

**КЛІНІКО-БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПЕРЕБІГУ ЗАХВОРЮВАННЯ
НА КАШЛЮК У ДІТЕЙ**

Кваліфікаційна робота

Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Виконала:

студентка 4 курсу, 411 групи

Кознюк Галина Миколаївна

Керівник:

кандидат біологічних наук,

асистент **Николайчук І.М.**

Анотація

Бакалаврська робота присвячена аналізу клініко-біохімічних показників перебігу кашлюку в дітей. У роботі проаналізовано титр антитіл IgM до *Bordetella pertussis* за умов перебігу легкої та середньоважкої форм захворювання, вміст лейкоцитів та лімфоцитів, рівень гемоглобіну та концентрація глюкози в крові.

Показано, що перебіг захворювання на кашлюк у дітей характеризується лейкоцитозом лімфоцитарного типу, що максимально виражено під час діагностування середньоважкої форми хвороби.

Під час перебігу середньоважкої форми кашлюку в дітей відбувається зниження рівня гемоглобіну, що може слугувати передумовою розвитку анемії.

За умов перебігу середньоважкої форми захворювання на кашлюк у дітей може виникати розвиток гіпоглікемії, пов'язаної із дією коклюшного токсину.

Ключові слова: лейкоцити, лімфоцити, гемоглобін, гіпоклікемія, *Bordetella pertussis*, кашлюк

Annotation

The bachelor thesis is devoted to the analysis of clinical and biochemical indicators of whooping cough in children. The work analyzed the titer of IgM antibodies to *Bordetella pertussis* under the conditions of the course of mild and moderate forms of the disease, the content of leukocytes and lymphocytes, the level of hemoglobin and the concentration of glucose in the blood.

It is shown that the course of whooping cough in children is characterized by leukocytosis of the lymphocytic type, which is maximally expressed during the diagnosis of a moderately severe form of the disease.

During the course of a medium-severe form of whooping cough in children, the level of hemoglobin decreases, which can serve as a prerequisite for the development of anemia.

Under the conditions of the course of a moderately severe form of whooping cough, children may develop hypoglycemia associated with the action of whooping cough toxin.

Key words: leukocytes, lymphocytes, hemoglobin, hypoglycemia, *Bordetella pertussis*, whooping cough

Кваліфікаційна робота містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів наукових досліджень інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ Г.М. Кознюк
(підпис)

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	7
1.1. Патогенність <i>Bordetella pertussis</i>	7
1.2. Метаболічна адаптація бордетел.....	10
1.3. Роль основних факторів вірулентності токсину при захворюванні на кашлюк.....	12
1.3.1. Колюшний токсин.....	12
1.3.2. Аденилатциклазотоксин-гемолізін.....	14
1.3.3. Трахеальний цитотоксин.....	15
1.4. Сучасна проблема <i>B. pertussis</i>	16
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	19
2.1. Об'єкти та матеріали досліджень.....	19
2.2. Загальний клінічний аналіз крові.....	19
2.3. Біохімічний аналіз крові.....	20
2.4. Визначення антитіл IgM до <i>Bordetella pertussis</i>	20
2.5. Визначення концентрації глюкози в крові.....	21
2.6. Статистична обробка даних.....	22
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	23
ВИСНОВКИ.....	31
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	32
ДОДАТКИ.....	36

ВСТУП

Нині в Україні значно зростає рівень захворюваності на кашлюк. За даними МОЗ, за січень і лютий 2024 року зареєстровано 515 випадків, хоча минулого року в цей же самий час їх було лише 27. У багатьох звітах задокументовано, що 95,9% усіх хворих – це діти переважно дошкільного віку, підлітки, рідше дорослі. Зростання рівня захворюваності на кашлюк помітили ще в 2023 році. Основна причина, як пояснюють у Міністерстві охорони здоров'я, – це низький рівень охоплення вакцинацією дітей [1].

Кашлюк (коклюш) – респіраторне захворювання, яке викликається бактерією *Bordetella pertussis*. Кашлюк характеризується вираженим лейкоцитозом, бронхопневмонією, гіпоглікемією та пароксизмальним кашлем. Під час катаральної стадії *B. pertussis* колонізує епітелій верхніх дихальних шляхів. Після колонізації *B. pertussis* виділяє токсини, зокрема кашлюковий токсин і аденілатциклазний токсин. Після катаральної стадії настає нападopodobна, яка характеризується сильними нападами кашлю. Вроджені та адаптивні імунні відповіді призводять до очищення бактерії, що дозволяє хворому одужати [2].

Незважаючи на дослідження, повне розуміння патогенезу *B. pertussis* залишається невловимим через такі причини, як тиск вакцини, відсутність прогностичних моделей та еволюція штаму. Однією з головних причин цієї прогалини в знаннях є відсутність відповідної тваринної моделі, яка має загальні симптоми хвороби, як у людей. Крім нелюдських приматів, щури є єдиною іншою відомою моделлю кашлюку, яка має подібні прояви кашлю, як і у людей. На даний момент походження або тригер кашлю ще не встановлено. Щуряча модель кашлюку пропонує потенційну тваринну модель, яку можна використовувати для оцінки патогенезу *B. pertussis* [3].

Bordetella pertussis виробляє кілька токсинів, які впливають на взаємодію хазяїн-патоген. З них основними токсинами, які сприяють кашлюковій інфекції та захворюванню, є кашлюковий токсин, аденілатциклазний токсин-гемолізін і трахеальний цитотоксин. Кашлюковий

токсин — це білковий токсин із кількома субодиницями, який пригнічує передачу сигналів G-білка-рецептора господаря, спричиняючи широкий спектр ефектів на господаря. Токсин-гемолізін аденілатциклази є єдиним поліпептидом, що містить ферментативний домен аденілатциклази, з'єднаний з доменом гемолізіну, який головним чином націлюється на фагоцитарні клітини для пригнічення їхньої антибактеріальної активності. Трахеальний цитотоксин — це фрагмент пептидоглікану, що вивільняється *B. pertussis*, який викликає пошкодження запальних реакцій у клітинах господаря [4].

Хоча збільшення кількості зареєстрованих інфекцій частково пояснюється більшою обізнаністю про інфекцію серед дорослих, очевидно, що інфекції трапляються як у раніше інфікованих, так і у вакцинованих людей. Таким чином, як інфекційний, так і вакцинований імунітет є відносно короткочасними, що робить підлітків і дорослих чутливими до повторного зараження. Це пояснює постійний рівень інфекції *B. pertussis* серед немовлят, незважаючи на високий рівень охоплення вакцинацією: підлітки та дорослі є раніше невідомим резервуаром *B. pertussis*, від якого заражаються сприйнятливі немовлята, які надто малі, щоб отримати повну вакцинацію [5].

Мета роботи – проаналізувати клініко-біохімічні показники перебігу кашлюку в дітей.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Патогенність *Bordetella pertussis*

Висококонтagioзний збудник кашлюку *Bordetella pertussis* розвинувся як збудник, обмежений для людини, від попередника, який також дав початок *Bordetella parapertussis* і *Bordetella bronchiseptica*. Хоча останній колонізує широкий спектр ссавців і здатний виживати в навколишньому середовищі, *B. pertussis* втратив здатність виживати за межами свого хазяїна через масовий розпад геному. Натомість він став надзвичайно успішним патогеном людини завдяки придбанню жорстко регульованих факторів вірулентності та еволюційному пристосуванню свого метаболізму до своєї конкретної ніші. Завдяки застосуванню арсеналу високотехнологічних факторів вірулентності він долає багато вроджених імунних захистів. Він також перешкоджає індукованому вакциною адаптивному імунітету різними механізмами [6].

