронхіту та негоспітальної пневмонії серед дітей представляють складну проблему в сфері громадського здоров'я, оскільки на них можуть впливати різноманітні чинники, які варіюють від демографічних особливостей до умов середовища проживання. Підвищена

чутливість дітей до цих захворювань пов’язана з низкою факторів, що сприяють їхньому розвитку та поширенню.

Одним із ключових факторів ризику є низький вік дитини. Маленькі діти, особливо немовлята та малі діти дошкільного віку, мають менш розвинену імунну систему, що робить їх більш вразливими до інфекційних захворювань. Недоношеність також може бути фактором ризику, оскільки у недоношених дітей імунна система може бути менш ефективною [11].

Розвиток гострого бронхіту та негоспітальної пневмонії у дітей є багатофакторним процесом, зумовленим взаємодією індивідуальних особливостей та чинників навколишнього середовища. До основних факторів ризику належать:

1. Анатомо-фізіологічні особливості дихальних шляхів

Дитячий організм має низку анатомо-фізіологічних особливостей, які підвищують його вразливість до шкідливих впливів. Зокрема, відношення загальної площі поверхні дихальних шляхів до маси тіла є значно більшим, ніж у дорослих. Це, разом із меншим діаметром дихальних шляхів у немовлят та вищою частотою дихання, призводить до більшої чутливості поверхонь дихальних шляхів до токсичних та подразнюючих агентів.

2. Чинники навколишнього середовища та імунологічні порушення

Несприятливі фактори навколишнього середовища мають додатковий шкідливий вплив на незрілу імунну систему дитини.

Низька якість повітря та хімічні іританти (пил, аміак, оксид азоту, пари хлору, сірководень) можуть порушувати регуляцію противірусної імунної відповіді та посилювати певні субпопуляції Т-хелперів.

Фізичні фактори (сухе та холодне повітря) також сприяють розвитку патології. Вплив пасивного куріння у сім'ї визнаний основним фактором ризику розвитку інфекцій дихальних шляхів у дітей. Додатковими ендогенними чинниками є захворювання імунної системи та наявність хронічних вогнищ інфекцій у носоглотці [6].

Деякі демографічні особливості, такі як перебування в дитячих садках або школах, можуть збільшувати ризик захворювання. Умови, коли багато дітей перебувають разом, створюють ідеальне середовище для поширення інфекційних агентів. Крім того, пасивне куріння може підвищувати ризик розвитку гострого бронхіту та негоспітальної пневмонії у дітей, оскільки тютюновий дим може подразнювати дихальні шляхи та знижувати стійкість до інфекцій. У них спостерігається імунна клітинна активність, зокрема CD8+, CD4+ та CD22+, що демонструвала виражений вплив на важкий перебіг гострого бронхіту [12]. Підвищений ризик виникнення гострого вірусного бронхіту може бути наслідком пошкодження епітелію дихальних шляхів в результаті токсичного впливу повітря. Забруднення повітря може посилювати певні популяції Т-хелперів та порушувати регуляцію противірусних імунних відповідей [13].

Значна поширеність цих захворювань також пов'язана з сезонними факторами. Гострий бронхіт та негоспітальна пневмонія частіше виникають взимку та весною, коли підвищується поширення респіраторних вірусів. У цей період часу діти частіше перебувають у закритих приміщеннях, де легше може створюватися контакт з інфекційними агентами.

Додатково, наявність хронічних захворювань, таких як астма або цукровий діабет, може збільшувати ризик захворювання гострим бронхітом та негоспітальною пневмонією у дітей. Діти зі зниженою імунною системою також можуть бути більш схильними до розвитку цих інфекцій [14].

1.1.3 Клінічні особливості та тяжкість перебігу гострого бронхіту та негоспітальної пневмонії у дітей

Клінічні особливості та тяжкість перебігу гострого бронхіту та негоспітальної пневмонії у дітей можуть значно варіюватися в залежності від

багатьох факторів, включаючи вік пацієнта, вид патогену, стан імунної системи та наявність супутніх захворювань [15].

Клінічна картина гострого бронхіту у дітей зазвичай починається з продромального періоду застуди – закладеність носа, чхання, болі в горлі – з подальшим появою кашлю, який може бути спочатку сухим або з виділенням мокроти. Кашель може тривати від кількох днів до декількох тижнів; типовою є персистенція кашлю протягом одного-двох тижнів, але іноді симптоми зберігаються довше. Супутні симптоми включають лихоманку, загальну слабкість, інколи задишку або хрипи при прослуховуванні легень. Тяжкі прояви, порушення дихання, блідість, ціаноз, відмова від їжі або дегідратація є підставою для невідкладної медичної оцінки і можливої госпіталізації. Клінічно важливим є розуміння факторів, що підвищують ризик ускладнень: дуже ранній вік, передчасні пологи, хронічні серцево-легеневі хвороби, імунодефіцити, вплив тютюнового диму та важка алергічна патологія – усі вони можуть погіршувати перебіг гострого бронхіту [16, 17].

Випадки гострого бронхіту спостерігаються в усі пори року, але найбільше навесні та восени при передачі вірусу. Це захворювання поширене у людей будь-якого віку та обох статей і часто розвивається після інфекції верхніх дихальних шляхів; симптоми тривають у середньому 1–2 тижні [18].

Особливості перебігу негоспітальної пневмонії у дітей багато в чому зумовлені анатомо-фізіологічними відмінностями дихальної системи й віковими особливостями імунної відповіді. Незрілі імунні реакції можуть проявлятися як підвищена схильність до швидкого прогресування дихальної недостатності або, навпаки, до нетипових клінічних проявів. Клінічно перебіг варіює від відносно легкої лихоманки і кашлю до вираженої задишки, гіпоксії й системної інтоксикації; ускладнення можуть включати плевральний випіт, абсцес легені, дихальну недостатність і, у тяжких випадках, гострий респіраторний дистрес-синдром. При цьому розрізнити вірусну та бактеріальну етіологію за клінічними ознаками інколи складно, і керівні алгоритми рекомендують орієнтуватися на вік пацієнта, тяжкість стану, епідеміологічні дані та доступні

лабораторно-інструментальні дослідження. Важкий перебіг пневмонії зумовлений змішаною флорою – бактеріально-бактеріальною (стафілокок з гемофільною паличкою), віруснобактеріальною [19].

Також важливо враховувати, що у деяких випадках гострий бронхіт та негоспітальна пневмонія можуть бути ускладнені бактеріальною інфекцією, що може призвести до розвитку серйозних ускладнень, таких як абсцес легенів або піонефрит. Такі ускладнення вимагають активного медичного втручання та антибіотикотерапії [20].

У деяких випадках тяжкість перебігу гострого бронхіту та негоспітальної пневмонії у дітей може бути пов'язана з індивідуальними особливостями пацієнта. Наприклад, у дітей з астмою або імунодефіцитними станами, ризик ускладнень може бути підвищений, і їм може знадобитися більш інтенсивне медичне спостереження та лікування.

У дітей з пластичним бронхітом, пов'язаним з пневмонією, спричиненою *Mycoplasma pneumoniae* у крові, рідині бронхоальвеолярного лаважу та пластичних зліпках виявлена значна інфільтрація нейтрофілів та утворення нейтрофільних позаклітинних пасток (NETs) [21].

У дітей з гострим бронхітом, викликаним, хламідіями, в порівнянні з нормою, підвищуються кількості Т- і В-лімфоцитів зі збільшенням кількості CD3, CD8, CD25, CD4, CD22, CD8, CD4, CD16, CD22, рівень сироваткових IgA, IgG і IgM та пригнічуються показники вродженого імунітету у вигляді зниження поглинаючої функції фагоцитів, фагоцитозу, фагоцитарного числа; спонтанного та стимульованого НСТ-тесту, індексу активності нейтрофілів стимульованого і рівня лізосомально-катіонних білків. Таким чином, імунна система дитини знаходиться у режимі перевантаження та дисбалансу [22].

1.2 Метаболічна активність нейтрофілів

1.2.1 Фізіологічні властивості нейтрофілів

Нейтрофіли - це один з основних типів клітин білої крові, які відіграють ключову роль у захисті організму від інфекцій та запалення. Фізіологічні властивості нейтрофілів роблять їх важливими гравцями в імунній системі. Ці клітини є частиною некерованої (інстинктивної) імунної відповіді, що викликається наявністю патогенів або інших подразників в організмі.

Переважна більшість нейтрофілів зосереджена у кістковому мозку, де вони формуються. За фізіологічних умов менше ніж 2% цих клітин циркулює у кровотоці. Більшість нейтрофілів ніколи не потрапляє у системний кровообіг, натомість вони фагоцитуються кістковомозковими макрофагами, що відображає їхній короткий життєвий цикл та суворий контроль над кількістю циркулюючих клітин [23].

Тривалість життя циркулюючих нейтрофілів традиційно вважали короткою (кілька годин), проте сучасні дослідження показують, що тривалість життя може варіюватися під впливом запальних цитокінів і мікрооточення, а також що нейтрофіли мають функціональну різноманітність і пластичність, що виходить за рамки «однотипних вбивць» [24].

Нейтрофіли представлені кількома морфологічними формами, які відображають їхню ступінь зрілості. Сегментоядерні нейтрофіли є найбільш зрілою та домінуючою формою: їхнє ядро має 2−3 або більше сегментів, з'єднаних тонкими перетяжками, і вони складають основну частину популяції — від 49% до 72%. Менш зрілими є паличкоядерні нейтрофіли, ядро яких має вигляд літери С або S; їхня кількість у нормі коливається від 1% до 6%. Юні нейтрофіли (з бобоподібним ядром) є наймолодшою формою. Вони з'являються у кровотоці рідко (0,1%–0,5%) і їхня поява зазвичай свідчить про виразний запальний процес.

Процес диференціювання нейтрофілів у кістковому мозку є критичним етапом, під час якого клітини набувають і зберігають комплекс необхідних антимікробних молекул. Ці молекули локалізовані щонайменше у чотирьох функціонально різних типах внутрішньоклітинних структур: азурофільних (первинних) гранулах, специфічних (вторинних) гранулах, желатиназних (третинних) гранулах та секреторних везикулах. Ця складна система гранул забезпечує нейтрофілам можливість швидкої та ефективної доставки широкого спектра антимікробних ферментів та пептидів до місця інфекції [25].

Утворення азурофільних (первинних) гранул відбувається на найбільш ранніх стадіях диференціювання нейтрофілів – на етапі промієлоцитів. Ці гранули містять великий набір антимікробних агентів. До їхнього складу входить ключовий фермент мієлопероксидаза, а також катіонні білки, серинові протеази та лактоферин.

