

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

STAŠA D. KRASIĆ

**MEHANIZMI REDOKS RAVNOTEŽE I
INFLAMATORNOG ODGOVORA NAKON
PRIMENE METILPREDNIZOLONA U DECE
SA MULTISISTEMSKIM INFLAMATORNIM
SINDROM UDRUŽENIM SA COVID-19**

Doktorska disertacija

Beograd, 2023

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF MEDICINE

STASA D. KRASIC
**MECHANISMS OF REDOX BALANCE
AND INFLAMMATORY RESPONSE
AFTER THE USE OF
METHYLPREDNISOLONE IN CHILDREN
WITH MULTISYSTEM INFLAMMATORY
SYNDROME ASSOCIATED WITH COVID-
19**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2023

Mentori:

Prof. dr Milica Bajčetić, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju

Prof. dr Vladislav Vukomanović, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“

Članovi komisije za odbranu doktorske disertacije:**Predsednik**

Prof. Dr Janko Samardžić, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju

Član

Prof. Dr Srđan Pašić, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“

Član

N. Sav Dr Ivan Spasojević, Institut za medicinska istraživanja

Član

Prof. Dr Jelena Vojinović, Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Dečja interna klinika, Univerzitetski klinički centar Niš

Član

Doc. Dr Bojana Božić-Cvijan, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju

Datum odbrane:

Zahvalnosti

Neizmernu ljubav, razumevanje, strpljenje, podršku i radost dobijam od svoje porodice svih ovih godina.

Umesto reči zahvalnosti njima posvećujem ovaj rad.

Zahvalnosti

Zahvaljujem se svim koautorima koji su učestvovali u pisanju rada koji je proizašao iz doktorske teze:

- svojim mentorima, prof. dr Milici Bajčetić i prof. dr Vladislavu Vukomanoviću koji su osmislili ciljeve ove doktorske teze i omogućili realizaciju iste;
- svojim kolegama iz laboratorije za protočnu citometriju, dr Goradni Samardžiji i dr Nemanji Mitrović koji su određivali imunofenotip limfocita periferne krvi, kao i Verici Bogadnović za određivanje oksidaciono-redukcionog potencijala;
- dragoj kolegenici, dr Maji Čehić koja je dala značajan doprinos u prikupljanju podataka;
- kolegenici dr Sanji Ninić za doprinos u dijagnostici i lečenju bolesnika;
- profesorima dr Srđanu Pašiću i dr Dejanu Nešiću za intelektualni doprinos.

MEHANIZMI REDOKS RAVNOTEŽE I INFLAMATORNOG ODGOVORA NAKON PRIMENE METILPREDNIZOLONA U DECE SA MULTISISTEMSKIM INFLAMATORNIM SINDROM UDRUŽENIM SA COVID-19

Uvod: Multisistemski inflamatorni sindrom kod dece (MIS-C) povezan sa infekcijom koronavirusom-19 (COVID-19) je stanje opasno po život koje je rezultat citokinske oluje, povećane sinteze reaktivnih vrsta kiseonika (ROS) i hiperinflamacije koja se javlja u genetski predisponirane dece nakon infekcije SARS-CoV-2.

Cilj: Primarni cilj našeg istraživanja bio je da se identifikuju promene u aktivnosti antioksidativnih enzima u eritrocitima i ukupnom oksidativnom statusu u plazmi (TOPS) nakon tretmana metilprednizolonom (MP), kao i korelacija oksidativnog statusa sa kliničkim stanjem, hematološkim i biohemijskim parametrima krvi i ehokardiografskim nalazom.

Metode: Prospektivna kohortna studija na 67 dece (56,7% muškaraca) mlađe od 18 godina sa MIS-C lečenim MP sprovedena je u Institutu za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije od januara 2021. do aprila 2022.

Rezultati: Kardiovaskularne (KV) manifestacije imalo je 59,7% pacijenata, dok je disfunkcija miokarda uočena kod 49,3%. Težak klinički tok je registrovan kod 22 pacijenata. Deca sa KV manifestacijama imala su značajno veću relativnu koncentraciju B limfocita i nižu relativnu koncentraciju NK ćelija od pacijenata bez KV promena ($p < 0,001$ i $p = 0,004$). Pacijenti sa disfunkcijom miokarda imali su veći ukupni TOPS od dece sa očuvanom miokardnom funkcijom ($p = 0,05$), što implicira izraženiji oksidativni stres u prethodnoj kohorti. Kod pacijenata sa šokom primećena je niža aktivnost eritrocitne superoksid dismutaze (SOD) na prijemu u poređenju sa pacijentima bez šoka ($p = 0,04$). Nakon primene MP, TOPS je značajno smanjen, dok su aktivnost katalaze (CAT) i SOD značajno porasle. Neuspeh lečenja je zabeležen kod 6 pacijenata, češće kod ženskog pola ($p = 0,005$), mlađih bolesnika ($p = 0,05$), onih sa nižom aktivnosti CAT pri prijemu ($p = 0,04$) u odnosu na one sa povoljnim odgovorom na lečenje.

Zaključak: MP dovodi do brze modulacije TOPS-a i povećava aktivnost antioksidativnih enzima u eritrocitima što rezultuje kliničkim i ehokardiografskim poboljšanjem. Na osnovu uočenih promena u aktivnosti antioksidativnih enzima, možemo zaključiti da je vodonik peroksid dominantan ROS kod pacijenata sa MIS-C. Pacijenti sa neusehom lečenja su pokazali sniženu aktivnost CAT, dok je primena MP dovela do izraženih reakcija oksidacije. Ovo implicira da niska aktivnost CAT može biti kontraindikacija za upotrebu MP kao monoterapije.

Ključne reči: MIS-C, oksidaciono-redukcioni potencijal, superoksid dismutaza, katalaza, imunofenotip limfocita, metilprednizolon

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Medicinska farmakologija

UDK broj:

MECHANISMS OF REDOX BALANCE AND INFLAMMATORY RESPONSE AFTER THE USE OF METHYLPREDNISOLONE IN CHILDREN WITH MULTISYSTEM INFLAMMATORY SYNDROME ASSOCIATED WITH COVID-19

Background: Multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) associated with being infected with coronavirus-19 (COVID-19) is a life-threatening condition resulting from cytokine storm, increased synthesis of reactive oxygen species (ROSs), and hyperinflammation occurring in genetically predisposed children following an infection with SARS-CoV-2.

Aim: The primary aim of our study was to identify changes in the activity of antioxidant enzymes in erythrocytes and total plasma oxidative status (TOPS) after treatment with methylprednisolone (MP), as well as the correlation of oxidative status with a clinical condition, hematological and biochemical parameters and echocardiographic finding.

Methods: A prospective cohort study of 67 children (56.7% male) under 18 with MIS-C treated with MP was conducted at the Mother and Child Health Institute from January 2021 to April 2022.

Results: 59.7% of patients presented cardiovascular (CV) manifestations, while myocardial dysfunction was observed in 49.3%. A severe clinical course was observed in 22 patients. Children with CV involvement had a significantly higher relative concentration of B lymphocytes and lower relative concentration of NK cells than patients without CV issues ($p < 0.001$ and $p = 0.004$, respectively). Patients with myocardial dysfunction had a higher TOPS than children without ($p = 0.05$), implicating pronounced oxidative stress in the former cohort. In patients with shock, lower erythrocytes superoxide dismutase (SOD) activity was observed on admission compared to patients without shock ($p = 0.04$). After MP was administered, TOPS was significantly reduced, while catalase (CAT) and SOD activity increased significantly. Treatment failure (TF) was observed in 6 patients, more frequently in females ($p=0.005$), and younger patients ($p=0.05$), with lower CAT activity on admission ($p=0.04$) than patients with favourable treatment responses.

Conclusion: MP leads to rapid modulation of TOPS and increases the activity of antioxidant enzymes in erythrocytes, resulting in clinical and echocardiographic improvement. Based on the observed changes in the activity of the antioxidant enzymes, we can conclude that hydrogen peroxide is the dominant ROS in patients with MIS-C. Patients with TF showed reduced CAT activity, whereas the treatment with MP led to pronounced oxidation. This implies low CAT activity may be a contraindication for using MP as monotherapy.

Keywords: MIS-C, oxidation-reduction potential, superoxide dismutase, catalase, lymphocytes immunophenotype, methylprednisolone

Scientific field: Medicine

Specific scientific field: Medical pharmacology

UDC number:

SADRŽAJ

1. Uvod	1
1.1. SARS-CoV-2.....	2
1.1.1. Funkcija i rasprostranjenost ACE2 receptora.....	3
1.2. COVID-19 kod dece.....	4
1.2. Definicija.....	4
1.2. Etiologija MIS-C.....	7
1.2.1. Imunofenotip limfocita periferne krvi.....	7
1.2.1.1. Protočna citometrija.....	7
1.2.1.2. Primena protočne citometrije.....	8
1.2.1.3. Imunofenotip limfocita periferne krvi u MIS-C.....	9
1.2.2. Oksidativni stres.....	10
1.3. Patogeneza MIS-C.....	12
1.4. Klinička slika.....	13
1.5. Terapija.....	14
1.5.1. Imunomodulatorna terapija.....	15
1.5.2. Suportivna terapija.....	16
2. Ciljevi istraživanja.....	18
3. Materijal i metode.....	20
3.1. Kriterijumi za uključivanje.....	21
3.2. Kriterijumi za isključivanje.....	21
3.3. Protokol studije.....	22
3.4. Protokol lečenja.....	23
3.5. Određivanje parametara oksidativnog stresa.....	24
3.5.1. Određivanje enzima antioksidativne zaštite.....	24
3.5.1.1. Biohemijska procedura uzorkovanja krvi.....	24
3.5.1.2. Određivanje enzima antioksidativne zaštite.....	24
3.5.1.3. Adrenalinska metoda za određivanje aktivnosti SOD.....	24
3.5.1.4. Određivanje aktivnosti CAT.....	25
3.5.1.5. Određivanje aktivnosti GSH-Px.....	26
3.5.1.6. Određivanje aktivnosti GR.....	27
3.5.2. Oksidaciono-redukциони potencijal (ORP).....	27
3.6. Imunofenotipizacija limfocita periferne krvi.....	28
3.6.1. Princip izvođenja imunofenotipizacije limfocita periferne.....	28
3.6.2. Imunofenotipizacija pomoću protočne citometrije.....	28
3.6.3. Imunofenotipizacija limfocita periferne krvi.....	29
3.6.4. Analiza podataka.....	29
3.7. Ehokardiografija.....	30
3.7.1. Dvodimenzionalna ehokardiografija i Z skor.....	29
3.7.2. Ehokardiografija u M modu.....	30
3.7.3. Sistolna funkcija leve komore.....	30
3.7.3.1. Ejekciona frakcija.....	30
3.7.3.2. Frakcija skraćenja.....	30
3.7.4. Dopler ehokardiografija.....	31
3.8. Statistika.....	31
4. Rezultati.....	34
4.1. Klinička slika.....	35

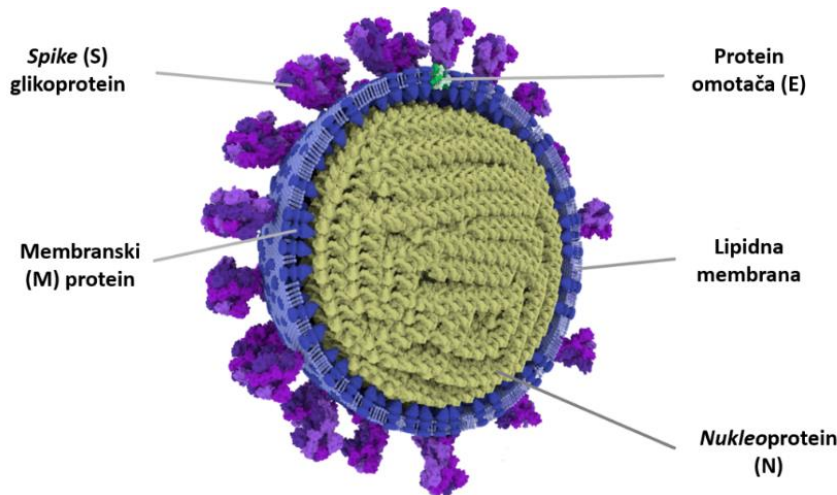
4.2. Laboratorijske analize.....	38
4.3. Oksidativni stres.....	41
4.4. Ehokardiografija.....	43
4.5. Lečenje.....	45
4.5.1. Imunomodulatorna terapija.....	45
4.5.2. Suportivna terapija.....	48
4.6. Period praćenja.....	49
5. Diskusija.....	51
6. Zaključak.....	74
7. Literatura.....	75

1. UVOD

1.1. SARS-CoV-2

Betakorona virusi su jedan od četiri roda (alfa, beta, gama i delta) koronavirusa sačinjenih od omotača - kapsida sa *spike* proteinom koji nosi jednolančanu RNK pozitivnog smera (+ssRNA). Obično izazivaju blage infekcije respiratornog trakta, često poznate kao „*common cold*“. Međutim, u nekim slučajevima mogu dovesti do bolesti koje su opasne po život novorođenčadi, odojčadi, imunokompromitovanih i starijih osoba (1-4).

Genom SARS-CoV-2 (*severe acute respiratory syndrome – 2*) sadrži 30 kb, 14 otvorenih okvira za čitanje (ORF) i kodira 29 virusnih proteina. Otprilike 2/3 5' kraja genoma SARS-CoV-2 kodira dva preklapajuća poliproteina: pp1a i pp1ab2. Ova dva poliproteina se razdvajaju pomoću dve virusne proteaze u 16 nestrukturiranih proteina (NSP), koji su esencijalni za replikaciju i transkripciju virusa. Četiri ORF na 3' kraju virusnog genoma kodiraju kanonski skup strukturalnih proteina koji uključuju nukleokapsid (N), *spike* (S) protein, membranski (M) protein i protein omotača (E), koji su odgovorni za sklapanje viriona i takođe učestvuju u supresiji imunog odgovora domaćina. N protein kodira proteinske omotače RNK, a S, E i M proteini zajedno stvaraju virusni omotač (**Slika 1**) (2).



Slika 1. Građa SARS-CoV-2 virusa. Adaptirano prema <https://www.slri.or.th/en/list-news/594-structural-studies-of-sars-cov-2-nucleocapsid-protein-and-their-perspectives-in-diagnosis-and-drug-design.html>

Protein S je glikoprotein, a takođe i membranski proteini tipa I - membrane koje sadrže jedan transmembranski domen orijentisan na ekstracelularnoj strani. Ovaj glikoprotein olakšava vezivanje virusa za ćelije domaćina, posreduje fuziji virusa i membrane ćelija. S proteini su na površini virusa, što ih čini jednim od glavnih meta za dizajn lekova i za produkciju virus-neutrališućih antitela. Sastoje od dve podjedinice - S1 i S2. S1 se vezuje za ćelijske receptore domaćina, dok S2 podjedinica olakšava fuziju virusa sa ćelijskom membranom domaćina. Većina koronavirusa ima S1 i S2 pojedinicu koje su vezane samo nekovalentnom vezom između njih. SARS-CoV-2 pokazuje izuzetak, jer su S1 i S2 podjedinice fuzionisane, a zatim se cepaju tokom biosinteze virus (1,2).

SARS-CoV2, novootkriveni betakorona virus, ima oko 79,6% homologija sa koronarnim virusom teškog akutnog respiratornog sindroma (SARS-CoV) i 50% homologije *Middle East respiratory syndrome coronavirus* (MERS-CoV), koji su drugi sojevi u istim rodovima. Slično SARS-CoV-2, SARS-CoV i MERS-CoV su izazivale velike epidemije teških respiratornih oboljenja tokom kojih je obolelo oko 8000 ljudi u 2003. godini i 2500 u 2012.

godini. U oba slučaja, pedijatrijski bolesnici su činili manje od dva posto obolelih sa generalno blagom kliničkom slikom i povoljnim tokom bolesti. Od 14 pedijatrijskih slučajeva MERS-CoV, prosečne starosti 99 meseci, 2 pacijenta su umrla zbog razvoja teških respiratornih simptoma i multiorganske disfunkcije, dok sa druge strane nije bilo prijavljenih smrtnih slučajeva u dečijoj populaciji obolelom od SARS-CoV (5).

SARS-CoV-2 je pokazao veću kontagioznost, što je rezultovalo brzim širenjem i razvojem pandemije (1).

Antigen za koji se vezuje SARS-CoV-2 preko S proteina je angiotenzin kovertaza 2 (ACE2) i široko je rasprostranjen u organizmu. Osim ACE2, SARS-CoV-2 za ulazak u ciljnu ćeliju koristi ćelijsku serinsku proteazu TMPRSS2 za koju se vezuje S protein. Prilikom njegovog vezivanja, dolazi do cepanje S proteina na S1/S2 i S20, što omogućava fuziju virusnih i ćelijskih membrana, proces koji pokreće podjedinica S2 (3).

Period inkubacije za SARS-CoV-2 je veoma sličan SARS-CoV i MERS-CoV sa prosekom od oko 6,4 dana (2).

1.1.1. Funkcija i rasprostranjenost ACE2 receptora

Angiotenzin konvertujući enzim 2 (ACE2) pripada porodici enzima koji konvertuje angiotenzin dipeptidil karboksipeptidaze. ACE2 katalizuje cepanje angiotenzina I u angiotenzin 1–9, i cepanje angiotenzina II u vazodilatatorne angiotenzine 1–7. Angiotenzini 1–7 imaju vazodilatatorno i antiproliferativno dejstvo, a oni su u homeostazi sa vazokonstriktornim angiotenzina II. ACE2 deluje kao negativni regulator sistema renin-angiotenzin (3).

Studije su otkrile da se ACE2 u plućima uglavnom eksprimuje u pneumocitima tipa 2 (AT2) i trepljastim ćelijama, dok se TMPRSS2 uglavnom pojavljuje u AT2, AT1 i kockastim ćelijama, a nivo ekspresije je veći od ACE2. Na slici 2 prikazana je rasprostranjenost receptora po različitim organskim sistemima (**Slika 2**).



Slika 2. Distribucija receptora za SARS-CoV-2. Adaptirano iz reference (3).

SARS-CoV-2 pokazuje tropizam prema mnogim tipovima ćelija u telu uključujući epitelne ćelije u sluzokoži pluća i gastrointestinalnog trakta, kao i ćelijama miokarda i endotela.

Za razliku od SARS-CoV i MERS-CoV, kod kojih je pronađen veći broj virusnih kopija u donjim respiratornim putevima, SARS-CoV-2 se dominantno nalazi u gornjim disajnim putevima. Pored toga, koncentracija SARS-CoV-2 je najveća na početku pojave simptoma i opada nakon 5–6 dana za razliku od SARS-CoV, koji dostiže vrhunac oko 6-11 dana nakon pojave simptoma (1,2).

1.2. COVID-19 kod dece

Deca mlađa od 18 godina čine samo oko 2% svih slučajeva obolelih od infekcije izazvana koronavirusom-19 (COVID-19), na osnovu podataka iz SAD (2%), Kine (2,2%), Italije (1,2%) i Španije (0,8%). Veliki kohortna studija na preko 2000 pedijatrijskih pacijenata sa COVID-19 otkrili su velike varijacije u kliničkoj slici - 4% bilo asimptomsko; 51% sa blagim simptomima kao što su groznica, kašalj, mijalgija ili umor; 5% sa znacima teške bolesti uključujući dispneju i hipoksiju; i 0,6% sa kritičnom bolešću, što je podrazumevalo respiratornu insuficijenciju, akutni respiratorni distress sindrom, šok, i/ili multiorgansku disfunkciju. Inverzni odnos primećen je između starosti i incidencije ozbiljnosti bolesti – mlađa deca su češće imala ozbiljnu ili kritičnu kliničku sliku (1).

Najtežu kliničku sliku imala su deca koja su razvila multisistemski inflamatorni sindrom (MIS-C) udruženim sa COVID-19.

1.3. DEFINICIJA MIS-C

Akutna infekcija izazvana SARS-CoV-2 kod dece se odlikuje blažom kliničkom slikom, te je incidencija verovatno podcenjena. Deca sa teškim oblikom bolesti koja zahtevaju prijem u bolnicu čine 1,9% ukupno obolelih, dok je mortalitet 0,03% (4).

Multisistemski inflamatorni sindrom kod dece (MIS-C) udružen sa COVID-19 je po život opasno stanje, koje nastaje kao posledica citokinske oluje i hiperinflamacije kod genetski predisponirane dece nakon simptomatske ili asimptomatske SARS-CoV-2 infekcije (4–12). Prvi put u literaturi MIS-C je prikazan od strane Italijanskih autora u aprilu 2020 godine, kada je opisano 8 pacijenata koji su se prezentovali atipičnom formom Kavasakijeve bolesti (KB), KB šokom ili toksičnim šokom, sa hiperinflamacijom kao zajedničkim parafiziološkim odgovorom (13).

Klinička slika se ispoljava 2-6 nedelja nakon akutne COVID-19, zbog čega se kod najvećeg broja obolelih detektuju serumska antitela klase IgM i/ili IgG na SARS-CoV-2. Moguće je da inicijalna izloženost virusu kod dece izaziva produkciju virusnih neutrališućih i neneutrališućih antitela; kod dece sa pretežno neutrališućim antitelima bolest je asimptomatska, dok manji broj dece produkuje neneutrališuća antitela, a potom i antigen-antitelo komplekse, što vodi razvoju MIS-C (4-13).

Incidencija MIS-C udruženog sa COVID-19 je oko 0,6 -2 %, a definicija slučaja bolesti preporučena je od: 1) Svetske zdravstvene organizacije, 2) Centra za kontrolu bolesti, Sjedinjene Američke države; 3) Kraljevskog koledža za pedijatriju i dečje zdravlje, Velika Britanija. U zavisnosti od definicije, MIS-C podrazumeva akutnu febrilnu bolest varijabilnog trajanja (1 – 3 dana), praćenu povišenim parametrima akutne faze zapaljenja, uz zahvatanje najmanje dva sistema organa, pozitivnu serologiju, PCR, Ag test na SARS-CoV-2 ili pozitivnu epidemiološku anamnezu i isključivanje drugih potencijalnih uzročnika bolesti ili febrilnih stanja (Tabela 1) (7). Do razvoja MIS-C dolazi najčešće kod prethodno zdrave dece, uzrasta od 6 do 12 godina, a kao jedini faktor rizika opisuje se gojaznost (4).

Tabela 1. Definicija MIS-C udruženog sa COVID-19

	MIS-C povezan sa COVID-19	PIMS-TS	MIS-C povezan sa COVID-19
Udruženje	<i>WHO</i>	<i>Royal College of Pediatrics and Child Health</i>	<i>US Centers for Disease Control and Prevention</i>
Uzrast	0–19 god	deca	<21 god
Inflamacija	Temperatura ili povišeni zapaljenski parametri 3 ili više dana	Temperatura ili povišeni parametri inflamacije	Temperatura ili povišeni parametri inflamacije
Glavne karakteristike	dve od navedenih: (A) osip ili bilateralni ne-eksudativni konjunktivitis ili mukokutani znaci inflamacije (oralno, šake ili stopala); (B) hipotenzija ili šok; (C) disfunkcija miokarda, perikarditis, valvulitis, ili koronarne abnormalnosti (uključujući nalaz ehokardiograma ili povišene vrednosti troponina ili N-terminal pro B-tip natriuretski peptid); (D) dokaz koagulopatije (produženo protrombinsko vreme, parcijalno tromboplastinsko vreme, i povišeni D-dimeri); i (E) akutne gastrointestinalne manifestacije (proliv, povraćanje ili bol u stomaku)	Disfunkcija jedanog ili više organa / organskih sistema (šok ili respiratorni, bubrežni, gastrointestinalni, ili neurološki poremećaj)	Klinički teška bolest koja zahteva hospitalizaciju; i multisistemska (dva ili više organa) uključenost (srčana, bubrežna, respiratorna, hematološka, gastrointestinalna, dermatološka, ili neurološka)
Kriterijumi za isključivanje	Drugi bakterijski / virusni uzročnik	Drugi bakterijski / virusni uzročnik	Druge alternativne dijagnoze
SARS-CoV-2 status	Pozitivan RT-PCR, antigen test ili serologija; ili bilo kontakt sa pacijentima sa COVID-19	RT-PCR pozitivan ili negativan	Pozitivan RT-PCR, serologija ili antigenski test; ili izloženost u poslednje 4 nedelje od pojave simptoma

Skraćenice: PIMS-TS - *paediatric inflammatory multisystem syndrome temporally associated with SARS-CoV-2*; WHO – *World Health Organization*; RT-PCR - *polymerase chain reaction* u realnom vremenu

1.4. Etiologija MIS-C

Virusni agensi su važni faktori koji izazivaju autoimune reakcije kod genetski podložnih pojedinaca i mogu dovesti do raznih imunoloških fenomena (14). Opisani su brojni mehanizmi koji dovode do sloma samotolerancije nakon virusnih infekcija (14). Kao glavni patofiziološki mehanizam razmatra se nekontrolisana aktivacija inflamatorne kaskade koja nastaje kao odgovor na SARS-CoV-2. Stoga je verovatno da MIS-C može biti uzrokovan jednim ili kombinacijom mehanizama za koje se zna da doprinose klasičnom autoimunskom odgovoru izazvanom virusom, uključujući (i) molekularnu mimikriju, (ii) oslobađanje autoantigena (“*bystander activation*”) i (iii) širenje epitopa (12). Molekularna mimikrija nastaje kao posledica postojanja sličnosti između virusnih epitopa i epitopa autoantigena, što vodi u aktivaciju autoreaktivnih T ćelija i stvaranje auto-antitela sa sledstvenim oštećenjem tkiva (14). Drugi opisani mehanizam, *bystander activation*, podrazumeva postojanje hiperreaktivnog antivirusnog imunskog odgovora i značajnu produkciju inflamatornih citokina, što dovodi do oslobađanja autoantigena iz oštećenog tkiva. Treći opisani mehanizam je širenje epitopa pri čemu virusna infekcija stimuliše oslobađanje više auto-antigena i de novo aktivacija autoreaktivnih T ćelija, sa posledičnim oštećenjem tkiva (14).

Pojedine studije pokazale su da S protein SARS-CoV-2 ima visok afinitet za vezivanje za β -lanac T ćelijskog receptora (TCR) i može poslužiti kao superantigen. Superantigeni su klasa bakterijskih ili virusnih antigena koji aktiviraju T ćelije na nespecifičan način, zaobilazeći konvencionalne načine za prepoznavanje antigena od strane glavnih histokompatibilnih kompleksa (MHC), rezultujući masivnim oslobađanjem proinflamatornih citokina i hemokina (4).

Tokom MIS-C registruju se povišene koncentracije citokina, uključujući interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6, IL-8, tumor nekrotizirajućeg faktora (TNF), IL-10, IL-17, interferon- γ (IFN- γ) i agonist receptora IL-2, a jedinstven je po visokim koncentracijama hemokina CXCL9 i CXCL10. *Abo-Haded* i saradnici pokazali su da je koncentracija IL-1 β , IL-6, IFN- α , GM-CSF i HMGB1 značajno povišena pogotovu u grupi bolesnika sa teškom kliničkom formom, dok je koncentracija IL-8, TNF- α i G-CSF bila blago povišena. Njihovom studijom pokazano je da su IL-1 β , IL-6, IFN- α , GM-CSF i HMGB1 glavni faktori koji utiču na težinu kliničke slike. S druge strane, koncentracije IL-1 β , IL-6 i GM-CSF su održavale visoke vrednosti i nakon 14 dana lečenja, čima je potvrđena njihova uloga u težini kliničke slike, progresiji bolesti i njihovom uticaju na srednjoročne ishode (15).

1.4.1. Imunofenotip limfocita periferne krvi

1.4.1.1. Protočna citometrija

Protočna citometrija je sofisticirana tehnika koja omogućava u kratkom vremenskom periodu analizu ćelija ili čestica suspendovanih u pufervanom rastvoru pomoću jednog ili više lasera određujući njihove različite fizičke i hemijske karakteristike (16,17).

Protočna citometrija se razvila u poslednjih 60 godina od jednoparametarskih instrumenata koji su mogli da detektuju samo veličinu ćelija do veoma sofisticiranih mašina. Prvi ćelijski sorter je razvio Mak Fulvajler (Mack Fulwyler) i 1965. godine to publikovao u časopisu Science (19). Par godina kasnije povezana su specifična antitela sa fluorescentnim bojama i razvijeno je desetak monoklonalnih antitela, a 1983. godine se pojavio prvi klinički

protočni citometar. Od tog vremena oblast protočne citometrije je doživela značajni napredak u pogledu razvoja instrumenata i reagenasa. Instrumenti sa više lasera postali su uobičajeni, omogućavajući da se u jednoj analizi dobije mnogo više informacija o analiziranom uzorku. Istovremeno dostupnost sve većeg broja fluorohroma za konjugovanje sa antitelima, kao i fluorescentnih proteina utiče na proširivanje oblasti upotrebe protočne citometrije (17,19). Ovaj napredak doveo je do toga da se danas izvode eksperimenti sa mogućnošću određivanja više od 30 parametara.

Suspendovana tečnost se ubrizgava u instrument i protiče kroz laserski snop. Tokom tog protoka dolazi do interakcije čestica sa svetlošću što omogućava dobijanje informacija o njihovim svojstvima kao što su veličina, složenost građe (granuliranost) i intenzitet fluorescencije. Svaka čestica se analizira u odnosu na rasejanje vidljive svetlosti i jedan ili više parametara fluorescencije. Rasipanje vidljive svetlosti se meri u dva različita smera, smer napred (*Forward Scatter* ili FSC) koji ukazuje na relativnu veličinu ćelije i bočno na 90° (*Side Scatter* ili SSC) koji daje informaciju o unutrašnjoj složenosti građe ili granuliranost ćelije. Rasipanje svetlosti je nezavisno od fluorescencije koja se koristi za merenje specifičnih karakteristika ćelija. Uzorci se pripremaju za merenje fluorescencije kroz ekspresiju fluorescentnih proteina, bojenjem pomoću fluorescentnih boja (npr. propidijum jodid) ili bojenjem antitelima koja su konjugovana sa fluorescentnim bojama (16,17,18).

Protočna citometrija se primenjuje u različitim medicinskim disciplinama kao što su imunologija, virusologija, molekularna biologija itd. Ona omogućava istovremenu karakterizaciju različitih populacija ćelija krvi, koštane srži, telesnih tečnosti, kao i solidnih tkiva koja se mogu disociirati u suspenzije pojedinačnih ćelija i detektovati zahvaljujući ekspresiji membranskih, citoplazmatskih i nuklearnih antigena. Pored toga i ćelijske komponente kao što su organele, jedra, DNK, RNK, hromozomi, citokini, hormoni i proteini mogu biti analizirani ovom metodom.

Protočna citometrija se u medicini najčešće koristi za analizu periferne krvi, koštane srži, telesnih tečnosti i solidnih tkiva te ima značajno mesto u svakodnevnom kliničkom radu. Protočnom citometrijom dobijamo informaciju o različitim karakteristikama ćelija kao što su njihova veličina na osnovu koje se skupljaju informacije o morfologiji ćelija prisutnih u određenom uzorku ali i potencijalnim problemima, prisustvu patoloških ćelija (npr. blasti kod leukemija). Druga značajna osobina koja se analizira protočnom citometrijom je granuliranost ćelija koja nam ukazuje na složenost njihove unutrašnje građe na osnovu čega se dobijaju informacije o ćelijskoj diferencijaciji, na osnovu čega se mogu razlikovati, na primer, mononuklearne od polimorfonuklearnih ćelija periferne krvi i koštane srž. Protočna citometrija se može koristiti i za otkrivanje ploidnosti merenjem ukupne količine DNK u ćelijama, kao i za procenu brzine sinteze DNK, dinamike ćelijskog ciklusa i proliferacije, nivoa ekspresije gena u pojedinačnim ćelijama, kao i za otkrivanje i kvantifikaciju površinskih ćelijskih receptora i proučavanje intracelularnih proteina i signala unutar ćelija.

Jedna od prednosti protočne citometrije u odnosu na neke druge metode je njena brzina. Protočni citometri mogu kvantifikovati više ćelijskih karakteristika sa protokom oko 10,000 ćelija u sekundi.

1.4.1.2. Primena protočne citometrije

Protočna citometrija igra ključnu ulogu u kliničkim laboratorijama za dijagnozu i praćenje bolesti. Koristi se u otkrivanju maligniteta, kao što su leukemije i limfomi, analizom abnormalnih populacija ćelija prisutnih u telesnim tečnostima ili tkivima. Pomaže u

karakterizaciji i kvantifikaciji različitih tipova ćelija, identifikaciji specifičnih ćelijskih markera i praćenju progresije bolesti.

Protočna citometrija se uveliko koristi u imunološkim istraživanjima za imunofenotipizaciju, što uključuje karakterizaciju populacija imunih ćelija na osnovu njihovih površinskih markera. Označavanjem ćelija specifičnim antitelima konjugovanim sa fluoroforima, istraživači mogu da identifikuju i kvantifikuju podskupove imunih ćelija, procene njihov status aktivacije i istraže imune odgovore u različitim kontekstima, uključujući zarazne bolesti i autoimune poremećaje.

1.4.1.3. Imunofenotip limfocita periferne krvi u MIS-C

MIS-C je povezan sa poremećenim apsolutnim brojevima ćelija urođenog i stečenog imunog odgovora.

Iako MIS-C ima kliničke sličnosti i slične profile citokina sa KB i toksičnim šok sindromom (TSS), studije ukazuju na postojanje razlika u fenotipskim karakteristikama ćelija koje su aktivne tokom imunskog odgovora. *Consiglio* i saradnici uporedili su subpopulacije T ćelija između dece sa KD, MIS-C i kod zdrave dece, utvrdivši razlike u distribuciji CD4+ subpopulacija T ćelija i u učestalosti T-folikularnih pomoćnih (TFH) ćelija. Ukupna količina T ćelija bila je niža kod oba grupe obolelih pacijenata u poređenju sa zdravom decom. Koncentracija CD4+ efektorskih T ćelija bila je viša kod dece sa MIS-C nego kod pacijenata sa KB (20). Ista grupa autora pokazala je da je imuni odgovor različit kod MIS-C i KB. Na primer, IL-17A posreduje u hiperinflamaciji u KB, ali ne u MIS-C, gde je povišena koncentracija IL6, CCL2, CXCL8, CXCL9 i CXCL10 (20). *Gruber* i sar. su pokazali da su CCL19, CXCL10 i CDCP1 uključeni u patogenezu MIS-C, jer ovi citokini regrutuju *natural killer* (NK) ćelije i Th1 ćelijsku subpopulaciju. Pokazano je da se imunološki profil pacijenata sa MIS-C odlikuje aktivacijom CX3CR1 + CD8 + T ćelija, kao i da se broj ovih ćelija smanjuje tokom trajanja bolesti, te da je sniženje njihove koncentracije u korelaciji je sa kliničkim poboljšanjem (22). Svakako, najveći broj autora se slaže da kod dece sa MIS-C postoji smanjena koncentracija T helper ćelija (CD4+), citotoksičnih (CD8+), regulatornih, kao i ukupnih T ćelija, uz povećanje naivnih ćelija, centralnih, efektorskih memorijskih T ćelija (21).

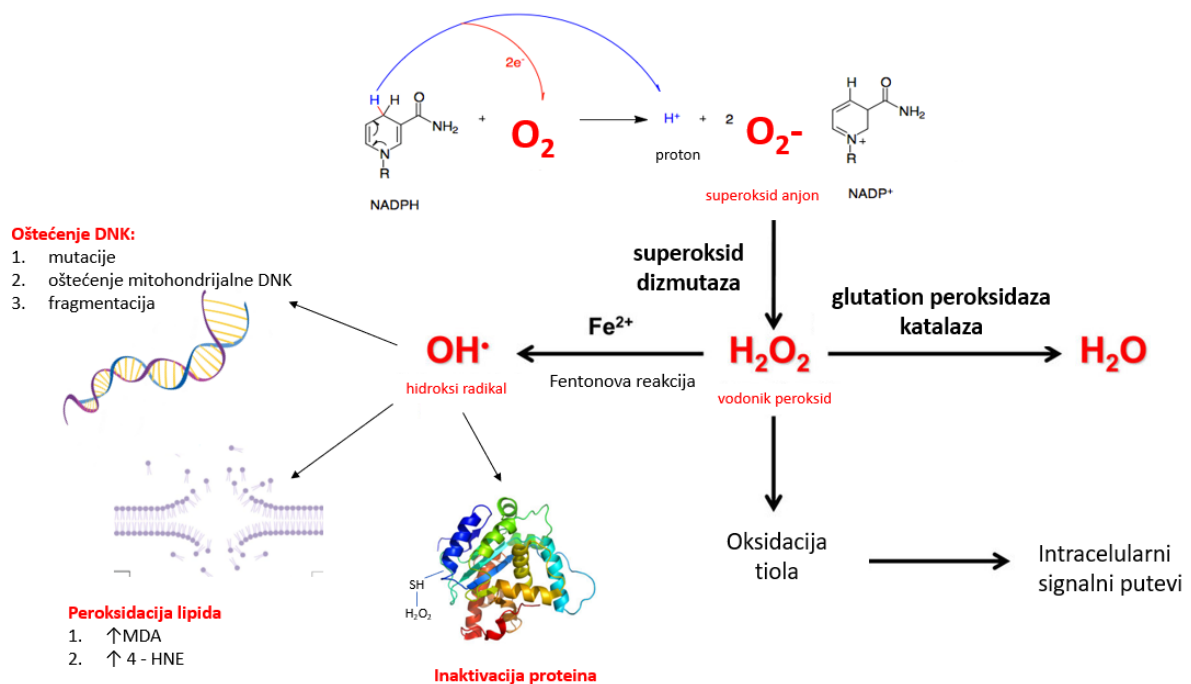
Ipak, snažna aktivacija T-ćelija i oslobađanje citokina nije u potpunosti u skladu sa odloženom hiperinflamacijom uočenom kod MIS-C, pa neki autori tvrde da su autoimune reakcije uslovljene aktivacijom B-limfocita. S toga, kod pacijenata sa teškom formom MIS-C, dolazi do formiranja autoantitela, koja se vezuju za endotelne ćelije, što doprinosi endotelnoj disfunkciji i multisistemskom zapaljenju, karakterističnim za ove pacijente (22-24). Studije su pokazale povećanje apsolutnog broja naivnih B ćelija (kratkotrajnih plazmablasta), nezrelih B ćelija i atipičnih memorijskih B ćelija, što govori o značaju humoralnog imuniteta kod pacijenata sa MIS-C, što povećava mogućnost da se radi o ekspanziji autoreaktivnih ćelija koje proizvode auto-antitela. Prema podacima iz literature moguće je preklapanje sa klasičnim autoimunim poremećajima – IgG reaktivnost na anti-Jo-1 i anti-La (22). Kod teške forme MIS-C otkrivena je povećana koncentracija plazmablasta, smanjena ukupna klonalna raznolikost B ćelija i povećan je udeo mutiranih IgG klonova, što je u skladu sa izraženijim humoralnim odgovorom kod ovih bolesnika (24). Dakle, klonalna ekspanzija T i B limfocita, kao i ekspresija citotoksičnih gena u CD8+ T ćelijama povezani su sa teškom formom MIS-C (24).

