

**Кафедра біохімії ім. професора О.О. Пентюка  
ВНМУ ім. М.І. Пирогова**

**ВК 5.3 КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ та МІКРОБІОЛОГІЯ  
(МОДУЛЬ 1. Клінічна біохімія)**

**ЛЕКЦІЯ 3. КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ЗАПАЛЕННЯ ТА  
ІМУННОЇ СИСТЕМИ. НОВІТНІ БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ  
ЗАПАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ**

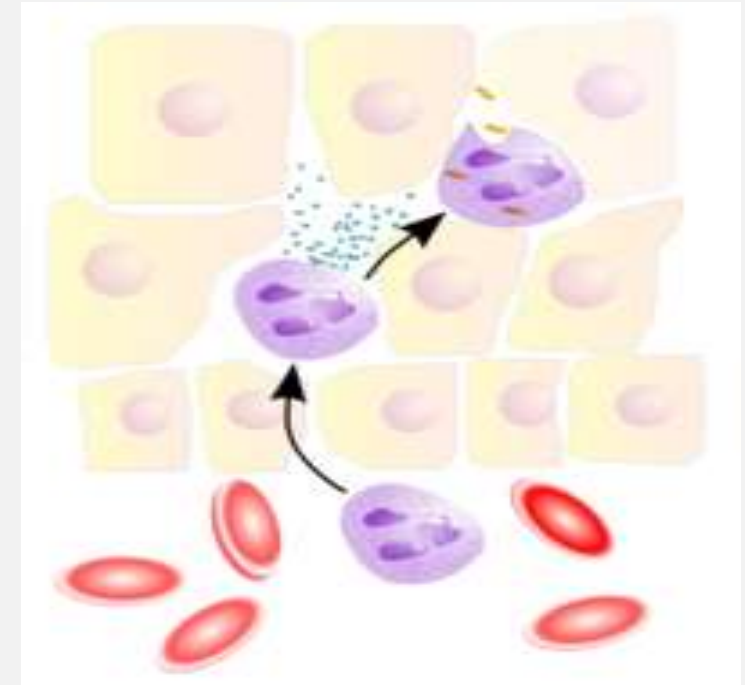
**Розробник: професор Наталія ЗАІЧКО**

# ПЛАН

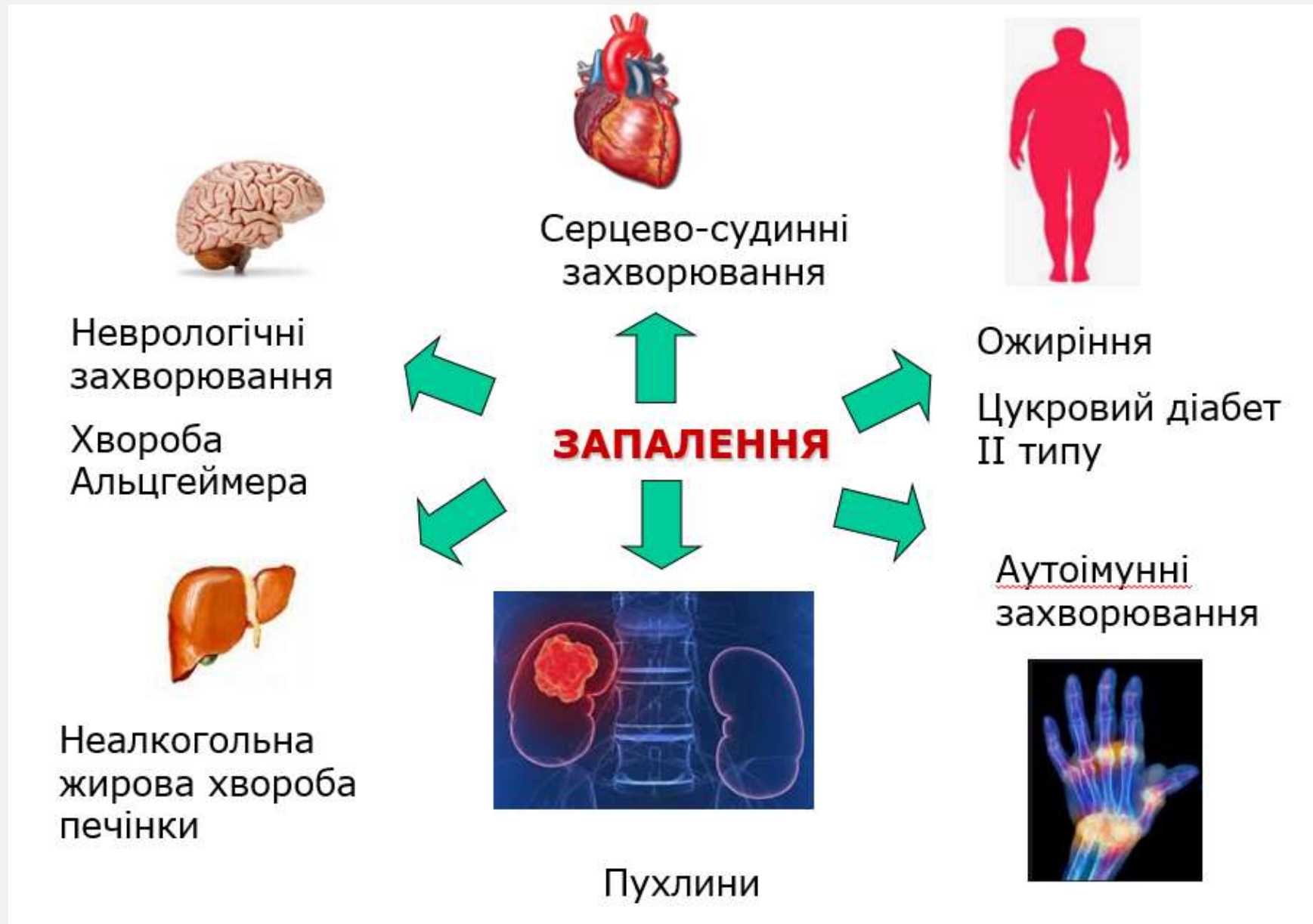
- Вступ. Визначення запалення. Біологічне значення. Класифікація флогогенних чинників. Фактори патогенності мікроорганізмів.
- Патогенетичні стадії запалення (альтерація, ексудація, проліферація). Пусковий механізм запалення. Етапи запальної відповіді.
- Тол-подібні рецептори.
- Медіатори запалення: визначення, класифікація за походженням (клітинні, плазмові), за хімічною природою та спрямуванням дії
- Ліпідні медіатори запалення: особливості утворення (ізоформи циклооксигенази, ліпооксигенази), біологічні ефекти.
- Активні форми кисню, нітроген монооксид та гідроген сульфід як медіатори запалення.
- Білки гострої фази та особлива роль СРБ, прокальцитоніну, пресепсину

**Запалення (*inflammatio*)** - це еволюційно сформована реакція живої тканини на пошкодження, яка спрямована на знешкодження пошкоджуючого агента і відновлення тканини

- Роль запалення полягає в ліквідації чи обмеженні вогнища пошкодження.
- Біологічна доцільність запальної реакції має відносний характер, оскільки запалення нерідко стає причиною захворювання, що веде до смерті організму.
- Запалення є пристосувальною реакцією, яка має позитивне значення для виду в цілому, при цьому може призвести до негативних наслідків для індивідууму.



# Із запальною реакцією пов'язують патогенез «хвороб цивілізації»

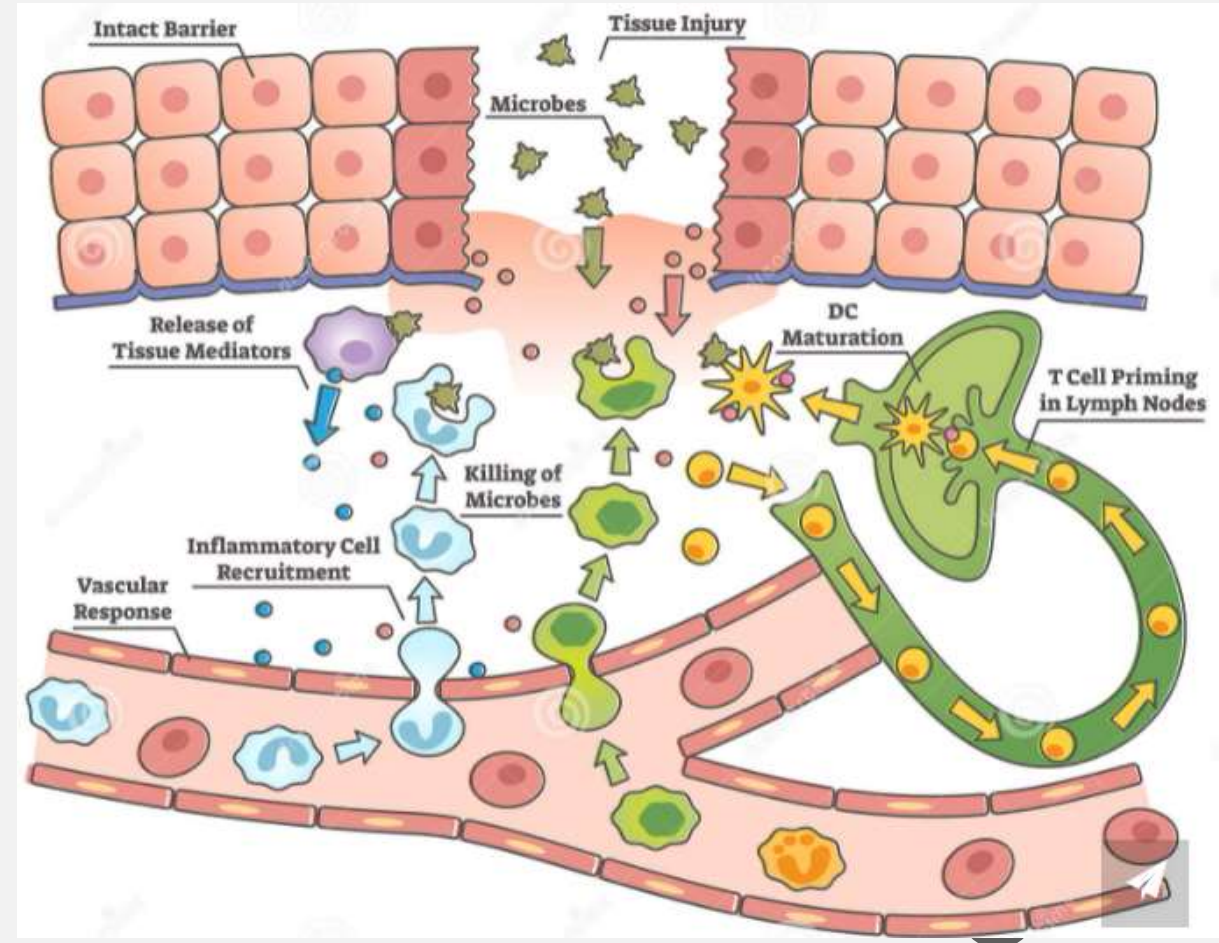


# ОСНОВНІ ЕТАПИ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ

Запальна реакція виникає лише у васкуляризованих тканинах.

Патофізіологічні симптоми запалення спричинені екстравазацією плазми і лейкоцитарною інфільтрацією у вогнищі ушкодження.

1. Вазодилатація і посилення припливу крові
2. Збільшення проникності судинної стінки і акумуляція медіаторів запалення в осередку ураження
3. Хемотаксис і клітинна інфільтрація
4. Зміна анаболічного і катаболічного профілю органів
5. Активація клітин імунної системи і ферментних систем плазми крові



# ФЛОГОГЕННІ ФАКТОРИ

## Екзогенні

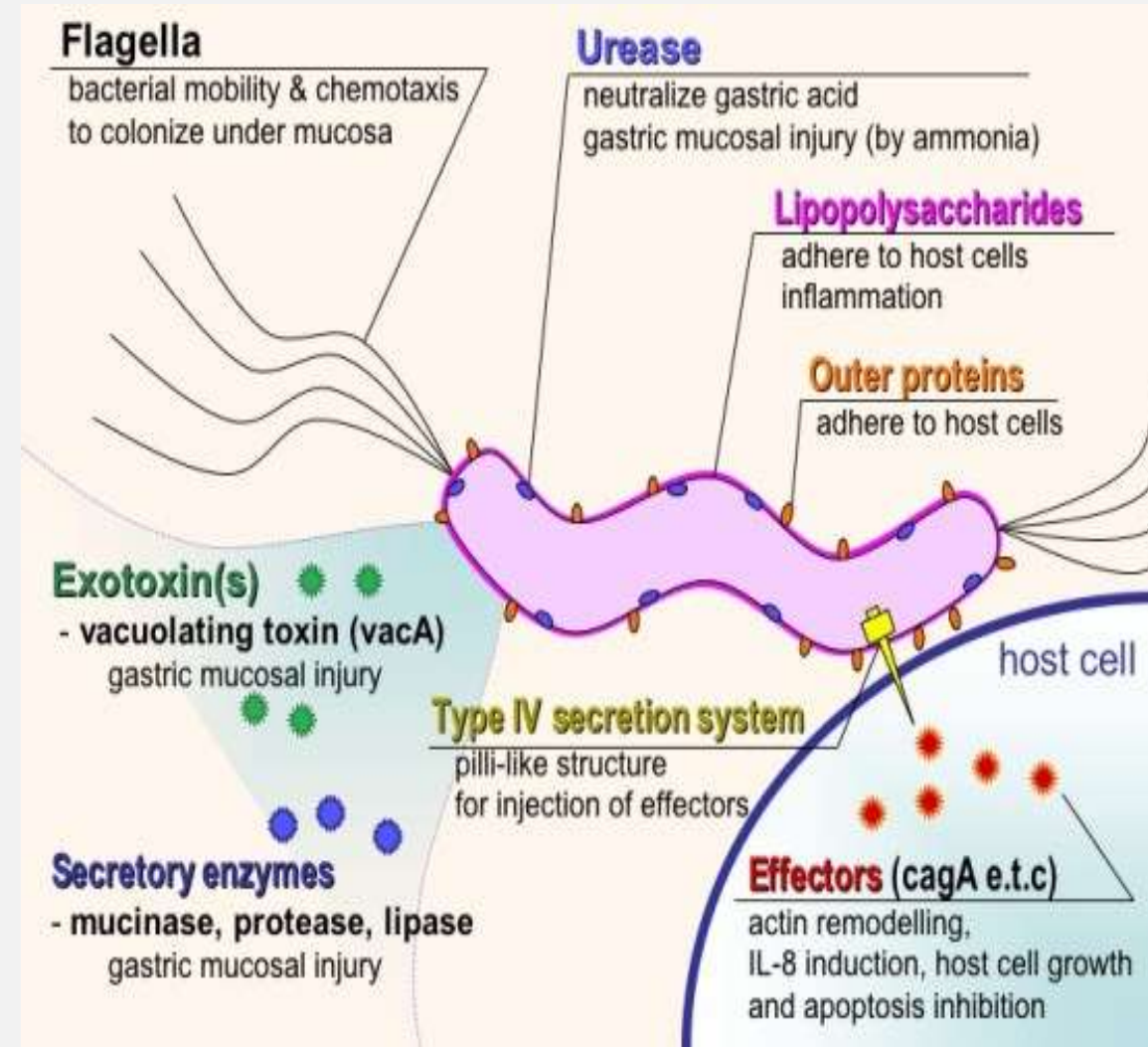
- ☆ Механічні (травми)
- ☆ Фізичні (високі та низькі температури, рентгенівске, іонізуюче, УФ випромінювання)
- ☆ Хімічні (кислоти, луги, отрути та ін.)
- ☆ Біологічні (віруси, бактерії, найпростіші, гельмінти та ін.)

## Ендогенні

- ☆ Жовчні і сечові камені
- ☆ Пухлини
- ☆ Комплекси антиген-антитіло (АГ-АТ)
- ☆ Метаболіти:  
сечова кислота,  
гомогентизинова кислота

# ФАКТОРИ ПАТОГЕННОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ

- **ФАКТОРИ АДГЕЗІЇ ТА КОЛОНІЗАЦІЇ БАКТЕРІЙ** - розпізнають рецептори клітин макроорганізму, прикріплюються до них і колонізують.
- **ФАКТОРИ ІНВАЗІЇ** – забезпечують проникнення бактерії в клітину, це білки зовнішньої мембрани.
- **ФАКТОРИ, ЩО ПЕРЕШКОДЖАЮТЬ ФАГОЦИТОЗУ** – капсула мікроорганізму, білок А у стафілококів, білок М у стрептококів.
- **ФАКТОРИ, ЩО СПРИЯЮТЬ ПОШИРЕННЮ ЗБУДНИКА ПО ТКАНИНАМ ГОСПОДАРЯ** - мікробні фосфоліпази, сфінгомієлінази, протеази, гіалуронідаза та інші.
- **БАКТЕРІАЛЬНІ ЕНДОТОКСИНИ** - ліпополісахариди та асоційовані з ними білки клітинної стінки, які вивільняються після загибелі клітини. Притаманні грам-негативним бактеріям.
- **БАКТЕРІАЛЬНІ ЕКЗОТОКСИНИ** - токсичні молекули білкової природи, які секретуються бактеріальними клітинами в навколишнє середовище.