Специфічні (вторинні) гранули та желатиназні (третинні) гранули відрізняються від первинних тим, що вони пероксидазонегативні і формуються на пізніших етапах дозрівання клітини – на стадіях мієлоцитів, метамієлоцитів і паличкоядерних форм. Хоча ці дві підмножини мають подібні функції, їхній білковий склад є неоднорідним. Зокрема, специфічні гранули містять такі важливі антимікробні білки, як лактоферин та ліпокалін, асоційований з нейтрофільною желатиназою, але не містять матричної металопротеїнази 9. Натомість, желатиназні містять матричну металопротеїназу 9, проте позбавлені лактоферину та ліпокалін, асоційований з нейтрофільною желатиназою. Таким чином, ці гранули забезпечують поетапне вивільнення функціональних молекул для контролю запального процесу та ремоделювання позаклітинного матриксу [26, 27].

Однією з головних фізіологічних властивостей нейтрофілів є їх здатність фагоцитувати (поглинати та руйнувати) патогени, такі як бактерії, грибки та віруси. Цей процес відбувається завдяки наявності на поверхні нейтрофілів специфічних білків-рецепторів, які розпізнають та зв'язуються з патогенами. Після цього нейтрофіл починає процес фагоцитозу, в результаті якого патоген

знаходиться всередині клітини та руйнується за допомогою лізосомальних ферментів [28].

Нейтрофіли існують у базальному стані, що характеризується неприлипанням, круглою морфологією, мінімальною транскрипційною активністю та обмеженою здатністю реагувати на активуючі подразники. Статус активації нейтрофілів може змінюватися від базального через праймований до повністю активованого. Ця обмежена відповідь захищає від невиправданих запальних реакцій і пошкодження тканин.

Непраймовані нейтрофіли, піддані впливу активуючих агентів виділяють незначний вміст гранул або не виділяють їх або не виділяють активних форм кисню (АФК). Щоб ефективно знищувати організми, що вторгаються, нейтрофіли повинні бути здатні швидко та енергійно реагувати на активуючі подразники.

Перехід до стану підвищеної чутливості називається праймінгом (праймінг подовжує тривалість життя нейтрофілів шляхом активації). Під впливом агентів, праймовані нейтрофіли піддаються підвищенню ферментативної та транскрипційної активності, що призводить до активації та синтезу медіаторів запалення та ферментів, які опосередковують фенотипові та функціональні зміни. Вони активуються, демонструють посилений фагоцитоз, утворення АФК, дегрануляцію, вивільнення біоактивних медіаторів. Було ідентифіковано широкий спектр праймуючих агентів (хемокіни, цитокіни, аларміни, інтегрини, молекули, отримані з патогенів, і механічні сили). Відповідно до динамічної регуляції активації нейтрофілів (щоб забезпечити максимальну активацію, лише тоді і там, де це необхідно), праймовані клітини також мають гнучкість спонтанно «де-праймувати» або повертатися до непраймованого стану спокою [29, 30].

Ще однією важливою властивістю нейтрофілів є їх здатність мігрувати до місця запалення. Під впливом хемоатрактантів, що виділяються з місця запалення, нейтрофіли активуються та направляються до цього місця, де вони

беруть участь у руйнуванні патогенів та в очищенні тканин від мікробів та мертвих клітин [31].

Також важливою фізіологічною властивістю нейтрофілів є їхні здатності генерувати та випускати ряд біологічно активних сполук, таких як цитокіни, що мають важливе значення у регуляції запалення та імунної відповіді. Наприклад, нейтрофіли можуть виділяти фактори некрозу пухлин (TNF), інтерлейкіни (IL) та інші медіатори запалення, які активують та координують імунну відповідь.

Варто також відзначити, що нейтрофіли мають обмежений термін життя. Після активації або фагоцитозу вони можуть пройти процес апоптозу (програмованої клітинної смерті) або зазнати некрозу. Це механізм контролює кількість активних нейтрофілів у тканинах та запобігає можливим ускладненням, пов'язаним з надмірною активацією цих клітин [32].

1.2.2 Метаболічні шляхи, залучені у активність нейтрофілів

Активність нейтрофілів у виконанні їхніх імунних функцій пов'язана зі складними метаболічними процесами, які відбуваються всередині цих клітин. Основні метаболічні шляхи, залучені у діяльність нейтрофілів, включають гліколіз, оксидативний спосіб фосфорилювання, фагоцитоз-залежне та фагоцитоз-незалежне утворення реактивних кисневих видів, метаболізм амінокислот, та синтез та вивільнення біологічно активних сполук.

Гліколіз є одним з основних метаболічних шляхів, який забезпечує енергію для функціонування нейтрофілів. Під час гліколізу глюкоза розщеплюється на пірамідальні кислоти, що у результаті формує пірамідальний лактат та молочну кислоту. Цей процес генерує невелику кількість АТФ, що використовується для забезпечення енергії клітини.

Більшість клітин поглинають позаклітинну глюкозу за допомогою транспортерів глюкози (GLUT), після чого відбувається гліколіз, який

перетворює глюкозу на піруват із утворенням невеликої кількості АТФ. Гліколіз є домінантним метаболічним шляхом у більшості імунних клітин, включаючи нейтрофіли, для яких він є основним джерелом енергії (АТФ).

Активовані нейтрофіли демонструють адаптивну метаболічну відповідь: у них спостерігається підвищена експресія GLUT на поверхні, що супроводжується значним збільшенням поглинання глюкози.

В умовах дефіциту глюкози нейтрофіли покладаються на глікогеноліз – розщеплення накопиченого глікогену – як на альтернативне джерело глюкози. Це підтверджується тим, що функція фагоцитозу безпосередньо залежить від запасів глікогену. Примітно, що у запальних станах нейтрофіли, що мігрують до вогнища, демонструють більше накопичення глікогену порівняно з периферичними нейтрофілами. Таким чином, гліколіз залишається ключовим і важливим метаболічним шляхом для забезпечення функціональної активності нейтрофілів [25].

Оксидативний шлях фосфорилювання є іншим важливим метаболічним шляхом, який забезпечує нейтрофілам енергію. Під час цього процесу молекули глюкози окислюються за участю кисню, утворюючи воду та діоксид вуглецю, та продуктів, що містять фосфор. Цей шлях генерує значно більше АТФ, ніж гліколіз, і використовується для додаткового забезпечення енергії.

На сьогодні добре встановлено, що нейтрофіли експресують компоненти комплексу окисного фосфорилювання та мають активну мітохондріальну мережу. У зрілих активованих нейтрофілах виявляються функціональні мітохондрії та реєструються зміни їхнього потенціалу. Проте, незважаючи на їхню функціональність, інгібування мітохондріального дихання не впливає на загальне виробництво АТФ у зрілих нейтрофілах людини. Це свідчить про низьку участь мітохондрій у забезпеченні енергетичних потреб цих клітин, підтверджуючи, що гліколіз залишається їхнім основним метаболічним шляхом [33, 34].

Фагоцитоз-залежне та фагоцитоз-незалежне утворення реактивних кисневих видів є важливими аспектами метаболізму нейтрофілів. Під час

фагоцитозу ці клітини активується, що призводить до утворення реактивних кисневих видів, таких як супероксидний аніон, пероксид водню та гідроксильний радикал. Ці сполуки грають ключову роль у знищенні фагоцитованих патогенів та в підтриманні імунної відповіді [14].

Метаболізм амінокислот є ще одним важливим аспектом функціонування нейтрофілів. Він забезпечує клітинам амінокислоти, які використовуються для синтезу білків та інших біологічно активних сполук. Крім того, певні амінокислоти, такі як глутамат, гліцин та цистеїн, можуть використовуватися нейтрофілами для синтезу антиоксидантів та інших захисних молекул.

Синтез та вивільнення біологічно активних сполук, таких як цитокіни, також є важливим аспектом метаболізму нейтрофілів. Ці клітини можуть синтезувати та вивільнювати цитокіни, такі як інтерлейкін-1β та тумор-некрозний фактор-альфа, які впливають на функцію імунної системи та запалення.

1.2.3 Маркерні системи нейтрофілів та їх значення в клінічній практиці

1.2.3.1 Мієлопероксидаза

Мієлопероксидаза (МП) є одним із ключових ензимів, які виробляються нейтрофілами і грає важливу роль у клінічній практиці. Цей ензим є частиною системи зброї нейтрофілів проти патогенів, оскільки він бере участь в утворенні реактивних кисневих видів, таких як гіпохлоритна кислота (HOCl). HOCl є потужним антимікробним агентом і відіграє ключову роль у знищенні бактерій та інших мікроорганізмів, що потрапляють в організм [35].

Великий запас МРО зберігається в азурофільних гранулах. Ці типи гранул суттєво відрізняються за своїм внутрішнім і мембранним складом активних агентів. Це дозволяє нейтрофілам ефективно конвертувати перекис водню (H_2O_2), синтезований НАДФ-оксидазою, у потужний мікробіцид – HOCl.

Незважаючи на те, що H_2O_2 має вищий окислювально-відновний потенціал, саме HOCl чинить значно сильнішу протимікробну дію [36].

Гіпохлоритна кислота активно реагує з амінокислотами, пептидами та білками, в результаті чого утворюється велика кількість похідних продуктів, включаючи хлораміни та альдегіди. Ці похідні самі по собі можуть проявляти антимікробну активність.

HOCl, що продукується в гранулах нейтрофілів, сприяє утворенню моно- і дихлорамінів первинних амінів, у тому числі – білків гранул, присутніх у фагосомах. Хоча ці реакції кількісно можуть бути незначними, вони мають довготривалий вплив і, залежно від концентрації та структурних особливостей, суттєво посилюють протимікробну дію.

Зокрема, монохлорамін (NH_2Cl), що утворюється внаслідок реакції HOCl з іонами амонію (NH_4), має здатність проникати в гідрофобні поверхні мікробів, отримуючи таким чином доступ до вразливих внутрішньоклітинних мішеней.

Внесок хлорамінів та інших похідних HOCl у загальний антимікробний ефект є варіабельним. Він залежить від розміру, заряду та полярності утвореного токсину, хімічного складу поверхні поглиненого мікроба та специфічних вразливих цілей у структурі мікроорганізму [37].

Під час рекрутування нейтрофілів до запалених тканин ці клітини поетапно активуються з виділенням вмісту гранул у клітинне середовище або у новоутворені фагосоми, що містять мікроби грибів. Під час нормальних умов антибактеріальна активність МРО передбачає виробництво різних активних форм кисню та азоту [36].