Prva imunološka studija ukazala je na smanjenu koncentraciju NK ćelija, dok su kasnije studije pokazale je povećana produkcija CCL4 u NK ćelijama i ukazale na njihovu citotoksičnost (24,25). Zapravo, dokazano je da je koncentracija NK ćelija snižena kod pacijenata koji su zahtevali prijem u Odeljenje intenzivne nege (ICU) (25).

Aktivirani neklasični monociti, koji su povišeni kod pacijenata sa MIS-C, produkcijom citokina aktiviraju endotelne ćelije, regrutuju limfocite i monocite što dodatno doprinosi razvoju endotelitisa (25).

1.4.2. Oksidativni stres

Reaktivne kiseonične vrste (ROS) su produkti aerobnog metabolizma i uključuju superoksid anjon (O_2^-), vodonik peroksid (H_2O_2) i hidroksiradikal (OH^\cdot). Procesi, poput fosforilacije proteina, aktivacija pojedinih transkripcionih faktora, apoptoze, imunskog odgovora i diferencijacije, zavise od proizvodnje ROS-a i njihovog intracelularnog prisustva u niskim koncentracijama. Zapravo, ROS nastaju u enzimskim i neenzimskim reakcijama. Enzimске reakcije tokom kojih se generiše ROS su one koje su uključene u oksidativnu fosforilaciju, sintezu prostaglandina, fagocitozu i sistem citohroma P450. Superoksid anjon generiše NADPH oksidaza, ksantin oksidaza i peroksidaza. Superoksid anjon se brzo u ćeliji pod dejstvom superoksid dizmutaze (SOD) kovertuje u H_2O_2 . Superoksid dizmutaza sprečava nakupljanje O_2^- koji može oštetiti i inaktivirati proteine koji sadrže klastere gvožđe-sumpor (26). Samim tim, akumulacija O_2^- je direktno povezana sa oksidativnim stresom (OS). Međutim, O_2^- oštećuje samo specifičan skup proteina, što rezultuje apoptozom. H_2O_2 (neradikal) je proizvod više enzima, kao što su oksidaza, odnosno aminokiselinska oksidaza i ksantin oksidaza. Treći tip ROS je OH^\cdot , koji nastaje Fentonovom reakcijom, je mali, solubilni, najreaktivniji među svim vrstama slobodnih radikala. On neselektivno oksidira lipide, proteine i DNK, što dovodi do apoptoze (**Shema 1**).



Naime, Fentonova reakcija zavisi od gvožđa koje nije vezano za proteine (NPBI), te je dostupnost ekstra- i intracelularnog gvožđa najvažnijih izvor ROS-zavisnog oštećenja tkiva (26,27).

Peroksidacija lipida se generalno može opisati kao proces u kojem oksidanti kao što su ROS napadaju lipide koji sadrže dvostruke veze između vodonikovih atoma, posebno polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) koje uključuju apstrakciju vodonika iz ugljenika, sa ubacivanjem kiseonika. Glikolipidi, fosfolipidi i holesterol su takođe mete štetnih i potencijalno smrtonosnih modifikacija peroksidacije. Među mnogim različitim aldehidima koji se mogu formirati kao sekundarni proizvodi peroksidacije lipida, najznačajniji su: malondialdehid (MDA), propanal, heksanal i 4-hidroksinonenal (4-HNE). MDA najmutageniji proizvod, dok je 4-HNE najtoksičniji (28). Malondialdehid može biti kovalentno vezan za proteine, stvarajući intra- i intermolekularne produkte. Ove promene mogu da generišu neoepitope iz sopstvenih proteina, izazivajući agresivnu autoimunu reakciju. Takve promene mogu biti prediktor rizika za razvoj bolesti, a može biti uključen i u progresiju vaskularnog oštećenja (28).

Usled hiperinflamacije i značajnih mikro- i markovaskularnih oštećenja dolazi do povećane sinteze ROS i azotnih reaktivnih vrsta (RNS) i smanjene raspoloživosti i/ili povećane potrošnje antioksidanasa što rezultuje poremećajem redoks homeostaze. ROS koji se oslobađa unutar fagocita tokom infekcije i proizvodnje citokina je suštinski odbrambeni mehanizam, ali takođe dovodi i do promene ekstracelularne oksidativne ravnoteže i oštećenja tkiva. Ovakvo stvoreni „višak“ reaktivnih vrsta, odnosno oksidativni stres (OS), imaće za posledicu oštećenje ćelijskih lipida, proteina i nukleinskih kiselina (14,26,29-34).

Uprkos važnoj ulozi ROS kao odbrambenom mehanizmu protiv zaraznih bolesti, preterana produkcija ROS može aktivirati proinflamatorne signalne puteve i oslobađanje inflamatornih medijatora, kao npr citokina, hemokina, eikozanoida i drugih, što govori o njegovnoj značajnu u patogenezi, razvoju i napredovanju inflamatornih stanja (14,28). Kod bolesnika sa sindromom sistemskog inflamatornog odgovora (SIRS) postoji prekomerna aktivacija ćelijskog imununog odgovora, te se kod njih registruju smanjeni antioksidativni kapaciteti i povećanje lipoperoksidacije (14,28). Unutar ćelijske redoks promene i prekomerni inflamatorni odgovor predstavljaju glavni uzrok disfunkcije mitohondrija kod neonatalne sepe (33). Takođe, OS je jedan od glavnih okidača patofizioloških procesa i u bolestima bubrega, dijabetes melitusu, reumatskim autoimunim bolestima (14). Prethodne studije su pokazale značaj oksidativnog stresa u akutnoj fazi KB, kao i da kod pacijenata koji reaguju na primenjenu terapiju dolazi do značajnog snižavanja koncentracije ROS odmah po završenom lečenju. Kod pacijena sa KB, primenom intravenskih imunoglobulina (IVIG) u ranoj fazi smanjuje se nivo ROS zajedno sa smanjenjem inflamatornog odgovora nezavisnim mehanizmom; stoga se nivoi ROS mogu pokazati korisnim biomarkerom prilikom procene odgovora na primenjenu terapiju (31).

Usled povećane koncentracije citokina pojačava se aktivnost NADPH oksidaze i mijeloperoksidaze (MPO), što dovodi do daljeg „curenja“ superoksid anjona u vanćelijski prostor (14,31). U cilju promovisanja citotoksičnosti, ROS može pokrenuti i pojačati inflamatorne puteve regulacije ekspresije gena preko nuklearnog faktora kapa B (NF- κ B). NF- κ B put je neophodan za regulisanje više ćelijskih procesa kao što su inflamatorni odgovor, apoptoza i diferencijacija ćelija imunskog sistema. Aktivacija ovog transkripcionog faktora ima ulogu u procesima kao što su promovisanje replikacije virusa i regulisanje imunskog odgovora domaćina. Biosinteza i oslobađanje endotelina-1, koji ima značajnu ulogu i u KB, takođe je regulisana NF- κ B (14).

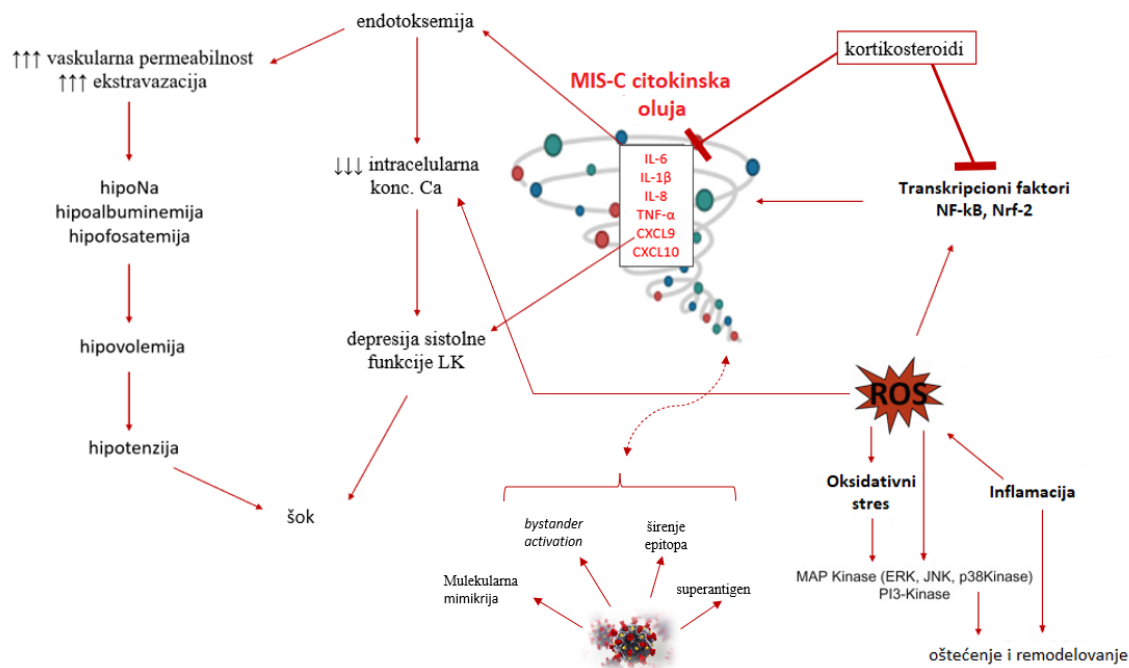
Pokazan je značaj Nrf-2 (eritroidni nuklearni faktor 2-vezani faktor 2), koji ima ulogu u inflamatornom odgovoru i imunitetu, ali i u patogenezi COVID-19, odnosno težina bolesti je obrnuto povezana sa ekspresijom Nrf2. Naime, studije su pokazale da upotreba aktivatora Nrf2 suprimira inflamatorni odgovor i podstiče antivirusne efekte koji dovode do smanjenja replikacije virusa, poboljšavajući prognozu pacijenata sa hiperinflamacijom u toku COVID-19 (14).

Kako je blokiranje Nrf2 povezano sa povećanim OS i kako se faktor NF-kB lako aktivira u oksidativnoj sredini pojedini autori smatraju da su ključni putevi u razvoju i napredovanju inflamatorne patologije upravo povezani sa Nrf2 i NF-kB (14). Ulazak virusa aktivira NADPH oksidazu i inhibira Nrf-2 antioksidativni odgovor. Veza između NADPH oksidaze i ose receptora ACE2/Ang/Mas zapravo igra ključnu ulogu u patogenetskim mehanizmima COVID-19 i njegovih komplikacija. NADPH oksidaza modulira osnovne biološke procese u organizmu (28).

Kao posledica oksidativnog stresa dolazi do lipidne peroksidacije membrane što rezultuje smanjenju fluidnosti, povećanju permeabilnost za jedno i dvovalentne jone, inaktivaciju membranskih enzima, gubitka integriteta ćelijskih organela (lizozoma), uz oslobađanje hidrolitičkih enzima i membrane, što sve dovodi do apoptoze ćelije. Usled oksidativne modifikacije proteina nastaju ishemijsko-reperfuzione povrede, adultni respiratorni distres sindrom, pankreatitis, diabetes melitus. Ishemijsko reperfuzione povrede i značajno oštećenje vaskularnog endotela usled povećanih nivoa ROS uz endotoksemiju doprinosi gubitku cirkulišućeg volumena u treći prostor (14,28,29). Prema podacima iz literature, centralnu ulogu u kapilarnom curenju imaju neutrofili, usled generalizovanih vaskularnih povreda izazvanih NET-ozom. Pacijenti sa MIS-C obično imaju trombocitopeniju što govori u prilog učešća slobodnih radikala u patogenezi ovog procesa, kao u patogenezi imunske trombocitopenije, u kojoj značajnu ulogu imaju slobodni radikali, usled porasta peroksidacije lipida i smanjenja antioksidativnog kapaciteta (14).

1.5. Patogeneza MIS-C

Hiperinflamacija, endotoksemija, pojačano stvratanje slobodnih radikala uz smanjenu aktivnost enzima oksidativne zaštite, produkcija auto-antitela zajedno sa direktnim dejstvom virusa na ACE2 receptore endotelnih ćelija, dovodi do vaskulitisa, endotelne disfunkcije, povećane vaskularne permeabilnosti i kapilarnog curenja, sa hipoalbuminemijom, hiponatremijom, hipovolemijom i šokom (hipovolemijski i vazoplegični). Usled endotoksemije dolazi do smanjivanje intracelularne koncentracije jona Ca^{2+} čime se objašnjava depresija sistolne funkcije leve komore uz posledični razvoj kardiogenog šoka (**Shema 2**).



Shema 2. Etiopatogeneza šoka kod pacijenata sa MIS-C udruženim sa COVID-19.

S druge strane, usled oštećenja endotela povećava se sinteza faktora koagulacije VIII (FVIII) i Von Willenbrandovog faktora (vWF), kao i aktivnost FXII što utiče na hiperkoagulabilnost krvi kod ovih pacijenata i povećani rizik za trombo-embolijske komplikacije (35-38). Povišen nivo fibrinogena i D-dimera i trombocitopenija koji se viđaju u akutnoj fazi bolesti, takođe upućuju na to da u toku MIS-C postoji hiperkoaguabilnost krvi (35-38).

1.6. Klinička slika

Klinička prezentacija pacijenata sa MIS-C je varijabilna, ali osim visoke febrilnosti koja je prvi i obavezan znak, postoje znaci zahvatanja još najmanje dva organska sistema. Temperatura obično traje oko četiri dana pre postavljanja dijagnoze (39).

Bolesnici najčešće ispoljavaju kliničke znake i simptome od strane gastrointestinalnog (GI) sistema – u oko 54 - 100% slučajeva. Najčešće su prisutni bolovi u trbuhu, mučnina i povraćanje, dok je dijareja zastupljena kod manjeg broja pacijenata. Opisano je da je kod pojedinih bolesnika učinjena apendektomija, zbog sumnje na akutni apendicitis.

Druge po učestalosti su kardiovaskularne (KV) manifestacije (40 – 97% bolesnika), koje podrazumevaju povišene vrednosti kardiospecifičnih markera u laboratorijskim analizama, akutnu miokardnu disfunkciju, perikarditis, ektazije ili aneurizme koronarnih arterija, kao i poremećaje ritma i sprovođenja na EKG zapisu (39-43). Pacijenti sa KV manifestacijama imaju značajno više koncentracije pozitivnih reaktanata akutne faze od pacijenata bez KV manifestacija, što upućuje da se zahvaćenost KV javlja kod pacijenata sa najkomplikovanim oblikom MIS-C (42).

Povišene vrednosti kardiospecifičnih markera (troponin i proBNP) sreću se kod najvećeg broja pacijenata, ali prevashodno proBNP (od 78 do 100% pacijenata), kao markera srčane slabosti. Pokazano je da kod bolesnika sa MIS-C dolazi kod *stunning*-a kardiomiocita, a ne do nekroze, čime se mogu objasniti niže vrednosti troponina, CK-MB, LDH, SGOT. Osim

toga, kod bolesnika sa oštećenjem miokarda u toku MIS-C zabeležene su više prednosti CRP u poređenju sa pacijentima koji imaju akutni miokarditis. Ovo govori u prilog imunski posredovane disfunkcije kardiomiocita, u čemu značajnu ulogu imaju i ROS (42,44). Upravo zbog toga, kod ovih bolesnika dolazi do bržeg i potpunog oporavka sistolne funkcije LK već prosečno u drugom intrahospitalnom danu (42). Ventrikularna disfunkcija se javlja od 25 do 100% pacijenata (42-44).

Perikardna efuzija javlja se u 13 – 46% slučajeva. Uglavnom se radi o blagoj ili umerenoj efuziji, dok su samo sporadični slučajevi imali tešku perikardnu efuziju (45).

Dilatacije i aneurizme koronarnih arterije su ređe nego kod bolesnika sa KB, a u zavisnosti od studije sreću se od 0 do 48% (45). Uglavnom se radi o blagim dilatacijama, a sam mehanizam nastanka nije sasvim poznat.

Prema podacima iz literature 50-80% bolesnika razvije šok, a najčešće se radi o distributivnom ili/i kardiogenom šoku (45). Endotoksemija prouzrokovana citokinskom olujom i oksidativnim stresom dovodi do generalizovane vazoplegije i vazodilatacije, sa posledičnom arterijskom hipotenzijom. Istovremeno, hemokini (CXCL9 i CXCL10) i ROS imaju negativan inotropni efekat i mogu dovesti do teške sistolne disfunkcije leve komore i kardiogenog šoka. Mogućnost razvoja kardiogenog šoka je veća kod starijih pacijenata i kod dužeg trajanja bolesti (46). Kod tih pacijenata primenjuje se medikamentozna inotropna terapija ili ekstrakorporalna membranska oksigenacija (ECMO).

Promene na EKG mogu se javiti i u do 67% slučajeva, a najčešće se javljaju poremećaji sprovođenja koji su najverovatnije posledica edema miokarda i sprovodnog sistema. EKG promene mogu biti posledica inflamatornih kanalopatija. Naime, pojedini citokini – TNF, IL6, IL1 – moduliraju ekstresiju jonskih kanala na kardiomiocitima. Osim toga citokini smanjuju ekstresiju K⁺ kanala, a povećavaju ekstresiju L tipa Ca²⁺ kanala što dovodi do razvoja long QT sindroma (47).

Druge uobičajene kliničke manifestacije su slične KB - neeksudativni konjunktivitis (45%–56%), mukokutani osip (~60%), ali samo ~30% pacijenata ima klinički sliku koja odgovara kompetnoj KB (48). Iako postoji puno sličnosti između KB i MIS-C, ipak kod pacijenata sa MIS-C više su vrednosti pozitivnih reaktanata akutne faze, proBNP i troponina, a pacijenti su stariji u odnosu na one sa KB. Sve to govori u prilog tome da je inflamacija pokrenuta SARS-CoV-2 infekcijom izraženija i sličnija je onoj koja se javlja kod bolesnika sa KB koji su imali težu i prolongiranu akutnu bolest (41,48).

Neurološki simptomi se javljaju u 30%–58% bolesnika, uključujući glavobolju, kvantitativne poremećaje stanja svesti, meningizam i znake povišenog intrakranijalnog pritiska (49).

Tokom akutne faze MIS-C oko 20% (18 – 24%) razvije akutnu bubrežnu insuficijenciju (ABI). Potrebu za zamenom bubrežne funkcije ima oko 15% bolesnika sa ABI, što je manje u odnosu na druga patološka stanja koja dovode do ABI (50).

U zavisnosti od studije, teška klinička slika javlja se i do 88% slučajeva (isključujući studije koje su obuhvatile samo te bolesnike). Od 67 do 80 % bolesnika zahteva prijem u intenzivnu negu, 40% medikamentoznu inotropnu potporu, a 10 – 62% primenu mehaničke ventilacije (51,52). Prema studiji *Acevedo* i saradnika mortalitet je bio 9%, dok je u drugim studijama oko 1-2% (53). U poređenju sa decom koja su imala akutni miokarditis, bolesnici sa KV manifestacijama tokom MIS-C su imala značajno niži mortalitet (42), dok je sa druge strane smrtni ishod je skoro 5 puta češći kod bolesnika sa ABI (50).

1.7. Terapija

Tokom lečenja bolesnika sa MIS-C udruženog sa COVID-19 primenjuje se imunomodulatorna i suportivna terapiju.

1.7.1. Imunomodulatorna terapija

S obzirom na postojanje sličnosti u kliničkoj prezentaciji MIS-C i KB inicijalna terapija za MIS-C podrazumevala je primenu IVIG u imunosupresivnim dozama (2 g/kg telesne mase (TM) tokom 24h). Inicijalna iskustva su pokazala da su ovi pacijenti po svojim karakteristikama sličniji bolesnicima sa KB koji imaju visok *Kobayashi* skor - IVIG „*non responderi*“, te da je veliki broj pacijenata rezistentan na primenu IVIG. Samim tim, primenjivani su, prema protokolu za KB i kortikosteroidi u pulsним dozama (metilprednizolon parenteralno) (11,41,42,45,53,54). Prema Američkom Reumatološkom društvu, inicijalna terapija MIS-C obuhvata istovremenu primenu IVIG i metilprednizolona (MP), usled brže supresije inflamacije i bržeg oporavka sistolne funkcije LK.

S druge strane, kako je najveći broj pacijenata razvijao ili produbljavao šok tokom lečenja IVIG, u Institutu za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije “Dr Vukan Čupić”, pulsna primena MP od januara 2021 godine predstavljala je inicijalnu terapiju u lečenju pacijenata sa MIS-C (41,42,45).

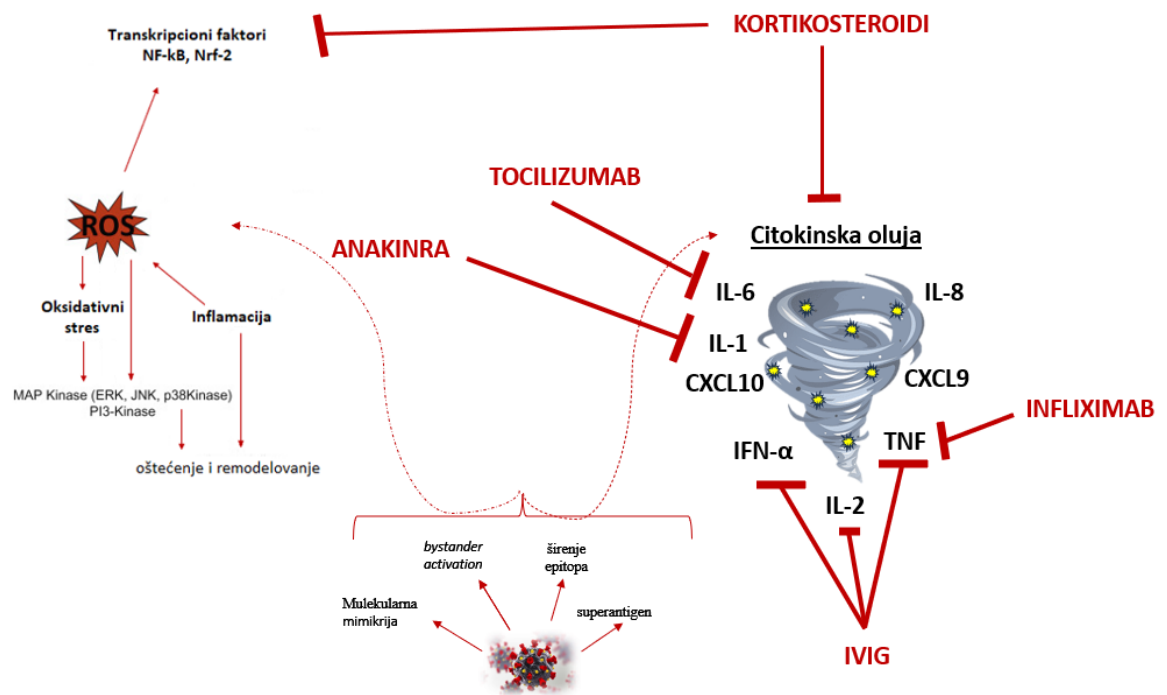
Kortikosteroidi (KS) su lekovi koji se široko primenjuju u inflamatornim i autoimunim bolestima. Dominantan efekat KS je inaktivacija gena koji kodiraju citokine, hemokine, adhezione molekule, inflamatorne enzime, receptore i proteine koji su aktivni tokom inflamatornih procesa. U većim koncentracijama, KS imaju dodatne efekte na sintezu antiinflamatornih proteina i postgenomske efekte.

Liposolubilni KS svoju aktivnost postižu direktno ili indirektno preko glukokortikoidni receptora (cGR), koji nakon odvajanja ko-faktora formira aktivirani hormon-receptorski kompleks. Kompleks se translocira u jedro i vezuje se za dva palindromska mesta na DNK. Vezivanjem za odgovarajuća mesta na DNK dolazi do aktivacije procesa koji se naziva transaktivacija transkripcije antiinflamatornih (npr. IL 10, Aneksin 1 ili NF- κ B) i regulatornih proteina (npr. enzimi glukoneogeneze) uključenih u metaboličke procese (57). Svojim efektima KS smanjuju aktivnosti promotora na proinflamatornim genima i povećavaju ekspresiju antiinflamatornih medijatora. Drugi mehanizam delovanja KS je transrepresija koja dovodi do smanjenja ekspresije imunoregulatornih i proinflamatornih proteina kao što su citokini (IL1, IL2, IL6, TNF- α , IFN- γ) i prostaglandini. Ovo se ostvaruje direktnom ili indirektnom interakcijom monomera GC/cGR kompleksa sa faktorima transkripcije, čime se smanjuje sinteza proteina, ali i transkripciona aktivnost AP-1 ili NF- κ B. S druge strane, brzi negenomski glukokortikoidni efekti igraju važnu ulogu, jer se klinički efekti mogu brzo uočiti nakon primene visokih doza, jer oni promptno smanjuju hiperinflamatorni odgovor, suprimirajući vazodilataciju i povećanu vaskularnu permeabilnost inhibicijom ekspresije citokina (TNF- α , IL-6, IL-1 α , IL-1 β) i hemokina: CXCL9 i CXCL10 u toku nekoliko minuta (20,43,56).

Bitan efekat KS je i modulacija oksidativnog stresa. Pokazano je da KS suzbijanjem infiltracije inflamatornih ćelije dovode do supresije prekomerne proizvodnje ROS. Naime, široki antiinflamatorni efekti KS su usredsređeni na njihovu sposobnost da moduliraju ekspresiju gena u više tipova ćelija, uključujući imunske ćelije, epitel, glatke mišiće i fibroblaste. Međutim, studije pokazuju da su efekti KS zavisni od tipa ćelije, a da svoj antiinflamatorni efekat ostvaruju se preko cGR α (57).

Pojedini autori tvrde da su KS lekovi prvog izbora i u najvećem broju slučajeva dovoljni lekovi za lečenje pacijenata sa MIS-C udruženim sa COVID-19, jer dovode do brže normalizacije telesne temperature, biohemijskih i hematoloških parametara krvi i ehokardiografskih parametara, kao i da je njihova upotreba sprečava razvoj šoka i doprinosi kraćem boravku u ICU (41,45). Sve ovo se može objasniti time da IVIG snižavaju koncentraciju IL-6 trećeg, četvrtog dana bolesti, a nivo CXCL9 i CXCL10 se smanjuje tek nakon pet dana, čime se može objasniti održavanje febrilnosti i razvoj srčane dekompenzacije tokom i nakon primene IVIG (20,41,56). Takođe, IVIG povećava onkotski pritisak i posledično dovodi do redistribucije tečnosti, što može dodatno pogoršati *overload* kod ovih pacijenata, koji često imaju hipoalbuminemiju i gubitke u treći prostor. Primena IVIG podrazumeva infuziju velikih zapremina (40 ml/kg) koja može značajno povećati *preload* i doprineti disfunkciji miokarda, posebno kod pacijenata sa prethodnim znacima patnje kardiomiocita (58).

Pojedini bolesnici lečeni su biološkom terapijom. Primena visokih doza anakinre (> 4 mg/kg) savetuje se bolesnika kod kojih povoljan terapijski odgovor nije postignut nakon primene IVIG i KS, a kao alternativni lek može se primeniti infliksimab (5-10 mg/kg/dnevno) (Shema 3) (58).



Shema 3. Mehanizam dejstva imunomodulatornih lekova koji se koriste u terapiji MIS-C

1.7.2. Suportivna terapija

Osim imunomodulatorne terapije u lečenju pacijenata sa MIS-C primenjuje se i suportivna terapija. Kod bolesnika sa despresijom sistolne funkcije LK primenjuje se dekogestivna terapija sa ili bez inotropne medikamentozne terapije. Inotropnu potporu zahteva 30 – 85% bolesnika, a u slučaju teške dekompenzacije primenjivana je i ECMO.

Ekstrakorporalna membranska oksigenacija je napredna terapija koja se koristi za lečenje kritično bolesnih pacijenata sa teškom respiratornom ili kardiovaskularnom disfunkcijom koja je otporna na konvencionalno lečenje. ECMO je široko kategorisan u veno-venski (VV) ECMO ili veno-arterijski (VA) ECMO. Kako kod VV, tako i kod VA-ECMO, deoksigenisana krv se povlači iz venske cirkulacije i prolazi kroz membranski oksigenator radi razmene gasova. U VV-ECMO, ova oksigenisana krv se vraća u sistemsku vensku cirkulaciju,

povećavajući funkciju razmene gasova u plućima. Kod VV-ECMO, pacijentova nativna srčana funkcija je neophodna da bi se ova oksigenisana krv vratila u telo. Kod VA-ECMO, krv se vraća direktno u sistemsku arterijsku cirkulaciju i na taj način obezbeđuje cirkulatornu podršku pored respiratorne podrške. Važno je naglasiti da ECMO nije definitivna terapija već „*bridge*“ do oporavka, donošenja odluka, dijagnoze, ventrikularnog pomoćnog uređaja (VAD), transplantacije ili retko, fiziološke podrške do donacije organa. Tokom poslednje decenije, indikacije za ECMO su se značajno proširile i podeljene su na indikacije od strane kardiovaskularnog i respiratornog sistema (59).

Kod blažih oblika sistolne disfunkcije primenjivani su siporonalkton i ACE inhibitori. Spironolakton se primenjuje kao moćan antifibrotik, dok su ACE inhibitori, posebno kaptopril, primenjivani zbog njihovog antioksidativnog efekta (60,61). Dok su i karbonilna i tiolna grupa kaptoprila esencijalne za njegovu aktivnost kao ACE inhibitora, čini se da antioksidativni efekti kaptoprila zavise samo od SH grupe. Dakle, SH jedinjenja štite od ishemije miokarda i reperfuzionih povreda. Suprotno tome, ACE inhibitori koji ne sadrže SH, kao što je enalaprilat, nemaju taj efekat. Slično, ACE inhibitori koji sadrže SH grupu takođe štite endotelne ćelije *in vitro* od egzogeno generisanih slobodnih radikala, što je pokazano na životinjskim modelima. Utvrđeno je da kaptopril ublažava postishemijsku kontraktilnu disfunkciju kod miokarda u stunning-u (61). Kaptopril je u eritrocitima bio protektivan od različitih oksidativnih stresova: hemolize izazvane 2,2'-azobisom i hipohloritom, lipidne peroksidacije membrana eritrocita izazvane terc-butil-hidroperoksidom i hipohloritom, inaktivacije membrane eritrocita izazvane ATPaBOOH i oksidacija hemoglobina izazvana AAPH i tBOOH (61).

Takođe, primenjuje se antiagregaciona ili antikoagulantna terapija, u cilju prevencije tromboembolijskih komplikacija (45), kao i primena empirijske antimikrobne terapije do pristizanja negativnih nalaza zasejanih bakterijskih kultura.

2.Ciljevi istraživanja

Ciljevi studije su da se kod dece sa MIS - C udruženim sa COVID-19 utvrde promene:

- aktivnosti enzima antioksidativne zaštite u eritocitima pre i nakon terapije metilprednizolonom i indirektno proceni aktivnost dominantnih reaktivnih vrsta;
- oksidativno - redukcionog potencijala tj. ukupnog oksidativnog statusa u plazmi, pre i nakon terapije metilprednizolonom;
- inflamatornog odgovora određivanjem imunofenotipa limfocita periferne krvi.

Da se utvrdi povezanost između parametara oksidativnog stresa i inflamatornog odgovora sa

- biohemijskim i hematološkim parametrima krvi;
- promenama na ehokardiografskom nalazu pre i nakon terapije MP;
- promenama u kliničkom toku i ishodu bolesti.

3. MATERIЈAL I METODE

U prospektivnu kohortnu studiju uključena su deca uzrasta do 18 godina lečena pod dijagnozom MIS-C udruženog sa COVID-19 u Institutu za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“ od januara 2021. godine do aprila 2022. godine. Dijagnoza bolesti je postavljena na osnovu preporuka Svetske zdravstvene organizacije.

Studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu i Instituta za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“. Roditelji svih bolesnika su bili detaljno informisani o protokolima i ciljevima studije i dali su pisani pristanak pre uključanja u studiju.

Disfunkcija miokarda definisana je postojanjem sistolne disfunkcije leve komore (ejekciona frakcija (EF) < 60%), edema interventrikularnog septuma ili zadnjeg zida i povišenim vrednostima proBNP. Postojanje MIS-C šoka je definisano kao prisustvo:

- 1) sistolne arterijske hipotenzije,
- 2) smanjenje bazalnog sistolnog krvnog pritiska za najmanje 20%, ili
- 3) pojava znakova periferne hipoperfuzije.

Kod blage i umerene kliničke slike, pacijenti nisu zahtevali prijem u jedinicu intenzivne nege (ICU), primenu kiseonične terapije i respiratornu podršku, kao ni primenu inotropnih lekova. Teška forma je podrazumevala teška organska oštećenja, šok i prijem u ICU.

Neuspeh lečenja definisan je kao perzistiranje povišene telesne temperature (>38°C) nakon 48h od početka primene MP ili razvoj MIS-C šoka perzistiranje ili razvoj akutne sistolne disfunkcije leve komore (EF <55%).

3.1. Kriterijumi za uključivanje

U studiju su uključeni pacijenti sa MIS-C povezanim sa COVID-19 koji se lečeni u Institutu za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“ u periodu od januara 2021. do aprila 2022. Dijagnoza je postavljena na osnovu preporuka SZO:

- 1) temperatura i povišene vrednosti inflamatornih markera tokom 3 dana ili više,
- 2) postojanje 2 od sledećih kriterijuma: (A) osip ili bilateralni ne-eksudativni konjunktivitis ili znaci mukokutane inflamacije (oralno, šake ili stopala); (B) hipotenzija ili šok; (C) miokardna disfunkcija, perikarditis, valvulitis ili koronarne abnormalnosti (uključujući nalaze ehokardiograma ili povišen troponin ili N-terminalni pro-B-tip natriuretičkog peptida); (D) dokaz koagulopatije (produženo protrombinsko vreme, parcijalno tromboplastinsko vreme i povišeni D-dimeri); i (E) akutni gastrointestinalni problemi (proliv, povraćanje ili bol u stomaku),
- 3) pozitivan RT-PCR, antigen test ili serologija; ili pozitivni anamnestički podaci o kontaktu sa pacijentima sa COVID-19,
- 4) neophodno je isključiti drugi infektivni razlog zapaljenja.

3.2. Kriterijumi za isključivanje

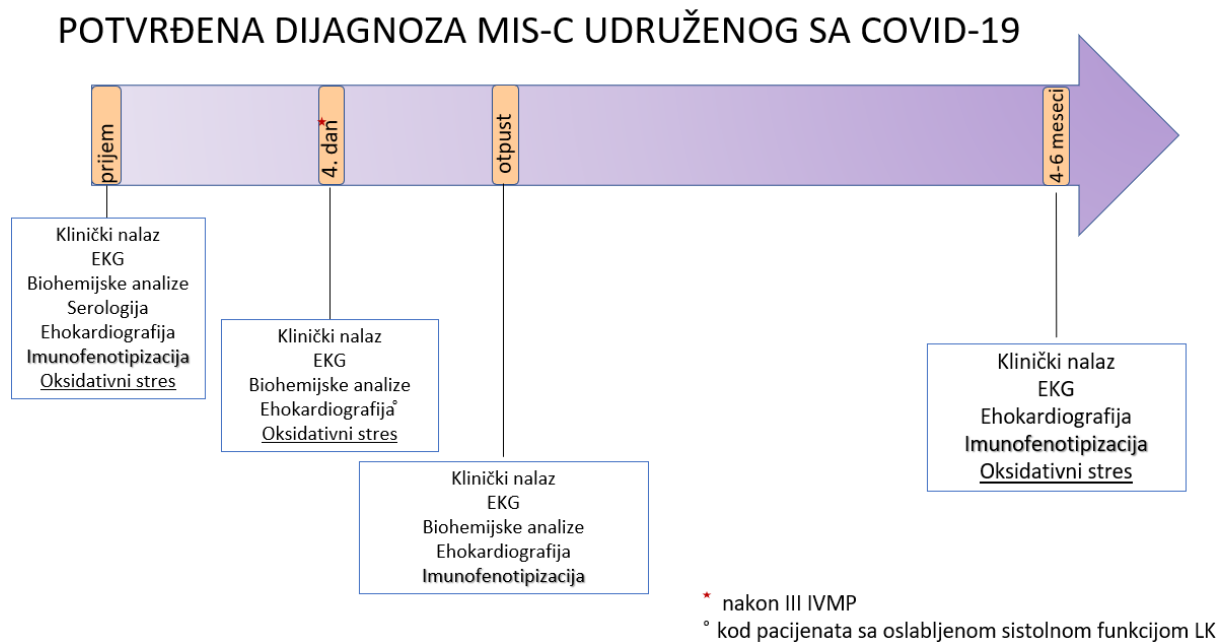
Iz studije su isključena sva deca:

- 1) lečena u periodu od aprila 2020 do decembra 2020. godine,
- 2) lečena IVIG,
- 3) koja primenjuju antioksidanse,
- 4) kod kojih postoji povišen oksidativni stres: pušenje, urođene bolesti metabolizma,

- 5) pacijenti sa hroničnim bolestima bubrega, sistemskom ili plućnom hipertenzijom endokrinološkim poremećajima.

3.3. Protokol studije

Svakom bolesniku sa potvrđenom dijagnozom MIS-C je na prijemu u bolnicu uzeta detaljna anamneza, učinjen kompletan fizikalni pregled, urađene standardne hematološke i biohemijske analize krvi, uzeti uzorci krvi za određivanje parametara oksidativnog stresa i imunofenotipa limfocita periferne krvi, serološke analize na SARS-CoV-2, EKG zapis i ehokardiografski pregled (**Shema 4**).



