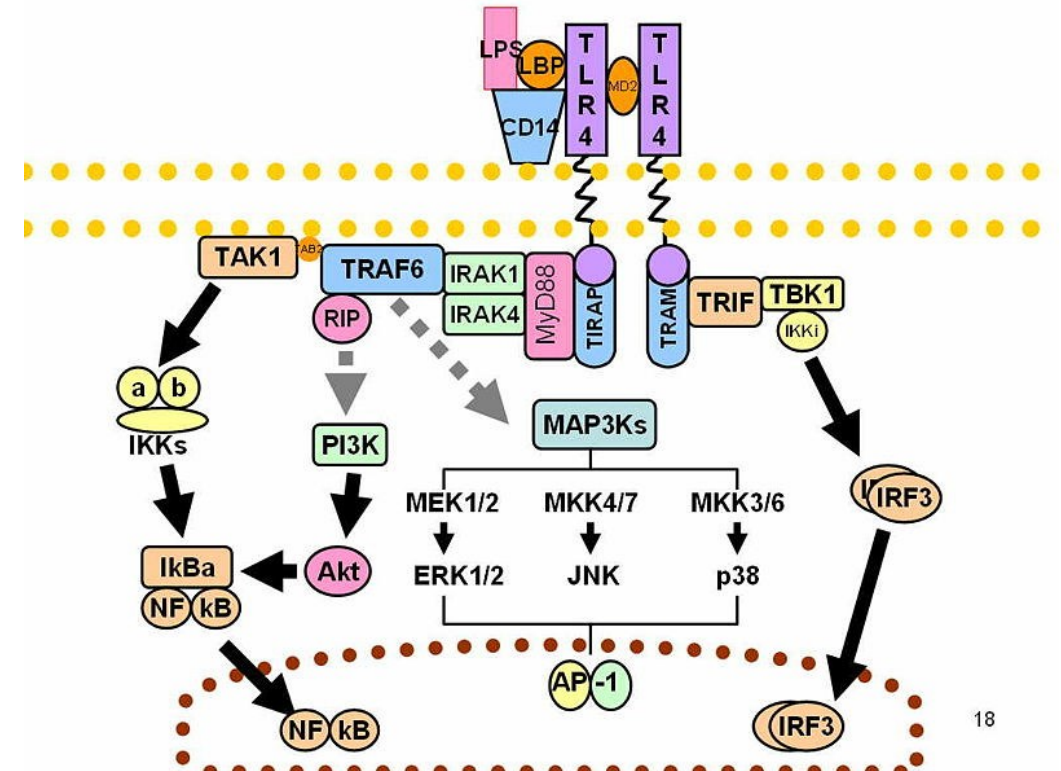


Біохімія запалення: нові мішені для діагностики та терапії



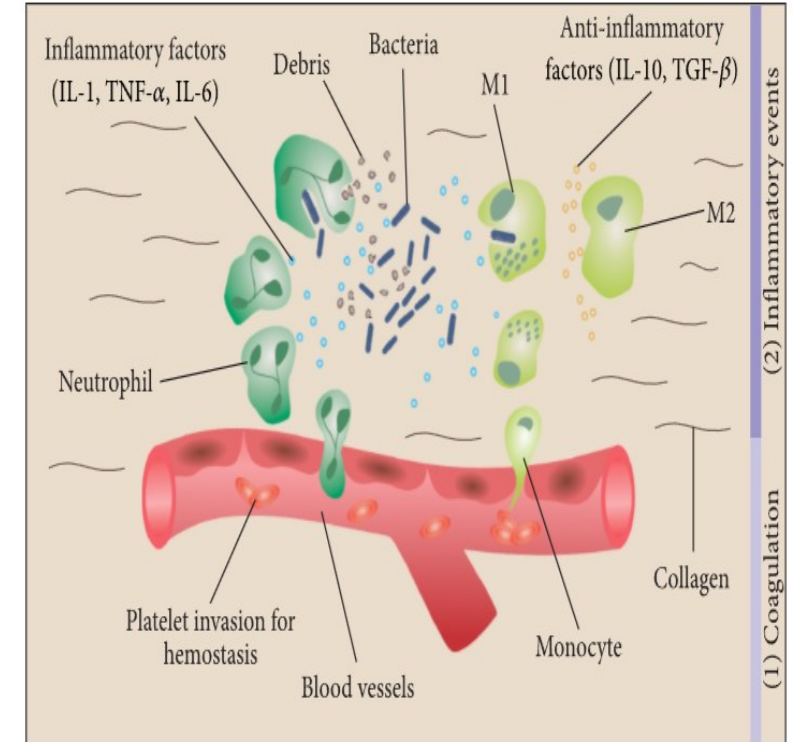
Лектор: професор Наталія ЗАІЧКО
Кафедра біохімії ім. професора О.О. Пентюка
ВНМУ ім. М.І. Пирогова

План лекції

- Запалення: основні поняття, молекулярні механізми.
- Види та функцій медіаторів запалення.
- Механізми включення запальних каскадів, тол-подібні рецептори
- Роль ядерного фактору каппа В в регуляції запалення
- Функції цитокінів, янус-кіназ, білків теплового шоку, газових медіаторів (NO, H₂S).
- Роль гормонів в регуляції запалення.

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.



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)

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, H₂S

Пізнні клітинні медіатори

Ліпідні медіатори:

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

Цитокіни:

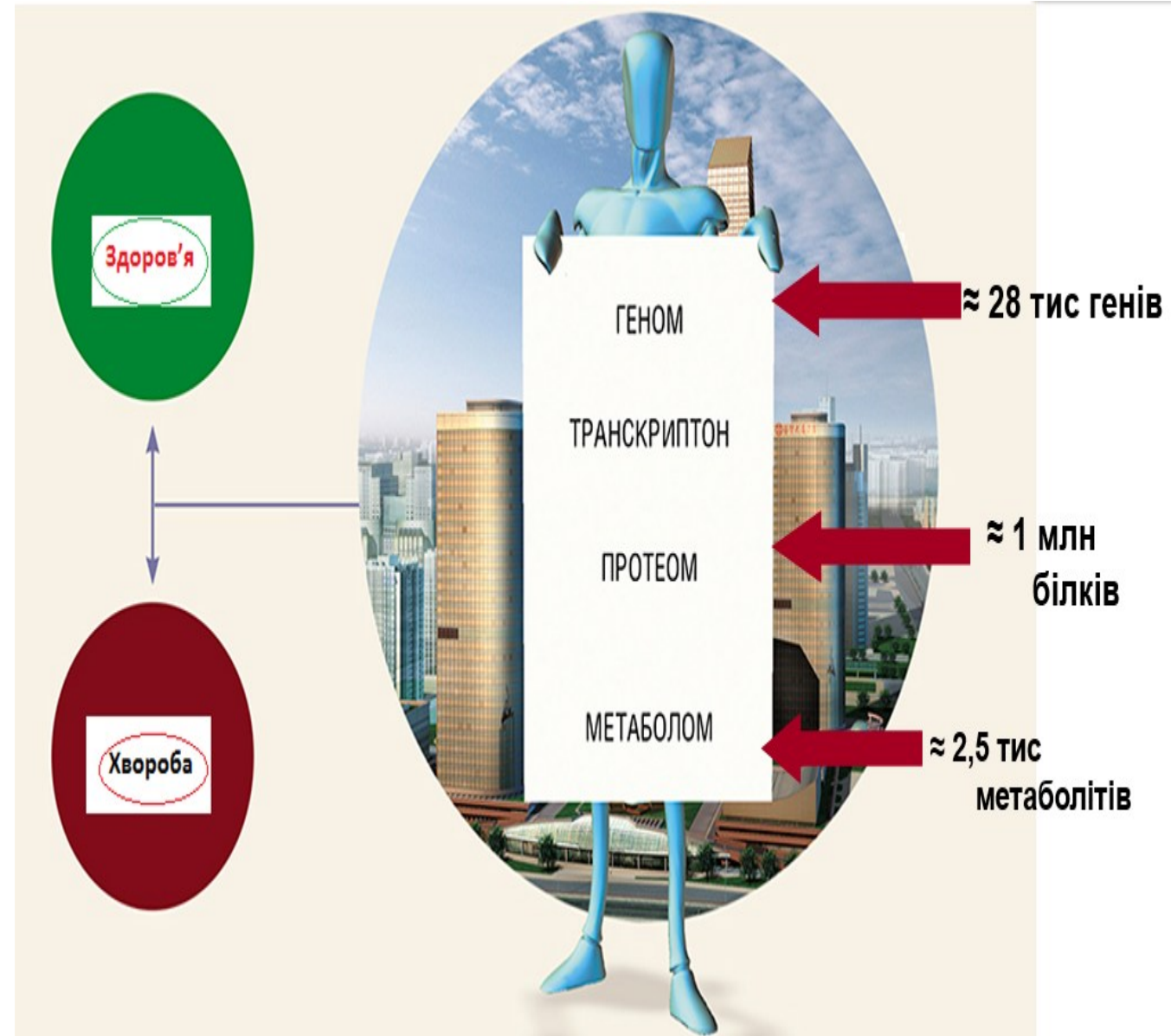
- Прозапальні
(ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6, ФНПа,
інтерферон-γ)
- Протизапальні
(ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-13)

Хемокіни:

ІЛ-8,
макрофагальні
протеїни
хемотаксису,
лімфотактин
РАНТЕС

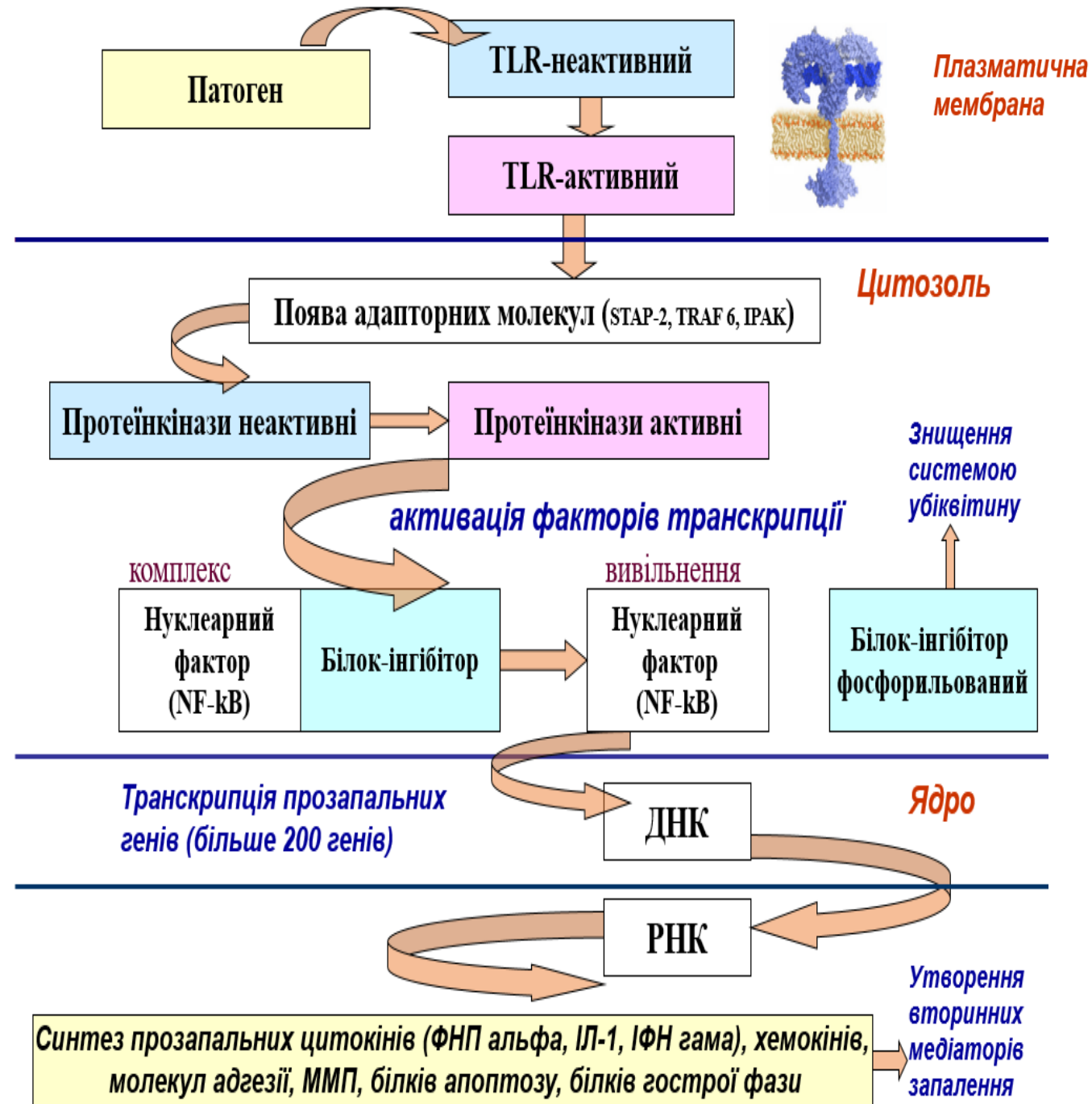
Регуляція запалення

- **Регуляція запалення** здійснюється на рівні геному, транскриптому та протеому.
- До регуляції запалення залучено більше 200 генів, які кодують синтез сигнальних молекул факторів транскрипції, цитокінів та їх рецепторів, факторів росту, протеїнів теплового шоку, ензимів запалення та їх інгібіторів, тол-подібних рецепторів тощо.



Пусковий механізм запалення

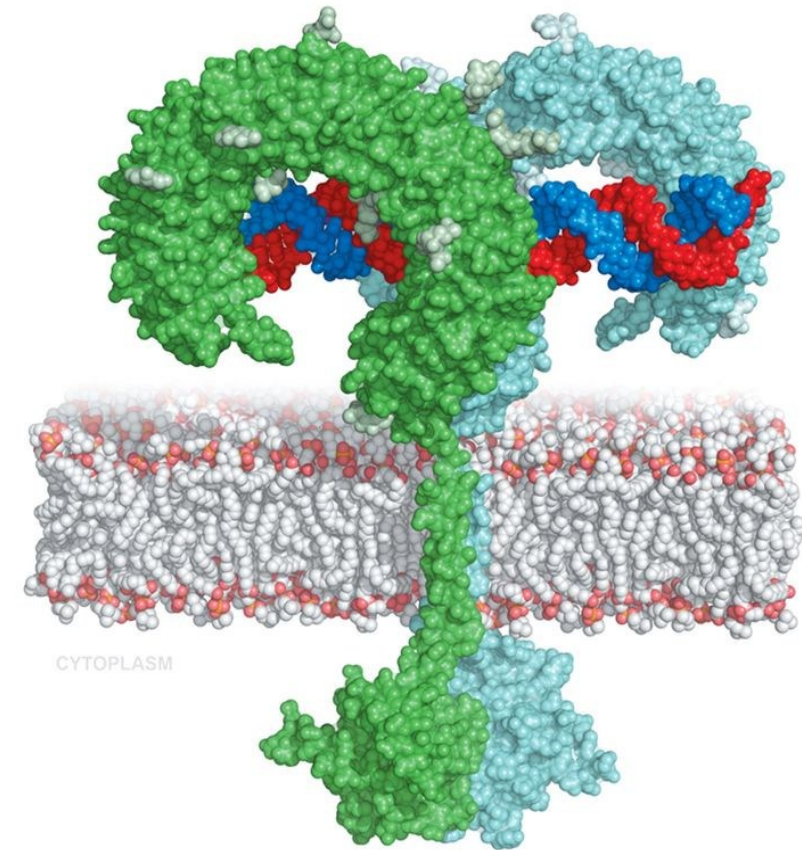
- Активація екстрацелюлярних рецепторних комплексів (TLR та інших) під дією прозапального чинника, трансдукція запального сигналу у клітину, поява адапторних молекул.
- Адапторні молекули активують спеціальні протеїнкінази - NF- κ B-індукуючу кіназу, ІЛ-1-рецептор-асоційовану кіназу, мітогенактивовану протеїнкіназу (MAP-кіназу).
- Активні протеїнкінази активують фактори транскрипції, які трансдукують регуляторний сигнал до ДНК і активують експресію понад 200 генів запалення



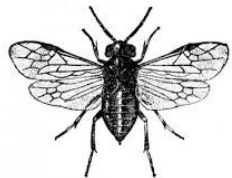
ТОЛ-ПОДІБНІ РЕЦЕПТОРИ

TOLL-LIKE RECEPTORS (TLRs)= ТОЛ-ПОДІБНІ РЕЦЕПТОРИ

- TLRs - прості, мембранозв'язані, некаталітичні білки-рецептори, які відграють ключову роль в роботі системи вродженого (неспецифічного) імунітету
- TLRs відповідають за розпізнавання консервативних молекулярних структур патогенних мікроорганізмів – **патоген-асоційованих молекулярних патернів (Pathogen-associated molecular patterns = PAMPs), та**
- молекулярних структур, які вивільняються при пошкодженні власних клітин макроорганізма – **з пошкодженням асоційовані молекулярні патерни (Damage-associated molecular patterns = DAMPs)**
- TLRs виявлені майже у всіх живих організмів



Патоген



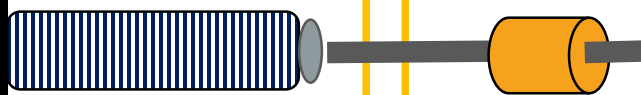
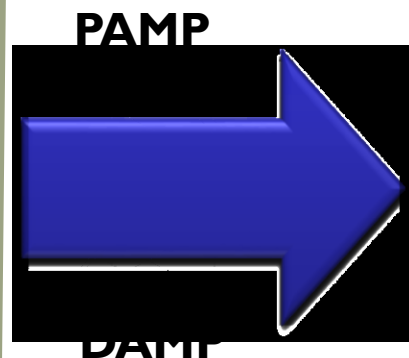
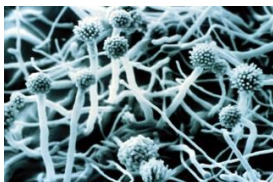
Бактерії



Віруси



Гриби



TLR

**TLR- залежний
сигнальний шлях**

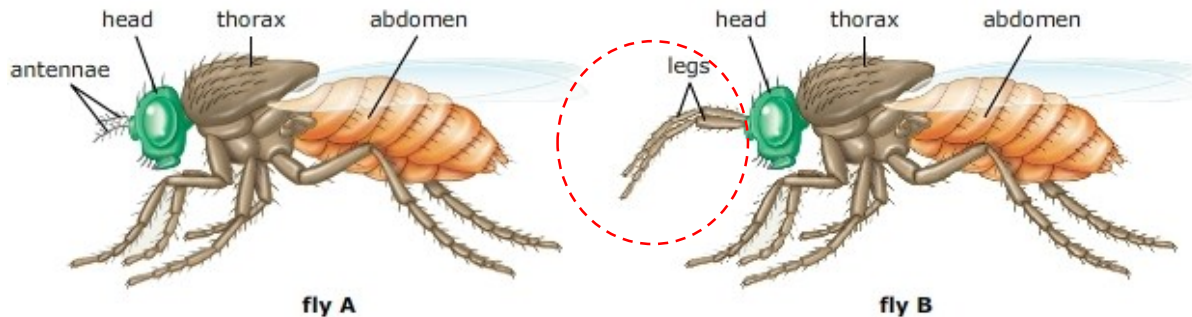


**Індукція синтезу
протівірусних,
антибактеріальних та
протигрибкових
пептидів**

Вроджений імунітет

ІСТОРИЯ ВІДКРИТТЯ TLR

- 1985 р. – відомий німецький біолог Христіана Нюсляйн-Фольхард при дослідженні мутацій у фруктової мушки-дрозофіли (*Drosophila melanogaster*) виявила новий ген, який відповідав за розвиток ембріону (дорсовентральну поляризацію). Її негайна репліка була "Das war ja toll!" («Оце клас!»). (1995 р. – Нобелівська премія)
- В подальшому епітет «toll» увійшов до назви відкритого гена.
- Німецькою «toll» - великий, пречудовий



Adapted from *Biology* by Campbell and Reece © 2008 Pearson Education, Inc.

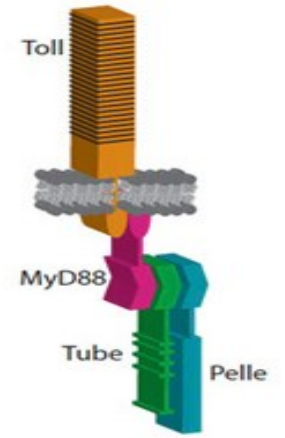
Christiane Nüsslein-Volhard



- 1996 р. - французьким вченим **Жюлем Офманом** (Jules Alphonse Hoffmann) було виявлено, що ген toll відповідає не лише за розвиток ембріону, а й за стійкість дрософіли до грибкової інфекції (**2011 р. - Нобелівська премія**).



Drosophila melanogaster



- 1997 р. - знайдено перший тол-подібний ген у ссавців (TLR4). TLR4 викликав активацію ядерного фактора каппа-В (NF-кВ) аналогічно інтерлейкіну-1.
- 1998 р. - встановлено, що лігандом для TLR4 є компонент клітинної стінки грам-негативних бактерій - ліпополісахарид.

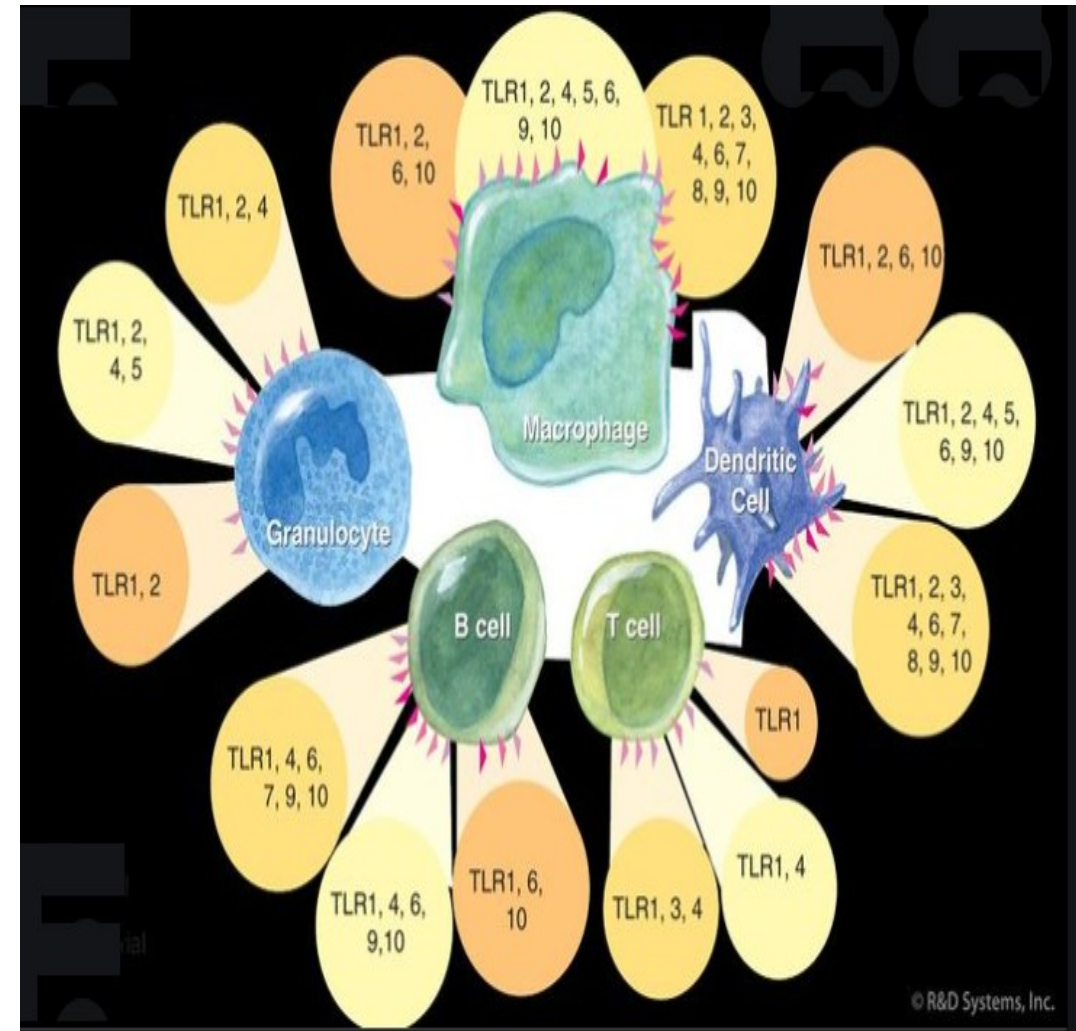


*Jules
Alphonse
Hoffmann*



ДЕ РОЗТАШОВАНІ TLRs

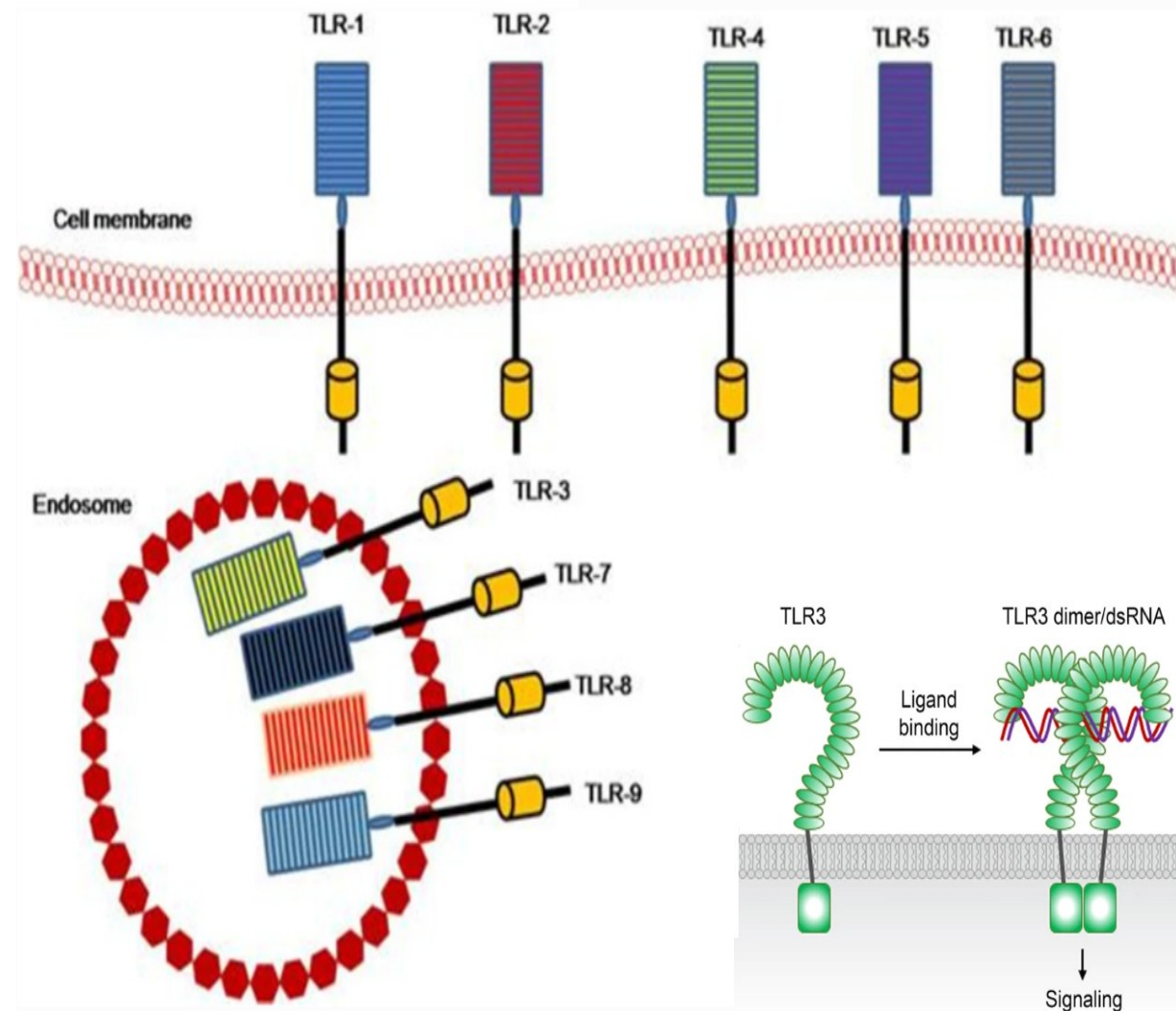
- TLRs експресуються на поверхні імунних клітин - макрофагів, дендритних клітин, натуральних кілерів, Т- та В-лімфоцитів, нейтрофілів, моноцитів.
- TLRs виявляються в органах і тканинах, які залучені до реалізації імунних функцій (селезінка, тимус, лімфатичні вузли, лейкоцити периферійної крові) чи контактують із зовнішнім середовищем (легені, шлунково-кишковий тракт, шкіра)
- TLRs виявлені в неімунних органах – клітинах нервової системи (глії, нейронах), фібробластах, епітеліальних та ендотеліальних клітинах, серці, скелетних м'язах, нирках, плаценті, яєчниках, яєчках, передміхуровій залозі.