Bordetella pertussis є основним збудником коклюшу або паракоклюшу, гострого респіраторного захворювання, яке тяжко вражає маленьких дітей, але також становить значний тягар захворювання у підлітків і дорослих. Незважаючи на дуже високий глобальний рівень охоплення вакцинацією, який становить близько 85%, за останніми моделями щорічно реєструється 24 мільйони випадків, що спричиняє понад 160 000 смертей у дітей віком до 5 років. Тим не менш, багато випадків залишаються недіагностованими [7].

Ця хвороба переважно вражає країни з низьким рівнем доходу. Однак, незважаючи на рішучу політику імунізації з 1950-х років, навіть промислово розвинені країни не змогли викоринити хворобу. Насправді за останні 10 років у кількох країнах було зареєстровано повторну появу цього збудника, включаючи понад 15 000 випадків, діагностованих у 2019 році в Сполучених Штатах. Для дітей, які інфікуються у віці до 6 місяців, рівень госпіталізації становить понад 40 %. Декілька факторів можуть пояснити тенденцію до зростання захворюваності на кашлюк, включаючи вдосконалення діагностичних методів, зумовлений вакциною антигенний дрейф

циркулюючих штамів, коротку тривалість захисту, викликану безклітинними вакцинами проти кашлюку, і неспроможність поточних вакцин запобігти інфекції *B. pertussis* та передачі [8].

Bordetella pertussis і *B. bronchiseptica* є грамнегативними бактеріальними респіраторними збудниками. *Bordetella pertussis* є збудником коклюшу і вважається адаптованим для людини варіантом *B. bronchiseptica*.

Деякі механізми патогенезу є загальними для видів *Bordetella*. Наприклад, як у *B. pertussis*, так і в *B. bronchiseptica* транскрипційна активація більшості факторів вірулентності контролюється двокомпонентною системою, кодовою локусом *bvg*. Цей локус кодує сенсорний білок гістидинкінази, *BvgS*, і ДНК-зв'язуючий білок-регулятор реакції, *BvgA*. У відповідь на сигнали навколишнього середовища *BvgAS* контролює експресію спектру фенотипових фаз, що переходять між вірулентною (*Bvg* +) фазою та невірулентною (*Bvg* -) фазою, процес, який називають фенотиповою модуляцією.

Під час вірулентної фази *Bvg* + система *BvgAS* є повністю активною та експресується багато відомих факторів вірулентності, таких як ниткоподібний гемаглютинін, пертактин, фімбрії, токсин аденілатциклаза-гемолізін і дермонекротичний токсин, а також система секреції типу III (TTSS/T3SS). Навпаки, *BvgAS* неактивний під час фази *Bvg* - , що призводить до максимальної експресії локусів рухливості, генів, які пригнічують вірулентність (гени *vrg*) і генів, необхідних для виробництва уреаз. Попередні дослідження з участю фазово-блокованих та ектопічних експресійних мутантів продемонстрували, що фаза *Bvg*+ сприяє колонізації дихальних шляхів *B. pertussis* та *B. Bronchiseptica*. *Bvg*- фаза *B. bronchiseptica* сприяє виживанню в умовах дефіциту поживних речовин [9].

Bordetella потрапляє через заражені краплі від інших господарів. Вони виявляють сильний тропізм до війок слизової оболонки дихальних шляхів, які є основним, якщо не єдиним місцем інфікування цих бактерій. Колонізація супроводжується проліферацією на війчастій поверхні слизової оболонки, що

призводить до ціліостазу, пошкодження респіраторного епітелію, індукції виділення слизу та запального напливу в просвіт дихальних шляхів. Порушення нормальної функції в'їчастої слизової оболонки та пошкодження респіраторного епітелію є основними патологіями, пов'язаними з багатьма інфекціями *Bordetella* [10].

Незважаючи на близьку генетичну спорідненість, *B. pertussis* і *B. bronchiseptica* відрізняються кількома класичними фундаментальними аспектами бактеріальних патогенів, такими як діапазон хазяїв, патології та стійкість. *Bordetella pertussis* є збудником коклюшу (зазвичай його називають коклюш), дуже заразної інфекції дихальних шляхів. Незважаючи на стійкий рівень вакцинації, що перевищує 95% у Сполучених Штатах, хвороба залишається ендемічною серед населення. Тільки люди природним чином інфіковані *B. pertussis*, і інфекція призводить до гострого захворювання без ознак тривалого носійства. Через суворі обмеження щодо хазяїна, відсутність тривалого носійства та відсутність тваринного резервуару та здатності виживати в навколишньому середовищі, збереження *B. pertussis* у популяції вимагає безперервного ланцюга передачі.

Хвороба характеризується пароксизмальними спазмами кашлю, які, як вважають, сприяють передачі. Велику кількість бактерій можна виділити з дихальних шляхів на ранніх стадіях інфекції, але здатність виділити бактерії зменшується в міру прогресування інфекції, і бактерії рідко виділяються від пацієнтів на стадії пароксизмального кашлю. Найбільш заразними вважаються ранні стадії інфекції, які виникають після появи кашлю та коли кількість бактерій у дихальних шляхах ще висока. Ранні епідеміологічні дослідження коклюшу визначили прямий, тривалий контакт з інфікованою особою як джерело інфекції для господаря. Повідомлення про частоту нападів у невакцинованих дітей у дослідженнях побутових контактів становили від 58 до 100% [11].

Нещодавнє дослідження домогосподарств у Новому Південному Уельсі показало, що частота вторинних нападів була нижчою у вакцинованих

домашніх контактів і в первинних випадках, які отримували лікування антибіотиками протягом 7 днів після виявлення захворювання. Дослідження, що вивчають частоту нападів серед шкільних закладів, показали показники від 0 до 36%, що підтверджує вимогу тривалого тісного контакту для передачі. Варто зазначити, що на час цих досліджень не існувало доказів передачі кашлюку повітряно-крапельним шляхом між господарями. Найперша задокументована гіпотеза про те, що кашлюк може поширюватися повітряно-крапельним шляхом, виникла в 1916 році і походить від спостереження, що випадки кашлюку можна простежити до контакту з неінфікованими особами в кінотеатрі, що спонукало автора припустити, що «харкотиння з інфікованих дітей переносили повітряними потоками до необмеженої кількості осіб». Минуло майже 100 років, перш ніж гіпотезу цього автора було підтверджено в добре контрольованих дослідженнях, у яких можна було виключити передачу контактним шляхом [12].

1.2. Метаболічна адаптація бордетел

Метаболізм *B. pertussis* здебільшого вивчався *in vitro*, в основному через необхідність визначити оптимальні потреби росту *B. pertussis* для виробництва вакцини. *B. pertussis* росте повільно, навіть за оптимальних умов. Він не може використовувати цукор як джерело вуглецю, оскільки в його геномі відсутні три гени, що кодують ферменти, залучені в гліколітичний шлях (глюкокіназа, фосфоглюкокіназа та фруктозо-1,6-бісфосфат) [13].

Молекулами, які найбільш легко метаболізуються *B. pertussis*, є амінокислоти, найефективнішою з яких є глутамат. *B. pertussis* можна вирощувати з глутаматом як єдиним джерелом вуглецю та цистеїном як джерелом сірки, демонструючи, що всі будівельні блоки клітини можуть бути синтезовані лише з кількох джерел. Глутамат потрапляє в цикл трикарбонових кислот через глутаматдегідрогеназу, звідки він може надходити в різні гілки, такі як глюконеогенез для синтезу цукрів або анаболізм інших амінокислот. Хоча спочатку передбачалося, що *B. pertussis* має неповний цикл ЦТК,

оскільки він не може рости на цитраті, усі гени, необхідні для повноцінного функціонального циклу Кребса, присутні в його геномі й експресуються. Крім того, їх продукти є функціонально активними [14].