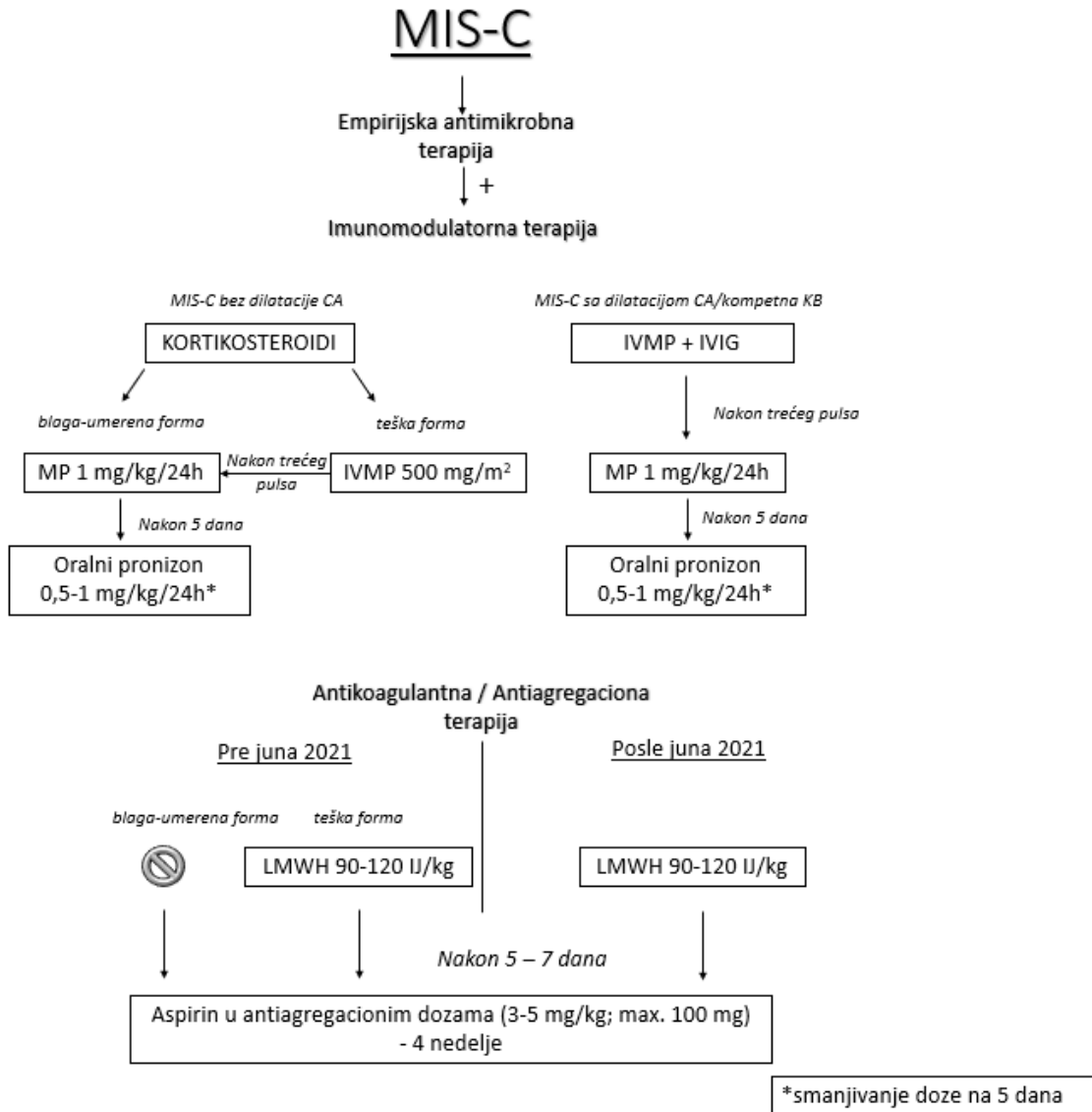
Shema 4. Protokol studije – učestalost i vreme uzimanja analiza i ponavljanja ehokardiografskog pregleda

Pacijenti su lečeni primenom metilpredizolona. Uticaj primenjene terapije je ispitivan procenom kliničkog stanja, analizom hematoloških i biohemijskim parametara krvi, EKG zapisa i ehokardiografskog nalaza. Trećeg intrahospitalnog dana su evaluirane: standardne hematološke i biohemijske analize krvi, oksidaciono-redukциони potencijal, određivana aktivnosti antioksidantnih enzima iz eritrocita, EKG zapis i ehokardiografski pregled ukoliko su pacijenti na prijemu imali znake miokardne disfunkcije. Pred planirani otpust iz bolnice svim pacijentima su ponovljane: standardne hematološke i biohemijske analize krvi, imunofenotip limfocita periferne krvi, EKG zapis i ehokardiografski pregled.

Procena kliničkog stanja, laboratorijskih analiza, redoks statusa, imunofenotipa limfocita periferne krvi, EKG zapisa i ehokardiografskog nalaza je rađena nakon 4-6 meseci od akutne bolesti.

3.4. Protokol lečenja bolesnika

Pacijenti su lečeni primenom suportovne i kortikosteroidne terapije - pulsevi MP ili MP u standardnim dozama u zavisnosti od težine kliničke slike (**Shema 5**).



Shema 5. Protokol lečenja bolesnika sa MIS-C

Suportivna terapija je podrazumevala intravensku hidraciju, diuretike i ACE inhibitore - kaptopril. Pacijenti sa disfunkcijom miokarda i šokom lečeni su medikametoznom inotropnom terapijom: dopaminom, dobutaminom i milrinomom. Svi pacijenti primljeni u bolnicu primali su parenteralnu empirijsku antibiotsku terapiju nakon uzimanja uzoraka za hemokulturu i urinokulturu. S obzirom da je primećeno da većina pacijenata nema željeni terapijski odgovor na primenu IVIG i te da je potrebna primena KS, od januara 2021. godine pacijenti su lečeni samo MP, dok su kombinaciju KS i IVIG primali samo pacijenti sa dilatacijom koronarnih arterija. Pacijenti sa blagom formom bolesti lečeni su standardnim dozama MP (1 mg/kg), dok su pacijenti sa teškim oblikom primali IVMP (500 mg/m²). Nakon tri IVMP, pacijenti su primali intravenski MP u standardnim dozama (1 mg/kg) do sedam dana. Po završetku parenteralne primene MP, svi pacijenti su lečeni oralnim KS (prednizonom) uz postepeno smanjenje doze.

U početku su samo pacijenti lečeni u ICU primali antikoagulantnu terapiju u profilaktičkim dozama (nisko molekularni heparin), ali s obzirom na to da je kod jednog bolesnika sa blagom kliničkom slikom došlo do razvoja intrakardijalne tromboze; niskomolekularni heparin primenjivan je kod svih pacijenata sa MIS-C. Nisko molekularni heparin je korišćen u profilaktičkoj dozi (90-120 IU/kg jednom dnevno) tokom 5-7 bolničkih dana, a nakon ovog perioda zamenjen je aspirinom u antiagregacionim dozama (3-5 mg/kg; maksimalna doza 100 mg dnevno).

3.5. Određivanje parametara oksidativnog stresa

Priprema uzoraka i analize aktivnosti antioksidantnih enzima i oksidaciono-redukcionog potencijala urađene su na Institutu za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju, Medicinskog fakulteta u Beogradu na aparatu spektrofotometar Heλios Beta – UNICAM, Velika Britanija.

3.5.1. Određivanje enzima antioksidativne zaštite iz eritrocita

3.5.1.1. Biohemijska procedura uzorkovanja krvi

Od svih ispitanika na prijemu u bolnicu i četvrtog dana hospitalizacije u epruvete sa 0,2 ml heparina uzimano je po 3 ml periferne venske krvi. Uzorci su centrifugirani tokom 10 minuta na 5000 rpm, 4°C razdvojeni su eritrociti i plazma. Potom su prethodno izdvojeni eritrociti tri puta isprani fiziološkim rastvorom uz centrifugiranje (10 min. na 5000 rpm, 4°C), a nakon toga zaleđivani su na -82°C. Za potrebe određivanja aktivnosti enzima SOD, katalaze (CAT), glutation peroksidaze (GSH-Px) i glutation reduktaze (GR) uzorci su prethodno odmrzavani.

3.5.1.2. Određivanje enzima antioksidativne zaštite iz eritocita

Metodom po *Drabkin-a* i *Austin-a* (1935) iz tri puta ispranih i liziranih eritrocita, određena je količina hemoglobina (Hb) (62). Lizati su dalje korišćeni za određivanje aktivnosti enzima antioksidativne zaštite (CAT, GSH-Px, GR), dok je za određivanje aktivnosti Cu/Zn SOD metodom po *Tsuchihashi-ju* (1923) bilo neophodno prvo ukloniti hemoglobin (63).

3.5.1.3. Adrenalinska metoda za određivanje aktivnosti SOD

Za određivanje aktivnosti SOD korišćena je metoda *Misra* i *Fridovich* iz 1972. godine. Ova metoda ima karakter "negativnog" tipa, jer prati smanjenje brzine autooksidacije adrenalina u alkalnoj sredini (64). Eritrocitna SOD uklanja O₂⁻ inhibirajući reakciju autooksidacije adrenalina, koja se prati spektrofotometrijom pri čemu dolazi do porasta apsorbance na 480 nm zbog akumulacije adrenohroma.

Za izvođenje reakcije korišćeni su sledeći rastvori:

Adrenalin, 3x10⁻⁴ M u 0,1 M HCl
rastvor se priprema neposredno
pre merenja



Karbonatni pufer, pH 10,2, sastava:
Na₂CO₃ 0,05 M
EDTA 1x10⁻⁴ M.

EKSPERIMENTALNI POSTUPAK:

U reakcionu smešu od 3ml karbonatnog pufera i 0,1 ml rastvora adrenalina, dodavano je 0,01 ml supernatanta. Autooksidacija adrenalina praćena je četiri minuta na 480 nm. Uporedo je raćena i kontrolna reakcija. Brzina autooksidacije adrenalina jednaka je nagibu linearnog dela porasta apsorbicije, dok se procenat inhibicije korišćen kao mera katalitićke aktivnosti enzima. Brzina autooksidacije adrenalina u odsustvu enzima uzima se kao referentna vrednost (kontrolna), a brzina autooksidacije u prisustvu SOD predstavlja deo referentne vrednosti. SOD aktivnost je izraćunavana kao procenat inhibicije autooksidacije adrenalina u prisustvu SOD iz uzorka. Jedinica SOD aktivnosti definisana je kao zapremina, odnosno kolićina proteina koja uzrokuje 50% inhibicije brzine autooksidacije adrenalina u linearnom delu porasta apsorbicije i izraćena je u jedinicama aktivnosti SOD po g Hb (U/g Hb)..

Izraćunavanje je uraćeno po sledećoj jednaćini:

$$SOD - 1 = \frac{2(\Delta K - \Delta A) \times R}{V \times Hb \times \Delta K}$$

- ΔK - promena apsorbicije kontrolne reakcije u minuti
- ΔA - promena apsorbicije reakcije sa uzorkom u minuti
- V - zapremina uzorka koji se sipa u reakcionu smešu (ml)
- Hb - kolićina hemoglobina (g /100 ml lizata)
- R - razblaženje.

3.5.1.4. Odrećivanje aktivnosti CAT

Metoda po *Beutler*-u (1982) korišćena je za odrećivanje aktivnosti CAT u lizatu (65), a podrazumeva spektrofotometrijsko praćenje brzine razgradnje H_2O_2 u prisustvu CAT na 230 nm, kada H_2O_2 apsorbuje svetlost.

Za izvoćenje reakcije potrebni su sledeći rastvori:



Koncentracija H_2O_2 izraćunavana je na osnovu ekstinkcionog koeficijenta, koji je za H_2O_2 nalazi na 230 nm. Dobijena koncentracija je potom razblaživana do 10 mM. Koncentracija H_2O_2 je izraćunavana po formuli:

$$C = \frac{\Delta A}{0,071}$$

EKSPERIMENTALNI POSTUPAK:

U kvarcnu kivetu sa 50 μ l pufera aplikovano je 5 - 50 μ l uzorka, u zavisnosti od CAT aktivnosti. Reakcija se započinje dodavanjem 1 ml 10 mM rastvora H_2O_2 , zatim je u toku 3 minuta praćen pad apsorpcije na 230 nm. Aktivnost je izražavana u jed/mg Hb, a jedinica je definisana kao količina redukovano H_2O_2 , izražena u mM, u minuti.

Izračunavanje je rađeno prema dole navedenoj formuli:

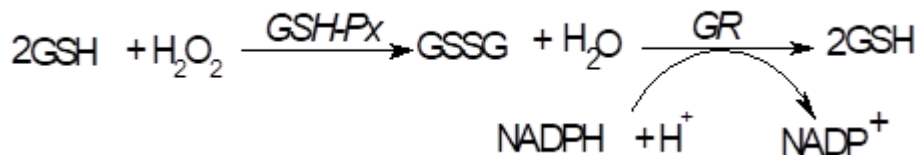
$$CAT = \frac{\Delta A \times R \times 100}{0,071 \times Hb \times V}$$

- ΔA - promena apsorpcije u minuti,
- R - razblaženje,
- V - zapremina uzorka (ml) i
- Hb - količina Hb (g/100 ml lizata).

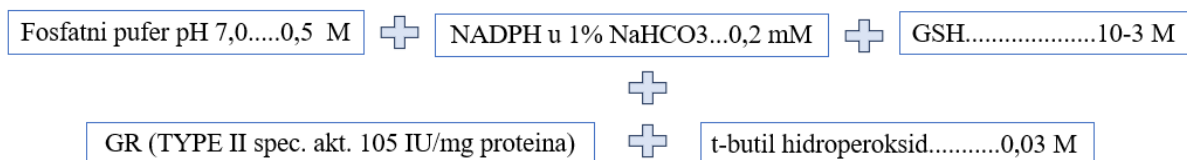
3.5.1.5. Određivanje aktivnosti GSH-Px

Na osnovu modifikovane metode *Paglia i Valentine* (1967) određivana je aktivnost GSH-Px određivana je (66). Ovom metodom se prati potrošnja - oksidacija NADPH u prisustvu GR na 340 nm. Ova indirektna metoda se pokazala veoma reproducibilnom u poređenju sa drugim.

Metoda se zasniva na reakciji:



Za izvođene eksperimentalnog postupka potrebni su sledeći rastvori:



Rezultati se izražavaju u μ mol NADPH/min/g Hb.

EKSPERIMENTALNI POSTUPAK:

U staklenoj kiveri mešano je 1,6 ml vode, 0,3 ml pufera, 0,6 ml rastvora NADPH, 0,3 ml rastvora GSH, 0,1 ml t-butil hidroperoksida i oko 0,05 ml uzorka, u takvom odnosu da bude 5% (m/m) Hb. Reakcija otpočinje dodavanjem 105 IU/mg GR na temperaturi od 37°C. Apsorpcija se očitava na 340nm od prvog do četvrtog minuta, uz uporedno praćenje kontrolne reakcije (u kiveri nalaze se svi reagensi osim uzorka).

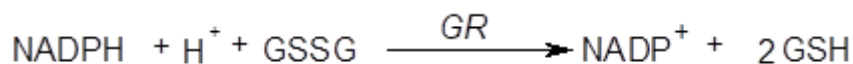
Aktivnost GSH-Px se izračunava na sledeći način:

$$GSH - Px = \frac{(\Delta A - \Delta B) \times 100}{6.22 \times 0.833}$$

- ΔA -promena apsorpcije /min za uzorak i
- ΔB -promena apsorpcije/min za kontrolnu reakciju.

3.5.1.6. Određivanje aktivnosti GR

Korišćenjem metode po *Glatzle* (1974. godine) određivana je aktivnosti GR (67), koja katalizuje redukciju oksidovanog glutationa sa NADPH:



Oksidacija NADPH se određuje na osnovu promene apsorpcije na 340 nm, a aktivnost se izražava u $\mu\text{mol NADPH /min /g Hb}$.

Sledeći rastvori su potrebni za izvođenje eksperimentalne reakcije:

Fosfatni pufer pH 7,0.....0,5 M + EDTA.....0,5 M + GSSG.....2 mM + NADPH.....0,1 mM

EKSPERIMENTALNI POSTUPAK:

U spektrofotometrijsku kiveru dodaje se 0,6 ml fosfatnog pufera, 0,1 ml GSSG, 0,1 ml uzorka i 2,2 ml vode. Reakcija se započinje dodavanjem 0,1 ml NADPH. Optimalna temperatura za odvijanje reakcije je 37° C, pri čemu se prati promena apsorpcije tokom 3 minuta, a aktivnost se izračunava pomoću jednačine:

$$GR = \frac{(\Delta A - \Delta B) \times 10^3 \times 3}{6.22 \times V \times Hb}$$

- ΔA -promena apsorpcije/minuti u uzorku,
- ΔB -promena apsorpcije/minuti u kontrolnom uzorku,

- V-zapremina uzorka i
- Hb-količina hemoglobina (g/100 ml lizata).

3.5.2. Oksidaciono-redukциони potencijal (ORP)

ORP je meren na sobnoj temperaturi na aparatu *RedoxSYS System* (Aytu BioScience, Inc., Englewood, CO). Uzrok plazme nakapan je na prethodno postavljen senzor nakon čega započinje proces automatikog očitavanja. Nakon 5 sekundi kada ORP vrednosti postanu stabilne očitava se vrednost u milivoltima (mV).

3.6. Imunofenotip limfocita periferne krvi

3.6.1. Princip izvođenja imunofenotipizacije limfocita periferne

Uzorci 3 ml pune krvi u epruveti sa EDTA dostavljaju se za imunofenotipizaciju limfocita u Imunološkoj laboratoriji Instituta za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije “Dr Vukan Čupić”.

U analizi su korišćena sledeća monoklonska antitela:

- BD Multitest™ 6-Color TBNK, Becton Dickinson, San Jose, CA koji sadrži FITC obeležen CD3, klon SK7; PE-obeleženi CD16, klon B73.1, PE obeležen CD56, klon NCAM16.2; PerCP-Ci 5.5-obeležen CD45, klon 2D1 (HLe-1); CD4 obeležen PE-Ci7, klon SK3; CD19 obeležen APC, klon SJ25C1; i CD8 obeležen APC-Ci7, klon SK1.).

-HU TH1/2/17 Phenotyping Kit, Becton Dickinson, San Jose, CA, koji sadrži: Humani CD4 PerCP-Ci5.5 (klon: SK3), IL-17A PE (klon: N49-653), IFN-GMA FITC (klon: B27) i IL-4 APC (klon: MP4-25D2).

Kao sredstvo za aktivaciju korišćen je:

-Leukocyte Activation Cocktail, with BD GolgiPlug (PMA, Ca-Ionophor, Brefeldin A), Becton Dickinson, San Jose, CA.

Sto mikrolitara pune krvi se u jednoj epruveti pomeša sa 20 µl Multitest™ 6-Color TBNK. Epruveta se inkubiraju na sobnoj temperaturi, u mraku, 15 minuta i lizira FACS puferom za liziranje (Becton Dickinson) tokom 15 minuta. Nakon centrifugiranja i naknadnog ispiranja, ćelije se suspenduju u 400 µl Cell wash rastvora (Becton Dickinson) i analiziraju na FACS CANTO II citometru (Becton Dickinson) uz korišćenje DIVA softvera.

3.6.2. Imunofenotipizacija pomoću protočne citometrije

Imunofenotipizacija ili fenotipska karakterizacija ćelija predstavlja identifikaciju i kvantifikaciju specifičnih grupa ćelija u mešovitoj ćelijskoj populaciji pomoću protočne citometrije. Specifični proteini ćelijske membrane, koji su poznati kao markeri, mogu se otkriti korišćenjem antitela. Ovi specifični antigeni mogu biti eksprimirani na više od jednog tipa ćelija, tako da precizna imunofenotipizacija ćelija može biti postignuta istovremenim bojenjem jedne ćelijske populacije korišćenjem dva ili više antitela. Označavanjem ćelija specifičnim monoklonalnim antitelima konjugovanim sa fluoroforima mogu se identifikovati ali i kvantifikovati tipovi i podtipovi imunih ćelija. Imunofenotipizacija je najčešća primena protočne citometrije u medicini.

Ćelije se obično definišu prema ekspresiji antigena na ćelijskoj površini. Na osnovu „klastera diferencijacije“ (CD/CD) formirana je nomenklatura za identifikaciju monoklonskih

antitela. Većina imunih ćelija ima CD markere koji ih razlikuju kao populaciju ćelija i zovu se markeri loze. Za imunofenotipizaciju su najznačajniji i najviše se koriste markeri T ćelijske loze (CD3, CD4, CD8), B ćelijski markeri (CD19, CD20) i markeri NK ćelija (CD56) (68-70). Grupu monocita, mijeloidnih i dendritičnih ćelija je teže definisati jer je mnogo kompleksnija i ne uvek u potpunosti pouzdana ekspresija markera. Na primer, antigen CD14 koji se koristi kao marker za monocite u stvari je eksprimiran samo na delu monocitnih ćelija. Pored markera loze i drugi markeri se koriste za karakterizaciju svake grupe ćelija. Oni mogu uključivati markere aktivacije, memorijske markere, markere receptora hemokina idr.

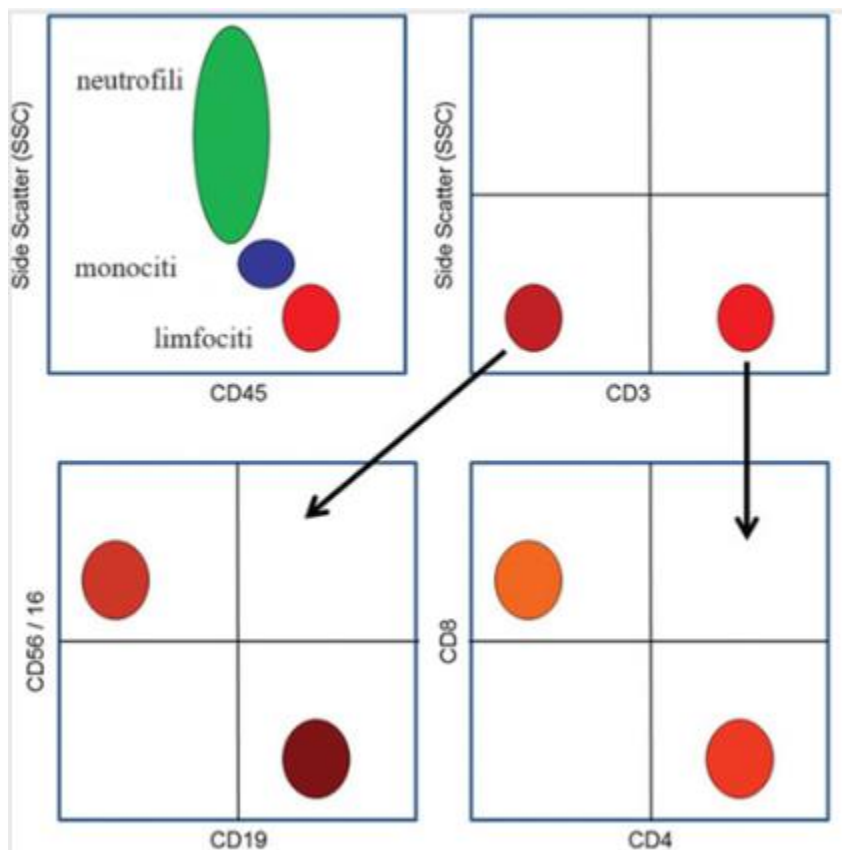
3.6.3. Imunofenotipizacija limfocita

Limfociti se lako mogu morfološki prepoznati, ali da bi se identifikovali glavni tipovi limfocita i njihove različite subpopulacije neophodna je imunofenotipizacija uz korišćenje specifičnih antitela. Moderna protočna citometrija u kombinaciji sa posebno dizajniranim softverskim programima za analizu rezultata omogućava brzu i preciznu multiparametarsku procenu imunofenotipa velikog broja ćelija u kratkom vremenskom periodu (18,19).

Danas se za imunofenotipizaciju pretežno koristi tehnika lizirane cele krvi, *lysed whole blood* (LWB/LVB), kojom se određena zapremina krvi uzete u epruvetu sa antikoagulansom inkubira sa antitelima, dok se crvena krvna zrnca liziraju, a uzorak pere pre analize na protočnom citometru. Ova tehnika se koristi za protočnocitometrijsku imunofenotipizaciju jer je brža i manje tehnički komplikovana od ranije korišćene tehnike bojenja mononuklearnih ćelija dobijenih procesom razdvajanja pomoću Ficol (*Ficoll*) gradijenta gustine. Uz to LVB tehnikom ne dolazi do gubitaka specifičnih subpopulacija limfocita, što je primećeno u slučaju razdvajanja ćelija preko gradijenata gustine (71). U današnje vreme, praktično sva rutinski korišćena antitela su monoklonska antitela (MoAb/MoAb) direktno spojena sa fluorohromima, kao što je fluorescein izotiocijanat (FITC/FITC), fikoeritrin (PE/PE), peridin hlorofil protein (PerCP/PerCP) ili duohrom PE-cijanin 5 (PE-Cy5/PE-Ci5). Važno je minimizirati nespecifično vezivanje antitela preko F receptora koji su eksprimirani na monocitima, granulocitima, NK-ćelijama i nekim T- i B-limfocitima. Upravo LVB tehnika je manje osetljiva na ta nespecifična vezivanja, verovatno zato što molekuli imunoglobulina (Ig/Ig) koji su prisutni u plazmi blokiraju mesta vezivanja F receptora. Ovi imunoglobulinski molekuli se gube tokom postupka izolacije mononuklearnih ćelija, te se i ova nespecifična vezivanja češće javljaju u ovoj metodi, te je i to jedan od razloga za njeno napuštanje. Mrtve ćelije pokazuju povećanu autofluorescenciju, što potencijalno dovodi do netačne interpretacije rezultati bojenja, što se svodi na minimum korišćenjem svežih uzoraka.

3.6.4. Analiza podataka

Analiza podataka se vrši izolovanom evaluacijom populacije od interesa, na primer limfocita. Ovo se postiže elektronskim gejtingom: takozvana "kapija" je postavljena oko malih i pravilno oblikovanih limfocita u FSC u odnosu na SSC tačkasti dijagram (*dot plot*). Ovaj gejting potvrđuje se i analizom CD45 bojenja: limfociti su CD45 jako pozitivni (**slika 3**).



Slika 3. Analiza imunofenotipa limfocita periferne krvi. Adaptirano iz reference 18.

Kada se koristi više od dva fluorohroma moguće je izvršiti dodatni korak *gating*-a na podpopulaciji. Ovo omogućava analizu markera unutar malih subpopulacija.

Koristeći ukupan broj limfocita dobijen izračunavanjem iz ukupnog broja leukocita i procenjivanje relativne brojeve subpopulacija mogu se izračunati i apsolutni brojevi subpopulacija limfocita. Obično se procenjuju sledeće podgrupe, izražene kao relativne i apsolutne vrednosti: ukupne CD3+ T-ćelije, CD3+/ CD4+ T helper T limfociti, CD3+ CD8 T supresorski limfociti, CD19+ B-ćelije, kao i CD3-/CD16+/CD56+ NK ćelije (71,72, 74, 75).

3.7. Ehokardiografija

Ehokardiografski pregledi rađeni su *bad-side* kod pacijenata hospitalizovanih u ICU na aparatu GE Vivid S6, dok je ostalima ehokardiografski pregled rađen u Kabinetu za ultrazvuk srca Instituta za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“ na Philips EPIQ 7G aparatu. Svim pacijentima ispitivani su:

- 1) sistolna funkcija leve komore – end-dijastolni dijamer (EDD), end-sistolni dijamer (ESD), debljina interventrikularnog septuma u dijastoli (IVSd), zadnjeg zida (ZZd), ejectiona frakcija (EF) i frakcija skraćenja (FS);
- 2) morfologija i protok na atrioventrikularnim zaliscima – trikuspidnoj (TV) i mitralnoj valvuli (MV);
- 3) segmentni ispadi u kinetici zidova leve komore;
- 4) dijametri koronarnih arterija – desne (RCA) i leve (LCA).

Parametri su evaluirani 2D ehokardiografijom, M-mod i doppler ehokardiografijom, a njihove vrednosti su predstavljene su kao Z skorovi.

3.7.1. Dvodimenzionalna ehokardiografija i Z skor

Dvodimenzionalni eho pregledi se izvode usmeravanjem ravni ultrazvučnog snopa sonde duž većeg broja ravni, praveći preseke kroz srce i velike krvne sudove. Rutinski 2D ehokardiogram se dobija iz standardna četiri preseka:

- parasternalne,
- apikalne,
- subkostalne i
- suprasternalne pozicije (74).

Iz svake pozicije ručnim rotiranjem i menjanjem ugla sonde dobijaju se, slike iz duge i kratke ose. Merenja važnih srčanih struktura mogu se napraviti zamrzavanjem slike okviru 2D ehokardiografije. Normalne vrednosti dimenzija srčanih šupljina, velikih arterija, koronarnih arterija i zalistaka izražavaju se skorom standardnih devijacija (Z skor), koji se procenjuje u odnosu na telesnu masu ili površinu tela (BSA) deteta. Z skor se izračunava formulom:

$$Z\text{- skor} = \frac{(\chi/BSA - \mu)}{\sigma}$$

gde je χ izračunato merenje, μ je očekivano merenje (srednja vrednost populacije) i σ je standardna devijacija u populaciji. Dakle, vrednosti Z skora iznad srednje vrednosti populacije imaju pozitivnu vrednost i one ispod srednje vrednosti populacije ima negativnu vrednost. Normalne vrednosti Z skora su između -2 i +2 standardne devijacije (75).

Za većinu merenja, preporuka za izračunavanje Z-skora je na osnovu površine tela pacijenta, a ne samo na osnovu visine ili težine. Boston Z skor koristi eksponencijalnu transformaciju BSA i nema transformacije mernih vrednosti za regresione jednačine za većinu parametara. Kod Detroit Z skora uključene su logaritamske transformacije mernih vrednosti i polinomialne transformacije telesne površine (75).

Detroit Z skor smo koristili kod dece, čija je BSA iznosila do 2 m², dok je Boston Z skor kod dece veće BSA (75).

3.7.2. Ehokardiografija u M modu

Ehokardiografija u M modu grafički prikazuje jednodimenzionalni presek srčanih struktura i dobija kao deo 2D ehokardiografskog pregleda. M-mod se prvenstveno koristi za merenje dimenzija (debljine zida i veličine komore) i funkcija LK (FS i EF). Takođe, korisan je za procena pomeranja srčanih zalistaka (prolaps mitralne valvule, mitralna stenoza, plućna hipertenzija) i za procenu pokretljivosti IVS (kod preoperećenje DK volumenom ili pritiskom) (74).

3.7.3. Sistolna funkcija leve komore

Sistolna funkcija leve komore određivana je izračunavanjem EF i FS LK.

3.7.3.1. Ejekciona fracija

Ejekciona fracija predstavlja odnos između količine krvi koja se izbacila tokom svakog srčanog ciklusa u odnosu na veličinu komore. M modom procinjavani su dijametri zidova i šupljine LK u sistoli i dijastoli. Ejekciona fracija procenjena je merenjem EDD i ESD u 2D slici *Teich* metodom (74).

$$\text{Ejekciona fracija leve komore (\%)} = \frac{\text{udarni volumen leve komore}}{\text{end-dijastolni volumen leve komore}} \times 100$$

$$\text{Udrarni volumen leve komore} = \text{end-dijastolni volumen leve komore} - \text{end-sistolni volumen leve komore}$$

Kao prisustvo sistolne disfunkcije LK definisano je merenje EF LK < 60%. Dalje je prema vrednosti EF definisana blaga disfunkcija – EF 46 – 59%; umerena – EF - 36-45 % i teška sistolna disfunkcija – EF < 35%.

3.7.3.2. Frakcija skraćenja

Frakcija skraćivanja se izražunava koristeći 2D M-Mode metodu. Koristeći M-mod, mogu se izračunavati se parametri EDD LK i ESD LK. Ovi parametri se odnose na veličinu komore (uhvaćene M-modom) na kraju sistole i dijastole.

Frakcija skraćenja izračunava se korišćenjem formule:

$$\text{Frakcija skraćenja (\%)} = \frac{\text{EDD LK} - \text{ESD LK}}{\text{EDD LK}} \times 100$$

čime se dobija procenat razlike u veličini leve komore kao parametar koliko se LK kontrahuje i samim tim smanjuje veličinu tokom sistole (76). Vrednosti > 28% se smatraju normalnim.

3.7.4. Dopler ehokardiografija

Dopler ehokardiografija kombinuje analizu srčanih struktura i profil protoka krvi. Doplerov efekat predstavlja promenu posmatrane frekvencije zvuka koja je rezultat kretanja izvora ili mete (eritrocita).

Dve najčešće korišćene Doplerove tehnike su kontinuirani talas i pulsni talas. Pulsni talas emituje kratak nalet ultrazvuka koji Dopler eho prijemnik „sluša“ stvarajući povratne informacije. Koristan je u proceni tačnog mesta prijema ultrazvučnog signala, dok se njegova mana u komparaciji sa kontinuiranim talasom što ne može proceniti velike brzine protoka. Kontinuirani talas emituje konstantan ultrazvučni snop sa jednim kristalom, a drugim kristalom neprekidno prima povratne informacije.

Tehnika Doplerovog eha je korisna u proučavanju:

- otkrivanja prisustva i pravaca šantova;
- proučavanje stenoze ili regurgitacije zalistaka;
- procena stenoze krvnih sudova;
- procena pritiska u različitim delovima kardiovaskularnog sistema;
- procena minutnog volumena srca ili protoka krvi;
- procena dijasolne funkcije komora.

Doplerov eho se obično koristi sa protokom mapiranih boja mapiranje kako bi se povećala korisnost tehnike (74).

3.8. Statistika

Podaci su obrađeni pomoću statističkog softvera SPSS 25.0 za Windows 10.

Deskriptivna statistika uključuje srednju vrednost, medijanu, standardnu devijaciju (SD), interkvartilni opseg (IQR), kao i ukupan broj i procenat (%) praćenih parametara.

Razlika u distribuciji specifičnih parametara među ispitivanim grupama određena je korišćenjem χ^2 ili Fišerovog testa.

Shapiro–Wilk i Kolmogorov–Smirnov testovima procenjena je normalnost distribucije numeričkih varijabli. Nezavisni numerički podaci sa normalnom distribucijom poređeni su korišćenjem Studentovog t-testa, dok je *Mann–Whitney* test korišćen za one numeričke podatke sa distribucijom koja odstupa od normalne. Za poređenje dva zavisna uzorka korišćeni su, u zavisnosti od distribucije podataka, T-test za parove i *Wilkoksonov* test.

Pearson ili Spearman test su korišćeni za određivanje korelacija između parametara u različitim grupama.

Korišćena je binomalna logistička regresija u cilju objašnjenja odnosa između zavisne binarne promenljive i nezavisnih varijabli.

Sve statističke metode su smatrane statistički značajnim u koliko je $p \leq 0,05$.

Kalkulatorom za određivanje veličine uzorka za nivo značajnosti (CI) 95% i za granicu greške od 5%, procenjena veličina uzorka je 23 bolesnika.

4. REZULTATI

U periodu od početka pandemije pa do aprila 2022. godine u Institutu za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije lečeno je 89 bolesnika. Primenom IVIG lečeno je 22 bolesnika, te su oni isključeni iz studije.

Studija je obuhvatila 67 pacijenata, 38 dečaka (56,7%) i 29 devojčica (43,3%); prosečnog uzrasta 9,2 (IQR 6,3–12,9) godine. Nije bilo uzrasne razlike između polova ($p = 0,2$). Serološki testovi krvi na SARS-CoV-2 bili su pozitivni kod 64 pacijenta (95,5%), dok su 3 (4,5%) imala pozitivan PCR ili Ag test iz nazofaringealnog brisa. Hospitalizacija je trajala 9 dana (IQR 7 – 12), dok je boravak u ICU trajao 4 dana (IQR 3 – 6).

4.1. Klinička slika

Svi pacijenti su imali povišenu telesnu temperaturu (TT) koja je trajala u proseku 5 (IQR 4-6) dana. Dužina trajanja bolesti nije uticala na težinu kliničke slike ($p = 0,88$), kao ni na razvoj KV manifestacija ($p = 0,71$). Najviša izmerena TT iznosila je 39,8°C (IQR 39,5 – 40°C), a na prijemu 37,3c (IQR 36,5 - 38,3c). Srčana frekvencija na prijemu je iznosila 121/min (IQR 108 – 140/min), sistolni pritisak 93 mmHg (IQR 85 – 100 mmHg), a dijastolni 56 mmHg (IQR 47 – 63 mmHg). Klinička slika pacijenata na prijemu prikazana je na **grafiku 1**.



Grafik 1. Klinička slika naših bolesnika na prijemu i učestalost zahvatanja različitih organskih sistema

Većina dece (75%) imala je gastrointestinalne manifestacije; bol u trbuhu – 41, proliv - 21, povraćanje – 37 dece. Kod tri bolesnika učinjena je apendektomija. Hepatitis i pankreatitis su bili prisutni kod 18/67 i 7/67 pacijenata.

Na prijemu u bolnicu ospu je imalo 48 bolesnika, dok je bilateralni neeksudativni konjuktivitis registrovan kod 49/67 pacijenta. Promene na jeziku zapažene su kod dva bolesnika (**Slika 4**). Kriterijume za inkompletnu KB ispunjavalo je 39/67 bolesnika, dok je kompletnu formu bolesti imalo četiri deteta.



Slika 4. Promene na koži, sluzokoži i sklerama kod naših bolesnika

Neurološka simptomatologija registrovana je kod 28/67 pacijenata, od toga se na glavobolju žalilo 19 bolesnika. Do razvoja akutnog ishemijskog cerebrovaskularnog insulta (CVI) došlo je kod 3 bolesnika. Kod 1/3 bolesnika sa CVI javio se sindrom gubitka soli.

Kardiovaskularne manifestacije bile su prisutne kod 40/67 pacijenata (59,7%). Disfunkcija miokarda uočena je kod polovine svih pacijenata (49,3%). Deca sa disfunkcijom miokarda bila su starija od pacijenata sa normalnom funkcijom miokarda, 10,3 (IQR 7,7 – 13,9) naspram 7,5 (4,2 – 11,7) godina; $p = 0,05$. Teška sistolna disfunkcija registrovana je kod dva bolesnika, umerena kod 9%, dok su ostali imali blagu sistolnu disfunkciju.