ВИДИ ТОЛ-ПОДІБНИХ РЕЦЕПТОРІВ

TLRs поділяються на:

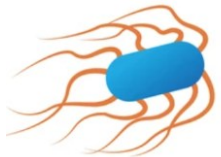
- I.
 - **TLRs клітинної мембрани** – експресуються на поверхні клітин: TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR10.
- II.
 - **Внутрішньоклітинні TLRs** (сенсори нуклеїнових кислот) – знаходяться в ендоплазматичному ретикулумі, ендосомах та лізосомах: TLR3, TLR7, TLR8, TLR9.



ЕКЗОГЕННІ ЛІГАНДИ TLRs

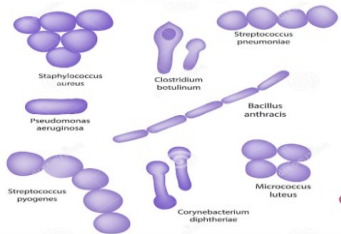
Мікробні структури (PAMPs)

Бактерії



Джгутикові

Протеїни (Флагелін)

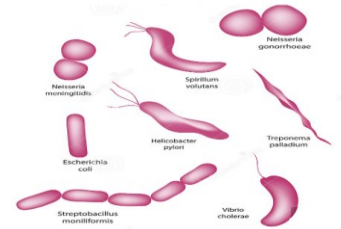


Грам +

Ліпотейхоеві кислоти, Пептидоглікани, Гліколіпіди

Протеїни (Модулін стафілококів)

ДНК



Грам -

Ліпополісахариди (ЛПС)

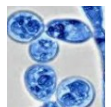
ДНК



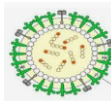
Мікобактерії

Гліколіпіди – ліпоарабіноманан, ліпопептиди, ліпоглікани, ліпоманани

Зимозан

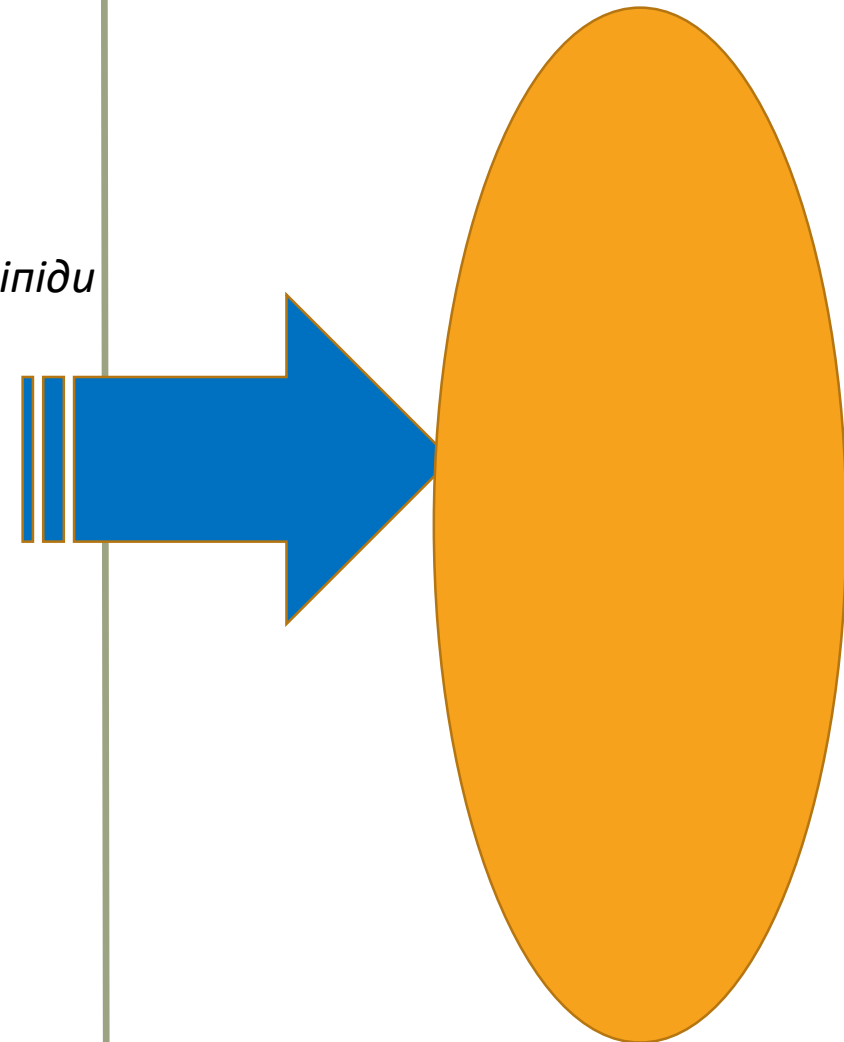


Гриби (дріжджі)



Віруси

Дволанцюгова РНК (ds RNA), ДНК



ЕНДОГЕННІ ЛІГАНДИ TLRs

Структури пошкоджених клітин (DAMPs)

*Компоненти
екстрацелюлярного
матриксу*

Гіалуронан, фібриноген, гепарансульфат

*Компоненти некротизованих
клітин*

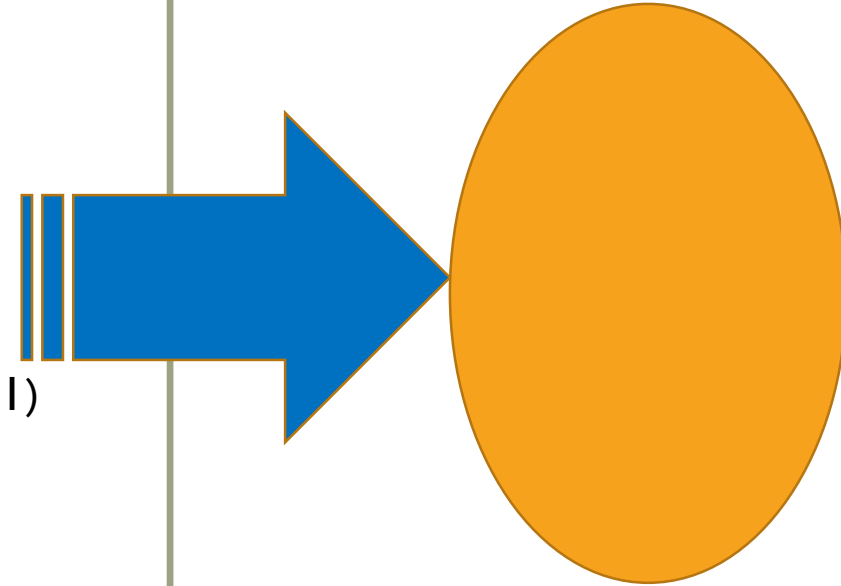
*Компоненти плазматичної мембрани
Білок А легеневого сурфактанту*

Ядерні та цитозольні білки

*Білки теплового шоку (HSPs),
білок високої мобільності групи 1 (HMGB1)*

*Структури пошкоджених
органел*

*Мітохондріальна ДНК (mtDNA)
Фізично та хімічно модифікована ДНК*



ФУНКЦІЇ TLRs

Toll-подібні рецептори є одними з найсильніших генних модуляторів !!!

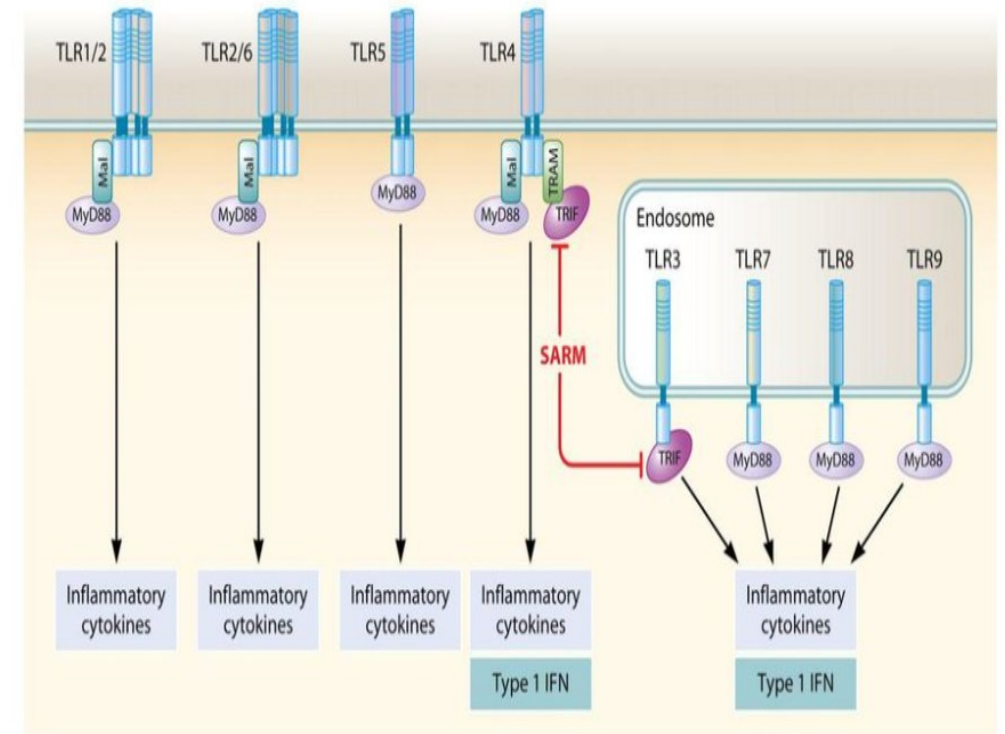
В системі вродженого імунітету функція TLRs полягає в індукції антимікробної активності та продукції прозапальних цитокінів.

Після взаємодії з лігандом TLRs передають сигнал в клітину і викликають «мобілізацію» **адапторних білків:**

- MyD88 - білок мієлоїдного диференціювання первинної відповіді
- IRAK (IL-1R-associated protein kinases) – протеїнкіназ, асоційованих з рецептором інтерлейкіна-1
- TRAF6 – фактор, асоційований з рецепторами фактору некрозу пухлин (Tumor Necrosis Factor =TNF)

*Всього існує 5 адапторних білків: MYD88, TIRAP, TRIF, TRAM і SARM. **Всі 5 білків може зв'язувати лише TLR4.***

TLRs and TIR domain-containing adaptor molecules.



ЗМІНИ В ОРГАНІЗМІ ПРИ АКТИВАЦІЇ TLRs

Основною ознакою активації TLRs є секреція прозапальних цитокінів (TNF- α , IL-1 β та ін.) та інтерферону типу 1

Цитокіни є короткоживучими медіаторами з довготривалою дією, які

- ✓ посилюють системну запальну відповідь,
- ✓ викликають зміни поведінкових реакцій, слабкість, млявість, втому, анорексію;
- ✓ посилюють катаболізм, перешкоджають синтезу м'язових білків і викликають саркопенію;
- ✓ активують синтез білків гострої фази;
- ✓ індукують периферичний ліполіз, активізують синтез жирних кислот de novo і синтез тригліцеридів в гепатоцитах, стимулюють секрецію ЛПДНЩ і підвищують рівень тригліцеридів в крові;
- ✓ активують апоптоз.



РОЛЬ TLRs У РОЗВИТКУ ЗАХВОРЮВАНЬ

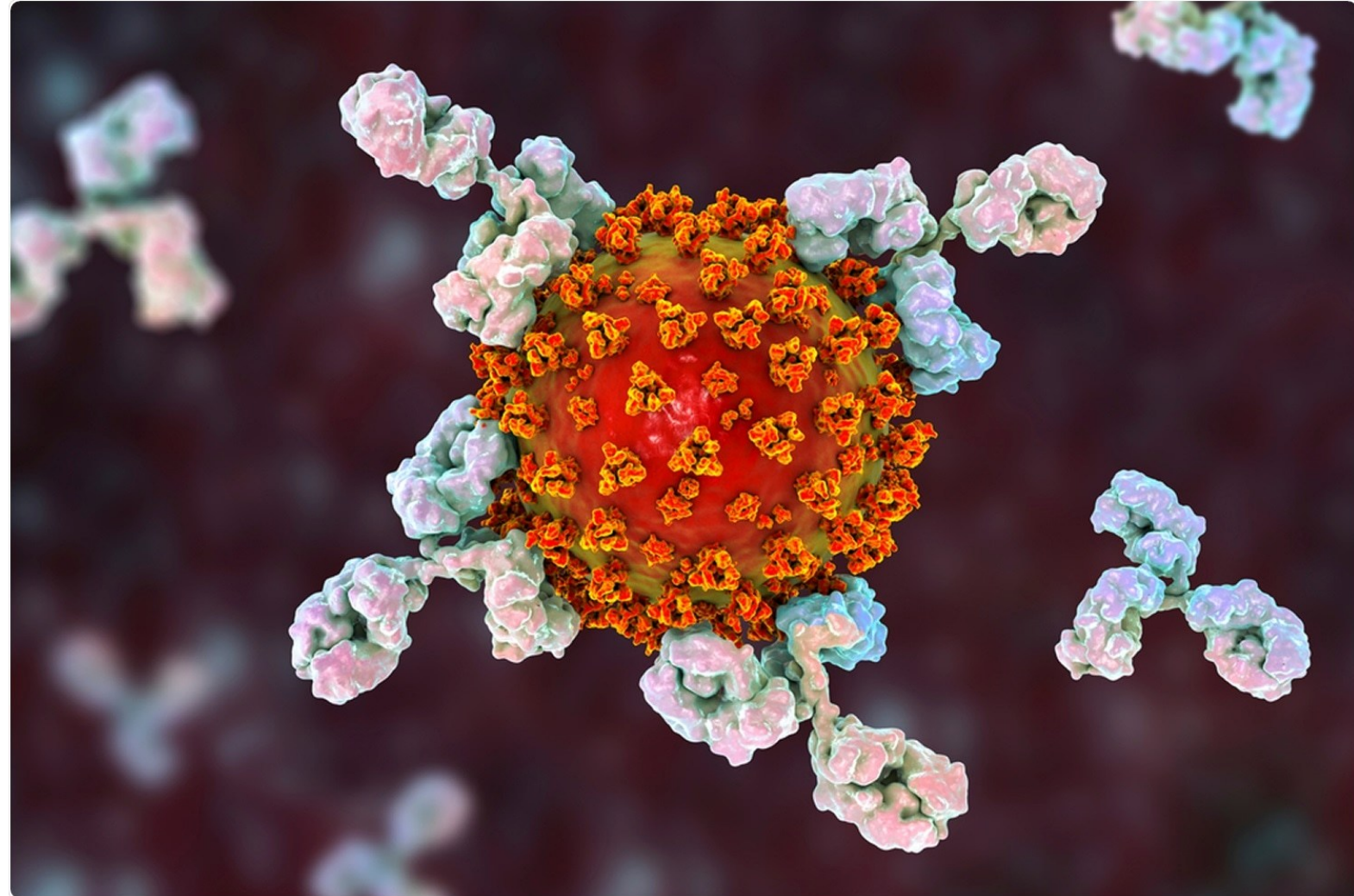
Тип TLR	Асоційована патологія
TLR2	Системний червоний вовчак (СВЧ), сепсис, атеросклероз, гіпертензія, псоріаз, ХОЗЛ, інсулінорезистентність, метаболічний синдром, ЦД
TLR3	Сепсис, атеросклероз
TLR4	СВЧ, сепсис, атеросклероз, гіпертензія, псоріаз, запальні захворювання кишечника, пухлини ШКТ, астма, ХОЗЛ,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

TLR4 та TLR2 є метаболічними сенсорами, що активуються високим рівнем глюкози та активними формами кисню!!!

TLRs i COVID-19

Спайковий глікопротеїн SARS-CoV-2 S1 є агоністом TLR4, стимулює експресію ACE2, викликає прозапальну активацію макрофагів

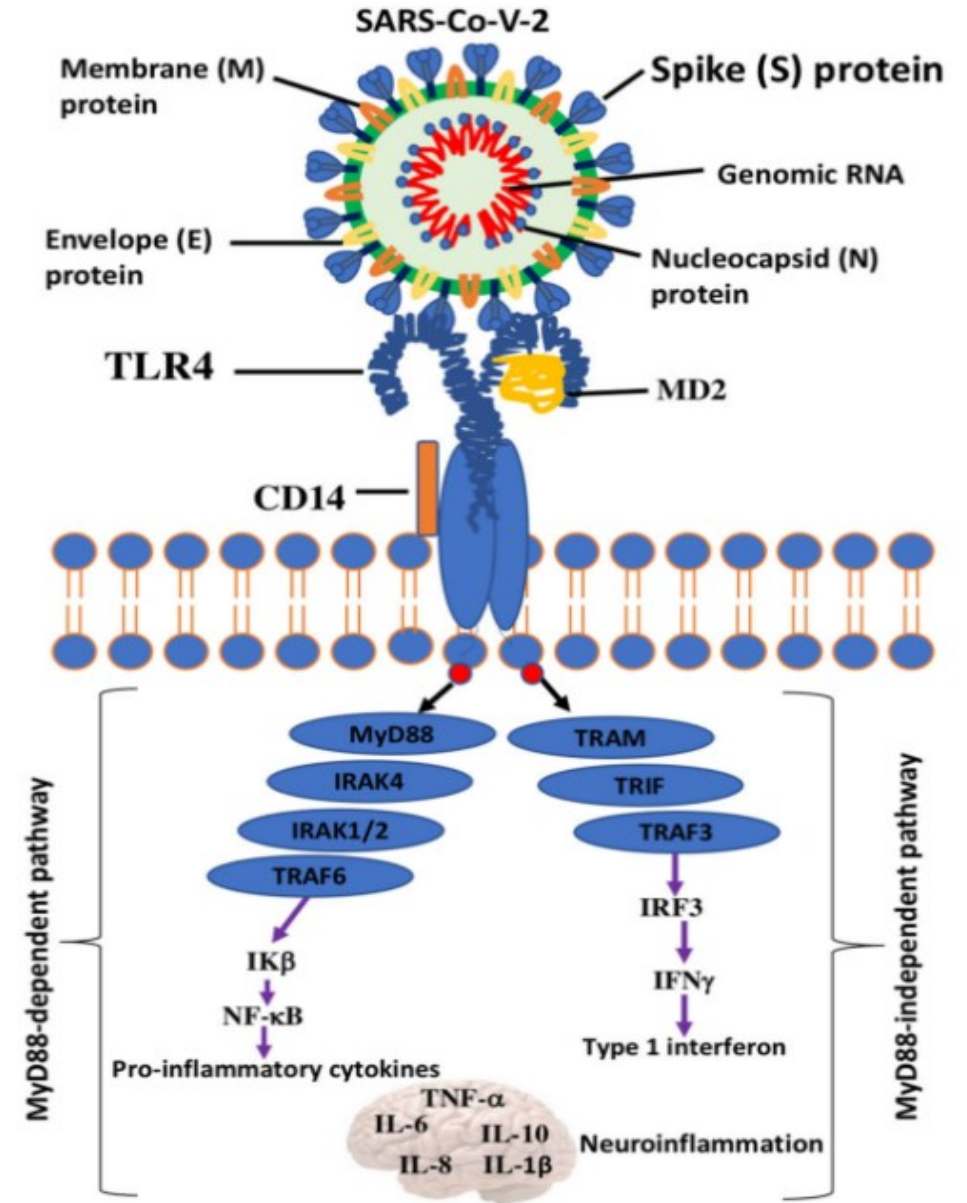
- *SARS-CoV-2 Spike S1 glycoprotein is a TLR4 agonist, upregulates ACE2 expression and induces pro-inflammatory M1 macrophage polarisation.*
Image Credit: Kateryna Kon



TLR4 і SARS-CoV-2

- 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, що викликає підвищення експресії ACE2 в легенях та інших тканинах.
- У пацієнтів з тяжким перебігом COVID-19 активація TLR4 спайковим S-глікопротеїном призводить до «цитокінового шторму», що спричиняє тяжкі ураження органів-мішеней і обтяжує перебіг ковідної пневмонії, міокардиту, нейрозапалення.

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



РЕГУЛЯТОРИ АКТИВНОСТІ TLRs – ПЕРСПЕКТИВНІ ЛІКАРСЬКІ ЗАСОБИ

Регулятори активності **TLRs** :

- **агоністи TLRs** — імуностимулюючі препарати (на основі PAMP)
- **антагоністи TLRs** — імуносупресанти.

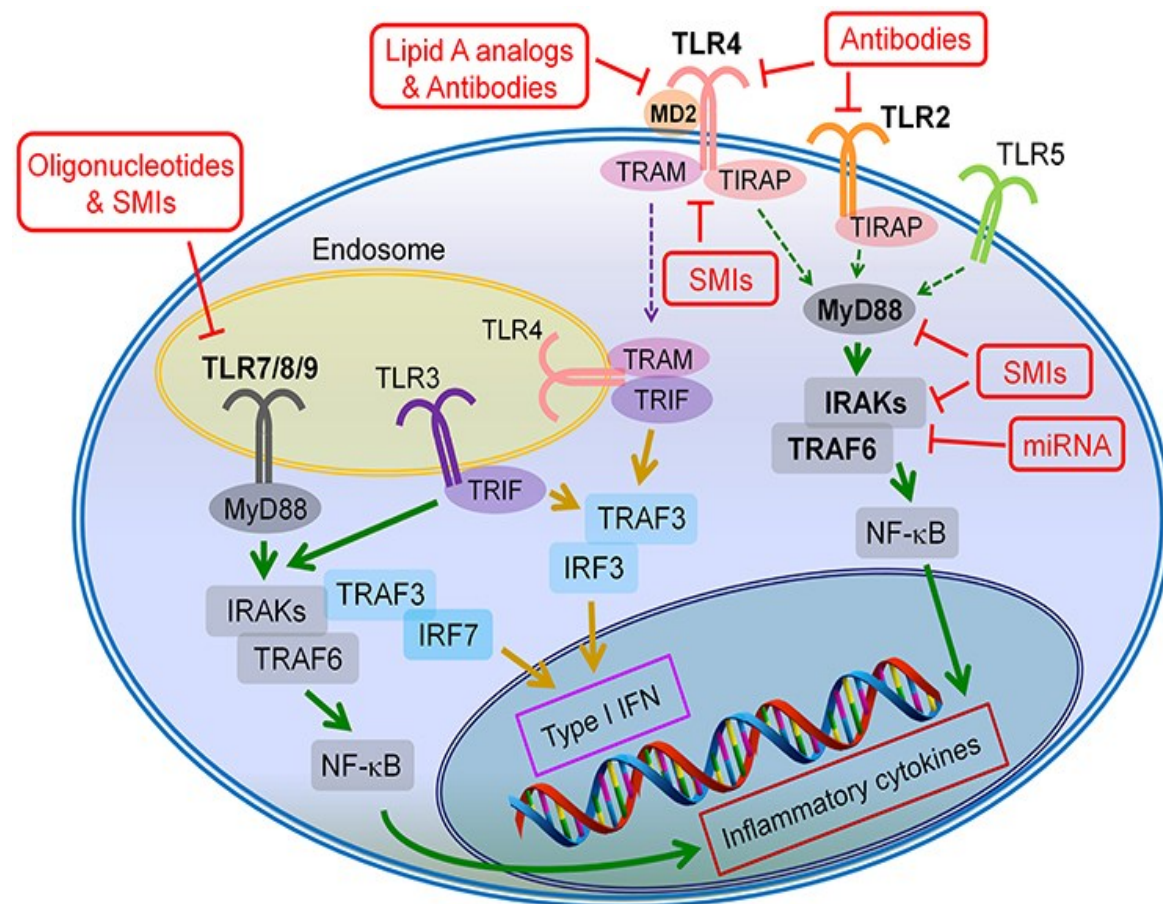
Інгібування дії TLRs може досягатись двома шляхами:

- 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) використовують як ад'ювант у складі вакцин з метою посилення їх імуногенних властивостей.



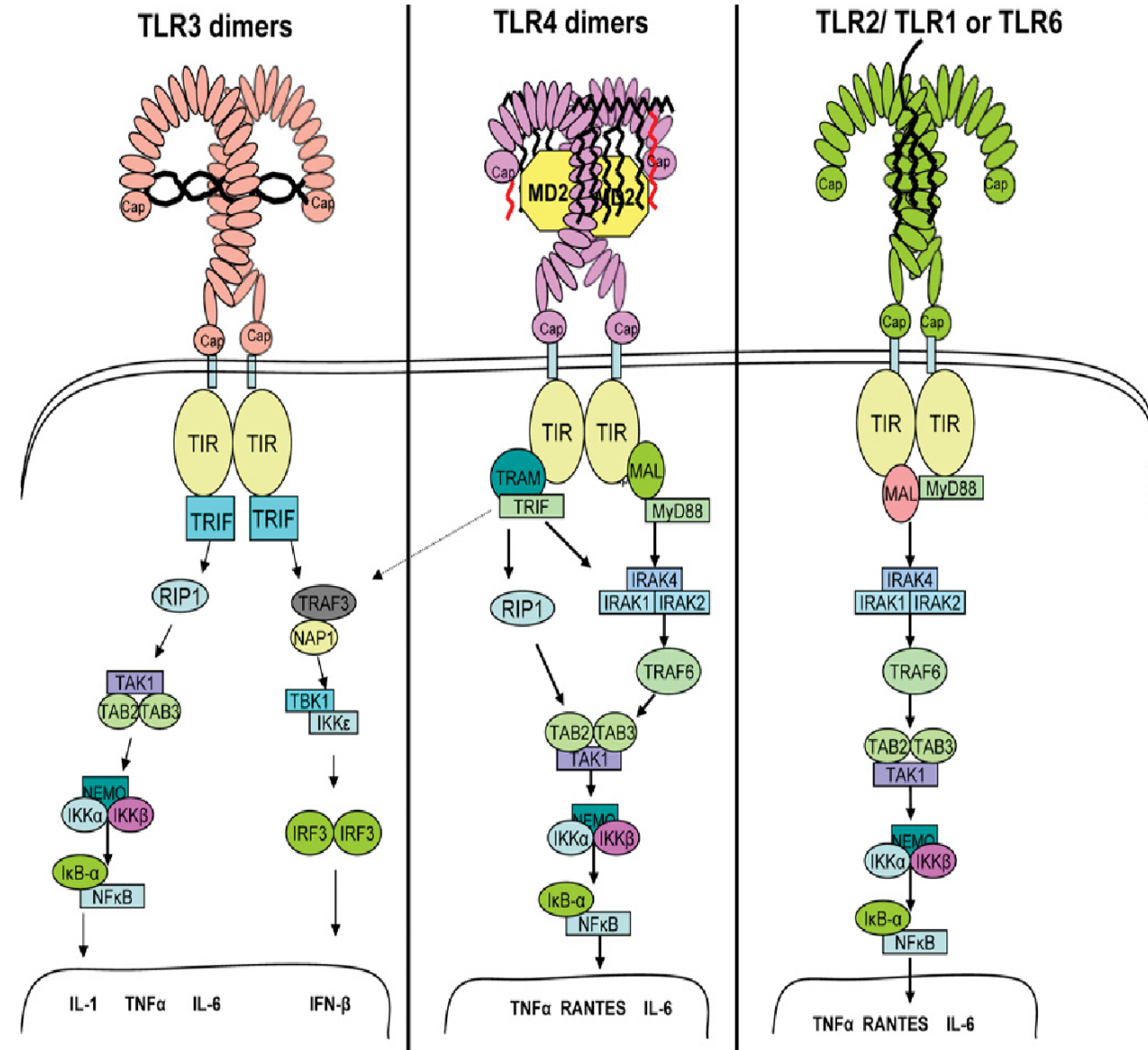
ПРОЗАПАЛЬНІ ФАКТОРИ ТРАНСКРИПЦІЇ

Адапторні білки викликають активацію прозапальних факторів транскрипції

- Ядерного фактора каппа В (NF- κ B)
- Активаторного білка 1 (AP-1)
- Інтерферон-регулюючого фактора 3 (IRF3)

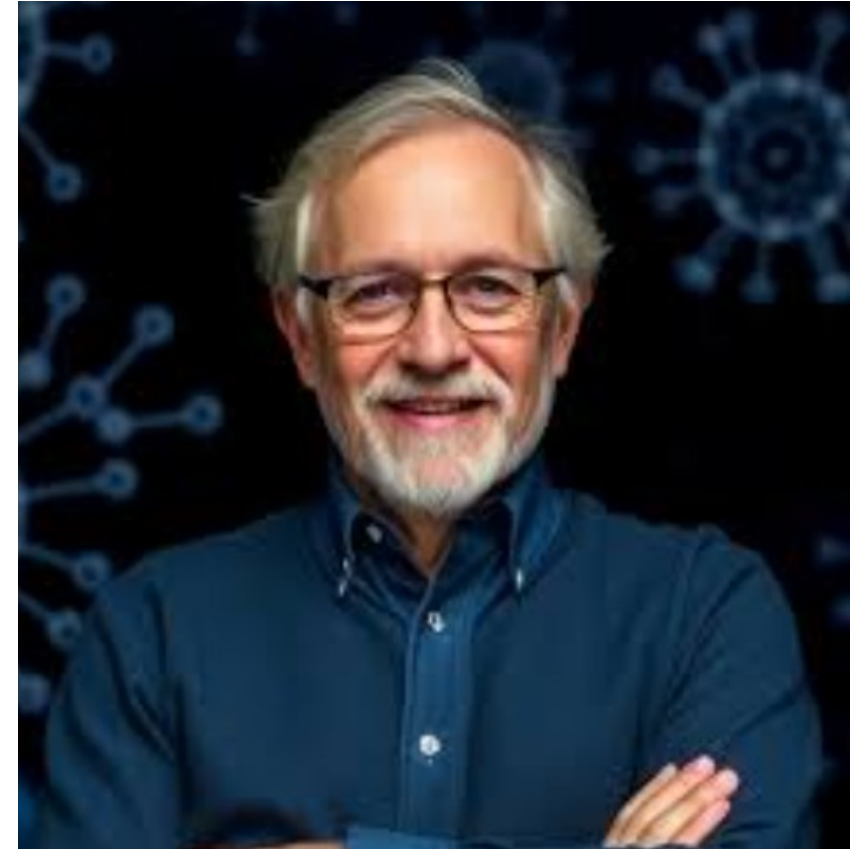
Кожний фактор транскрипції відповідає за активацію транскрипції специфічних генів, які кодують синтез різних груп запальних білків:

- TNF альфа,
- інтерлейкіну 1 бета та інтерлейкіну-6,
- інтерферону 1 типу (IFN- α , β),
- хемокінів,
- антимікробних пептидів.