# ГРУПИ БАКТЕРІАЛЬНИХ ТОКСИНІВ ЗА МЕХАНІЗМОМ ДІЇ

Група	Молекулярна мішень	Представники
Токсини, що пошкоджують мембрани клітин господаря, викликають утворення пор в мембранах.	Білки та ліпіди плазматичної мембрани клітин	O-перфринголізин <i>Clostridium perfringens</i> , гемолізін <i>Escherichia coli</i> та O-стрептолізин <i>Streptococcus pyogenes</i> (мішень - плазматична мембрана клітин).
Токсини, що гальмують синтез білка в клітинах організму господаря.	Фактори біосинтезу білка (фактори трансляції)	Дифтерійний токсин <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , екзотоксин <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (блокують дію факторів елонгації), токсин Шига <i>Shigella dysenteriae</i> .
Токсини, що впливають на утворення вторинних месенджерів та вивільнення нейромедіаторів.	Ферменти та білки внутрішньоклітинних сигнальних систем	Токсини патогенних <i>Escherichia coli</i> (стимулюють активність гуанілатциклази), набряковий фактор <i>Bacillus anthracis</i> (стимулює аденілатциклазу), холерний і коклюшний токсини (через АДФ-рибозилтрансферазу активують G-білки), ботулінічний та клостридіальний токсини (блокують синаптичну передачу).
Токсини, що активують імунну відповідь макроорганізму (суперантигени)	Рецептори клітин імунної системи	Ентеротоксин та токсин синдрому токсичного шоку <i>S.aureus</i> , пірогенний екзотоксин <i>S.pyogenes</i>
Токсини-протеази, металопротеїнази	Клітинні та субклітинні структури, компоненти сигнальних систем	Летальний фактор <i>B.anthraxis</i> (Zn-металопротеїназа), нейротоксини <i>C.botulinum</i> , токсин <i>Clostridium tetanus</i>

# Патогенетичні механізми запалення

## Альтерація

### Пусковий механізм запалення:

- пошкодження тканин патогеном
- утворення медіаторів запалення
- зниження активності тканинного дихання
- дефіцит АТФ
- ацидоз, гіпоксія
- в/кліт набряк

## Ексудація

### Утворення ексудату (клітинні елементи, білки запалення, білки плазми крові)

- обмеження вогнища запалення,
- нейтралізація токсинів

## Проліферація

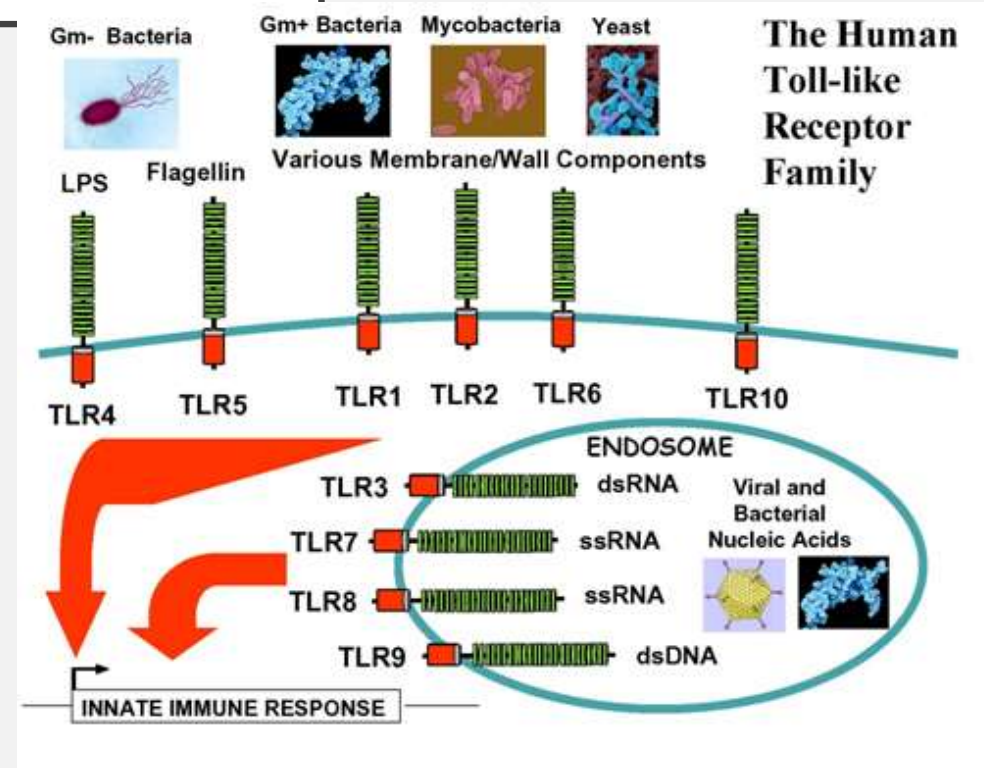
### Проліферація клітинних елементів у вогнищі запалення:

- Т- і В-лімфоцитів,
- фібробластів.

### Продукція колагену, глікозаміногліканів, (сполучна та рубцева тканини)

# ПУСКОВИЙ МЕХАНІЗМ ЗАПАЛЕННЯ

- Пусковим механізмом запалення є активація екстрацелюлярних рецепторних комплексів (в т.ч., тол-подібних рецепторів) під дією прозапального чинника, з трансдукцією запального сигналу у клітину, з наступною появою адапторних молекул.
- Адапторні молекули активують спеціальні протеїнкінази (NF- $\kappa$ B-індукуючу кіназу, ІЛ-1-рецептор-асоційовану кіназу, мітогенактивовану протеїнкіназу).
- Активовані протеїнкінази далі активують фактори транскрипції, через які відбувається трансдукція регуляторного сигналу в ДНК і активується експресія понад 200 генів прозапальних медіаторів



**TLRs** – клас простих, мембранозв'язаних, некаталітичних білків-рецепторів. Розпізнають біополімери збудників, знаходяться на клітинах фізіологічних бар'єрів організму (шкіри, ШКТ, імунних клітин), активують імунну відповідь та запальну реакцію в клітинах

# ЕТАПИ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ

Запальний  
сигнал

Нуклеарний фактор NF-κB, активаторний протеїн AP-1



Транскрипція прозапальних генів



**Синтез головних прозапальних медіаторів**  
цитокінів (ФНП $\alpha$ , ІЛ-1, ІФН $\gamma$ ), хемокінів, молекул адгезії, білків апоптозу, металопротеїназ, гострофазних білків



**Активація ключових ферментів запалення**  
фосфоліпази A2, циклоксигенази 2, ліпооксигенази, індукцибельної синтази оксиду азоту

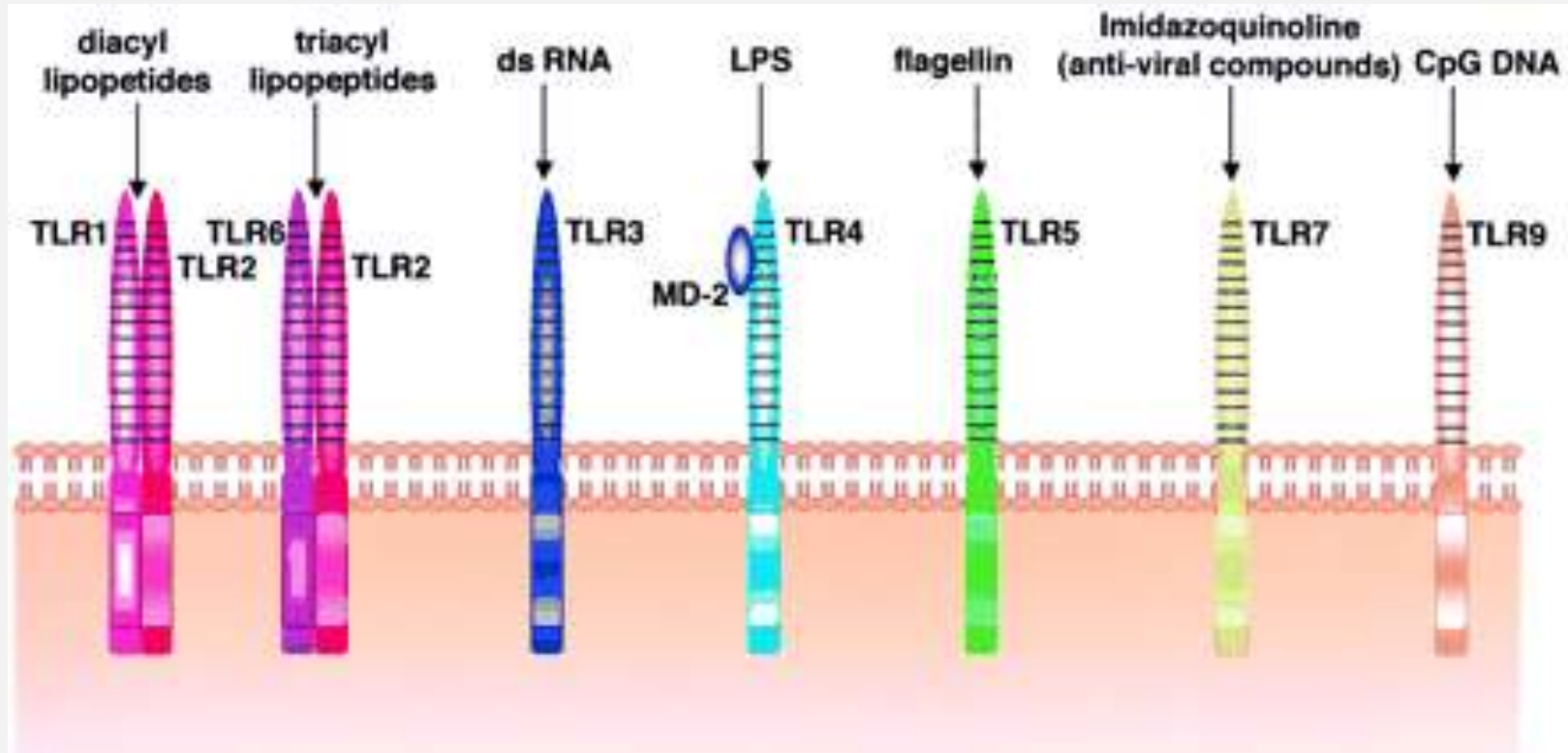


**Синтез прозапальних медіаторів, активація виконавчих ферментів**  
Вивільнення арахідонової кислоти, синтез ейкозаноїдів, NO, цитокінів.  
Активація НАДФН-оксидази та мієлопероксидази макрофагів та нейтрофілів.  
Синтез супероксидного радикала, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, гіпохлорит-аніону, пероксинітриту.



**Активація фагоцитозу, знешкодження патогену,  
пошкодження тканин**

# TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРИ (TLR)



TLR розташовані на поверхні натуральних кілерів, Т- та В-лімфоцитів, нейтрофілів, моноцитів, макрофагів та інших клітин органів, що контактують з зовнішнім середовищем

# Ліганди Toll-like рецепторів

## екзогенні

### Біополімери збудників:

*Ліпопротеїни  
Пептидоглікани  
Ліпополісахариди  
Гліколіпіди  
Ліпотейхоєві кислоти  
Модулін стафілококів  
Флагелін джгутикових  
бактерій  
ДНК та РНК вірусів та інші*

### Toll-like рецептори

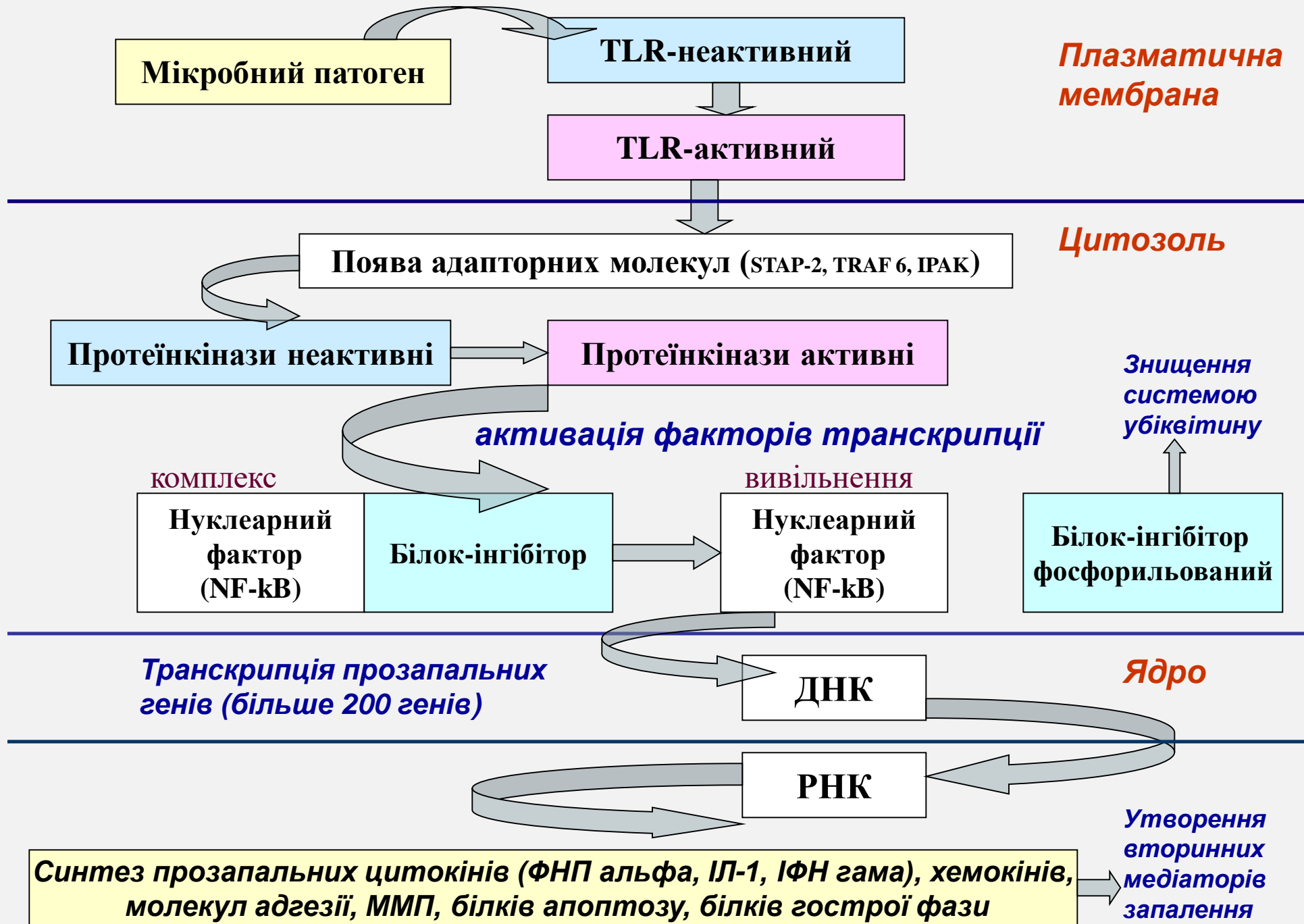
TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7,  
TLR8, TLR9

## ендогенні

*Активні форми кисню  
Некротизовані клітини  
Білки теплового шоку  
Фібронектин  
Фібриноген  
Гепарансульфат  
Гіалуронан  
Білок А легеневого  
сурфактанту  
Фізично та хімічно  
модифікована ДНК*

### Toll-like рецептори

TLR2, TLR4, TLR9



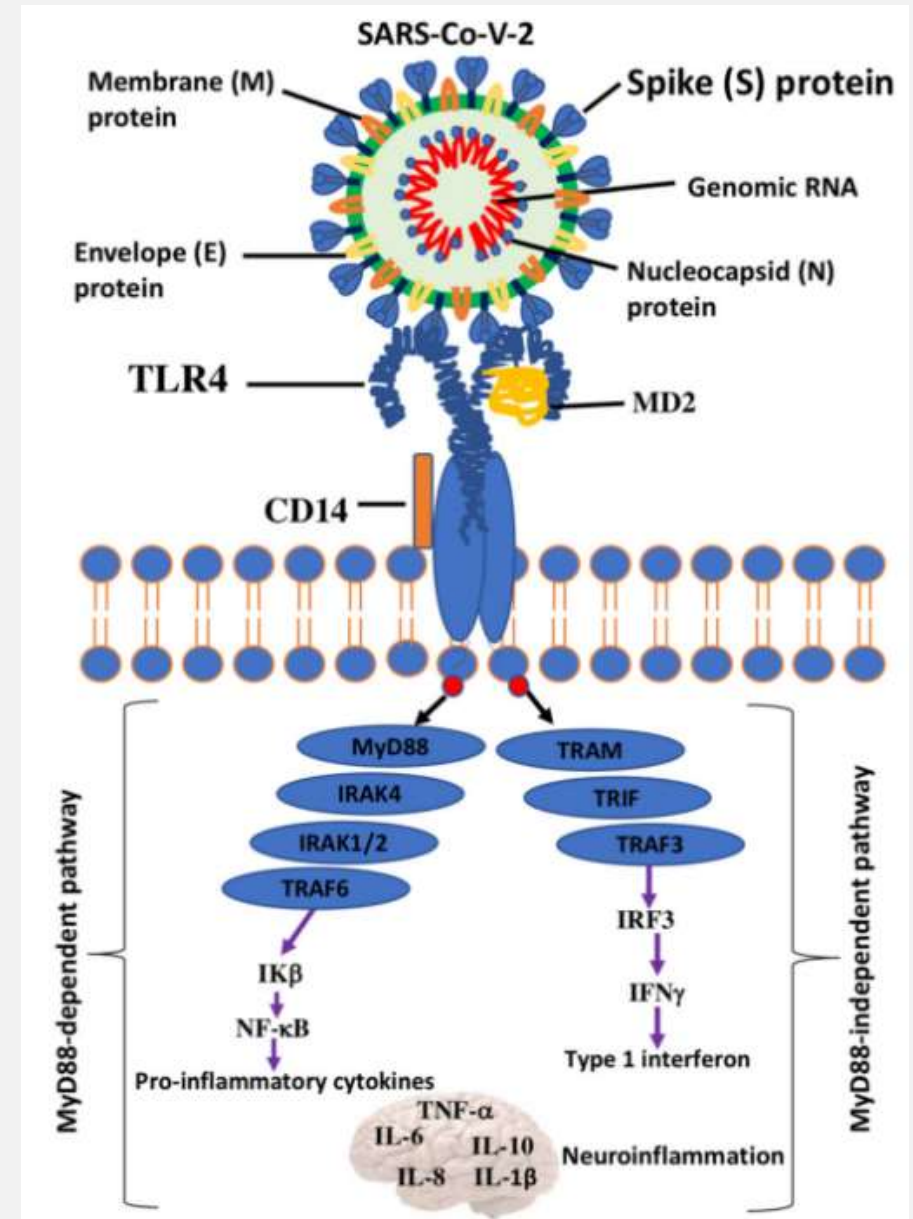
## РОЛЬ TLRs У РОЗВИТКУ ЗАХВОРЮВАНЬ

Тип TLR	Асоційована патологія
TLR2	Системний червоний вовчак (СВЧ), сепсис, атеросклероз, гіпертензія, псоріаз, ХОЗЛ
TLR3	Сепсис. атеросклероз
TLR4	СВЧ, сепсис, атеросклероз, гіпертензія, псоріаз, запальні захворювання кишечника, пухлини ШКТ, астма, ХОЗЛ
TLR5	Псоріаз
TLR7	СЧВ, інсульт, псоріаз
TLR9	СЧВ, сепсис

## TLR4 і SARS-CoV-2

- Виявилось, що SARS-CoV-2 проникає в клітину-хазяїна і активує TLR4-залежний сигнальний шлях на ранній стадії інфекції.
- Спайковий S-глікопротеїн зв'язує та активує TLR4, трансмембранний білок і член родини toll-подібних рецепторів, що викликає підвищення експресії ACE2 в легенях та інших тканинах. Це зумовлює поширення інфекції SARS-CoV-2 в організмі.
- У пацієнтів з тяжким перебігом COVID-19 надмірна активація TLR4 спайковим S-глікопротеїном призводить до надмірного вивільнення прозапальних цитокінів та розвитку гіперзапалення – «цитокінового шторму», що спричиняє тяжкі ураження органів-мішеней і обтяжує перебіг ковідної пневмонії, міокардиту, нейрозапалення.