У клінічній практиці визначення рівня мієлопероксидази може бути корисним для діагностики та контролю за різними станами здоров'я. Активність МПО в нейтрофілах має суттєвий вплив на ефективність фагоцитарних процесів та розвиток запалення. Встановлено, що дефіцит цього ферменту може сприяти збільшенню фагоцитарного показника, тоді як посилення активності МПО навпаки, призводить до нормалізації цієї функціональної характеристики.

Водночас, надмірна активність МПО несе ризик, оскільки може стати причиною неконтрольованого запального процесу з подальшим ушкодженням власних тканин організму (феномен самопошкодження).

З огляду на ці властивості, рівні МПО можуть ефективно використовуватись як високочутливий біомаркер системного запалення, навіть коли воно має низьку інтенсивність. Крім того, концентрація цього ферменту корелює з важкістю перебігу захворювання, що робить МПО важливим інструментом для оцінки як поточного запального статусу, так і прогнозу патологічного процесу [38].

Крім того, дослідження рівня мієлопероксидази може мати важливе значення в оцінці ефективності лікування та вибору оптимальної стратегії терапії. Зниження або збільшення рівня МПО після лікування може свідчити про успішність або невдалість терапії відповідно. Таким чином, визначення рівня мієлопероксидази може допомогти лікарям приймати інформовані рішення щодо лікування пацієнтів та планування подальшого медичного втручання [15].

1.2.3.2 Катіонні білки

Катіонні білки є класом білків, які мають позитивний заряд на поверхні клітини чи у внутрішній частині білкової структури. Вони відрізняються від аніонних білків, які мають негативний заряд, і мають важливі функціональні ролі в клітинних процесах та організмі загалом. Катіонні білки зазвичай притягуються до аніонів, таких як фосфати і сульфати, і можуть взаємодіяти з ними, утворюючи структурні комплекси або впливаючи на їхню активність.

Після активації нейтрофіли вивільняють широкий спектр катіонних білків, які є ключовими елементами їхньої захисної функції. Ці білки присутні у

первинних, вторинних та третинних гранулах і мають потужну антимікробну активність.

Їхня біологічна роль не обмежується лише прямим знищенням мікробів; активність цих молекул також включає модуляцію імунних відповідей для загального посилення антимікробного захисту організму. Таким чином, вивільнення катіонних білків є важливим етапом у реалізації як вродженого імунітету, так і регуляції подальшого запального процесу [39].

Однією з ключових функцій катіонних білків є їхня роль у регуляції заряду клітинної мембрани та внутрішньоклітинних мікроенвіронментів [11]. Вони можуть брати участь у підтримці електричної нейтралізації під час різних біологічних процесів, таких як транспорт іонів через мембрани, а також у стабілізації електростатично взаємодіючих структур. Це важливо для забезпечення нормального функціонування клітин та виконання різноманітних фізіологічних процесів.

Зниження рівня катіонних білків нейтрофілів розглядається як індикатор незадовільного стану бактерицидної системи клітин. Такий дефіцит може бути безпосередньо пов’язаний із хронічними запальними процесами в організмі. Особливо це стосується запалення, яке викликаючи постійну активацію та вивільнення вмісту гранул, призводить до функціонального виснаження як самих нейтрофілів, так і опосередковано – макрофагальної ланки імунного захисту організму [40].

Катіонні білки, маючи антимікробні властивості, є важливою частиною імунної системи. Деякі катіонні білки виявлені в секретах різних тканин, таких як слина, слизова оболонка та шкіра, де вони можуть взаємодіяти з патогенами та іншими мікроорганізмами, що викликають інфекції. Це допомагає забезпечити захист від інфекцій та підтримує гомеостаз організму [41].

1.3 Особливості активності маркерних систем у дітей та за умови гострого бронхіту та негоспітальної пневмонії

Особливості активності маркерних систем у дітей з гострим бронхітом та негоспітальною пневмонією відображають важливі аспекти їхнього стану здоров'я та імунної відповіді на патогенні мікроорганізми. Діти мають свої власні особливості в реакції на інфекції та запалення порівняно з дорослими, що впливає на активність маркерних систем. Наприклад, у дітей може спостерігатися більша варіабельність реакції на запальні процеси через незавершений розвиток імунної системи та вплив фізіологічних факторів.

У діагностиці гострого бронхіту та негоспітальної пневмонії у дітей активність маркерних систем може бути корисним інструментом. Деякі з найбільш вживаних маркерів гострої фази запалення та бактеріальної інфекції включають С-реактивний білок (CRP), прокальцитонін, інтерлейкіни та інші. Вимірювання рівня цих маркерів може допомогти лікарям в оцінці тяжкості захворювання, виборі стратегії лікування та прогнозуванні ризику ускладнень.

Прокальцитонін значно перевершує інші широко використовувані маркери гострої фази, такі як CRP, завдяки своїй високій специфічності до бактеріальної інфекції. У той час як CRP є скоріше неспецифічним індикатором, кінетика прокальцитоніну демонструє значно швидший підйом і спад. Ця особливість робить цей біомаркер більш чутливим інструментом для ранньої діагностики бактеріальної етіології та оперативного моніторингу відповіді пацієнта на терапію.

Завдяки своїм характеристикам, прокальцитонін можна розглядати не лише як діагностичний та прогностичний тест (щодо тяжкості захворювання та ризику смерті). Зокрема, швидке зниження його рівня є надійним показником ефективності антибактеріального лікування і може слугувати орієнтиром для безпечного скорочення тривалості курсу антибіотиків (стратегія антибіотикового менеджменту).

Такий динамічний моніторинг активності маркерних систем є особливо актуальним у педіатричній практиці при веденні дітей з негоспітальною пневмонією. Він дозволяє індивідуалізувати ведення пацієнтів, водночас мінімізуючи ризики, пов'язані з розвитком антибіотикорезистентності та виникненням побічних ефектів [42].

Варто також враховувати, що активність маркерних систем може змінюватися залежно від кожного конкретного випадку. Всі маркери мають як певні переваги, так і обмеження, притаманні їхній молекулярній природі. Жоден лабораторний показник не може використовуватися ізольовано і не повинен бути єдиною підставою для прийняття клінічного рішення. Натомість, маркери є лише допоміжним засобом, що сприяє формуванню клінічного судження. Це судження має ґрунтуватися на синтезі та комплексному аналізі всіх доступних характеристик пацієнта, включаючи клінічні дані, фізіологічні показники та інші лабораторні результати [42]. Наприклад, в деяких дітей може спостерігатися більш інтенсивна запальна відповідь, що відображається у збільшенні рівня маркерів запалення, тоді як в інших ця відповідь може бути менш вираженою. Такі індивідуальні різниці потребують індивідуалізованого підходу до діагностики та лікування. Також важливо враховувати фактори, такі як вік пацієнта, наявність супутніх захворювань та загальний стан здоров'я, які можуть впливати на активність маркерних систем і хід захворювання [5].

2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Об'єкт дослідження

На базі КНП «Міська дитяча лікарня № 5» Запорізької міської ради та кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом ЦЗ та медицини ЗНУ проводилося дослідження метаболічної активності нейтрофілів у 18 дітей, хворих на гострий обструктивний бронхіт (1 група) та 21 дітей із позалікарняною пневмонією (2 група). Дослідження проводилися під час госпіталізації дітей до стаціонару. Об'єктом дослідження була венозна кров. Вік дітей складав 4–6 років. Контрольну групу склали 20 умовно здорових дітей того ж віку.

У хворих дітей венозну кров брали на початку диспансеризації. Із взятої крові виготовляли мазки, які були зафіксовані, пофарбовані та досліджені на визначення активності КБ та МПО, лейкоцитарної формули та інтегральних гематологічних показників.

2.2. Методи дослідження

2.2.1. Визначення активності ферменту мієлопероксидази

Для визначення активності МПО застосовувався метод Грехема-Кноллє.

За даним методом у присутності МПО бензидин окиснюється H_2O_2 в коричневий оксибензидин, який визначають при світловій мікроскопії з масляною імерсією.

Свіжі мазки фіксують 4 % формаліново-спиртовим розчином (10 частин 40 % формаліну та 90 частин 96% спирту) протягом 30 с. Промивають проточною водою та висушують.

Мазки крові заливають на 10 хв реактивом на пероксидазу, який готують розчиненням бензидину на кінчику ножа в 6 мл 96 % спирту, до якого потім додають 4 мл H_2O та 0,02 мл 3 % H_2O_2. Реактив придатний до вживання 5–6 днів. Надалі мазки промивають у проточній воді, висушують та дофарбовують фарбником Романовського-Гімзи. При аналізі мазка пероксидаза виявляється в цитоплазмі у вигляді коричневих гранул [43].

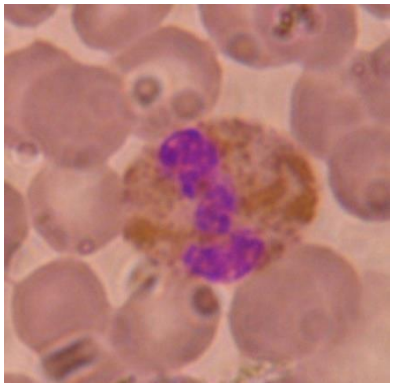


Рисунок 2.1 – Гранули МПО в нейтрофілі

2.2.2. Визначення рівня катіонних білків

Катіонні білки в нейтрофілах визначають за методом з бромфеноловим синім.

Для аналізу готують реактиви:

1) 5 % розчин сульфосаліцилової кислоти, 5 г якої розчиняють в 95 мл дистильованої води;

2) 0,05 М розчин бури pH 9,55. Для цього 19,1 г бури розчиняють в 1 л дистильованої води;

3) 0,1 М розчин однозамінного фосфату калію, шляхом розчинення 13,6 г KH_2PO_4 в 1 л дистильованої води;

4) 0,05 М боратний буфер pH 8,2, для чого 6,13 мл реактиву № 2 додають 3,87 мл реактиву № 3, а потім доводять реактивом 3 до pH 8,2;

5) 0,1 % розчин бромфенолового синього в 0,05 М боратному буфері. Для приготування розчину 100 мг сухого бромфенолового синього розчиняють в 100 мл реактиву № 4;

6) 1 % водний розчин сафраніну.

Надалі мазки фіксують у 5 % розчині сульфосаліцилової кислоти 60-90 с, промивають дистильованою водою та висушують, після чого фарбують 1-2 хвилин 0,1 % розчином бромфенолового синього в боратному буфері. Після фарбування мазки промивають у трьох змінах 0,05 М боратного буфера протягом 1-3 хвилин, висушують і потім дофарбовують 1 % розчином сафраніну протягом 30-60 с. Знову промивають проточною водою та висушують [44]. Під мікроскопом катіонні білки виявляються у цитоплазмі у вигляді синіх гранул.