ЯДЕРНИЙ ФАКТОР КАППА В (NF-κB)

- Транскрипційний фактор **NF-κB** (ядерний фактор «каппа-бі»; англ. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF-κB) - універсальний фактор транскрипції, що контролює експресію генів імунної відповіді, апоптозу та клітинного циклу.
- NF-κB був відкритий в В лимфоцитах Ranjan Sen та David Baltimore у 1986.
- **Порушення регуляції NF-κB викликає запалення, ініціює аутоімунні захворювання, посилює розвиток вірусних інфекцій, онкопатології, старіння, ожиріння, діабету.**



Nobel Laureate David Baltimore

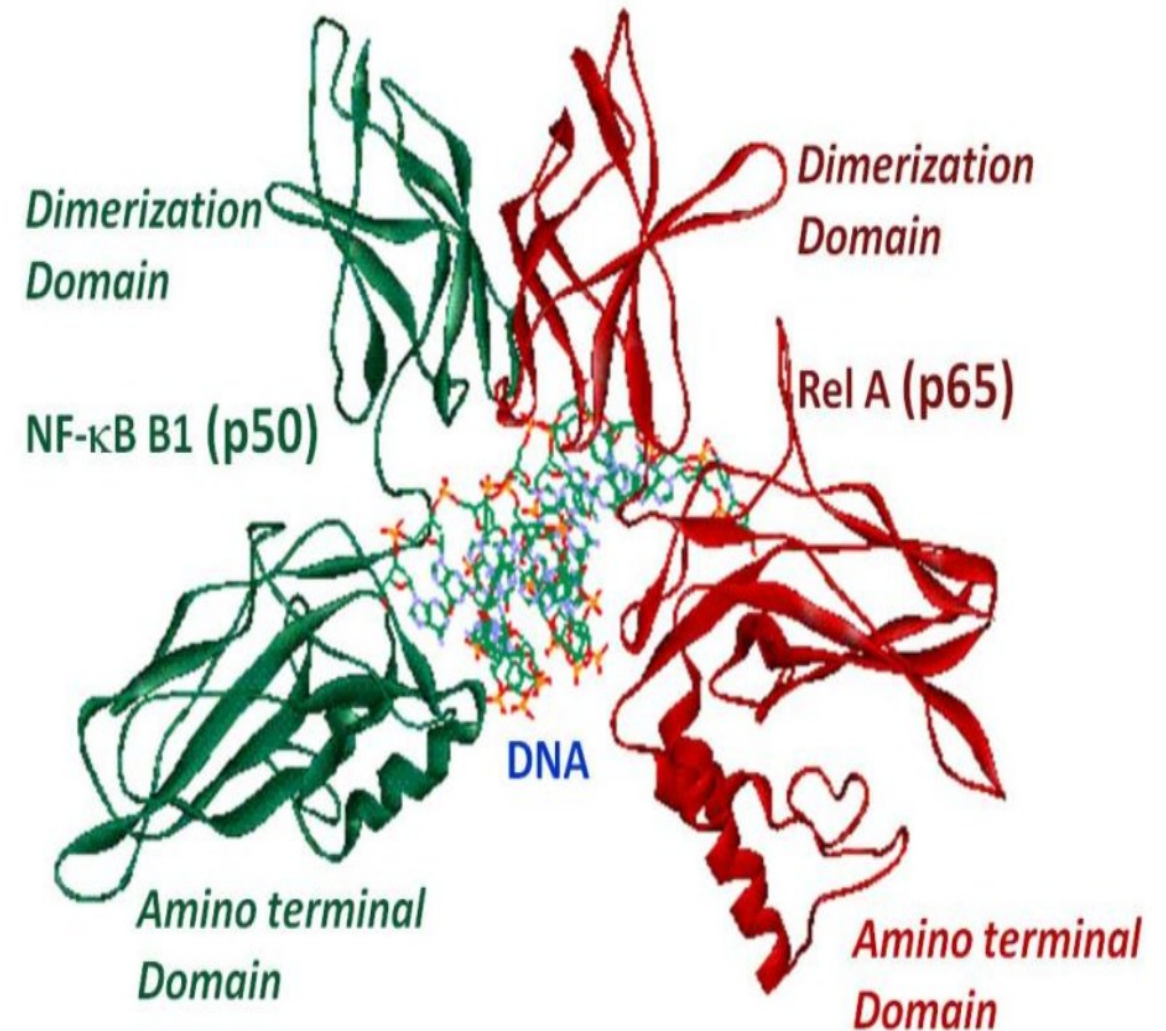
СТРУКТУРА NF-κB

Родина NF-κB складається з 5 білків:

- NF-κB1 (p105 → p50),
- NF-κB2 (p100 → p52),
- RelA (p65),
- RelB
- c-Rel,

що утворюють 15 комбінацій димерів.

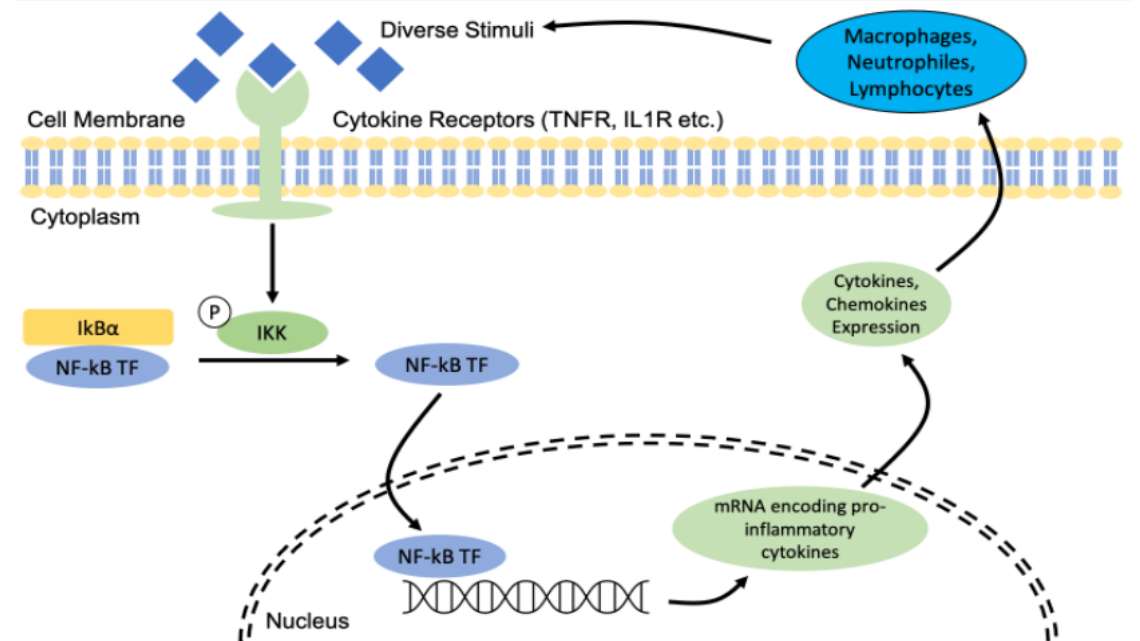
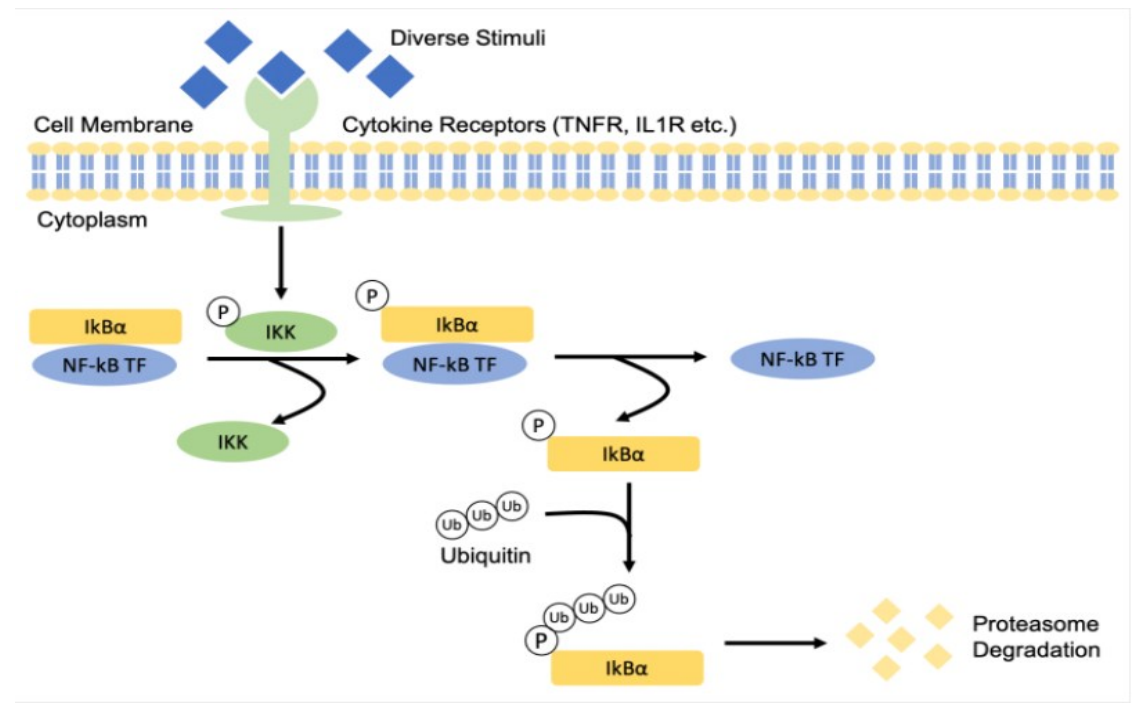
- Всі білки родини поєднує наявність домену Rel, який забезпечує утворення білкових димерів, зв'язування NF-κB з ДНК та з цитозольним інгібіторним білком IκB.
- Фактор NF-κB проявляє активність тільки в формі димеру (можливе утворення гетеро- і гомодимерів). Найбільш поширені форми - димери субодиниць p50 або p52 з субодиницею p65.



Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK100914/figure/nfkb.F1/>

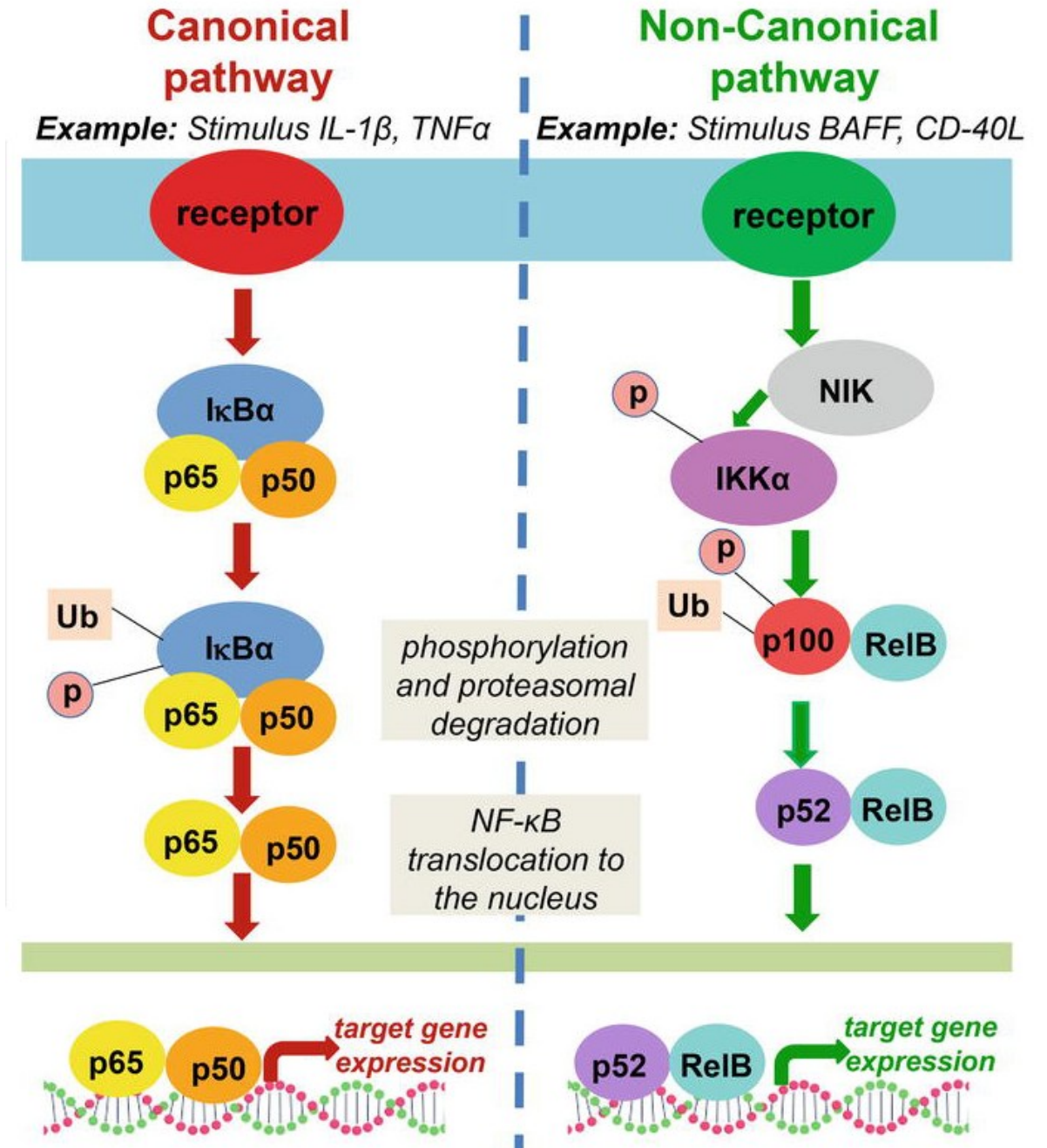
АКТИВАЦІЯ NF- κ B

- NF- κ B активується цитокінами (TNF, ІЛ-1), Т- та В-клітинним мітогенами, PAMP, активними формами кисню, УФО.
- У цитоплазмі клітин NF- κ B знаходиться у неактивному стані - у комплексі з інгібіторним білком I κ B.
- Під дією активатора NF- κ B-сигнального шляху I κ B фосфорилується спеціальною кіназою - IKK (I κ B-кіназа).
- Фосфорильований I κ B відділяється від NF- κ B і далі руйнується.
- NF- κ B, що звільнився від I κ B, транслокується в ядро та активує транскрипцію контрольованих ним генів.



Існують два шляхи активації NF-κB

- **Класичний (канонічний) шлях** активації NF-κB реалізується через фосфорилювання та деградацію IκBα. При цьому NF-κB вивільняється у вигляді гетеродимеру **p65/p50**.
- Через цей шлях передають сигнал більшість запальних цитокінів та факторів росту.
- **Альтернативний (неканонічний) шлях** активації NF-κB реалізується через активацію спеціальної кінази NIK (NF-κB-inducing kinase), яка активує кіназу IKKα, що фосфорилює білок p100 у складі NF-κB.
- При цьому NF-κB вивільняється у вигляді димеру **p52/RelB**.
- Активація цього шляху характерна для пухлинного росту.

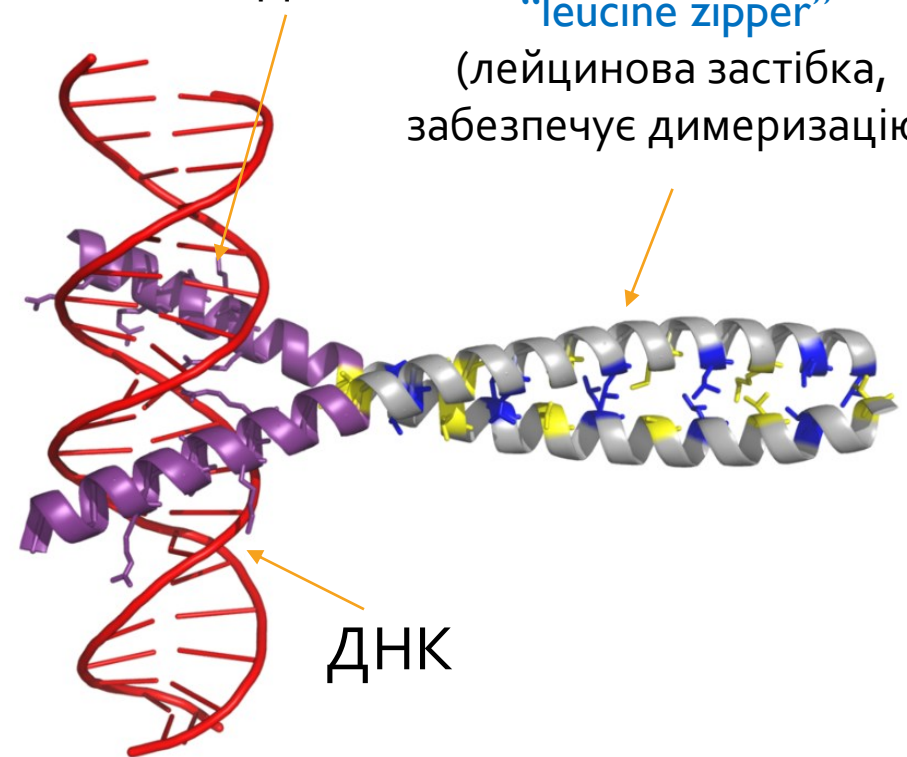


АКТИВАТОРНИЙ ПРОТЕЇН (AP-1)

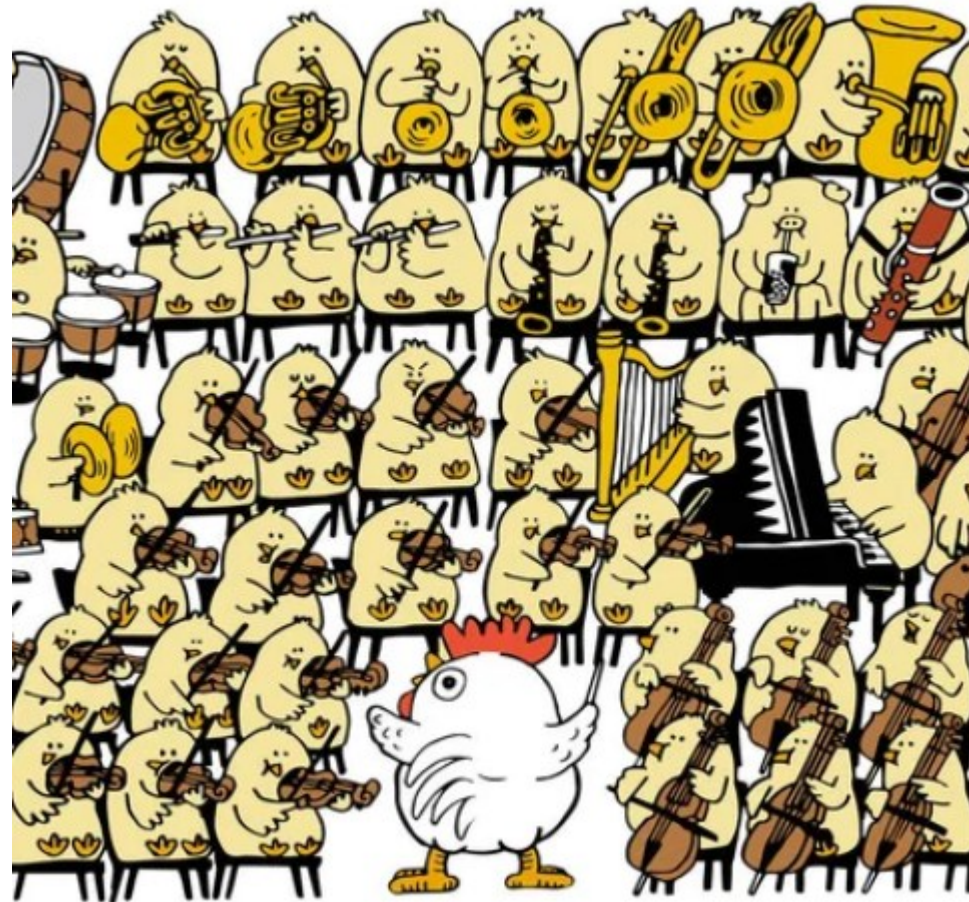
- Активаторний білок 1 (AP-1) є фактором транскрипції, який регулює експресію генів у відповідь на цитокіни, фактори росту, стрес, бактеріальні та вірусні інфекції.
- За структурою AP-1 є гетеродимером, що складається з білків родин протоонкогенів (c-Fos, c-Jun, ATF і JDP).
- AP-1 контролює диференціацію, проліферацію та апоптоз клітин
- AP-1 є важливим для всіх фізіологічних процесів, особливо процесів регенерації, що проходять в шкірі.
- Порушення сигнального шляху AP-1 асоціюється з розвитком раку молочної залози

“basic region”
(ділянка, що
взаємодіє з ДНК)

“leucine zipper”
(лейцинова застібка,
забезпечує димеризацію)

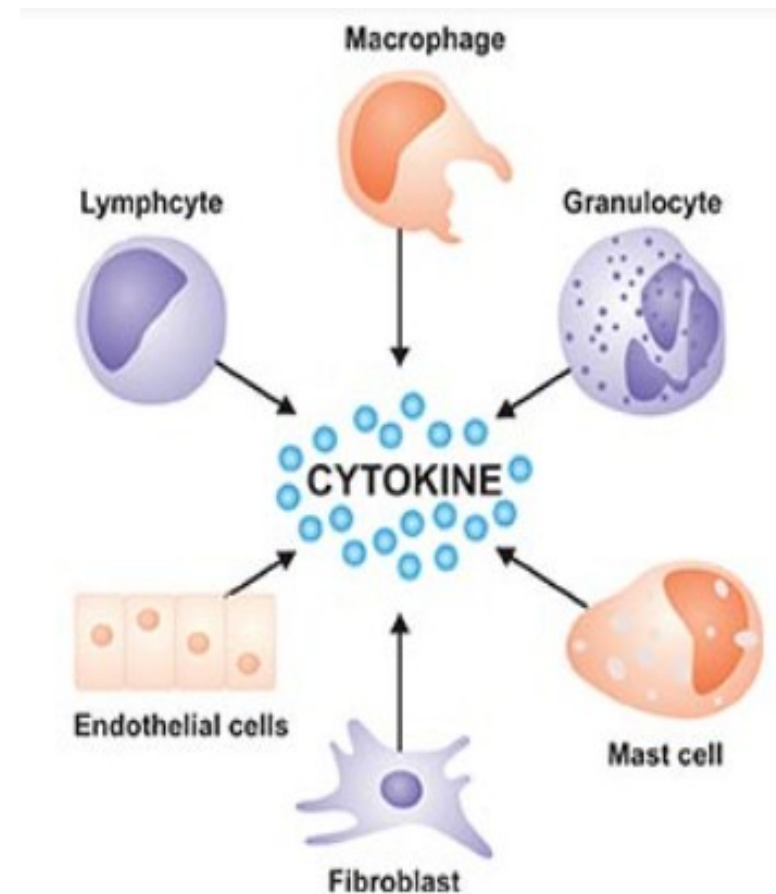


- Цитокіни – головні медіатори запального оркестру



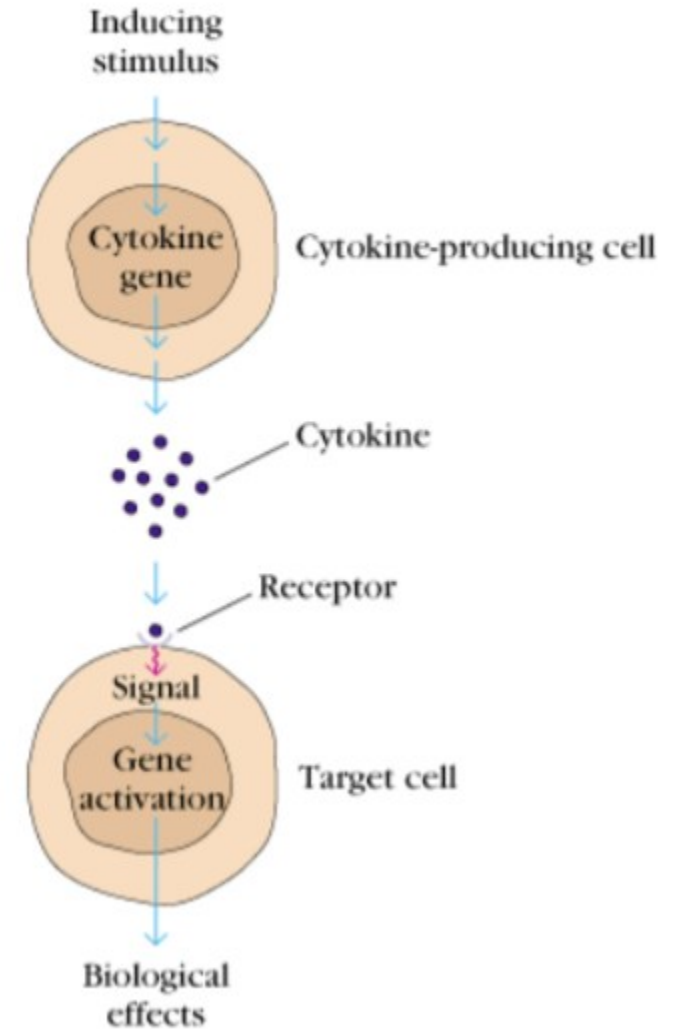
ЦИТОКІНИ

- ✓ група фізіологічно активних сполук, що синтезуються в імунній системі та відіграють роль міжклітинних хімічних сигналів, регулюють її активність та реалізують процеси міжклітинних комунікацій.
- ✓ продукуються активованими лімфоцитами, макрофагами, лейкоцитами, іншими клітинами крові та сполучної тканини, які беруть участь у реакціях імунітету та неспецифічної резистентності організму в процесі запалення.
- ✓ контролюють процеси дозрівання, функціонування та взаємодії між лімфоцитами та іншими клітинними ефекторами імунітету.
- ✓ відкрито понад 200 цитокінів