Порівняно з *B. pertussis*, *B. bronchiseptica* здатний використовувати більш широкий спектр субстратів, включаючи цукри, що сумісно з його екологічною нішею. Ця різниця в метаболізмі між двома видами також може бути пов'язана з різницею в специфічності хазяїна. Оскільки бактерія *B. pertussis* дуже обмежена в організмі господаря, вона, ймовірно, адаптувала свій метаболізм, щоб використовувати переваги того, що легко доступно в її специфічній ніші носоглотки людини, і, можливо, втратила здатність метаболізувати різні субстрати, включаючи цукри. Натомість він зберіг широкий метаболічний потенціал і здатний синтезувати більшість того, що необхідно для росту, за кількома винятками, такими як нікотинова кислота і глутатіон [8].

Ранні труднощі при вирощуванні *B. pertussis* в лабораторії були пов'язані з інгібіторними молекулами, присутніми або в середовищах, або виробленими під час росту, зокрема жирними кислотами. Таким чином, такі речовини, як крохмаль, кров або гептакис ((2,6-О-диметил) β -циклодекстрин), необхідні в середовищі для росту, щоб запобігти пригніченню росту через присутність жирних кислот. Пальмітинова кислота та інші жирні кислоти були виявлені в клітинних екстрактах *B. pertussis* у концентраціях, які, ймовірно, були інгібуючими, що свідчить про те, що вони є побічними продуктами росту. Цікаво, що чутливість до жирних кислот, здається, була спеціально відібрана для *B. pertussis* і не поділяється для *B. bronchiseptica*. Відсутність росту *B. pertussis* у присутності жирних кислот можна подолати шляхом відновлення функціональності оперону, що кодує ефлюксийний насос, ген якого інактивований у геномі *B. pertussis* через вставку зі зсувом рамки. Вироблення аутоінгібіторних вільних жирних кислот під час росту виглядає нелогічно. Можливо, що зростання в інфікованому хазяїні не призводить до виробництва цих жирних кислот у достатній кількості, щоб

вплинути на ріст, або що жирні кислоти вимиваються або нейтралізуються під час росту *in vivo*. Про це свідчить висока щільність бактерій (до 10^8 КУО/мл), яку можна виділити з промивних рідин із носа інфікованих бабусів, які не містять бактерій, прикріплених до тканини та утворюючих біоплівки. Таким чином, бактерії не перешкоджають досягненню високої щільності *in vivo*. Актуальність утворення та чутливості до жирних кислот *in vivo* невідома та не досліджена [15].

1.3. Роль основних факторів вірулентності токсину при захворюванні на кашлюк

1.3.1. Колюшний токсин

Коклюшний токсин (КТ) — білковий токсин із кількома субодинами (АВ 5), що виділяється *B. pertussis*. КТ зв'язує глікозилізовані молекули клітинної поверхні ссавців ненасичуючим і неспецифічним способом, що вказує на відсутність специфічного рецептора. КТ піддається ендоцитозу та транспортується ретроградним шляхом до ендоплазматичного ретикулуму, звідки субодина А (S1) переміщується в цитозоль. У цитозолі S1 ADP-рибозилує альфа-субодина гетеротримерних G-білків класу G у клітинах ссавців, інгібуючи активацію цих G-білків пов'язаними з лігандом G-білковими рецепторами (GPCR). Ця модифікація має багаторазовий вплив на активність клітин-господарів, оскільки багато різних GPCR з'єднуються з білками G.

Зв'язування пентамера КТ з клітинами ссавців викликає різні сигнальні ефекти незалежно від ферментативної активності S1, але ці ефекти є відносно тимчасовими та залежать від концентрації і неясно, чи є ця зв'язувальна та сигнальна активність *in vivo*. КТ є важливим фактором вірулентності для *B. pertussis* і займає центральне місце в патогенезі кашлюкової інфекції та захворювання, а детоксикована форма КТ є важливим компонентом безклітинних кашлюкових вакцин, які зараз використовуються [16].

Системне введення очищеного КТ експериментальним тваринам має різноманітні біологічні та токсичні ефекти. Найважливішим з них є лейкоцитоз, значне збільшення кількості циркулюючих лейкоцитів, що також є характерною ознакою у немовлят, хворих на кашлюк, високі рівні якого корелюють із летальним наслідком. КТ, ймовірно, індукує лейкоцитоз через ряд механізмів, включаючи знижену експресію молекул поверхневої адгезії лейкоцитів, таких як LFA-1 і CD62L, інгібування LFA-1-залежної зупинки лімфоцитів на високих ендотеліальних венулах лімфатичних вузлів та інгібування сигналізації хемокінового рецептора, що впливає на міграцію лейкоцитів. КТ при лікуванні експериментальних тварин також має несприятливий вплив на контроль частоти серцевих скорочень та інших серцевих функцій, незалежно від лейкоцитозу [17].

Іншим ефектом КТ є зниження цілісності судинного бар'єру, що може сприяти патогенезу експериментального аутоімунного енцефаліту на тваринних моделях, деякі з яких використовують КТ як ад'ювант стимуляції захворювання. Це призвело до нещодавніх припущень, що ефекти КТ від субклінічних інфекцій кашлюку можуть сприяти загостренню розсіяного склерозу у людей. Інші наслідки системного введення КТ включають вазоактивну сенсibiliзацію до гістаміну та індукцію інсулінемії/гіпоглікемії, хоча не ясно, чи мають вони відношення до захворювання на кашлюк у людей [18].

КТ також може бути важливою мішенню для терапії проти кашлюку. В одному дослідженні внутрішньовенне введення протикашлюкового імуноглобуліну (P-IGIV), який містить високі рівні анти-КТ антитіл, призвело до значного зниження лейкоцитозу у немовлят, хворих на кашлюк, і зменшення нападів пароксизмального кашлю та брадикардії. На тваринних моделях лікування гуманізованими мишачими моноклональними антитілами, специфічними для КТ, було більш ефективним, ніж P-IGIV, у запобіганні лейкоцитозу у мишей і зниженні лейкоцитозу при терапевтичному введенні інфікованим бабуїнам, підкреслюючи терапевтичний потенціал цього підходу.

Зовсім недавно було виявлено, що інгібітори циклофілінів, такі як циклоспорин А, пригнічують активність КТ у культивованих клітинах, що представляє додаткову терапевтичну стратегію, спрямовану на КТ [19].