Рис .<https://doi.org/10.1101/2021.08.11.455921>



## РЕГУЛЯТОРИ АКТИВНОСТІ TLRs – ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ У МЕДИЦИНІ

- PAMP бактерій, вірусів та грибків є сильними активаторами природженої імунної відповіді, тому на їх основі створюються високоефективні імунотропні лікарські препарати.
- За напрямком дії ці препарати можуть бути двох типів:
- **агоністи TLRs** — імуностимулюючі препарати
- **антагоністи TLRs** — імуносупресанти, спрямовані на корекцію хронічних імунозапальних процесів.
- Засоби з такою дією знаходяться на етапі доклінічних та клінічних випробувань.

# РЕГУЛЯТОРИ АКТИВНОСТІ TLRs – ЯК ПЕРСПЕКТИВНІ ЛІКАРСЬКІ ЗАСОБИ

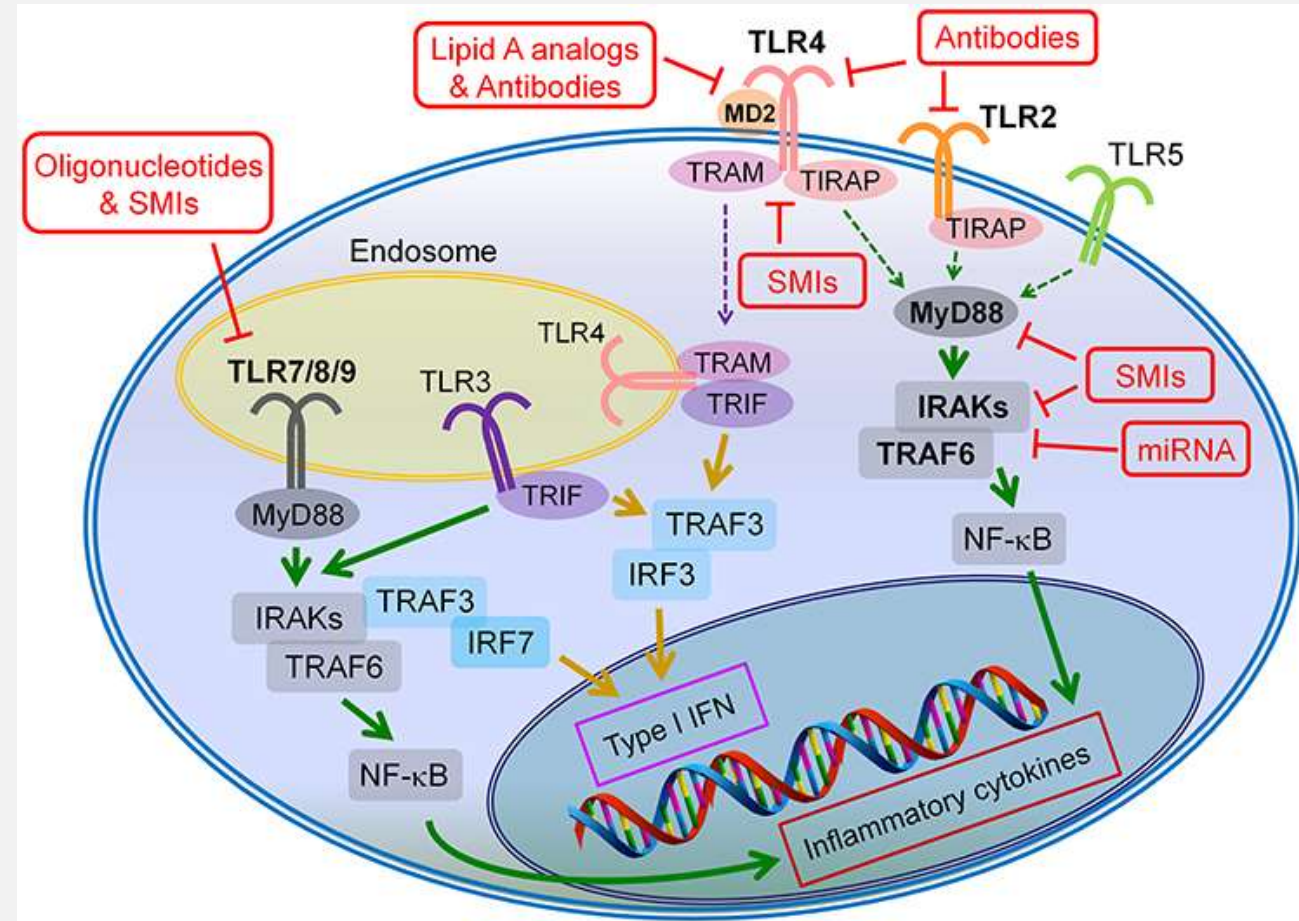
Інгібування дії TLRs може досягатись двома шляхами:

- блокування зв'язування лігандів з відповідними TLRs
- інгібування внутрішньоклітинних сигнальних систем

Типи інгібіторів TLRs:

- Низькомолекулярні інгібітори
- Антитіла
- Олігонуклеотиди
- Аналоги ліпиду А
- Мікро РНК
- Нано-інгібітори

Мінімально біологічно активні фрагменти, виділені з ліпополісахариду — монофосфорил-ліпід А (агоніст TLR4) вже використовують як ад'юванти, що входять до складу вакцин з метою посилення їх імуногенних властивостей.



# Медіатори запалення

## Екзогенні

### Бактеріальні продукти та токсини:

- фактори адгезії та колонізації,
- фактори інвазії (білки зовнішньої мембрани)
- фактори, що перешкоджають фагоцитозу (капсула мікроорганізмів, білок А стафілококів, білок М стрептококів)
- фактори розповсюдження (фосфоліпази, сфінгоміелінази, протеази, гіалуронідази)
- ендотоксини (ЛПС)
- екзотоксини

## Ендогенні

• **Медіатори ранньої фази** – утворюються в перші 6 годин

• **Медіатори пізньої фази** – утворюються через 6-12 годин

### Походження:

- **Клітинні медіатори**
- **Плазменні медіатори**

## Ранні клітинні медіатори

Вазоактивні аміни  
гістамін, серотонін

Активні форми  
кисню, азоту, хлору

Циклічні нуклеотиди  
(цАМФ, цГМФ), ІМФ

## Плазменні медіатори

Система компліменту,  
система гемостазу  
(фактор Хагемана,  
фібриноген), кініни

**Медіатори  
запалення**

Газотрансмітери  
NO, CO, H<sub>2</sub>S

## Пізнні клітинні медіатори

### Ліпідні медіатори:

- простагландини,
- лейкотрієни,
- ізопростани,
- лізофосфоліпіди,
- фактор активації тромбоцитів

### Цитокіни:

- Прозапальні  
(ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6, ФНПа,  
інтерферон-γ)
- Протизапальні  
(ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-13)

### Хемокіни:

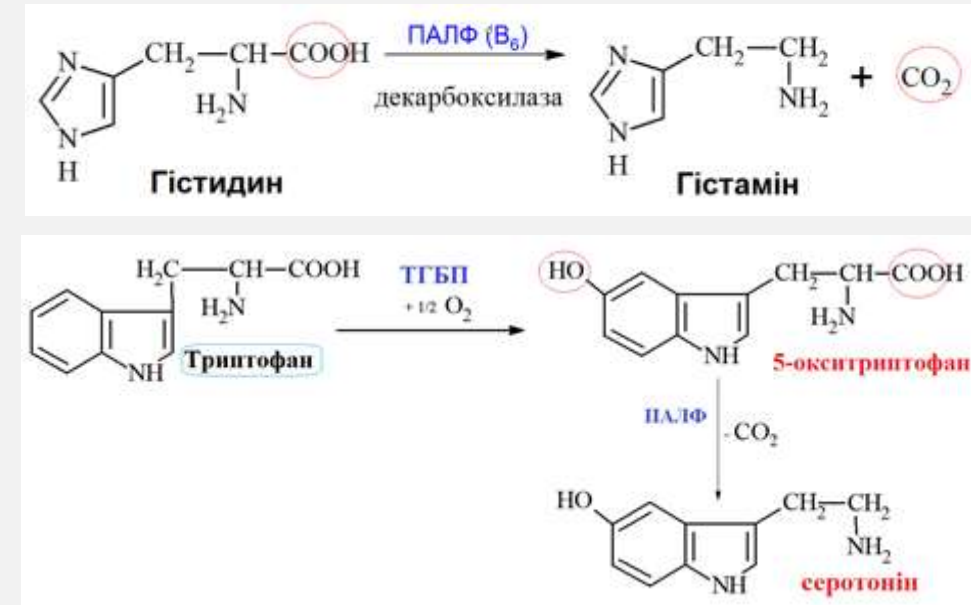
ІЛ-8,  
макрофагальні  
протеїни  
хемотаксису,  
лімфотактин  
РАНТЕС

# МІСЦЕВІ МЕДІАТОРИ ГОСТРОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ

Утворюються у місці пошкодження. Джерело – структури пошкоджених тканин.

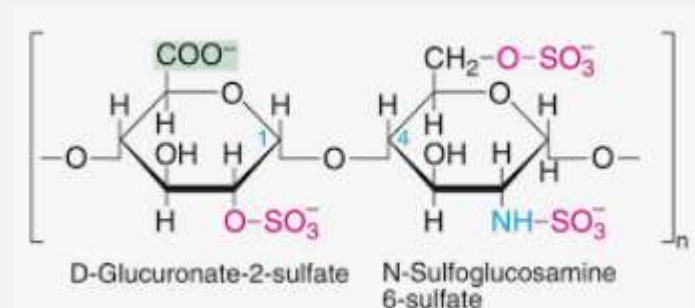
## Вазоактивні аміни:

- **Гістамін.** Міститься в гранулах тканинних базофілів в неактивній формі. Утворюється при декарбоксилюванні гістидину, руйнується в результаті дезамінування гістаміназою та метилування N-метилтрансферазою. Дія гістаміну при запаленні опосередковується через  $H_1$ -рецептори. Викликає підвищення проникності і розширення судин. Рівень гістаміну швидко зменшується – упродовж 1 години.
- **Серотонін.** Міститься в тромбоцитах. Утворюється при декарбоксилюванні 5-окситриптофану. В фізіологічних концентраціях є вазоконстриктором, у високих концентраціях – вазодилататором. Підвищує проникність судин. Медіатор болю.



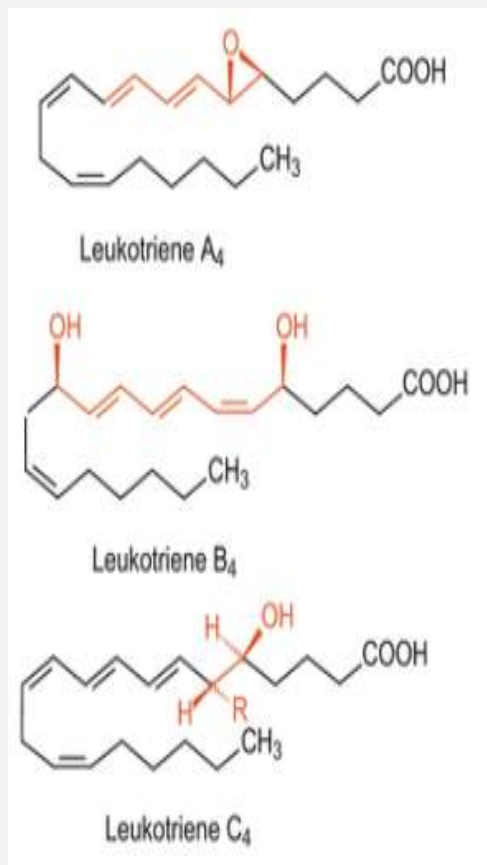
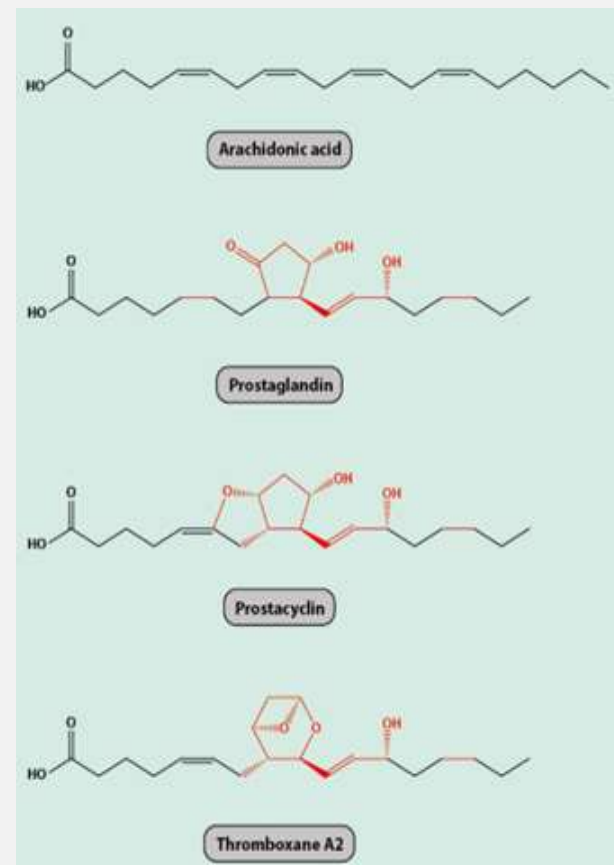
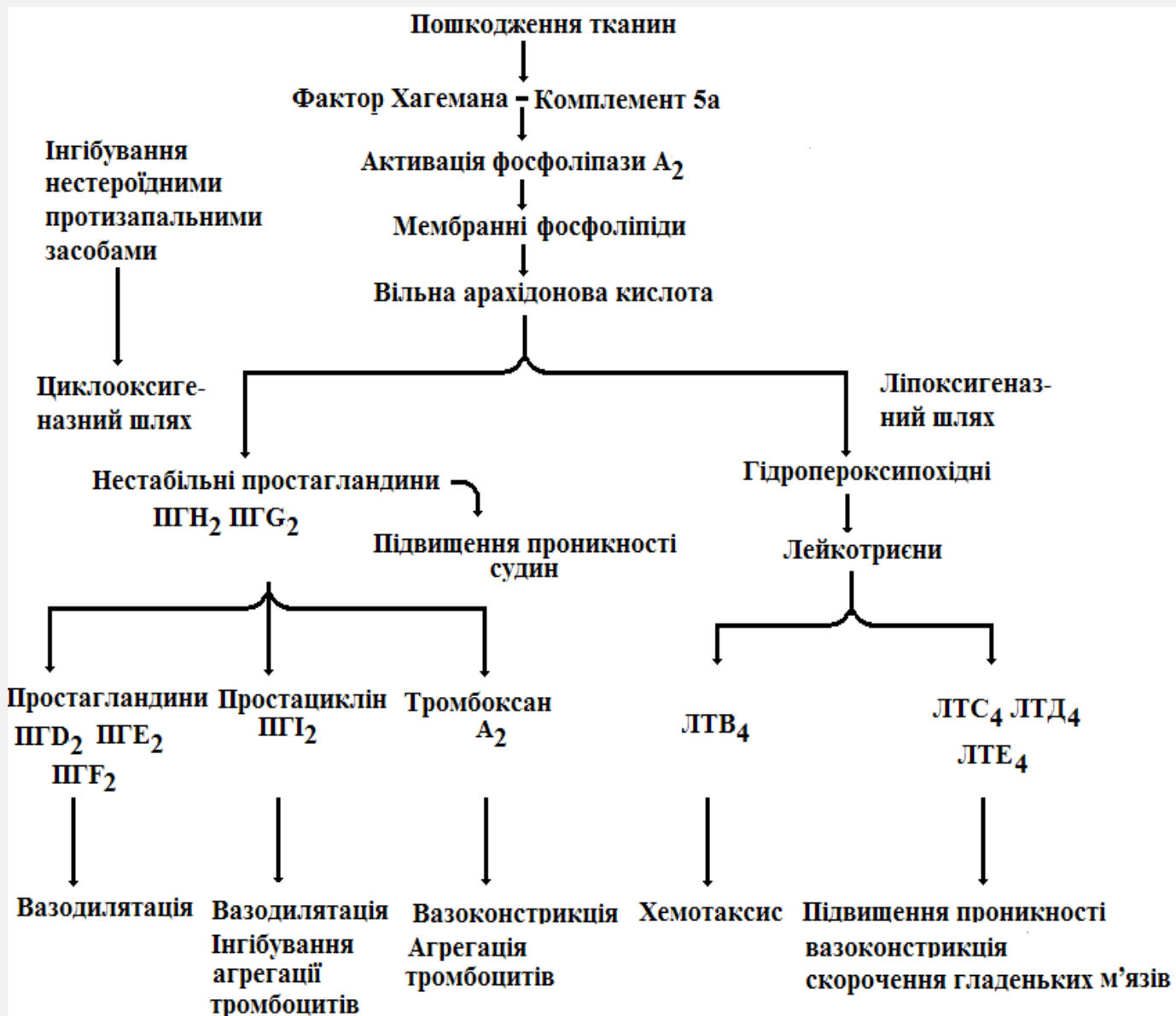
**Циклічні нуклеотиди.** Модулюють запальний процес через вплив на ефект інших медіаторів запалення. цАМФ – гальмує виділення гістаміну і лізосомальних ферментів, а цГМФ, навпаки, активує такі процеси. цАМФ утворюється аденілатциклазою, цГМФ - гуанілатциклазою, руйнуються циклічні нуклеотиди фосфодіестеразою.

**Гепарин.** Міститься в тканинних базофілах. Попереджує згортання крові на внутрішній стороні капілярів, сприяє підвищенню проникності капілярів.