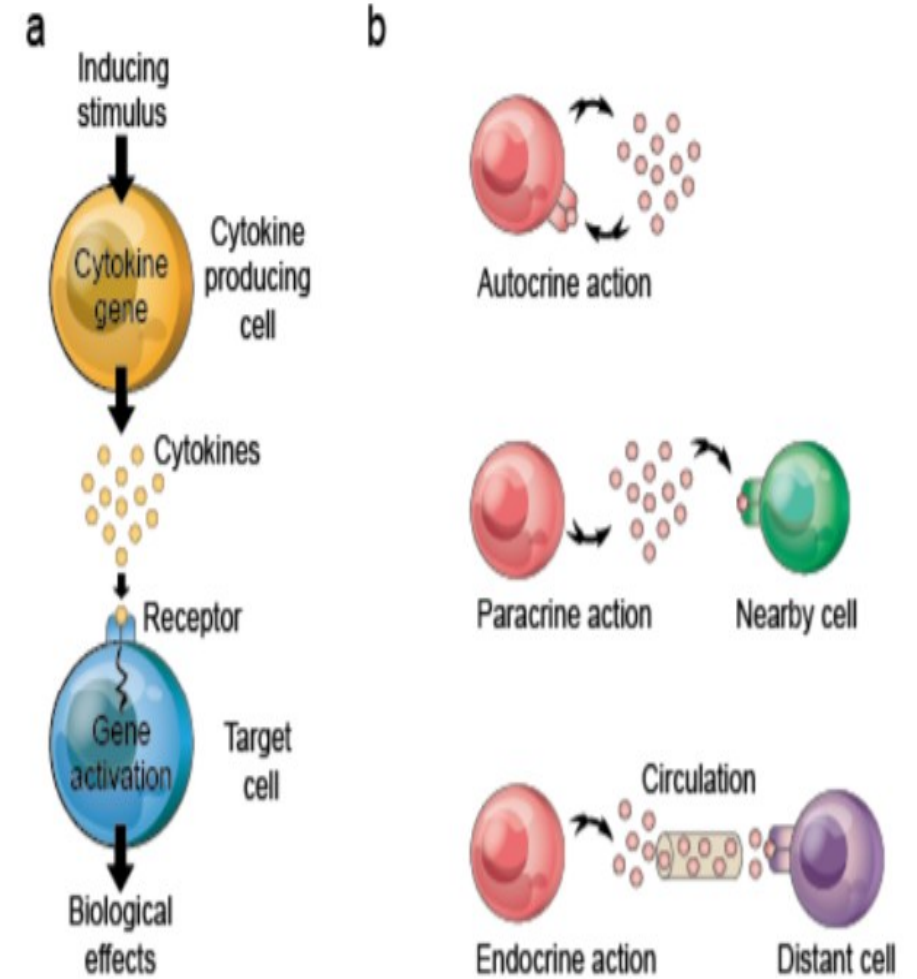
Цитокін-залежні ефекти

- Ріст клітин
- Диференціація клітин
- Загибель клітин
- Індукція відповіді на інші цитокінів або клітин
- Індукція резистентності до інших цитокінів / клітин
- Індукція секреції інших цитокінів



Особливості цитокінової регуляції

- **Плейотропність і взаємозамінність** дії. Різні цитокіни можуть викликати однакові біологічні ефекти, але кожний цитокін може індукувати різні ефекти в одній клітині.
- **Відсутність** антигенної **специфічності**.
- Дія цитокінів реалізується через взаємодію зі специфічними клітинними рецепторами за аутокринним, паракринним, юкстакринним та ендокринним механізмами.
- Формування **цитокінової мережі**. Цитокіни складають власну мережу взаємодій, в якій кожний цитокін функціонально пов'язаний з іншими елементами.
- Цитокінова мережа здатна до **саморегуляції**, вплив на будь-яку ланку відбивається на функціонуванні інших компонентів.
- Дефекти продукції або рецепції окремих цитокінів складають значну частину серед вроджених та набутих імунодефіцитів.
- Надлишкова продукція ендогенних цитокінів викликає прогресування запального процесу та іншої патології, найбільшою загрозою для організму є цитокіновий шторм.



Плейотропність – один цитокін в різних клітинах може викликати різні ефекти

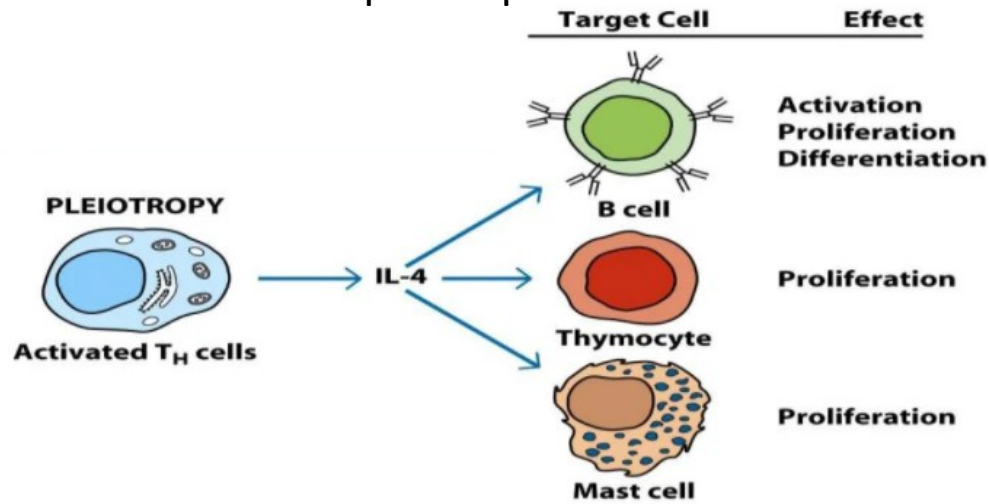
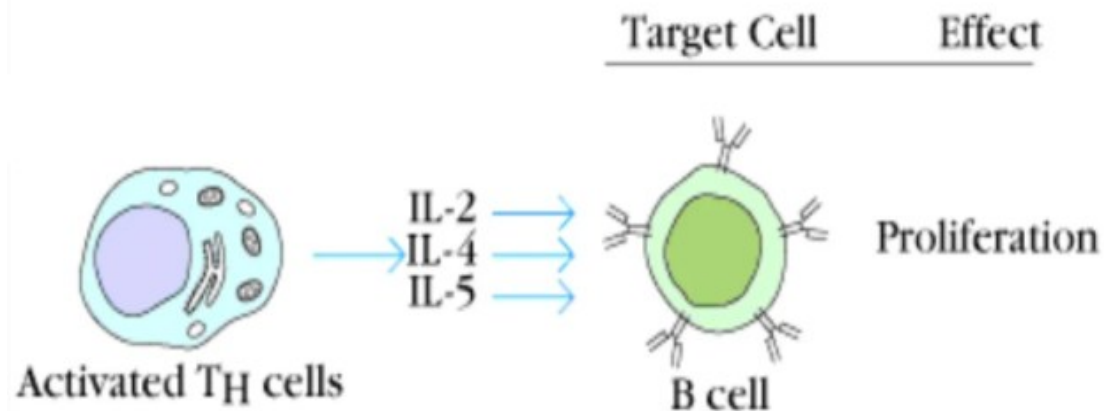
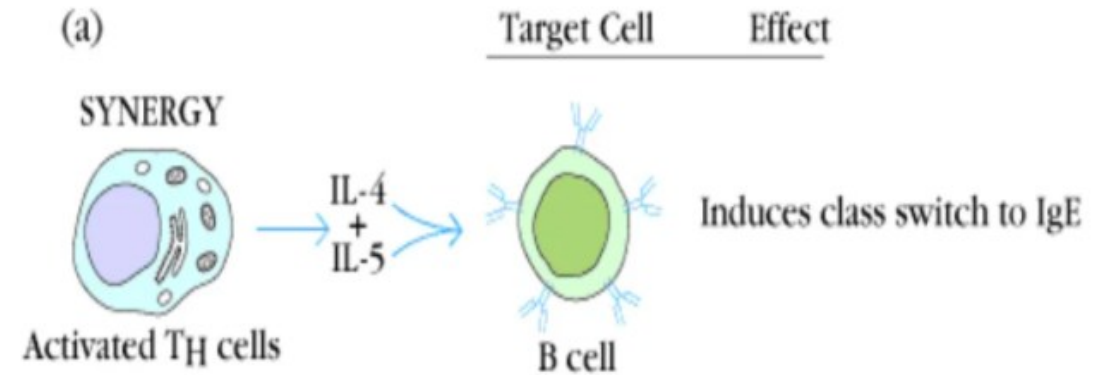


Figure 12-2a part 1
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

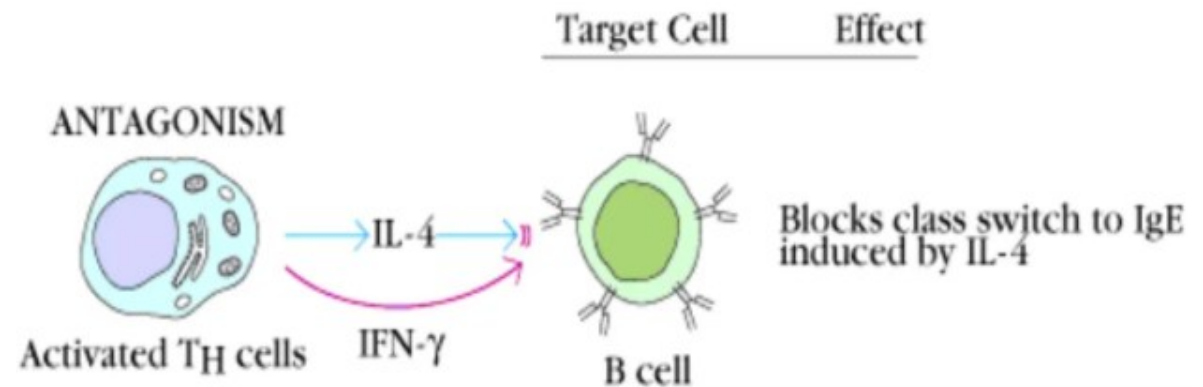
Взаємозамінність (надмірність) – різні цитокіни можуть викликати однаковий біологічний ефект



Синергізм – цитокіни підсилюють дію один одного

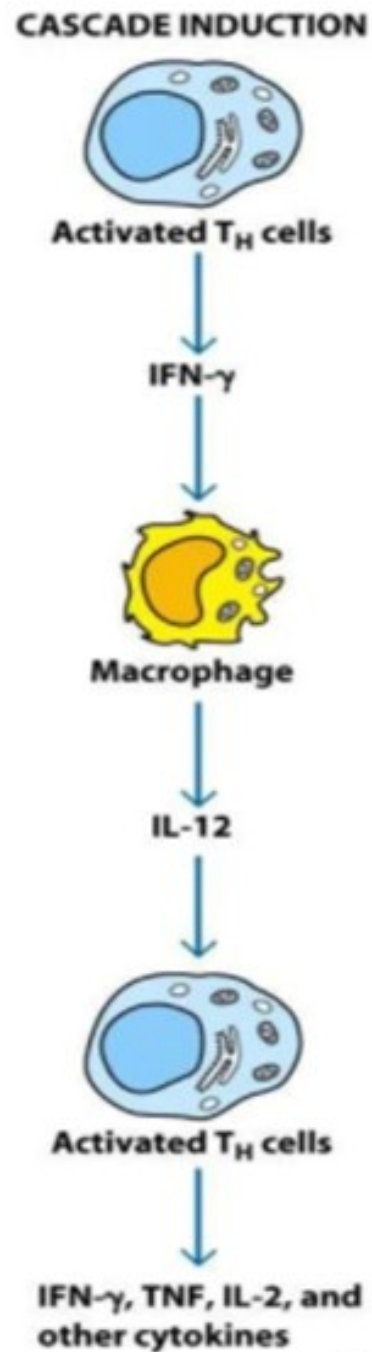


Антагонізм – цитокіни заважають один одному в реалізації дії



Каскадний ефект

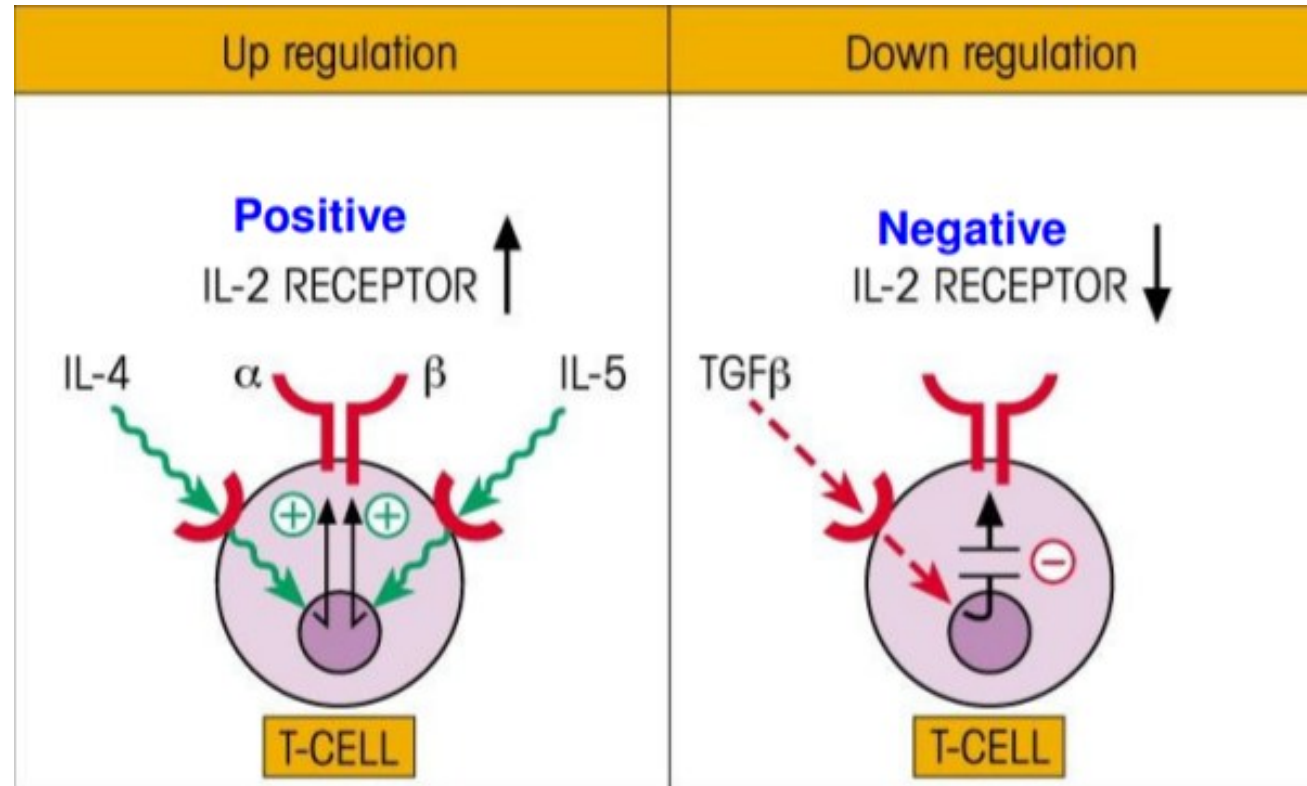
- Цитокіни можуть стимулювати продукцію інших цитокінів



Цитокіни можуть регулювати експресію рецепторів інших цитокінів

Активація

Інгібування



Класифікація цитокінів

Розподіл цитокінів на окремі групи є до певної міри умовним, оскільки більшість цих регуляторів викликає однаковий біологічний ефект. Існує декілька підходів за розподілом цитокінів.

I. За впливом на імунну систему

- Цитокіни, що регулюють клітинний імунітет (ІЛ-2, ІЛ-12, ІФН- γ , ФНП- α)
- Цитокіни, що стимулюють переважно гуморальний імунітет і послаблюють клітинний (ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-6, ІЛ-10 і ІЛ-13)

II. За біологічною дією

- Прозапальні цитокіни (ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6, ІЛ-1 β , ІЛ-12, ІФН- γ , ФНП- α)
- Протизапальні цитокіни (ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-13)

III. За функціональним призначенням

1. Гемопоетичні цитокіни – регулюють проліферацію та диференціацію всіх клітин кровотворної системи (еритропоєтин, тромбопоєтин, ІЛ-2, ІЛ-3, ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-6, ІЛ-7, ІЛ-9, ІЛ-11, СFS, гемопоєтин-1, фактор некрозу пухлин (TNF α), трансформуючий фактор росту бета (TGFB β), запальний білок макрофагів (MIP- α).

2. Цитокіни доїмунного запалення

а) **первинні прозапальні цитокіни** (ІЛ-1, ІЛ-6, TNF α) – активують місцеві клітини в поряд розташованих тканинах

б) **вторинні запальні цитокіни** (хемотіки) – цитокіни спеціального призначення, які спрямовують до вогнища запалення лімфоцити та лейкоцити циркулюючої крові. У цій групі є понад 50 представників (лімфолактин, ІЛ-8, онкогени – GRO α , GRO β , GRO γ , запальний білок макрофагів – MIP-1 α , MIP-1 β , білок індокований інтерфероном IP-10 та інші).

3. Цитокіни – організатори лімфоцитарної імунної відповіді, які регулюють проліферацію та диференціювання Т- і В-лімфоцитів та натуральних цитотоксичних клітин (натуральні кілери, НК-клітини) у периферичних лімфоїдних органах і тканинах (ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-12, ІЛ-15, інтерферон γ)

4. Цитокіни – медіатори імунного запалення - їх дія спрямована на активацію лейкоцитів загальнозапального призначення (інтерферон γ , ІЛ-5, LT (активатор нейтрофілів), LT α (забезпечує утворення запальних гранульом).

5. Протизапальні (імуносупресорні) цитокіни – ІЛ-10, TGF β та цитокіни, які пригнічують макрофаги і за деяких умов здатні проявляти прозапальні властивості – ІЛ-4, ІЛ-13.

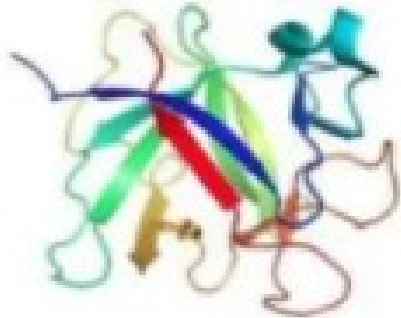
Структурна класифікація цитокінів

Група	Структура	Цитокіни
1	4 α -спіральні ділянки, короткий ланцюг	IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-13, IL-15, IFN- γ , фактор стимуляції утворення колоній макрофагів (M-CSF), фактор, який стимулює утворення колоній гранулоцитів і макрофагів (GM-CSF).
2	4 α -спіральні ділянки, довгий ланцюг	IL-6, IL-10, IL-11, онкостатин M, циліарний нейротрофічний фактор, фактор гальмування лейкемії (LIF)
3	довга β -складчаста структура	TNF та споріднені молекули, IL-1, IL-1R-антагоніст, TGF- β
4	короткий ланцюг з α - та β -ділянками	хемокіни
5	мозаїчна структура	IL-12

Приклади структури цитокінів

довга β -складчаста структура

IL1 (β trefoil)



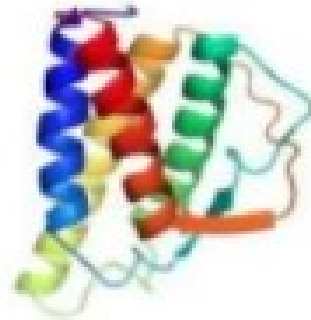
TNF α (jelly roll)



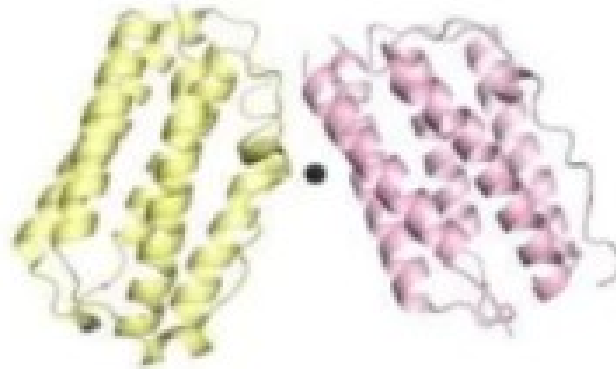
довга β -складчаста структура

4 α -спіральні ділянки, короткий ланцюг

IL4 (4-helical)



IFN- β (4-helical)



4 α -спіральні ділянки, довгий ланцюг

IL10 (4-helical)



IFN- γ (4-helical)

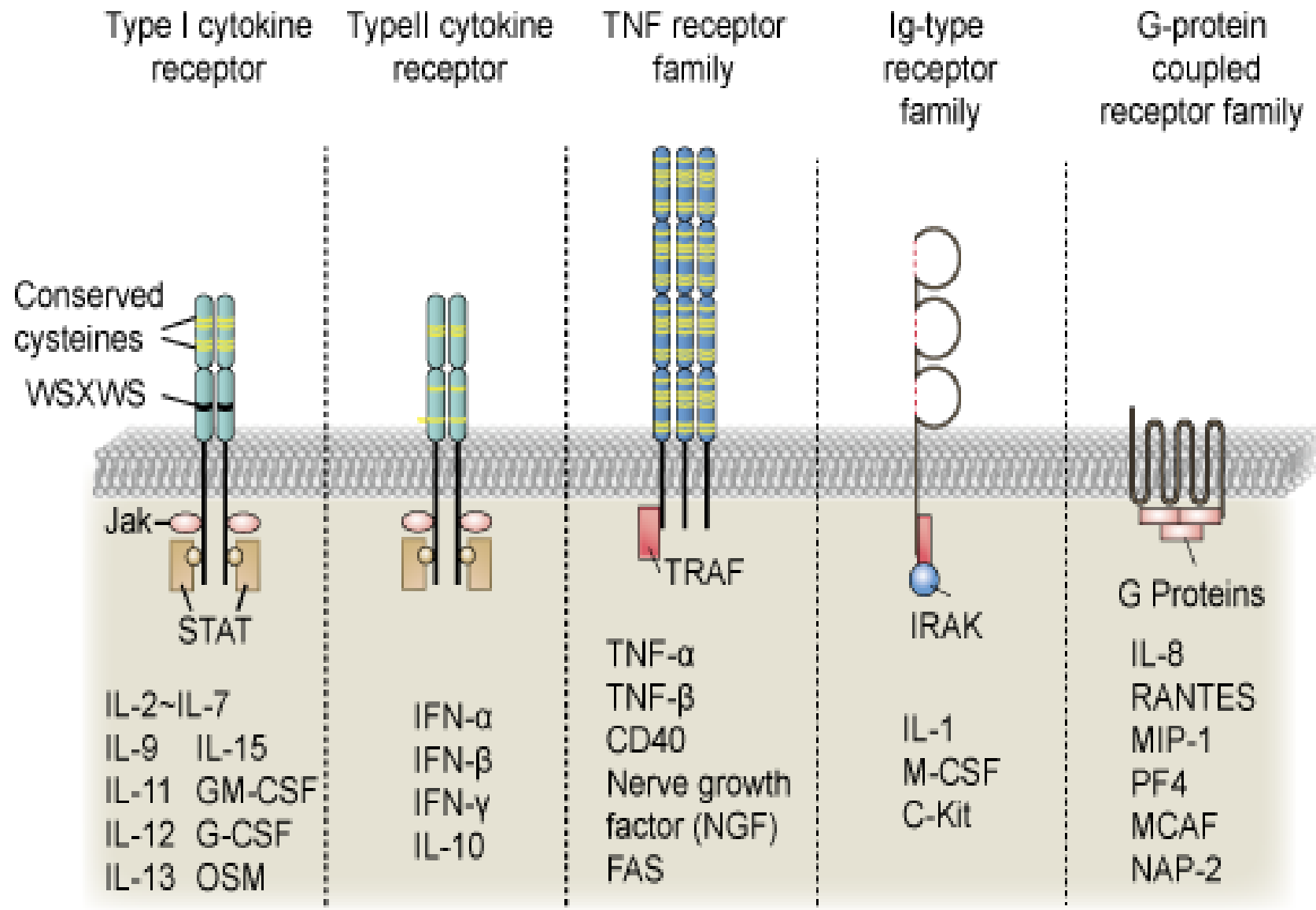


4 α -спіральні ділянки, короткий ланцюг

Типи цитокінових рецепторів

Відомо 5 типів цитокінових рецепторів

- Тип I (родина гемопоетинових рецепторів)
- Тип II (родина інтерферонових рецепторів)
- Родина рецепторів фактору некрозу пухлин (TNF-рецепторів)
- Суперродина імуноглобулінових рецепторів
- Хемокінові рецептори (G-білок-асоційовані рецептори)



- **Тип I (родина гемопоетинових рецепторів)** - мультимерний протеїн, в структурі є амінокислотний екстрацелюлярний домен з цистеїновими залишками. Ближче до мембрани розташована ділянка WSXWS (Триптофан-Серин-Будь-яка Амінокислота-Триптофан-Серин). Ця ділянка розпізнає цитокіни з 4-альфа-спіральною структурою (ІЛ-2, 4, 6 та ін.). Рецептори цього типу активують сигнальний шлях Jak-STAT
- **Тип II (родина інтерферонових рецепторів)** - за структурою схожі на тип I, але не мають ділянки WSXWS. Активують шлях Jak-STAT. Лігандами цих рецепторів є ІФН альфа, ІФН бета, ІЛ-10.
- **Родина рецепторів фактору некрозу пухлин (TNF-рецепторів)** - велика родина білків з екстрацелюлярним доменом, багатим цистеїном. Активують сигнальний шлях TRAF (TNF-рецептор-асоційованих факторів), які індують активацію факторів транскрипції NF-κB, AP-1, останні активують прозапальні гени та гени виживання. Ці рецептори також можуть зв'язуватись з нецитокіновими лігандами (наприклад, CD40, CD27, CD30)/
- **Родина рецепторів імуноглобулінового типу (Ig-тип)** – структурні гомологи імуноглобулінів і молекул адгезії. До цієї родини належать Toll-like/IL-1 рецептори (TLR), які взаємодіють з цитокінами (ІЛ-1, М-CSF) та іншими лігандами.
- **Хемокінові рецептори (G-білок-асоційовані рецептори)** – їх ще називають семидоменні спіральні рецептори (серпентини – serpentine), тому що вони пронизують мембрану багаторазово, вигинаючись як змія. Ці рецептори передають сигнал від різних хемокінів через гуанозинтрифосфат-асоційовані білки. Також ці рецептори можуть взаємодіяти з вірусами, зокрема з вірусом імунодефіциту людини (ВІЧ).