1.3.2. Аденілатциклазотоксин-гемолізін

Токсин-гемолізін аденілатциклази (СуаА, АСТ або АС-Hly) є цитотоксином повторного токсину (RTX), який експресується трьома близькоспорідненими видами *Bordetella*, *B. pertussis*, *B. parapertussis* і *B. Bronchiseptica*. Цей поліпептид із 1706 амінокислот кодується суаА в опероні, що містить гени апарату секреції типу I суаВ, суаD і суаЕ. СуаА містить N-кінцевий ферментний домен аденілатциклази (АС) із 364 амінокислотними залишками та С-кінцевий фрагмент гемолізіну RTX із ~1300 залишків. Частина гемолізіну складається з гідрофобного пороутворюючого домену, активного домену, що містить два посттрансляційно ацильованих залишки лізину (Lys 860 і Lys 983), домен RTX, що зв'язує рецептор, із характерними нонапептидними повторами, багатими на гліцин та аспартат, що зв'язують кальцій і сигналом С-кінцевої секреції для системи секреції I типу. Цей токсин відіграє ключову роль у встановленні *B. pertussis* інфекції. Діяльність, опосередкована як АС, так і гемолізиновими доменами СуаА, функціонує, щоб підірвати вроджений імунітет господаря і таким чином полегшити початкову колонізацію. Сучасні рецептури безклітинних кашлюкових вакцин не містять СуаА. Проте останнім часом зосереджено увагу на дослідженнях, що з'ясовують структурно-функціональний зв'язок СуаА, з метою використання цього нового розуміння для раціональної розробки кандидатів на вакцину СуаА [20].

Однак, на відміну від RT, який традиційно діє як розчинний фактор, екзогенне введення рекомбінантного СуаА не вдається врятувати фенотип *B. pertussis* «дикого типу» у мишей, інфікованих суаА-дефіцитним штамом. Дослідження *in vitro* продемонстрували швидку агрегацію СуаА в розчині. Таким чином, гіпотетично СуаА є короткоживучим токсином, що діє в

безпосередній близькості від бактерії, але точну роль розчинного та пов'язаного з бактеріями СуаА ще належить визначити. З огляду на те, що СуаА функціонує на місці контакту бактерія-хазяїн, цей токсин не сприяє системним патологіям під час інфекції *B. pertussis*.

У дослідженнях з використанням моноклональних антитіл і сироватки крові реконвалесцентів було виявлено, що антитіла проти СуаА сприяють фагоцитозу *B. pertussis* нейтрофілами, підтверджуючи один потенційно сприятливий ефект включення антигену СуаА в aPv. Крім того, виявилось, що опосередкований антитілами СуаА кліренс нейтрофілів *B. pertussis* є важливим у моделі імунного зараження мишей. Враховуючи потенціал опосередкованої СуаА токсичності, поточні дослідження щодо розробки СуаА як антигену вакцини зосереджені на розмежуванні мінімально необхідних ділянок СуаА, які забезпечують захисний імунітет. Дослідження Wang et al. показують, що RTX-домен СуаА був достатнім для генерації нейтралізуючих антитіл і може являти собою альтернативу використанню СуаА повної довжини. Дійсно, у мишачій моделі включення домену RTX призвело до посилення бактеріального кліренсу після зараження *B. pertussis*, збільшення вироблення анти-КТ антитіл, зниження вироблення прозапальних цитокінів і зменшення загального залучення макрофагів [21].

1.3.3. Трахеальний цитотоксин

Трахеальний цитотоксин (ТСТ) — це фрагмент пептидоглікану (PGN), який виділяє *B. pertussis*. Переробка PGN – це процес, який використовують бактерії під час поділу клітин. Спочатку PGN перетворюється на свої складові частини, які потім стають доступними бактеріям для використання в синтезі більшої кількості PGN або для використання як джерело енергії. Бактерії, що продукують молекули PGN, що містять діамінопімелінову кислоту (DAP), або PGN типу DAP, такі як *Bacillus subtilis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Lactobacillus acidophilus* і *B. pertussis*, втрачають велику кількість (25–50%) DAP від клітинної стінки до свого середовища росту порівняно з *E. coli* (6%). Пермеаза

внутрішньої мембрани AmpG є ключовим компонентом у цьому процесі. Однак у *Bordetella* цей транспортер є дефектним, що призводить до накопичення позаклітинних фрагментів PGN. Понад 95% цих фрагментів PGN, вивільнених із *Bordetella*, мають структуру N-ацетилглюкозамініл-1,6-ангідро-N-ацетилмураміл-L-аланін-D-глутаміл-мезоDAP-D-аланін.

Цей вивільнений мономерний фрагмент PGN становить фактор вірулентності TCT. TCT є фрагментом тетрапептиду дисахариду PGN вагою 921 дальтон. Безводна природа ацетилмурамілсахариду вказує на те, що TCT — це не просто випадково вивільнений фрагмент PGN (який міститиме залишки відновлення, а не безводної мурамової кислоти). Це відкриття призвело до гіпотези про те, що TCT обробляється за допомогою ще неідентифікованої муреїнтрансглікозилази [4].

Рецептори розпізнавання образів хазяїна викликають вроджену відповідь на фрагменти PGN. Після вивільнення з клітинної стінки бактерій клітини без війок епітелію дихальних шляхів інтерналізують TCT. TCT потрапляє в цитозоль через транспортер PGN Slc46A2, де він розпізнається рецептором розпізнавання паттернів Nod1 (нуклеотид-зв'язуючий домен 1) і виробництво IL-1 α клітинами мишачого епітелію дихальних шляхів без війок, синергетично з ЛПС, що ні TCT, ні ліпоолігосахарид *Bordetella* (LOS) не викликають сильного виробництва IL-1 α окремо.

Поєднання цих двох факторів є потужним продуцентом. Додатково до цього відноситься вироблення оксиду азоту (NO), який дифундує до сусідніх клітин із війками, сприяючи запаленню, опосередкованому NO та IL-1 α , TCT пригнічує хемотаксис нейтрофілів шляхом запобігання оптимальним імунним реакціям [12].

1.4. Сучасна проблема *B. pertussis*

Зниження імунітету. Як інфекційний, так і вакцинований імунітет до *B. pertussis* слабшає в підлітковому віці, в результаті чого популяція значною мірою вразлива до повторного зараження і є джерелом інфекції для

сприйнятливих немовлят. Чому імунітет короткочасний, невідомо. Як і у випадку з більшістю патогенів, дослідження *B. pertussis* зосереджено на його здатності викликати захворювання, і тому більшість бактеріальних факторів, які були досліджені, пов'язані з вірулентністю. Це призвело до упередженого вибору компонентів для безклітинної кашлюкової вакцини таким чином, що вони складаються з адгезивних молекул ниткоподібного гемаглютиніну, пертактину та фімбрій та інактивованого кашлюкового токсину. Зараз очевидно, що деякі з цих факторів (наприклад, ниткоподібний гемаглютинін) не тільки спричиняють пошкодження тканин, але й змінюють імунну відповідь людини-господаря, сприяючи персистенції бактерії. Таким чином, можливо, що використання цих факторів як компонентів вакцини призводить до тієї самої імуномодуляції, яка відбувається під час інфекції та впливає на характер і, таким чином, на тривалість результуючого імунітету. Дослідження впливу імуносупресії компонентами *B. pertussis* на імунітет тривають [22].

Антигенна варіація. Суперечлива гіпотеза полягає в тому, що штами *B. pertussis*, які зараз циркулюють у популяції, урізноманітнилися з дуже обмеженої кількості штамів, які використовуються для створення вакцин, так що індукований вакциною імунітет не повністю розпізнає та захищає від поточних хвороботворних штамів. Хоча дані свідчать про те, що існує розбіжність між білковими послідовностями пертактину та кашлюкового токсину у вакцинних штамів порівняно з тими, що виявляються в штамів, які зараз поширюються, деякі експерти стверджують, що використання кількох компонентів у безклітинних вакцинах означає або те, що розбіжності лише в 1 або 2 з цих компонентів недостатньо, щоб поставити під загрозу імунітет, індукований вакциною, або щоб ці варіації не підірвали імунітет, індукований вакциною [23].