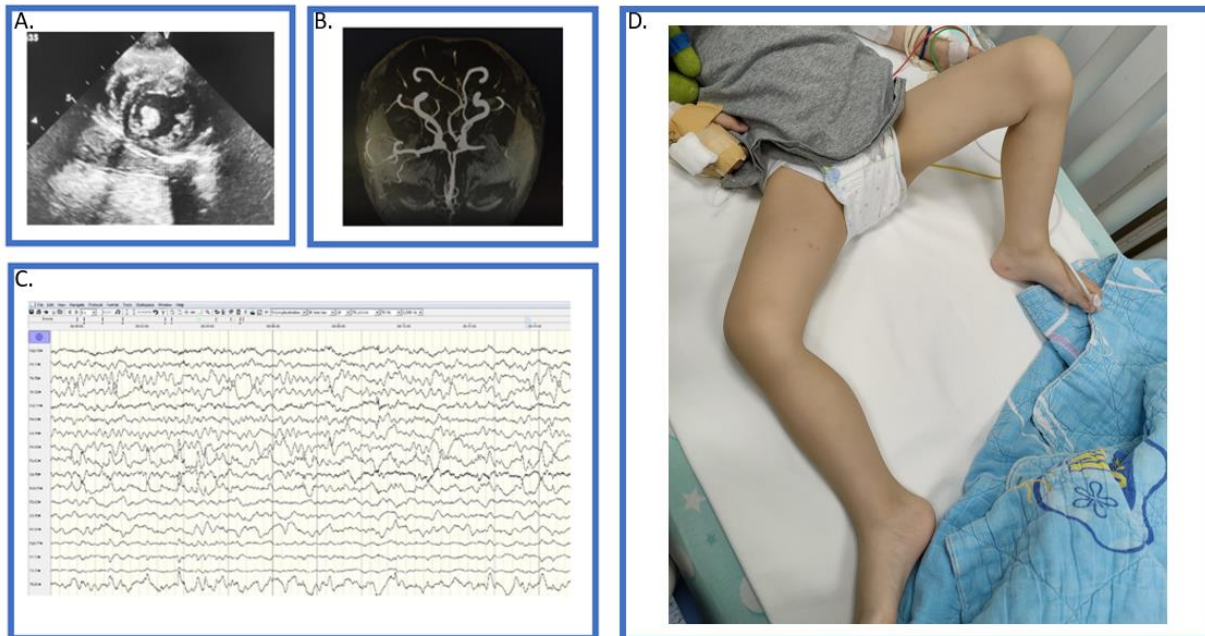
Male aneurizme koronarnih arterija registrovane su ehokardiografskim pregledom kod tri bolesnika (4,5%) (**Slika 5**). Kod svih ovih bolesnika registrovan perikardni izliv ($p = 0,01$) i svi su bili hospitalizovani u ICU ($p = 0,03$).



Slika 5. Dilatacija glavnog stabla leve koronarne arterije verifikovana ehokardiografskim nalazom.

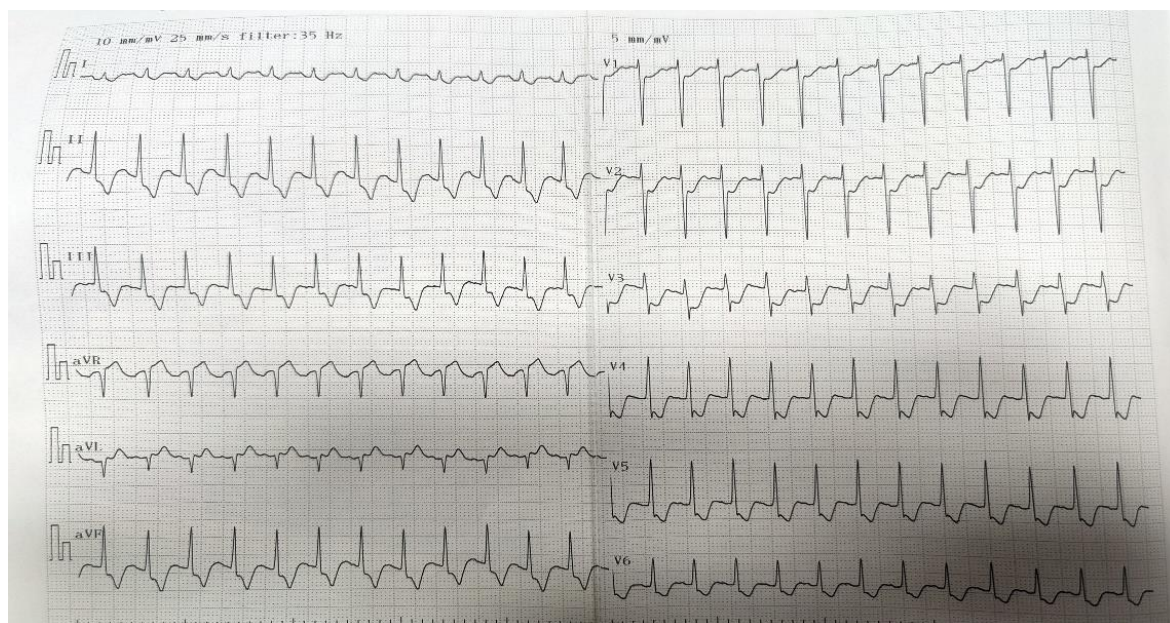
Perikardna efuzija zabeležena je kod 23,9% bolesnika.

Kod 3-godišnjeg dečaka sa umerenom formom MIS-C došlo je razvoja tromba u lumenu leve komore, uprkos normalnoj sistolnoj funkciji. Klinički tok se komplikovao tromboembolijom i razvojem CVI (**Slika 6**). Dopunskim ispitivanjem kod tog bolesnika registrovana je povišene koncentracija faktora VIII (FVIII) u plazmi.



Slika 6. A. Trombna masa u lumenu leve komore; B. Defekt punjena leve arterije cerebri medije; C. Asimetrija u EEG zapisu između leve i desne strane mozga; D. Pareza desne noge

Poremećaj srčanog ritma po tipu supraventrikularne tahikardije (SVPT) (**Slika 7**), a potom i torsades des pointes registrovan je kod jednog bolesnika.



Slika 7. EKG zapis pacijentkinje sa supraventrikularnom tahikardijom zabeležen na prijemu

Do razvoja šoka došlo je kod 12/67 bolesnika (17,9 %). Samo je jedna pacijentkinja imala izolovan vazoplegični šok. Bolesnici kod kojih je došlo do razvoja šoka bili su stariji

(13,4, IQR 9,1 - 15,3 godina vs. 8,2, IQR 5,1 – 11,1 godina; $p = 0,01$) i imali su značajno niže vrednosti sistolnog pritiska (85, IQR 80 - 97 mmHg vs. 94, IQR 90 – 104 mmHg; $p = 0,03$) na prijemu, u poređenju sa onim bez šoka.

Tešku kliničku sliku i prijem u ICU zahtevalo je 22/67 bolesnika. Pacijenti koji su hospitalizovani u ICU bili su stariji ($11,1 \pm 4,5$ vs. $8,2 \pm 4,0$ godina; $p = 0,01$). Ovi pacijenti su češće imali hepatitis ($p = 0,003$) i pankreatitis ($p = 0,004$).

4.2. Laboratorijske analize

Na prijemu su registrovane povišene vrednosti proinflammatoryh markera (CRP, fibrinogen, D-dimeri) i snižene vrednosti broja trombocita, serumskog natrijuma, fosfata i albumina. Povišene vrednosti troponina I (cTnI) i proBNP zabeležene su kod 44,9% i 83,9% pacijenata. Prosečane vrednosti proBNP bile su 2455,5 pg/mL (IQR 1352,7–>5000). Kod pacijenata sa povišenim cTnI, srednja vrednost cTnI bila je 0,27 ng/mL (IQR 0,17–0,59).

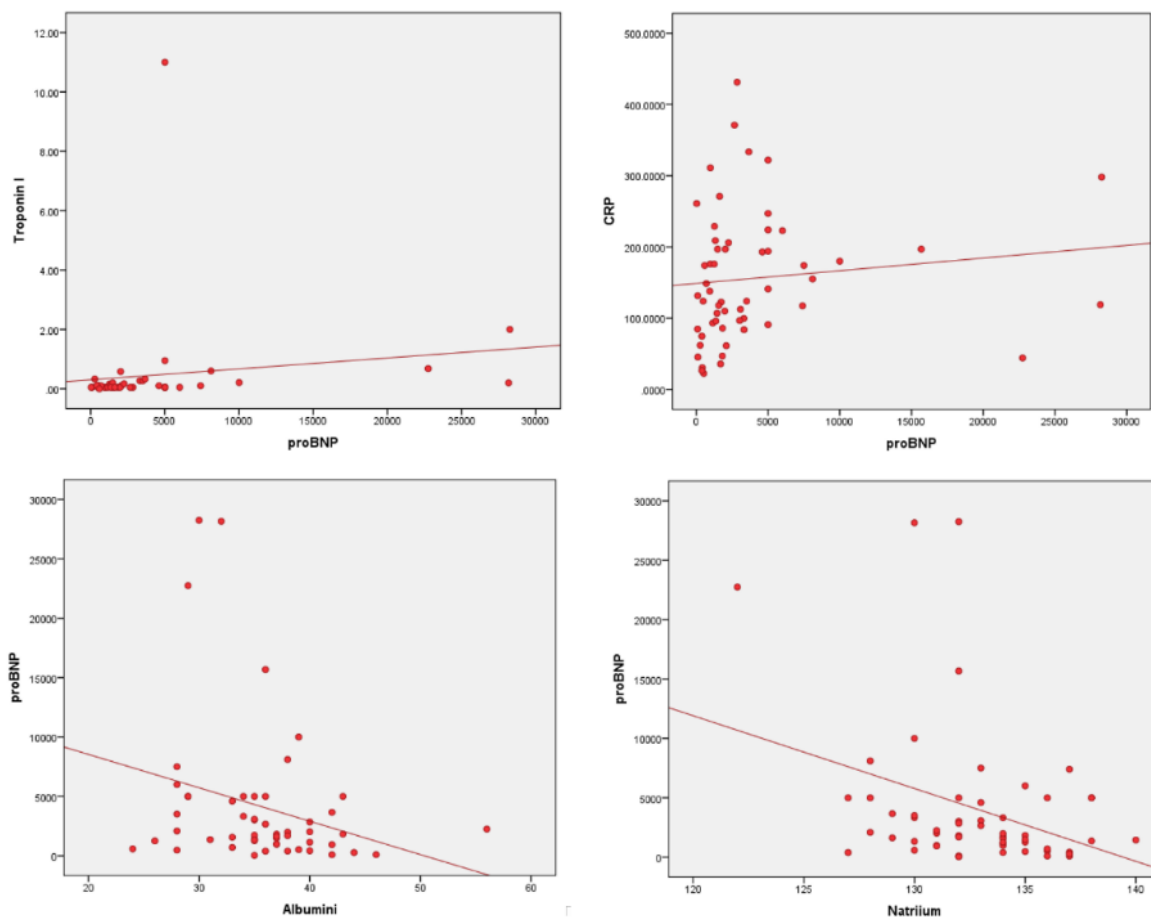
Laboratorijske analiza na prijemu prikazane su u **tabeli 2**.

Tabela 2. Laboratorijske analize na prijemu

<i>Laboratorijske analize</i>	<i>Medijana (interkvartilni rang)</i>
<i>C-reaktivni protein (mg/L)</i>	127,8 (92,7-206,8)
<i>Trombociti (* 10⁹)</i>	152 (111,7 – 206,2)
<i>Natrijum (mmol/L)</i>	133 (130 – 135)
<i>Albumini (g/L)</i>	35 (31 – 38)
<i>Fosfati (mmol/L)</i>	1 (0,85 – 1,17)
<i>LDH (IU/L)</i>	546 (473 – 643)
<i>SGOT (IU/L)</i>	31 (21 – 52)
<i>SGPT (IU/L)</i>	24 (17 – 48)
<i>Fibrinogen (g/L)</i>	5,4 (4,1 – 6,6)
<i>D – dimeri (ng/mL)</i>	739 (397 – 1445)
<i>proBNP (pg/mL)</i>	1907,5 (977,7 – >5000)
<i>cTnI (ng/mL)</i>	0,1 (0,05 – 0,25)
<i>B-limfociti (%)</i>	27 (21,5 – 34,0)
<i>T-limfociti (%)</i>	61 (51,0 – 64)
<i>CD4/CD3 (%)</i>	33 (23 – 38)
<i>CD8/CD3 (%)</i>	23 (19 – 24)
<i>Natural killer ćelije (%)</i>	14 (9 – 15,0)

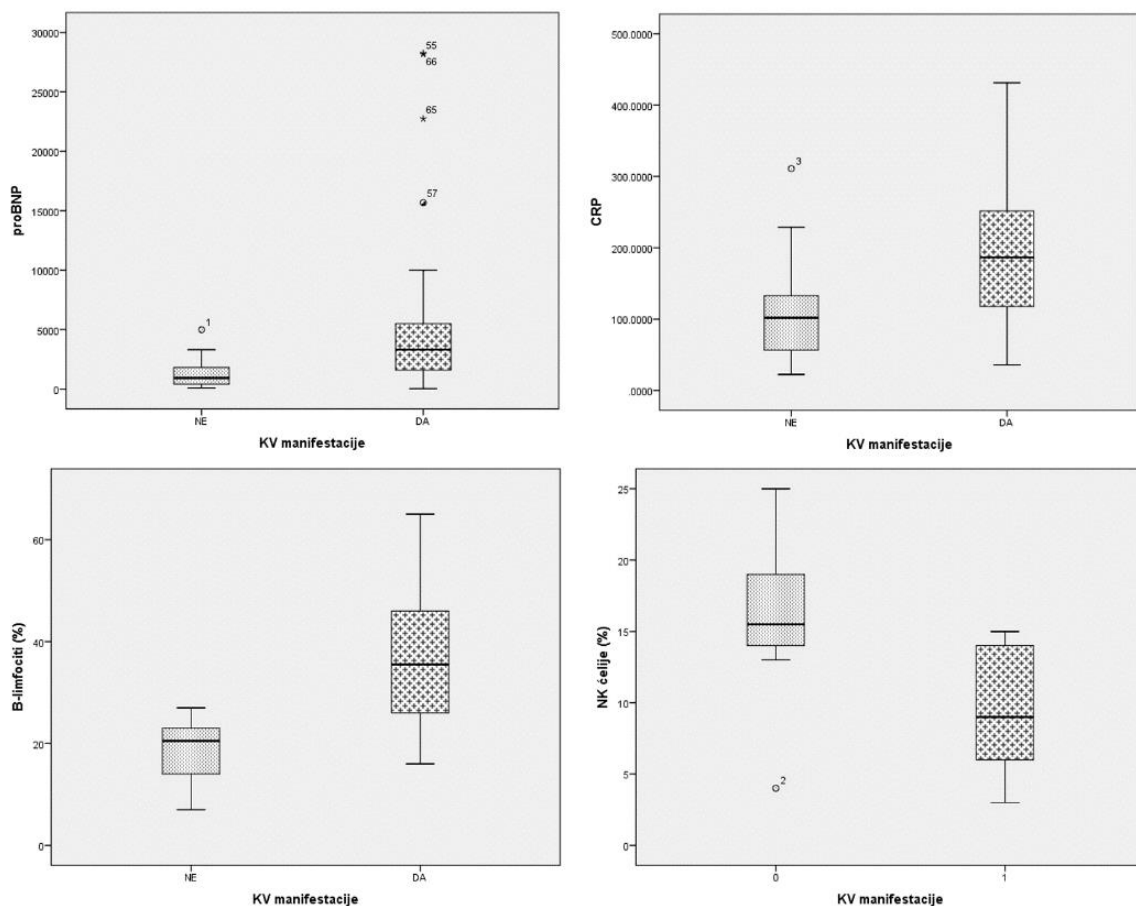
Skraćenice: LDH – latat dehidrogenaza; SGOT - aspartat aminotransferaza; SGPT - alanin aminotransferaza

Utvrđeno je postojanje pozitivne korelacije između godina pacijenata i CRP ($rr = 0,38$, $p = 0,002$), kao i godina bolesnika i fibrinogena pri prijemu ($rr = 0,34$, $p = 0,007$). CRP je pozitivno korelirao sa fibrinogenom ($rr = 0,35$, $p = 0,01$). Pokazano je postojanje umerene negativne korelacije između broja trombocita i D-dimera ($rr = -0,4$, $p < 0,001$). Nivo cTnI na prijemu je imao pozitivnu korelaciju sa proBNP ($rr = 0,4$, $p = 0,009$). Nađena je umerena pozitivna korelacija između proBNP i relativnog broja B limfocita ($rr = 0,4$, $p = 0,004$), dok je proBNP imao negativnu korelaciju sa NK ćelijama ($rr = -0,62$, $p < 0,001$). Utvrđena je blaga do umerena negativna korelacija između proBNP i albumina ($rr = -0,3$, $p = 0,03$) i između proBNP i serumске koncentracije natrijuma ($rr = -0,27$, $p = 0,04$) (**Grafik 2**). CRP i proBNP su imali blagu do umereno pozitivnu korelaciju ($rr = 0,31$, $p = 0,02$).



Grafik 2. Korelacija između laboratorijskih parametara krvi učinjenih na prijemu

Kod pacijenata sa KV manifestacijama, registrovane su više koncentracije CRP i proBNP u serumu u poređenju sa pacijentima bez KV manifestacija (CRP 186,5, IQR 117,3–253,7, naspram 101,8, IQR 54,2–134,1 mg/L, $p < 0,001$; proBNP 3418, IQR 1576,0–5750,0 naspram 938, IQR 406,5–1821, $p < 0,001$). Deca sa KV manifestacijama imala su značajno višu relativnu koncentraciju B limfocita i nižu relativnu koncentraciju NK ćelija od pacijenata bez KV manifestacija (B limfociti 33,0, IQR 23,25–38,0 naspram 22, IQR 20,0–27 %, $p < 0,001$; NK ćelije 13, IQR 8–14% naspram 15, IQR 13,5–25 %, $p < 0,001$) (**Grafik 3**).



Grafik 3. Razlike u laboratorijskim analizama i imunofenotipskim karakteristikama krvi kod bolesnika sa i bez kardiovaskularnih manifestacija

Pacijenti kod kojih je došlo do razvoja šoka imali su više vrednosti CRP, cTnI i proBNP u odnosu na bolesnike bez šoka:

- CRP 235 (IQR 128 – 291,2) vs. 121 (84,6 – 194,7) mg/L; $p = 0,007$,
- proBNP 5000 (IQR 3077 – 10000) vs. 1559 (641 – 3320,5) pg/mL; $p = 0,001$,
- cTnI 0,2 (IQR 0,05 – 0,95) vs. 0,07 (IQR 0,05 – 0,2) ng/mL; $p = 0,05$.

Pacijenti sa teškom formom MIS-C imali su više vrednosti CRP, cTnI i proBNP u poređenju sa pacijentima sa blagom formom bolesti:

- CRP 203 (IQR 122,7 – 272,7) vs. 116,2 (IQR 84,1 – 175,5) mg/L; $p = 0,001$,
- proBNP 5000 (IQR 2088 – 10000) vs. 1483 (IQR 550 – 2934,5) pg/mL; $p < 0,001$,
- cTnI 0,2 (IQR 0,05 – 0,7) vs. 0,05 (IQR 0,05 – 0,16) ng/mL; $p = 0,02$.

S druge strane imali su statistički značajno niže vrednosti natrijuma, albumina i relativnu koncentraciju NK ćelija:

- Na^+ $131,5 \pm 3,4$ vs. $133,6 \pm 3,1$ mmol/L; $p = 0,02$,
- albumin $33,3 \pm 4,7$ vs. $36,5 \pm 5,6$ g/L; $p = 0,02$ i
- NK ćelije 13, IQR 4,5–14% vs. 15,0, IQR 13,0–19,0%; $p = 0,001$.

4.2. Oksidativni stres

TOPS i vrednosti pojedinačnih antioksidativnih enzima pri prijemu prikazani su u **tabeli 3**.

Tabla 3. Vrednosti totalnog oksidativnog statusa u plazmi i aktivnost enzima antioksidativne zaštite u eritrocitima na prijemu

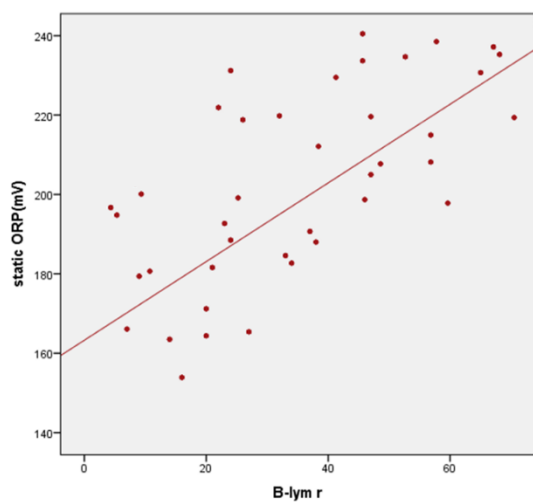
	<i>Srednja vrednost</i>	<i>Standardna devijacija (±)</i>
<i>TOPS</i> (<i>mV</i>)	185,88	21,893
<i>CAT</i> ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min/gHb}$)	121189,7	29692,5
<i>GSH-Px</i> ($\mu\text{mol NADPH}/\text{min}/\text{mg Hb}$)	7,9	3,6
<i>GR</i> ($\mu\text{mol NADPH}/\text{min}/\text{mg Hb}$)	5,01	0,85
<i>SOD</i> (<i>U/g Hb</i>)	2229,6	346,7

Skraćenice: TOPS – totalni oksidativni plazma status; CAT – katalaza; GSH-Px – glutation peroksidaza; GR – glutation reduktaza; SOD – superoksid dizmutaza

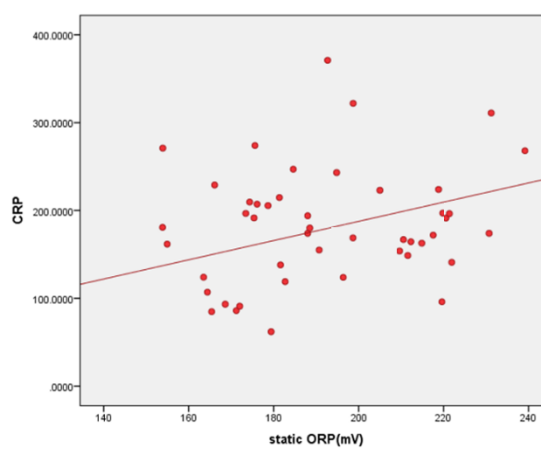
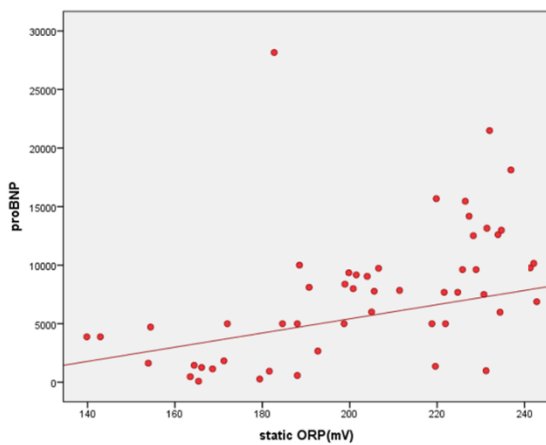
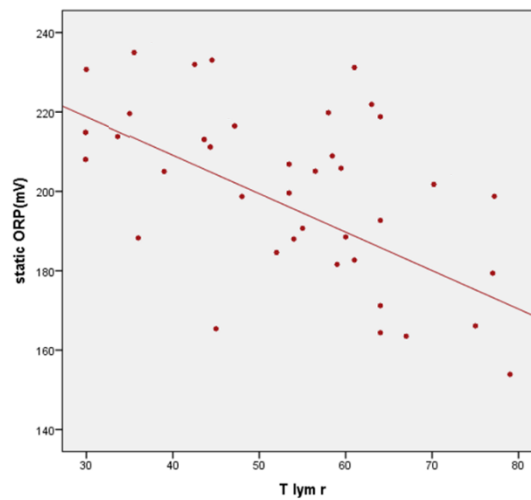
Aktivnost CAT je bila viša kod pacijenata muškog pola nego kod devojčica ($129668,7 \pm 20641,4$ prema $96203,8 \pm 36893,9$ mmol H₂O₂/min/g Hb; $p = 0,006$), dok su devojčice imale višu aktivnost GSH-Px od dečaka ($22,1 \pm 4,7$ naspram $17,1 \pm 3,1$ mmol NADPH/min/mg Hb; $p = 0,004$). Pacijenti sa disfunkcijom miokarda imali su veći TOPS od dece bez miokardne disfunkcije (188,3, IQR 182,7 – 203,5 naspram 168,6, IQR 165,4 – 188,0 mV; $p = 0,006$). Nađena je umerena pozitivna korelacija između TOPS i proBNP ($rr = 0,48$, $p = 0,001$), TOPS i CRP ($rr = 0,5$, $p < 0,001$) i TOPS i relativne koncentracije B limfocita ($rr = 0,4$, $p = 0,004$), dok je uočena negativna korelacija između TOPS i relativne koncentracije T limfocita ($rr = -0,52$, $p = 0,01$) (**Grafik 4**).

Kod pacijenata sa šokom, primećena je niža aktivnost SOD u eritrocitima na prijemu u poređenju sa pacijentima bez šoka ($1982,8 \pm 230,3$ naspram $2285,6 \pm 345,6$ U/g Hb; $p = 0,05$), kao i kod pacijenata primljenih u ICU ($2069,3 \pm 256,5$ vs. $2311,7 \pm 360,3$ U/g Hb; $p = 0,02$).

a.



b.



Grafik 4. Korelacija između totalnog oksidativnog statusa u plazmi i relativne koncentracije B-limfocita i NK ćelija, kao i između totalnog oksidativnog statusa u plazmi i proBNP i CRP

4.4. Ehokardiografski parametri

Ehokardiografski parametri na prijemu, kao i njihova razlika u zavisnosti od prisustva miokardne disfunkcije prikazani su u **tabeli 4**.

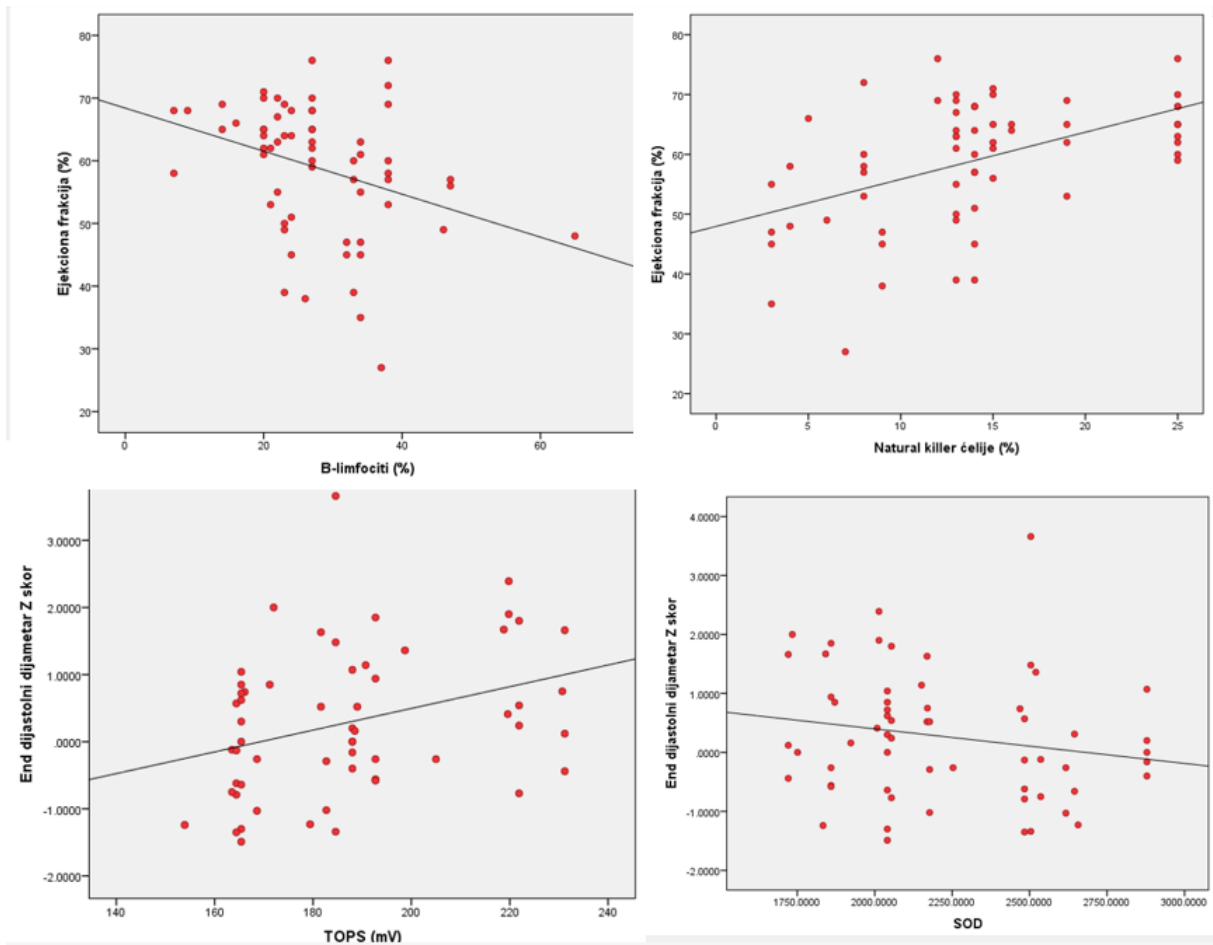
Tabla 4. Ehokardiografski parametri na prijemu kod ukupne kohorte, kao i razlike u ehokardiografskim parametrima u zavisnosti od prisustva miokardne disfunkcije

	Svi medijana (IQR)	Miokardna disfunkcija		P vrednost
		DA	NE	
EDD Z skor	0,12 (-0,6 – 0,9)	0,14 (-0,6 – 1,4)	0 (-0,6 – 0,7)	0,4
ESD Z skor	0,75 (-0,14 – 1,5)	1 (-0,07 – 1,97)	0,2 (-0,3 – 0,9)	0,02
IVSd Z skor	0,94 (0,3 – 1,4)	1,1 (0,3 – 1,5)	0,7 (0,2 – 1,3)	0,2
ZZ Z skor	0,85 (0,4 – 1,6)	1,1 (0,6 – 1,9)	0,6 (0,3 – 1)	0,04
EF LK	62 (52 – 68)	53 (45 – 59)	67 (63 – 69)	< 0,001
FS LK	33 (26 – 38)	26 (21 – 31)	36 (33 – 38)	< 0,001
LCA Z skor	-0,4 (-0,9 – 0,12)	0 (-1,1 – 1,4)	-0,5 (-1 – -0,3)	0,13
RCA Z skor	-0,1 (-0,8 – 0,9)	0,5 (-0,5 – 1)	-0,6 (-1,2 – 0,05)	0,04
MR	0,5 (0 – 1)	1 (0,5 – 1)	0,5 (0 – 1)	0,004

Skraćenice: EDD – end dijasolni dijametar; IVS – interventrikularni septum; ZZ – zadnji zid; EF – ejectiona frakcija; FS – frakciono skraćenje; LK – leva komora; LCA – leva koronarna arterija; RCA – desna koronarna arterija; MR – mitralna regurgitacija

Kod pacijenata sa disfunkcijom miokarda LK EF i FS na prijemu su bile statistički značajno niže (**Tabela 4**), dok su debljina ZZ LK i stepen mitralne regurgitacije bili viši u odnosu na bolesnike bez disfunkcije miokarda. Ejectionu frakciju od 60 – 40% imalo je 31,3%, a ispod 40% 7,5% pacijenata.

Nađena je umerena negativna korelacija između EF LK i relativnog broja B limfocita ($rr = -0,4$, $p = 0,005$) i pozitivna korelacija između EF LK i relativne koncentracije NK ćelija ($rr = 0,45$, $p = < 0,001$). Pokazana je pozitivna korelacija između EDD Z skora i TOPS ($rr = 0,4$, $p = 0,006$) i EDD Z skor i CRP ($rr = 0,3$, $p = 0,02$); kao i negativna između EDD Z skora sa aktivnošću SOD ($rr = -0,45$, $P = 0,02$) (**Grafik 5**). Umerena negativna korelacija je primećena između LK EF i proBNP ($rr = 0,58$, $p < 0,001$), i EF LK i CRP ($rr = -0,43$, $p < 0,001$) i EF LK i TOPS ($rr = -0,41$, $p < 0,001$).



Grafik 5. Korelacija između ejectivesne frakcije i relativne koncentracije B-limfocita i NK ćelija, kao i između Z skora end dijastalnog dijametara leve komore i totalnog oksidativnog statusa u plazmi i aktivnosti eritrocitne superoksid dizmutaze

4.5. Lečenje

4.5.1. Imunomodulatorna terapija

Svi pacijenti su lečeni MP; 79,1% je primilo je pulsne doze MP, dok su ostali primili MP u standardnim dozama. U kontrolnim laboratorijskim analizama registovane su značajno niže vrednosti TOPS, dok je aktivnost CAT i SOD porasla nakon primene MP (**Tabela 5**).

Tabela 5. Vrednosti parametara oksidativnog stresa i relativnog broja limfocita određivan protočnim citometrijom; vrednosti prikazane kao medijana i interkvartilni rang (IQR)

	<i>Pre terapije</i>	<i>Posle terapije</i>	<i>P-vrednost</i>
<i>TOPS</i> (<i>mV</i>)	184,6 (IQR 165.4 – 192.7)	166,3 (IQR 160 – 180.9)	< 0.001
<i>CAT</i> (μmol <i>H₂O₂/min/gHb</i>)	127166,3 (IQR 113315 – 142191,6)	140946 (IQR 129097 – 153980)	< 0.001
<i>GSH – Px</i> (μmol <i>NADPH/min</i> <i>/mg Hb</i>)	17,9 (IQR 15,2 – 19,2)	17,3 (IQR 15,1 – 18,7)	0.92
<i>GR</i> (μmol <i>NADPH/min</i> <i>/mg Hb</i>)	4,9 (IQR 4,5 – 5,7)	5,0 (IQR 4,7 – 5,9)	0.10
<i>SOD</i> (<i>U/g of Hb</i>)	2151,1 (IQR 2010,7 – 2503,8)	2747,0 (IQR 2369.5 – 3035.5)	< 0.001
<i>B-limfociti</i> (%)	27 (IQR 21,5 – 34)	33 (IQR 26 – 35,3)	0.27
<i>T- limfociti</i> (%)	61 (IQR 51 – 64)	56 (IQR 48 – 71)	0.14
<i>CD4/CD3+</i> (%)	33 (IQR 23 – 38)	28 (IQR 23 – 34,5)	0.16
<i>CD8/CD3+</i> (%)	23 (IQR 19 – 24)	24 (IQR 19 – 26)	0.89
<i>NK ćelije</i> (%)	14 (IQR 9 – 15,5)	8 (IQR 4 – 13,7)	< 0.001

Skraćenice: TOPS – totalni oksidativni plazma status; CAT – katalaza;; GSH-Px – glutation peroksidaza; GR – glutation reduktaza; SOD – superoksid dizmutaza; NK – *natural killer*

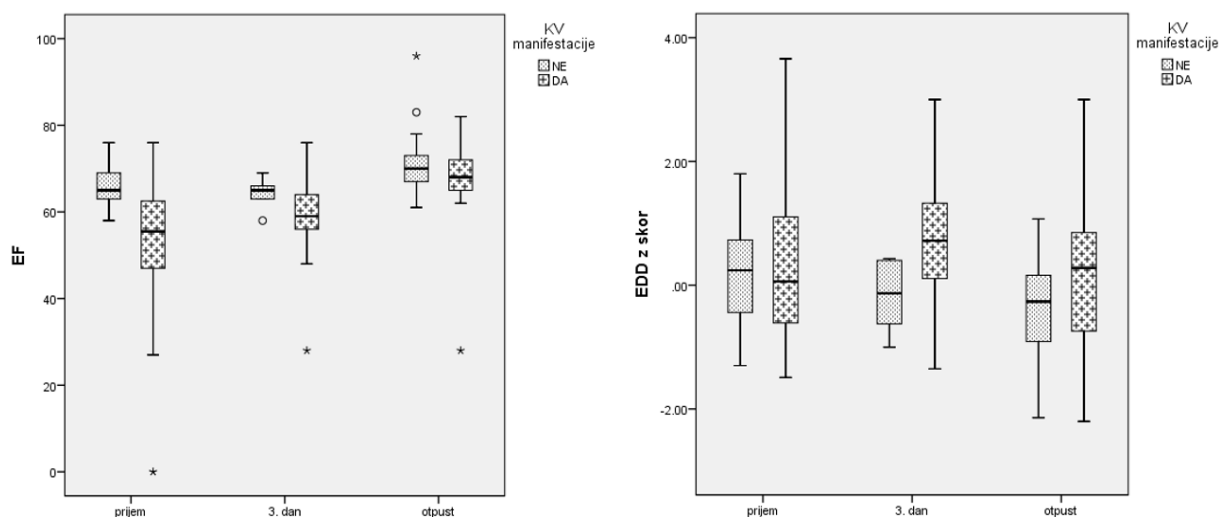
Takođe, došlo je do pada koncentracije CRP, fibrinogena, D-dimera i proBNP, dok su se koncentracije natrijuma, fosfata i albumina značajno povećale (**Tabela 6**).