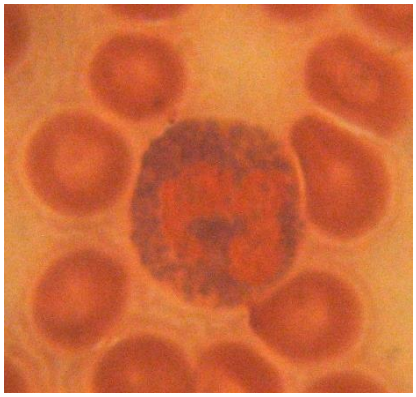


Рисунок 2.2 – Гранули КБ в нейтрофілі.

2.2.3 Оцінка результатів напівкількісним аналізом

В обох видах мазках, приготованих для визначення активності МПО та рівня катіонних білків, оцінку результатів проводять напівкількісним аналізом,

використовуючи принцип Астальді, що заснований на виявленні різного ступеня інтенсивності специфічного забарвлення [44].

В залежності від нього всі досліджувані клітини ділять на 4 групи: з негативною реакцією, де не виявлено гранул (-), слабко позитивною (+), позитивною (++) та різко позитивною (+++).

Оцінка цитохімічної реакції проводиться таким чином:

0 ступінь (-) – пофарбовано тільки ядро, цитоплазма не пофарбована, не видно контурів гранул;

1-а ступінь (+) – вся цитоплазма дифузно забарвлена або забарвлено не більше 1/4 цитоплазми;

2-а ступінь (++) – в цитоплазмі видні добре забарвлені гранули, забарвлено більше 2/4 цитоплазми;

3-я ступінь (+++) – всю цитоплазму займають гранули, але ядро видно, забарвлено 3/4 і більше цитоплазми.

Для кількісного вираження результатів підраховують 200 нейтрофілів і диференціюють їх за вказаним принципом. Надалі число клітин з однаковою інтенсивністю забарвлення переводять у відсотки та множать на відповідне даній групі число плюсів, а сума цих добутків і становить умовні одиниці.

2.2.4 Статистична обробка результатів

Статистичну обробку результатів проводили методом обчислення середньої арифметичної, помилки середньої арифметичної, середнього квадратичного відхилення. При порівнянні більше як двох незалежних вибірок використовували однофакторний дисперсний аналіз (One-Way ANOVA) за допомогою комп'ютерної програми SPSS, версія 25 в операційній системі Windows 10 [45].

Обчислення середньої арифметичної (X) полягає в складанні усіх варіант ($X_1 + X_2 + \ldots X_n$) з наступним діленням суми на число варіант сукупності (n):

$$\overline{x} = \frac{\sum x_i}{n} \tag{2.1}$$

де Σx_i - сума варіант, n – число варіант у виборці.

Для розрахунку середнього квадратичного відхилення рахували відхилення кожного з отриманих результатів від середньої арифметичної $x_i - \bar{x}$, $(x_i - x)^2$, після чого його визначали за формулою:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_s - \bar{x})^2}{n}} \tag{2.2}$$

Потім знаходили величину середньої помилки ($S_{\bar{x}}$), яка прямо пропорційна середньому квадратичному відхиленню та обернено пропорційна числу проведених досліджень:

$$S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}} \tag{2.3}$$

3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Стан активності мієлопероксидази та рівня катіонних білків у нейтрофілах крові дітей, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію

Активність МПО та рівень КБ у дітей дошкільного віку, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію представлені в табл 3.1.

Таблиця 3.1 – Активність МПО та рівень КБ у дітей дошкільного віку, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію ($\overline{X}$ ± m)

Група дітей	n	МПО у.о.	КБ, у.о.
Контроль	20	205,60±1,54	205,10±1,97
Гострий бронхіт	18	255,89±2,16*	252,67±1,27*
Негоспітальна пневмонія	21	232,71±1,99*	235,1±2,62*

Примітки: 1) МПО – мієлопероксидаза, КБ – катіонні білки;

2) *– p <0,05 відносно контролю.

Як показали результати досліджень у дітей, хворих на ГБ, відбувається підвищення активності МПО до 255,89 ± 2,16 у.о. при 205,6 ± 1,54 у.о. у контрольній групі (p<0,05). Подібні зміни спостерігались також і в показниках рівня КБ, де він складав 252,7 ± 1,27 у.о. при 205,1 ± 1,97 у.о в контролі (p<0,05).

У дітей, хворих на НП, активність МПО та рівень КБ також підвищені порівняно з контролем, проте дані показники були нижчі, ніж при бронхіті. Так, активність МПО була нижче на 9 % і складала 232,71 ± 1,99 у.о., а рівень КБ був нижчим на 7 % і складав 235,1 ± 2,62 у.о. (p<0,05). Бронхіт передує пневмонії, і як наслідок, активність ферментів та рівень КБ нейтрофілів знижується через виснаження гранул при тривалому запаленні.

Отже, у всіх хворих дітей відбувається зростання активності МПО та рівня КБ, що свідчить про перехід нейтрофілів із стану спокою до праймованого стану. Праймовані нейтрофіли мають стан підвищеного відгуку на подальший активуючий стимул, внаслідок чого вони переходять в активований стан, що ми спостерігали при наступному аналізі МПО- та КБ-позитивних нейтрофілів серед дітей з негоспітальною пневмонією (табл. 3.2).

3.2 Інтенсивність специфічного забарвлення нейтрофілів крові у дітей, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію

Показники кількості МПО- та КБ-позитивних нейтрофілів у дітей, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію представлені у табл. 3.2.

Таблиця 3.2 – Інтенсивність специфічного забарвлення нейтрофілів крові у дітей, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію ($\overline{X}$ ± m)

Показник	Групи дітей		
	1 (n=20)	2 (n=18)	3 (n=21)
1	2	3	4
МПО+,%	99,5 ± 0,21	99,6 ± 0,16	96,5 ± 0,22* #
МПО (1+),%	13,7 ± 0,96	10,28 ± 0,67*	13,98 ± 0,79#
МПО (2+),%	70,3 ± 1,39	22,67 ± 0,88*	28,79 ± 1,79* #
МПО (3+),%	15,45 ± 1,36	66,78 ± 1,43*	53,31 ± 1,77* #
КБ+,%	99,7 ± 0,15	99,8 ± 0,09	95,7 ± 0,5* #
КБ (1+),%	11,75 ± 0,67	10,83 ± 0,48	10,69 ± 0,73*
КБ (2+),%	71,05 ± 1,11	25,11 ± 0,86*	30,98 ± 1,21* #

Продовження табл. 3.2

1	2	3	4
КБ (3+),%	16,9 ± 0,71	63,89 ± 0,93*	54,17 ± 1,64* #

Примітки: 1 – контрольна група;

2 – група дітей, хворих на гострий обструктивний бронхіт;

3 – група дітей, хворих на пневмонію;

*– $p_{1-2/1-3} < 0,05$ відносно контролю;

– $p < 0,05$ – 3 група відносно 2 групи.

За результатами досліджень, кількість МПО-позитивних нейтрофілів у крові дітей, хворих на ГБ суттєво не відрізнялася від контролю і складала 99,6 ± 0,16 %. У дітей з НП кількість МПО-позитивних клітин була нижча за контроль і групу дітей з ГБ та становила 96,5 ± 0,22 % ($p<0,05$), що пояснюється наявністю в мазках крові дітей нейтрофілів без гранул МПО. Це є прямим доказом масивної дегрануляції нейтрофілів (викиду МПО у зону запалення) та переходу в активований, виснажений стан.

У здорових дітей найбільша кількість нейтрофілів приходилася на клітини із помірною кількістю гранул з МПО. Це функціональний пул нейтрофілів, які готові до міграції, але перебувають у спокійному, непраймованому стані. Така кількість була у 70,3 ± 1,39 % нейтрофілів.

Багаточисленні гранули, що заповнювали усю клітину, спостерігалися у 15,45 ± 1,36 % нейтрофілів. Таким чином, у здорових дітей найчисленнішою групою нейтрофілів із МПО була група із помірною кількістю гранул – МПО (2+).

У хворих дітей із ГБ, навпаки, найчисленнішою групою клітин були нейтрофіли з різко позитивною реакцією – МПО (3+), кількість яких зростала у 4,3 рази і становила 66,78 ± 1,43 %. Кількість нейтрофілів із помірною кількістю гранул із МПО (МПО (2+)) знижувалася у 3 рази, досягаючи 22,67 ±

0,88 %. За кількістю нейтрофілів із слабкопозитивною реакцією суттєвих відмінностей не спостерігалося.

У хворих дітей на негоспітальну пневмонію також спостерігалося підвищення кількості нейтрофілів із різко позитивною реакцією на МПО (МПО (3+)). Їх відносна кількість складала 53,31 ± 1,77 % ($p<0,05$), що у 3,4 рази перевищувало показник контролю. Нейтрофілів із помірною кількістю гранул (28,79 ± 1,79 %) було у 2,5 рази менше ніж у контролі. Відсоток клітин із слабкопозитивною реакцією на МПО майже не відрізнявся від контрольної групи (13,98 ± 0,79 %).

При респіраторній інфекції (як ГБ, так і НП) в організмі зростає концентрація праймуючих стимулів (цитокіни, хемокіни, ліпополісахариди). Ці стимули викликають модифікацію механізму трансдукції сигналу та підготовку клітини до активації. Цитологічно це може проявлятися як концентрація, набухання або ущільнення гранулярного апарату. Таким чином, помірно забарвлені клітини МПО (2+) переходять у категорію різко позитивних МПО (3+). Це відбувається не через синтез нових гранул, а через їхню перебудову або підготовку до масивного викиду. Зменшення МПО (2+) у 3 рази та зростання МПО (3+) у 4,3 рази при ГБ і є прямим цитологічним доказом масового праймінгу нейтрофілів. Такі ж самі синхронні зміни при НП свідчать про те, що обидва захворювання викликають якісну зміну в пулі циркулюючих нейтрофілів, переводячи їх у високоактивний, праймований стан, що візуально відображається як збільшення відсотка клітин з максимальною інтенсивністю забарвлення МПО (3+).

Порівняння груп хворих дітей виявило достовірні відмінності у показниках: у дітей з негоспітальною пневмонією кількість нейтрофілів із різко позитивною реакцією на МПО була на 20 % нижча, із помірною кількістю гранул на 27 % вища, з слабкопозитивною реакцією на МПО на 36 % вища. Зниження відсотку МПО(3+) при НП відносно ГБ може бути наслідком дегрануляції нейтрофілів, які при викиді гранул перейшли з категорії МПО(3+) в категорію МПО(2+) або навіть МПО(-). У крові при НП циркулює пул клітин,

які вже пройшли гостру фазу праймінгу та частково спожили свій ферментативний потенціал.