Основні біологічні функції родин цитокінів

Родина цитокінів	Цитокіни	Основні біологічні функції
IFN I-го типу	IFN- α , - β , - δ , - κ , - ω , - τ , IL-28, IL-29	протівірусна активність, антипроліферативна імуномодулювальна дія
Фактори росту гемопоетичних клітин	фактор росту стовбурових клітин Flt-3 ligand, IL-3, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, IL-7, IL-11, еритропоетин, тромбопоетин	стимуляція проліферації та диференціювання попередників різних типів лейкоцитів
Родина IL-1	IL-1 α , IL-1 β , рецепторний антагоніст IL-1, IL-18, фактор росту трофобластів	прозапальна дія, активація специфічного імунітету
Родина TNF	TNF, лейкотрієни та ін.	прозапальна дія, регуляція апоптозу та міжклітинної взаємодії імунокомпетентних клітин
Родина IL-6	IL-6, IL-11, IL-31, онкостатин-М, кардіотропін-1, фактор гальмування лейкемії, нейротрофічний фактор війок	імунорегуляторна дія
Хемокіни	CC, CXC (IL-8), CX3C, C	регуляція хемотаксису різних типів лейкоцитів
Родина IL-10	IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26	імуносупресивна дія
Родина IL-12	IL-12, IL-23, IL-27	регуляція диференціювання Т-лімфоцитів
Цитокіни Th-клонів	Th1-лімфоцити (IL-2, IL-15, IL-21, TNF, IFN- γ)	активація клітинного імунітету
	Th2-лімфоцити (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IL-25)	активація гуморального імунітету
Родина IL-17	IL-17 A, B, C, D, E, F	активація синтезу прозапальних цитокінів
Родина трансформуючих ростових факторів	TGF- β , субстанція, яка гальмує розвиток проток Мюллера	регуляція запалення та регенерації тканин

БІОЛОГІЧНІ АГЕНТИ

1. Блокатори ФНП α :

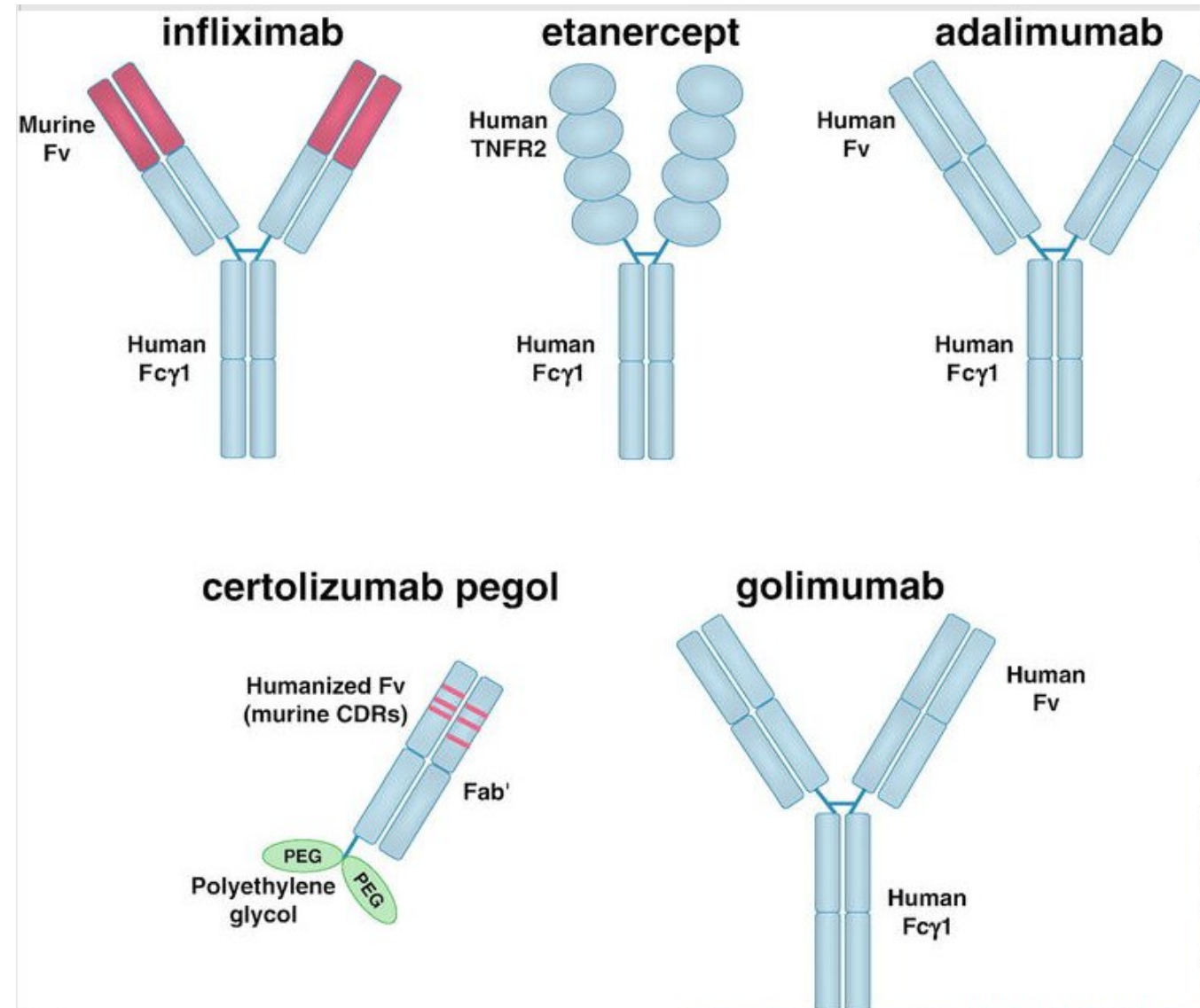
- **Інфліксимаб** – рекомбінантний рецептор ФНП α
- **Адалімумаб** – гуманізовані МКАТ (аналог IgG₁)
- **Етанерцепт** - рекомбінантний рецептор ФНП α , який з'єднаний з Fc-фрагментом IgG₁
- **Голімумаб** – гуманізовані МКАТ до ФНП α
- **Цертолізумаб** - Fab-фрагмент гуманізованих АТ до ФНП α

2. Модулятор Т-клітинної костимуляції: **абатацепт**

3. Блокатор рецепторів ІЛ-1: **анакінра**

4. Блокатор рецепторів ІЛ-6: **тоцилізумаб (актема)**

5. В-клітинний агент: **ритуксімаб** – МКАТ до CD20



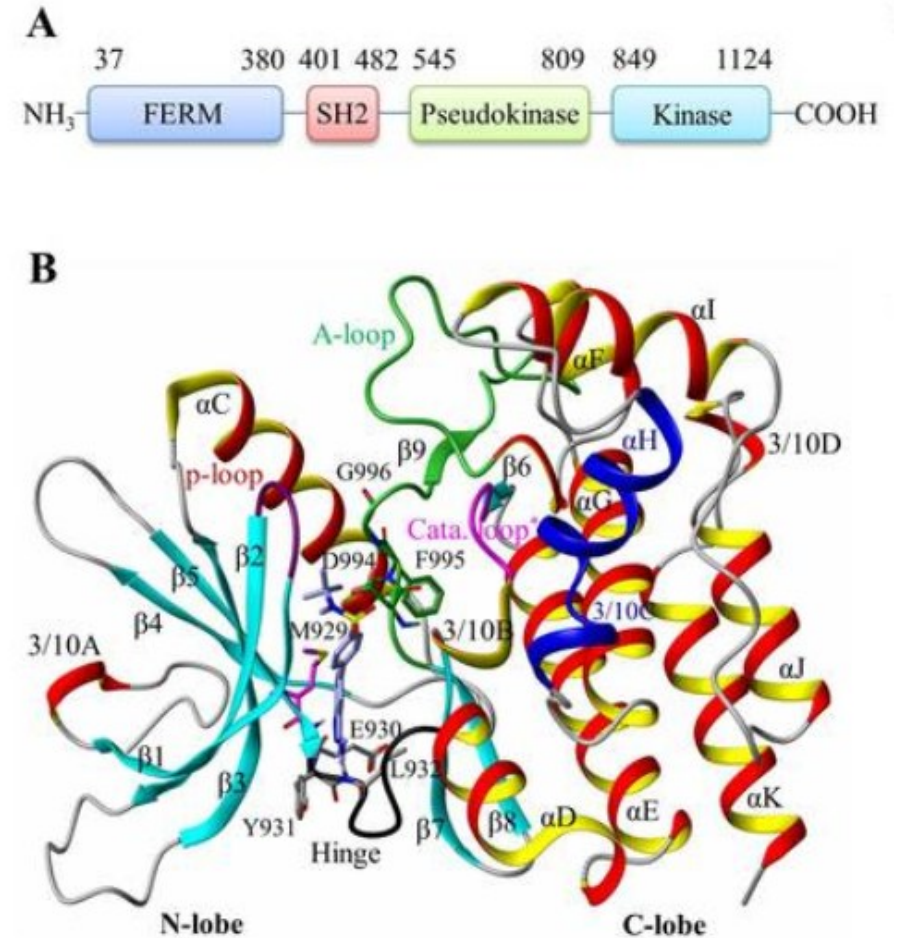
Янус-кінази (Janus kinase, JAK)



Янус (лат. Janus) — дволикій Янус, один з найдавніших римських богів, покровитель входів і виходів, початків і кінців. Лат. «janua» — «двері».

Янус-кінази (JAK)

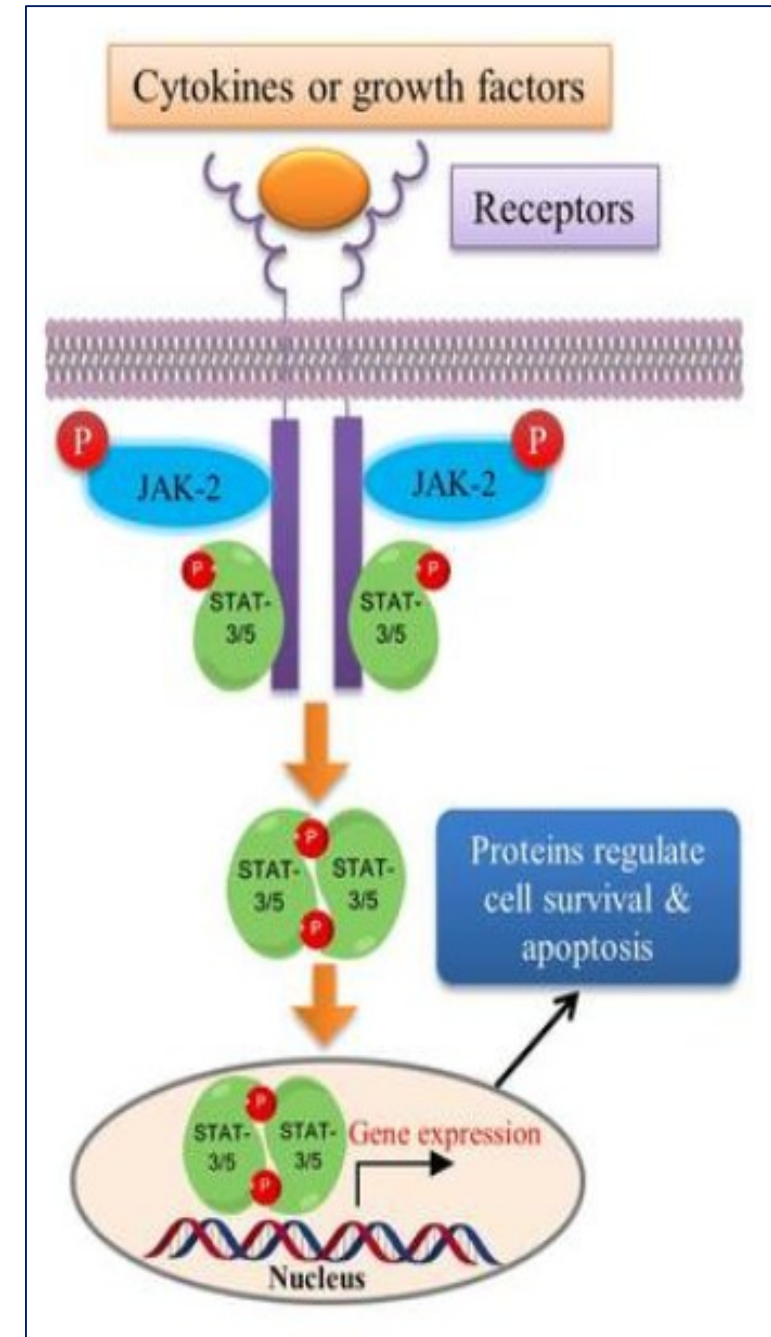
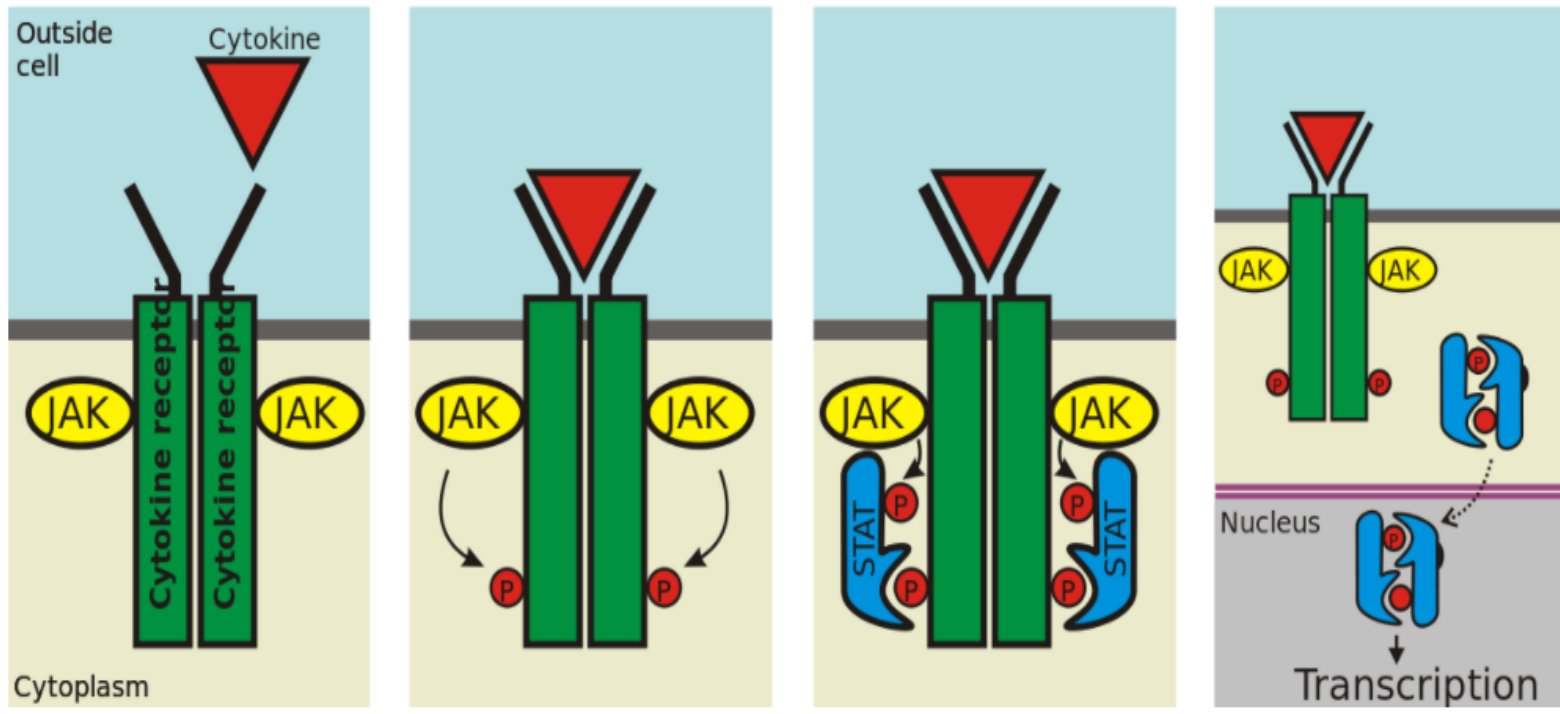
- Це родина внутрішньоклітинних **тирозинкіназ**, які передають цитокінові сигнали за допомогою шляху JAK-STAT.
- Назва походить від "just another kinase", що означає «просто ще одна кіназа» виявлена серед багатьох інших при ПЛР-скринінгу
- В подальшому ці ферменти отримали назву Янус-кінази, оскільки поєднують дві протилежні функції.
- Янус-кінази мають два домена, що переносять фосфатні групи. При цьому один домен має кіназну активність, а другий домен (*псевдокіназа*) є негативним регулятором кіназної активності першого домену.
- JAK має сайт для зв'язування з АТФ, нуклеотидами, іонами металів, іоном магнію.



ЖАК-СТАТ- сигнальна система складається з

- цитокинового рецептору (рецепторів ІЛ-2,3,4,6,10,12 та інтерферону гама)
- янус-кінази, що зв'язана з внутрішньоклітинним доменом рецептора;
- СТАТ (Signal Transducer and Activator of Transcription) – білка, що передає сигнал в ядро клітини і активує транскрипцію генів у ДНК.

Після взаємодії цитокину з рецептором, сигнал передається янус-кіназі, яка фосфорилує СТАТ і викликає димеризацію його фосфорильованих ланцюгів. Димер СТАТ надходить в ядро, зв'язується з ДНК і активує транскрипцію генів-мішеней.



Члени родини янус-кіназ



Відомо 4 представника родини JAK:

- Янус-кіназа 1 / Janus kinase 1 (JAK1)
- Янус-кіназа 2 / Janus kinase 2 (JAK2)
- Янус-кіназа 3 / Janus kinase 3 (JAK3)
- Тирозин-кіназа 2 / Tyrosine kinase 2 (TYK2)



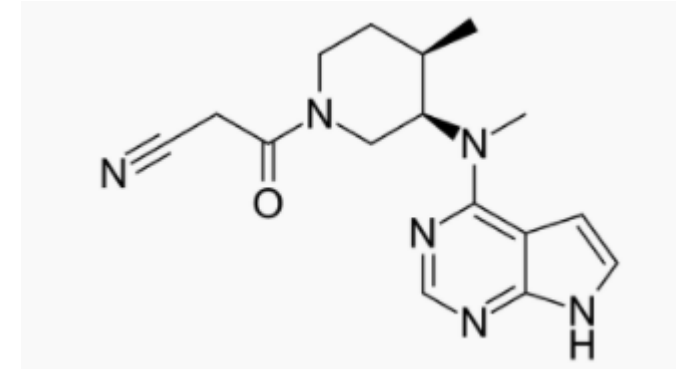
JAK1 та JAK2 відповідають за сигнал від інтерферону гамма (ІФН II типу), JAK1 та TYK2 - на сигнал від інтерферону альфа і бета (ІФН I типу)

Трансгенні миші, які не експресують JAK1, не відповідають на дію окремих цитокінів, в т.ч. інтерферону гамма.

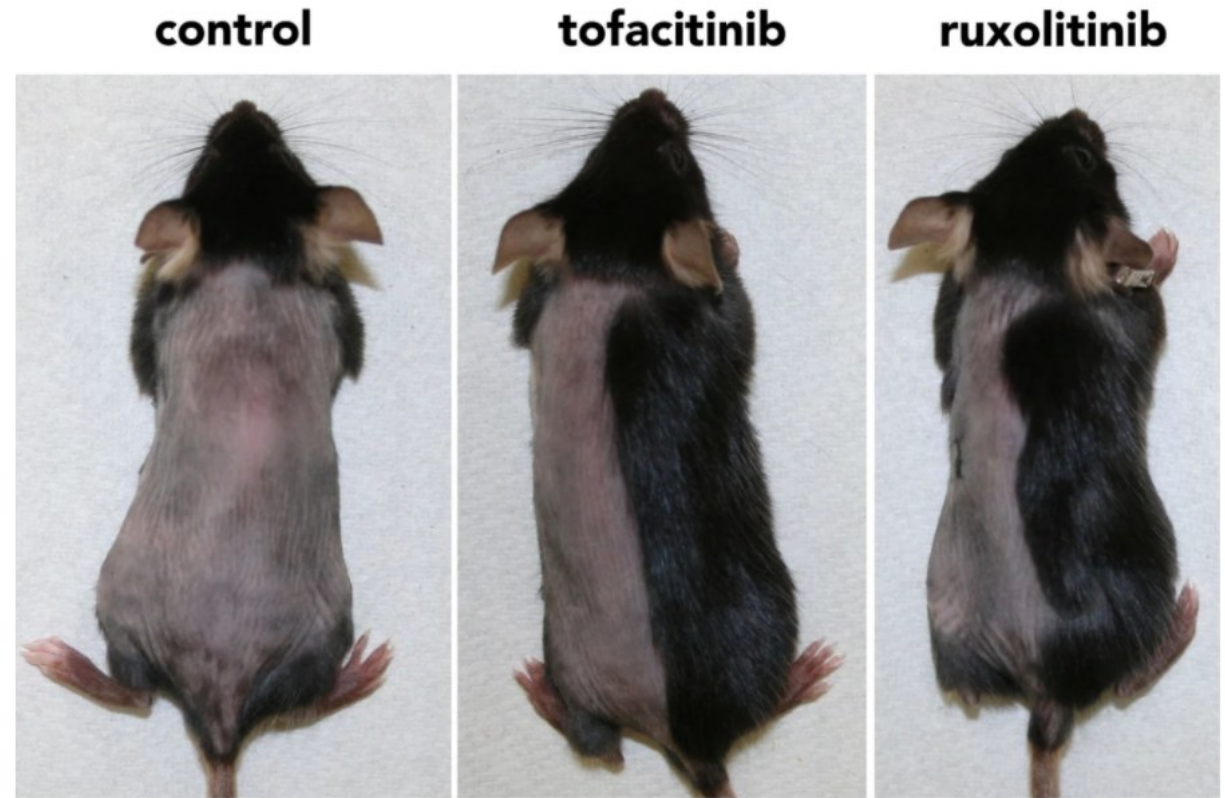
Миші, з нокаутом гена TYK2, мають порушення активності натуральних кілерів.

Клінічне значення янус-кіназ

- Інгібітори янус-кіназ використовують для лікування аутоімунних захворювань - atopічного дерматиту, ревматоїдного артриту
- Проводяться дослідження ефективності інгібіторів янус-кіназ при псоріазі, алопеції, виразковому коліті, мієлофіброзі, вітіліго.
- Інгібітори янус-кіназ – тофацитиніб, барицитиніб, филготиніб (tofacitinib, baricitinib, filgotinib).



- На основі доклінічних досліджень на мишах була показана ефективність JAK–інгібітори при лікуванні алопеції.
- В 2014 р. було показано, що застосування JAK–інгібіторів (перорально або аплікаційно на шкіру) відновлює ріст волосся у пацієнтів з алопецією



Within three weeks, mice treated with the enzyme inhibitors had regrown nearly all their hair (the drugs were applied to only the right side of the mice) S. Harel et al/Science Advances

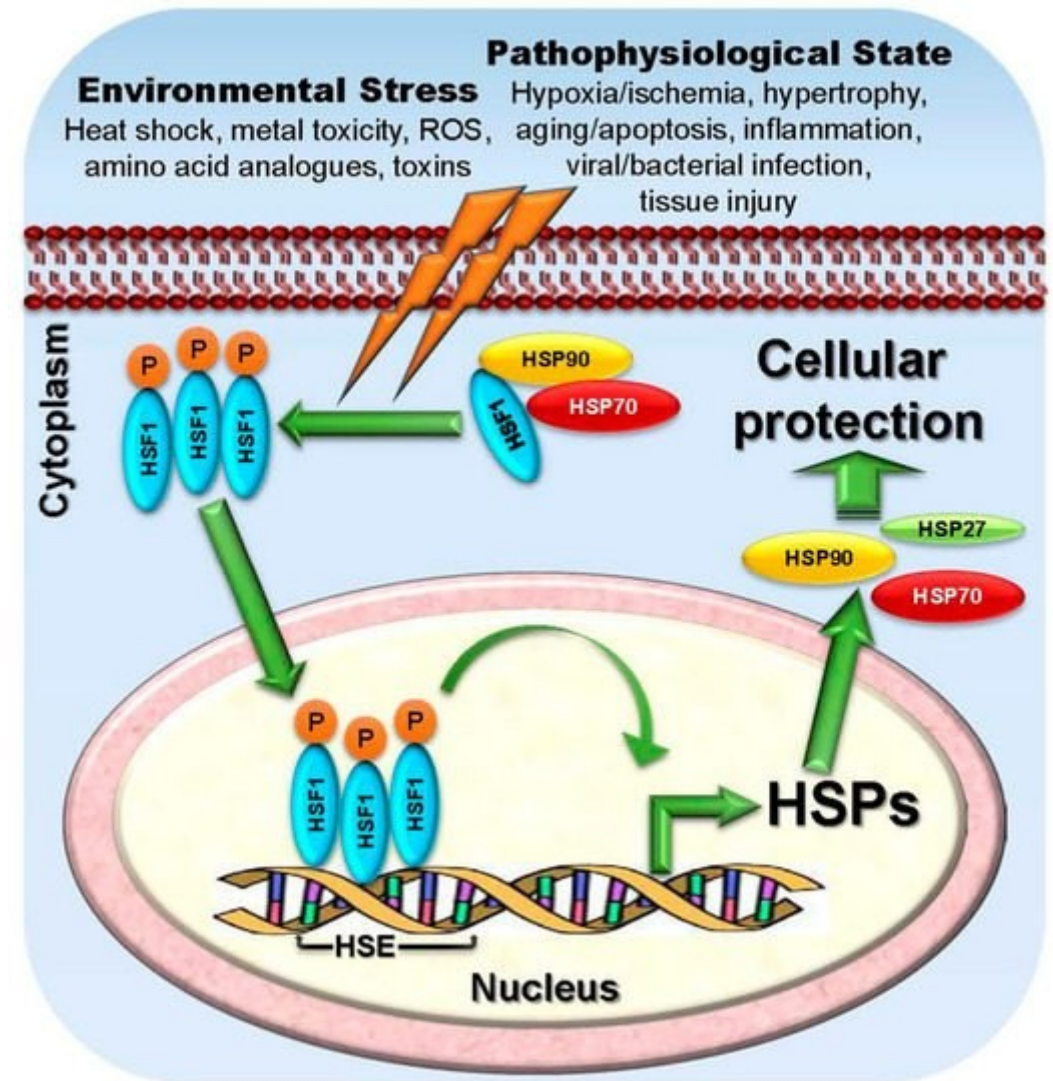
"FDA-approved drugs show promise for rapid and robust hair regrowth". www.gizmag.com. 26 October 2015. Retrieved 2015-10-29.