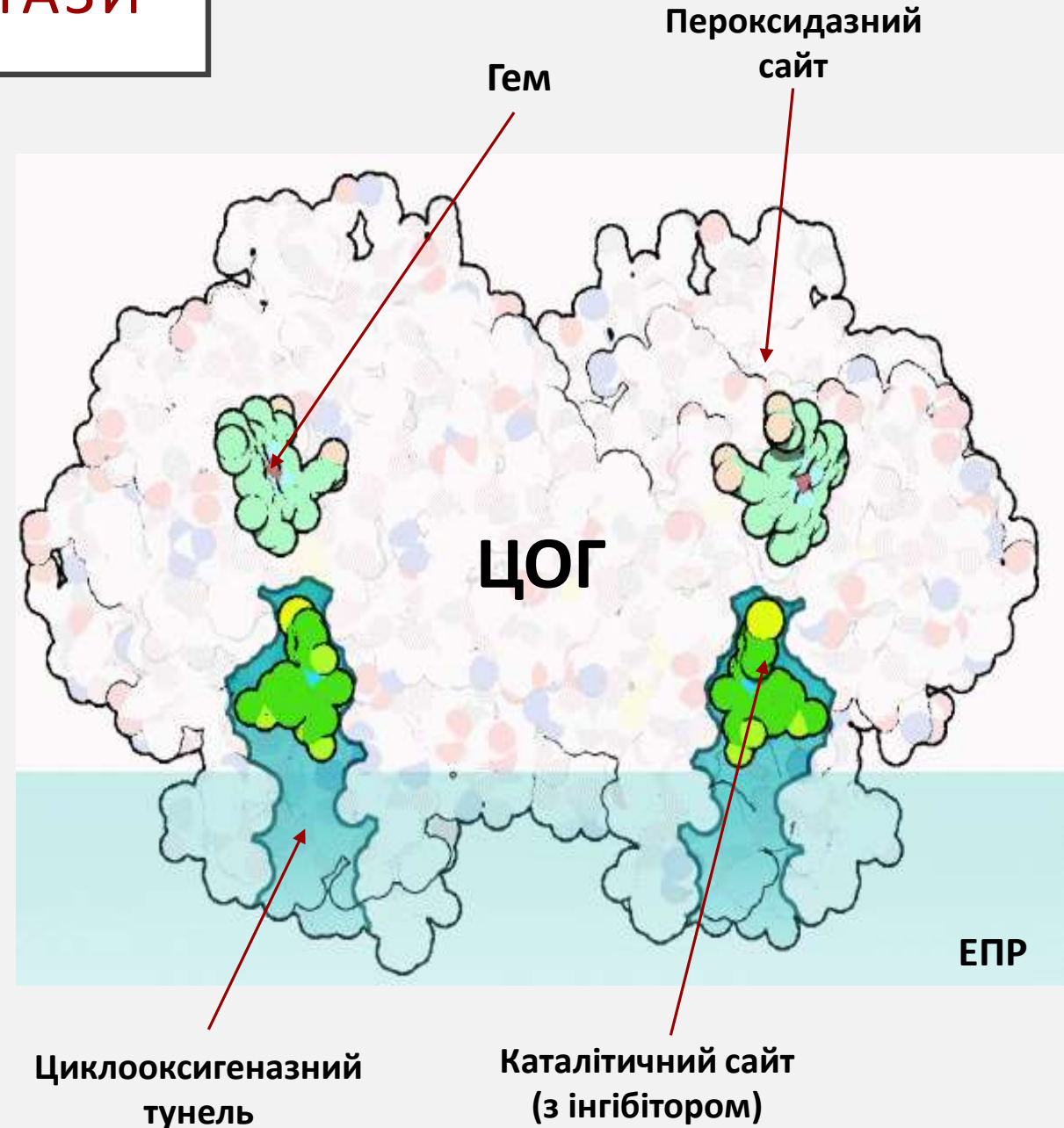
# ЛІПІДНІ МЕДІАТОРИ ЗАПАЛЕННЯ

- **Метаболіти арахідонової кислоти:** арахідонова кислота – ненасичена жирна кислота ( $C_{20:4}$ ), міститься в фосфоліпідах клітинних мембран. З арахідонової кислоти утворюються простагландини, лейкотриєни, ізопростани (медіатори запалення, болю, регулятори тонуусу судин, бронхів та ін.).



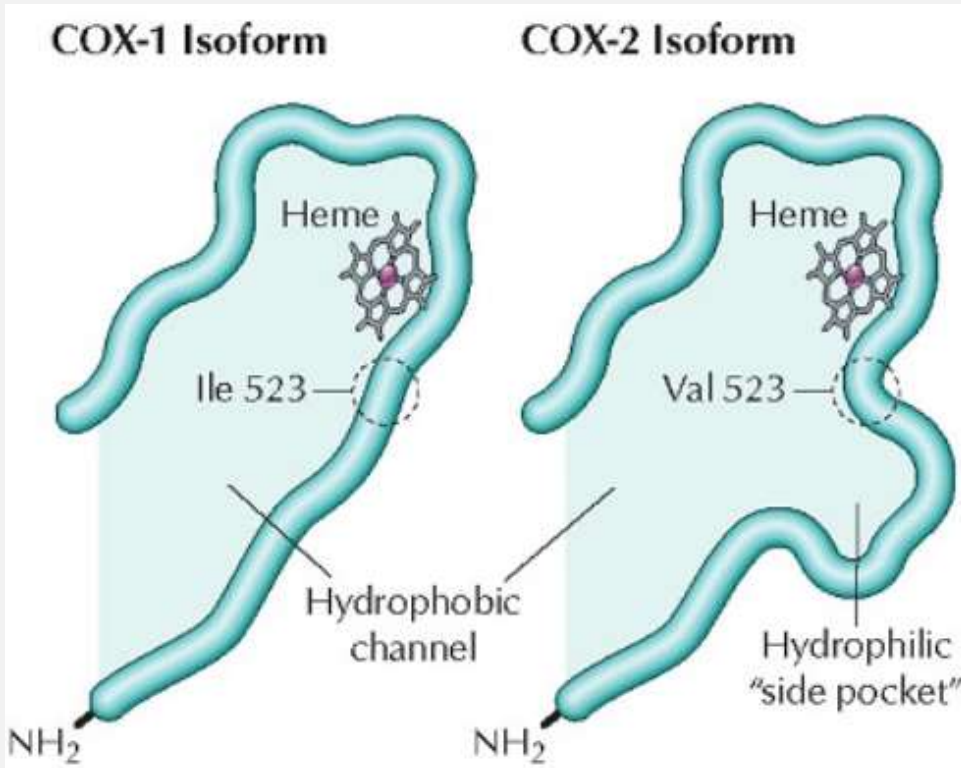
# СТРУКТУРА ПРОСТАГЛАНДИНСИНТАЗИ

- **Простагландинсинтаза (циклооксигеназа)** складається з 2-х симетричних протеїнів (гомодимерів), які заглиблені в мембрану ендоплазматичного ретикулула (ЕПР). Фермент має 2 різних активних центри:
- **циклооксигеназний сайт** - розташований у спеціальному заглибленні; до нього субстрат – арахідонова кислота надходить через тунель, занурений у мембрану; тут утворюється простагландин G2 (PGG2)
- **пероксидазний сайт** - містить гем; до нього надходять PGG2, що утворився у циклооксигеназному центрі і перетворюється у PHG2, який потім вивільняється у цитозоль.
- **Інгібітори ЦОГ** – надходять через тунель і блокують роботу каталітичної ділянки активного центру. Так діють нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) - аспірин, ібупрофен, коксиби.



# ІЗОФОРМИ ЦОГ- ЦОГ-1 ТА ЦОГ-2

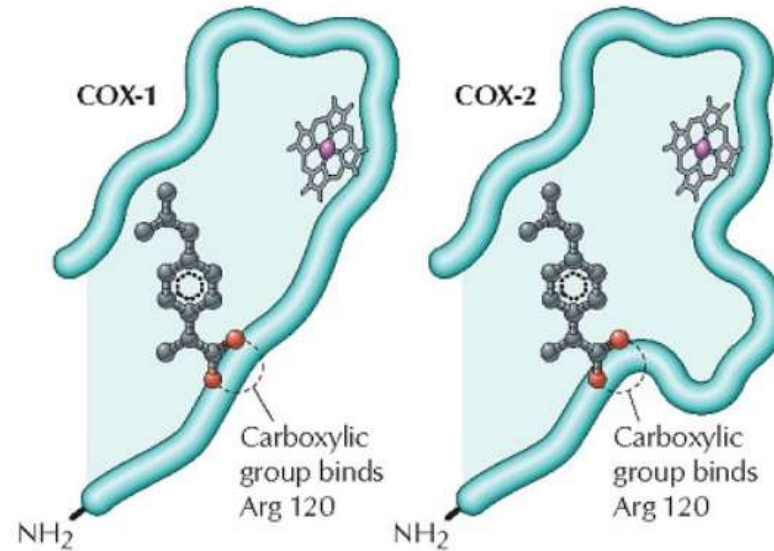
- ЦОГ представлена двома ізоформами – конститутивною (ЦОГ-1) та індукцибельною (ЦОГ-2), які мають схожі за структурою на 60-65% і каталізують синтез майже ідентичних простагландинів
- Відрізняються за локалізацією в тканинах, регуляцією, чутливістю до інгібіторів



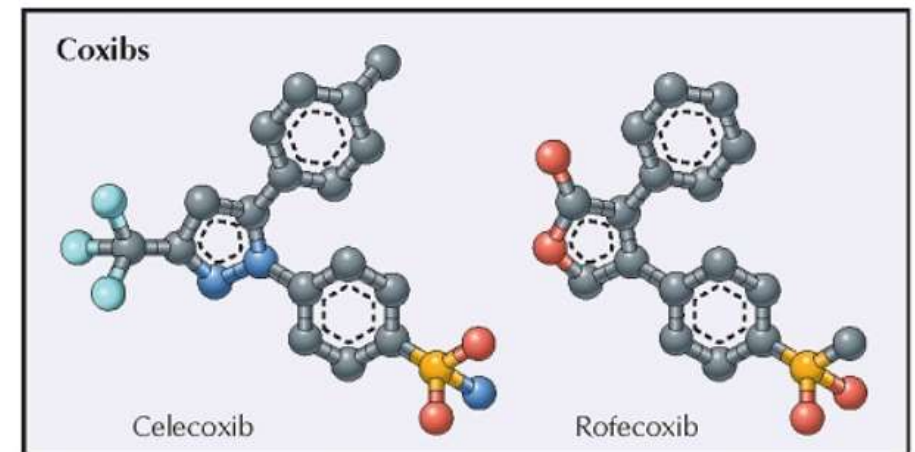
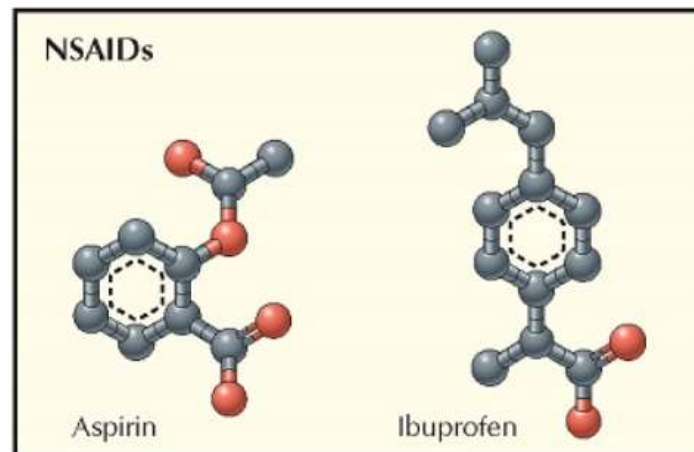
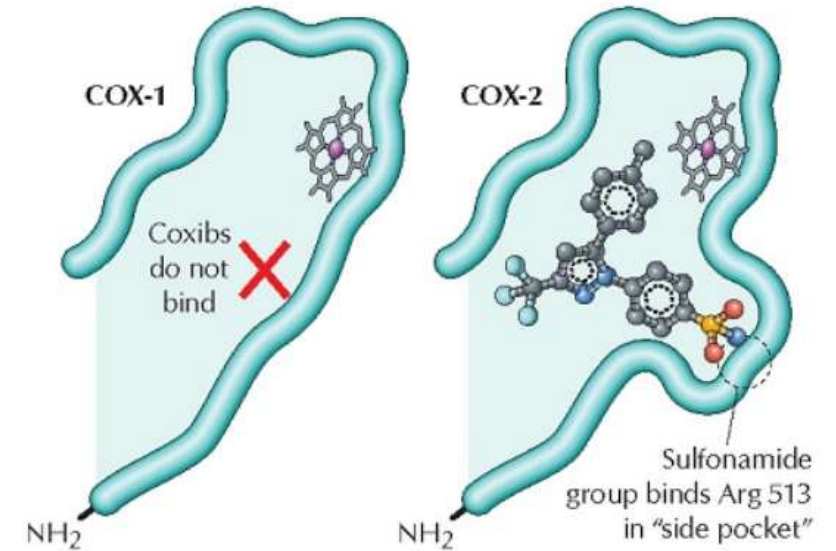
# МЕХАНІЗМ ДІЇ НПЗЗ – ІНГІБІТОРІВ ЦОГ-1 ТА ЦОГ-2

- Неселективні інгібітори ЦОГ (аспірин, ібупрофен) – інгібують ЦОГ-1 та ЦОГ-2 через взаємодію із залишком аргініну (Arg120) в активному центрі.
- Селективні інгібітори ЦОГ-2 (коксиби) - зв'язуються із залишком Arg153 у додатковому кармані активного центру ЦОГ-2.
- У активного центру ЦОГ-1 такий карман відсутній, тому коксиби не впливають на активність цієї ізоформи

NSAIDs: Mechanism of Action

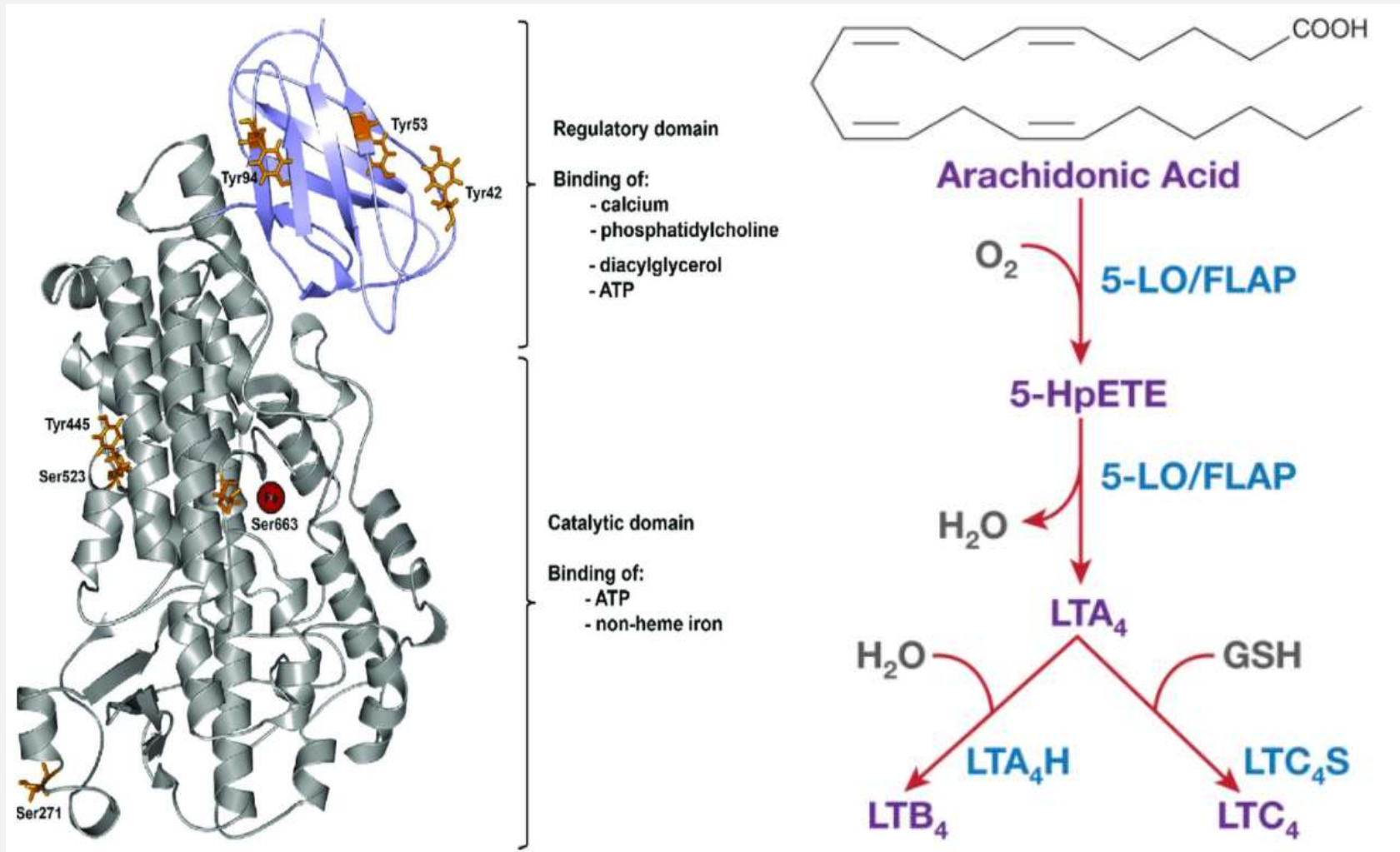


Coxibs: Mechanism of Action



# ЛІПООКСИГЕНАЗА

- Ліпоксигеназа належить до родини залізовмісних негемових ферментів, які каталізують окиснення поліненасичених жирних кислот. Містить регуляторний та каталітичний домени.
- За дії ліпоксигенази з арахідонової кислоти утворюються біологічно-активні гідропероксиди – лейкотрієни (медіатори алергії та запалення)
- Найбільша кількість ЛТ синтезуються опасистими клітинами, базофілами, еозинофілами і макрофагами.
- Цистеїновмісні лейкотрієни (цЛТ) – ЛТС<sub>4</sub>, ЛТД<sub>4</sub> і ЛТЕ<sub>4</sub> утворюються за участі ліпоксигенази та білка, що активує цей фермент (FLAP)
- Інгібітор ліпоксигенази – препарат зилеутон



# ЦИРКУЛЮЮЧІ (КОЛІКВАТИВНІ) МЕДІАТОРИ ЗАПАЛЕННЯ

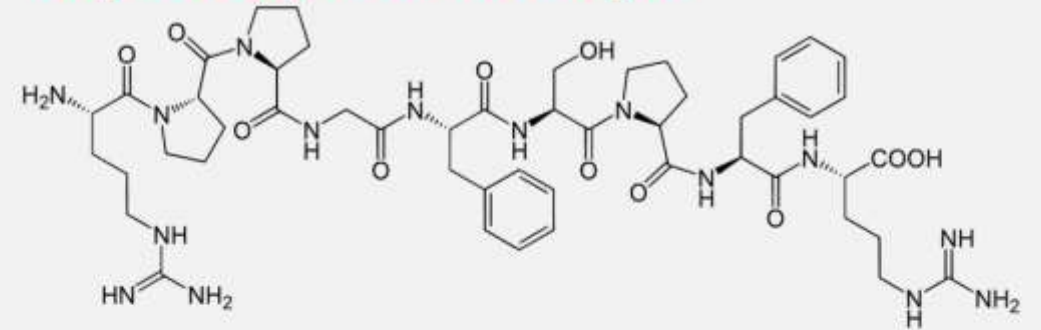
Утворюються з неактивних білків-попередників, які містяться в плазмі крові.

**Кініни:** брадикінін та калідин - утворюються з білків плазми крові - кініногенів під впливом ферменту калікреїну. Збільшують проникність судин, є потужними медіаторами болю. Калікреїн утворюється з неактивного попередника (прекалікреїну) під впливом активованого XII фактору зсідання крові (фактору Хагемана). Руйнуються кініназами.