Отже, відмінності між ГБ та НП за МПО вказують на те, що ГБ відображає гостру фазу праймінгу, тоді як НП відображає більш глибоку фазу активації та функціонального виснаження нейтрофілів.

Результати за кількістю КБ-позитивних нейтрофілів демонструють майже ідентичну картину динаміки, що й за МПО-позитивними нейтрофілами.

Кількість КБ-позитивних нейтрофілів у дітей, хворих на ГБ не відрізнялася від контролю, а у дітей з НП була меншою і становила 95,7 ± 0,5 % при 99,7 % у контролі ($p<0,05$), що свідчить про дегрануляцію нейтрофілів та появу клітин із вивільненими КБ внаслідок активованого стану та є ознакою більш тяжкого, тривалого чи інтенсивного запалення.

У контролі клітини із помірною кількістю гранул з КБ (КБ(2+)) були у переважній кількості - 71,05 ± 1,11 % клітин знаходилися у спокійному, функціональному стані. Запальні медіатори при ГБ та НП викликають структурну перебудову гранул та підготовку клітини до активації. В результаті в обох групах хворих дітей зменшується кількість нейтрофілів із помірним забарвленням КБ(2+) та збільшується кількість клітин з різко позитивним забарвленням КБ(3+). Так, при ГБ кількість КБ(3+) зростає у 3,8 рази (63,89 ± 0,93%), а КБ(2+) знижується у 2,8 рази (25,11 ± 0,86 %), а при НП у 3,2 та 2,3 рази відповідно, що є цитологічним доказом праймінгу нейтрофілів, спрямованого на збільшення їхнього функціонального потенціалу.

Аналіз інтенсивності специфічного забарвлення нейтрофілів за КБ між групами дітей з ГБ та НП також демонструє різну глибину імунної відповіді. Відсоток КБ(3+) при НП (54,17 ± 1,64%) на 15 % нижчий ($p<0,05$) порівняно з ГБ (63,89 ± 0,93%). Це підтверджує, що при НП частина наповнених гранулами клітин КБ(3+) вже дегранулювала, перейшовши в менш інтенсивно забарвлену групу КБ(2+) або навіть КБ(-).

При аналізі мазків крові були виявлені різні дегенеративні зміни у нейтрофілах хворих дітей. В крові зростала кількість клітин з токсичною

зернистістю, на фоні якої спостерігалося утворення цитоплазматичних вакуолей. Серед клітин зростала кількість гіперсегментованих нейтрофілів та клітин з каріорексисом.

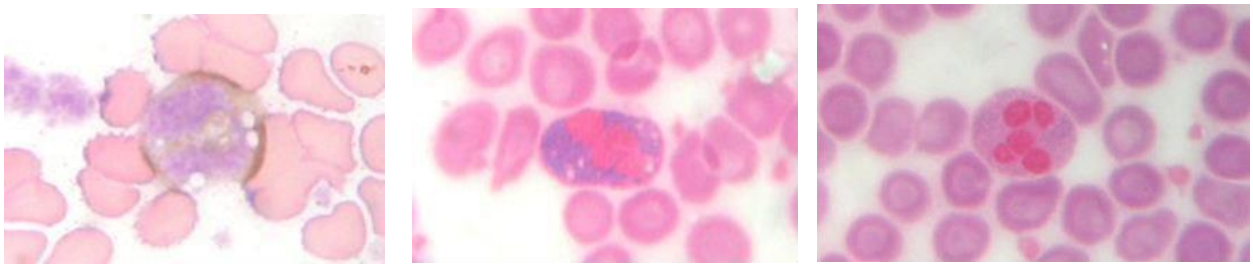


Рисунок 3.1 – Дегенеративні зміни у нейтрофілах крові

Виявлені дегенеративні зміни у нейтрофілах є важливим цитологічним доказом інтенсивності запального процесу та деструкції клітин.

Таким чином, ГБ викликає пікову фазу праймінгу нейтрофілів, що проявляється зростанням частки клітин з різко позитивною реакцією на МПО та КБ (МПО(3+) та КБ(3+)), але без значної дегрануляції (МПО+ та КБ+ залишаються високими). НП викликає фазу активації та функціонального виснаження нейтрофілів, що проявляється зниженням МПО+ та КБ+ та зниженням частки клітин з різко позитивною реакцією на МПО та КБ (МПО(3+) та КБ(3+)) порівняно з ГБ.

4 ОХОРОНА ПРАЦІ

Охорона праці є критично важливим етапом підготовки до виконання будь-яких досліджень, оскільки її дотримання запобігає виникненню травм та мінімізує ризик розвитку професійних захворювань, спричинених нещасними випадками.

Темою моєї роботи є «Метаболічна активність нейтрофілів крові у дітей, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію». Мета даного розділу показати практичні вміння застосовувати теоретичні знання при виконанні кваліфікаційної роботи. Експериментальна частина роботи проводилася на базі КНП «Міська дитяча лікарня № 1» Запорізької міської ради та кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом ЦЗ та медицини ЗНУ.

Експериментальна частина складалась з трьох етапів: перший – виготовлення мазків крові, фіксація та їх фарбування, другий - дослідження на визначення активності КБ та МПО, третій - статистична обробка результатів.

При виконанні даної роботи існує ймовірність виникнення різних видів травмувань, що вимагає суворого дотримання правил безпеки. Основні ризики включають можливість отримання термічних та хімічних опіків внаслідок контакту з високими температурами або агресивними хімічними речовинами. Крім того, є значний ризик електротравм, а також забруднення одягу, шкіри та слизових оболонок через непередбачене потрапляння на них хімічних або біологічних рідин. Додатково слід враховувати потенційну небезпеку зниження рівня кисню у лабораторних умовах, що може призвести до задухи.

На початку роботи у лабораторії, мене було проінструктовано керівником, щодо правил поведінки, охорони праці, пожежної безпеки у лабораторії на кафедрі фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільної оборони та медицини і поставлено відмітку у журналі інструктажу, котра це підтверджує.

При проведенні робіт в лабораторних умовах важливо дотримуватись встановлених санітарно-гігієнічних норм і правил. До них належать

забезпечення безпечних умов праці, дотримання чистоти робочого місця, обладнання, використання спецодягу, спецвзуття та інших засобів індивідуального захисту, що викладені у НПАОП 0.00-7.17-18 [46].

Згідно з вимогами ДСН 3.6.042-99, забезпечення адекватних санітарно-гігієнічних умов є ключовою передумовою для гарантування безпеки наукового персоналу в лабораторії. Основним аспектом цього є ретельне підтримання контрольованих параметрів робочого простору. До них належить регулювання температури, вологості, освітлення та швидкості циркуляції повітря. Зокрема, температурний режим повітря повинен суворо відповідати встановленим нормам, забезпечуючи оптимальні умови для експериментальної діяльності та мінімізації ризиків, притаманних лабораторним умовам [47].

Для підтримання належного мікроклімату у лабораторному приміщенні критично важливим є забезпечення оптимальних фізичних параметрів. Проведення експериментальних робіт супроводжувалося суворим дотриманням санітарно-гігієнічного режиму, що стало запорукою безпеки праці. У робочій зоні лабораторії підтримувалися оптимальні параметри мікроклімату, які відповідали вимогам ДНАОП 0.03-3.15-86. Зокрема, контролювалися та дотримувалися визначені показники температури (20-22 °C), вологості (40-60%), належного освітлення та швидкості переміщення повітря.

Ключову роль у підтримці безпечного середовища відігравало регулярне провітрювання. Ця процедура є необхідною для запобігання застою повітря, відновлення оптимальної концентрації кисню та зниження вмісту вуглекислого газу у закритому приміщенні. Якість повітря робочої зони, включаючи концентрацію шкідливих речовин, відповідала вимогам ДСТ 12.1.005-86 [48].

Відповідно до ДБН 2.5–64–2012, приміщення лабораторії має відповідати конкретним стандартам щодо інфраструктури та устаткування. Це включає обов'язкове обладнання системами гарячого та холодного водопостачання, а також надійною каналізаційною системою. Остання забезпечує безпечну утилізацію рідких відходів та відпрацьованої води, що утворюються в процесі досліджень [49].

Безпека проведення дослідження є пріоритетною вимогою і має забезпечуватися згідно з ДСТ 12.3.002-75 та іншими чинними нормативно-правовими актами. Для всіх видів діяльності, що несуть потенційну небезпеку, має бути підготовлена відповідна технічна документація, узгоджена з керівником робіт. Суворе дотримання правил техніки безпеки є необхідним для запобігання нещасним випадкам, пожежам та вибухам. Здійснення експериментів вимагає акуратності, уважності та глибокого знання принципів роботи обладнання, властивостей використовуваних речовин та правил безпеки виконання робіт.

Підготовчий етап перед початком досліджень вимагає отримання дозволу на їх проведення та детального ознайомлення з правилами безпеки, обладнанням, матеріалами й інструментами. Обов'язковою є перевірка справності приладів, включаючи цілісність електричних дротів та наявність заземлення (занулення). Необхідно також упевнитися в наявності та доступності засобів пожежогасіння і надання першої долікарської допомоги. Додатковою вимогою є дотримання правил лабораторного одягу: забороняється вхід до лабораторії у верхньому одязі, а при роботі з хімічними реактивами обов’язковим є спецодяг (зокрема, халат з бавовняної тканини) відповідно до ст. 163 КЗпП України та ДНАОП 0.00-4.26-96.

Під час проведення досліджень використовується хімічний посуд загального та спеціального призначення, включно з мірним, при цьому часто застосовуються пробірки. З метою уникнення розбризкування та потрапляння реагентів на шкіру дослідника, забороняється наповнювати пробірки до країв. Категорично неприпустимо закривати пробірку пальцем і струшувати її, оскільки це може призвести до травмування або хімічного опіку шкіри. Особлива увага приділяється миттю посуду: необхідно слідкувати, щоб йорж не пошкодив дно або стінки, запобігаючи руйнуванню посуду та можливому травмуванню. Утилізація відходів вимагає суворого дотримання правил: забороняється виливати у каналізаційну мережу концентровані кислоти, луги, сильно пахучі та отруйні речовини.

У процесі роботи над темою дослідження значна увага приділялася безпечній експлуатації електроприладів. Усі дії суворо підпорядковувалися вимогам ДНАОП 0.00-1.21-98 «Правила безпечної експлуатації електроустановок споживачів». Робота з обладнанням проводилася виключно у присутності лаборанта та з чітким дотриманням інструкцій і паспортів заводу-виробника. Етап підготовки включав обов'язкову перевірку справності приладів: контролювалася цілісність дротів та проводилася перевірка заземлення (занулення) для обладнання, де це передбачено інструкцією. Для забезпечення безпеки використовувалися лише діючі прилади, які пройшли необхідний профілактичний огляд та перевірку. Після завершення експериментів, а також у періоди тимчасового простою, всі електроприлади відключалися від мережі. [50].