- Білки теплового шоку

Протеїни теплового шоку (Heat shock proteins – HSPs)

HSPs - білки, синтез яких посилюється при дії різних стресових чинників -

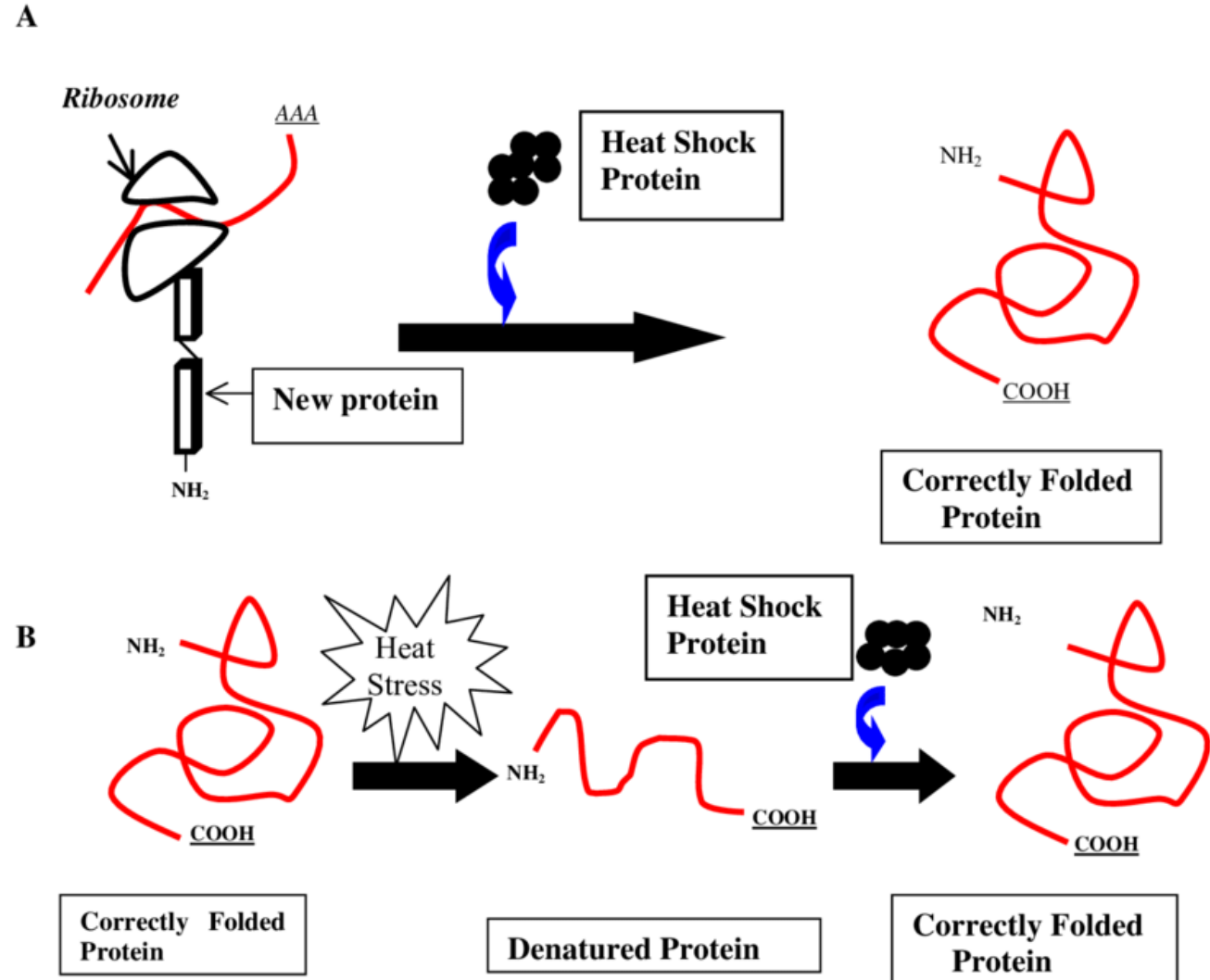
запалення, вірусні та бактеріальні інфекції, гіпертермія, гіпоксія, ішемія, оксидативний стрес, вплив важких металів, хімічних речовин, токсинів, психоемоційний стрес, паління



Функції HSPs

Залежно від локалізації в клітині HSPs виконують різні функції:

- **внутрішньоклітинні HSPs** беруть участь у забезпеченні білкового гомеостазу:
- правильний фолдинг,
- деградація неправильно складених білків,
- формування олігомерних білкових комплексів,
- внутрішньоклітинний транспорт білків,
- захист клітин від апоптозу.



Функції HSPs

- **позаклітинні HSPs** здатні регулювати сигнальні шляхи клітини: контроль клітинного циклу, стероїд-рецепторна сигналізація, запуск апоптозу оточуючих клітин. Вони можуть активувати антиген-презентуючі клітини та слугувати сигналом небезпеки для імунної системи

- *HSPs є одними з перших білків, що синтезуються під час ембріогенезу і є необхідними для розвитку ембріона*

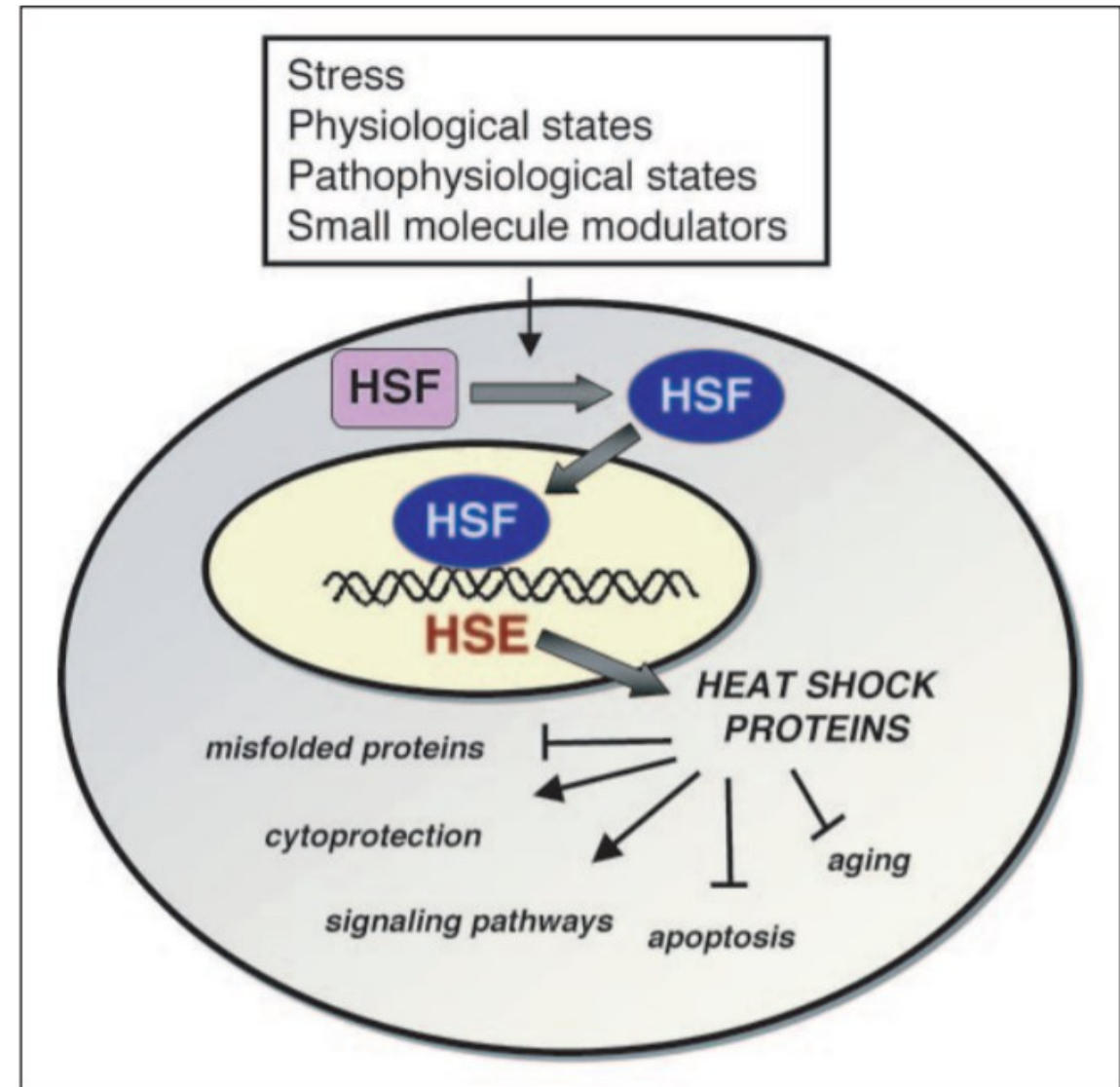


Table 1. Key members of the heat shock protein family in humans^{3,4}

HSP member	Location	Description
Low molecular weight HSPs		
Ubiquitin	Cytoplasm/nucleus	Facilitates targeting and removal of denatured proteins
HSP10	Mitochondria	Cofactor for HSP60
HSP27	Cytoplasm/nucleus	Involved in cytoskeletal stabilisation
A β -crystallin	Cytoplasm	Involved in intracellular actin dynamics
HSP40		
HSP40	Cytoplasm/nucleus	Regulates activity of HSP70, binds non-native protein
HSP47	Endoplasmic reticulum	Processing of pro-collagen
HSP60		
HSP60	Mitochondria	Molecular chaperone
HSP70		
HSP72	Cytoplasm/nucleus	Highly stress inducible, protects against ischaemia
HSP73	Cytoplasm/nucleus	Constitutively expressed molecular chaperone
HSP75	Mitochondria	Induced by stress including hypoxia
HSP90		
HSP90	Cytoplasm (migrates to nucleus)	Part of the steroid receptor complex
HSP110		
HSP110	Nucleolus/cytoplasm	Thermal tolerance
HSP105	Cytoplasm	Protein refolding

[https://www.ejves.com/article/S1078-5884\(05\)00012-2/fulltext](https://www.ejves.com/article/S1078-5884(05)00012-2/fulltext)

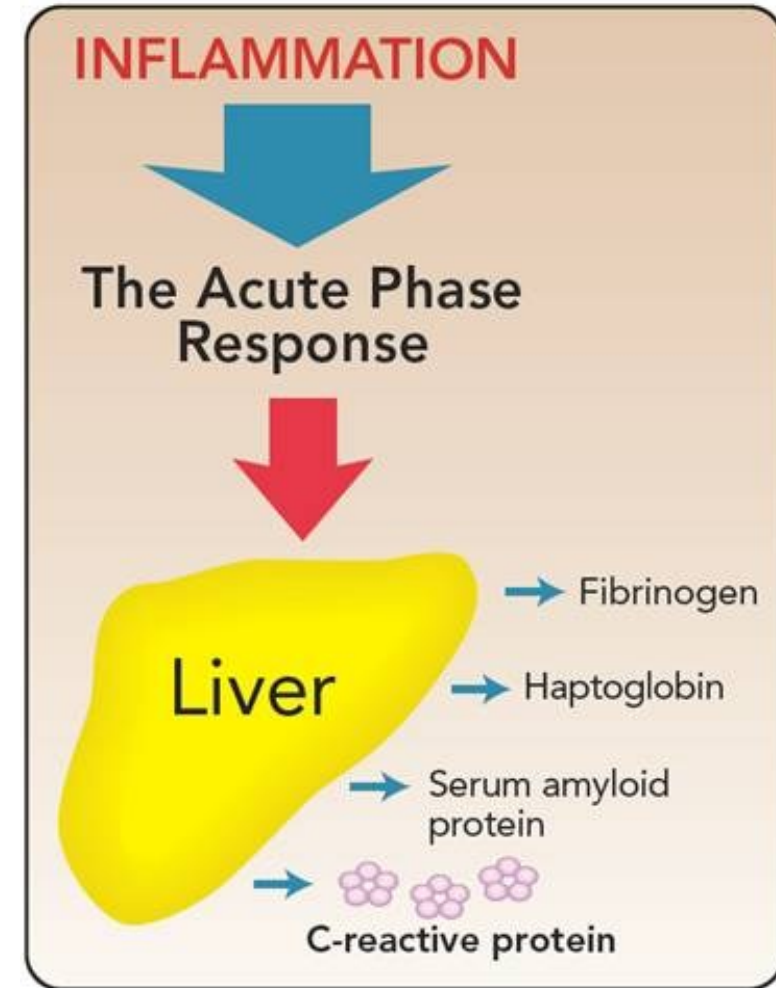
<https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2005.01.005>

Клінічне значення HSPs

- HSPs – висококонсервативні та високоімуногенні білки. Прокаріотичні та еукаріотичні HSPs мають високий ступінь гомології (близько 50%).
 - HSPs є імунодомінантними антигенами бактерій, розпізнаються імунною системою і зумовлюють розвиток реакцій клітинного та гуморального імунітету.
 - Організм може бути сенсibilізований мікробними HSPs під час інфекційних захворювань або при вакцинації.
 - Рівень HSPs зростає у місцях гострого та хронічного запалення, вони залучені у патогенез практично всіх захворювань.
 - Визначення рівнів HSPs та анти-HSPs-антитіл у сироватці крові використовується у діагностиці та прогнозуванні перебігу різних захворювань
- Підвищений рівень IgM- та IgG-антитіл до Hsp60 людини - біомаркер загибелі плода.
 - Високі рівні Hsp10 та Hsp27 в сироватці крові - біомаркери ектопічної вагітності, вагітності невідомої локалізації та спонтанного аборту на ранніх термінах гестації.
 - Високий рівень Hsp70 у сироватці крові - біомаркер ризику синдрому полікістозних яєчників.
 - Вивчається можливість застосування HSPs для лікування імунозапальних захворювань (ревматоїдного артриту), цукрового діабету 1 типу, онкопатології


БІЛКИ ГОСТРОЇ ФАЗИ (БГФ)/ ACUTE PHASE PROTEINS (APP)

- Це білки, концентрація яких в плазмі крові швидко зростає у гостру фазу запального процесу незалежно від його етіології
- Синтез БГФ відбувається переважно у печінці, а також можливий в моноцитах, нейтрофілах, плаценті, підшлунковій залозі
- Ступінь та інтенсивність підвищення рівня БГФ в крові залежить від активності запальної реакції та масивності пошкодження.
- Активується синтез БГФ упродовж перших 3-х годин після ушкодження тканин і досягає максимуму через 12-18 годин
- На сьогодні відомо понад 30 БГФ, більшість є глікопротеїнами



ЗАГАЛЬНІ ФУНКЦІЇ БІЛКІВ ГОСТРОЇ ФАЗИ



 Зв'язують токсини, сприяють елімінації пошкоджених макромолекул та клітинних структур

 Регулюють активність лейкоцитів

 Стимулюють фагоцитоз

 Інактивують вільні радикали

 Активують систему комплементу

 Активують гемокоагуляцію

 Антиоксидантний захист

 Антипротеолітичний захист



**Зменшення
вторинної
альтерації
тканин**

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

- α_1 -кислий глікопротеїн (орозомукоїд)
- *Інгібітори протеїназ* – α_1 -антитрипсин, α_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

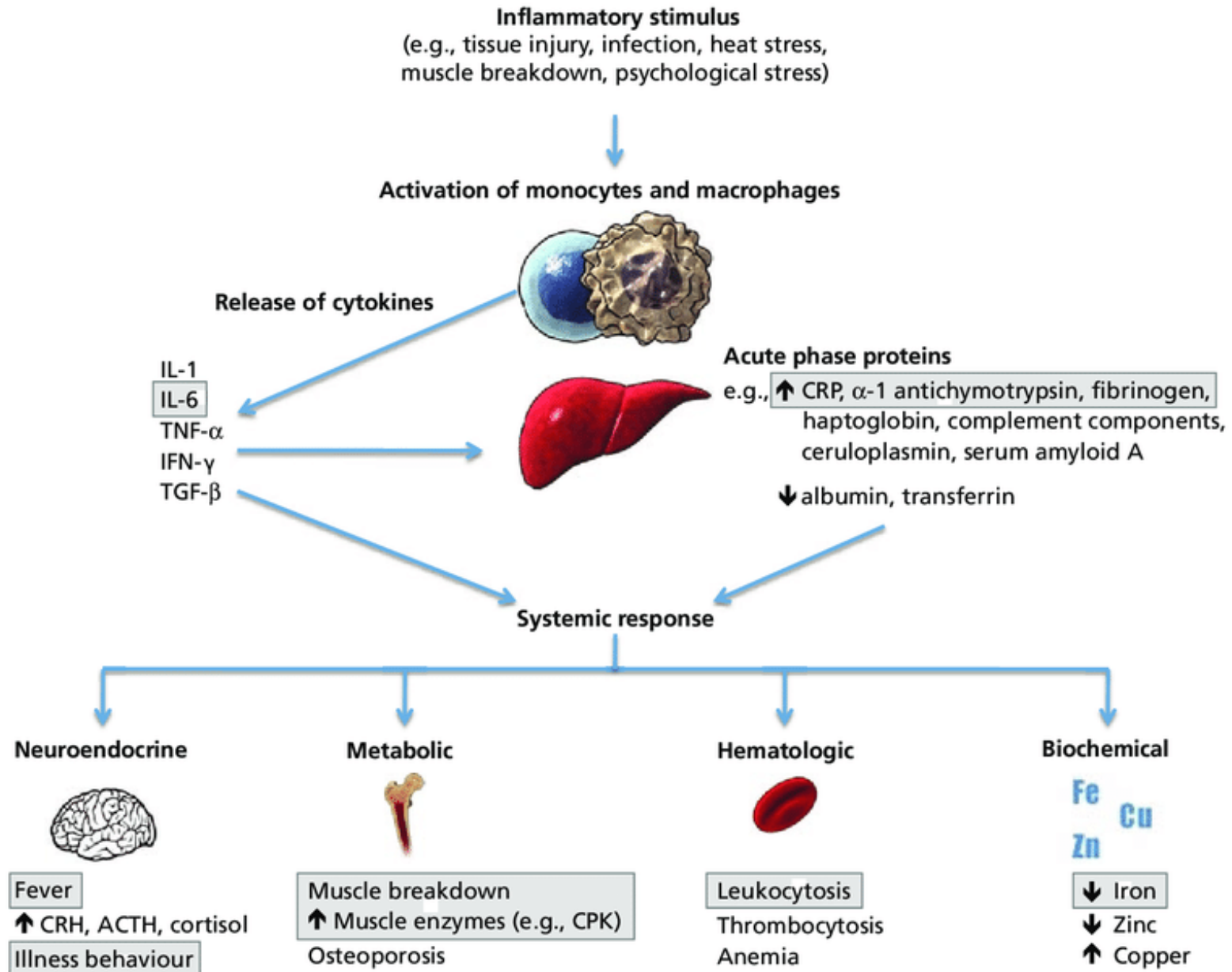
- альфа₂-макроглобулін

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

- альбумін
- трансферин
- транстиретин

АКТИВАЦІЯ СИНТЕЗУ БІЛКІВ ГОСТРОЇ ФАЗИ ТА СИСТЕМНА ЗАПАЛЬНА ВІДПОВІДЬ

Головним активатором синтезу БГФ є інтерлейкін-6 – прозапальний цитокін, який синтезується клітинами Купфера у печінці



ВІДПОВІДНІСТЬ МІЖ ЦИТОКІНАМИ ТА БІЛКАМИ ГОСТРОЇ ФАЗИ

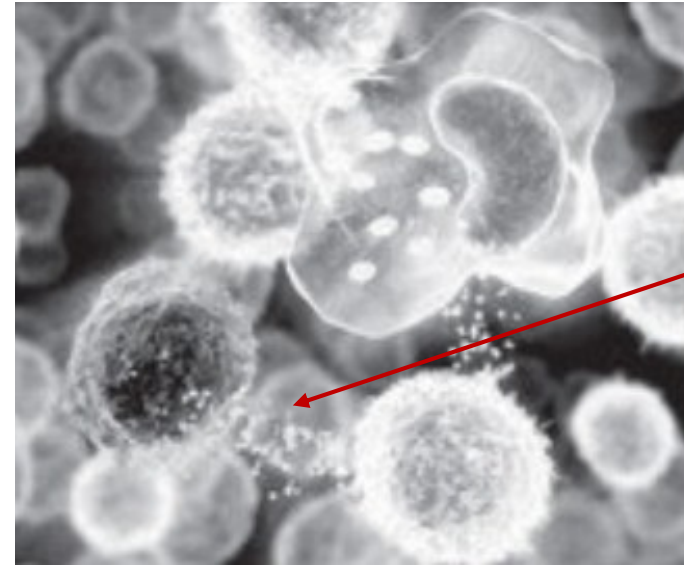
Білок гострої фази	Цитокіни
С-реактивний білок (СРБ)	ІЛ-6, ІЛ-1 α , ІЛ-1 β , ФНПа
Сироватковий амілоїд	ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-12, ІЛ-23
α_1 -кислий глікопротеїн	ФНПа, ІЛ-1, ІЛ-6
α_1 -антитрипсин	ФНПа, ІЛ-6, ІЛ-1 β , ІЛ-8, ІЛ-32
Гаптоглобін	ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ФНПа
Фібриноген	ІЛ-6, ІЛ-1 β , ФНПа, ІЛ-8
Церулоплазмін	ІЛ-1 β , ФНПа, ІФН
Лактоферин	ФНПа, ІЛ-6, ІЛ-1 β , ІЛ-8
Альбумін	ІЛ-6, ФНПа
Трансферин, транстиретин	ІЛ-6, ІЛ-1, ФНПа

С-РЕАКТИВНИЙ БІЛОК (СРБ)

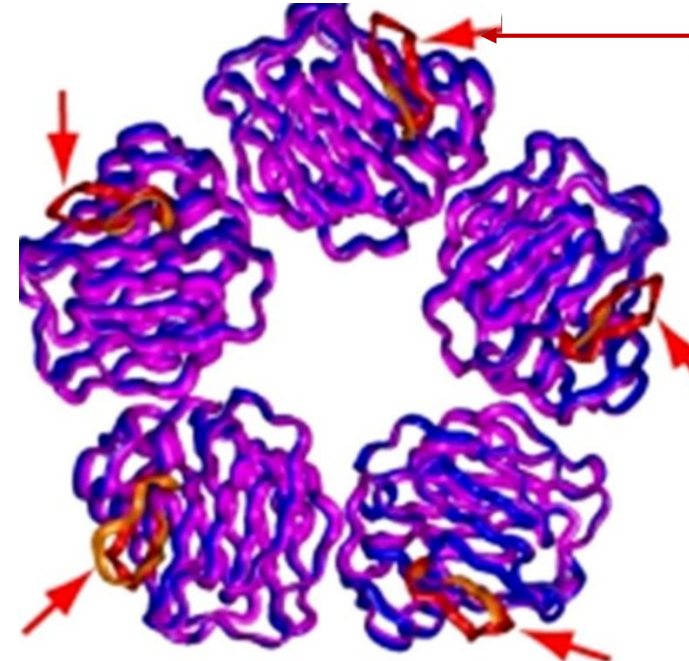
- СРБ – пентраксин, що зв'язує С-полісахарид клітинної мембрани пневмококку.

Типи СРБ

- Нативний СРБ – пентамер, складається з 5 субодиниць (кожна масою 21-23 кД)
- Мономерний СРБ – 1 субодиниця (мСРБ або hsСРБ)
- Зв'язує Ca^{2+}
- Ген СРБ знаходиться у хромосомі 1
(поліморфізм гену впливає на рівень СРБ в крові: у носіїв генотипу 1 444ТТ базальний рівень СРБ є більш високим)



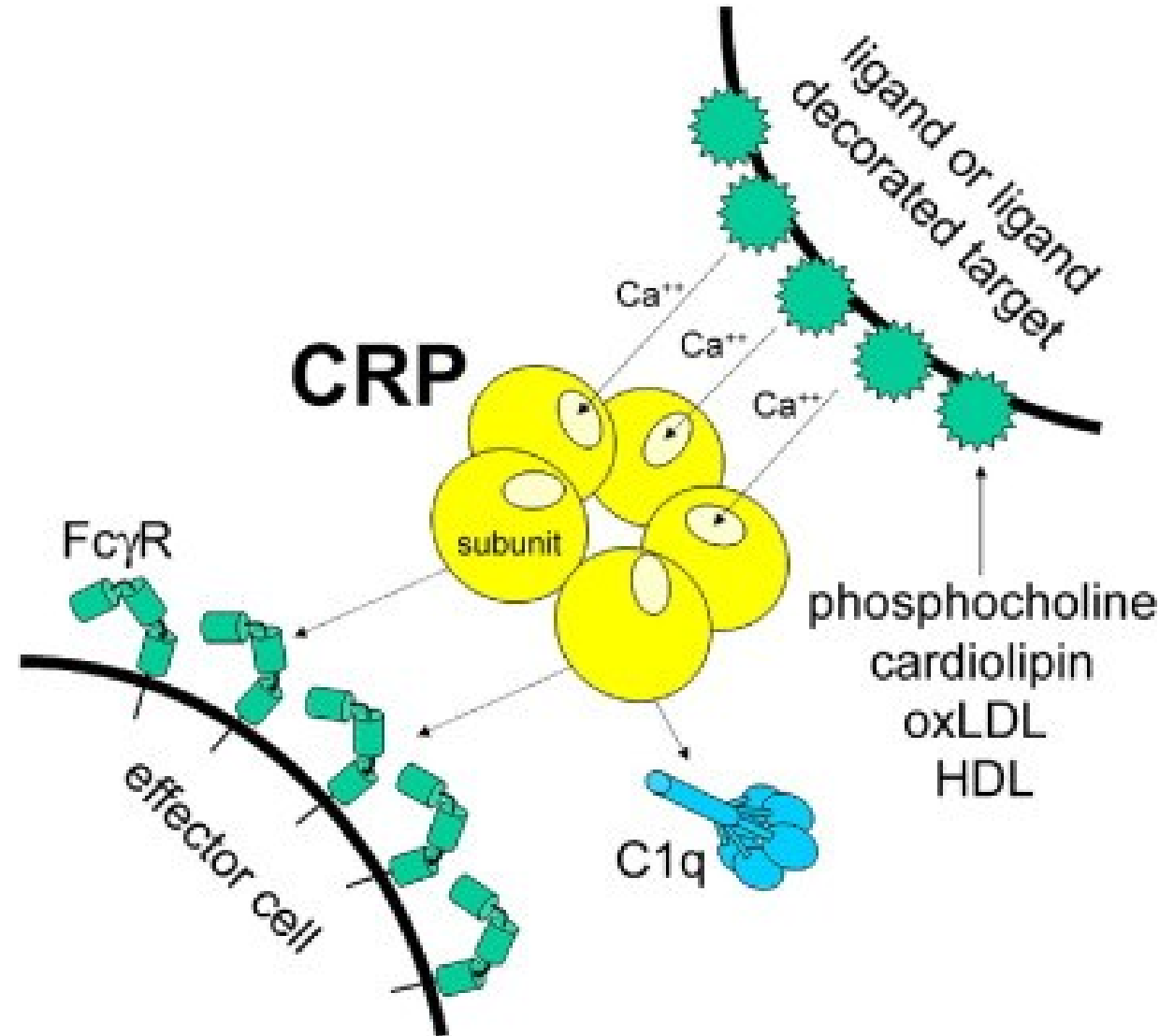
СРБ



Кальцій -
зв'язуючий
домен

ЛІГАНДИ СРБ

- На одному боці СРБ розташовані сайти зв'язування з фосфохоліном, на іншому боці – сайти зв'язування з C1q – білком системи комплементу і є спеціальний «карман» для зв'язування іонів кальцію
- СРБ може зв'язуватись фосфохоліном клітинних мембран бактерій, фібронектином, гістонами, полікатионами, хроматином, Fc-рецепторами лімфоцитів