1.5. Клінічна картина кашлюка

Інкубаційний період перебігу кашлюка триває 3–14 діб, найчастіше це буває впродовж 5–8 діб. Загальна симптоматика складається з 3 періодів:

- **катаральний період** – на ранньому етапі катарального періоду кашлюк є найбільш контагіозним при рівні вторинної ураженості, що доходить до 90% серед неімунних контактів у домогосподарстві. Непроліковані хворі можуть бути джерелом поширення інфекції протягом трьох тижнів або довше з початку типового нападоподібного кашлю, хоча здатність передачі збудника різко знижується після закінчення катарального періоду.
- **пароксизмальний (судомний період)**. Цей період характеризується більш частим і спастичним кашлем, і в цей період час нападу кашлю можна почути класичний шум при вдиху (але проявляється який завжди).
- **період реконвалесценції**. Період одужання характеризується менш частим і менш сильним кашлем.

Безсимптомні або клінічно слабкі виражені інфекції зустрічаються часто, особливо серед раніше щеплених осіб старшого віку. Інкубаційний період, як правило, становить 9-10 днів (інколи 6 до 20 днів). Класична клінічна картина у дітей є нападами кашлю, які закінчуються характерним галасливим вдихом з післякашльовим блюванням. Однак у дітей раннього дитячого віку кашлюк може спочатку проявлятися у вигляді апное (зупинка дихання) чи епізодів розвитку ціанозу (синюшність до появи кашлю). У розвинених країн у до 6% нещеплених дітей можуть спостерігатися ускладнення, такі як бронхопневмонія, при вищій частоті серед дітей раннього віку. У країнах, що розвиваються, хоча дані епіднагляду за кашлюком менш надійні, середній розрахунковий показник летальності складає 4% серед немовлят у віці < 12 місяців та 1% серед дітей у віці 1-4 роки; смертність при кашлюку може досягати 1% смертності серед дітей у віці < 5 років, причому найбільшому ризику схильні немовлята, які не досягли віку щеплення [24].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкти та матеріали досліджень

У роботі проаналізовані результати клініко-лабораторних досліджень дітей віком 7-12 років, які навчаються у Вовчківському ліцеї імені Василя Равлюка Снятинської міської ради Коломийського району Івано-Франківської області та проходили лікування на базі Снятинської центральної районної лікарні.

Усі діти були з діагнозом кашлюк легкої та середньоважкої форми. З анамнезу життя встановлено, що діти були щеплені згідно з календарем профілактичних щеплень. Коли почалося захворювання з'явився рідкісний кашель на тлі нормальної температури тіла. Лікувалися проводили спочатку народними симптоматичними засобами, але кашель посилювався, більш вночі, набуваючи нападopodobного характеру. Після цього переважно всі зверталися до педіатра, були призначені азитроміцин, амброксол гідрохлорид. Кашель зберігався частий, нападopodobний, з повторною блювотою. Захворювання розцінювалося як перебіг трахеобронхіту, рекомендовано амбулаторне лікування.

2.2. Загальний клінічний аналіз крові

Загальний клінічний аналіз крові – це кількісне визначення гематологічних параметрів, пов'язане з дослідженням мазка крові, яке дає цінну інформацію, орієнтуючи на правильне проведення подальших цілеспрямованих специфічних лабораторних тестів. Проводили аналіз за допомогою гематологічного аналізатора.

Розгорнутий аналіз крові в лабораторії полягає у дослідженні наступних параметрів:

- кількість лейкоцитів (WBC),
- кількість еритроцитів (RBC),
- концентрація гемоглобіну (HGB),

- гематокрит (HCT).
- Еритроцитарні індекси:
 - середній обсяг еритроцитів (MCV),
 - середній вміст гемоглобіну в еритроциті (MCH),
 - середня концентрація гемоглобіну в еритроциті (MCHC),
 - ширина розподілу еритроцитів (RDW-CV).
- кількість тромбоцитів (PLT),
- тромбокрит (PCT).
- Тромбоцитарні індекси:
 - середній обсяг тромбоцитів (MPV),
 - ширина розподілу тромбоцитів за обсягами (PDW).
- Лейкоцитарна формула:
 - нейтрофільні гранулоцити (NEUT),
 - лімфоцити (LYMPH),
 - моноцити (MONO),
 - еозинофіли (EO),
 - базофіли (BASO).

2.3. Біохімічний аналіз крові

Біохімічний аналіз крові проводили на автоматичному біохімічному аналізаторі BS-240Vet, Mindray.

2.4. Визначення антитіл IgM до *Bordetella pertussis*

Антитіла до збудника кашлюку IgM, *Bordetella pertussis* IgM – кількісне визначення антитіл IgM до вірусу кашлюку (*Bordetella pertussis*), показника гострої фази інфекції проводили методом імуноферментного аналізу [25].

Імуноглобуліни класу IgM виробляються в крові першими у відповідь на впровадження або реактивацію збудника. Наявність цих антитіл свідчить про гостру фазу первинної інфекції (коли ще немає IgG) або реактивацію хронічної (на фоні виявлення IgG). АТ IgM не мають суворой специфічності, і тому

можуть бути хибнопозитивними. Це необхідно враховувати під час інтерпретації позитивного результату. Тривалість періоду виявлення в крові при первинній інфекції в середньому становить до 3 місяців, при реактивації — від кількох днів до кількох тижнів.

Дослідження націлене визначення антитіл класу IgM до антигенів клітин *Bordetella pertussis* і до токсину *Bordetella pertussis*.

Кров рекомендується здавати вранці, у період з 8 до 11 години. Взяття крові проводиться натще, через 4-6 годин голодування. Допускається вживання води без газу та цукру. Напередодні здачі дослідження слід уникати харчових перевантажень.

У набір входили: мікропланшет, концентрований буфер (20X), розріджувач сироватки – RT, кон'югатний розчинник, негативний контроль IgA та IgM, позитивний контрольний IgA та IgM, вирізний контроль IgA, контрольний показник IgM, HRP-кон'югат IgA (300X), HRP-кон'югат IgM (300X), ТМВ-субстрат, стоп розчин, кришка пластини, інструкція.

Інтерпретація результатів. < 9,0 – негативний, 9,0 – 11 – сумнівний, > 11 – позитивний.

Позитивний результат: існуюча чи нещодавня інфекція *Bordetella pertussis*; недавня вакцинація проти кашлюку.

Негативний результат: відсутність поточної чи нещодавньої інфекції *Bordetella pertussis*; відсутність чи низький титр IgM під час інфекції *B. pertussis*.

2.5. Визначення концентрації глюкози в крові

Концентрацію глюкози в сироватці крові визначали, використовуючи набір для ензиматичного визначення глюкози в крові [26].

Принцип методу полягає в тому, що внаслідок окиснення глюкози утворюється глюконова кислота та пероксид водню (H₂O₂). За дії пероксидази H₂O₂ вступає в реакцію з фенолом та 4-амінофеназолом, внаслідок чого

утворюється продукт – хінонімін червоно-фіолетового кольору. Інтенсивність його пропорційна кількості глюкози в крові.

Для проведення аналізу до 0,9 мл 1,34 % розчину щавлевокислого натрію, приготовленого на 0,85 % NaCl (стабілізуючий розчин), додавали 0,1 мл цільної крові. Для осадження еритроцитів проби центрифугували при 3000 об/хв протягом 5 хв.

До дослідної проби вносили 0,1 мл надосадової рідини та 1 мл розчину ензимів, що містив ензим пероксидазу (2200 ± 220) U/л, β , D-глюкооксидазу (18000 ± 1800) U/л, а також 4-амінофеназон (110 ± 11) мг/л і стабілізатори.