Оскільки описані у роботі дослідження передбачають контакт із біологічним матеріалом (кров'ю), критично важливим є дотримання суворих норм і правил біологічної безпеки, визначених у ДСП 9.9.5.–080–02. Це необхідно для мінімізації ризиків, пов'язаних із потенційним контактом з інфекційними агентами. Дотримання цих вимог включає: правильне зберігання зразків крові, використання затверджених методів утилізації відходів, чітке виконання процедур дезінфекції та стерилізації обладнання, а також надання обов'язкових рекомендацій щодо особистого захисту персоналу, який працює з цими матеріалами. [51].

Пожежна безпека об'єкта регламентується Законом України «Про пожежну безпеку» та Правил пожежної безпеки в Україні (затверджені Наказом МВС від 30.12.2014 № 1417), а також відповідними інструкціями. Лабораторія має бути обов'язково оснащена справними первинними засобами пожежогасіння, які розміщуються безпосередньо у приміщенні. До них належать: вуглекислотні, пінні або порошкові вогнегасники, ящик або відро з піском із совком, а також покривало з вогнетривкого матеріалу.

Оформлення роботи передбачало використання комп'ютерної техніки, що вимагало дотримання правил безпеки. Підключення комп'ютерів до

електромережі здійснювалося виключно через спеціально встановлені розетки або вилки із заземленням. Категорично забороняється пряме підключення обладнання дротом без використання вилки.

Для забезпечення комфортної та безпечної роботи з комп'ютерною технікою слід дотримуватись ергономічних вимог до робочого місця. Положення екрана має бути налаштоване з кутом нахилу 10-15° відносно вертикалі, а відстань до очей повинна становити 55-60см для зниження візуальної напруги. Кут зору на екран має бути прямим (90°). Правильна поза передбачає стійке розташування ніг на підлозі чи підніжці, де коліна і стегна утворюють прямі кути. Дотримання цих правил запобігає навантаженню на шийні м'язи та мінімізує ризики, пов'язані з тривалим сидінням. Крім того, необхідно підтримувати чистоту екрана монітора та окулярів (за наявності), щоб уникнути погіршення зору та втоми очей. З метою зорової гігієни рекомендується кожні 20-30 хвилин змінювати фокус зору на віддалені об'єкти. При сидячій роботі слід робити заплановані перерви (кожні 1-2 години), під час яких необхідно встати та рухатися протягом 15-20 хвилин.

Нещасні випадки у лабораторних умовах (термічні/хімічні опіки, електротравми, задуха, потрапляння біологічних рідин) є наслідком недотримання правил техніки безпеки при роботі з реактивами, обладнанням та комп'ютерною технікою. Критично важливим є знання долікарняної допомоги для мінімізації наслідків.

1. Загальний стан та задуха.

При загальному погіршенні стану або задусі (внаслідок несправності витяжок) потерпілого слід негайно винести на свіже повітря. За наявності забезпечити дихання чистим киснем. При відсутності самостійного дихання чи кровообігу негайно розпочати штучне дихання та непрямий масаж серця, одночасно забезпечуючи швидку доставку до реанімаційного відділення.

2. Електротравми.

Надання допомоги при електротравмі починається зі звільнення потерпілого від джерела струму (вимкнення рубильника, вимикача). Якщо це

неможливо, слід використовувати діелектричні засоби (гумові рукавички, суха дерев'яна палиця), оскільки доторкатися голими руками заборонено. При відсутності ознак життя негайно розпочати реанімаційні заходи. Після успішної реанімації накласти асептичні пов'язки на «мітки струму» (опіки) та терміново транспортувати до лікарні.

3. Контакт із біологічними рідинами (кров'ю).

Усі біологічні рідини (наприклад, сироватка крові) слід сприймати як потенційно інфіковані. Протоколи першої допомоги регламентовані наказом № 120 МОЗ України (від 20.05.00).

При потраплянні біологічних рідин на одяг (халат): зняти та замочити у дезінфікуючому розчині (наприклад, 0,5% р-н хлорантоїну) на 1 годину.

При потраплянні біологічних рідин на шкіру: обробити дезінфектантом (70^0 спирт, 3% перекис водню), промити двократно проточною водою з милом і знову обробити дезінфектантом.

При потраплянні біологічних рідин на слизові оболонки: очі промити великою кількістю води та закапати 30% розчином альбуциду. Ротову порожнину прополоскати 70^0 спиртом. [52, 53].

Отже, забезпечення охорони праці та біологічної безпеки під час виконання експериментальної частини магістерської роботи було необхідною умовою. Весь процес базувався на суворому дотриманні чинних нормативних актів, що регламентують санітарно-гігієнічний режим і технічну експлуатацію. Дотримання цих заходів дозволяло мінімізувати ризики травматизму та інфікування, забезпечити безпечні умови праці та отримувати надійні наукові результати, що є необхідною умовою для проведення експериментальної частини моєї кваліфікаційної роботи.

ВИСНОВКИ

1. У дітей дошкільного віку, хворих на ГБ, активність мієлопероксидази та рівень катіонних білків достовірно зростає на 24,5% та 23% відповідно. Зростання активності мієлопероксидази та рівня катіонних білків у дітей, хворих на НП, відбувалося відповідно на 14,5% та 14,7% ($p<0,05$). Все це свідчить про перехід нейтрофілів у хворих дітей із стану спокою до праймованого стану.

2. У групі дітей з ГБ кількість МПО+ (99,6 ± 0,16%) та КБ+ нейтрофілів (99,8 ± 0,09 %) суттєво не відрізняється від контролю, що свідчить свідчить про відсутність масової дегрануляції нейтрофілів та відображає піковий праймінг, в той час, як у групі з НП кількість МПО+ (96,5% ± 0,22%) та КБ+ (95,7 ± 0,5%) нейтрофілів достовірно знижується ($p<0,05$) порівняно з контролем, свідчить про викид вмісту гранул (поява МПО- та КБ-негативних клітин) та відображає функціональне виснаження.

3. У здорових дітей домінують нейтрофіли у спокійному стані МПО(2+) та КБ(2+), що склали 70,3 ± 1,39 % та 71,05 ± 1,11 % відповідно. У дітей, хворих на ГБ та НП, відбувається масовий перехід нейтрофілів у праймований стан, що підтверджується різким зростанням частки клітин з максимальним забарвленням МПО(3+) та КБ(+). При ГБ частка МПО(3+) досягла 66,78 ± 1,43 % (зростання у 4,3 рази), а КБ(+) – 63,89 ± 0,93%, тоді як при НП ці показники були достовірно нижчими – 53,31 ± 1,77 % (зростання у 3,4 рази) та 54,17 ± 1,64 % відповідно на фоні зниження МПО(2+)/КБ(+) в обох групах.

4. При гострому бронхіті порівняно з негоспітальною пневмонією активність МПО вища на 9 %, а рівень КБ на 7 %. Частка нейтрофілів з різко позитивною реакцією (МПО(3+) та КБ(3+)) у групі дітей з НП достовірно нижча (на 20% та 15% відповідно), ніж у групі з ГБ. Це свідчить, що ГБ відображає гостру фазу праймінгу, де нейтрофіли знаходяться у стані

максимальної готовності до масивного викиду гранул, а НП відображає фазу активації та виснаження, де нейтрофіли вже витратили частину свого ферментативного потенціалу.

5. У крові у дітей, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію, зростає кількість нейтрофілів із дегенеративними змінами: збільшується кількість нейтрофілів із токсичною зернистістю, зростає кількість клітин із гіперсегментацією ядер, з’являються клітини із вакуолізацією та каріорексисом.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Отримані результати можуть бути використані у практиці педіатричних стаціонарів для вдосконалення методів діагностики, прогнозування та комплексного лікування гострих респіраторних інфекцій у дітей.

Отримані результати кваліфікаційної роботи можна використовувати в курсі «Імунологічні методи лабораторної діагностики», «Патологічна фізіологія»

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. World Health Organization: Pneumonia in children. 11 November 2022. URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/pneumonia (дата звернення: 21.04.2025).

2. Xulong Cai, Mali Lin, Li Zhou. Characteristics of plastic bronchitis in children with infectious pneumonia. *Italian Journal of Pediatrics*. 2025. V. 51, № 24. 11 p. DOI: 10.1186/s13052-025-01873-4

3. Катеренчук І. П. Клінічне тлумачення і діагностичне значення лабораторних показників у клініці внутрішньої медицини: навчальний посібник. Полтава, 2015. 270 с.

4. Mironska K. Neutrophil functional disorder in childhood. *Sec. Med. Sci*. 2015. V. 36, № 1. P. 183-190. DOI: https://doi.org/10.1515/prilozi-2015-0043

5. Іванова Л. П., Шаповал В. В., Семененко Т. П. Морфологічні зміни в легенях у дітей з гострим бронхітом. *Медичні перспективи*. 2016. Т. 21, № 3. С. 112-116.

6. Марушко Ю.В., Гищак Т.В., Марушко Т.В. та ін. Захворювання органів дихання у дітей: особливості перебігу та сучасні методи лікування: навчальний посібник. Київ, 2024. 296 с.

7. Гаврилова В.П., Шевченко Л. С., Білик О. В. Метаболічні порушення у дітей з гострим бронхітом. *Вісник сучасної клінічної медицини*. 2016. № 3. С. 88-92.

8. Kocherha Z.R., Dutchuk O.V., Zhyliak O.V., Tsitsyura O.O. et al. Modern views on the prevalence of pneumonia in children and the role of laboratory diagnosis: a review of the literature. *Art of medicine*. 2022. № 1(21). P. 149–153. https://doi.org/10.21802/artm.2022.1.21.149

9. Майданник В.Г., Фалалєєва Т.М., Молочек Н.В., Романенко С.Ю. Клінічні рекомендації з лікування та профілактики ускладнень гострих

респіраторних інфекцій у дітей. *Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології*. 2019. Т. 13, № 3. С. 56–58.

10. Сидоренко С.О., Черненко В. О., Ковальов С. В. Особливості імунологічної реактивності у дітей з гострими респіраторними захворюваннями. *Педіатрія, акушерство та гінекологія*. 2017. № 3. С. 42-46.

11. Коршунова О.О., Поляков В. В., Сімонов В. І. Діагностика та лікування негоспітальної пневмонії у дітей. *Український медичний часопис*. 2018. Т. 122, № 4. С. 167-170.