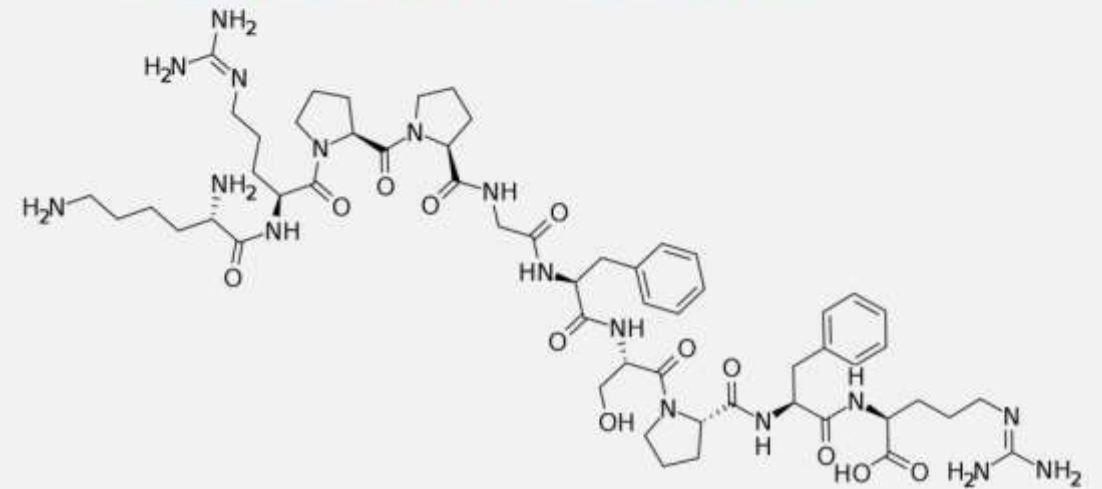
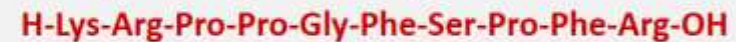
**Система зсідання крові:** фактор Хагемана (активованій фактор XII) активує коагуляцію, утворення фібрину, кініногенез, систему компліменту. Регулює активність системи фібринолізу. Фібринопептиди, які утворюються при фібринолізі, є факторами хемотаксису для нейтрофілів і підвищують проникність судинної стінки.

**Система комплементу:** C5a та C3a компоненти, які утворюються при активації комплементу, стимулюють викид гістаміну тканинними базофілами і опосередковано збільшують проникність судин. C5a – потужний хемотаксичний агент для нейтрофілів та макрофагів. C3b – важливий опсонин. C5a активує ліпооксигеназний комплекс метаболізму арахідонової кислоти.

Брадикінін - нонапептид



Калідин — декапептид



# ПРОМІЖНІ МЕДІАТОРИ ЗАПАЛЕННЯ

Джерело – лейкоцити, лімфоцити, моноцити, макрофаги та інші клітини.

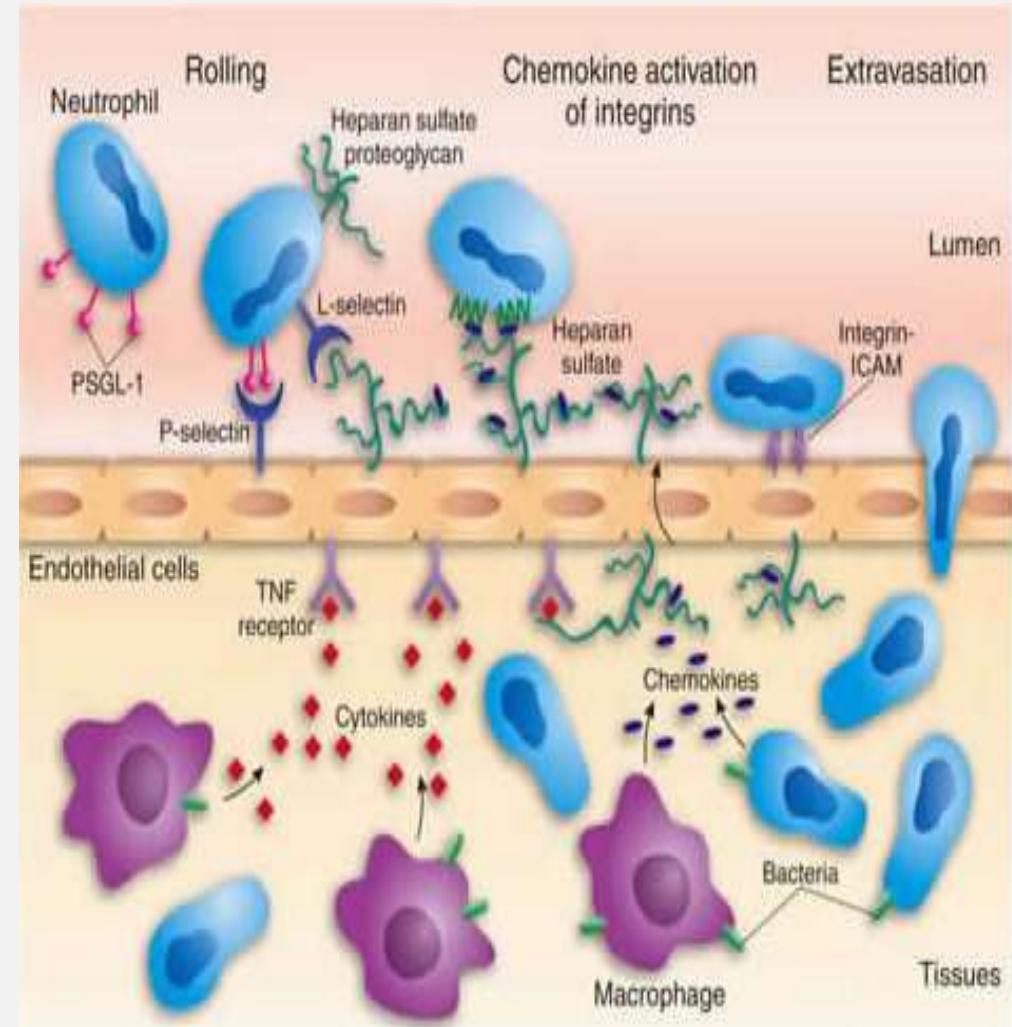
**Фактори нейтрофілів:** протеази, мієлопероксидаза, вільні радикали кисню, активні форми хлору та оксиду азоту.

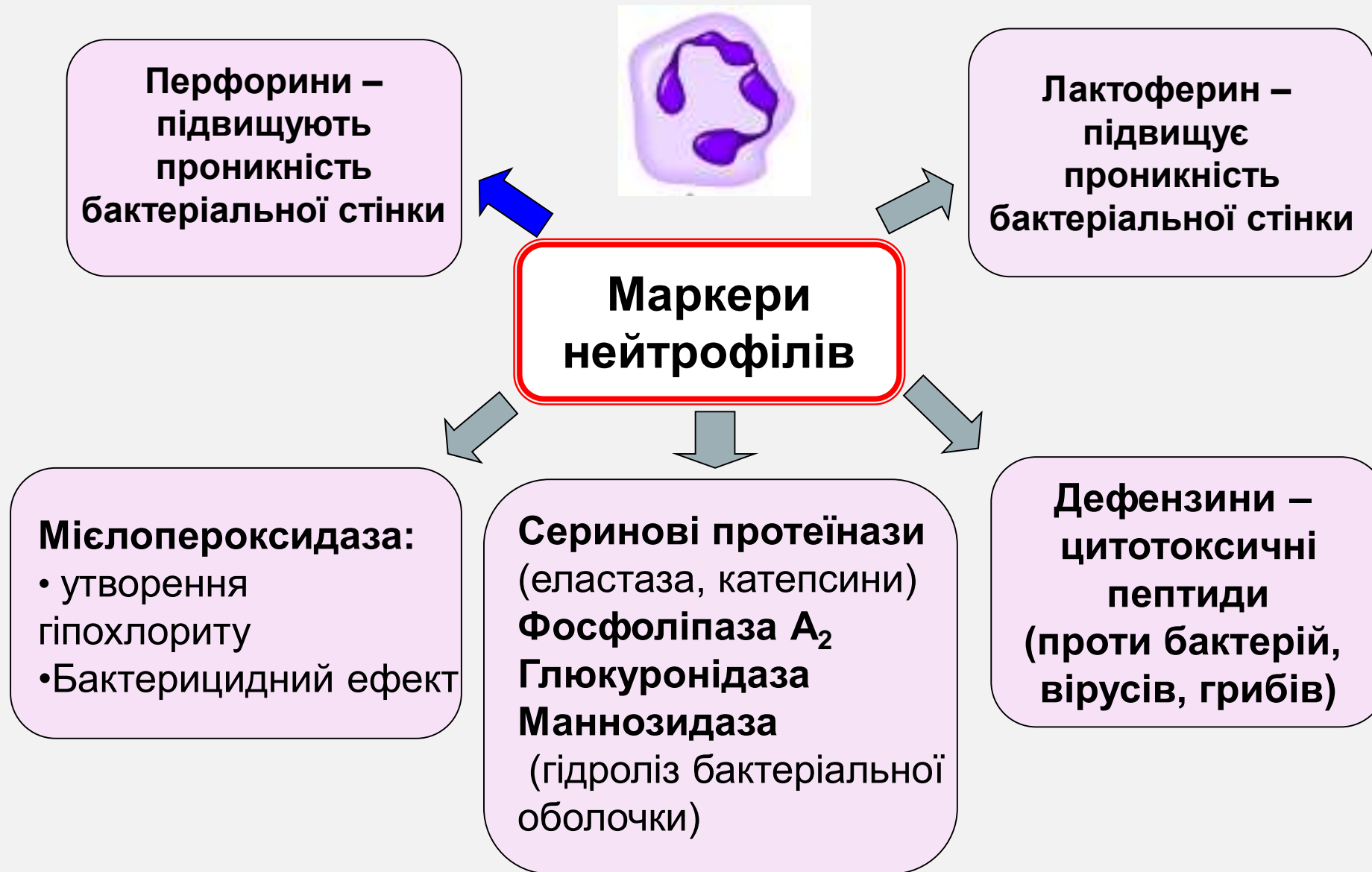
**Цитокіни** – є важливими медіаторами запалення. Це невеликі білки, масою від 8 до 80 кДа, які діють аутокринно (тобто безпосередньо на клітину, яка їх продукує) чи паракринно (тобто на близько розташовані клітини).

Цитокіни є регуляторами проліферації і диференціації гемопоетичних і імунних клітин, приймають участь в формуванні запальної відповіді. Цитокіни діляться на інтерлейкіни, фактори некрозу пухлин, ростові фактори, інтерферони, хемокіни.

**Головні прозапальні цитокіни** – інтерлейкін-1, фактор некрозу пухлини альфа, інтерферон гама, інтерлейкін-6, які активують синтез інших прозапальних цитокінів, стимулюють проліферацію моноцитів, макрофагів, Т- та В-лімфоцитів, активують ФЛА<sub>2</sub>, ЦОГ-2, iNOS, посилюють синтез ейкозаноїдів, білків гострої фази, активних форм кисню та азоту.

**Хемокіни** забезпечують хемотаксис лейкоцитів. Джерело - ендотеліальні, епітеліальні клітини, нейтрофіли, моноцити. Відомо 4 класи: альфа-хемокіни (ІЛ-8, лімфотактин) забезпечують хемотаксис нейтрофілів, бета-хемокіни - макрофагальні запальні білки-1-альфа та 1-бета, моноцитарний хемотактичний білок, РАНТЕС контролюють хемотаксис моноцитів та лімфоцитів.





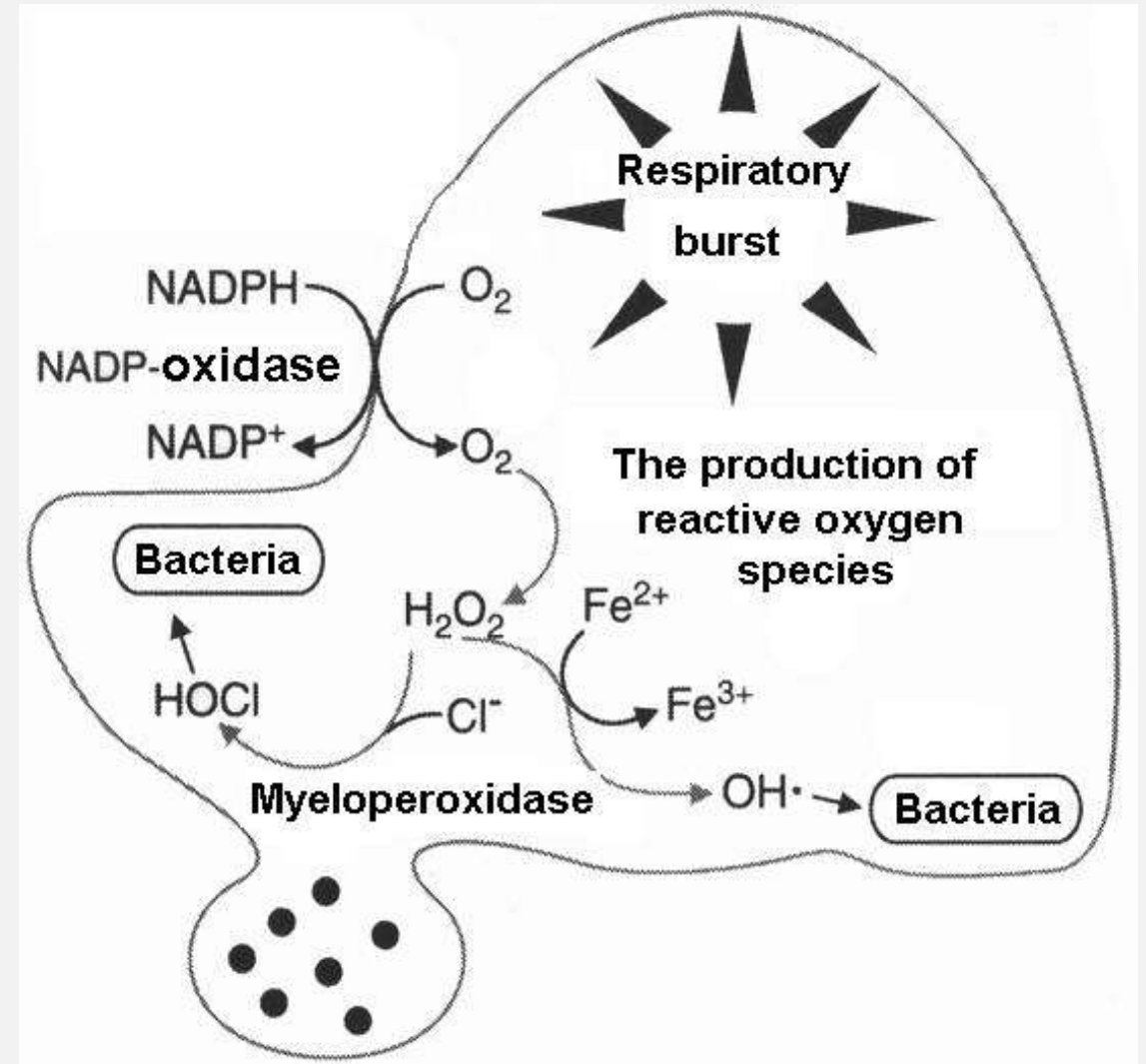
**Маркери нейтрофілів – головних клітин гострого запалення**

# РЕСПІРАТОРНИЙ ВИБУХ

В формуванні запальної відповіді важливу роль відіграє фагоцитарна реакція, яка здійснюється поліморфно-ядерними лейкоцитами та макрофагами.

Після захоплення інфекційної частинки відбувається утворення фагосоми, яка зливається з лізосомами клітини. Лізосомальні ферменти руйнують патоген. Цьому допомагає бактерицидна ферментна система (включає **NADPH-оксидазу** та **мієлопероксидазу**), що утворює активні форми кисню, гіпохлорит, оксид азоту, які швидко убивають мікроорганізми.

- 🔥\*Посилене поглинання  $O_2$  лейкоцитами
- 🔥\*Утворення супероксид-аніону
- 🔥\*Утворення  $H_2O_2$  за участі СОД
- 🔥\*Утворення активних форм хлору.