У калібрувальну пробу замість зразка вносили 0,1 мл калібрувального розчину глюкози. Вимірювання дослідних та калібрувальної проб проводили навпроти холостої проби, яка містила 0,1 мл фізіологічного розчину чи дистильованої води. Через 20 хв екстинкцію проб вимірювали при довжині хвилі 498 нм.

Розрахунок кількісної концентрації глюкози (в ммоль/л) проводили за формулою:

$$C = \frac{E_{\text{досл.}}}{E_{\text{кал.}}} \times 10, \text{ де:}$$

C – концентрація глюкози в дослідній пробі, ммоль/л;

10 – концентрація глюкози в калібрувальному розчині;

$E_{\text{досл.}}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{\text{кал.}}$ – екстинкція калібрувальної проби.

2.6. Статистична обробка даних

Статистичну обробку зібраних експериментальних даних здійснювали за допомогою програми *Microsoft Excel*, використовуючи вільне програмне забезпечення. Порівняння результатів здійснювали за критерієм t-Ст'юдента та. Усі відмінності між даними вважали достовірними, коли можливість помилки становила $p \leq 0,05$.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Коклюш – це гостре респіраторне захворювання, що викликається грамнегативною бактерією *Bordetella pertussis*. Типовий кашлюк характеризується важким, тривалим, спазматичним, нападаподібним кашлем, який важко протікає і особливо небезпечний для новонароджених та немовлят, у яких захворювання може закінчуватися смертельним наслідком. У щеплених дітей, підлітків та дорослих кашлюк, як правило, протікає з менш вираженими симптомами.

Коклюш є інфекцією, керованою засобами специфічної вакцинопрофілактики. Широке проведення імунізації проти кашлюку дозволило значно знизити рівень захворюваності порівняно з дощеплювальним періодом, проте елімінувати інфекцію не вдалося [27].

Календар профілактичних щеплень в Україні передбачає одержання 4-х доз вакцини проти кашлюку з використанням комбінованих вакцин: перша доза – 3 місяці (починаючи з 2018 року в 2 місяці), наступні дві дози вводяться з інтервалом 1 місяць між введенням, четверта доза – 18 місяців.

Поствакцинальний імунітет забезпечує захист від інфекції протягом 5-9 років, після чого раніше щеплені особи стають сприйнятливими до кашлюку, але переносять захворювання у легшій формі. Перенесене захворювання також не формує довічний імунітет, але захищає від інфекції більш тривалий період – 10-15 років.

Таким чином, захворювання на кашлюк може реєструватися серед осіб усіх вікових груп. Однак найбільшому ризику піддаються не щеплені діти та немовлята перших місяців життя, які не встигли отримати первинний курс імунізації.

Основними джерелами кашлюку для них є батьки та старші брати/сестри, які втратили поствакцинальний імунітет. Постановка діагнозу кашлюку у щеплених дітей та дорослих найчастіше скрутна через стерту клінічну картину захворювання та потребує специфічної лабораторної

діагностики. На сьогоднішній день немає одного конкретного методу достатнього для діагностики кашлюку. Усі сучасні методи – бактеріологічні, молекулярно-генетичні та серологічні – мають певні обмеження, та їх ефективність суттєво залежить від термінів захворювання [28].

Аналіз результатів на титр антитіл IgM до *Bordetella pertussis* у дітей із підозрою на кашлюк перевищував 11 Од/мл, що підтверджувало гостру фазу захворювання, оскільки < 9,0 Од/мл результат вважається негативним, 9,0 – 11 – сумнівним, > 11 – позитивним.

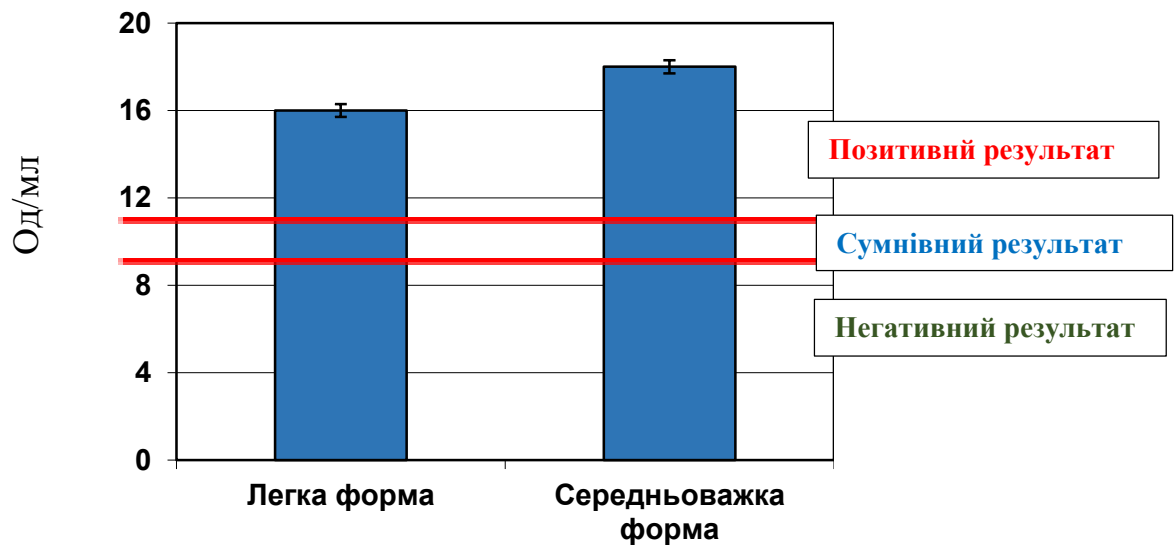


Рис. 3.1. Рівень антитіл IgM до *Bordetella pertussis* за умов перебігу захворювання на кашлюк

Антитіла IgM до збудника кашлюку *Bordetella pertussis* є специфічними імуноглобулінами, які виробляються нашою імунною системою у відповідь на потрапляння збудника в організм. Вони вважаються маркером гострої фази перебігу кашлюку, оскільки починають вироблятися з 8 дня після інфікування.

Аналіз результатів клініко-лабораторного обстеження дітей за умов перебігу захворювання на кашлюк вказує на виражений лейкоцитоз в обох групах хворих. Проте при легкій формі захворювання кількість лейкоцитів знаходилася в межах $15 \times 10^9/\text{л}$ (при нормі в дітей 7–12 років $4,5\text{--}10 \times 10^9/\text{л}$), тоді як під час перебігу середньоважкої форми даний показник досягав $22 \times 10^9/\text{л}$ (рис. 3.2).

Зазначається, що кількість лейкоцитів при перебігу даного захворювання може зростати до $40 \times 10^9/\text{л}$ і більше. Рівень лейкоцитозу у таких хворих майже завжди залежить від ступеня тяжкості захворювання. При цьому у хворих, яким раніше проводили вакцинацію проти коклюшу зміни клітинного складу крові спостерігаються рідше, а їх вираженість значно менша.