БІОЛОГІЧНА РОЛЬ СРБ

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

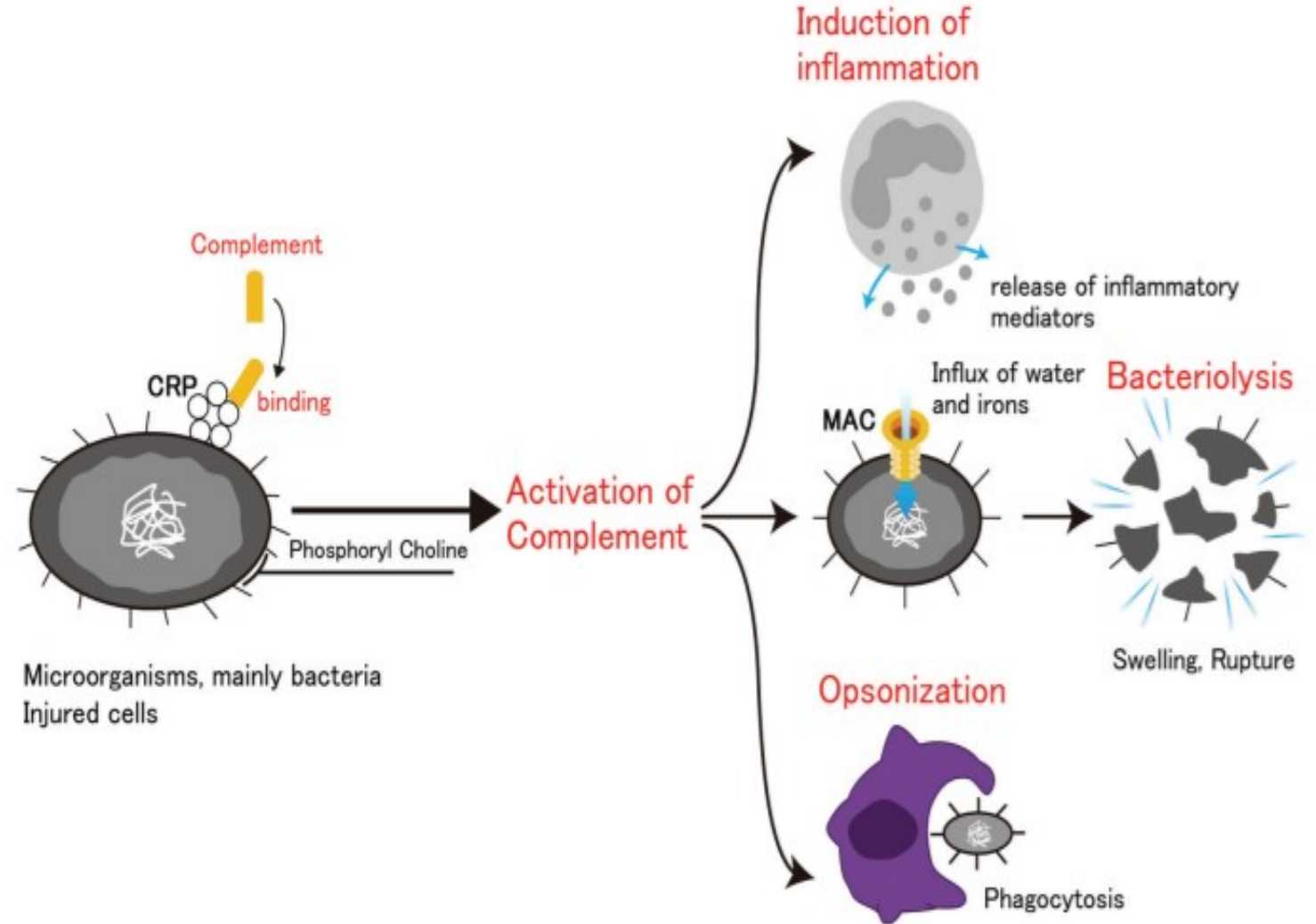
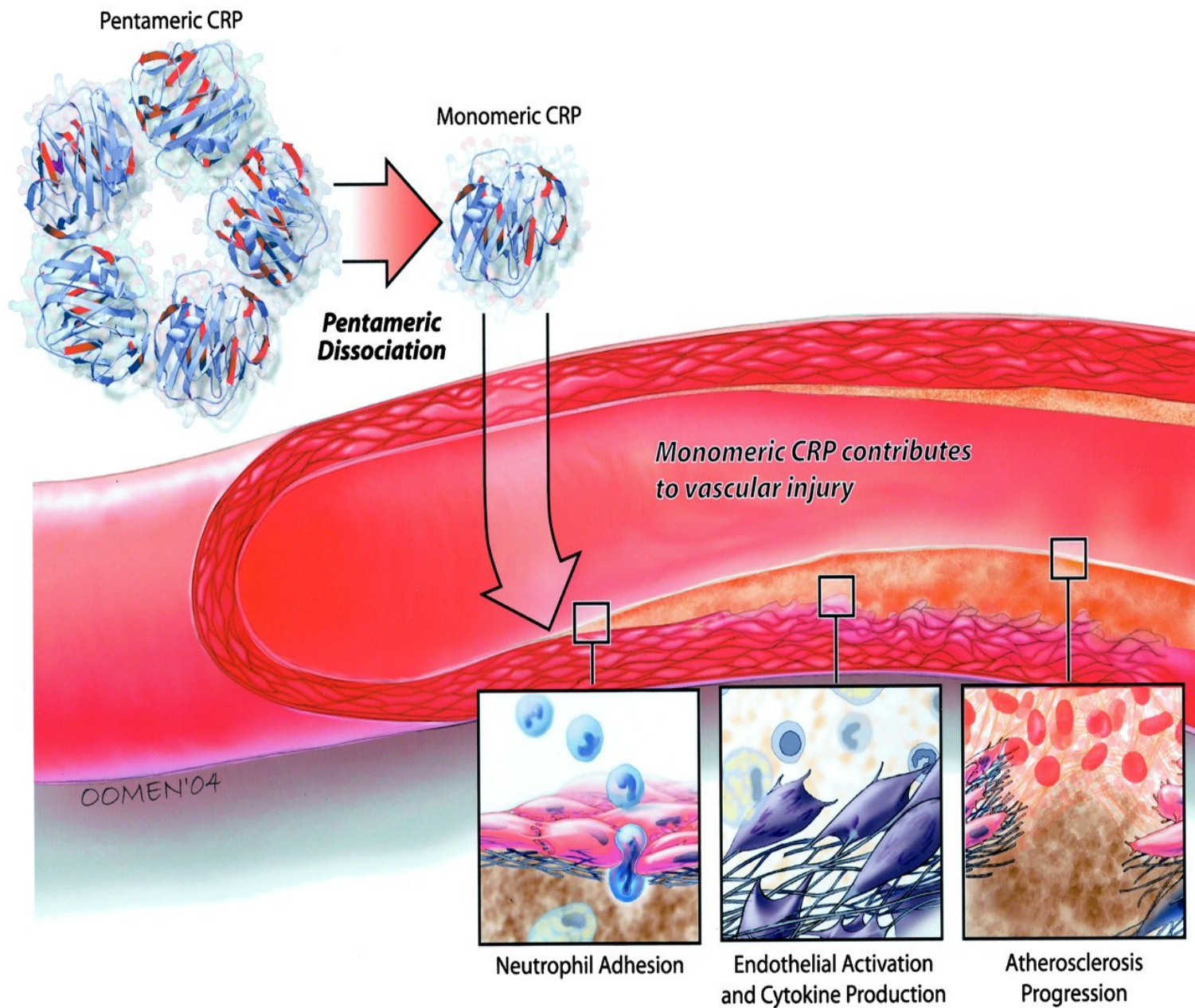
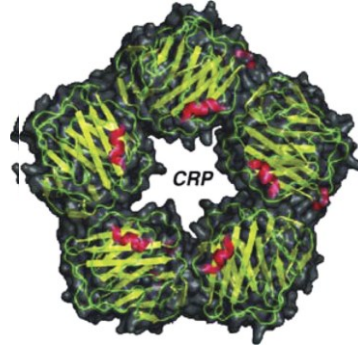


Fig. 3: Role of CRP in human body

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



ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ СРБ

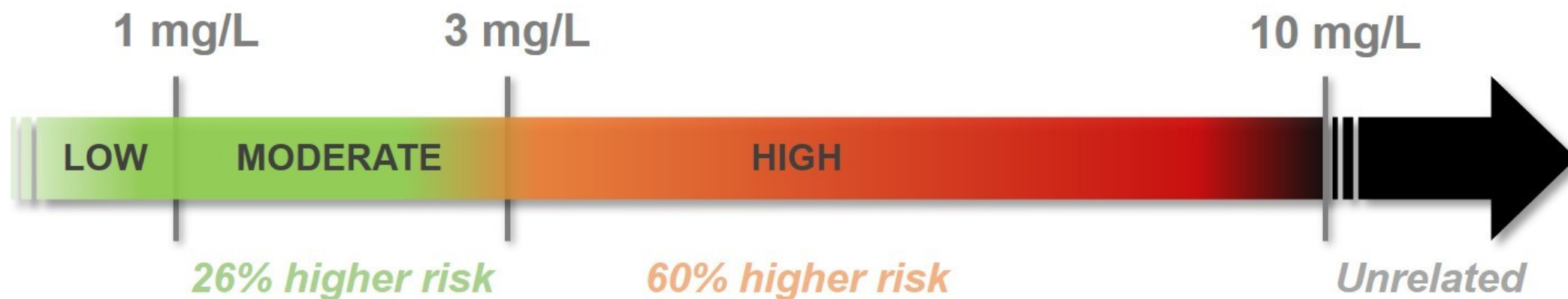


- **Нормальний рівень СРБ в крові – < 6 мг/л; є вищим у жінок ($\approx 2,7$ мг/л) $>$ чоловіків ($\approx 1,6$ мг/л)**
- Рівень СРБ в плазмі крові зростає при всіх запальних та некротичних процесах, є показником їх гострого перебігу. Підвищення СРБ в крові реєструється через 6-24 годин з початку запалення 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

● — CRP vs Risk of Future HEART DISEASE — ●



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

МАЛІ ГАЗОВІ МОЛЕКУЛИ
NO ТА H₂S

НІТРОГЕН МОНООКСИД (NO) – СИГНАЛЬНА МОЛЕКУЛА

До 1980 року – оксид азоту (II) - NO розглядали як токсичну сполуку, атмосферний полютант

1980 рік - був відкритий ендотеліальний фактор релаксації судин і у подальшому з'ясовано, що це оксид азоту (NO). У 80-ті роки стрімко накопичується інформація щодо біологічної ролі NO, а саме щодо його здатності активувати гуанілатциклазу та викликати релаксацію судин.

1992 рік – редакція журналу "Science" оголосила NO «Молекулою року»

- 1998 рік – американські фармакологи, професори **Ferid Murad**, **Louis Ignarro**, **Robert Furchgott** отримали Нобелівську премію з фізіології або медицини «за відкриття ролі оксиду азоту як сигнальної молекули в регуляції серцево-судинної системи»
- За сучасними уявленнями NO – це універсальний месенджер (сигнальна молекула, газотрансмітер), що синтезується в усіх живих організмах, забезпечує міжклітинну комунікацію та внутрішньоклітинний сигналінг у еукаріотів, бактерій і рослин.

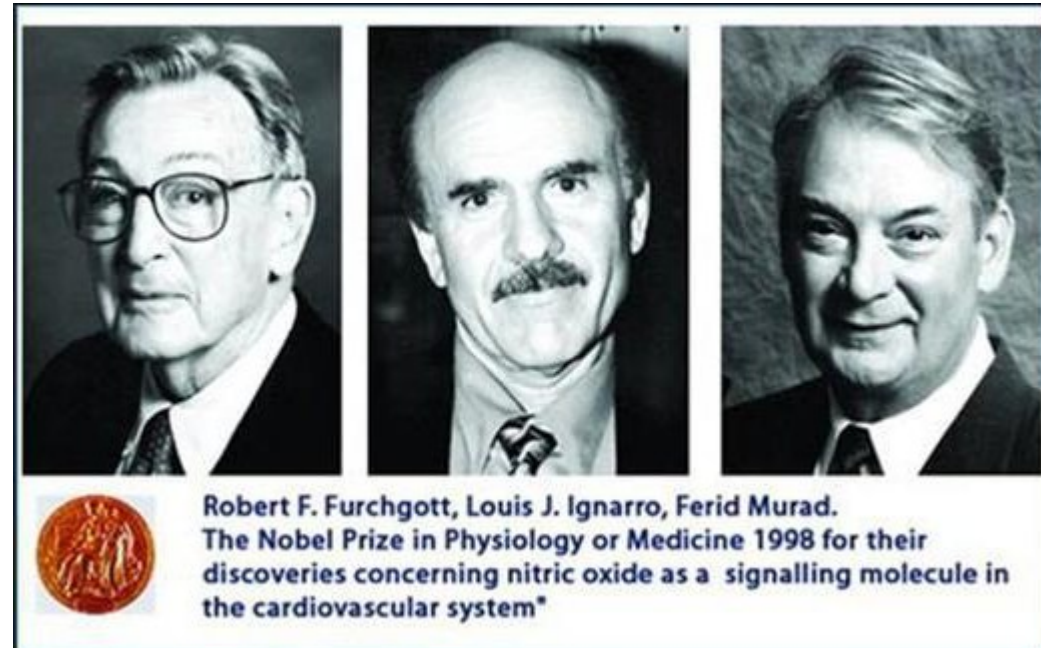
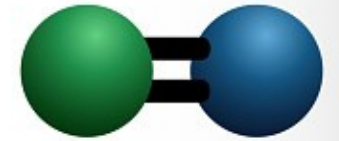
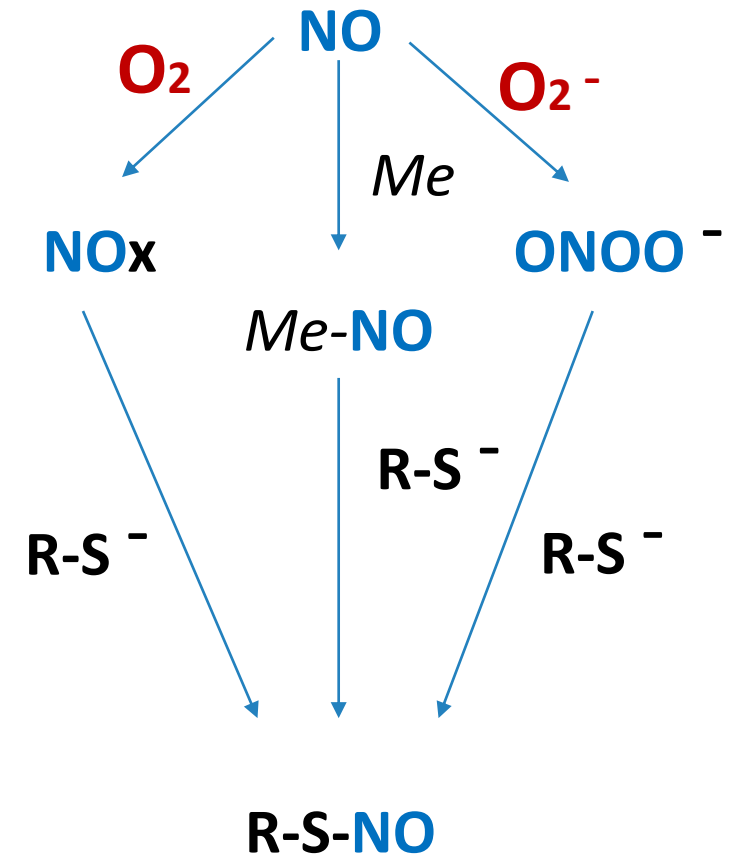


СХЕМА ПЕРЕТВОРЕНЬ NO В ОРГАНІЗМІ

- **NO** – мало розчинна у воді і добре розчинна у ліпідах газова молекула
- існує у трьох формах: NO (оксид азоту), NO⁺ (катіон нітрозонію), NO· (нітрокиський радикал)
- **період напівжиття no – дуже короткий, 3-10 секунд.**
- no швидко вступає у взаємодію з киснем та його активними формами (супероксид-аніоном) з утворенням нітритів, нітратів, пероксинітриту (O=NOO⁻) та активних форм нітрогену (RNS).
- no реагує з металами, нуклеофільними центрами пептидів та білків, SH-групами цистеїну з утворенням нітрозотіолів



БІОЛОГІЧНА РОЛЬ NO

У фізіологічних концентраціях NO забезпечує **три головних цГМФ-залежні ефекти:**

- **нейротрансмісію** – через регуляцію активності рецепторів нейронів (NMDA-рецепторів)
- **Вазодилатацію** та ендотеліопротекцію
- **інгібування агрегації** тромбоцитів

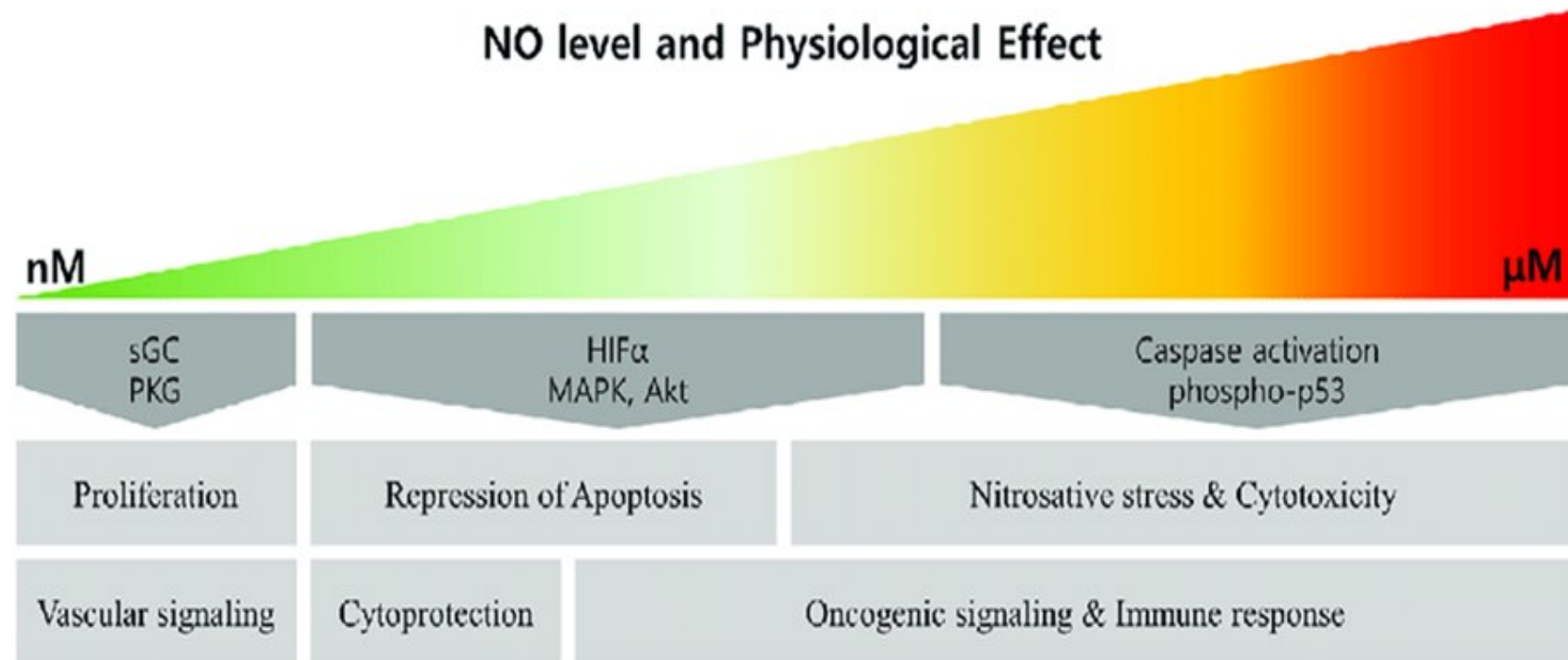
Пізніше були встановлені **цГМФ-незалежні ефекти NO**, що реалізуються через його реакційно-здатні форми. При запаленні роль цих механізмів зростає і виникає цитотоксичний ефект NO.



БІОЛОГІЧНИЙ ЕФЕКТ NO ЗАЛЕЖИТЬ ВІД КОНЦЕНТРАЦІЇ !!!

nNOS та **eNOS** забезпечують синтез NO в **наномолярних концентраціях**, необхідних для реалізації фізіологічних функцій - нейротрансмісії, вазодилатації, забезпечують цитопротекторний ефект

iNOS синтезує NO в **мікромольних концентраціях**, які викликають нітрозативний стрес, маю цитотоксичну дію, активують запальну та імунну відповідь, апоптоз та ін.



ЦИНК ТА NO

- прозапальні цитокіни стимулюють експресію інос (через активацію ядерного фактору транскрипції NF-κB – білка, що активує експресію всіх прозапальних генів)
- цинк (Zn) є інгібітором інос-залежного синтезу no і гальмує накопичення нітритів в ендотелії
- Zn гальмує експресію інос, зменшує активність промотору гена інос
- Zn інгібує активацію ядерного фактору транскрипції NF-κB і зменшує запальну відповідь
- препарати Zn застосовували у схемі лікування COVID-19

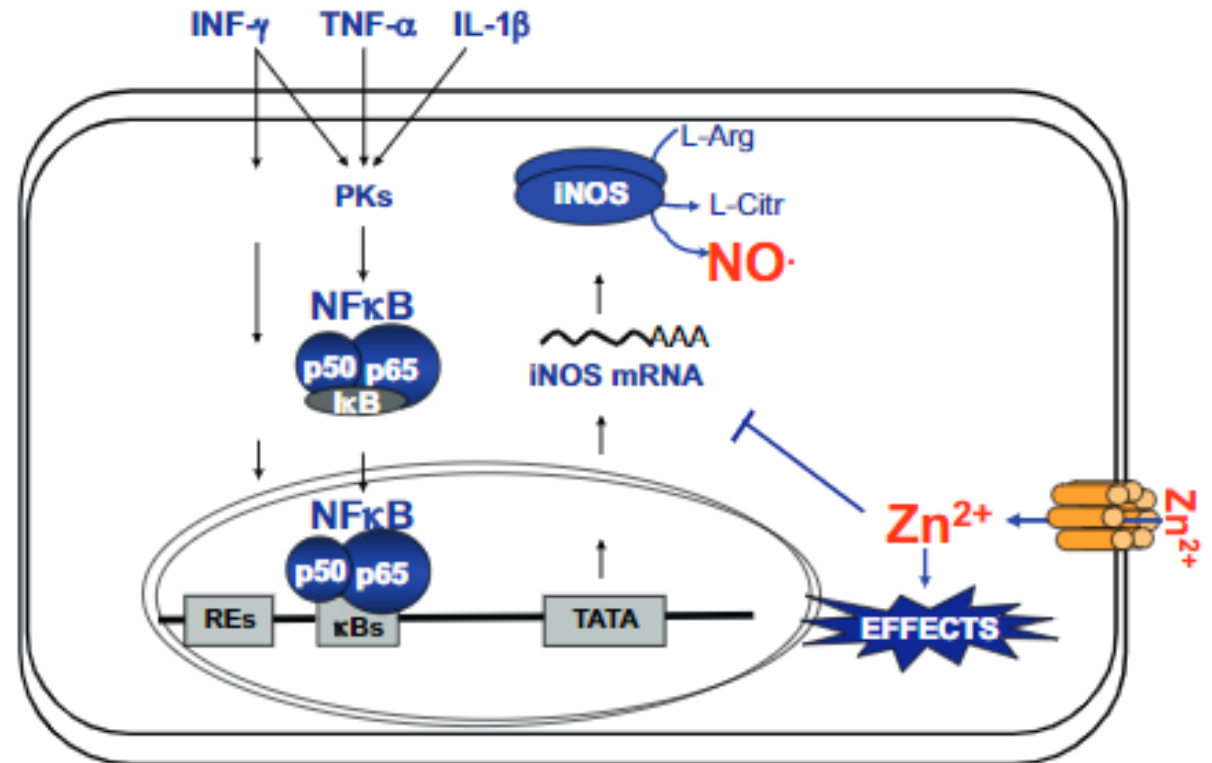


Fig. 5. Potential feedback regulation of iNOS expression by zinc in endothelial cells. Pro-inflammatory cytokines induce iNOS expression. iNOS-derived NO induces zinc release from zinc clusters of intracellular proteins. We here show that zinc decreases NF-κB mediated iNOS expression.

ГІДРОГЕН СУЛЬФІД

H_2S - СИГНАЛЬНА МОЛЕКУЛА, ЯКА АКТИВНО СИНТЕЗУЄТЬСЯ В ТКАНИНАХ

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

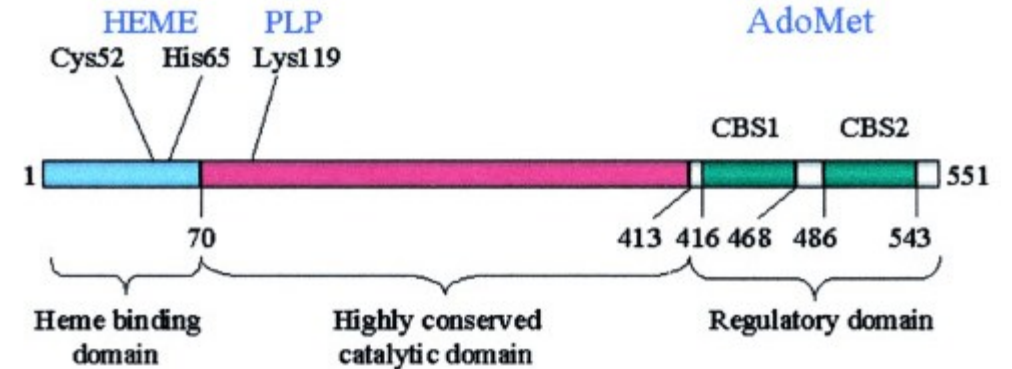
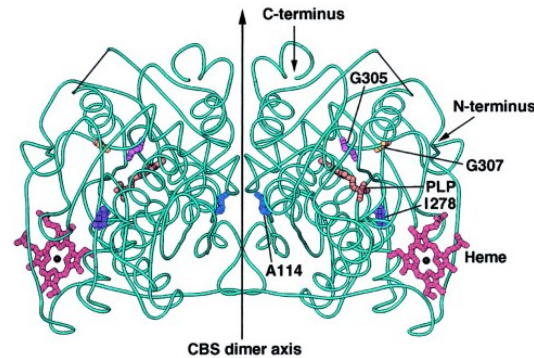
1/3 → 2/3



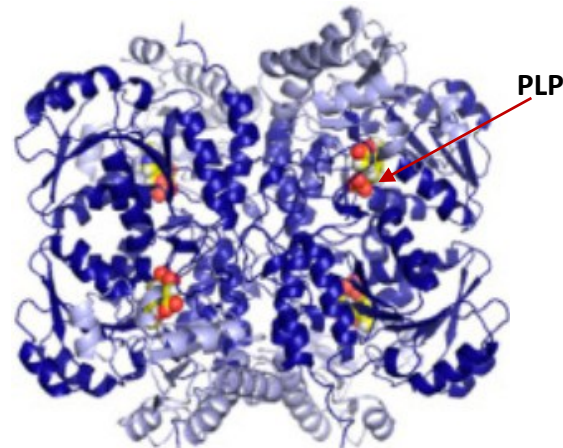
- Діє як паракринна регуляторна молекула
- Може транспортуватись еритроцитами

ГОЛОВНІ ФЕРМЕНТИ СИНТЕЗУ H₂S

• **Цистатіонін-β-синтаза (CBS)** – піридоксальфосфат-залежний гемвісний фермент, найбільш активний у головному мозку, печінці, нирках, може продукувати великі кількості H₂S.



• **Цистатіонін-гама-ліаза (CSE)** – піридоксальфосфат-залежний фермент, що поряд із синтезом цистеїну забезпечує синтез H₂S в серцево-судинній системі, а також в печінці, нирках

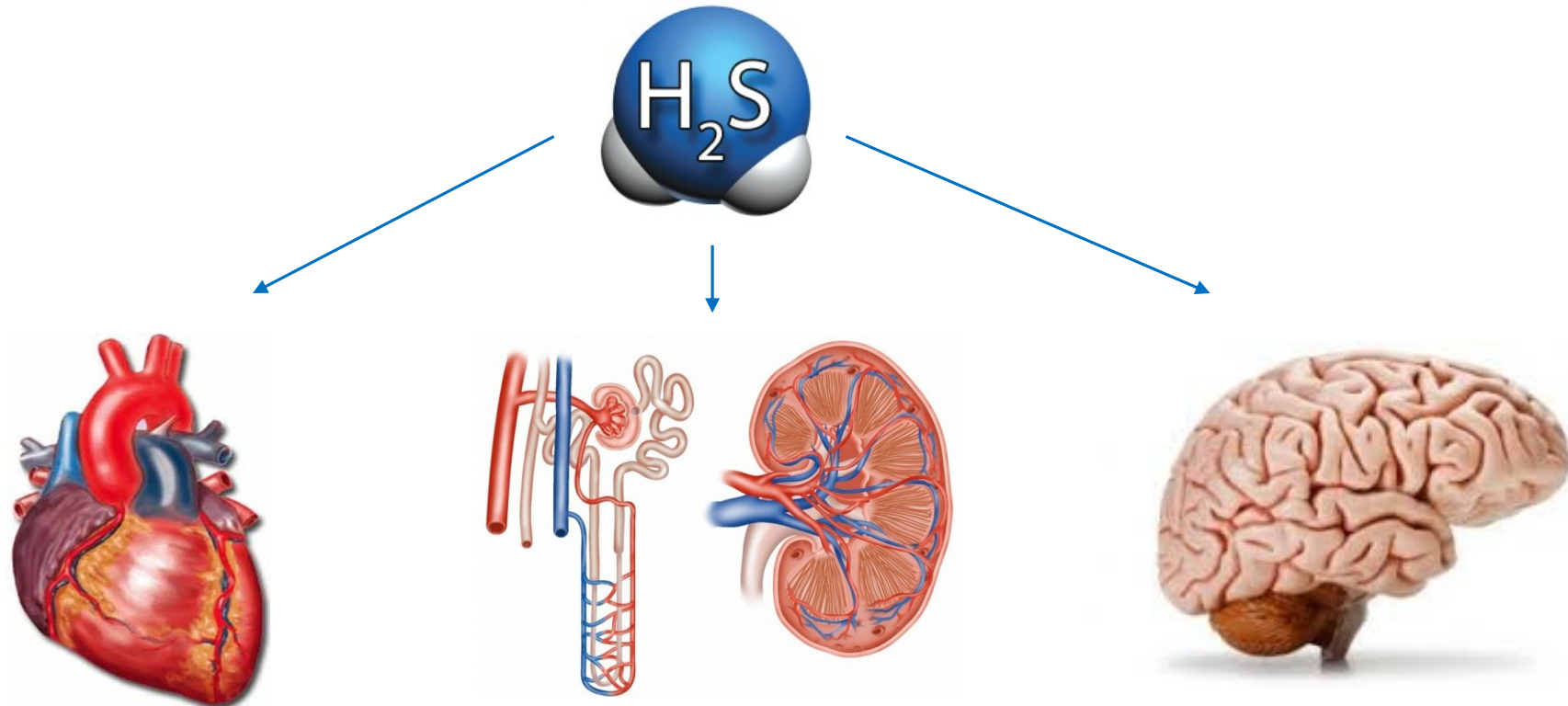


Головна роль CBS та CSE – участь в р-ціях транссульфування сірковмісних амінокислот (гомоцистеїну та цистеїну).