12. Terry Chin. Acute Bronchitis in Childhood. Bronchitis in Children - Latest Developments. 2024. 76 p. DOI: 10.5772/intechopen.111493

13. Havrylenko A., Smiyan O. Information on prognostic markers of severe acute bronchitis in preschoolers: a study in sumy region in north-eastern ukraine**.** *Eastern Ukrainian Medical Journal*. 2023. № 11(4). P. 408-420. DOI: 10.21272/eumj.2023;11(4):408-420.

14. Полякова О.В., Глущенко І.М., Ковальчук С.О. Активність нейтрофілів крові у дітей з негоспітальною пневмонією. *Педіатрія, акушерство та гінекологія*. 2019. № 4. С. 32-36.

15. Ковальчук І.М., Демченко В.І., Журавльов В.А. Методи діагностики гострого бронхіту у дітей. *Медичний вісник Південного університету*. 2015. № 2. С. 77-81.

16. Коренюк О. С. Особливості терапії гострого обструктивного бронхіту у дітей раннього віку. *Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології*. 2014. № 2. С. 50-53.

17. Абатуров О.Є., русакова 0.0 . Прогнозування індивідуального ризику розвитку бронхіальної обструкції при гострих бронхітах у дітей раннього віку. *Клінічна педіатрія*. 2015. № 1 (60). С. 55-60.

18. Kızılırmak D., Yorgancıoğlu A.. Acute and Chronic Bronchitis. *Airway Diseases*. 2023. P. 555-562. https://doi.org/10.1007/978-3-031-22483-6_36-1

19. Луценко О.І., Рудишин С.Д., Боровик Т.С. Медико-соціальний моніторинг захворюваності дітей на гострий бронхіт і пневмонію (на прикладі

мікробіологічної лабораторії міста Глухова, Сумська область). *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2021. Т. 21, № 3. С. 74–82.

20. Кравченко Т. М., Петренко О. В., Ковальчук В. В. Особливості клінічного перебігу гострого бронхіту у дітей різного віку. *Український педіатричний журнал.* 2017. № 3. С. 72-77.

21. Xia Huang, Houbing Qin, Rui Zhang. Neutrophils are involved in the development and outcomes of plastic bronchitis associated with Mycoplasma pneumoniae pneumonia. *Respiratory Research*. 2025. № 26(1). P. 92-104. DOI: 10.1186/s12931-025-03167-z

22. Дяченко М.С., Усенко С.Г., Усенко С.А., Мінухін Д.В., Євтушенко Д.О. Клінічні та імунологічні особливості перебігу гострих обструктивних бронхітів у дітей, що інфіковані хламідіями. *Клінічна медицина*. 2024. № 6. 20-27.

23. Гавриленко Т.І., Рижкова Н.О., Пархоменко О.М., Довгань О.В., Довгань Н.В., Пасічніченко О.М., Бабій С.М.. Сучасні погляди на роль нейтрофілів в імунній відповіді. *Фізіологічний журнал*. 2021. Т. 67, № 3. С. 75–86.

24. Danne, C., Skerniskyte, J., Marteyn, B., Sokol, H. Neutrophils: from IBD to the gut. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2024. №. 21. P. 184-197. https://doi.org/10.1038/s41575-023-00871-3.

25. J.-H. Jeon, Chang-Won Hong, Eun Young Kim, Jae Man Lee. Current understanding on the metabolism of neutrophils. *Immune network*. 2020. Vol. 20, № 6. https://doi.org/10.4110/in.2020.20.e46

26. Маслянко Р. П., Грабовський С. С., Грабовська О. С. Сучасні уявлення про фагоцитоз. *Біологія тварин*. 2013. Т. 15, № 3. С. 63–69.

27. Othman A., Sekheri M., Filep J. G. Roles of neutrophil granule proteins in orchestrating inflammation and immunity. *The FEBS Journal*. 2021. Vol. 289, № 14. P. 3932–3953. https://doi.org/10.1111/febs.15803

28. Бондаренко С. О., Міщенко В. О., Ковальов О. В. Діагностика та лікування негоспітальної пневмонії у дітей молодшого віку. *Медичний вісник Південного університету*. 2018. № 3. С. 47-51.

29. Miralda I., Uriarte S. M., McLeish K. R. Multiple phenotypic changes define neutrophil priming. Frontiers in cellular and infection microbiology. 2017. Vol. 7. https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00217

30. Vogt K. L., Summers C., Chilvers E. R., Condliffe A. M. Condliffe. Priming and de-priming of neutrophil responses in vitro and in vivo. *European journal of clinical investigation*. 2018. Vol. 48, № 2. P. e12967. https://doi.org/10.1111/eci.12967

31. Шаповал О. В., Іванова О. М., Костенко С. О. Ефективність застосування антибіотиків у лікуванні гострого бронхіту у дітей. *Український медичний часопис*. 2016. Т. 120, № 4. С. 158-162.

32. Горбачова І. В., Сухорукова Л. М., Ковальчук В. П. Особливості клінічного перебігу негоспітальної пневмонії у дітей різного віку. *Педіатрія, акушерство та гінекологія*. 2018. № 2. С. 18-23.

33. Darko Stojkov, Lea Gigon, Shuang Peng et al. Physiological and pathophysiological roles of metabolic pathways for NET formation and other neutrophil functions. *Frontiers in immunology*. 2022. №. 13. ID 826515. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.826515

34. Metabolic regulation of neutrophil functions in homeostasis and diseases / Pier-Olivier Leblanc et al. *Journal of Leukocyte Biology*. 2024. № 116. P. 456–468. https://doi.org/10.1093/jleuko/qiae025

35. Максимова О. О., Кузнецова І. В., Шевченко О. В. Ефективність застосування антибіотиків у лікуванні негоспітальної пневмонії у дітей. *Український педіатричний журнал*. 2019. № 4. С. 24-28.

36. Arnhold J. The dual role of myeloperoxidase in immune response. *International journal of molecular sciences*. 2020. Vol. 21, № 21. ID 8057. https://doi.org/10.3390/ijms21218057

37. Мальцев Д.В. Дефіцит мієлопероксидази фагоцитів. Київ: Центр учбової літератури, 2020. 208 с.

38. Nakonechna O.A., Kyslov O.V. Determination of acute phase proteins in the blood of rats after implantation of polypropylene surgical mesh with a coating based on tantalum and its derivatives. *Experimental and clinical physiology and biochemistry*. 2024. № 1 (99). С. 40–48. https://doi.org/10.25040/ecpb2024.01.040

39. Pechous R.D. With friends like these: the complex role of neutrophils in the progression of severe pneumonia. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2017. №. 7. ID 160. https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00160

40. Желіба М.Д., Богачук М.Г. Структурний аналіз морфометричного та морфофункціонального стану імунокомпетентних клітин крові при гнійно-запальних захворюваннях м'яких тканин на тлі цукрового діабету 2-го типу. *Український журнал хірургії*. 2018. Вип. 2(37). С. 22–26. https://doi.org/10.22141/1997-2938.2.37.2018.147843

41. Литвіненко Н.О., Горбачов В.М., Ковальова О.С. Морфологічні зміни в легенях у дітей з гострими респіраторними захворюваннями. *Вісник сучасної клінічної медицини*. 2019. № 1. С. 72-76.

42. Christ-Crain M., Opal S.M. Clinical review: the role of biomarkers in the diagnosis and management of community-acquired pneumonia. *Critical care*. 2010. Vol. 14, № 1. P. 203. https://doi.org/10.1186/cc8155

43. Бесчасний С.П., Гасюк О.М. Мієлопероксидазна активність нейтрофілів у дітей з вадами слуху. *Актуальні проблеми сучасної біології та здоров'я людини*. 2011. Вип. 11. С. 260-265.

44. Горбулінська О.В. Біохімічні зміни в клітинах крові щурів за умов введення екстрактів та суспензій якона (Smallanthus sonchifolius Poepp. & Endl.) за цукрового діабету 1-го типу. Рукопис. Дис. … канд. біол. наук : 03.00.04 / Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, 2017. 207 с.

45. Горбачик, А.П., Сальнікова, С.А. Аналіз даних соціологічних досліджень засобами SPSS: навч.-метод. посібн. Луцьк : РВВ «Вежа» Волин. нац. ун-ту ім. Лесі Українки, 2008. 164 с.

46. Мінімальні вимоги безпеки і охорони здоров`я при використанні працівниками засобів індивідуального захисту на робочому місці. НПАОП 0.00-7.17-18 [Чинний від 2019-01-15]. Вид. офіц. Київ, 2018. 28 с. (Нормативний документ Міністерства соціальної політики України). URL: https://dnaop.com/html/54595/doc%D0%9D%D0%9F%D0%90%D0%9E%D0%9F_0.00-7.17-18 (дата звернення: 14.11.2025).

47. Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень. ДСН 3.3.6.042-99. [Чинний від 1999-12-01]. Вид. офіц. Київ, 1999. 24 с. (Нормативний документ МОЗ України). URL: https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/va042282-99#Text (дата звернення: 14.11.2025).

48. Одарченко М. С., Степанов В. І., Черненко Я. М. Основи охорони праці : підручник. Харків, 2017. 334 с.

49. Внутрішній водопровід та каналізація. ДБН В.2.5-64:2012. [Чинний від 2013-03-01]. Вид. офіц. Київ, 2012. 104 с. (Нормативний документ Мінбуд України). URL: https://dreamdim.ua/wp-content/uploads/2019/10/DBN-V.2.5-64-2012-Vnutrishniy-vodoprovid-ta-kanali.pdf (дата звернення: 14.11.2025).