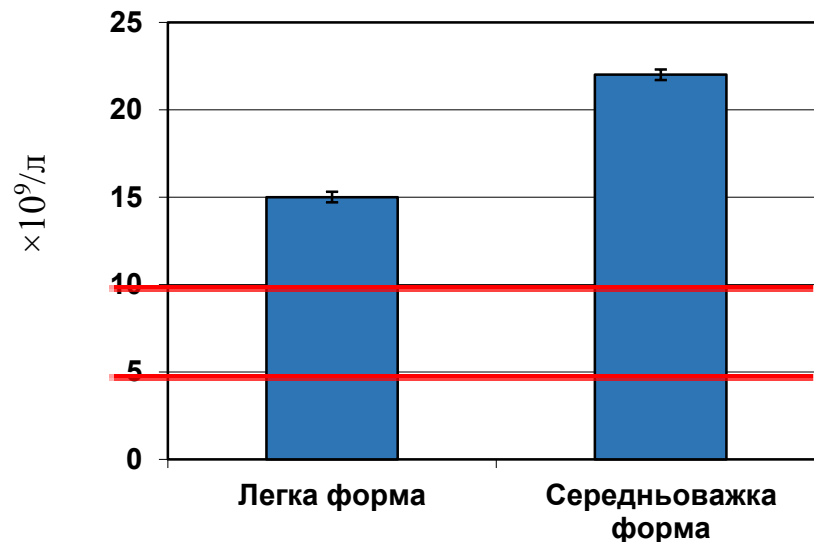


Рис. 3.2. Кількість лейкоцитів у крові дітей за умов перебігу захворювання на кашлюк

Механізм розвитку посиленого лейкоцитозу, коли кількість лейкоцитів зростає навіть $>100 \times 10^9/\text{л}$, пов'язаний з виділенням *B. pertussis* кашлюкового токсину. Даний токсин має здатність зв'язуватися з глікопротеїнами, які містять сіалову кислоту. Утворений комплекс призводить до порушення імунної відповіді шляхом блокування регульованих G-білками ферментів. Зростання рівня циркулюючих лейкоцитів проявляється аномальною агрегацією клітин у вогнищі запалення та гіпервізкозним синдромом. Таке скупчення значної кількості лейкоцитів в легневих артеріолах та венах призводить до зменшення кровотоку, порушення мікроциркуляції, підвищення опору судин, що може спровокувати легеневу гіпертензію. Цей процес супроводжується виходом лімфоцитів з білої пульпи селезінки, тимусу

та лімфатичних вузлів в кров, що проявляється підвищенням кількості лімфоцитів (лімфоцитозом).

Лейкоцитоз лімфоцитарного типу у периферичній крові – діагностична ознака та основна мета терапії. Цей гематологічний феномен зумовлений лімфостимулюючим ефектом кашлюкового токсину, і він найбільш типовий для дітей раннього віку та дітей, які не отримали вакцинацію [29].

Нами показано, що як легка, так і середньоважка форма захворювання на кашлюк характеризується зростанням кількості лімфоцитів до 64 % та 86 % відповідно, достовірно перевищуючи значення верхньої межі норми, яка для дітей даного віку становить 54 % (рис. 3.3).

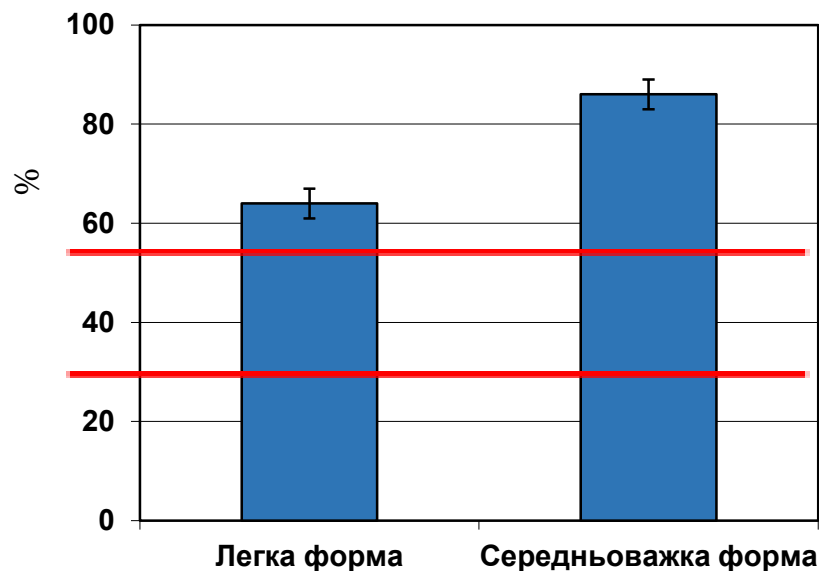


Рис. 3.3. Вміст лімфоцитів у крові дітей за умов перебігу захворювання на кашлюк

Інфекція *B. pertussis* призводить до утворення слизу, пошкодження легенів і проникнення клітинних інфільтратів у бронхіоли легенів. Легені немовлят з *B. pertussis* демонструють набряк, некротичний бронхіоліт і запалення в легенях, що призводить до респіраторного дистресу.

Тварини, піддані імітаційному зараженню кашлюком, демонстрували запальні інфільтрати, що склалися з вогнищевих накопичень мононуклеарних клітин у паренхімі та випадкових інфільтратів нейтрофілів, що оточують кровоносні судини. Найвищий показник гострого запалення

спостерігався на 1-й день після інфікування. У щурів спостерігалася легка або помірна нейтрофільна інфільтрація паренхіми, кровоносних судин і бронхіол. Маркери гострого запалення зникли через 6 днів після зараження; однак у інфікованих щурів на 9-й день спостерігалися очевидні відмінності в легенях, пов'язані з легкою та помірною інфільтрацією мононуклеарних клітин і сильнішим хронічним запаленням порівняно з тваринами, яким проводили імітаційний зараження [30].

На додаток до модифікації поверхні та утворення біоплівки для зменшення видимості імунною системою *B. pertussis* розробив стратегії, щоб підірвати механізми вродженого імунного захисту та змінити як вроджену, так і адаптовану імунну відповідь. Резидентні клітини, інфільтруючі моноцити та незрілі дендритні клітини є першими імунними клітинами, які відчують молекули *B. pertussis* через розпізнавання TLR та NOD NOD-подібними рецепторами. Активовані імунні клітини та інфіковані епітеліальні клітини вивільняють цитокіни та хемокіни, які опосередковують залучення та активацію поліморфноядерних нейтрофілів (PMN), макрофагів, природних клітин-кілерів (NK) і певних типів Т-лімфоцитів. Активовані вроджені клітини поглинають і вбивають бактерії і, таким чином, допомагають очистити інфекцію, тоді як антигенпрезентуючі клітини (АРК) забезпечують зв'язок між вродженим і адаптивним імунітетом, важливим для довгострокового захисту від (повторного) зараження. Стратегії, застосовані *B. pertussis* для подолання цих ліній захисту, включають інгібування переміщення клітин до дихальних шляхів, пригнічення активації фагоцитів, ініціювання загибелі клітин і блокування знищення, опосередкованого комплементом [31].

Таким чином, *B. pertussis* розгортає арсенал ефекторів, які підривають вроджену імунну відповідь. Загалом, антиімунні стратегії *B. pertussis* дозволяють бактеріям дуже ефективно колонізувати дихальні шляхи сприйнятливих господарів, що може пояснити його високу контагіозність.

Отже, перебіг захворювання на кашлюк у дітей характеризується лейкоцитозом лімфоцитарного типу, що максимально виражено під час діагностування середньоважкої форми хвороби.

Водночас нами відмічено, що за умов перебігу середньоважкої форми кашлюку в дітей зареєстровано незначне зниження рівня загального гемоглобіну в крові (до 93 г/л) при нормі в дітей вікової категорії 7–12 років 110–145 г/л (рис. 3.4.)