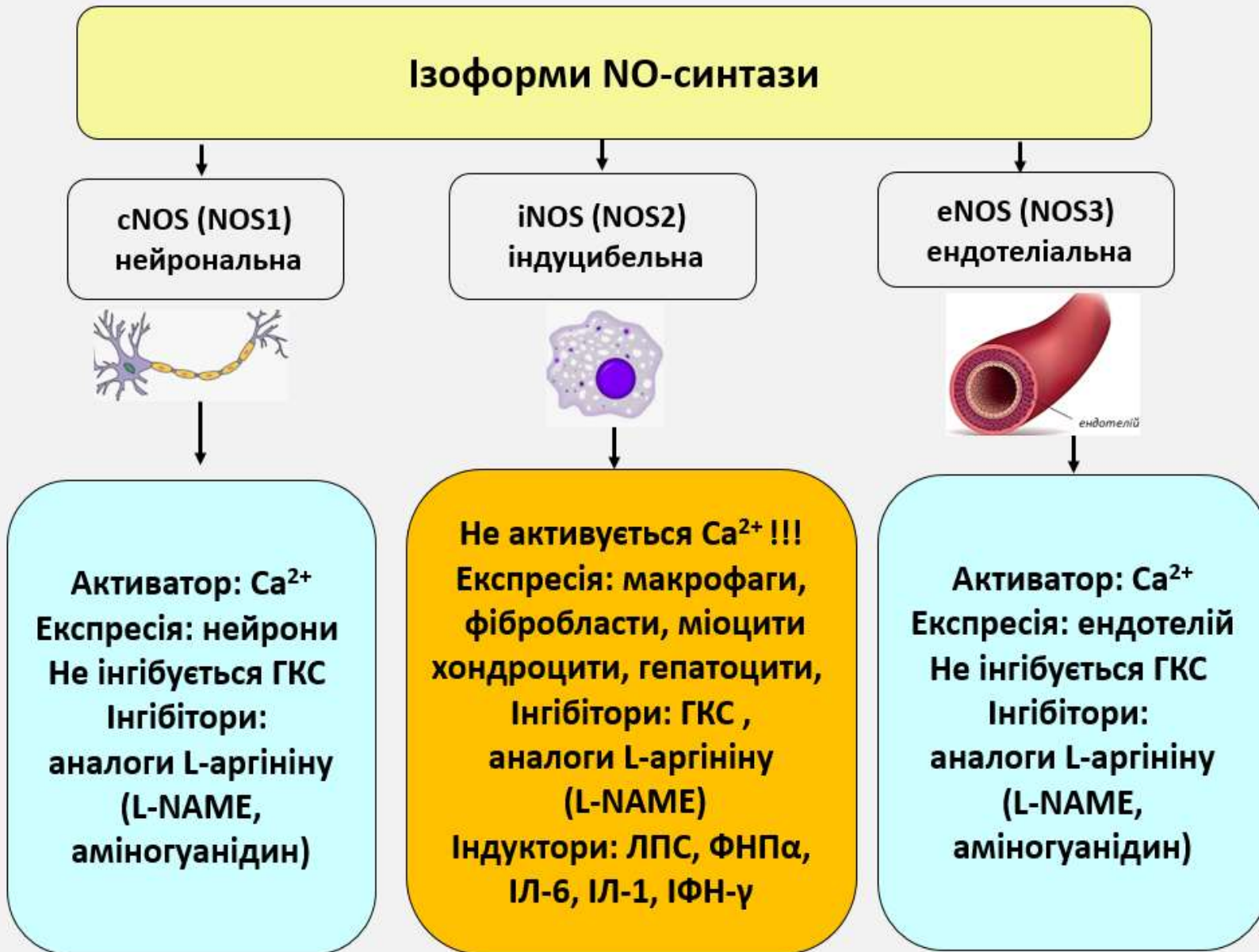
## РЕАКЦІЇ УТВОРЕННЯ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ, АЗОТУ, ХЛОРУ

<b>Активні форми кисню (ROS)</b>	Супероксид-аніон ( $\cdot\text{OO}^-$ or $\text{O}_2^{\cdot-}$ )	<b><i>NADPH -оксидаза</i></b> $\text{NAD(P)H} + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{NADP}^+ + 2\text{O}_2^{\cdot-} + \text{H}^+$ <b><i>Ксантиноксидаза</i></b> $\text{ксантин} + \text{O}_2 \rightarrow \text{сечова кислота} + \text{O}_2^{\cdot-}$
	Пероксид водню ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )	<b><i>Супероксиддисмутаза</i></b> $\cdot\text{O}_2^- + \cdot\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$
	Гідроксильний радикал ( $\cdot\text{OH}$ )	$\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^- + \cdot\text{OH}$ (реакція Фентона) $\text{Fe}^{2+} + \text{ClO}^- \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{Cl}^- + \cdot\text{OH}$ (реакція Осипова) $\text{O}_2^{\cdot-} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{HO}^- + \text{O}_2$ (реакція Хабера - Вейса)
<b>Активні форми хлору</b>	Гіпохлорит, ( $\text{HOCl}$ )	<b><i>Мієлопероксидаза (МПО)</i></b> $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cl}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{ClO}^-$
<b>Активні форми азоту (RNS)</b>	Оксид азоту ( $\cdot\text{NO}$ )	<b><i>NO-синтаза</i></b> $\text{L-аргінін} + \text{O}_2 \rightarrow \text{L-цитрулін} + \text{NO}\cdot$ <b><i>Ксантиноксидаза</i></b> $\text{NO}_2^- + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NO}\cdot + \text{H}_2\text{O} + \text{NADP}^+$
	Пероксинітрит ( $\text{ONOO}^-$ )	$\text{ON}\cdot + \cdot\text{O}_2^- \rightarrow \text{ONOO}^-$

# СИНТАЗА ОКСИДУ АЗОТА

**NO-синтаза** – **NAD(P)H-залежна оксидоредуктаза (КФ 1.14.13.39)**, представлена трьома ізоформами:

- **Нейрональною**: nNOS або NOS1 (Bredt D.S. et al., 1991),
- **Індуцибельною** (макрофагальною): iNOS або NOS2 (Lowenstein C.J. et al., 1992)
- **Ендотеліальною**: eNOS або NOS3 (Marsden P.A. et al., 1993)
- *Гомологічність ізоензимів NOS  $\approx$  50-60%, їх синтез кодують гени, що містяться в різних хромосомах*
- *nNOS та eNOS є конститутивними ферментами, існують у мембранозв'язаній формі.*
- *iNOS – індуцибельний фермент, існує в розчинній формі, експресія та активність iNOS багаторазово зростає при запаленні*

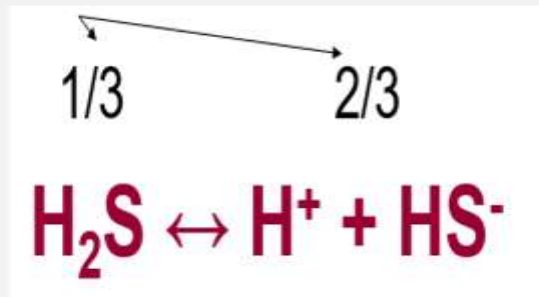




## Молекулярні ефекти оксиду азота

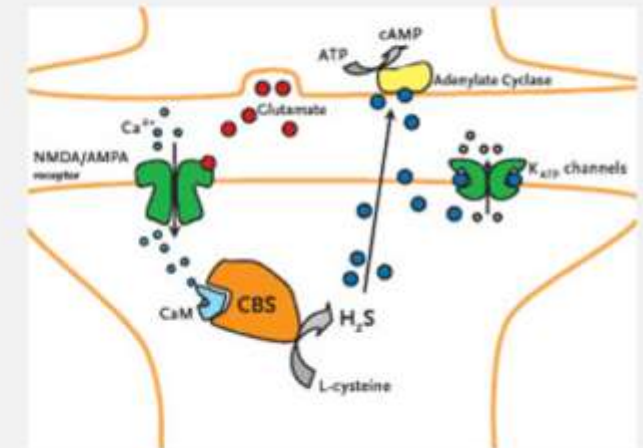
# $\text{H}_2\text{S}$ - СИГНАЛЬНА МОЛЕКУЛА, ЯКА АКТИВНО СИНТЕЗУЄТЬСЯ В ТКАНИНАХ

- Період напівжиття – декілька хвилин
- При рН 7,4

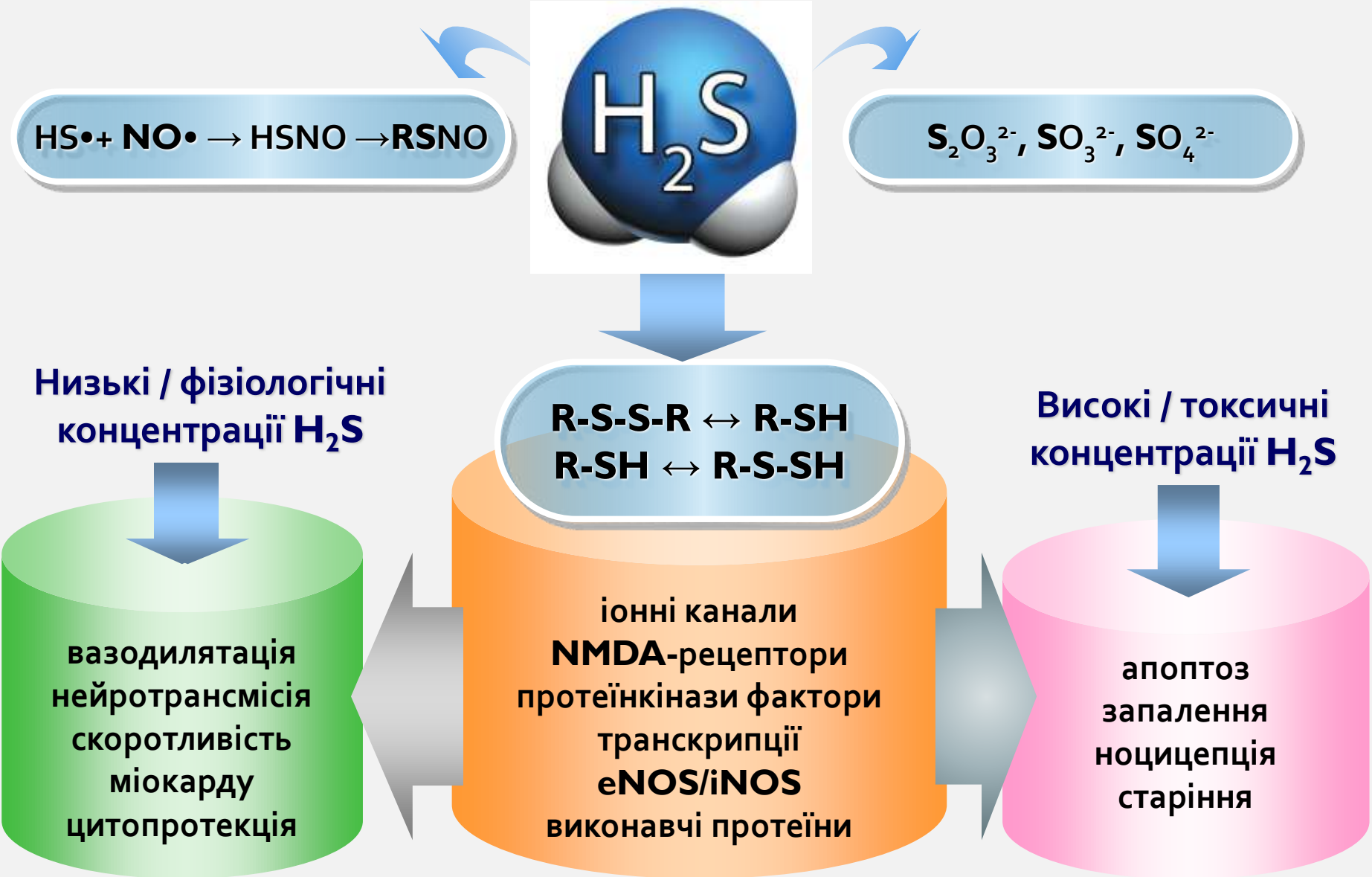


- Діє як паракринна регуляторна молекула
- Може транспортуватись еритроцитами

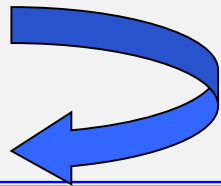
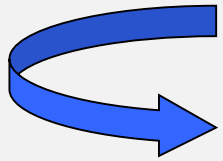
Н. KIMURA ТА К. АВЕ (1996)  
ВПЕРШЕ ОПИСАЛИ ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ  $\text{H}_2\text{S}$   
В МОЗКУ ЩУРІВ ТА 1-ШУ МОЛЕКУЛЯРНУ МІШЕНЬ  $\text{H}_2\text{S}$  -  
N-МЕТИЛ D-АСПАРТАТНІ РЕЦЕПТОРИ (NMDA-  
РЕЦЕПТОРИ)



# Біологічні ефекти H<sub>2</sub>S залежать від його концентрації в тканинах



# H<sub>2</sub>S ТА ЗАПАЛЕННЯ



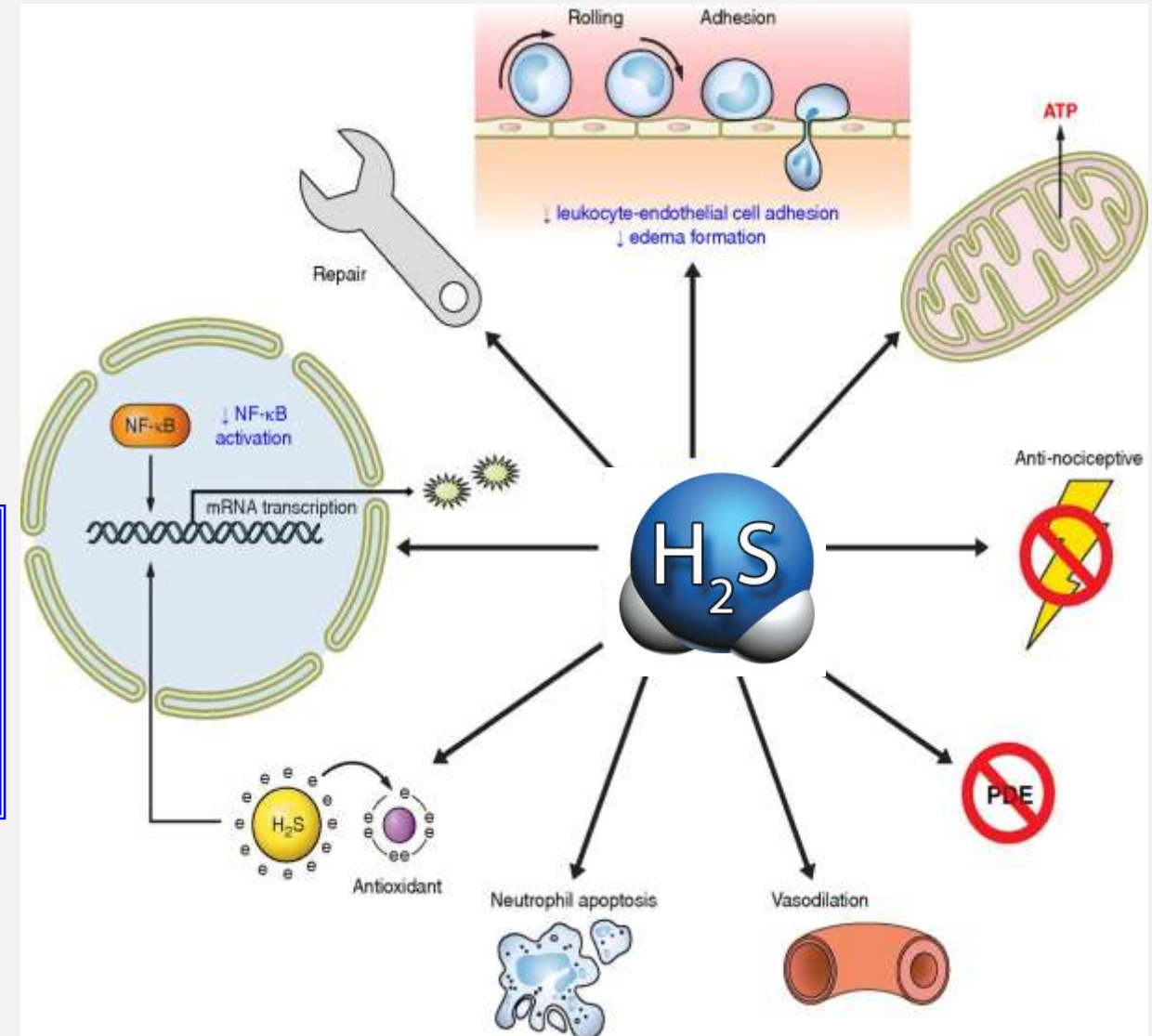
Зв'язує  
пероксинітрил,  
активні форми  
кисню і хлору

Індукує апоптоз  
нейтрофілів

Знижує експресію  
ендотеліальних і  
лейкоцитарних  
молекул адгезії  
ФНП-альфа

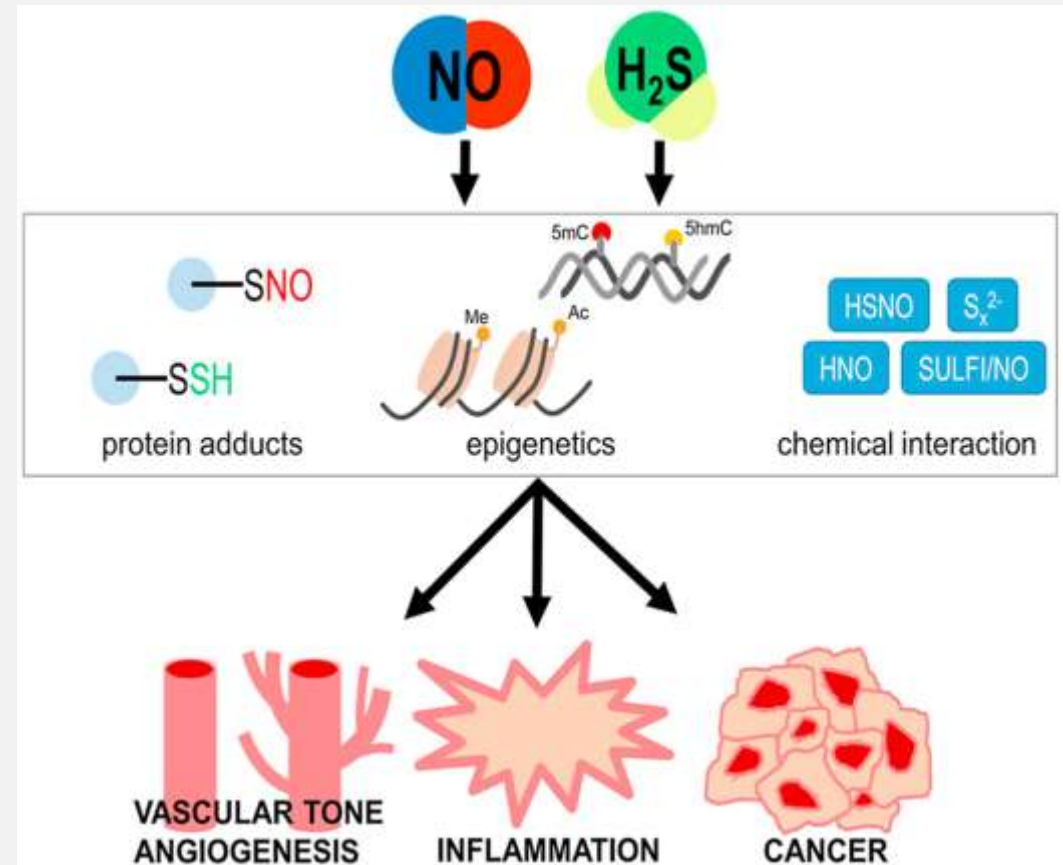
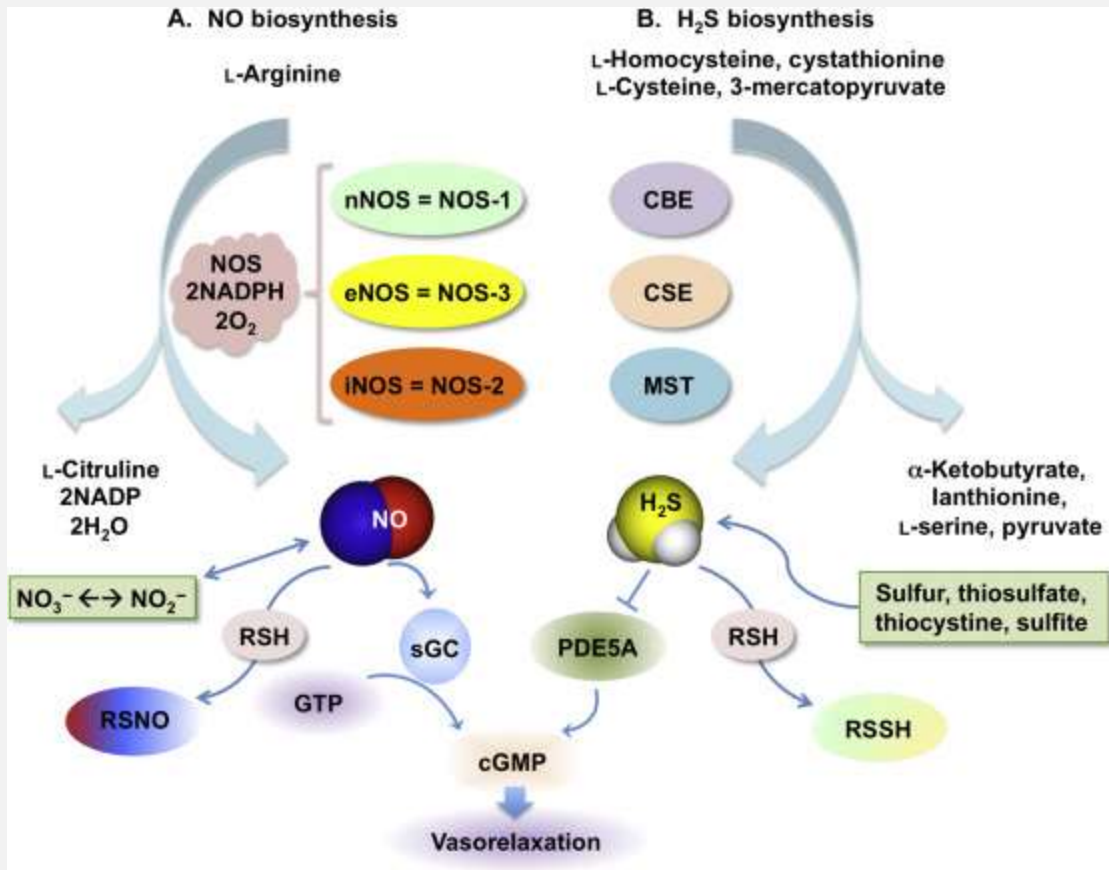
Пригнічує адгезію  
лейкоцитів до  
ендотелія