Tabela 6. Laboratorijske analize na prijemu, 3. intrahospitalnog dana i na otpustu; vrednosti prikazivane kao medijana i interkvartilni rang (IQR)

<i>Laboratorijske analize</i>	<i>prijem</i>	<i>3. intrahospitalni dan</i>	<i>otpust</i>	<i>P-vrednost Prijem – 3. dan Prijem – otpust</i>
<i>CRP (mg/L)</i>	127,8 (92,7-206,8)	50,2 (27,5 – 96)	3,1 (1,4 – 7,3)	<0,001
<i>Trombociti (* 10⁹)</i>	152 (111,7 – 206,2)	215 (146 – 326)	505 (417 – 640)	<0,001
<i>Natrijum (mmol/L)</i>	133 (130 – 135)	137 (136 – 139)	137 (136 – 139)	<0,001
<i>Albumini (g/L)</i>	35 (31 – 38)	33 (30 – 36)	39 (37 – 41)	0,08
<i>Fosfat (mmol/L)</i>	1 (0,85 – 1,17)	1,04 (0,84 – 1,23)	1,29 (1,15 – 1,46)	<0,001
<i>LDH (IU/L)</i>	546 (473 – 643)	421 (386,2 – 544,5)	434 (363 – 486)	<0,001
<i>SGOT (IU/L)</i>	31 (21 – 52)	19,5 (14,2 – 30,5)	21,0 (17,0 – 34,5)	<0,001
<i>SGPT (IU/L)</i>	24 (17 – 48)	24 (15 – 48,5)	36 (21 – 61,2)	0,19
<i>Fibrinogen (g/L)</i>	5,4 (4,1 – 6,6)	3,1 (2,45 – 23,75)	2,4 (2 – 2,8)	0,002
<i>D – dimeri (ng/mL)</i>	739 (397 – 1445)	549 (327 – 725)	207 (127 – 416)	<0,001
<i>proBNP (pg/mL)</i>	1907,5 (977,7 – >5000)	2252 (553,9 – 3858,7)	153,0 (86,2 – 292,5)	0,12
<i>cTnI (ng/mL)</i>	0,1 (0,05 – 0,25)	0,17 (0,1 – 0,4)	0,1 (0,08 – 0,13)	<0,001
				0,183
				0,168

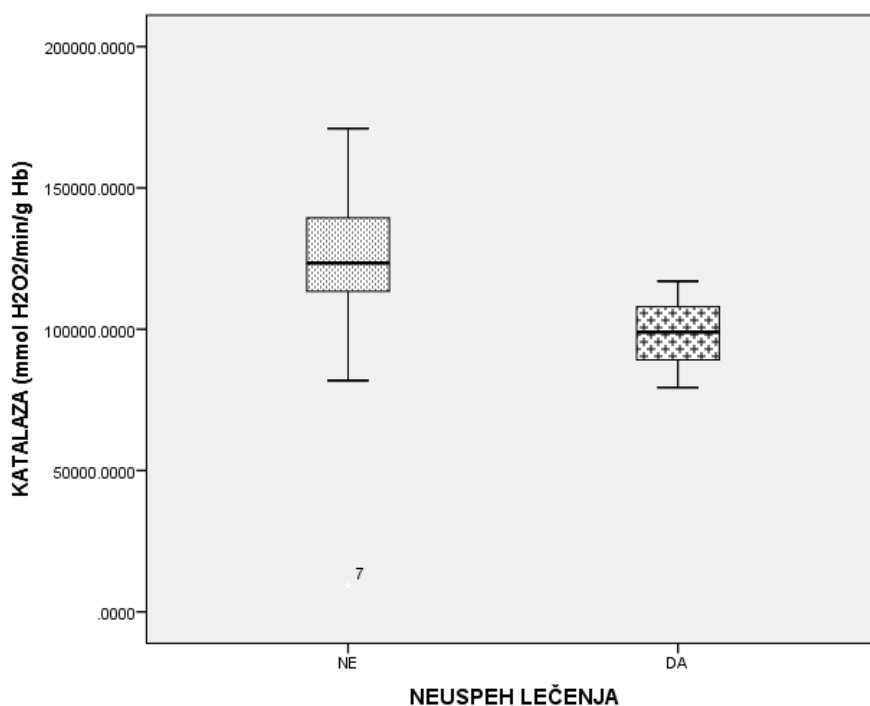
Skraćenice: LDH – latat dehidrogenaza; SGOT - aspartat aminotransferaza; SGPT - alanin aminotransferaza; cTnI – troponin I

Nakon terapije, došlo je do porasta LK EF već trećeg intrahospitalnog dana ($p = 0,007$), a značajno smanjenje Z skora LK EDD zabeleženo je na otpustu ($p = 0,003$) (**Grafik 6**).



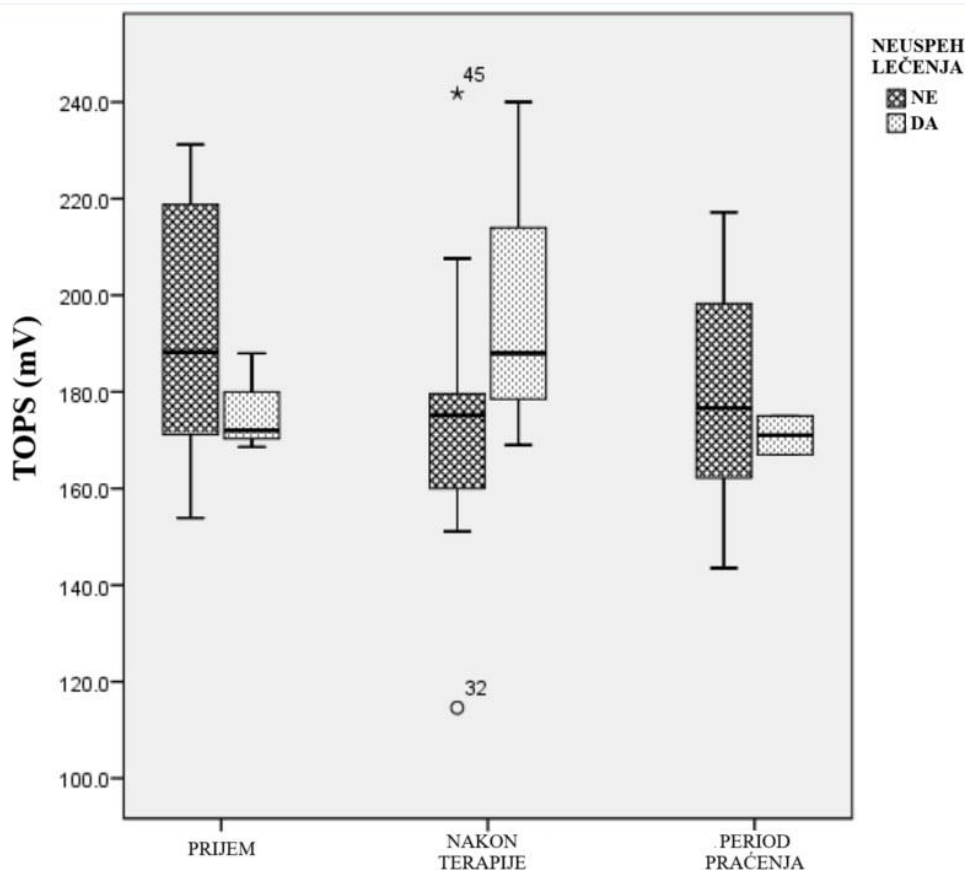
Grafik 6. Vrednosti EF i Z skora EDD LK na prijemu, nakon primenjene terapija i na otpustu iz bolnice kod pacijenata sa i bez kardiovaskularnih manifestacija

Kod 6 bolesnika primenjena terapija nije dala zadovoljavajući rezultat. Svi ti bolesnici su lečeni su sa tri pulsne doze MP. Kod devojčice uzrasta 7 godina, koja je u neonatalnom uzrastu operisana zbog urođene srčane mane po tipu D-transpozicije velikih krvnih sudova, došlo je do smrtnog ishoda trećeg intrahospitalnog dana. Neuspeh lečenja bio je skoro 10 puta češći kod devojčica (9,6, CI 1,1 – 85,4; $p = 0,04$). Ovi pacijenti su bili mlađi od onih sa zadovoljavajućim odgovorom na primenjenu terapiju ($6,2 \pm 2,8$ naspram $9,5 \pm 4,4$ godine; $p = 0,05$). Takođe, kod ovih pacijenata zabeležena je niža aktivnost CAT na prijemu u poređenju sa decom koja su imala povoljan odgovor na terapiju (107952, IQR 79337 - 137178 naspram 127166, IQR 117317 – 145186 mmol H₂O₂/min/g Hb; $p = 0,04$) (**Grafik 7**).



Grafik 7. Razlika u aktivnosti eritrocitne katalaze kod pacijenata koji su imali adekvatan odgovor na primenjenu terapiju i kod kojih je zabeležen neuspeh lečenja

Bolesnici sa CAT i SOD aktivnošću nižom od 117000 mmol H₂O₂/min/g Hb i 1800U/g Hb, imali su češće neuspeh lečenja (p = 0,03 i p = 0,03). U grupi pacijenata kod kojih je zabeležen neuspeh lečenja nije došlo do redukcije TOPS-a niti CRP-a (p = 0,42, p = 0,16, respektivno). Kod tih pacijenata, TOPS se povećao nakon lečenja (pre 170,3, IQR 168,6 – 191,5 mV, posle 181,2, IQR 168,5 – 185 mV) (**Grafik 8**). Težina kliničke slike nije uticala na ishod bolesti.



Grafik 8. Promene totalnog oksidativnog plazma statusa (TOPS) kod bolesnika na prijemu, nakon terapije i nakon perioda praćenja

4.5.2. Suportivna terapija

Primenu medikamentozne inotropne potpore zahtevalo je 16 pacijenata. Kod svih je primenjivan dopamin, dok je dobutamin uz dopamin primenjivan kod šest bolesnika. Kod jednog pacijenta primenjivan je milrinon. Inotropi su davani tokom 3 dana (IQR 2,5–4,5). Pacijenti kod kojih su primenjivani inotropi su bili značajno stariji (11,9, IQR 7,9 – 14,9 napsram 8,3, IQR 5,2 – 11,2 god; p = 0,03). Kod bolesnika koji su dobijali inotrope, vrednosti CRP (210,5, IQR 128-291,5 mg/L naspram 119, IQR 85-193 mg/L; p=0,006) su bile značajno više na prijemu, dok je relativna koncentracija NK ćelija (9, IQR 4,5 – 13,5 naspram 14,0, IQR 12 – 17%; p = 0,007) i aktivnost SOD (2020,66 ± 231,5 naspram 2292,0 ± 355,9 U/g Hb; p = 0,02) bila značajno niža. Kod jednog bolesnika primenjivana je mehanička ventilacija.

Kod pacijentkinje sa poremećajem srčanog ritma po tipu SVPT inicijalno je primenjivan amiodaron, a po razvoju *Torsades des pointes* koverzija u sinusni ritam postignuta je primenom kardioverzije direktnom strujom i lidokainom.

Supstituciju humanih albumina zahtevalo je 7,5% dece.

4.6. Period praćenja

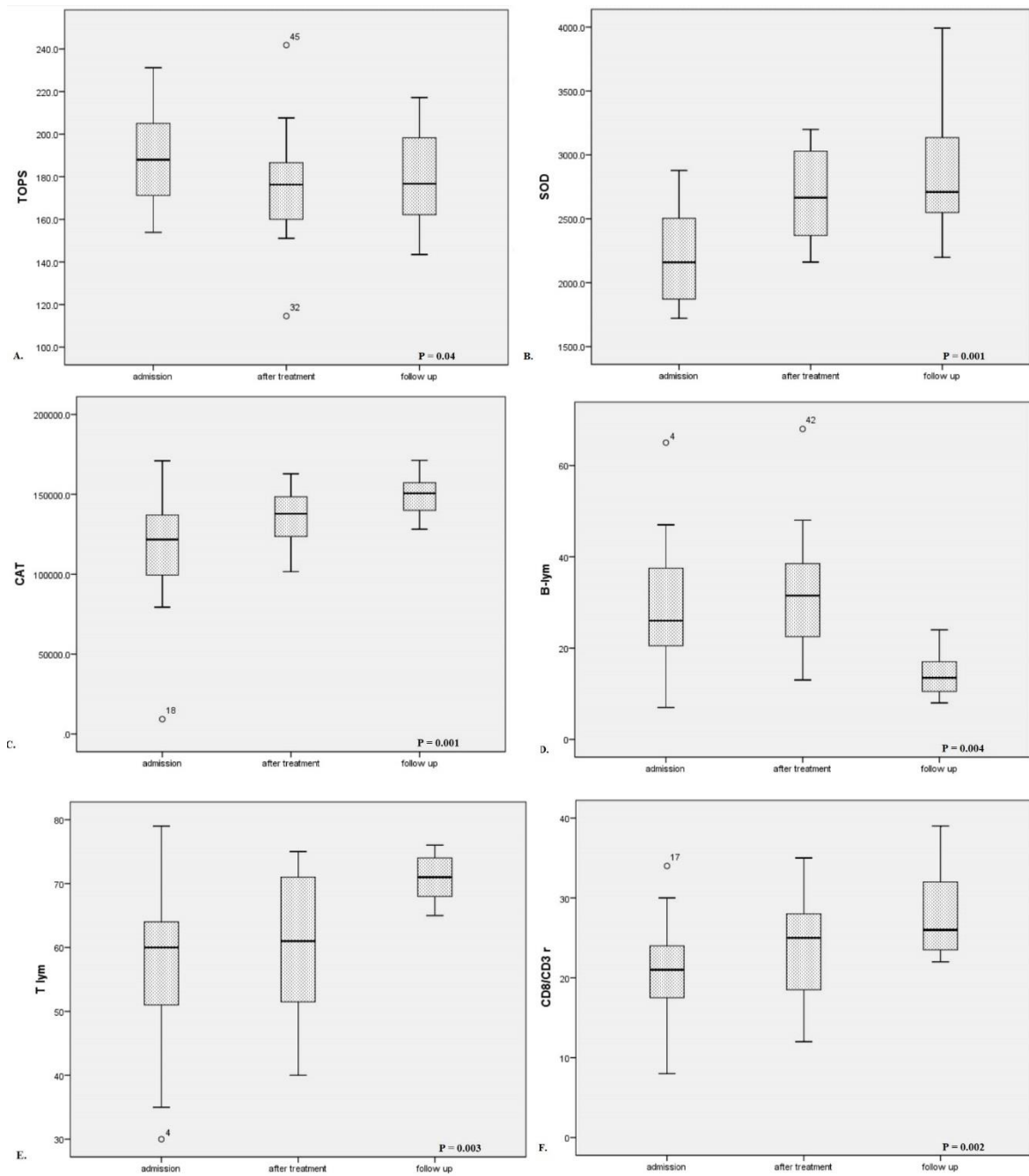
Kontrolne laboratorijske analize šest meseci nakon akutne bolesti ukazale su na potpunu normalizaciju imunofenotipskih karakteristika limfocita periferne krvi, kao i parametara oksidativnog stresa (**Tabela 7**).

Tabela 7. Vrednosti parametara oksidativnog stresa i relativnog broja limfocita određivan protočnim citometrijom; vrednosti prikazivane kao medijana i interkvartilni rang (IQR)

	medijana	IQR
<i>Static ORP (mV)</i>	176,7	160,2 – 200,6
<i>CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min/gHb}$)</i>	150627	138129,1 – 157628,7
<i>GSH-Px ($\mu\text{mol NADPH}/\text{min}/\text{mg Hb}$)</i>	12,7	10,5 – 15,2
<i>GR ($\mu\text{mol NADPH}/\text{min}/\text{mg Hb}$)</i>	4,8	4,14 – 5,6
<i>SOD (U/g of Hb)</i>	2709,6	2528,1 – 3135,4
<i>B limfociti (%)</i>	13,5	10,2 – 17,5
<i>T limfociti (%)</i>	71	68 – 74,5
<i>CD4/CD3+ (%)</i>	35,5	31,7 – 37,0
<i>CD8/CD3+ (%)</i>	26	23,2 – 33,0
<i>NK ćelije (%)</i>	13	11 – 19,25

Skraćenice: TOPS – totalni oksidativni plazma status; CAT – katalaza;; GSH-Px – glutation peroksidaza; GR – glutation reduktaza; SOD – superoksid dizmutaza; NK – *natural killer*

Arterijska hipertenzija je registrovana kod 2 bolesnika, dok je kod jednog zabeleženo tranzitorno produženje QTc intervala. Ehokardiografskim pregledom utvrđena je normalna sistolna funkcija LK (EF $66,4 \pm 4,1\%$) i Z skor EDD (Z skor 0,12, IQR -0,57–0,59). Utvrđeno je značajno smanjenje relativnog broja B limfocita u poređenju sa relativnim brojem B limfocita tokom akutne bolesti ($p = 0,004$), dok su T limfociti značajno porasli ($p = 0,003$). Kod pacijenata sa KV manifestacijama, pokazano je značajno povećanje relativnog broja NK ćelija nakon perioda praćenja u poređenju sa vrednostima na prijemu u bolnicu (13, IQR 11–22% naspram 9, IQR 5,8–14%; $p = 0,04$). Uočeno je značajno smanjenje TOPS u odnosu na TOPS na prijemu ($p = 0,04$), dok je aktivnost SOD i CAT značajno porasla ($p = 0,001$) (**Grafik 9**).



Grafik 9. Promene totalnog oksidativnog statusa u plazmi, aktivnosti superoksid dizmutaze, katalaze i relativne koncetracije B i T limfocita, kao i CD4+ subpopulacije tokom perioda praćenja

5. DISKUSIJA

Pokazano je da OS ima značajnu ulogu u etiopatogenezi MIS-C, kao i da brza modulacija OS i inflamatornog odgovora primenom metilpredizolona, zaustavlja dalju progresiju i dovodi do promptnog kliničkog poboljšanja, koje se ogleda u normalizaciji telesne temperature, gubitku simptoma i regresiji akutno nastale srčane slabosti.

Generisanje ROS izazvano oksidativnim stresom doprinosi oštećenju mitohondrija, endotelnoj disfunkciji i promoviše adheziju leukocita, inflamaciju, trombozu i proliferaciju ćelija glatkih mišića. Oksidativni stres je jedan od glavnih mehanizam koji dovodi do endotelne disfunkcije i jedan od primarnih patofizioloških procesa u patogenzi autoimunskih bolesti, kao što su KD i TSS (76,77). Pokazano je da su u sindromu sistemskog inflamatornog odgovora (SIRS) povišeni ROS, a sniženi enzimi antioksidativne zaštite (77), što odgovara našim rezultatima koji se odnose na hiperinflamaciju u MIS-C. Slično je dokazano i kod bolesnika sa KB (77).

Osim toga, OS ima značajnu ulogu u odbrani organizma od pojedinih virusnih agenasa kao što su respiratorni sincicijalni virus (RSV), hepatitis B i C, ali i SARS-CoV-2 (76). Kod bronhiolitisa izazvanog RSV, prisustvo povišenih koncentracija oksidovanog glutationa i glutation peroksidaze govore u prilog težine bolesti (76). Hiperprodukcija ROS u infektivnim stanjima, dovodi do oštećenja ćelija i može pokrenuti imunski posredovanu autoimunost.

Pokazali smo da postoji pozitivna korelacija između TOPS i CRP, što potvrđuje da je OS u skladu sa stepenom inflamacije. Ova tvrdnja je dodatno potvrđena prisustvom pozitivne korelacije između TOPS i relativne koncentracije B limfocita, koji je inače povišena kod bolesnika sa MIS-C i govori o ekspanziji autoreaktivnih ćelija koje produkuju auto-antitela (22-24). Takođe, negativna korelacija TOPS sa relativnom koncentracijom T limfocita potvrđuje činjenicu da su autoimunske reakcije u MIS-C uslovljene aktivacijom B-limfocita (22-24). Ovi rezultati govore da određivanje TOPS kod bolesnika sa MIS-C ima veliki značaj u proceni stepena inflamacije u akutnoj fazi bolesti.

Poslednjih godina se oksidativni stres i inflamacija povezuju sa razvojem i progresijom srčane slabosti (78,79). Značajni laboratorijski markeri srčane slabosti su natriuretski peptidi: atrijalni natriuretski peptid (ANP), moždani natriuretski peptid (BNP) i natriuretski peptid C-tipa, a njihova uloga je u stimulaciji natriureze, diureze i vazodilatacije. BNP potiče iz srca i sintetiše se i luči iz kardiomiocita komora, u manjom meri iz fibroblasta, kao odgovor na povećan *preload* i disfunkciju komora, odnosno kao posledica povećanja stresa zida komora (80). S obzirom da je poluživot BNP 18 minuta, u kliničkoj praksi se prevashodno određuju koncentracije NT-proBNP i proBNP (80). Brojne studije su pokazale da određivanje koncentracije BNP i NT-proBNP, OS i inflamatornih markera mogu otkriti asimptomatske bolesnike sa sistolnom disfunkcijom leve komore u ranim stadijumima srčane slabosti. Pored toga, smatra se da povećan OS i intezivan inflamatorni odgovor mogu biti klasifikovani kao novi markeri od značaja za razvoj kardiovaskularnih bolesti. S toga, oksidativni stres i inflamatorni biomarkeri bi trebalo da budu dijagnostičko i prognostičko sredstvo kod pacijenata sa srčanom slabošću (81).

Pokazali smo da pacijenti sa KV manifestacijama imaju više vrednosti TOPS. Osim što smo pokazali postojanje pozitivne korelacije TOPS i CRP, utvrdili smo da postoji pozitivna korelacija između TOPS i proBNP, što znači da su pacijenti sa mnogo intenzivnijom inflamacijom imali izraženiji OS, sa posledičnom izraženijom despresijom funkcije miokarda. Podaci iz literature pokazuju da ROS mogu direktno da naruše kontraktilnu funkciju kardiomiocita:

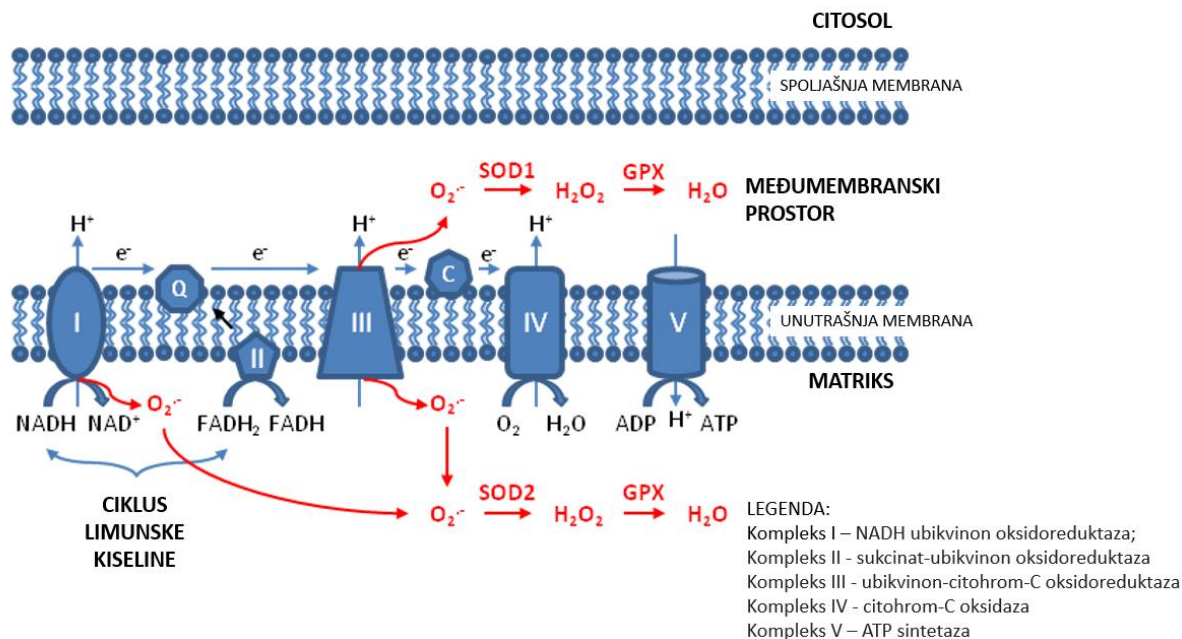
- modifikujući funkciju proteina koji povezuju ekscitaciju-kontrakciju,
- negativno utiču na dispoziciju kalcijuma u miokardu (Ca^{2+}),

- uzrokuju aritmiju,
- aktiviraju zapaljenski odgovor,
- doprinose remodelovanju srca izazivanjem hipertrofije, fibroze, apoptoze i nekroze (78,79).

Ovo su zapravo ključni elementi koji doprinose razvoju srčane slabosti. Shodno tome, *stunning* miokarda u MIS-C može napredovati do ireverzibilnog oštećenja usled nekroze miokarda. Oksidacija kardiolipina, koji se nalazi na unutrašnjoj membrani mitohondrija, smanjuje vezivanje citohroma-c i dovodi do povećanog nivoa „slobodnog“ citohroma-c u intermembranskom prostoru, što rezultuje stvaranju pore na spoljošnjoj membrani mitohondrija. Stoga, kardiolipin igra vitalnu ulogu u koracima apoptoze zavisnim od mitohondrija, koji je posebno izražen u OS (82). Autori su ranije otkrili vezu između težine OS i funkcionalne NYHA (Njujorško udruženje za srce) klase srčane slabosti, nivoa hs-CRP i proBNP kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom (81).

Normalan vaskularni endotel održava vaskularnu funkciju i strukturu prilagođavanjem ravnoteža između vazodilatacije i vazokonstrikcije, proliferacije i antiproliferacije glatkomišićnih ćelija, koagulacije i antikoagulacije, inflamacije i antiinflamacije, oksidacije i antioksidacije. U endotelnim ćelijama krvnih sudova, postoji nekoliko enzimskih sistema, različite lokalizacije koji doprinose formiranju ROS. Ti enzimski sistemi uključuju nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) oksidazu (NOX), endotelnu azot oksid sintazu (eNOs), enzime uključene u metabolizam arahidonske kiseline, enzime respiratornog lanca, citohrom P450 monooksigenazu i ksantin oksidazu. Među njima, NOX igra centralnu ulogu u orkestriranju aktivacije i disfunkcije drugih enzima, te je ona glavni izvor ROS u zidu krvnih sudova. U fiziološkim uslovima, vaskularna NOX ima relativno nisku aktivnost što ima važnu ulogu u homeostazi KV sistema. Međutim, aktivnost enzima može biti povećana i akutno i hronično kao odgovor na različite stimuluse kao što su citokini, faktori rasta, vazokativne supstance, stres zida, hiperlipidemija i hiperglikemija (82,83). Postoje pet izoforme NOX, koje postoje u endotelnim ćelijama, ćelijama glatkih mišića, adventicijalnim ćelijama i kardiomiocitima (79). U kardiomiocitima, pronađene su dve izoforme NOX2 i NOX4. U eksperimentalnim modelima i kod pacijenta sa srčanom slabošću, miokardni O₂⁻ povećava aktivnost generisanja NOX (79). U animalnim modelima sa indukovanim infarktom miokarda, inaktivacija NOX2 smanjuje veličinu infarktne zone i ometa razvoj srčane slabosti, ali je nejasno da li je ovo povezano sa vaskularnim NOX ili fagocitnim NOX koji se nalazi u inflamatornim ćelijama. Za razliku od NOX2, NOX4 proizvodi H₂O₂ u većoj meri nego O₂⁻. U srcu, NOX4 se nalazi u endoplazmatskom retikulum, jedru, a možda i u mitohondrijama. Stimulusi za aktivaciju NOX4 su ishemija, hipoksija i adrenergički stimulusi, koji imaju značajan efekat u patogenzi i u srčanoj slabosti, ali i u hiperinflamatornim stanjima poput MIS-C (79). Opisana je prekomerna ekspresija NOX1 u mediji krvnih sudova tokom neointimalne hiperplazije nakon oštećenja krvnih sudova. Štaviše, dokazano je da NOX1 i NOX5 indukuju formiranje O₂⁻ i favorizuju proliferaciju ćelija glatkih mišića krvnih sudova. NOX5 može doprineti oksidativnom stresu kod ljudi sa koronarnom bolešću. Povezanost između endotelne disfunkcije i NOX2 proučavana je u nekoliko stanja kao što su dislipidemija, gojaznost, pušenje, hipertenzija i starenje (82).

Molekularno genetske analize sprovedene u kliničkim studijama dovele su do identifikacije četiri polipeptida, *gp91phox*, *p22phox*, *p47phox* i *p67phox*, neophodnih za dobru funkcionalnost respiratornog lanca (**Slika 8**). Peti fox protein, *p40phox*, postoji u kompleksu sa *p47phox* i *p67phox* i važan je za proizvodnju visokog nivoa O₂⁻ tokom fagocitoze (77). Podjedinice *gp91phox*, *p22phox*, *p67phox* i *p47phox* fagocitarnih oksidaza respiratornog lanca su otkrivene u endotelnim ćelijama i ćelijama glatkih mišića (77).



Slika 8. Ciklus trikarboksilnih kiselina u mitohondrijama. Modifikovano iz https://en.wikipedia.org/wiki/Mitochondrial_ROS
 Skraćenice: NADH - nikotinamid adenin dinukleotid fosfat; FADH₂ – flavin-adenin dinukleotid; SOD – superoksid dizmutaza; GPX – glutation peroksidaza; ATP – adenzin trifosfat

Upravo, značajno oštećenje endotela i povećana koncentracija citokina dovode do povećanja aktivnosti NOX i mijeloperoksidaze (MPO), što rezultuje daljim „curenjem“ O₂⁻ u ekstracelularni prostor i povećane potrošnje antioksidanata, što dovodi do OS.

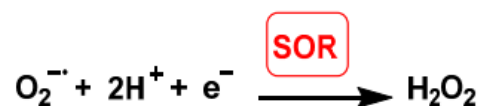
Inicijalna sitenza O₂⁻, koji je najzastupljenija vrsta ROS i značajan u odbrani organizma od bakterija, pokreće kaskadu dalje sinteze ROS. Aktivacijom SOD dolazi do sinteze H₂O₂ (84). Upravo, glavni antioksidativni sistemi prisutni u krvnim sudovima su: SOD, CAT, GSH-Px, tioredoksin, peroksiredoksin. Disregulacija i snižena aktivnost enzima antioksidativne zaštite dovodi do neefikasne degradacije i dodatnog povećanja ROS. Nivoi ROS koji prevazilaze puferski kapacitet enzimskih čistača izazivaju OS. ROS su uključeni u endotelnu inflamaciju, a njihova prekomerna sinteza aktivira redoks faktore transkripcije kao što su NF-κB, Nrf-2 i AP-1, što rezultuje pojačanom ekspresijom faktora adhezije, povećanom produkcijom hemokina i citokina, kao i invazijom monocita u zid krvnih sudova. Inhibicija aktivnosti NF-κB potiskuje ekspresiju IL-6, VCAM-1 i MCP-1 (82-84). Transkripcioni Nrf-2 inflamaciji i imunskom odgovoru, a njegovi aktivatori suprimiraju inflamatorni odgovor i antivirusne efekte (76).

Pokazali smo da su naši pacijenti imali sniženu aktivnost SOD-a pre lečenja MP, posebno oni koji su primljeni u ICU. Ovo je u skladu sa dokazima da kod pacijenata sa dijagnozom hiperinflamatornog sindroma, uključujući MIS-C, postoji povećanje lipoperoksidacije kao i smanjeni antioksidativni kapacitet (13,84). Postoje tri izoforme SOD: SOD1 se nalazi u citoplazmi i na unutrašnjoj mitohondrijalnoj membrani, SOD2 se nalazi u mitohondrijskom matriksu, a SOD3 je vanćelijski enzim. Snižena aktivnost SOD u endotelnim ćelijama dovodi do porasta koncentracije O₂⁻ što utiče na smanjenu fosforilaciju kinaza regulisanih ekstracelularnim signalom (ERK) 1/2. Ovi inhibirani ekstracelularni angiogenetski signali su posredovani rastom fibroblasta faktor-2 (FGF-2) i faktora rasta vaskularnog endotela (VEGF) (82). Pored toga, povećan nivo O₂⁻ može dovesti do smanjene produkcije azotmonoksida (NO), endotelne disfunkcije i poremećaja angiogenze (85). Endotelna disfunkcija je definisana kao

sistemska, podmuklo i reverzibilno patološko stanje endotela, koje potiče od smanjene bioraspodivnosti NO i poremećene vazodilatacije povezane sa proinflatornim i protrombotičkim statusom. Superoksid anion ima nisku permeabilnost i prolazi samo kroz anjonske kanale, ali neefikasno, te O_2^- ima najvećeg značaja u ćelijama u kojima se sintetiše (85).

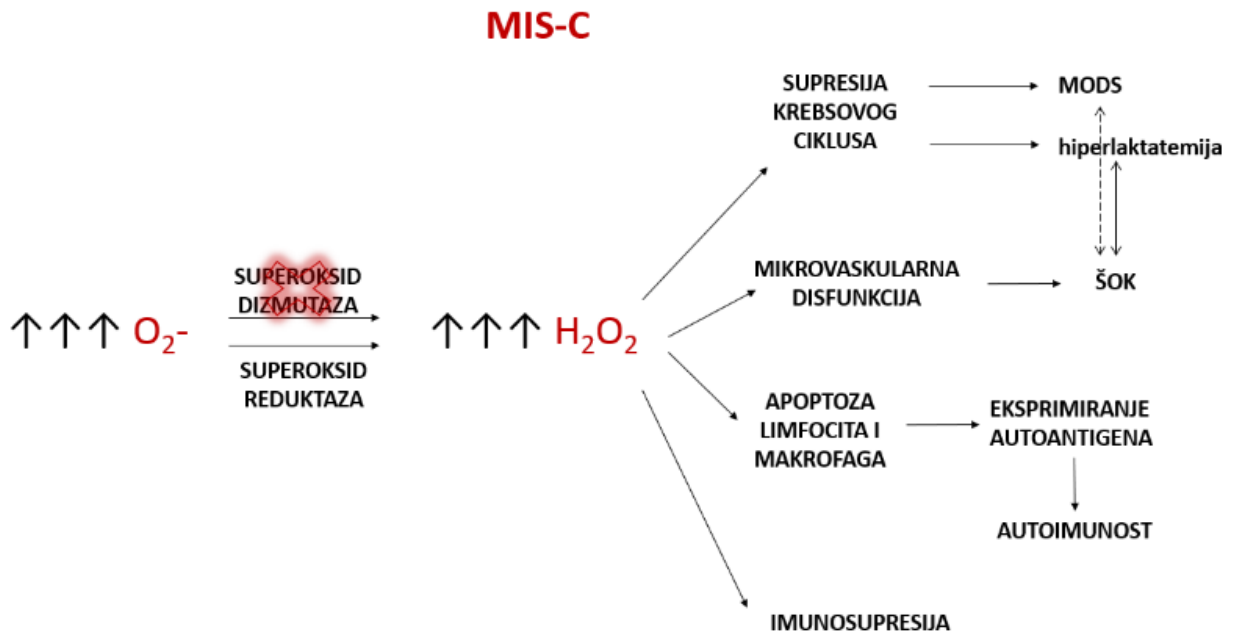
Akumulacija O_2^- je više povezana sa oksidativnim stresom nego sa redoks signalizacijom. Međutim, važno je napomenuti da O_2^- ne oštećuje neselektivno proteine, već postoji skup specifičnih proteina osetljivih na inaktivaciju posredovanu O_2^- koji aktiviraju signalne puteve i promoviraju adaptaciju ili, alternativno, iniciraju ćelijsku smrt (26). Superoksid anion pokazuje negativan inotropni efekat zavisen od koncentracije (86), čime se može objasniti postojanje negativne korelacije LV EDD Z skora i aktivnosti SOD u našoj kohorti. Abnormalna funkcija rianodinskih 2 receptora (RiR2) uzrokovana OS dovodi do dijastolnog curenja Ca^{2+} , sa posledičnim iscrpljivanjem zaliha Ca^{2+} u sarkoplazmatskom retikulumu. Smanjivanje rezerva citoplazmatskog Ca^{2+} , ometa kontraktilnost kardiomiocita (87). Prethodne studije ukazale su na postojanje negativne korelacije između totalnog antioksidativnog kapaciteta i EF LK (81).

S druge strane, koncentracija O_2^- je *in vivo* niska i ograničena, usled postojanjem dva različita enzima, superoksid reduktaza (SOR) i SOD. Kako je kod naših bolesnika aktivnost SOD bila snižena pre terapije, može se zaključiti da povećava aktivnost SOR. SOR katalizuju redukciju O_2^- čime se dobija H_2O_2 . U ovoj reakciji su potrebna dva protona po molu O_2^- , i prisustvo eksternog reduktora za obezbeđivanje elektrona (85):



Samim tim, možemo zaključiti da je H_2O_2 dominantna oksidativna vrsta kod bolesnika sa MIS-C. Vodonik peroksid je propustljiv, difundabilan i ima duži poluživot. Toksičnost H_2O_2 može dovesti do laboratorijskih i kliničkih poremećaja uočenih u sepsi, uključujući imunosupresiju, multiorgansku disfunkciju i hipotenziju. Eritrociti služe kao vojska za uklanjanje H_2O_2 u cirkulaciji i na taj način štite krvne sudove od difuznog oštećenja. Kumulativni dokazi takođe upućuju na značaj H_2O_2 , koji je snažan apoptotički agens u pojačanoj apoptozi limfocita i makrofaga uočenoj kod SLE (88). Prekomerna apoptoza limfocita i makrofaga dovodi do pojačanog izlaganja auto-antigena i hronične autoimune aktivacije, što može objasniti i patogenezu MIS-C. S druge strane, H_2O_2 je stimulus za pokretanje inflamatornog odgovora, što dovodi do začaranog kruga u stanjima hiperinflamacije kao što je MIS-C (76).

Hipermetabolizam je obeležje takve kritične bolesti kao što su sepsa i MIS-C, zbog čega dolazi do povećane aktivnosti Krebsovog ciklusa u cilju stvaranja ATP, čiji su O_2^- i H_2O_2 nus produkti (**Slika 7**). U dužem vremenskom periodu, suprafiziološka proizvodnja H_2O_2 tokom hipermetaboličkog stanja iscrpljuje enzime antioksidativne zaštite što dovodi do akumulacije H_2O_2 u tkivima i cirkulaciji. Vodonik peroksid je veoma toksičan metabolički produkt koji je propustljiv kroz ćelijske membrane i može izazvati ozbiljnu bioenergetsku disfunkciju i oštećenje ćelija. Kontinuirano izlaganje može dovesti do kolapsa redoks homeostaze, otkazivanja organa, mikrovaskularne disfunkcije i fatalnog šoka. Inhibicijom Krebsovog ciklusa, pomera aerobni ka anaerobnom metabolizmu, što rezultuje hiperlaktatemijom (**Shema 6**) (88).



Shema 6. Shematski prikaz sistemskih efekata H_2O_2

H_2O_2 dovodi do disfunkcije miokarda na nekoliko načina:

- razvoj aritmija,
- promene intracelularne koncentracije Ca^{2+} ,
- poremećaj metabolizma ugljenih hidrata,
- aktivacija proteina uključenih u metabolizam kardiomiocita,
- aktivacija matriks-metalo proteinaza (89).



Inicijalna aktivacija makrofaga i posledična stimulacija T-helper ćelija rezultuje značajnom produkcijom proinflammatoryh citokina koji dovode do daljeg regrutovanja monocita, makrofaga, neutrofila, B-ćelije/plazma ćelije i proizvodnja antitela. Ovakav inflamatorni proces doprinosi evoluciji odloženog hiperinflammatoryh sindroma u pedijatrijskoj populaciji.