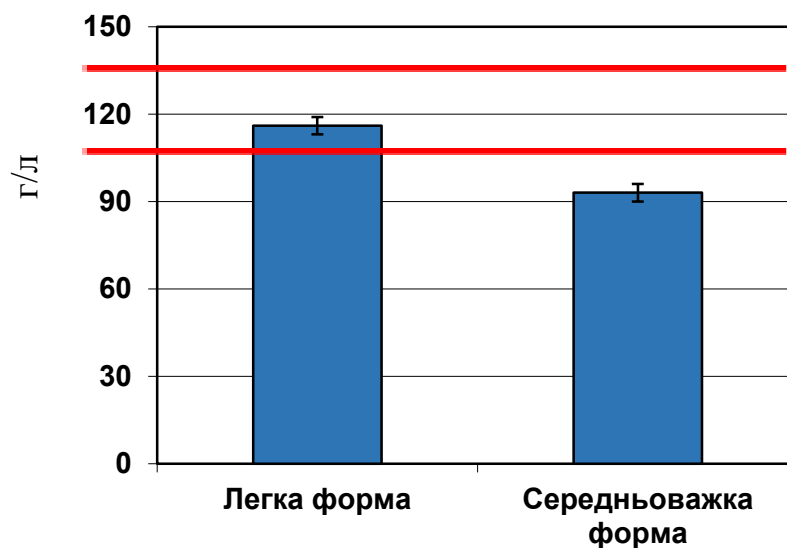


Рис. 3.4. Вміст загального гемоглобіну в крові дітей за умов перебігу захворювання на кашлюк

Потрапивши на слизові оболонки дихальних шляхів, збудник коклюшу колонізує клітини миготливого епітелію дихальної системи – гортані, трахеї і бронхів, досягаючи бронхіол і альвеол. Термолабільний дерматонекротоксин і трахеальний цитотоксин, які продукуються бактеріями, викликають розвиток запального процесу. Саме дія токсинів в подальшому визначає катаральну стадію розвитку захворювання. Маючи тропність до судинної і нервової системи, кашлюковий токсин всмоктується в крові та викликає порушення гемодинаміки. Наслідком цього процесу є гіпоксія.

Отже, під час перебігу середньоважкої форми кашлюку в дітей відбувається зниження рівня гемоглобіну, що може слугувати передумовою розвитку анемії.

При оцінці біохімічного аналізу крові необхідно звернути увагу на те, що під час середньоважкої форми перебігу кашлюка в дітей знижується рівень глюкози (рис. 3.5).

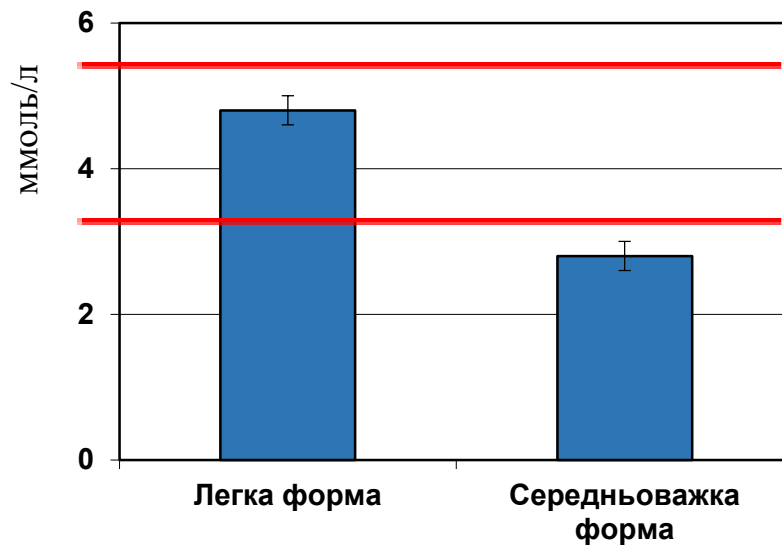


Рис. 3.5. Концентрація глюкози в крові дітей за умов перебігу захворювання на кашлюк

Деякі фактори вірулентності *B. pertussis* можуть впливати на метаболізм господаря. Дослідження повідомляли про гіпоглікемію у немовлят з кашлюком. Це було підтверджено в останніх дослідженнях, які показали, що рівні інсуліну вищі у пацієнтів з кашлюком, ніж у контрольній групі. У мишей, інфікованих *B. pertussis*, також розвивається гіперінсулінемія, що призводить до стану гіпоглікемії. Кашлюковий токсин (КТ), ймовірно, є ключовим фактором вірулентності, відповідальним за ці спостереження, оскільки він індукує секрецію інсуліну β -клітинами підшлункової залози і його називають протеїном, що активує острівці. Ін'єкція КТ діабетичним щурам призводить до нормалізації толерантності до глюкози. У людей рівень інсуліну підвищувався після однієї ін'єкції КТ, але концентрації глюкози не змінювалися, що вказує на те, що гіперінсулінемія у людей не обов'язково супроводжується гіпоглікемією. Тим не менш, ці дослідження показують системний ефект КТ під час інфікування людей і припускають, що цей токсин здатний відігравати певну роль у зміні метаболізму господаря. Гіпоглікемія у пацієнтів,

інфікованих *B. pertussis*, потенційно може знизити здатність їх імунної відповіді ефективно боротися з інфекцією, оскільки активовані імунні клітини потребують величезної кількості глюкози для своїх ефektorних функцій. Ефективні запальні реакції часто призводять до резистентності до інсуліну, щоб підвищити глікемію, щоб підживити їхні енергетичні потреби. Таким чином, КТ може врівноважити цей механізм через його гіперінсулінемічний ефект [8, 32].

Глюкоза є основним стимулятором секреції інсуліну β -клітинами підшлункової залози. Фізіологічні регулятори вивільнення інсуліну включають не тільки глюкозу, але й інші поживні речовини, такі як вільні жирні кислоти або амінокислоти, з одного боку, і гормони, включаючи глюкагон і норадреналін, з іншого боку. Усі вони мають спільне те, що вони передають сигнали через семитрансмембранні рецептори, зв'язані з білком G (GPCR), присутні на поверхні β -клітин підшлункової залози. Після зв'язування ліганду GPCR активують гетеротримерні білки G, тим самим модулюючи активність клітинних ефektorів. Широко визнано, що вивільнення інсуліну з β -клітин підшлункової залози може бути викликано через $G\alpha_s$ - та/або $Gq/G11$ -залежні механізми. КТ специфічно каталізує АДФ-рибозилування залишку цистеїну, розташованого за чотирма залишками від карбоксильного кінця α -субодиниць білків $G\alpha_i$ / $G\alpha_o$. Індукована глюкозою секреція інсуліну і стикування везикул, що містять інсулін, були збільшені за відсутності $G\alpha_o2$. Крім того, лікування КТ мишей з дефіцитом $G\alpha_o$ мало незначний вплив на вже порушену секрецію інсуліну. Ці результати вказують на те, що білки $G\alpha_o$ є основною ізоформою, відповідальною за КТ-чутливе інгібування секреції інсуліну [33].

Отже, за умов перебігу середньоважкої форми захворювання на кашлюк у дітей може виникати розвиток гіпоглікемії, пов'язаної із дією коклюшного токсину.

ВИСНОВКИ

1. Перебіг захворювання на кашлюк у дітей характеризується лейкоцитозом лімфоцитарного типу, що максимально виражено під час діагностування середньоважкої форми хвороби.

2. Під час перебігу середньоважкої форми кашлюку в дітей відбувається зниження рівня гемоглобіну, що може слугувати передумовою розвитку анемії.

3. За умов перебігу середньоважкої форми захворювання на кашлюк у дітей може виникати розвиток гіпоглікемії, пов'язаної із дією коклюшного токсину.