50. Правила безпечної експлуатації електроустановок споживачів. ДНАОП 0.00-1.21-98. [На заміну ДНАОП 0.00.1.21-84; чинний від1998-08-20]. Вид. офіц. Київ, 1998. 93 с. (Нормативний документ держнаглядохоронпраці) URL:https://dnaop.com/html/33105/doc%D0%94%D0%9D%D0%90%D0%9E%D0%9F_0.00%E2%80%931.21%E2%80%9398 (дата звернення: 14.11.2025)

51. Державні санітарні правила та норми, гігієнічні нормативи. Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях мікробіологічного профілю. ДСП 9.9.5.-080-02. [Чинний від 2002-01-28]. Вид. офіц. Київ, 2002. 7 с. (Нормативний документ МОЗ України). URL: https://dnaop.com/html/3108/doc-%D0%94%D0%A1%D0%9F_9.9.5.-080-02 (дата звернення: 14.11.2025)

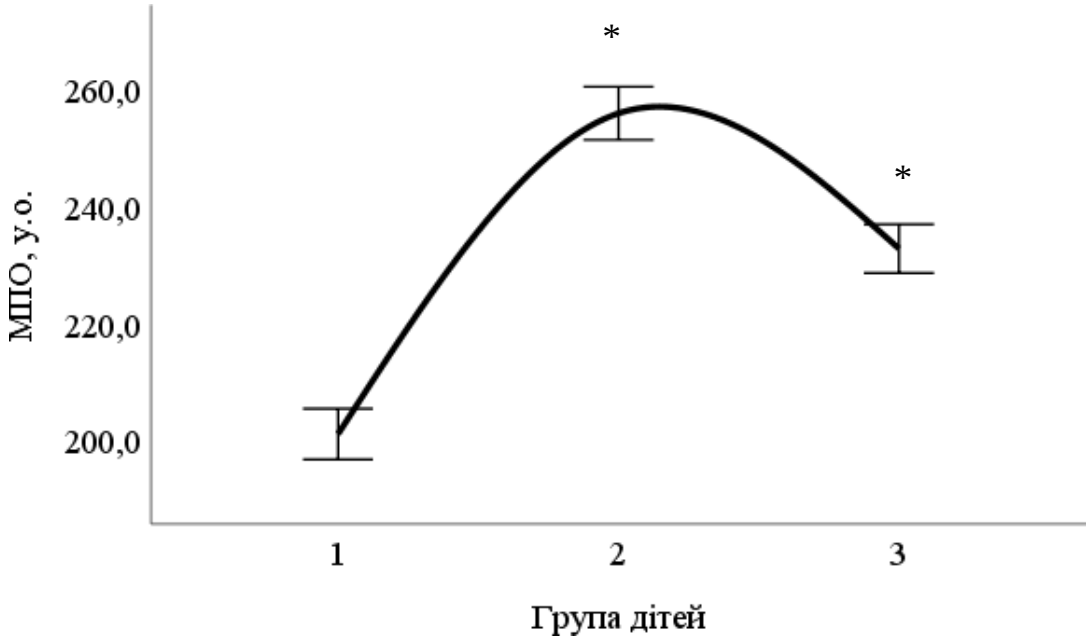
52. Єхалов В.В., Кравець О.В., Кріштафор Д.А. Ураження електричним струмом: клінічна лекція. *Emergency medicine*. 2022. Т. 18, № 5. С. 18–28. https://doi.org/10.22141/2224-0586.18.5.2022.1507

53. Наказ МОЗ України № 1777. Про затвердження Заходів та Засобів щодо попередження інфікування при проведенні догляду за пацієнтами. [Чинний від 2020-08-03]. Вид. офіц. Київ, 2020. 85 с. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1110-20#Text (дата звернення: 14.11.2025)

ДОДАТКИ

Додаток А

Активність МПО у нейтрофілах крові дітей, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію



Примітки: 1 – контрольна група;

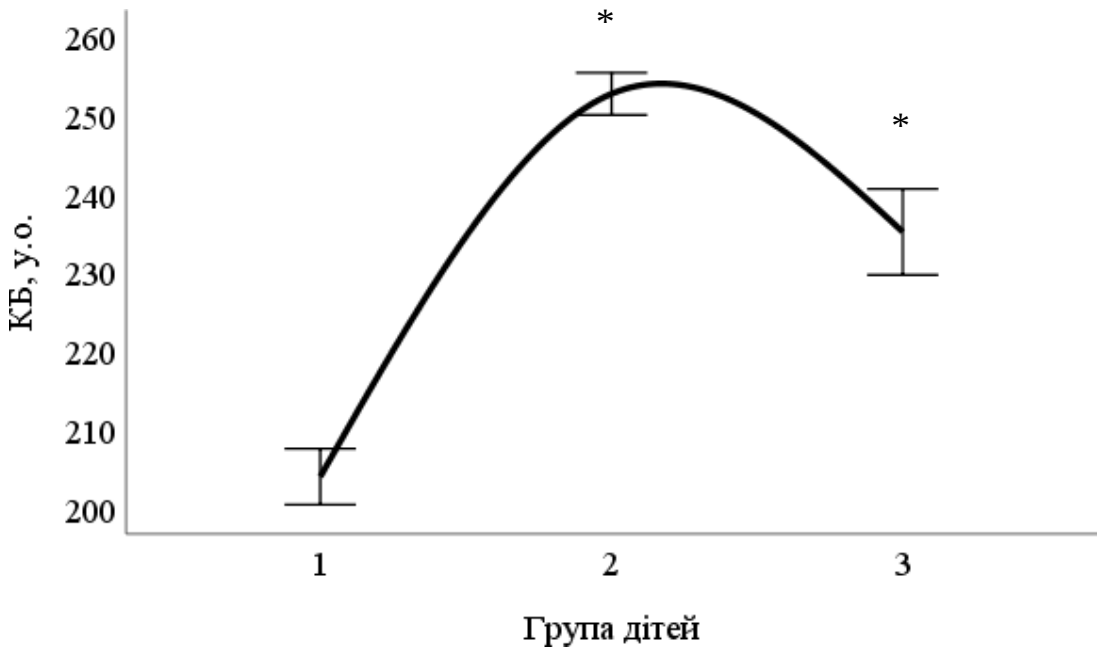
2 – група дітей, хворих на гострий обструктивний бронхіт;

3 – група дітей, хворих на пневмонію;

* – $p < 0,05$ відносно контролю.

Додаток Б

Рівень КБ у нейтрофілах крові дітей, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію



Примітки: 1 – контрольна група;

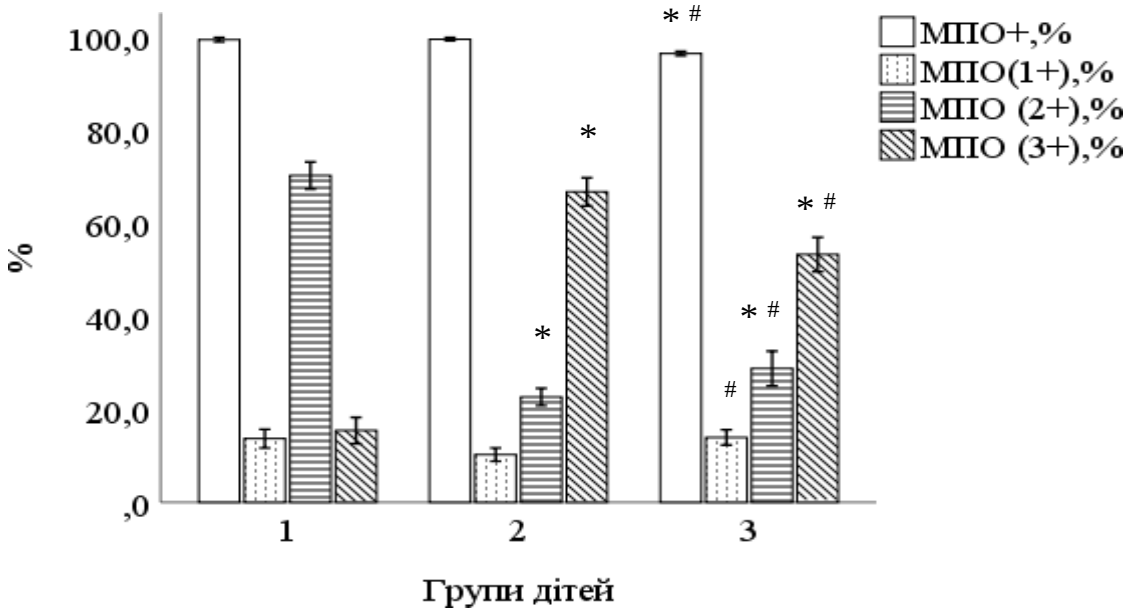
2 – група дітей, хворих на гострий обструктивний бронхіт;

3 – група дітей, хворих на пневмонію;

* – $p < 0,05$ відносно контролю.

Додаток В

Кількість МПО-позитивних нейтрофілів в крові дітей, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію



Примітки: 1 – контрольна група;

2 – група дітей, хворих на гострий обструктивний бронхіт;

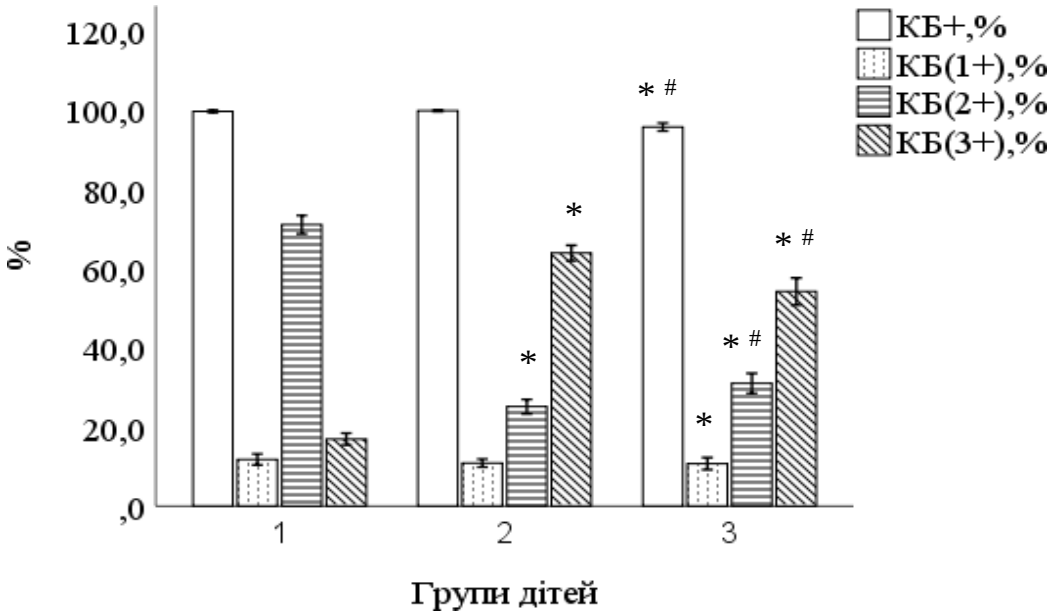
3 – група дітей, хворих на пневмонію;

*– $p_{1-2/1-3} < 0,05$ відносно контролю;

– $p < 0,05$ – 3 група відносно 2 групи.

Додаток Г

Кількість КБ-позитивних нейтрофілів в крові дітей, хворих на гострий бронхіт та негоспітальну пневмонію



Примітки: 1 – контрольна група;

2 – група дітей, хворих на гострий обструктивний бронхіт;

3 – група дітей, хворих на пневмонію;

*– $p_{1-2/1-3} < 0,05$ відносно контролю;

– $p < 0,05$ – 3 група відносно 2 групи.