Kod naših pacijenta registrovana je povišena koncentracija B limfocita i smanjena koncentracija T limfocita, kako CD4+, tako i CD8+. U studiji *Carter*-a i saradnika prikazani su slični rezultati – koncentracija CD4+, CD8+ i $\gamma\sigma$ T ćelijske subpopulacije su bili snižene u akutnoj fazi, dok su se u periodu rekonvalescencije koncentracije subpopulacija T ćelija normalizovale (90). S druge strane, kod KB broj CD4+ i CD8+ je veći od broj T ćelija u kohori MIS-C pacijenata, dok je koncentracija HLA-DR-pozitivnih CD4+ T limfocita niža kod Kavasakijeve bolesti (90).

Pored toga, kod naših bolesnika kako se ukupni OS povećao, rasla je koncentracija B limfocita, a T ćelije su se smanjivale. *Ramaswamy* i saradnici, pokazali su da je kod bolesnika sa MIS-C smanjena koncentracija CD4+ T limfocita i dendritičkih ćelija, dok je koncentracija naivnih B limfocita i plazmoblasta povišena (14). Kao jedan od pokazatelja ozdravljenja u MIS-C je inaktivacija prethodno veoma aktivnih CX3CR1+ CD8+ limfocita. Njihova inaktivacija korelira sa poboljšanjem kliničke slike (76).

Consiglio C.R. i saradnici uporedili su subpopulacije T ćelija između dece sa KD, MIS-C i zdrave dece. Ova studija je otkrila postojanje razlika u distribuciji subpopulacija CD4+ T ćelija i u učestalosti T-folikularnih pomoćnih (TFH) ćelija. Značajno je da su ukupne frekvencije T ćelija bile niže kod oba tipa hiperinflammatoryh sindroma u poređenju sa subpopulacijom zdrave dece. Folikularne pomoćne T ćelije, koje važni su igrači u reakciji germinalnog centra i stimulišu B ćelijski odgovor, su snižene kod dece sa SARS-CoV-2 i kod COVID-19 i kod MIS-C, ali ne i kod pacijenata sa KB. Broj CD4+ T ćelija je bio snižen i kod pacijenata sa MIS-C i deca sa blagom SARS-CoV-2 infekcijom, što ukazuje da ovakav nalaz može biti povezan sa samom SARS-CoV-2 infekcijom. Obe grupe pacijenata koje su bile u kontaktu sa SARS-CoV-2 imale su veće količine centralnih memorijskih (CM) i efektorskih memorijih (EM) CD4+ T ćelije, ali manje naivnih CD4+ T ćelija u poređenju sa pacijentima sa KB. S druge strane, CD8+ T ćelije bile su značajno niže u dece sa MIS-C u poređenju sa decom sa blagom infekcijom SARS-CoV-2. Ovi rezultati dodatno naglašavaju da se hiperinflammatoryh uočena kod akutnog, teškog COVID-19 kod odraslih razlikuje od onoga što se vidi u MIS-C i takođe ukazuje na neke specifičnosti i razlike između imunskog odgovora kod MIS-C i pacijenata sa KB koji su se javili pre COVID-19. Time se objašnjava i postojanje razlike u citokinskom miljeu kod bolesnika sa MIS-C i KB. Naime, citokinskoj oluji najviše doprinose IL6, IL17 i CXCL10, premda IL-17A posreduje u hiperinflammatoryh kod KB, ali ne i kod MIS-C, tako da se IL-17A blokatori mogu uzeti u obzir kod pacijenata sa teškom KB, ali ne i kod MIS-C. IL-7 je citokin koji je uključen u održavanje aktivnosti T limfocita i povezan sa brojem limfocita (20). Kao veoma bitna razlika istaknuta je DCBLD2 ili ESDN, koji je bio značajno viši kod KB u odnosu na MIS-C. Pokazalo se da ovaj protein skeretuju endotelne ćelije u kontaktu sa alogenim imunskim ćelijama nakon transplantacije srca i nakon balon angioplastike karotidnih arterija što ukazuje na izraženije oštećenje arterija kod KB kod MIS-C (20).

Proinflammatoryh citokini su uključeni u procese remodeliranja miokarda, uključujući hipertrofiju kardiomiocita, inhibiciju apoptoze miocita, endotelnu disfunkciju i ventrikularnu fibrozu. Dokazano je da prekomerna ekspresija TNF- α deluje negativno inotropno na kardiomiocite, što je posredovano aktivacijom puta sfgingomijelinaze i inhibicijom β -adrenergičke signalizacije (81). Aktivacija makrofaga i povišeni nivoi IL-6 mogu biti posledica rastezanja kardiomiocitina i srčanih fibroblasta, što bi moglo objaniti vazoplegiju u MIS-C (91).

U skladu sa gastrointestinalnim manifestacijama tokom MIS-C, citokini i hemokini koji stimulišu zapaljenski odgovor sluzokože bili su posebno povišeni - CCL20 i CCL28 (22).

Takođe, studije su pokazale povećan apsolutni broj naivnih B limfocita (kratkotrajnih plazmablasta), nezrelih B limfocita i atipičnih memorijskih B limfocita, što govori o održavanju povišene aktivnosti humoralnog odgovora nedeljama nakon COVID-19, što povećava mogućnost da se radi o ekspanziji autoreaktivnih ćelija koje sintetišu autoantitela (22,24,25,90). Nasuprot tome, broj klasičnih memorijskih ćelija, aktiviranih i plazma ćelija bio je značajno snižen kod dece se MIS-C u poređenju sa drugim infektivnim i neinfektivnim stanjima. Pokazano je kod MIS-C dolazi do porasta duplo negativnih B limfocita što je slično sa bolesnicima koji imaju SLE, kod kojih je koncentracija ovih ćelija povezana sa aktivnošću bolesti i produkcijom autoantitela (22,24,25,90). *Carter JM* i saradnici su otkrili da je u MIS-C, tokom akutne faze ukupan broj efektorskih B ćelija snižen, a broj memorijskih B ćelija za promenu klase je povišen u fazi rezolucije (90). *Gruber* i saradnici su utvrdili postojanje autoantitela IgG klase kod bolesnika sa MIS-C, kao i prisustvo povišenog titra IgA u poređenju sa zdravim pacijentima (22).

Naši rezultati potvrđuju da u etiopatogenezi MIS-C najznačajniju ulogu imaju ćelije humoralnog imuniteta, verovatno produkcijom auto-antitela na autoantigene endotelne ćelija, praveći sistemski vaskulitis, hiperinflamaciju i multiorgansku disfunkciju. S druge strane, snižena koncentracija T limfocita je dokaz da snažna aktivacija T-ćelija i oslobađanje citokina nije u potpunosti u skladu sa odloženom hiperinflamacijom uočenom kod MIS-C.

Kod naših pacijenata pre terapije MP, registrovano je postojanje pozitivne korelacije između proBNP i relativnog broja B limfocita, kao i negativna između proBNP i NK ćelija. Posledično, stepen srčane slabosti bio je izraženiji u koliko su bile više koncentracije B limfocita i niže NK ćelija. Pokazano je postojanje jake pozitivne korelacije između proBNP i IL10, kao i negativne između IL2 i proBNP. Dakle, povećanje koncentracije pro-BNP u krvi povezana je sa inhibicijom imunokompetentnih ćelija preko IL10 i smanjenjem nivoa IL2 u krvi, čija je funkcija da aktivira ćelije u imunološkim reakcijama. IL10 je prirodan inhibitor imunog odgovora i njegova koncentracija povišena je u hroničnim inflamatornim procesima, tumorima i dislipidemiji. Stimulacija proizvodnje IL10 može biti pokrenuta povišenom koncentracijom kateholamina i proinflamatornih citokina, kao što su INF γ , TNF α i IL12. Takođe, povećan oksidativni stres može ometati oslobađanje IL10, čime doprinosi razvoju inflamatornih procesa u srcu (81). Čini se da je inhibicija adaptivnog imuniteta posledica povećane koncentracije proBNP. Zapravo, visoke koncentracije pro-BNP i IL10 su povezane sa smanjenjem koncentracije NK ćelija (92). S druge strane, zanimljivo je da kod MIS-C citokinski milje obeležen citokinima i hemokinima kao što je CCL19, CXCL10 i CD133 koji regrutuju NK ćelije i T ćelije iz cirkulacije i moduliraju njihovu funkciju. Isto tako, medijatori hemotakse neutrofila i monocita (CCL3 i CCL4), kao i diferencijacije i aktivnostima (EN-RAGE i CSF-1), bili su povišeni u MIS-C (22).

Takođe, bolesnici sa KV manifestacijama imali su više koncentracije B limfocita, što se može objasniti činjenicom da su kod pacijenata sa teškim oblikom MIS-C pronađena autoantitela koja se vezuju za endotelne ćelije, doprinoseći endotelnoj disfunkciji i multisistemskoj inflamaciji, što je karakteristično za ove pacijente (4,22,90).

Pokazali smo da je relativna koncentracija NK ćelija niža kod pacijenata sa KV manifestacijama. Utvrđeno je postojanje pozitivne korelacije između LK EF i NK ćelija merenih na prijemu. Pacijenti sa miokarditisom, dilatativnom kardiomiopatijom (DCM) i bolešću koronarnih arterija imaju veoma nizak nivo NK ćelija i sniženu citotoksičnosti NK ćelija. Iako se nije pokazalo da je disfunkcija miokarda u MIS-C posledica direktnog oštećenja kardiomiocita, već imunski posredovanog *stunning*-a miokarda, zaključeno je da NK ćelije mogu imati značaj u autoimunski-posredovanom oštećenju srca, kao što je slučaj u miokarditisu ili DCM (93). Zapravo, NK ćelije imaju ulogu u reparaciji oštećenog tkiva i održavanju homeostaze tkiva. One menjaju fiziologiju imunskih ćelija direktno kroz interakcije

receptor-ligand ili indirektno sekrecijom citokina u direktnom kontaktu usled lize autoreaktivnih T ćelija. NK ćelije su neophodne u ograničavanju virusnih infekcija miokarda, smanjuju infiltraciju eozinofila u mišjem modelu miokarditisa, štite od razvoja fibroze miokarda. Hronično snižene vrednosti NK ćelija su u korelaciji sa blagim zapaljenjem miokarda, dok je kod pacijenata kod kojih je došlo do porasta koncentracije NK ćelija, inflamacija bila minimalna ili je u potpunosti iščezla. Smanjenja koncentracija NK ćelija je zabeležena i kod bolesnika sa koronarnom bolešću i ishemijskom bolesti srca (93,94), kao i kod bolesnika sa teškom formom MIS-C (25), što je u skladu sa našim rezultatima. Ovo smanjenje NK ćelija, praćeno je smanjenjem CD8+ T ćelija i može doprineti upornom inflamatornom odgovoru, koji doprinosi autoreaktivnosti što je obeležje MIS-C (25).

U studiji *Gruber*-a i saradnika nađeno je da su NK ćelije snižene kod svih bolesnika, ali su svi bolesnici imali i KV manifestacije (22). Takođe, pokazano je da je došlo do povećanja ekspresije CD54+ (ICAM1) neutrofila i CD16+ monocita kod približno polovine pacijenata sa MIS-C, što upućuje na aktivaciju antigen prezentujućih ćelija i trans-endotelne migracije. Slično, kod pacijenata sa MIS-C neutrofil i CD16+ neklasični monociti su pokazali povišenu ekspresiju CD64 (FcRg1), što je uobičajen nalaz kod autoimunih i autoinflamatornih bolesti, uključujući i KB (22).



Kod svih bolesnika sa MIS-C registruju se povišene vrednosti pozitivnih reaktanata akutne faze: CRP, sedimentacija eritrocita, feritin, fibrinogen i D-dimeri; što je posledica izraženog zapaljenskog odgovora. Zapravo kod pacijenta sa MIS-C značajno je viša koncentracija CRP i feritina i niži je broj trombocita u poređenju i sa pacijentima sa KB i sa COVID-19 (20).

U grupi bolesnika *Gruber*-a i saradnika svi pacijenti su na prijemu pokazali znake koagulopatije kao što je prezentovalo povišenim vrednostima D-dimera, produženim protrombinskim i parcijalnim trombotoplastinskim vremenom i/ili trombocitopenija (22).

Pokazali smo da stariji pacijenti imaju više vrednosti CRP i fibrinogena, kao i da postoji pozitivna korelacija između CRP i fibrinogena. Ovo objašnjava da stariji bolesnici sa MIS-C imaju izraženiji inflamatorni odgovor, što korelira i sa težinom kliničke slike i prijemom u ICU. Osim toga, kod bolesnika sa KV manifestacijama više su vrednosti CRP, što potvrđuje to da su KV oštećenja u direktnoj korelaciji sa stepenom inflamacije. U studiji *Campanello* i saradnika pokazano je da pacijenti stariji od 6 godina imaju značajno više vrednosti feritina i troponina, kao i niži broj trombocita i limfocita (95). Vrednosti proBNP su takođe bile više u grupi bolesnika starijih od 6 godina, ali bez statističke značajnosti. U istoj studiji nađeno je da postoji negativna korelacija između fibrinogena i EF LK, kao i NT-proBNP i EF LK (95). Naši rezultati govore slično i ukazuju na postojanje umerene negativne korelacije između EF LK i proBNP ($rr = 0,58$, $p < 0,001$) i EF LK i CRP ($rr = -0,41$, $p = 0,001$). U studiji *Kavurta* i saradnika utvrđeno je postojanje negativna korelacije između EF LK i prokalcitonina, feritina, CRP i IL6 (96).

Citokinska oluja, disfunkcija endotela i hiperinflamacija povećavaju vaskularni permeabilitet, dovodeći do curenja „u treći prostor“ sa posledičnom hipovolemijom, sniženom koncentracijom natrijuma, albumina i fosfata. Upravo su teška hiponatremija i hypoalbuminemija uobičajene karakteristike u „klasičnom“ KB miokarditisu i uvek su povezane

sa težim i produženim akutnim oboljenjem i višim *Kobayashi* skorom (41). Ovo govori u prilog mnogo intezivnijeg zapaljenja u MIS-C u poređenju sa običnom formom KB.

Kod skoro svih bolensika sa MIS-C registruju se povišene vrednosti proBNP. BNP je polipeptid od 32 aminokiseline: ljudski BNP je sintetisan kao prehormon od 132 aminokiseline koji se obrađuje u 108-aminokiselinski prekursor (proBNP). Nakon toga se cepa u zreli biološki aktivan C-terminalni fragment od 32 aminokiseline i N-terminalni fragment od 76 aminokiselina (NT-proBNP) (80). BNP pokazuje važne autokrine i parakrine funkcije unutar srca i koronarne cirkulacije. To uključuje regulaciju rasta miocita, inhibiciju proliferacije fibroblasta i depozicije ekstracelularnog matriksa, citoprotektivnu antiishemijsku funkciju (slična predkondicioniranju) i uticaj na koronarni endotel i vaskularne proliferacija i kontraktilnost glatkih mišića (80).

Opisano je da se povišene koncentracije troponina i BNP sreću kod 25 do 100% pacijenata sa MIS-C (91,97). Naša studija, kao i većina savremenih studija, ukazuje na to da normalizacija nivoa troponina i BNP zaostaje za rešavanjem ventrikularne disfunkcije. Naši rezultati ukazuju na to da minimalno curenje troponina i diskrentno povišene vrednosti proBNP mogu biti prisutni u vreme otpusta. Time možemo zaključiti da je najvažnija uloga troponina i proBNP u predviđanju razvoja i praćenju ventrikularne disfunkcije. Zapravo prisustvo povišenih vrednosti troponina i proBNP na prijemu je značajan prediktivni faktor za razvoj ventrikularne disfunkcije. Takođe, utvrdili smo postojanje negativne korelacije između koncentracije proBNP i koncentracije natrijuma i albumina i broja trombocita. S druge strane dokazali smo da je proBNP pozitivno korelirao sa CRP. Ovi laboratorijski nalazi govore u prilog tome da je *stunning* miokarda posledica inflamacije i da korelira sa njenim intezitetom.

Hiponatremija je posledica natriureze, koja nastaje usled inhibicije tubularne resorpcije natrijuma i diureze usled povišene sekrecije proBNP, curenja u treći prostor i povišene koncentracije antidiureznog hormona (ADH). Opisano je nekoliko mehanizama sekrecije ADH, uključujući odgovor posredovan ne-osmotskim baroreceptorima, osmoreceptorima i sekrecija ADH izazvana stresom. Takođe, pokazano je da inflamatorni citokin, IL6, koji je povišen kod pacijenata sa MIS-C, može direktno stimulisati ne-osmotsko lučenje ADH, što dovodi do SIADH u stanju stresa, i korelira sa stepenom inflamacije (41,98). Retrospektivna studija na 29 odraslih pacijenata sa COVID-19 pokazala je da su oni sa nivoom IL6 iznad gornje granice od 10 pg/ml imali značajno nižu koncentraciju serumskog natrijuma od 133,1 mmol/l naspram 139,6 mmol/l kod ispitanika sa normalnom koncentracijom IL6. Pored toga, primena tocilizumaba, antagonista IL6, u maloj podgrupi pacijenata sa hiponatriemijom i povišenim nivoom IL6 dovela je do značajnog povećanja natrijuma u serumu tokom 48 sati, sa početne vrednosti od 132,4 mmol/l na 139,6 mmol/l, dok koncentracije natrijuma nisu pokazale značajnu promenu kod pacijenata koji nisu lečeni tocilizumabom (99). Redak, ali važan uzrok euvolemične hiponatremije koji ne bi trebalo da ostane nedijagnostikovani je tercijarna adrenokortikalna insuficijencija usled oštećenja osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubrežne žlezde u kontekstu hronične izloženosti egzogenim glukokortikoidima (99).

Nasuprot tome, jedan naš bolesnik je nakon CVI razvio sindrom gubitka soli. Centralni gubitak soli je potencijalni uzrok hiponatremije koji nastaje kao posledica bolesti centralnog nervnog sistema. Centralni gubitak soli karakteriše hiponatremija sa povišenim nivoom natrijuma u urinu i hipovolemija. Etiologija nije u potpunosti razjašnjena. Centralni gubitak soli najčešće se javlja nakon inzulta centralnog nervnog sistema. Najčešće opisivan precipitirajući faktor je aneurizmatičko subarahnoidalno krvarenje, ali se javlja i kod ishemijskog CVI, premda kod bolesnika sa MIS-C nije opisan. Postoje dve aktuelne teorije za etiologiju centralnog gubitka soli: efekat cirkulišućih faktora ili disfunkcija simpatičkog nervnog sistema. Neka istraživanja ukazuju na to da mozak otpušta BNP nakon povrede, koji zatim ulazi u sistemsku cirkulaciju kroz poremećenu krvno-moždanu barijeru. BNP deluje na sabirne kanale bubrežnih

tubula da inhibira reapsorpciju natrijuma i smanjuje oslobađanje renina. Druga teorija sugerise da oštećeni simpatski nervni sistem više ne može da podstiče reapsorpciju natrijuma i stimuliše oslobađanje renina zbog povrede hipotalamusa. Tačan mehanizam nastajanja cerebralnog gubitka soli je za sada nedovoljno razjašnjen i ostaje otvoren za diskusiju (100).

Konačno, jatrogena hiponatremija, čest problem kod hospitalizovane dece i usko je povezana sa primenom hipotoničnih intravenskih rastvora. Za razliku od uobičajene upotrebe izotoničnih rastvora kod hospitalizovanih odraslih osoba, primena hipotoničnih rastvora je standard nege u pedijatriji od 1950-ih, što često dovodi do bolničke hiponatremije. Nekoliko studija je otkrilo da je davanje hipotoničnih rastvora deci u poređenju sa izotoničnim tečnostima povezano sa značajno većim rizikom od razvoja hiponatremije (99).

Mnoge studije su pokazale sposobnost trombocita da regulišu većinu efektorskih funkcija neutrofila i makrofaga kao što je proizvodnja ROS, lučenje sadržaja granula neutrofila, fagocitozu ili formiranje ekstracelularnih zamki neutrofila (NET) (101). Trombocitopenija je čest laboratorijski nalaz kod MIS-C (skoro kod oko polovine) i predstavlja jedan od hematoloških poremećaja koji se može sresti kod ovih bolesnika, a posledica je hiperinflamatornog i hiperkoaguabilnog stanja. Obično se registruje u početku bolesti i broj trombocita obično nije manji od $80 \times 10^3 / \mu\text{L}$ (102). U našoj studiji 4 bolesnika je imalo trombocite niže od $80 \times 10^3 / \mu\text{L}$, dok je jedna pacijentkinja ispitivan na leukemiju zbog teške pancitopenije. Kod dva bolesnika registrovan je dalji kartkotrajni pad broja trombocita. *Kok* i saradnici su opisali imunska trombocitopenijsku purpuru (ITP) kod bolesnika sa MIS-C (102), ali ista nije zabeležena kod naših pacijenata. Pokazano je da OS ima značajnu ulogu u nastanku ITP (76). Početak ITP-a kod dece prati virusne infekcije, koje pokreću proizvodnju ROS iz fagocita. Odnos redukovano i oksidovanog glutationa (GSH/GSSG) predstavlja dobar marker oksidativnog stresa, a niži odnos ukazuje na viši nivo oksidativnog stresa. Ovaj marker je znatno viši kod zdravih kontrola nego kod pacijenata sa ITP; zapravo ovaj odnos kod pacijenata sa hroničnim ITP je niža u poređenju sa pacijenti sa akutnim ITP (103).

Hipoalbuminemija se viđa kod bolesnika sa mnogo težom i produženom KB, kao i kod onih koji su rezistentni na primenu IVIG, što se upravo viđa u MIS-C. Posledično, ekstrasvazacija i „curenje u treći prostor“ predstavljaju jedan od glavnih patofizioloških procesa, a težina ekstrasvazacije doprinosi kliničkoj slici i utiče na ishod bolesti (104). Hipoalbuminemija se viđa kod oko 50% bolesnika sa MIS-C (11), ali se ne viđa kod bolesnika sa blagim ili umerenim COVID-19, već kod dece sa teškim COVID-19 i važan je prediktor ishoda bolesti. *Loffredo* i saradnici su zaključili da niska koncentracija albumina povezana sa težom kliničkom slikom u MIS-C (105).

Povišen fibrinogen i D-dimer i sniženi trombociti u akutnoj fazi ukazuju na prokoagulantno stanje. Ove promene su normalizovane u periodu rekonvalescencije. Iako je akutna inflamacija uobičajena kod KB, prokoagulantno stanje koje se vidi kod pacijenata sa MIS-C nije uobičajena karakteristika KB (90).

Pacijenati lečeni ICU na prijemu, imali su povišen CRP, D-dimer, feritin, troponin i limfopeniju. Longitudinalni podaci tokom prvih 4 dana lečenja pokazali su da dolazi do redukcije CRP, D-dimera i koncentracije feritina. Broj neutrofila je bio bez značajnije promene, iako povećan, dok je koncentracija kreatinina i alanin aminotransferase ostala normalna. Koncentracija troponina se povećala tokom prvih četiri intrahospitalna dana (39). Kod naših bolesnika registrovana je postepena redukcija pozitivnih reaktanata akutne faze – CRP, D-dimera i feritina, kao i porast koncentracije negativnih reaktanata akutne faze – albumina. Primitili smo i značajan porast broja trombocita, kao i porast koncentracije natrijuma, dok su vrednosti ALT, AST i LDH bile bez bitnijih promena.



Primarni patofiziološki mehanizam MIS-C je nekontrolisana aktivacija inflamatorne kaskade i smanjena aktivnost enzima antioksidativne zaštite kao posledica imunski posredovanog odgovora na prethodu infekciju izazvanu SARS-CoV-2 (15).

U našoj grupi bolesnika, skoro je podjednaka učestalost javljanja kod oba pola, dok je prosečan uzrast bio 9,2 godine, što je u skladu sa najvećim brojem Evropskih studija. U studiji *Campanello* i sardnika medijana uzrasta bolesnika bila je 5 godina (106).

Endotoksemija i endotelitis dovode do povišene telesne temperature, što je osnovni klinički znak bolesti, kao i do zahvatanja još minimum dva organska sistema. S obzirom da je glavni zapaljenski proces na nivou krvih sudova, klinička prezentacija je veoma polimorfna (5-12).

Dužina trajanja febrilnosti pre postavljanja dijagnoze i prijema u bolnicu iznosila je 4 dana, što je u skladu sa literaturnim podacima. Kod naših pacijenata trajanje bolesti nije uticao na težinu klinički slike, kao ni na razvoja miokardne disfunkcije, dok pojedini podaci iz literature navode da pacijenti sa dužim trajanjem bolesti češće zahtevaju prijem u ICU.

Na prijemu u bolnicu skoro svi bolesnici su bili tahikardični (94%), dok je manji broj pacijenata bio tahipnoičan (67,3%) i hipotenzivan (49,7%) (8). Kod naših bolesnika srčana frekvencija na prijemu je iznosila 121/min (IQR 108 – 140/min), sistolni pritisak 93 mmHg (IQR 85 – 100 mmHg), a dijastolni 56 mmHg (IQR 47 – 63 mmHg). Hipotenzija je češća u grupi bolesnika preko 6 godina (106).

Promene na koži prema podacima iz literature javlja se u oko 60% slučajeva, dok je kod naših pacijenata polimorfna ospa registrovana kod oko 70% bolesnika. Kriterijume za inkompletnu formu KB ispunjavalo je 58% obolelih, a samo 6% je imalo kriterijume za kompletnu formu KB, što je u skladu sa podacima iz literature. Inkompletna forma KB se inače češće javlja u odojačkom periodu, dok starija deca uglavnom imaju kompletnu formu bolesti (91).

Uprkos brojnim sličnostima sa KB, kao što su višednevne febrilnost, polimorfna ospa, promene na šakama i stopalima, kod bolesnika sa MIS-C češće se javljaju šok, koagulopatija, GI i KV manifestacije, dok su mukokutane promene ređe (22,106).

Preko 80% bolesnika sa MIS-C ima jednu ili više GI tegobu, koje mogu imitirati crevne infekcije ili inflamatorne bolesti creva. Uglavnom se pacijenti žale na bolove u trbuhu, nešto ređe po učestalosti je povraćanje, dok su hematemeza, hematohezija i melena retko opisane (107). Najčešće su naši bolesnici imali tegobe od strane GI sistema: bolove u trbuhu, povraćanje i dijareju, a kod troje je učinjena apndektomija. Apendicitis može biti inicijalna prezetnacija MIS-C, ali se može razviti i nakon primenjene terapije (108).

Neurološka simptomatologija bila je prisutna kod više od trećine bolesnika, dok je glavobolja bila simptom kod 28% bolesnika, što je u skladu sa podacima iz literature (11). Razvoj CVI registrovan je kod naša tri bolesnika, dok se u literaturi opisuju samo sporadični slučajevi.

U zavisnosti od studije, KV manifestacije prisutne su kod 50-100% obolelih. Najčešće se javlja disfunkcija miokarda, koja je prezentuje razvojem sistolne disfunkcije LK različitog stepena, a može progredirati i do kardiogenog šoka. Sistolna disfunkcija je skoro u potpunosti reverzibilna, jer nije posledica kardiomiocitolize, već smanjene funkcije kardiomiocita i direktnog negativnog inotropnog efekta hemokina i ROS. Otuda se kod ovih bolesnika sreću povišene vrenosti proBNP (78-100%), a ređe cTnI (68-95%) (91). Samo 5/67 naših pacijenata

nije imalo povišenu koncentraciju proBNP, dok su kod 24 bolesnika vrednosti troponina bile u referentnom opsegu.

Disfunkcija miokarda objašnjena je kroz nekoliko hipoteza, uključujući povredu kardiomiocita zbog akutnog i neregulisanog inflamatornog odgovora povezanog sa citokinskom olujom, mikrovaskularnom disfunkcijom i virusnom invazijom kardiomiocita koja je rezultovala oštećenjem ćelije i ishemijskom povredom (109). Polovina naših pacijenata je imala disfunkciju miokarda. Kod tih bolesnika EF LK izosila je 53% (IQR 45 – 60%), a 7% bolesnika imalo je EF nižu od 40%. Najveći broj studija opisuju kombinaciju blage, umerene i teške disfunkcije, osim *Grimauda* i saradnika koji opisuju seriju slučajeva od 20 pacijenata sa kardiogenim šokom (svaki pacijent ima EF LK < 35%) iz Pariza, ali je to bio zapravo kriterijum za uključivanje u studiju (110). Najveća serija multicentričnih slučajeva *Feldstein* i saradnika opisuje depresiju miokarda kod 34,2% pacijenata, sa blagom depresijom u 55,2% i teškom depresijom kod 22,1% (111). U grupi naših pacijenata 9% je imalo umerenu, a tešku 3%. Prethodno dok smo pacijente lečili IVIG, taj porećenat je bio veći (41).

Komparativna studija čiji je cilj bio da se dokažu razlike između pacijenata sa akutnim miokarditisom pre epidemije i miokardnom disfunkcijom kod bolesnika sa MIS-C, došla je do zaključka da kod bolesnika sa MIS-C:

- su niže vrednosti markera kardiomiocitolize,
- se beleži brži oporavak sistolne funkcije LK,
- su ređe registrovani segmentni ispadi u kinetici LK,
- kraći je boravak u ICU,
- ređe dolazi do razvoja fulminatnog miokarditisa,
- ređe dolazi do sekvela u vidu dilatacione kardiomiopatije
- niži je mortalitet (41).

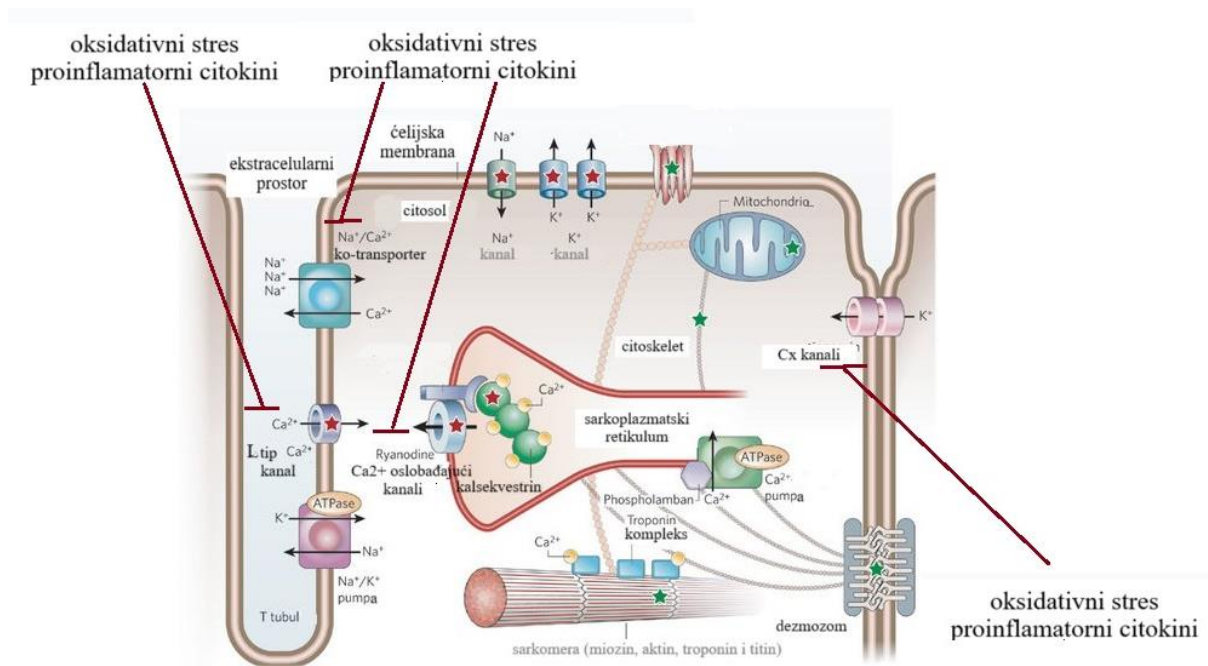
Upravo promptan odgovor na primenjenu terapiju, odsustvo sekvela, više vrednosti proBNP nego TnI govori o imunski posredovanom *stunning*-u miokarda. Naši rezultati su pokazali da je disfunkcija miokarda češća kod starije dece, dok pol nije uticao na razvoj miokardne depresije. Starije doba, prisustvo neuroloških simptoma, dispnea, bol u grudima, niža koncentracije limfocita i trombocita, viši CRP, prokalcitonin, BNP/NT-proBNP i troponina, niži natrijum i eGFR su bili značajno češći kod dece sa kontraktilnom disfunkcijom i sniženom EF LK (109). Problem disfunkcije LK u akutnoj fazi bolesti mogao je biti potcenjen i upravo su *Macubare* i saradnici opisali postojanje patološkog *strain*-a kod dece koja imaju normalan EF LK (112). Zabeležen je potpun oporavak funkcije LK već trećeg intrahospitalnog dana kod svih pacijenata. Ranije, kada su u terapiji korišćeni IVIG, dolazilo je do razvoja ili progresije sistolne disfunkcije, a samim tim do kasnijeg oporavka (41). Prema pojedinim podacima iz literature, sekvele ostaju i kod 11% bolesnika (113).

U studiji *Chakraborty* i saradnika, u vreme otpusta iz bolnice je opisana blaga disfunkcija kod 11,3% pacijenata, a podaci su u skladu sa literaturnim podacima koji navode da ventrikularna disfunkcije perzistira na otpustu kod 6–14% bolesnika (97). Ni jedan naš bolesnik na otpustu nije imao ehokardiografske promene.

Patološke promene na EKG sreću se kod oko 60% bolesnika i to uglavnom kod starije dece (106). Opisuju se nespecifične promene u vidu ST elevacije i poremećaji sprovođanja po tipu produženog PR intervala, atrioventrikularnog (AV) bloka II stepena i produženja QTc intervala (40%). Produženje QTc intervala opisivano je kod miokarditisa i povezano je sa lošijom prognozom. Poređenjem bolesnika sa akutnim miokarditisom i miokardnom disfunkcijom tokom MIS-C pronađeno je da se produžen QTc interval javlja samo kod MIS-C (42). Spekuliše se da je produženje QTc intervala posledica difuznog edema i inflamacije u miokardu tokom akutne faze MIS-C (91). EKG promene mogu biti posledica i inflamatornih

kanalopatija, usled stvaranja autoantitela na voltažne Na^+ , Ca^{2+} i K^+ kanale, ali i posledica oksidativnog stresa (44,47). Važne novootkrivene inflamatorne i nekanonske funkcije kardiomiocita ukazuju na to da leukociti mogu biti aritmogeni bilo promenom sastava tkiva ili interakcijom sa kardiomiocitima. Oksidativni stres utiče na translaciju proteina i doprinosi sklonosti ka razvoju aritmija i kardiovaskularnih oboljenja. Stoga, tačna procena redoks statusa i precizna primena antioksidanata mogu biti efikasna terapija suzbijanja oksidativnog stresa i razvoja aritmije (114).

Poremećaji ritma po tipu atrijalne fibrilacije i *sustained* aritmije su veoma retke (88,89). U studiji *Campanello* i saradnika 12% bolesnika je imali SVPT ili ventrikularnu tahiaritmiju i svi pacijenti su bili uzrasta preko 6 godina (106). Jedna naša pacijentkinja razvila je SVPT, a konverzija u sinusni ritam postignuta je amiodaronom. Ubrzo po konverziji došlo je do razvoja ventrikularne tahikadije, koja je potom prešla u polimorfnu ventrikularnu tahikardiju. Brojne eksperimentalne i kliničke studije ukazale su na uticaj akutne i/ili hronične inflamacije i oksidativnog stresa na razvoj AF i životno ugrožavajuću VF. Poremećaj redoks statusa i povećana koncentracija proinflamatornih citokina dovode do razvoja kanalopatija. Kanalopatije podrazumevaju disfunkciju jonskih kanala, kao i srčanog koneksina 43 i 40 (Cx43 i Cx40) - spojničkih kanala i uključuju CxHC aktivaciju i abnormalno aktivnost Ca^{2+} , što leži u osnovi električnih poremećaja miokarda. Kalcijumski kanali, uključujući Ca^{2+} kanale sarkoplazmatskog retikuluma koji oslobađaju rianodinske kanale i transportere, su pod redoks regulacijom, a abnormalna aktivnost Ca^{2+} kanala je fundamentalna u indukciji i održavanju AF i VF. Pored toga, nishodna regulacija Cx43 ili Cx40, promene u njihovoj distribuciji i disfunkcija i razdvajanje spojničkih kanala mogu da stimulišu ektopična žarišta, povećaju disperziju i refraktornost trajanja akcionog potencijala i usporenu provodljivost miokarda. Ova stanja promovišu okidanje malignih aritmija, stvarajući ranu ili odloženu depolarizaciju i usporenu provodljivost i/ili blokadu provodljivosti koji olakšavaju razvoj AF i VF. Dok zapaljenje i oksidativni stres aktiviraju Cx43 posredovanu signalizaciju inflamazoma, mogu i inhibirati širenje električnog signala između kardiomiocita posredovano Cx43 *gap* kanalom. Ovo dovodi do električnog remodeliranja i nestabilnosti, i doprinosi povećanju aritmogeneze i sklonosti ka razvoju aritmije. Nedavna klinička ispitivanja su otkrila da kortikosteroidi i kolhicin mogu sprečiti razvoj AF, jer deluju na fundamentalni uticaj inflamatornih puteva u započinjanju AF (**Slika 9**) (114).