НПЗЗ  
Знижують синтез  
ендогенного H<sub>2</sub>S



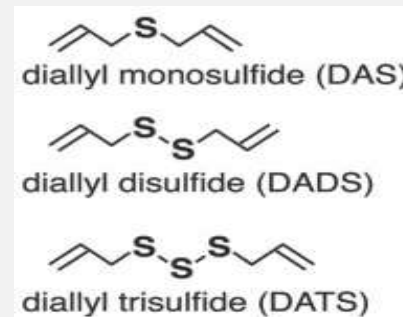
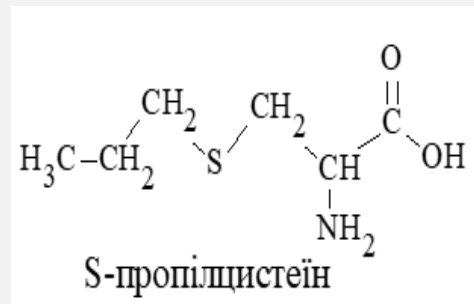
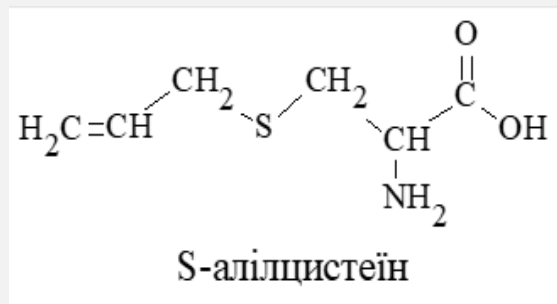
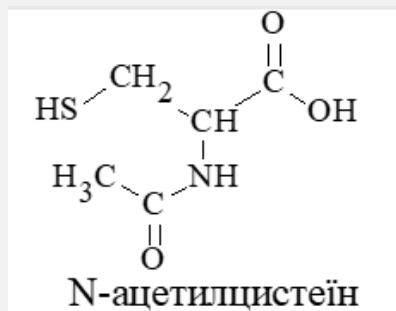
# H<sub>2</sub>S ТА NO Є БІОЛОГІЧНИМИ СИНЕРГІСТАМИ

- H<sub>2</sub>S інгібує фосфодієстеразу і таким чином запобігає зниженню рівня цГМФ, синтез якого активується під дією NO
- H<sub>2</sub>S посилює вазорелаксуючу та антитромботичну дію NO
- H<sub>2</sub>S та NO вступають в хімічну взаємодію і утворюють нітрозотіоли – тканинні депо цих біорегуляторів
- H<sub>2</sub>S та NO виступають епігенетичними коректорами і регулюють синтез окремих білків, впливають на процеси запалення та канцерогенез



## КОРЕКЦІЯ РІВНЯ $H_2S$

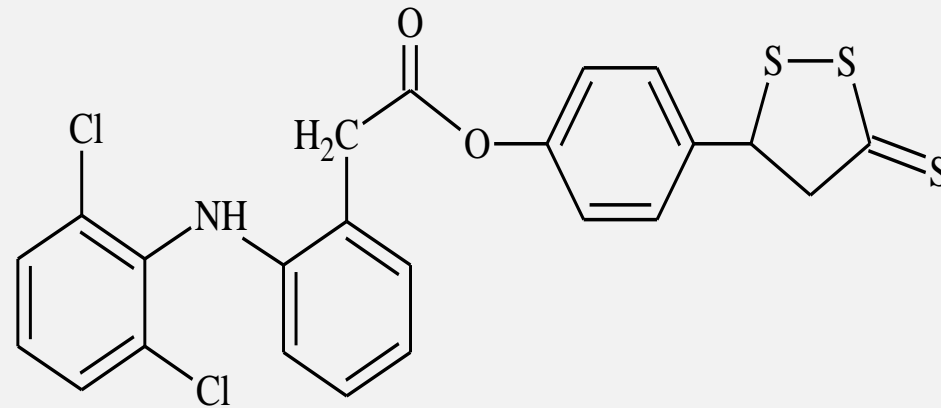
- В експериментальних дослідженнях для підвищення рівня  $H_2S$  використовують неорганічні донори –  $NaHS$ ,  $Na_2S$ , похідні цистеїну - N-ацетилцистеїн, S-пропілцистеїн, S-алілцистеїн, які виявляють цитопротекторну та антиоксидантну дію.
- Підвищенню рівня  $H_2S$  сприяють сірковмісні амінокислоти (цистеїн, метіонін), полісульфіди рослин (наприклад, діалілідисульфід, діалілтрисульфід часнику), вітаміни та мікроелементи, які є коферментами  $H_2S$ -синтезуючих ензимів (зокрема, вітамін B6, ліпоева кислота).



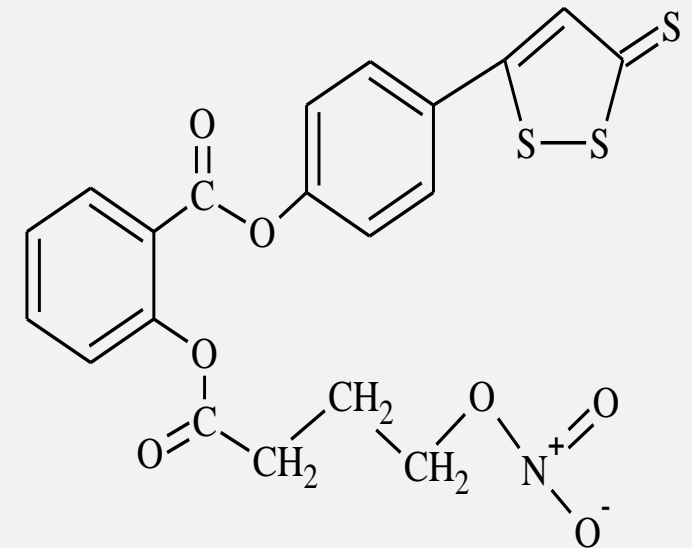
- Потужними інгібіторами синтезу  $H_2S$  є нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ): диклофенак, напроксен, аспірин.
- Проводиться розробка та вивчення клінічної ефективності НПЗЗ з ефектом вивільнення  $H_2S$ : аспірин- $H_2S$ , диклофенак- $H_2S$ , напроксен- $H_2S$ , які поряд з високою протизапальною активністю демонструють значно меншу гастро- та нефротоксичність.



# Нестероїдні протизапальні засоби з ефектом вивільнення $H_2S$



ACS 15 (äèèèî ô áí àê-Í<sub>2</sub>S)

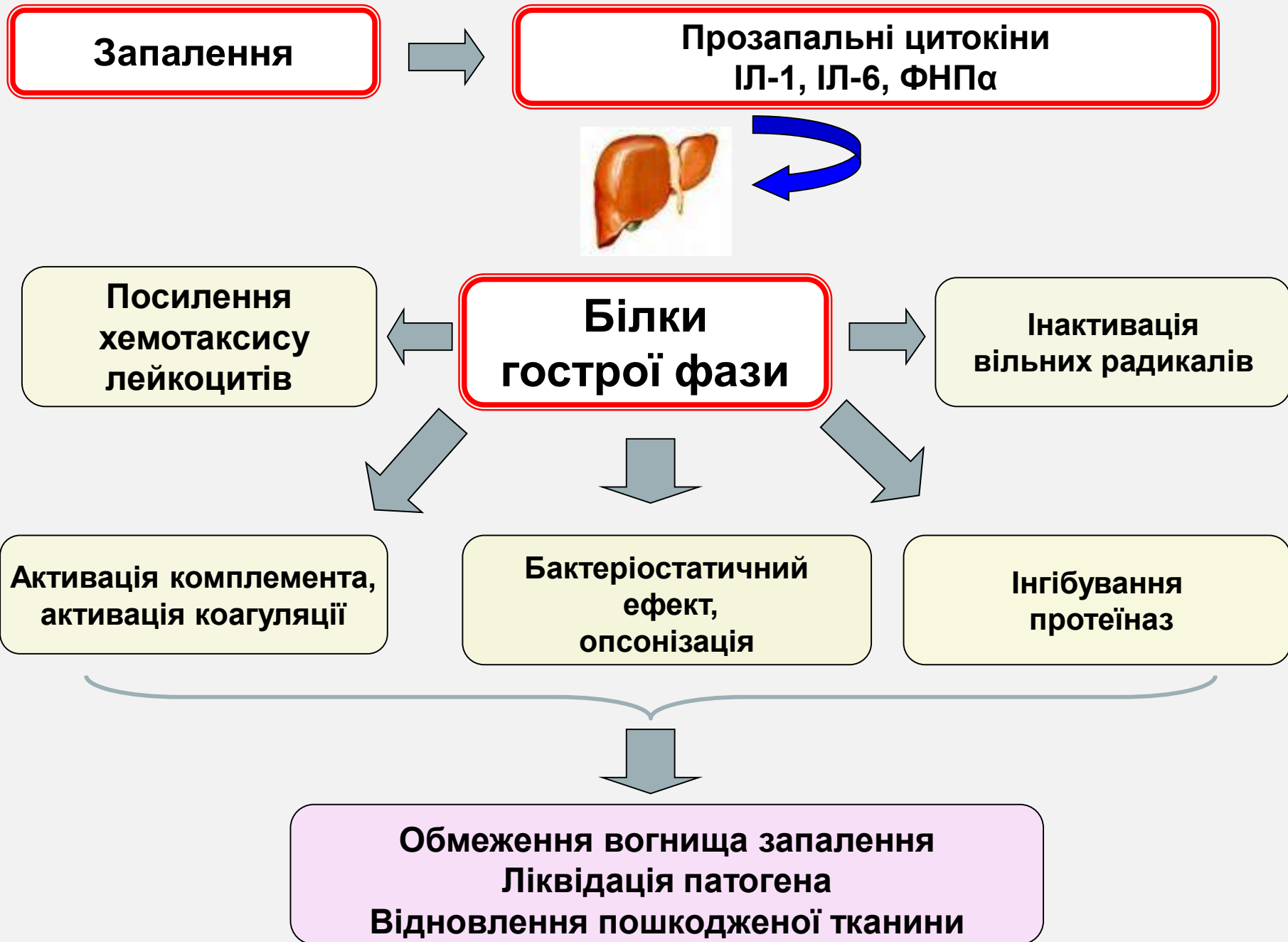


NOSH-1 (añî ³ðèí -NO+H<sub>2</sub>S)

**John L. Wallace** - розробник нового класу лікарських засобів - **НПЗЗ- $H_2S$**

PhD, Adjunct Professor, Pharmacology & Toxicology, University of Toronto

Chief Scientific Officer of Antibe Therapeutics Inc.



# КЛАСИФІКАЦІЯ БІЛКІВ ГОСТРОЇ ФАЗИ (БГФ)

## 1. Позитивні реактанти гострої фази -

### 1.1. Головні БГФ – підвищення рівня в 100-1000 рази у перші 6-12 годин запального процесу

- СРБ
- Амілоїдний білок сироватки А (SAA)

### 1.2. Середні - підвищення рівня в 2-5 рази через 12- 24 години

- $\alpha_1$ -кислий глікопротеїн (орозомукоїд)
- *Інгібітори протеїназ* –  $\alpha_1$ -антитрипсин,  $\alpha_1$ -антиплазмін
- Феритин, лактоферин
- Білки коагуляції – фібриноген, фактор Вілебранда
- Гаптоглобін

### 1.3. Мінорні - підвищення рівня на 20-60% через 48 годин

- Білки системи комплементу - С3 (опсонін)
- Церулоплазмін

## 2. Нейтральні реактанти - залучені до запального процесу, але їх рівень в крові не змінюється

- альфа<sub>2</sub>-макроглобулін

## 3. Негативні реактанти – рівень знижується на 30-60% через 12-48 годин

- альбумін
- трансферин
- транстиретин

# С-РЕАКТИВНИЙ БІЛОК (СРБ)

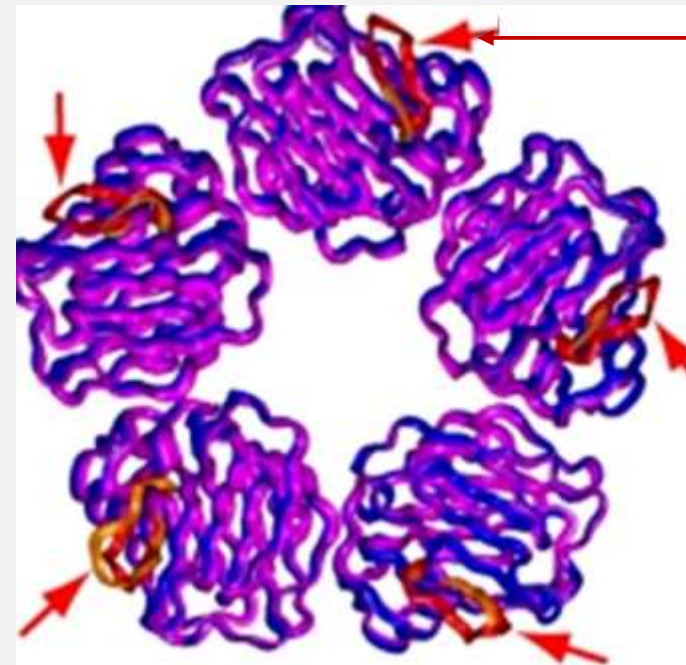
- СРБ – пентраксин, що зв'язує С-полісахарид клітинної мембрани пневмококку.

## Типи СРБ

- Нативний СРБ – пентамер, складається з 5 субодиниць (кожна масою 21-23 кД)
- Мономерний СРБ – 1 субодиниця (мСРБ або hsСРБ)
- Зв'язує  $\text{Ca}^{2+}$
- Ген СРБ знаходиться у хромосомі 1  
(поліморфізм гену впливає на рівень СРБ в крові: у носіїв генотипу 1444ТТ базальний рівень СРБ є більш високим)



СРБ



Кальцій -  
зв'язуючий  
домен

# БІОЛОГІЧНА РОЛЬ СРБ

**СРБ** підсилює рухливість лейкоцитів, зв'язуючись з Т-лімфоцитами впливає на їх функціональну активність, ініціює реакції преципітації, аглютинації, фагоцитозу, зв'язування комплементу; є опсоніном; знижує експресію ендотеліальної синтази оксиду азоту та біодоступність вазодилататору NO.