Slika 9. Prikaz građe i jonskih kanala kardiomiocita. Modifikovano iz *A genetic framework for improving arrhythmia therapy* (115)

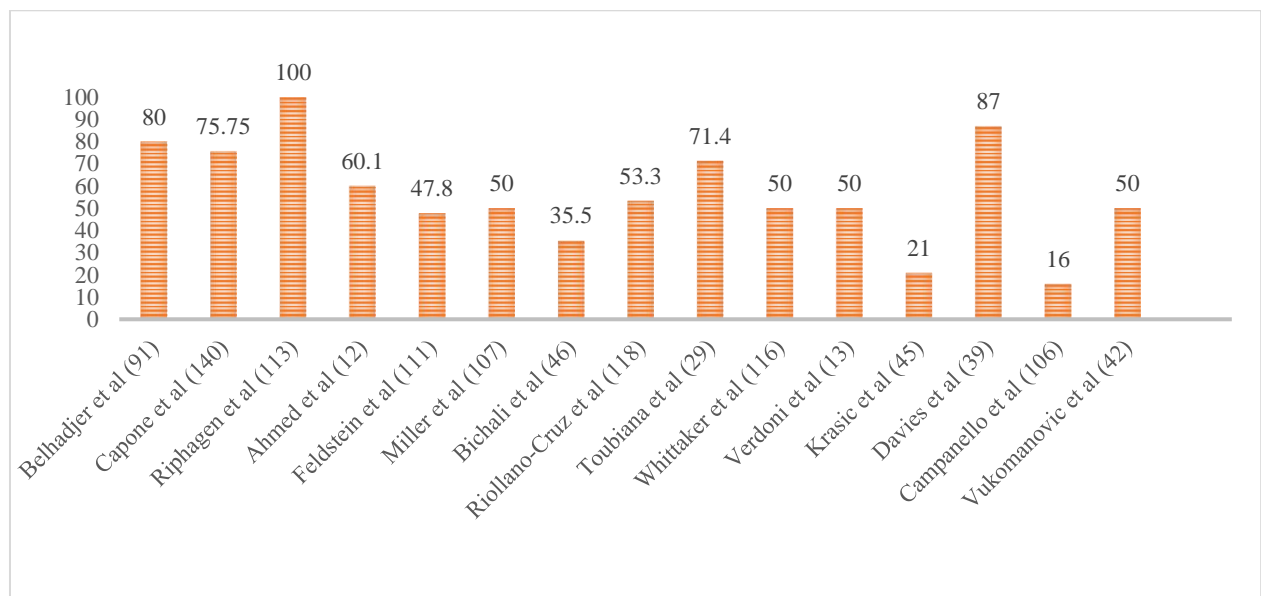
Dilatacije i aneurizme koronarnih arterija (CA) u MIS-C se sreću ređe nego kod KB. U kohorti pacijenata, *Consiglio* i saradnici su otkrili da pacijenti sa KB imaju više koncentracije biomarkera u plazmi koji upućuju na oštećenje arterija u poređenju sa pacijentima koji su imali MIS-C, što može objasniti razliku u incidenciji razvoja aneurizmi (20). U zavisnosti od studije promene na CA javljaju se 0-46% pacijenata, i uglavnom se radi o blagim dilatacijama sa Z skorom +2 – +2,5 (106). Samo su u pojedinačnim slučajevima opisivane džinovske CA aneurizme u periodu konvalescencije. *Feldstein* i saradnici su identifikovali da su 93% koronarnih abnormalnosti zapravo blage aneurizme, 4% umerene aneurizme, dok velike aneurizme nisu opisivane. Ista studija opisuje rezoluciju CA abnormalnosti kod svih bolesnika u roku od 90 dana (111). *Whittaker* i saradnici u multicentričnoj studiji iz Velike Britanije, navode da se gigantske aneurizme sreću kod 3,5% (116), dok *Riphagen* i saradnici opisuju da je samo jedan pacijent imao džinovsku aneurizmu (113). Češće se sreću kod mlađih pacijenata, dečaka i onih sa mukokutanom manifestacijama (42,43,106,109,111,116). Kod svih naših bolesnika kod kojih je ehokardiografski nalaz ukazao na dilataciju CA ukazao je na istovremeno postojanje i perikardne efuzije. Takođe, svi ti bolesnici su lečeni u ICU, što govori u prilog tome da su se ektazije CA javljale samo kod teške forme bolesti. Ta deca se nisu razlikovala po polu i uzrastu u odnosu na čitavu grupu pacijenata. U kohorti dece lečene u ICU, *Davies* i saradnici, su zapazili promene na CA bile prisutne kod 36% obolelih, od toga je oko 60% imalo aneurizme, a ostali pojačanu ehogenost zida CA nego uobičajeno. Nije primećena razlika u polu, uzrastu, kliničkoj slici, laboratorijskim analizama i načinu lečenja kod tih bolesnika u poređenju sa onima bez aneurizmi CA (39).

Kod jednog bolesnika sa blagim MIS-C na kraju lečenja, došlo je do razvoja intrakardijalne tromboze iako je bila očuvana EF LK. *Bigdelian* i saradnici su predstavili tri pacijenta sa akutnom intrakardijalnom trombozom tokom COVID-19; sva ta deca su imala očuvanu EF LK (117). U poređenju sa pacijentima koji imaju COVID-19 (2,1%, 95% CI, 1%

do 4%) i asimptomsku infekciju SARS-CoV-2 (0,7%, 95% CI, 0,1% do 2,4%), pacijenti sa MIS-C su imala najveću incidencu trombotičkih događaja od 6,5% (95% CI, 3% do 12%) (36-38). Među pacijentima sa trombotičnim događajima (20 pacijenata) samo tri su imali intrakardijalnu trombozu, ali su svi bolesnici imali komorbiditete - dva sa akutnim COVID-19 imala su karcinome i jedan sa MIS-C koji je bio gojazan. Svi ti pacijenti su imali trombozu povezanu sa ugrađenim centralnim venskim kateterom (39). *Schroder* i saradnici prikazali su zdravog dečaka uzrasta 17 godina sa sistolnom disfunkcijom LK i muralnim trombom u blizini posteromedijalnog papilarnog mišića u apeksu LK (38). Kod našeg bolesnika dopunskim ispitivanjem pronađena je samo povišena koncentracija FVIII, koji je prethodno već opisivan kao pozitivni reaktant akutne faze.

Šok sindrom kod KB manifestuje se uglavnom niskim sistolnim krvnim pritiskom ili kliničkim znacima hipoperfuzije i sreće se u oko 5% slučajeva (109). Sistolna disfunkcija leve komore se nalazi kod samo jedne trećine pacijenata, ali dugotrajna dijastolna disfunkcija je značajan nalaz u ovom sindromu. Šok sindrom kod MIS-C deli neke patofiziološke aspekte KB šok sindroma, ali značajna razlika je postojanje sistolne disfunkcije LK koja je bila prisutna kod velikog broja pacijenata sa MIS-C i bila je u vezi sa niskim sistolnim krvnim pritiskom (91).

Šok se inače javlja kod 40-85% bolesnika, a može biti vazoplegični ili/i kardiogeni (**Grafik 10**) (6-12,41,42,106-113,118). U našoj grupi ispitanika bio zastupljen kod oko 17% i kod skoro svih pacijenata radilo se o kombinaciji kardiogenog i vazoplegičnog šoka. Ranije učestalost razvoja šoka bila je veća, dok su u terapiji primenjivani samo IVIG (41). Zapravo, tokom primenjivanja IVIG došlo je do razvoja šok kod 7 od 10 bolesnika lečenih IVIG (41). U studiji *Davies* i saradnika, koja je ubuhvatila 78 pacijenata koji su lečeni u ICU, učestalost distributivnog šoka je bila veća. Naime je čak 55 bolesnika od 68 koji su imali šok, imali vazoplegični šok (39).



Grafik 10. Zastupljenost šoka kod pacijenata sa MIS-C povezanim sa COVID-19 u studijama sprovedenim od strane različitih autora

Prema podacima *Bichali* i sradnika, pacijenti stariji od 8,8 godina imali su 10 puta veći rizik za razvoj šoka, dok su deca sa znacima encefalitisa imali 7,50 veći rizik (46). Distributivni šok je bio povezan sa bolom u vratu pre ili u vreme postavljanja dijagnoze [OR 11.50 (1,33–99,33), P=0,026] (88). Deca sa MIS-C koja su razvila šok (n = 29) imala su viši CRP, broj

neutrofila, troponin i NTproBNP, kao i nižu koncentraciju albumin i manji broj limfocita u poređenju sa onima bez šoka (46). Naši bolesnici sa šokom bili su stariji, imali su niže vrednosti sistolnog pritiska, više vrednosti CRP, troponina I i proBNP na prijemu.

Teška klinička slika i prijem u ICU zabeleženi su kod 40% pacijenata, a ti bolesnici su bili stariji (medijana uzrasta oko 11 godina), češće su imali kardiovaskularne manifestacije, miokarditis, šok, pankreatitis i hepatitis. Naši rezultati su u skladu sa podacima iz literature (39). Pacijenti sa izraženijim OS su češće imali šok i zahtevali su prijem u ICU, što je opisano i kod bolesnika sa SIRS (84).

Stopa mortaliteta je oko 2% (24,46,116). U našoj studiji preminuo je jedan pacijent (1,45%), kod kojeg je prethodno učinjena kardiohirurška operacija – arterijski *switch* u cilju kompletne korekcije D transpozicije velikih krvnih sudova.



S obzirom na sličnosti između MIS-C i KB inicijalno preporučena terapija je bila IVIG u dozi od 2 g/kg TM tokom 24-48h. S obzirom da je inflamacija kod MIS-C mnogo izraženija, kao i da se sintetišu nešto drugačiji hemokini i citokini, vremenom se pokazalo da su IVIG nezavistan faktor rizika za neuspeh lečenja, te da kod pacijenta tokom primene IVIG dolazi do deterioracije, pogoršanja kliničkog stanja i razvoja šoka (41). Pojedini autori smatraju da je istovremena primena IVIG i KS delotvornija od prime IVIG kao monoterapije kod ovih bolesnika, posebno kod pacijenata koji imaju KV manifestacije

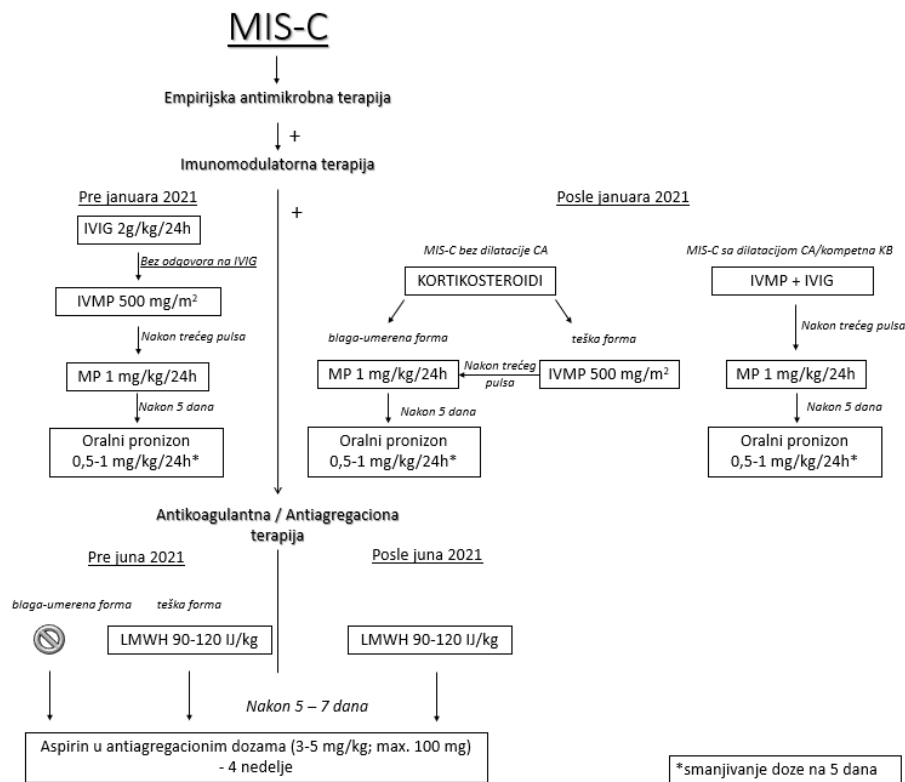
Ouldali i saradnici sprovedli su meta analizu koja se odnosila na lečenje bolesnika sa MIS-C mlađe od 21 godine. U meta analizu su uključene samo randomizovane ili opservacione komparativne studije, a nakon pregleda literature u obradu je uključeno tri studije, sa ukupno 958 dece. Njih 482/958 lečeno je samo primenom IVIG, dok je 387/982 lečeno IVIG uz dodatak KS. Nakon mečovanja parova iz ove dve grupe, pokazano je da je da su pacijenti lečeni samo IVIG imali veću učestalost kardiovaskularne disfunkcije drugog intrahospitalnog dana u poređenju sa pacijentima koji su lečeni kombinacijom IVIG i KS. Daljim poređenjem mečovanih pacijenata pokazano je da se kod samo 10/75 pacijenata lečenih samo KS javila KV disfunkcija, dok se u grupi lečenih IVIG javila kod 33/150. U zaključku meta-analize rečeno je da je lečenje IVIG plus KS povezano sa bržim poboljšanjem kardiovaskularne funkcije u poređenju sa monoterapijom IVIG-om. Nasuprot tome, glukokortikoidi sami po sebi nisu bili povezani sa značajnim poboljšanjem kardiovaskularne funkcije u poređenju sa onim koji su primili samo IVIG ili kombinaciju IVIG i KS (119).

U studiji *Vukomanovića* i saradnika dokazano je da među decom sa miokardnom disfunkcijom tokom MIS-C, lečenje KS kao monoterapijom bilo povezano sa:

- bržom normalizacijom telesne temperature,
- bržim poboljšanjem laboratorijskih rezultata,
- bržom normalizacijom sistolne funkcije LK i
- kraćim boravkom u ICU u poređenju sa pacijentima koji su lečeni IVIG.

Pokazano je da su IVIG ne zavisani faktor za neuspeh lečenja, jer se kod ovih bolesnika održavala povišena telesna temperatura duže od 48h nakon primenjena terapije, kao i da je tokom lečenja dolazi do deterioracije funkcije LK i razvoja kardiogenog šoka. To se može objasniti drugačijim mehanizmom delovanja u odnosu na KS, kao i opterećenjem tešnosti tokom davanja IVIG. Takođe je zaključeno da, KS treba koristiti za refraktorni MIS-C, jer nakon davanja KS pacijenti postaju afebrilni, vrednost CRP se smanjuje, a koncentracija natrijuma i fosfata raste (41). Kako pacijenti iako su lečeni KS u monoterapiji nisu imali sekvele MIS-C, ova studija nas je ohrabrila da bolesnike lečimo samo KS. Stoga je u Institutu za zdravstvenu

zaštitu majke i deteta Srbije „Dr vukan Čupić“ modifikovan protokol lečenja bolesnika sa MIS-C (Shema 7).



Pre juna 2021

blaga-umerena forma

LMWH 90-120 IJ/kg

teška forma

LMWH 90-120 IJ/kg

↓ *Nakon 5 – 7 dana*

Aspirin u antiagregacionim dozama (3-5 mg/kg; max. 100 mg) - 4 nedelje

Posle juna 2021

LMWH 90-120 IJ/kg

↓ *Nakon 5 – 7 dana*

Aspirin u antiagregacionim dozama (3-5 mg/kg; max. 100 mg) - 4 nedelje

Shema 7. Promena protokola lečenja bolesnika sa MIS-C tokom sticanja iskustva u toku trajanja epidemije

Metilprednizolon i njegovi derivati su sintetski glukokortikoidi srednje jačine dejstva. Koriste se uglavnom kao antiinflamatorni ili imunosupresivni agensi. Metilprednizolon je pet puta snažniji u svojim antiinflamatornim efektima u odnosu na hidrokortizon (kortizol) i poseduje minimalnu mineralokortikoidnu aktivnost (120).

Pokazali smo da nakon primene MP dolazi do značajne redukcije TOPS, a efekat MP može biti direktan i dovodi do smanjenja OS, ili indirektan, tako što modifikuje efekte ROS.

Kod pacijenata sa *Grawes* oftalmopatijom (GO) pokazana je značajna redukcija sistemskog OS nakon primene KS (121,122), što su dokazali i Obradović i saradnici kod bolesnika sa multiplom sklerozom (123). Takođe, prekomerna sinteza ROS aktivira NF-kB, a patološka aktivacija NF-kB doprinosi razvoju različitih autoimunih i inflamatornih bolsti, produkcijom IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α i drugih (84,85,124). Upravo transrepresijom, MP - glukokortikoidni receptor (cGR) kompleks vezuje se i blokira promotorska mesta proinflamatornih gena, promovise ekspresiju antiinflamatornih genskih proizvoda i inhibira sintezu inflamatornih citokina, uglavnom blokiranjem NF-kB (55), čime inhibira efekte ROS.

Još 1981. godine, *Levine* je pokazao u kulturi humanih polimorfonukleara da visoke doze MP inhibiraju produkciju O_2^- i H_2O_2 (125). Kasnije su *Marumo* i saradnici pronašli da KS smanjuju ROS u kulturi humanih glatkomišićnih ćelija zida aorte tako što inhibiraju stimulse za sintezu O_2^- . Inhibicija sinteze O_2^- postiže su smanjenjem aktivnost *p22 phox*, koji prenosi elektron sa NADPH na kiseonik u sistemu NADPH oksidaze fagocita, koja je prva i jedana od najznačajnijih reakcija u kojoj se započinje sinteza ROS (126).

Rezultati našeg istraživanja ukazuju da nakon primene MP dolazi do značajnog porasta aktivnosti eritrocitne SOD i CAT. *Gavan* i saradnici su pokazali da topikalna primena KS kod atopijskog dermatitisa povećava aktivnost SOD (127), dok su *Pennings* i saradnici utvrdili da postoji porast aktivnosti eritrocitne CAT nakon primene KS kod bolesnika sa astmom (128). *Bednarek* i saradnici su zaključili da primena MP u GO značajno redukuje koncentraciju H_2O_2 za koji smo pokazali da je glavni ROS kod naših bolesnika (122).

Kod bolesnika odmah nakon primene MP, zabeležen je značajan pad CRP, fibrinogena i D-dimera, kao i proBNP. Registrovan je i porast serumske koncentracije natrijuma, albumina i broja trombocita. Sve ovo govori u prilog brzom modulaciji imunskog odgovora nakon primene MP sa značajnom supresijom produkcije proinflamatornih citokina. Metilprednizolon smanjuje sintezu ciklooksigenaze (COX)-2, koja proizvodi prostaglandine u oštećenom tkivu i pokreće kaskadu inflamacije. Reverzijom kapilarne permeabilnosti, koja je jedan od glavnih patofizioloških mehanizama u razvoju KB i MIS-C, potiskivanjem migracije fibroblasta i polimorfonukleara, kontrolom brzine sinteze proteina i stabilizacijom lizozoma na ćelijskom nivou, MP takođe može kontrolisati ili zaustaviti inflamaciju (120).

Osim značajnog poboljšanja laboratorijskih markera, registrovano je i poboljšanje kliničkog stanja, kao i ehokardiografskih parametara nakon primene MP. Naime, registrovan je značajan porast EF LK već trećeg dana hospitalizacije. Naši rezultati su u skladu sa drugim studijama (40,41,54,58,119). Tkivno-specifični odgovor na steroide je posledica prisustva specifičnih proteinskih regulatora koji kontrolišu interakciju između kompleksa hormon-receptor i određenih elemenata odgovora DNK u svakom tkivu (121). Brzi oporakav funkcije miokarda ogleda se u brzom supresiji hemokina (CXCL-9 i CXCL-10), kao i povećanju aktivnosti enzima antioksidativne zaštite i brzom modulaciji OS. U grupi bolesnika sa MIS-C koji su lečeni visokim dozama KS i IVIG došli je do značajnog smanjenja koncentracije TNF (20).

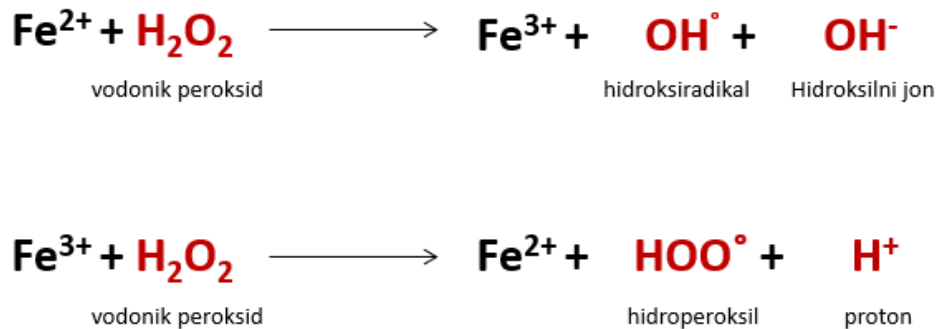
Neuspeh lečenja zabeležen je kod 8,9% bolesnika, dok je taj procenat pre primene MP bio značajno veći (41). Način primene MP i težina kliničke slike nisu uticali na odgovor na primenjenu terapiju. Pokazali smo da su devojčice imale skoro 10 puta veći rizik za neuspeh lečenja, kao i mlađi pacijenti. *Sugunan* i saradnici su pokazali da neinvazivna ili invazivna potpora disanju, zahvaćenost šest ili više organa, trombocitopenija i patološki nalaz na rentgenografiji srca i pluća predstavljaju faktore rizika za neuspeh lečenja MP (129). U našoj

kohorti, nakon primene MP, kod ovih pacijenata sa TF došlo je do povećanja TOPS. *Komatsu* i saradnici su pokazali da kod pacijenata sa hroničnom opstrktivnom bolešću pluća došlo do normalizacije ROS nakon primene KS, kao i da kod onih koji su umrli došlo je do porast ROS (130). Stoga TOPS, može biti koristan biomarker prilikom procene odgovora na terapiju.

Naši bolesnici kod kojih nije zabeležen povoljan odgovor na primenjenu terapiju imali su sniženu aktivnost SOD i CAT i to – $CAT < 117000 \text{ mmol H}_2\text{O}_2/\text{min/g Hb}$ i $SOD < 1800 \text{ U/g Hb}$. Katalaza je homotetramerni protein koji sadrži hem koji se nalazi isključivo u peroksizomu i katalizuje reakciju redukcije H_2O_2 u vodu i kiseonik. Prekomerna ekspresija CAT i SOD-1 pokazala je ateroprotektivni efekat sa smanjenjem sadržaja F2-izoprostana u aorti miševa. Povećana aktivnost CAT pronađena je u penastim ćelijama dobijenim od aterosklerotskih lezija u aorti kunića. Enzim je posebno važan kada postoji ograničen sadržaj glutaciona ili smanjena aktivnost GSH-Px i igra značajnu ulogu u razvoju tolerancije na oksidativni stres u adaptivnom odgovoru ćelija. Katalaza aktivno učestvuje u adaptivnom odgovoru ćelija na oksidativni stres i može biti indukovana pod oksidativnim faktorima, kao što su oksidovani lipoproteini niske gustine (oxLDL), u endotelnim ćelijama (82).

U našoj grupi pacijenata, H_2O_2 je bio dominantna ROS. Glutation peroksidaza i CAT glavni enzimi antioksidativne zaštite koji redukciju toksični H_2O_2 u H_2O . Naime, kod naših bolesnika na prijemu nije registrovana povišena aktivnost GSH-Px niti GR, čime nije bila moguća redukcija H_2O_2 , što je rezultovalo insuficijencijom puferskih sistema i značajnim OS. Naime kako je aktivnost CAT bila snižena kod bolesnika kod kojih je registrovan neuspeh lečenja, može se zaključiti da je Fentonovom reakcijom H_2O_2 u potpunosti prelazio u hidrosiradikal (OH^\cdot). To može objasniti i porast TOPS nakon primenjene terapije.

Fentonova reakcija odvija se u prisutvu jona gvožđa (Fe), u kojoj se manje toksičan H_2O_2 redukuje u toksičniji hidrosiradikal i hidroperoksil (26-28):



Prema tome, ćelije imaju višestruke mehanizmi za održavanje homeostaze gvožđa kako bi se sprečilo stvaranje toksičnog OH^\cdot (26).

Keski-Nisula i saradnici su pronašli da visoke doze MP kod dece pre formiranja Glenn-ove anastomoze ne smanjuju koncentraciju 8-hidroksideoksiguanozina (8-OHdG) u plazmi koji je specifični i stabilni marker oštećenja DNK hidrosiradikalom (131).

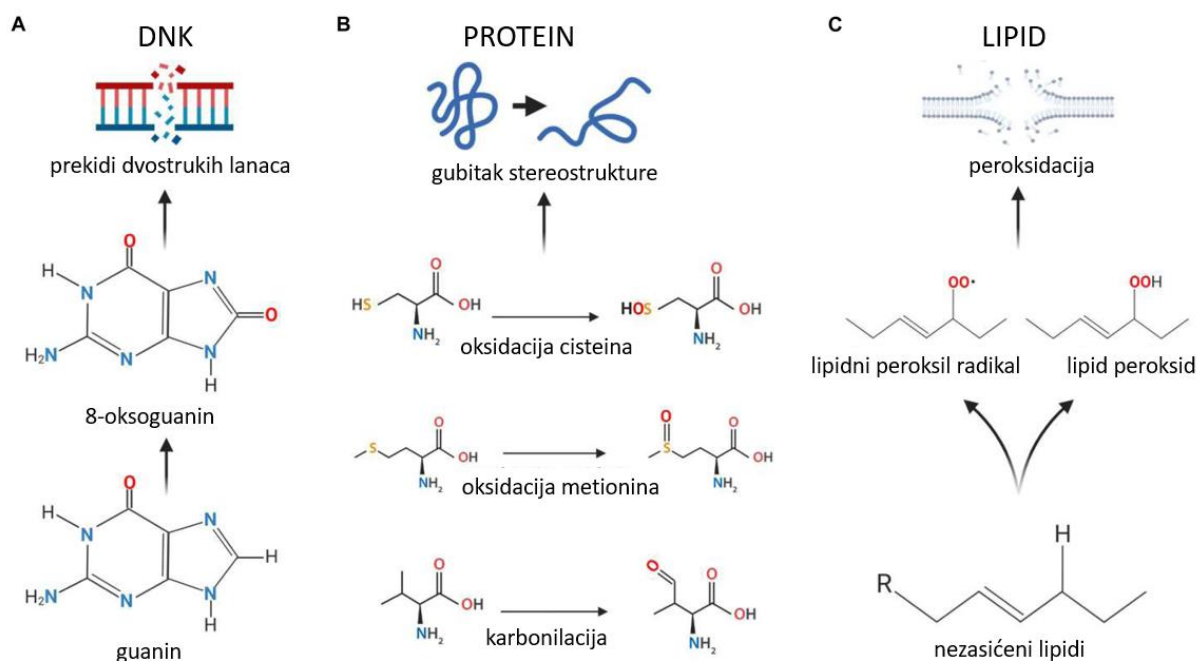
Hidrosiradikal je najpotentniji ROS koji dovodi do:

- oštećenja DNK,
- peroksidacije lipida i
- inaktivacije proteina (26-28).

Oštećenje DNK hidroksiradikalom nastaje kao posledica oksidacije nukleozidnih baza, čiji je glavni produkt 8-OhdG. Ovo je posebno opasana DNK lezija, koja je odgovorna za mutagenezu. Takođe može izazvati gubitak epigenetske informacije, verovatno zbog oštećenja u aktivaciji metilacije CpG ostrva u promotorima gena (27). Kako 8-oksoguanin može biti pogrešno uparen sa adeninom, može doći do transverzionih mutacija, što dovodi do prekida dvolančane DNK nakon replikacije (132). Povišene vrednosti 8-OhdG nađene su kod bolesnika sa srčanom slabošću (82).

Lipidna peroksidacija dovodi do oštećenja ćelijske membrane i lipoproteina, posebno polinezasićenih masnih kiselina, glikoproteina, fosfolipida, holesterola, lipooksigenaze, cikloksigenaze i citohroma P450. Sam proces lipidne peroksidacije ima tri koraka: inicijaciju, propagaciju i terminaciju. Jednom kada je lipidna peroksidacija inicirana, propagiraće se niz lančanih reakcija i dovešće do proizvodnje terminacionih proizvoda. Glavni primarni proizvodi peroksidacije lipida su lipidni hidroperoksidi (LOOH). Među mnogim aldehydima koji se mogu formirati kao sekundarni proizvodi tokom peroksidacije lipida najbolje proučeni su: malondialdehid (MDA), propanal, heksanal i 4-hidroksinonenal (4-HNE). MDA ima najveći mutageni efekat, dok je 4-HNE najtoksičniji (132). Dokazano je da pacijenti sa srčanom slabosti imaju značajno višu koncentraciju MDA u plazmi, kao i da postoji značajna korelacija između nivoa MDA i trajanje srčane insuficijencije (81).

Proteini kada su izloženi ROS ne dobijaju adekvatnu stereostukturu usled oksidacije aminokiselina cisteina i metionina, kao i karbonilacije peptidne potke, što dovodi do promena u molekularnim interakcijama koje se normalno dešavaju unutar peptida (**Shema 8**) (131).



Shema 8. Shematski prikaz oštećenja DNK, proteina i lipida pod dejstvom hidroksiradikala.



Primena inotropne terapije bila je neophodna 24% bolesnika, a prema podacima iz literature čak i kod 83% slučajeva (39,45,133). Pacijenti kod kojih su primenjivani vazoaktivni lekovi bili su stariji, imali su više vrednosti CRP, a nižu aktivnost SOD, što se objašnjava intenzivnijom hiperinflamacijom kod ovih bolesnika. Najčešće je primenjivan dopamin sa/bez dobutamina. Norepinefrin (7%), a potom dopamin (5%), dobutamin (4%) i epinefrin (3%) su najčešće propisivani prema podacima iz sistemskog pregleda, a sporadično su korišćeni milrinon, vazopresin i fenilefrin (11). U studiji *Abrams* i saradnika koja je obuhvatila 4470 bolesnika, primenu vazoaktivnih/inotropnih lekova zahtevalo je 37,8% pacijenata. Najčešće primenjivan lek bio je epinefrin (66,1%), potom norepinefrin (35,5%), milrinon (27,2%) i dopamin (11,3%) (134). Takođe je i u studiji *Grimaud* i saradnika, epinefrin bio najčešće upotrebljavan (60%), potom milrinon (50%), dobutamin (30%) i norepinefrin (20%) (110). Upotreba medikamentozne inotropne potpore bila je značajno češća u grupi pacijenata starosti od 12 do 15 godina (135). Inicijalno, na početku pandemije češće smo primenjivali kombinaciju dopamina i milrinona (44), ali kako milrinon ima osim pozitivnog inotropnog i luzitropnog efekta, značajan vazodilatatorni efekat i dovodi do hipotenzije (135), zamenili smo ga dobutaminom. U studiji *Riollano-Cruz M* i saradnika noradrenalin je korišćen kod 7/8 bolesnika, koji su zahtevali inotropnu potporu, dopamin 4/7, a dobutamin kod 2/7 bolesnika (118).

U grupi naših bolesnika nije korišćena ECMO, a samo jedan bolesnik je zahtevao primenu MV. U studiji *Davies* i saradnika koja je obuhvatila 78 bolesnika koji su bili hospitalizovani u ICU, ECMO je primenjivan kod 4%, a mehanička ventilacija kod 46% pacijenata (39). U studija koja je obuhvatila samo bolesnike se KV manifestacijama, 28% bolesnika je zahtevalo primenu ECMO, a 32/35 MV (91). *Abrams* i saradnici su pronašli da je ECMO korišćen kod 1,5%, najčešće u grupi pacijenata uzrasta od 16 do 20 godina, dijaliza kod 0,9%, a MV u 9,4%, najčešće u uzrasnoj grupi od 16 do 20 godina (134). U meta-analizi *Radia* i saradnika, koja je obuhvatila 783 bolesnika, mehanička ventilacija bila je potrebna kod 18% bolesnika, ali je najčešći razlog za sprovođenje MV bila disfunkcija KV sistema. Respiratorna disfunkcija zabeležena je kod 9,6% bolesnika, primenu oksigenoterapije putem nazalnih kanila sa visokim protokom zahtevalo je 3%, a 11% neinvazivnu ventilaciju, dok je ECMO zahtevalo 4% bolesnika (6). Prema podacima *Kavurta* i saradnika, kod 30% pacijenata rađena je plazmafereza (96).



Aktivnost oba enzima antioksidativne zaštite, SOD i CAT, bila je snižena na prijemu, u akutnoj fazi bolesti, pre terapije MP. Smanjenje hiperinflamacije u našoj studiji bilo je praćeno obnavljanjem aktivnosti SOD i CAT, neposredno nakon primenjene terapije, što se održavalo i tokom perioda praćenja od 4 do 6 meseci.

Takđe, tokom perioda praćenja, pokazali smo da se relativna koncentracija T limfocita povećala, dok se relativna koncentracija B limfocita smanjila. *Rajamanickam A* i saradnici su zaključili da je 6-9 meseci nakon akutne faze MIS-C dolazi do smanjenja broj naivnih, nezrelih i atipičnih memorijskih B limfocita, kao i subpopulacija naivnih CD4+ i CD8+ limfocita i terminalnih efektorskih T limfocita. Nasuprot tome, koncentracija klasičnih memorijskih, aktiviranih memorijskih i plazma ćelija, kao i subpopulacije CD4+ i CD8+ T ćelija kao što su centralne memorijske, efektorske memorijske, tranzitorne memorijske i matične ćelije su porasle u poređenju sa onim vrednostima koje su izmerene pre primene imunomodulatorne terapije (21). Osim toga u periodu praćenja kod naših bolesnika sa KV manifestacijama tokom

akutne faze došlo je do porasta koncentracije NK ćelija. NK ćelije su prvobitno klasifikovane kao urođeni citotoksični efektorski limfociti zbog njihovi aktivacionih i inhibitornih receptora sa jedne strane, kao i nemogućnosti stvaranje memorijskih ćelija sa druge strane. Imaju sposobnost da moduliraju imunski sistem daleko iznad ćelija urođenog imuniteta, ali su i dalje prva linija odbrana od mnogih intracelularnih patogena (93). Osim direktnog ubijanja ciljnih ćelija oslobađanjem citotoksičnih granula koje sadrže perforin i granzim, NK ćelije sekretuju IFN- γ , TNF, faktor stimulacije kolonije granulocita-makrofaga (GM-CSF) i panel različitih imunoregulatornih citokina (IL-5, IL-10, IL-13) i hemokina (CCL-3, CCL-4, CCL-5, CXCL), pomoću kojih deluju kao imunomodulatori (93,135,136). Kod pacijenata sa koronarnom bolešću, 12-mesečno praćenje pokazalo je da je održavanje niske koncentracije NK ćelija u korelaciji sa umerenom inflamacijom miokarda. Nasuprot tome, pacijenti koji su obnovili cirkulišuće NK ćelije imali su blag ili potpuno odsutan inflamatorni proces (136). Mehanizam razvoja deficita NK ćelija u koronarnoj bolesti još uvek nije razjašnjen (135). Postoji pretpostavka, koja je dokazana u *ex vivo* studijama da prekomerna aktivacija NK ćelija dovodi do njihove apoptoze i smanjenja njihove koncentracije (136).

Kod naših bolesnika nisu registrovana rezidualna miokardna disfunkcija, kao ni aneurizme i dilatacije CA, a svi bolesnici imali su uredan ehokardiografski nalaz, što je u skladu sa mnogim studijama (32,91,137,138). Upravo, odsustvo sekvela, potvrđuje da se u MIS-C ne radi o inflamaciji miokarda i nekrozi kardiomiocita, već samo o tranzitornom poremećaju njihove funkcije (41). Arterijska hipertenzija je registrovana kod naša dva bolesnika, dok je kod jednog zabeleženo tranzitorno produženje QTc intervala. *Zuccotti* i saradnici su pokazali da nakon 6 meseci praćenja insulinska rezistencija zaostala 21,2% pacijenata, sindrom netireoidne bolesti kod 12,1% dece (patološki nivo FT3 i TSH), dispnea kod 21%, kod su neuropsihijatrijske sekvele bile viđene kod 57,6% bolesnika (137). Pronšli su da pacijenti sa najtežom kliničkom slikom imaju manju učestalost 6-mesečnih komplikacija (137).

Prema podacima iz literature, ektazije koronarnih arterija su uglavnom posledica vazodilatacije usled generalizovane hiperinflamacije, te se njihov dijametar uglavnom normalizuje posle 30 dana. Pacijenti sa džinovskim koronarnim aneurizmama su sporadično opisivani u literaturi, ali su spontane regresije aneurizmi opisivane i kod ovih bolesnika nakon 6 meseci od akutne bolesti (139,140).

U studiji *Chakraborty* i saradnika koja je obuhvatila 80 pacijenata, pokazano je da je već na prvoj kontroli nakon hospitalizacije došlo do normalizacije BNP kod svih pacijenata, dok se povišena vrednost troponina održavala samo kod jednog. Produžen PR interval se održavao kod 5% pacijenata nakon 6 meseci, a nakon godinu dana kod 2,5% bolesnika. Ni jedan bolesnik nije imao znakove sistolne disfunkcije tokom perioda praćenja koja je procenjivana ehokardiografski, a dijastolna disfunkcija se održavala kod 13,8% bolesnika nakon 6 nedelja od akutne faze bolesti, dok je samo jedan bolesnik imao dijastolnu disfunkciju nakon godinu dana praćenja. Snižena ejekciona frakcija LK na pregledu nuklearnom magnetnom rezonancijom srca registrovana je kod 3 bolesnika, dok je kod 16,7 % bolesnika registrovan *late gadolinium enhancement*, koji govori u prilog fibroze miokarda i ožiljnih promena. Abnormalnosti koronarnih arterija na prvom ambulatornom pregledu registrovane su kod jednog pacijenta sa džinovskom aneurizmom koja je perzistirala čak i nakon godinu dana praćenja (112).

Subkliničko oštećenje miokarda u obliku dijastolne disfunkcije i abnormalnog *speckled tracking*, ili patološkog *strain* je rasprostranjenija, ali je i komplikovano za određivanje i praćenje zbog nedostatka jedinstvenih standardnih merenja kod dece. *Capone* i saradnici opisuju održavanje dijastolne disfunkcije - merene konvencionalnim Doplerovim indeksima, kod 11% pacijenata 2 nedelje nakon otpusta i 4% šest meseci nakon otpusta (141).

6.ZAKLJUČCI

- Terapija MP dovela je do promptnog povećanja aktivnosti enzima antioksidativne zaštite, posebno SOD i CAT.
- Upotreba MP dovodi do brze modulacije TOPS-a, što je u korelaciji sa poboljšanjem kliničkog stanja i smanjenjem koncentracije pozitivnih reaktanata (CRP, fibrinogen) akutne faze i povećanjem negativnih reaktanata (albumina) akutne faze.
- Naši rezultati su pokazali da ćelije humoralnog imuniteta igraju značajnu ulogu u patogenezi MIS-C, dok pacijenti sa niskom koncentracijom NK ćelija razvijaju disfunkciju miokarda.
- U akutnoj fazi, ROS su povišeni, a dominantan ROS je vodonik peroksid, dok je kod pacijenata sa neuspehom terapije zbog niže aktivnosti CAT, značajnu ulogu imao i hidroksiradikal.
- Pacijenti sa intenzivnijom inflamacijom imali su veći TOPS i proBNP, a nižu koncentraciju natrijuma i albumina.
- Bolesnici sa disfunkcijom miokarda imali su više vrednosti CRP i TOPS. Teška klinička slika i potreba za prijem u ICU češće su se javljali kod starijih bolesnika, koji su imali značajno više vrednosti CRP, proBNP i cTnI, a niže koncentracije serumskog natrijuma i albumina.
- Neuspeh terapije zabeležen je češće kod devojčica i mlađih pacijenata. Pacijenti sa neuspehom lečenja imali su sniženu aktivnost CAT, dok je primena MP dovela do izraženih reakcija oksidacije. Ovo implicira da niska aktivnost CAT može biti kontraindikacija za upotrebu monoterapije MP, već da kod tih pacijenata treba razmotriti primenu još nekog imunomodulatornog leka.
- Primena MP kao monoterapije uspešna je i u sprečavanju razvoja sekvela MIS-C, jer nakon perioda praćenja registrovana je potpuna normalizacija imunofenotipa limfocita periferne krvi, održavanje homeostaze ROS i enzima antioksidativne zaštite, kao i potpuno uredan ehokardiografski nalaz kod svih bolesnika.