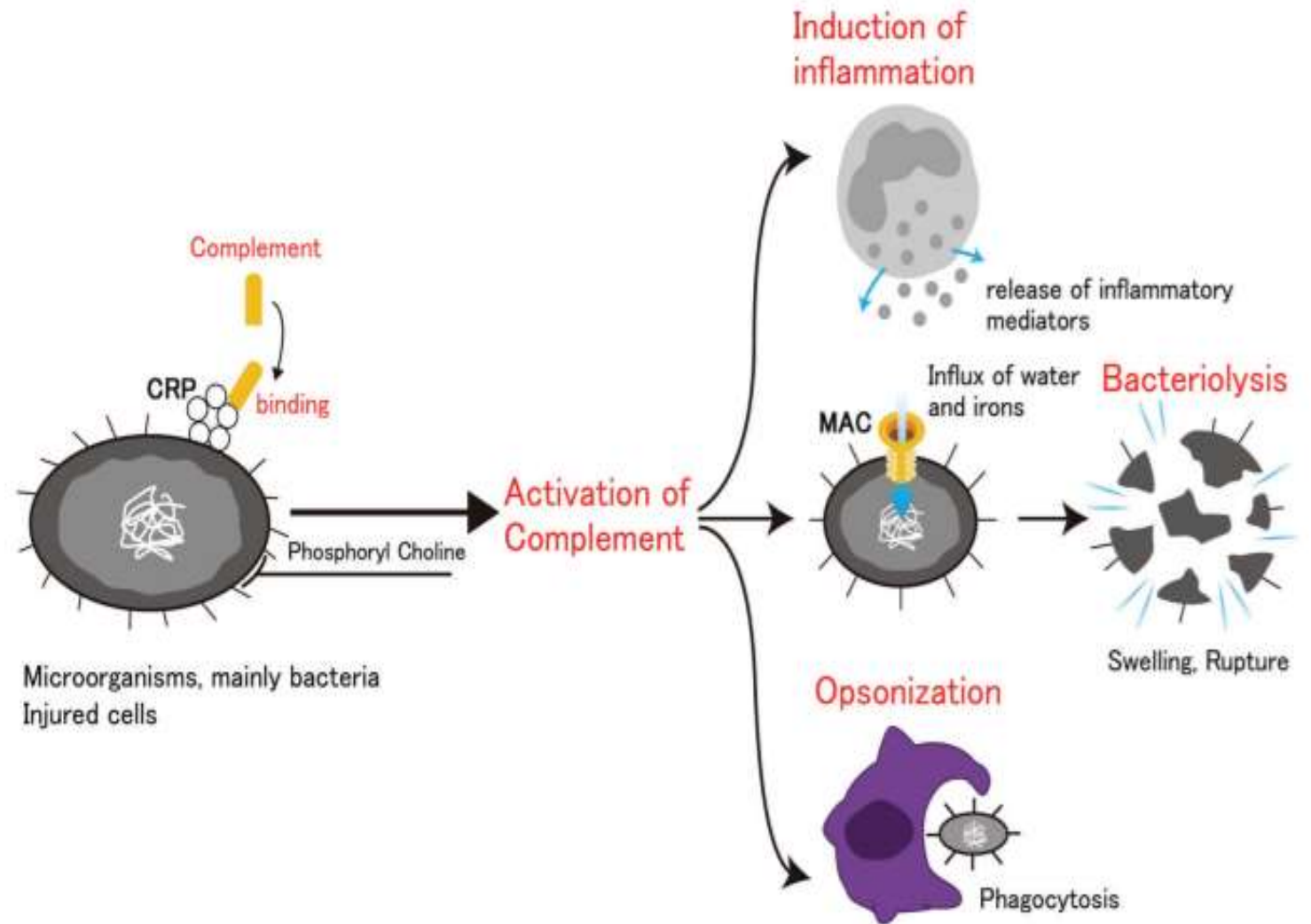
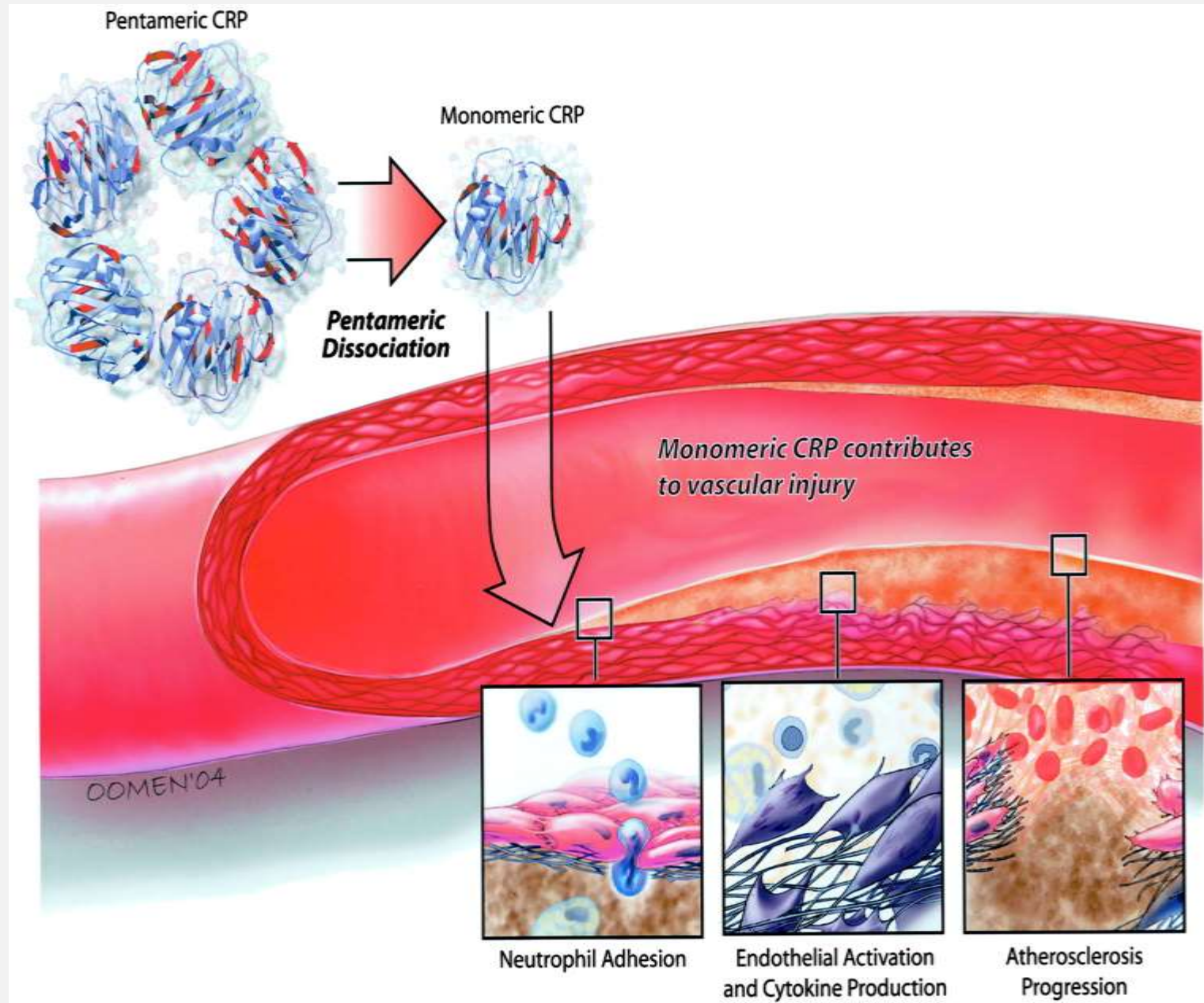


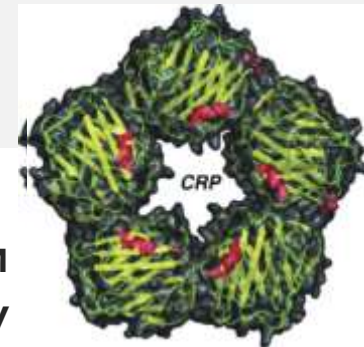
Fig. 3: Role of CRP in human body

- перехід СРБ з пентамерної в мономерну форму призводить до адгезії нейтрофілів, активації ендотелію і продукції цитокінів, розвитку атеросклерозу



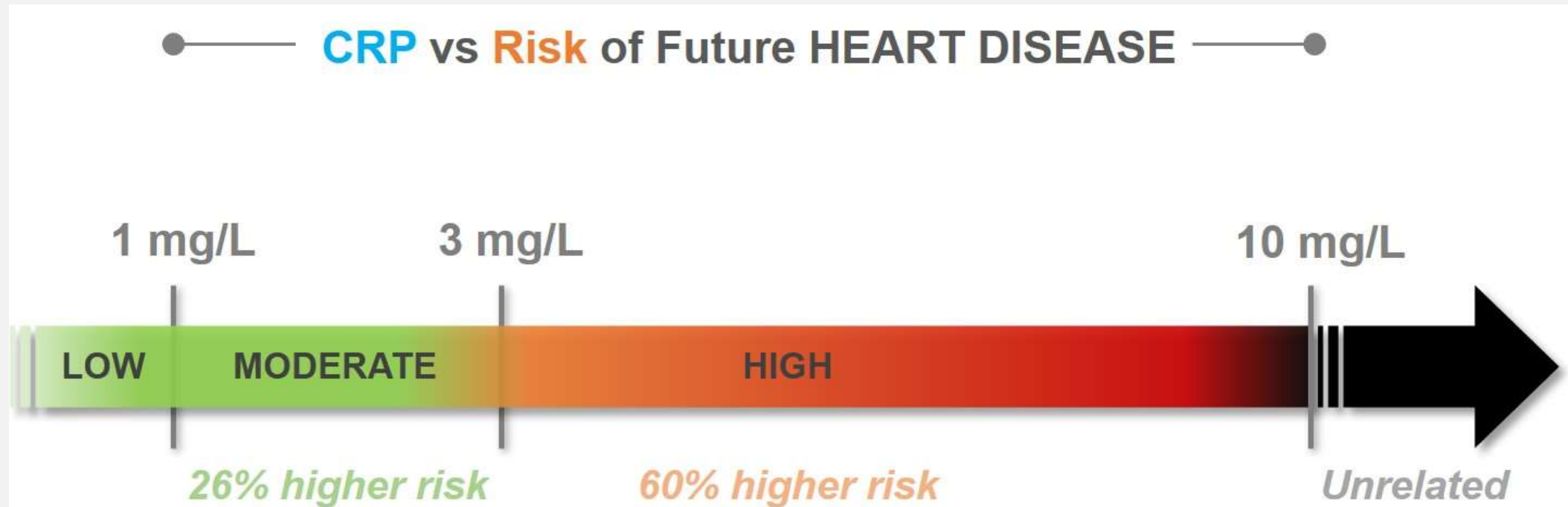
## ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ СРБ

- **Нормальний рівень СРБ в крові –  $< 6$  мг/л; є вищим у жінок ( $\approx 2,7$  мг/л)  $>$  чоловіків ( $\approx 1,6$  мг/л)**
- Рівень СРБ в плазмі крові зростає при всіх запальних та некротичних процесах, є показником їх гострого перебігу. Підвищення СРБ в крові реєструється через 6-24 годин з початку запалення і зникає протягом реконвалесценції. **Період напівжиття СРБ – 19 год., елімінується - з сечею.**
- 3-10 мг/л - персистуюче субклінічне запалення, підвищує ризик судинних ускладнень, інфаркту міокарда, мозкового інсульту.
- 10 - 30 мг/л - вірусні інфекції, хронічні запальні процеси, ревматичні захворювання, метастази пухлин.
- 30 - 100 мг/л - гострі бактеріальні інфекції, загострення хронічних запальних процесів (ревматоїдний артрит), хірургічні втручання, гострий інфаркт міокарду.
- Тяжкі генералізовані інфекції, сепсис, опіки супроводжуються підвищенням рівня СРБ до 300 мг/л і вище.
- **У пацієнтів з COVID-19 рівень СРБ вище 100 мг/л свідчить про високий ризик летального кінця**



# ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ hsCRP

Зростання рівня hsCRP вище 3 мг/л є фактором ризику серцево-судинної захворювань (ССЗ). Рівень hsCRP вище 10 мг/л є ознакою запалення іншої етіології, неінформативний щодо ССЗ



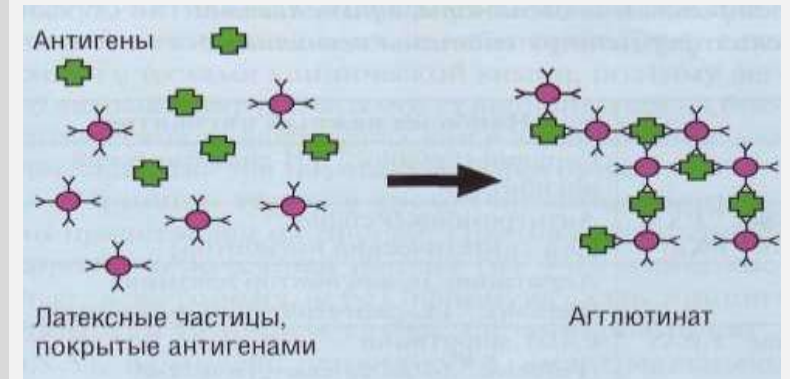
Based on 23 studies of 65,111 people by David I. Buckley et al., C-Reactive Protein as a Risk Factor for Coronary Heart Disease: A Systematic Review and Meta-analyses for the U.S. Preventive Services Task Force, *Annals of Internal Medicine*, 6 Oct 2009, vol 151 (7) pages:483-495

# МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ С-РЕАКТИВНОГО БІЛКА

## 1. Якісний та Напівкількісний латексний тест

- СРБ вступає в реакцію аглютинації з антигенами (антитіла проти СРБ), що адсорбовані на нейтральних частинках латексу.
- Оцінка результатів: позитивна реакція – наявна аглютинація частинок латексу (4+ - всі частини аглютиновані, розчин прозорий; 3+ -  $\frac{3}{4}$  частинок аглютиновані, розчин майже повністю прозорий, 2+ -  $\frac{1}{2}$  частинок аглютиновані, розчин мутнуватий; 1+ - слабка аглютинація).
- Чутливість методу – найменша концентрація СРБ, яка викликає аглютинацію, становить 6 мг/л. Негативний результат (відсутність аглютинації): вміст СРБ < 6 мг/л.

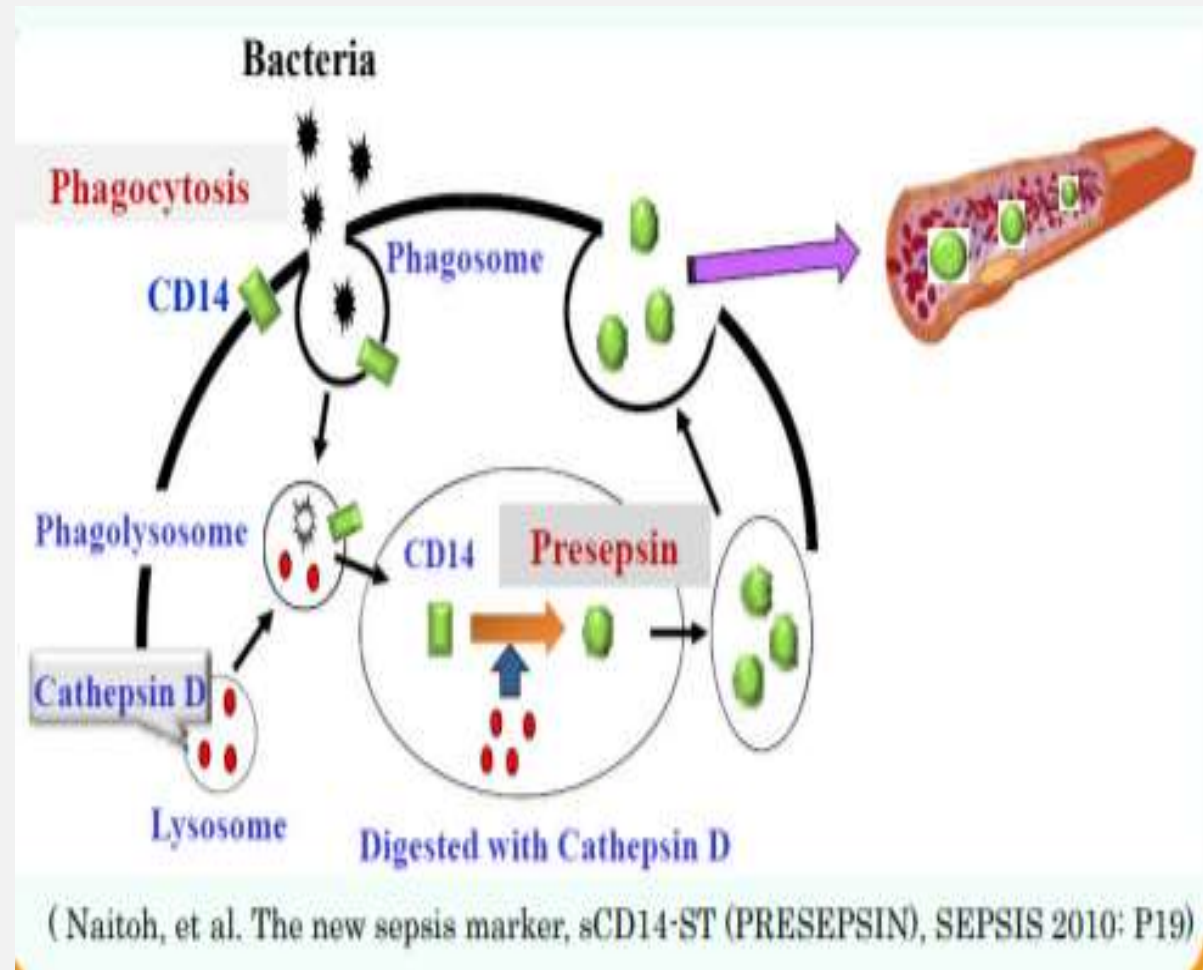
2. **КІЛЬКІСНИЙ** – імуноферментний, радіальна імунодифузія, імунотурбідиметрія, нефелометрія.





# ПРЕСЕПСИН

- **Пресепсин (sCD14-ST) – це білок**, що утворюється під час фагоцитозу бактерій та грибків із кінцевого фрагменту рецептора макрофагів CD14, що відповідає за трансдукцію ендотоксिनного сигналу
- Нормальний рівень пресепсину – дуже низький, біля 55-184 пг/мл
- Пресепсин зростає при системних інфекціях та сепсисі упродовж 1,5-2,0 годин, **при вірусних інфекціях та несистемних запальних процесах пресепсин не підвищується !!!**
- **Рівень пресепсину > 300 пг/мл є самим чутливим маркером на ранніх етапах сепсису!!!**



# ЛІТЕРАТУРА

- Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 книгах. — Книга 2. Біологічна хімія: підручник (ВНЗ IV р. а.) / за ред. Ю.І.Губського, І.В. Ніженковської. - ВСВ «Медицина». - 2021.- 544 с.
- Клінічна біохімія (підручник) / За ред. проф. Склярова О.Я. – К.: Медицина, 2006. – 432 с.
- Клінічна біохімія. Текст і кольорові ілюстрації : пер. 7-го вид. / Мерфі М., Шривастава Р., Дінс К.; наук. ред. Лаповець Л.– К.: ВСВ «Медицина», 2024. – VIII, 183 с.
- Yin, Y. L., Ye, C., Zhou, F., Wang, J., Yang, D., Yin, W., Wang, M. W., Xu, H. E., & Jiang, Y. (2021). Molecular basis for kinin selectivity and activation of the human bradykinin receptors. *Nature structural & molecular biology*, 28(9), 755–761.  
<https://doi.org/10.1038/s41594-021-00645-y>
- Catella-Lawson, F., Reilly, M. P., Kapoor, S. C., Cucchiara, A. J., DeMarco, S., Tournier, B., Vyas, S. N., & FitzGerald, G. A. (2001). Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *The New England journal of medicine*, 345(25), 1809–1817.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa003199>
- Häfner, A. K., Kahnt, A. S., & Steinhilber, D. (2019). Beyond leukotriene formation-The noncanonical functions of 5-lipoxygenase. *Prostaglandins & other lipid mediators*, 142, 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2019.03.003>
- Serra, M. B., Barroso, W.A., da Silva, N. N., Silva, S. D. N., Borges, A. C. R., Abreu, I. C., & Borges, M. O. D. R. (2017). From Inflammation to Current and Alternative Therapies Involved in Wound Healing. *International journal of inflammation*, 2017, 3406215.  
<https://doi.org/10.1155/2017/3406215>
- Zhang, W., Xiao, D., Mao, Q., & Xia, H. (2023). Role of neuroinflammation in neurodegeneration development. *Signal transduction and targeted therapy*, 8(1), 267. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01486-5>
- Kong, P., Cui, Z. Y., Huang, X. F., Zhang, D. D., Guo, R. J., & Han, M. (2022). Inflammation and atherosclerosis: signaling pathways and therapeutic intervention. *Signal transduction and targeted therapy*, 7(1), 131. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00955-7>
- Rohm, T. V., Meier, D. T., Olefsky, J. M., & Donath, M. Y. (2022). Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity*, 55(1), 31–55. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.12.013>