7. LITERATURA

1. Wang MY, Zhao R, Gao LJ, Gao XF, Wang DP, Cao JM. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020 Nov 25;10:587269.
2. Gorkhali R, Koirala P, Rijal S, Mainali A, Baral A, Bhattarai HK. Structure and Function of Major SARS-CoV-2 and SARS-CoV Proteins. *Bioinform Biol Insights.* 2021 Jun 22;15:11779322211025876.
3. Li R, Qin C. Expression pattern and function of SARS-CoV-2 receptor ACE2. *Biosaf Health.* 2021 Dec;3(6):312-318.
4. Bohn MK, Yousef P, Steele S, Sepiashvili L, Adeli K. MultiInflammatory Syndrome in Children: A View into Immune Pathogenesis from a Laboratory Perspective. *The Journal of Applied Laboratory Medicine.* 2021;1-11.
5. McMurray JC, May JW, Cunningham MW, Jones OY. Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C), a Post-viral Myocarditis and Systemic Vasculitis—A Critical Review of Its Pathogenesis and Treatment. *Frontiers in Pediatrics.* 2020;8(December):11-23.
6. Radia T, Williams N, Agrawal P, Harman K, Weale J, Cook J, Gupta A. Multi-system inflammatory syndrome in children & adolescents (MIS-C): A systematic review of clinical features and presentation. *Paediatr Respir Rev.* 2021 Jun;38:51-57.
7. Pouletty M, Borocco C, Ouldali N, Caseris M, Basmaci R, Lachaume N, et al. Paediatric multisystem inflammatory syndrome temporally associated with SARS-CoV-2 mimicking Kawasaki disease (Kawa-COVID-19): A multicentre cohort. *Annals of the Rheumatic Diseases.* 2020;79(8):999-1006.
8. Jiang L, Tang K, Levin M, Irfan O, Morris SK, Wilson K, et al. COVID-19 and multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents. *The Lancet Infectious Diseases* [Internet]. 2020;20(11):e276-88.
9. Brodsky NN, Ramaswamy A, Lucas CL. The Mystery of MIS-C Post-SARS-CoV-2 Infection. *Trends Microbiol.* 2020 Dec;28(12):956-958.
10. Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ, Hsueh PR. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *Int J Antimicrob Agents.* 2020 Mar;55(3):105924.
11. Yousef MS, Idris NS, Yap C, Alsubaie AA, Kakodkar P. Systematic review on the clinical presentation and management of the COVID-19 associated multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C). *AIMS Allergy and Immunology.* 2021;5(1):38-55.
12. Ahmed M, Advani S, Moreira A, Zoretic S, Martinez J, Chorath K, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children: A systematic review. *EClinicalMedicine* [Internet]. 2020;26:100527.
13. Verdoni L, Mazza A, Gervasoni A, Martelli L, Ruggeri M, Ciuffreda M, et al. An outbreak of severe Kawasaki-like disease at the Italian epicentre of the SARS-CoV-2 epidemic: an observational cohort study. *Lancet* 2020; 395:1771-8.
14. Smatti MK, Cyprian FS, Nasrallah GK, Al Thani AA, Almishal RO, Yassine HM. Viruses and Autoimmunity: A Review on the Potential Interaction and Molecular Mechanisms. *Viruses.* 2019 Aug 19;11(8):762. doi: 10.3390/v11080762.
15. Abo-Haded HM, Alshengeti AM, Alawfi AD, Khoshhal SQ, Al-Harbi KM, Allugmani MD, El-Agamy DS. Cytokine Profiling among Children with Multisystem Inflammatory Syndrome versus Simple COVID-19 Infection: A Study from Northwest Saudi Arabia. *Biology (Basel).* 2022 Jun 21;11(7):946.

16. Schmit T, Klomp M, Khan MN. The Application of Flow Cytometry for Simultaneous and Multi-parametric Analysis of Heterogenous Cell Populations in Basic and Clinical Research. *Methods Mol Biol.* 2021;2223:183-200.
17. McKinnon KM. Flow Cytometry: An Overview. *Curr Protoc Immunol.* 2018 Feb 21;120:5.1.1-5.1.11.
18. Picot J, Guerin CL, Le Van Kim C, Boulanger CM. Flow cytometry: retrospective, fundamentals and recent instrumentation. *Cytotechnology.* 2012 Mar;64(2):109-30.
19. Fulwyler MJ. Electronic separation of biological cells by volume. *Science.* 1965 Nov 12;150(3698):910-1.
20. Consiglio CR, Cotugno N, Sardh F, Pou C, Amodio D, Rodriguez L, et al; CACTUS Study Team; Landegren N, Palma P, Brodin P. The Immunology of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children with COVID-19. *Cell.* 2020 Nov 12;183(4):968-981.e7.
21. Rajamanickam A, Nathella PK, Venkataraman A, Varadarjan P, Kannan S, Pandiarajan AN, et al. Unique cellular immune signatures of multisystem inflammatory syndrome in children. *PLoS Pathog.* 2022 Nov 2;18(11):e1010915.
22. Gruber CN, Patel RS, Trachtman R, et al. Mapping Systemic Inflammation and Antibody Responses in Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C). *Cell.* 2020 Nov 12;183(4):982-995.e14.
23. Graciano-Machuca O, Villegas-Rivera G, López-Pérez I, Macías-Barragán J, Sifuentes-Franco S. Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) Following SARS-CoV-2 Infection: Role of Oxidative Stress. *Frontiers in Immunology.* 2021;12(August):1–10.
24. Ramaswamy A, Brodsky NN, Sumida TS, Comi M, Asashima H, Hoehn KB, et al. Immune dysregulation and autoreactivity correlate with disease severity in SARS-CoV-2-associated multisystem inflammatory syndrome in children. *Immunity.* 2021 May 11;54(5):1083-1095.e7.
25. Jaxybayeva I, Boranbayeva R, Bulegenova M, Urazalieva N. Clinical and immunological features in children with multisystem inflammatory syndrome associated with SARS-CoV-2. *Acta Biomed.* 2023 Apr 24;94(2):e2023016.
26. Schieber M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol.* 2014; 24(10):R453-62.
27. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, Squadrito F, Altavilla D, Bitto A. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:8416763.
28. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:360438.
29. Toubiana J, Poirault C, Corsia A, Bajolle F, Fourgeaud J, Angoulvant F, et al. Kawasaki-like multisystem inflammatory syndrome in children during the covid-19 pandemic in Paris, France: prospective observational study. *BMJ.* 2020 Jun 3;369:m2094.
30. Perrone S, Cannavò L, Manti S, Rullo I, Buonocore G, Esposito SMR, Gitto E. Pediatric Multisystem Syndrome Associated with SARS-CoV-2 (MIS-C): The Interplay of Oxidative Stress and Inflammation. *Int J Mol Sci.* 2022 Oct 25;23(21):12836.
31. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, Dhama K. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Biomed Res Int.* 2014;2014:761264.
32. Mukhopadhyay P, Eid N, Abdelmegeed MA, Sen A. Interplay of Oxidative Stress, Inflammation, and Autophagy: Their Role in Tissue Injury of the Heart, Liver, and Kidney. *Oxid Med Cell Longev.* 2018 Mar 22;2018:2090813.

33. Bajčetić M, Spasić S, Spasojević I. Redox therapy in neonatal sepsis: reasons, targets, strategy, and agents. *Shock* 2014 Sep;42(3):179-84
34. Yahata T, Hamaoka K. Oxidative stress and Kawasaki disease: how is oxidative stress involved from the acute stage to the chronic stage? *Rheumatology (Oxford)*. 2017 Jan;56(1):6-13.
35. Perico L, Benigni A, Casiraghi F, Ng LFP, Renia L, Remuzzi G. Immunity, endothelial injury and complement-induced coagulopathy in COVID-19. *Nature Reviews Nephrology* [Internet]. 2021;17(1):46–64.
36. Sharathkumar AA, Faustino EVS, Takemoto CM. How we approach thrombosis risk in children with COVID-19 infection and MIS-C. *Pediatric Blood and Cancer*. 2021;68(7):1–9.
37. Whitworth H, Sartain SE, Kumar R, Armstrong K, Ballester L, Betensky M, et al. Rate of thrombosis in children and adolescents hospitalized with COVID-19 or MIS-C. *Blood*. 2021;138(2):190–8.
38. Schroder J, Lund MAV, Vejlstup N, Juul K, Nygaard U. Left ventricular thrombus in multisystem inflammatory syndrome in children associated with COVID-19. *Cardiology in the Young*. 2022; 32(1):138-141.
39. Davies P, Evans C, Kanthimathinathan HK, Lillie J, Brierley J, Waters G, et al. Intensive care admissions of children with paediatric inflammatory multisystem syndrome temporally associated with SARS-CoV-2 (PIMS-TS) in the UK: a multicentre observational study. *The Lancet Child and Adolescent Health*. 2020;4(9):669–77.
40. Belhadjer Z, Auriou J, Méot M, Oualha M, Renolleau S, Houyel L, et al. Addition of Corticosteroids to Immunoglobulins Is Associated with Recovery of Cardiac Function in Multi-Inflammatory Syndrome in Children. *Circulation*. 2020;2282–4.
41. Vukomanovic V, Krasic S, Prijic S, Ninic S, Popovic S, Petrovic G, et al. Recent Experience: Corticosteroids as a First-line Therapy in Children With Multisystem Inflammatory Syndrome and COVID-19-related Myocardial Damage. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 2021;40(11):e390–4.
42. Vukomanovic VA, Krasic S, Prijic S, Ninic S, Minic P, Petrovic G, et al. Differences between Pediatric Acute Myocarditis Related and Unrelated to SARS-CoV-2. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 2021;40(5):E173–8.
43. Alsaied T, Tremoulet AH, Burns JC, Saidi A, Dionne A, Lang SM, Newburger JW, de Ferranti S, Friedman KG. Review of Cardiac Involvement in Multisystem Inflammatory Syndrome in Children. *Circulation*. 2021 Jan 5;143(1):78-88.
44. Schrier GM, Hess ML. Quantitative identification of superoxide anion as a negative inotropic species. *Am J Physiol*. 1988 Jul;255(1 Pt 2):H138-43.
45. Krasic S, Ninic S, Prijic S, Popovic S, Pasic S, Petrovic G, Zec B, Ristic S, Nestic D, Nikolic L, Vukomanovic V. Analysis of cardiac manifestation and treatment of multisystem inflammatory syndrome in children related to SARS-CoV-2. *Biomol Biomed*. 2023 Mar 16;23(2):335-343. doi: 10.17305/bjbms.2022.7820. PMID: 36124439; PMCID: PMC10113947.
46. Bichali S, Bonnet M, Lampin ME, Baudalet JB, Reumaux H, Domanski O, et al. Impact of time to diagnosis on the occurrence of cardiogenic shock in MIS-C post-COVID-19 infection. *World J Pediatr*. 2023 Jun;19(6):595-604.
47. Lazzarini PE, Capecchi PL, El-Sherif N, Laghi-Pasini F, Boutjdir M. Emerging Arrhythmic Risk of Autoimmune and Inflammatory Cardiac Channelopathies. *J Am Heart Assoc*. 2018 Nov 20;7(22):e010595.

48. Noval Rivas M, Arditi M. Kawasaki Disease and Multisystem Inflammatory Syndrome in Children: Common Inflammatory Pathways of Two Distinct Diseases. *Rheum Dis Clin North Am.* 2023 Aug;49(3):647-659.
49. Abbati G, Attaianese F, Rosati A, Indolfi G, Trapani S. Neurological Involvement in Children with COVID-19 and MIS-C: A Retrospective Study Conducted for More than Two Years in a Pediatric Hospital. *Children (Basel).* 2022 Nov 24;9(12):1809.
50. Tripathi AK, Pilia RK, Bhatt GC, Atlani M, Kumar A, Malik S. Acute kidney injury following multisystem inflammatory syndrome associated with SARS-CoV-2 infection in children: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Nephrol.* 2023 Feb;38(2):357-370.
51. Sezer M, Çelikel E, Tekin ZE, Aydın F, Kurt T, Tekgöz N, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children: clinical presentation, management, and short- and long-term outcomes. *Clin Rheumatol.* 2022 Dec;41(12):3807-3816.
52. Rafferty MS, Burrows H, Joseph JP, Leveille J, Nihtianova S, Amirian ES. Multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) and the coronavirus pandemic: Current knowledge and implications for public health. *J Infect Public Health.* 2021 Apr;14(4):484-494.
53. Acevedo L, Piñeres-Olave BE, Niño-Serna LF, Vega LM, Gomez IJA, Chacón S, et al. Mortality and clinical characteristics of multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) associated with covid-19 in critically ill patients: an observational multicenter study (MISCO study). *BMC Pediatr.* 2021 Nov 18;21(1):516.
54. Ouldali N, Toubiana J, Antona D, Javouhey E, Madhi F, Lorrot M, et al. Association of Intravenous Immunoglobulins plus Methylprednisolone vs Immunoglobulins Alone with Course of Fever in Multisystem Inflammatory Syndrome in Children. *JAMA - Journal of the American Medical Association.* 2021;325(9):855–64.
55. Strehl C, Buttgereit F. Optimized glucocorticoid therapy: teaching old drugs new tricks. *Mol Cell Endocrinol.* 2013 Nov 5;380(1-2):32-40.
56. Altara R, Mallat Z, Booz GW, Zouein FA. The CXCL10/CXCR3 Axis and Cardiac Inflammation: Implications for Immunotherapy to Treat Infectious and Noninfectious Diseases of the Heart. *J Immunol Res.* 2016;2016:4396368.
57. Lewis BW, Ford ML, Rogers LK, Britt RD Jr. Oxidative Stress Promotes Corticosteroid Insensitivity in Asthma and COPD. *Antioxidants (Basel).* 2021 Aug 24;10(9):1335.
58. Sakurai K, Singhal N. Extracorporeal membrane oxygenation in children: A brief review. *J Paediatr Child Health.* 2022 Sep;58(9):1525-1531.
59. Licciardi F, Baldini L, Dellepiane M, Covizzi C, Moggi R, Pruccoli G, et al MIS-C Treatment: Is IVIG Always Necessary? *Front Pediatr.* 2021 Nov 3;9:753123.
60. Williams RS, deLemos JA, Dimas V, Reisch J, Hill JA, Naseem RH. Effect of spironolactone on patients with atrial fibrillation and structural heart disease. *Clin Cardiol.* 2011 Jul;34(7):415-9.
61. Barbagallo M, Dominguez LJ, Resnick LM. Protective effects of captopril against ischemic stress: role of cellular Mg. *Hypertension.* 1999 Oct;34(4 Pt 2):958-63.
62. Drabkin D, Austin H. Spectrophotometric studies: Preparations from washed blood cells. *J Biol Chem.* 1935;112:51–55.
63. Tsuchihashi M. Zur Kenntnis der Blutkatalase. *Biochem Z.* 1923;140:65–72.
64. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 1972;247:3170–3175.
65. Beutler E. Catalase. A manual of biochemical methods. In: Beutler E, ed. *Red Cell Metabolism.* New York, NY: Grune and Stratton; 1982:105–106.
66. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967;70:158–169.

67. Glatzle D, Vuilleumier JP, Weber F, Decker K. Glutathione reductase test with whole blood, a convenient procedure for the assessment of the riboflavin status in humans. *Experientia*. 1974;30:665–667.
68. Fleisher TA. Immunophenotyping of lymphocytes by flow cytometry. *Immunol Allergy Clin Immunol* 1994;14: 225-240
69. Van Dongen JJM, Groeneveld K, Adriaansen HJ, Hooijkaas H (eds). Immunofenotypering in de diagnostiek: indicatiestellingen, liitvoering en interpretatie. Dept. of Immunology, Erasmus University Rotterdam. Rotterdam. 1994
70. Szczepański T, van der Velden V, van Dongen J. Flow cytometric immunophenotyping of normal and malignant lymphocytes / Immunphänotypisierung normaler und maligner Lymphozyten mittels Durchflusszytometrie. *LaboratoriumsMedizin*. 2006;30(6): 370-392. <https://doi.org/10.1515/JLM.2006.995>
71. Kulvirt SG, Lewis SL, Simon TL. Lymphocyte phenotypes in infants are altered by separation of blood on density gradients. *Brit J Biomed Science* 1993;50:321-328
72. van de Winkel JG, Capel PJ. Human IgG Fc receptor heterogeneity: molecular aspects and clinical implications. *Immunol Today*. 1993 May;14(5):215-21.
73. Comans-Bitter WM, de Groot R, van den Beemd R, Neijens HJ, Hop WC, Groeneveld K, et al. Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood. Reference values for lymphocyte subpopulations. *J Pediatr*. 1997 Mar;130(3):388-93.
74. GUPTA RK. Paediatric Cardiology for Practitioners. *Med J Armed Forces India*. 1996 Jul;52(3):210. doi: 10.1016/S0377-1237(17)30816-X. Epub 2017 Jun 26. PMID: PMC5530378.
75. Lopez L, Frommelt PC, Colan SD, Trachtenberg FL, Gongwer R, Stylianou M, et al; Pediatric Heart Network Investigators. Pediatric Heart Network Echocardiographic Z Scores: Comparison with Other Published Models. *J Am Soc Echocardiogr*. 2021 Feb;34(2):185-192.
76. Graciano-Machuca O, Villegas-Rivera G, López-Pérez I, Macías-Barragán J, Sifuentes-Franco S. Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) Following SARS-CoV-2 Infection: Role of Oxidative Stress. *Frontiers in Immunology*. 2021;12(August):1–10.
77. Perrone S, Cannavò L, Manti S, Rullo I, Buonocore G, Esposito SMR, Gitto E. Pediatric Multisystem Syndrome Associated with SARS-CoV-2 (MIS-C): The Interplay of Oxidative Stress and Inflammation. *Int J Mol Sci*. 2022 Oct 25;23(21):12836.
78. Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011 Dec;301(6):H2181-90.
79. Münzel T, Camici GG, Maack C, Bonetti NR, Fuster V, Kovacic JC. Impact of Oxidative Stress on the Heart and Vasculature: Part 2 of a 3-Part Series. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Jul 11;70(2):212-229.
80. Scolletta S, Carlucci F, Biagioli B, Marchetti L, Maccherini M, Carlucci G, et al. NT-proBNP changes, oxidative stress, and energy status of hypertrophic myocardium following ischemia/reperfusion injury. *Biomed Pharmacother*. 2007 Feb-Apr;61(2-3):160-6.
81. Szczurek W, Szyguła-Jurkiewicz B. Oxidative stress and inflammatory markers - the future of heart failure diagnostics? *Kardiochir Torakochirurgia Pol*. 2015 Jun;12(2):145-9.
82. Scioli MG, Storti G, D'Amico F, Rodríguez Guzmán R, Centofanti F, Doldo E, et al. Oxidative Stress and New Pathogenetic Mechanisms in Endothelial Dysfunction: Potential Diagnostic Biomarkers and Therapeutic Targets. *J Clin Med*. 2020 Jun 25;9(6):1995.

83. Higashi Y. Roles of Oxidative Stress and Inflammation in Vascular Endothelial Dysfunction-Related Disease. *Antioxidants (Basel)*. 2022 Sep 30;11(10):1958.
84. Alonso de Vega JM, Díaz J, Serrano E, Carbonell LF. Oxidative stress in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med*. 2002 Aug;30(8):1782-6.
85. Andrés CMC, Pérez de la Lastra JM, Andrés Juan C, Plou FJ, Pérez-Lebeña E. Superoxide Anion Chemistry-Its Role at the Core of the Innate Immunity. *Int J Mol Sci*. 2023 Jan 17;24(3):1841.
86. Schrier GM, Hess ML. Quantitative identification of superoxide anion as a negative inotropic species. *Am J Physiol*. 1988 Jul;255(1 Pt 2):H138-43.
87. Aimo A, Castiglione V, Borrelli C, Saccaro LF, Franzini M, Masi S, Emdin M, Giannoni A. Oxidative stress and inflammation in the evolution of heart failure: From pathophysiology to therapeutic strategies. *Eur J Prev Cardiol*. 2020 Mar;27(5):494-510.
88. Pravda J. Hydrogen peroxide and disease: towards a unified system of pathogenesis and therapeutics. *Mol Med*. 2020 May 7;26(1):41.
89. León H, Bautista-López N, Sawicka J, Schulz R. Hydrogen peroxide causes cardiac dysfunction independent from its effects on matrix metalloproteinase-2 activation. *Can J Physiol Pharmacol*. 2007 Mar-Apr;85(3-4):341-8.
90. Carter MJ, Fish M, Jennings A, Doores KJ, Wellman P, Seow J, et al. Peripheral immunophenotypes in children with multisystem inflammatory syndrome associated with SARS-CoV-2 infection. *Nat Med*. 2020 Nov;26(11):1701-1707.
91. Belhadjer Z, Méot M, Bajolle F, Khraiche D, Legendre A, Abakka S, et al. Acute Heart Failure in Multisystem Inflammatory Syndrome in Children in the Context of Global SARS-CoV-2 Pandemic. *Circulation*. 2020 Aug 4;142(5):429-436.
92. Dobrodeeva LK, Samodova AV, Karyakina OE. Relationship Levels of Brain Natriuretic Peptide in the Blood and the Immune Response in Humans. *Fiziol Cheloveka*. 2016 Nov;42(6):106-115. Russian. PMID: 29932533.
93. Ong S, Rose NR, Čiháková D. Natural killer cells in inflammatory heart disease. *Clin Immunol*. 2017 Feb;175:26-33
94. Strassheim D, Edward C. Dempsey, Evgenia Gerasimovskaya, Kurt Stenmark, Vijaya Karoor. Role of Inflammatory Cell Subtypes in Heart Failure. *J Immunol Res*. 2019;9: 2164017.
95. Campanello C, Mercuri C, Derchi M, Trocchio G, Consolaro A, Caorsi R, et al. Cardiovascular Manifestations in Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) Associated with COVID-19 According to Age. *Children (Basel)*. 2022 Apr 20;9(5):583.
96. Kavurt AV, Bağrul D, Gül AEK, Özdemiroğlu N, Ece İ, Çetin İİ, et al. Echocardiographic Findings and Correlation with Laboratory Values in Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) Associated with COVID-19. *Pediatr Cardiol*. 2022 Feb;43(2):413-425.
97. Chakraborty A, Johnson JN, Spagnoli J, Amin N, McCoy M, Swaminathan N, et al. Long-Term Cardiovascular Outcomes of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children Associated with COVID-19 Using an Institution Based Algorithm. *Pediatr Cardiol*. 2023 Feb;44(2):367-380.
98. Mills T, Trivedi A, Tremoulet AH, Hershey D, Burns JC. Hyponatremia in Patients With Multisystem Inflammatory Syndrome in Children. *Pediatr Infect Dis J*. 2021 Sep 1;40(9):e344-e346.

99. Tzoulis P. Prevalence, prognostic value, pathophysiology, and management of hyponatraemia in children and adolescents with COVID-19. *Acta Biomed.* 2021 Nov 3;92(5):e2021474.
100. Tenny S, Thorell W. Cerebral Salt Wasting Syndrome. [Updated 2022 Aug 29]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534855/>
101. Gros A, Ollivier V, Ho-Tin-Noé B. Platelets in inflammation: regulation of leukocyte activities and vascular repair. *Front Immunol.* 2015 Jan 6;5:678.
102. Kok EY, Srivaths L, Grimes AB, Vogel TP, Sexson Tejtet SK, Muscal E. Immune thrombocytopenia following multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) - a case series. *Pediatr Hematol Oncol.* 2021 Oct;38(7):663-668.
103. Zhang B, Zehnder JL. Oxidative stress and immune thrombocytopenia. *Semin Hematol.* 2013 Jul;50(3):e1-4.
104. Terai M, Honda T, Yasukawa K, Higashi K, Hamada H, Kohno Y. Prognostic impact of vascular leakage in acute Kawasaki disease. *Circulation.* 2003 Jul 22;108(3):325-30.
105. Loffredo L, Campana A, Olivini N, Cotugno N, Palma P, Oliva A, et al. Hypoalbuminemia and clinical adverse events in children with COVID-19. *J Med Virol.* 2021 May;93(5):2611-2613.
106. Campanello C, Mercuri C, Derchi M, Trocchio G, Consolaro A, Caorsi R, et al. Cardiovascular Manifestations in Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) Associated with COVID-19 According to Age. *Children (Basel).* 2022 Apr 20;9(5):583.
107. Miller J, Cantor A, Zachariah P, Ahn D, Martinez M, Margolis KG. Gastrointestinal Symptoms as a Major Presentation Component of a Novel Multisystem Inflammatory Syndrome in Children That Is Related to Coronavirus Disease 2019: A Single Center Experience of 44 Cases. *Gastroenterology.* 2020 Oct;159(4):1571-1574.e2.
108. Hofsto ME, Schmit EO, Sharma M, Samuy N. Acute Appendicitis Associated With Multisystem Inflammatory Syndrome in Children. *Cureus.* 2021 Jun 24;13(6):e15893.
109. Ludwikowska KM, Moksud N, Tracewski P, Sokolski M, Szenborn L. Cardiac Involvement in Patients with Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) in Poland. *Biomedicines.* 2023 Apr 23;11(5):1251.
110. Grimaud M, Starck J, Levy M, Marais C, Chareyre J, Khraiche D, et al. Acute myocarditis and multisystem inflammatory emerging disease following SARS-CoV-2 infection in critically ill children. *Ann Intensive Care.* 2020 Jun 1;10(1):69.
111. Feldstein LR, Rose EB, Horwitz SM, Collins JP, Newhams MM, Son MBF, et al; Overcoming COVID-19 Investigators; CDC COVID-19 Response Team. Multisystem Inflammatory Syndrome in U.S. Children and Adolescents. *N Engl J Med.* 2020 Jul 23;383(4):334-346.
112. Matsubara D, Kauffman HL, Wang Y, Calderon-Anyosa R, Nadaraj S, Elias MD, et al. Echocardiographic Findings in Pediatric Multisystem Inflammatory Syndrome Associated with COVID-19 in the United States. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2020, 76, 1947.
113. Riphagen S, Gomez X, Gonzalez-Martinez C, Wilkinson N, Theocharis P. Hyperinflammatory shock in children during COVID-19 pandemic. *The Lancet* 2020; 395(10237):1607–1608
114. Andelova K, Bacova BS, Sykora M, Hlivak P, Barancik M, Tribulova N. Mechanisms Underlying Antiarrhythmic Properties of Cardioprotective Agents Impacting Inflammation and Oxidative Stress. *Int J Mol Sci.* 2022 Jan 26;23(3):1416.
115. Knollmann BC, Roden DM. A genetic framework for improving arrhythmia therapy. *Nature.* 2008 Feb 21;451(7181):929-36.

116. Whittaker E, Bamford A, Kenny J, Kaforou M, Jones CE, Shah P, et al; PIMS-TS Study Group and EUCLIDS and PERFORM Consortia. Clinical Characteristics of 58 Children With a Pediatric Inflammatory Multisystem Syndrome Temporally Associated With SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020 Jul 21;324(3):259-269.
117. Bigdelian H, Sedighi M, Sabri MR, Dehghan B, Mahdavi C, Ahmadi A, et al. Case Report: Acute Intracardiac Thrombosis in Children With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Front Pediatr*. 2021 Jun 25;9:656720.
118. Riollano-Cruz M, Akkoyun E, Briceno-Brito E, Kowalsky S, Reed J, Posada R, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children related to COVID-19: A New York City experience. *J Med Virol*. 2021 Jan;93(1):424-433.
119. Ouldali N, Son MBF, McArdle AJ, Vito O, Vaugon E, Belot A, et al; BATS CONSORTIUM, the OVERCOMING COVID-19 INVESTIGATORS, and the FRENCH COVID-19 PEDIATRIC INFLAMMATION CONSORTIUM AND PANDOR STUDY GROUP. Immunomodulatory Therapy for MIS-C. *Pediatrics*. 2023 Jul 1;152(1):e2022061173.
120. Oejo A, Correa R. Methylprednisolone. [Updated 2022 Dec 11]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544340/>
121. Tsai C, Kao S, Cheng C, et al. Oxidative Stress Change by Systemic Corticosteroid Treatment Among Patients Having Active Graves Ophthalmopathy. *Arch Ophthalmol*. 2007;125(12):1652–1656.
122. Bednarek J, Wysocki H, Sowiński J. Peripheral parameters of oxidative stress in patients with infiltrative Graves' ophthalmopathy treated with corticosteroids. *Immunol Lett*. 2004 May 15;93(2-3):227-32.
123. Obradovic D, Andjelic T, Ninkovic M, Dejanovic B, Kotur-Stevuljevic J. Superoxide dismutase (SOD), advanced oxidation protein products (AOPP), and disease-modifying treatment are related to better relapse recovery after corticosteroid treatment in multiple sclerosis. *Neurol Sci*. 2021 Aug;42(8):3241-3247.
124. Park MH, Hong JT. Roles of NF- κ B in Cancer and Inflammatory Diseases and Their Therapeutic Approaches. *Cells*. 2016 Mar 29;5(2):15.
125. Levine PH, Hardin JC, Scoon KL, Krinsky NI. Effect of corticosteroids on the production of superoxide and hydrogen peroxide and the appearance of chemiluminescence by phagocytosing polymorphonuclear leukocytes. *Inflammation*. 1981 Mar;5(1):19-27.
126. Marumo T, Schini-Kerth VB, Brandes RP, Busse R. Glucocorticoids inhibit superoxide anion production and p22 phox mRNA expression in human aortic smooth muscle cells. *Hypertension*. 1998 Dec;32(6):1083-8.
127. Gavan N, Maibach H. Effect of topical corticosteroids on the activity of superoxide dismutase in human skin in vitro. *Skin Pharmacol*. 1997;10(5-6):309-13.
128. Pennings HJ, Borm PJ, Evelo CT, Wouters EF. Changes in levels of catalase and glutathione in erythrocytes of patients with stable asthma, treated with beclomethasone dipropionate. *Eur Respir J*. 1999 Jun;13(6):1260-6.
129. Sugunan S, Bidusha S, Niyas HR, Geetha S, Chichilu RV. Factors Associated with Pulse Methylprednisolone Treatment Failure in COVID-19-Related Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C). *J Pediatr Infect Dis* 2022; 17(05): 234-241.
130. Komatsu F, Kudoh H, Kagawa Y. Evaluation of oxidative stress and effectiveness of low-dose glucocorticoid therapy on exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2007 Apr;62(4):459-64.
131. Keski-Nisula J, Arvola O, Jahnukainen T, Andersson S, Pesonen E. Reduction of Inflammation by High-Dose Methylprednisolone Does not Attenuate Oxidative Stress

- in Children Undergoing Bidirectional Glenn Procedure With or Without Aortic Arch or Pulmonary Arterial Repair. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2020 Jun;34(6):1542-1547.
132. Shields HJ, Traa A, Van Raamsdonk JM. Beneficial and Detrimental Effects of Reactive Oxygen Species on Lifespan: A Comprehensive Review of Comparative and Experimental Studies. *Front Cell Dev Biol*. 2021 Feb 11;9:628157.
 133. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014:360438.
 134. Abrams JY, Belay ED, Godfred-Cato S, Campbell AP, Zambrano LD, Kunkel A, et al. Trends in Treatments for Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C), United States, February 2020 - July 2021. *Clin Infect Dis*. 2022 Sep 30;75(7):1201-1209.
 135. Loomba RS, Dorsey V, Villarreal EG, Flores S. The effect of milrinone on hemodynamic and gas exchange parameters in children. *Cardiol Young*. 2020 Jan;30(1):55-61.
 136. Bacteman K, Andersson C, Dahlin LG, Ernerudh J, Jonasson L. Lymphocyte subpopulations in lymph nodes and peripheral blood: a comparison between patients with stable angina and acute coronary syndrome. *PLoS One*. 2012;7(3):e32691.
 137. Knorr M, Münzel T, Wenzel P. Interplay of NK cells and monocytes in vascular inflammation and myocardial infarction. *Front Physiol*. 2014 Aug 14;5:295.
 138. Krasic S, Vukomanovic V, Ninic S, Pasic S, Samardzija G, Mitrovic N, et al. Mechanisms of redox balance and inflammatory response after the use of methylprednisolone in children with multisystem inflammatory syndrome associated with COVID-19. *Front Immunol*. 2023 Aug 14;14:1249582.
 139. Zuccotti G, Calcaterra V, Mannarino S, D'Auria E, Bova SM, Fiori L, et al. Six-month multidisciplinary follow-up in multisystem inflammatory syndrome in children: An Italian single-center experience. *Front Pediatr*. 2023 Jan 26;10:1080654.
 140. Wacker J, Malaspinas I, Vallée JP, Beghetti M. Regression of coronary arteries aneurysms 6 months after multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C). *Eur Heart J*. 2021 Jul 21;42(28):2803.
 141. Capone CA, Misra N, Ganigara M, Epstein S, Rajan S, Acharya SS, et al. Six Month Follow-up of Patients With Multi-System Inflammatory Syndrome in Children. *Pediatrics*. 2021 Oct;148(4):e2021050973.

Spisak skraćenica

SARS-CoV-2 – *severe acute respiratory syndrome – coronavirus - 2*

COVID-19 – *coronavirus disease - 19*

MIS-C – *multisystem inflammatory syndrome in children*

KV – kardiovaskularne

OS – oksidativni stres

O₂⁻ - superoksid anjon

H₂O₂ – vodonik peroksid

OH⁻ - hidroksiradikal

SOD – superoksid dizmutaza

CAT – katalaza

GSH-Px – glutation peroksidaza

GR – glutation reduktaza

ORP – oksidaciono-redukциони potencijal

TOPS – totalni oksidativni status plazme

ROS – reaktivne kiseonične vrste

ACE2 - angiotenzin konvertujući enzim 2

IL – interleukin

TNF – *tumor necrosis factor*

INF – interferon

KS – kortikosteroid

MP – metilprednizolon

IVMP – intravenski puls metilprednizolona

KB – Kawasakijska bolest

PODACI O PUBLIKOVANIM RADOVIMA IZ DISERTACIJE

Krasic S, Vukomanovic V, Ninic S, Pasic S, Samardzija G, Mitrovic N, Cehic M, Nestic D, Bajcetic M. Mechanisms of redox balance and inflammatory response after the use of methylprednisolone in children with multisystem inflammatory syndrome associated with COVID-19. *Front Immunol.* 2023 Aug 14;14:1249582. doi: 10.3389/fimmu.2023.1249582. PMID: 37646033; PMCID: PMC10461094. **(kategorija M21, IF 8,0)**

Biografija autora

Dr Staša D. Krasić rođena 05.11.1993. godine u Nišu, gde je završila osnovnu i srednju školu sa odličnim uspehom i kao nosilac Vukove diplome. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu je upisala 2012. godine, a diplomirala je 31.05.2018. godina sa prosečnom ocenom 9,97. Tokom studija dobila je pohvalnice za najboljeg studenta 3, 4, i 5. godine studija. Nosilac je nagrade zadužbine Nikole Spasića za najboljeg diplomiranog studenta Medicinskog fakulteta u Beogradu. Tokom studija bila je stipendista Fonda za mlade talente „Dositeja“ i Republike Srbije (2013. – 2017. godina).

Nagradu Asist. dr Zorana Penezić za uspeh ostvaren iz predmeta Interna medicina dobila je 2017. godine, nakon pisanja.



Lekarski staž obavila je na Institutu za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“, gde se i zaposlila u akciji Ministarstva zdravlja Republike Srbije, „posao za 100 najboljih diplomaca medicine u Srbiji 2018. godine“, posle položenog državnog ispita. Specijalizaciju iz pedijatrije na Medicinskom fakultetu u Beogradu upisala je aprila 2019. godine, a završila je 25.04.2023. godine sa odličnom ocenom. Nakon položenog specijalističkog ispita Dr Krasić je zapošljena u Službi za ispitivanje i lečenje bolesti srca i krvnih sudova, Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“.

Doktorske studija upisala je na budžetu na Medicinskom fakultetu, smer Medicinska farmakologija 2018. godine. Doktorska disertacija na temu “Mehanizmi redoks ravnoteže i inflamatornog odgovora nakon primene kortikosteroida u dece sa multisistemskim inflamatornim sindromom udruženim sa COVID-19“ odobrena je na Univerzitetom veću 12.07.2023. godine. Mentori doktorske disertacije su prof. dr Milica Bajčetić, Medicinski Fakultet Univerziteta u Beogradu i prof. dr Vladislav Vukomanović, Medicinski Fakultet Univerziteta u Beogradu.

Dr Staša Krasić je autor i koautor u 23 rada na SCI listi, sa kumulativnim IF 53,706 (H indeks 6), koji su citirani više od 100 puta. Prezentovala je brojne radove na domaćim i inostranim skupovima, koji su bili zapaženi i nagrađivani na: Globalnoj konferenciji studenata 2017. godine, skupu Mladih istraživača Evrope u Portu 2018. godine, petaestogodišnjoj konferenciji ESC radne grupe za bolesti perikarda i miokarda 2018. godine i šestom kongresu preventivne pedijatrije Srbije i prvoj regionalnoj konferenciji preventivne pedijatrije jugoistočne Evrope u Beogradu.

Sekretar je Internacionalnog udruženja za preventivnu pedijatriju jugoistočne Evrope od 2021. godine i organizator je tri kongresa udruženja koju su akreditovani kao međunarodni kongresi. Takođe, bila je član organizacionog odbora 55. i 53. poslediplomskom tečaju „Aktuelni problemi u pedijatriji 2023“ i šestog kongresa preventivne pedijatrije Srbije i prve regionalne konferencije preventivne pedijatrije jugoistočne Evrope.