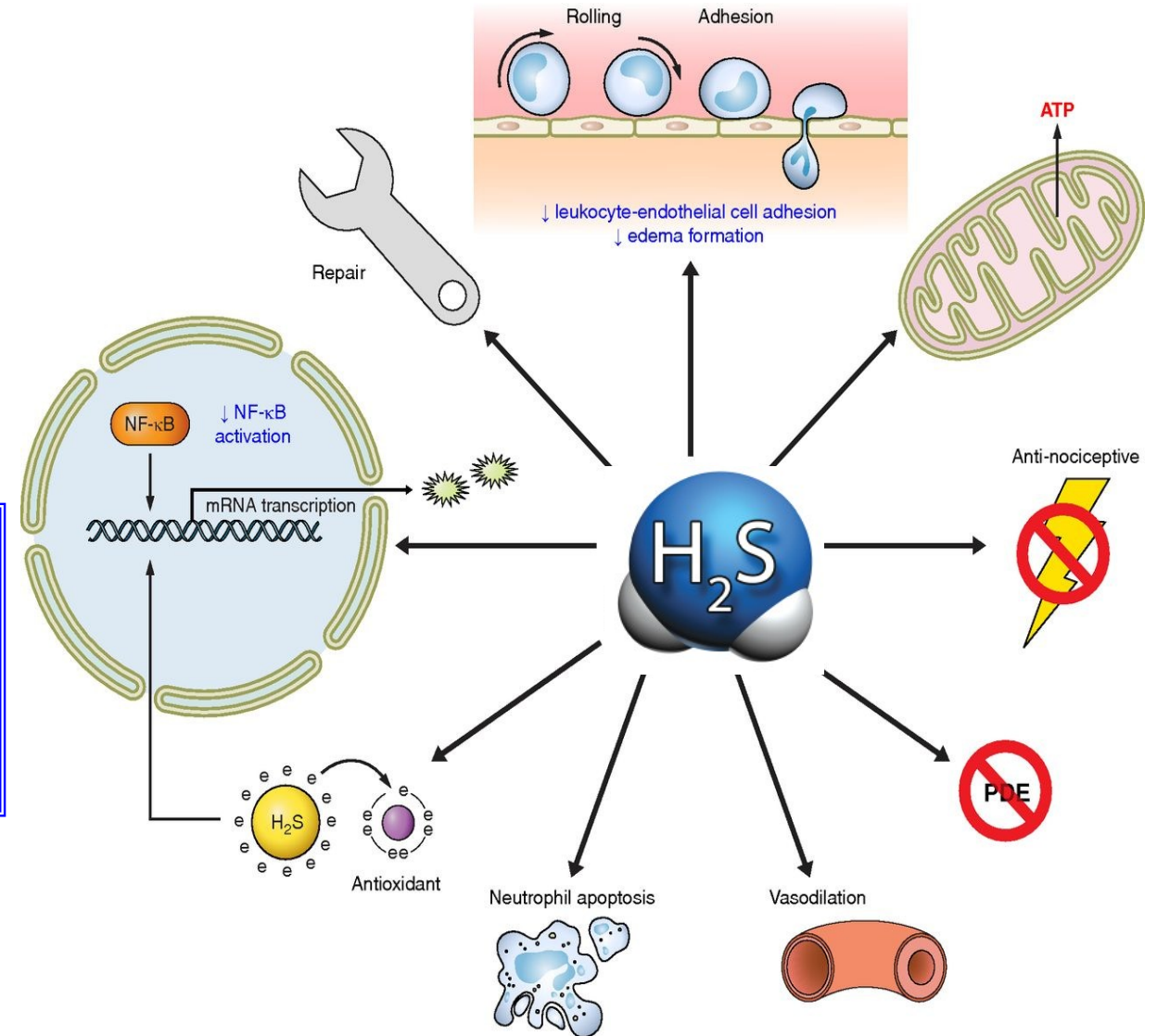
ЦБС (CBS) КФ 4.2.1.22	Гомоцистеїн + Цистеїн → Цистатіонін + H ₂ S
ЦГЛ (CSE) КФ 4.4.1.1	Цистеїн + H ₂ O → Піруват + H ₂ S + NH ₃

Мутація гена CBS викликає важкі метаболічні розлади – гіпергомоцистеїнемію, гомоцистеїнурію, що спричиняють серцево-судинні ускладнення, ранні тромбози, інфаркти, інсульти.

ГОЛОВНІ ОРГАНИ, В ЯКИХ ВІДБУВАЄТЬСЯ СИНТЕЗ H_2S

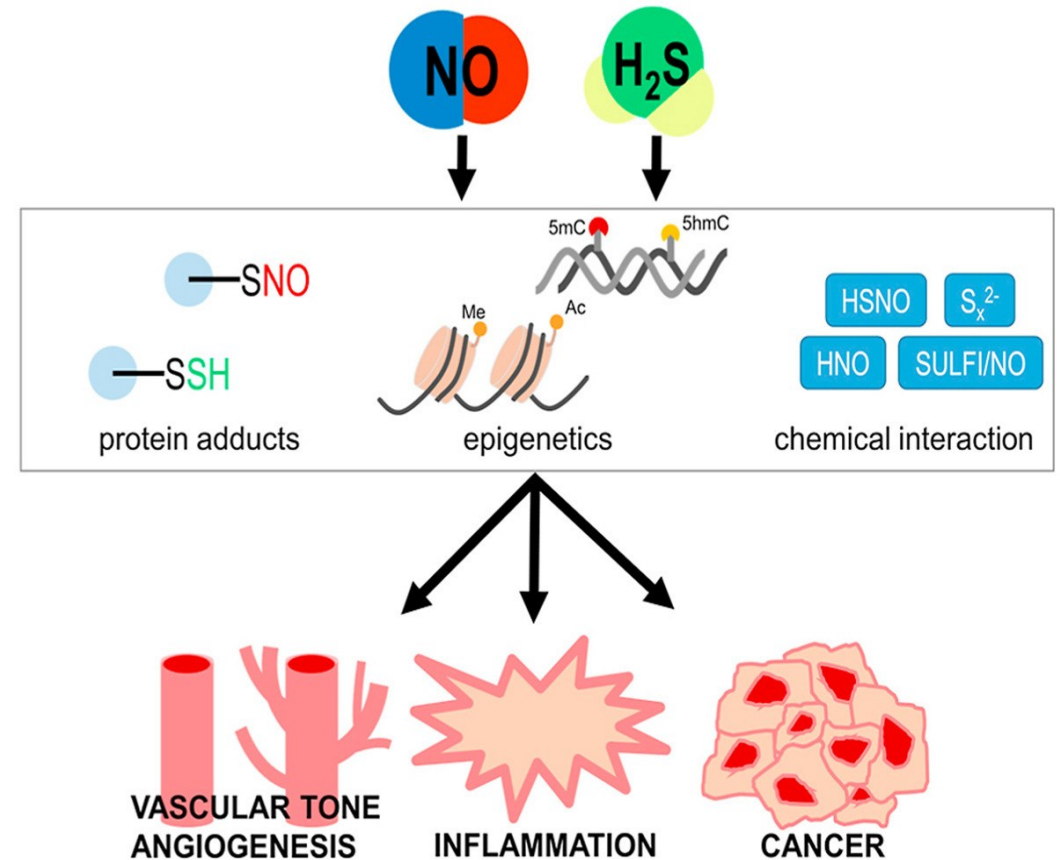
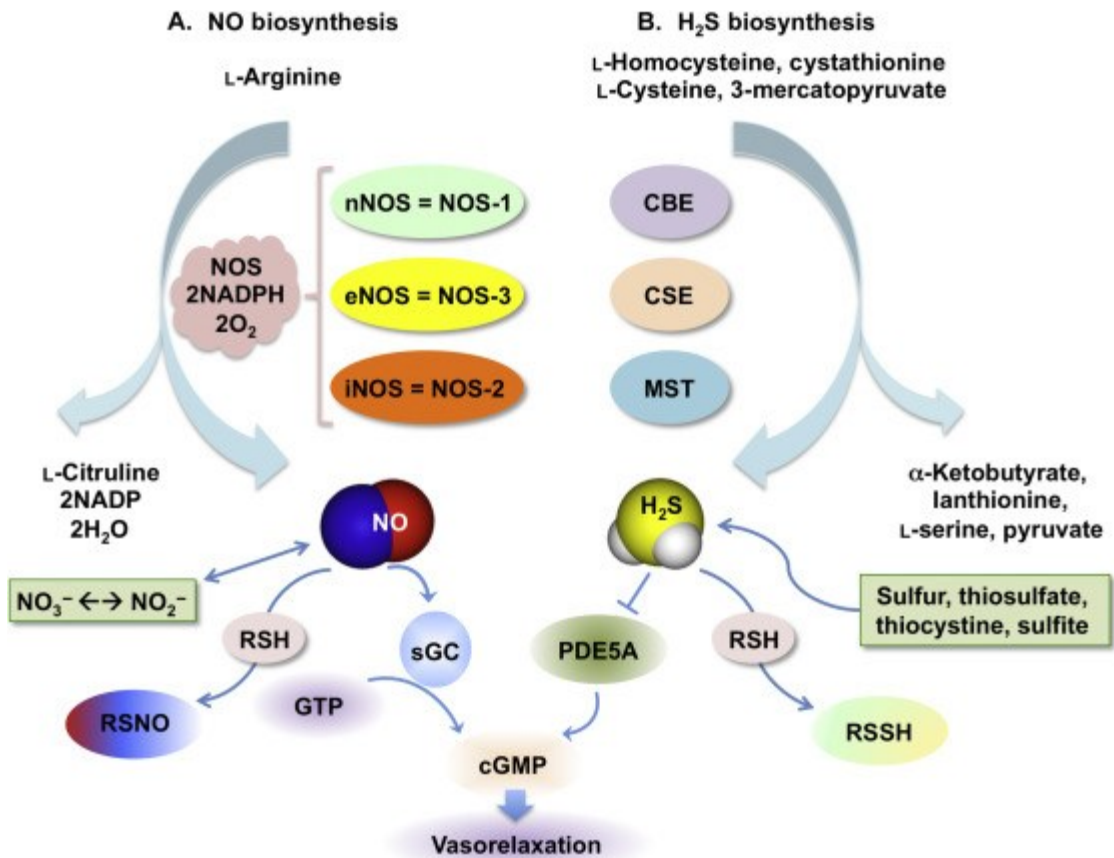


H₂S ТА ЗАПАЛЕННЯ



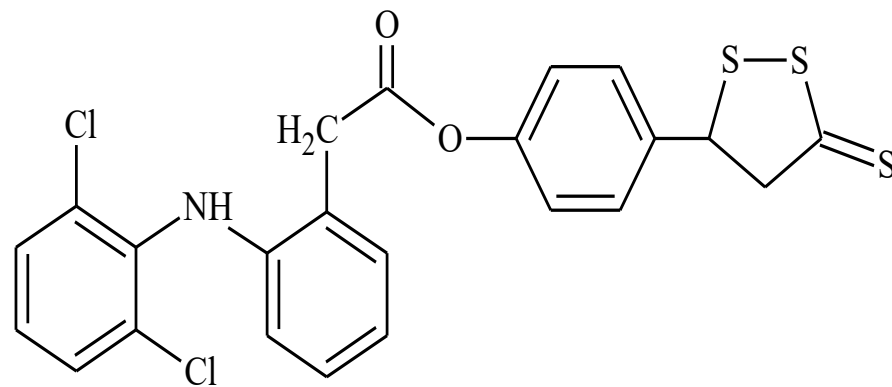
H₂S ТА NO Є БІОЛОГІЧНИМИ СИНЕРГІСТАМИ

- H₂S інгібує фосфодіестеразу і таким чином запобігає зниженню рівня цГМФ, синтез якого активується під дією NO
- H₂S посилює вазорелаксуючу та антитромботичну дію NO
- H₂S та NO вступають в хімічну взаємодію і утворюють нітрозотіоли – тканинні депо цих біорегуляторів
- H₂S та NO виступають епігенетичними коректорами і регулюють синтез окремих білків, впливають на процеси запалення та канцерогенез

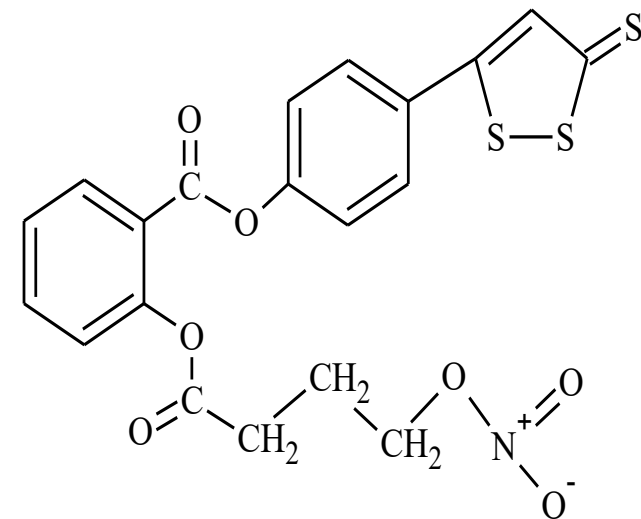




Нестероїдні протизапальні засоби з ефектом вивільнення H_2S



ACS 15 (диклофенак- H_2S)



NOSH-1 (аспірин- $NO+H_2S$)

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.

- РОЛЬ ГОРМОНІВ В РЕГУЛЯЦІЇ ЗАПАЛЕННЯ

РОЛЬ ГОРМОНІВ В РЕГУЛЯЦІЇ ЗАПАЛЕННЯ

ІНГІБУЮТЬ ЗАПАЛЬНУ РЕАКЦІЮ:

- Глюкокортикоїди (гідрокортисон, кортикостерон)
 - АКТГ
 - Адреналін
- знижують проникність судинної стінки, міграцію гранулоцитів, ексудацію
- інгібують продукцію цитокінів, хемокінів
- активують лімфоцитоліз

ПОСИЛЮЮТЬ ЗАПАЛЬНУ РЕАКЦІЮ:

- Мінералокортикоїди (альдостерон)
 - Ацетилхолін
 - СТГ
- збільшують набряк, вазодилатацію,
- активують викид клітинних медіаторів

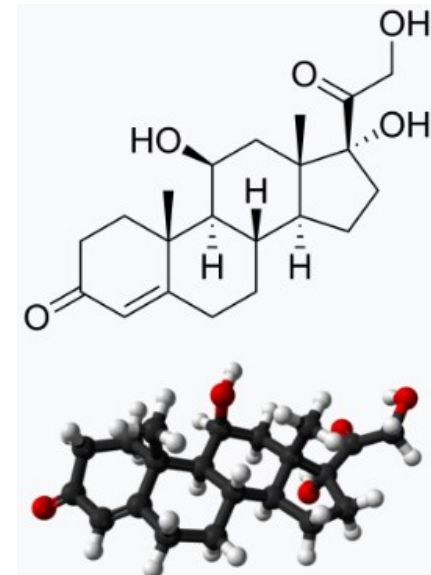
ГЕНОМНИЙ МЕХАНІЗМ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ ГЛЮКОКОРТИКОЇДІВ (ГК)

ГК пасивно проникають скрізь клітинну мембрану, зв'язуються зі своїм рецептором, які містяться в цитоплазмі клітини (з с-кінцевим доменом).

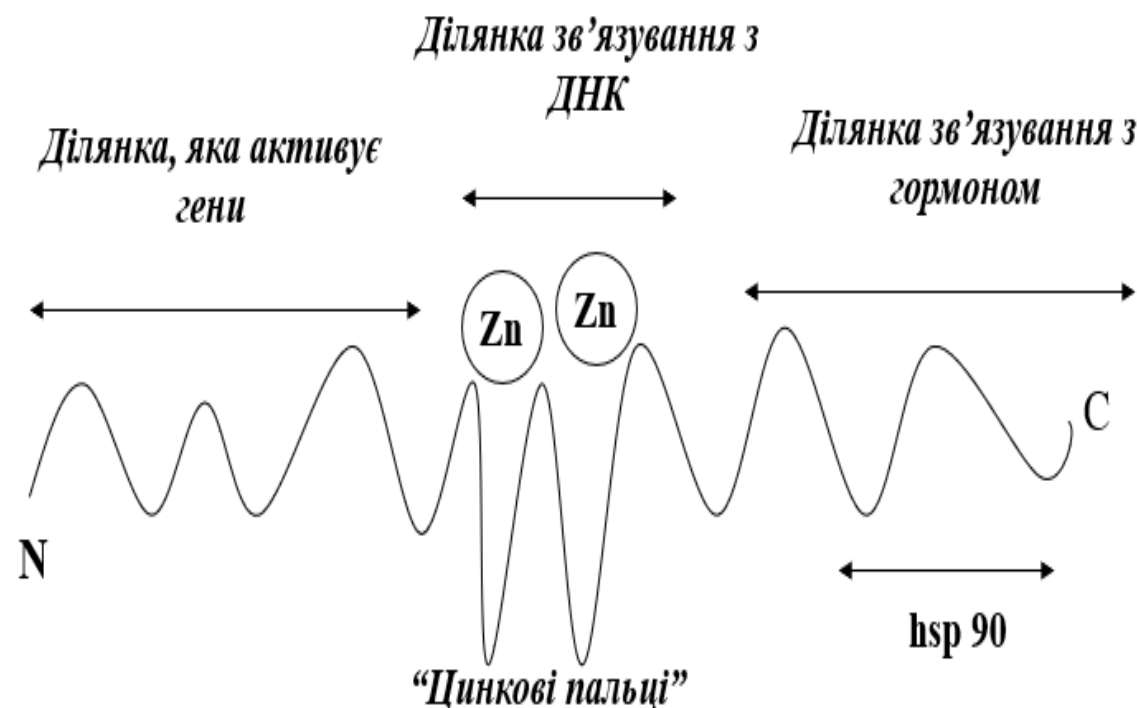
В цей момент від рецептору відщеплюється молекула hsp90 (білок теплового шоку), яка заважала рецептору проникнути в ядро до зв'язування з ГК.

Гормон-рецепторний комплекс транслокує в ядро і з'єднується з ДНК клітини-мішені. Для цього в середині ГК-рецептору є два "цинкових пальці"- атоми Zn зв'язані з 4 залишками цистеїну.

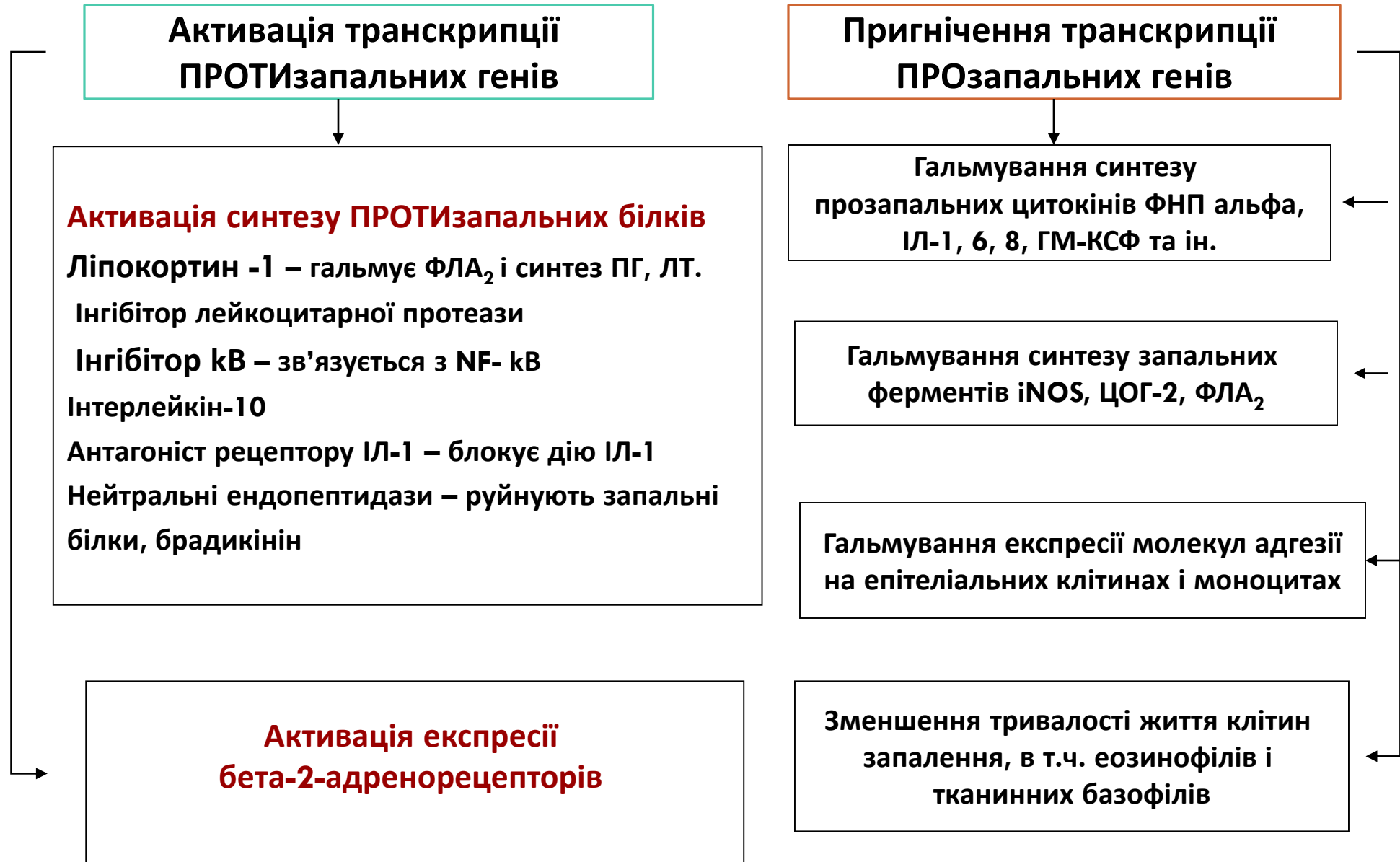
Потім N-кінцева частина ГК-рецептору зв'язується з факторами транскрипції генів, активується транскрипція протизапальних генів і гальмується транскрипція протизапальних генів.



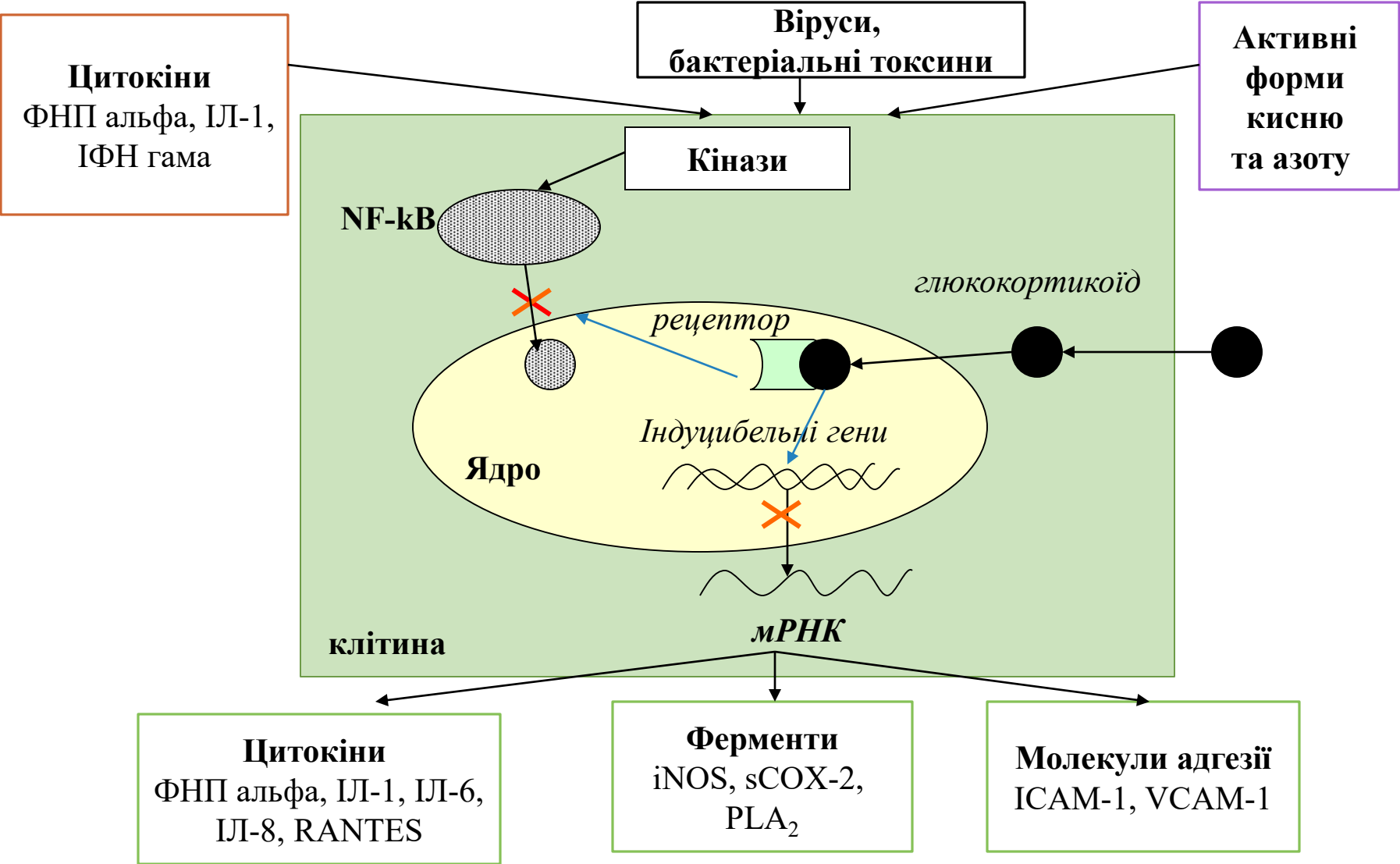
Структура ГК-рецептору



ГЕНОМНИЙ ПРОТИЗАПАЛЬНИЙ ЕФЕКТ ГК



МОЛЕКУЛЯРНИЙ ЕФЕКТ ГК ЧЕРЕЗ NF-κB



ЛІТЕРАТУРА

- 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.
- Клінічна біохімія : підручник: у 3 т. / Г. Г. Луньова, Г. М. Ліпкан, Л. В. В'юницька та ін./; за ред. Г. Г. Луньової. – Львів : ПП «Магнолія 2006», 2021. Т. 1. – 316 с.
- Клінічна біохімія : підручник: у 3 т. / Г. Г. Луньова, Г. М. Ліпкан, Л. В. В'юницька та ін. /; за ред. Г. Г. Луньової. – Львів : ПП «Магнолія 2006», 2023. Т. 2. – 372 с.
- Клінічна біохімія (підручник) / За ред. проф. Склярова О.Я. – К.: Медицина, 2006. – 432 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>
- Aboudounya, M.M. et al. (2021) SARS-CoV-2 Spike S1 glycoprotein is a TLR4 agonist, upregulates ACE2 expression and induces pro-inflammatory M1 macrophage polarisation, *bioRxiv* 2021.08.11.455921; <https://doi.org/10.1101/2021.08.11.455921>, <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.08.11.455921v1>
- Gao Wei, Xiong Ye, Li Qiang, Yang Hong (2017). Inhibition of Toll-Like Receptor Signaling as a Promising Therapy for Inflammatory Diseases: A Journey from Molecular to Nano Therapeutics/ *Frontiers in Physiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00508>
- El-Zayat, S.R., Sibaii, H. & Manna, F.A. (2019) Toll-like receptors activation, signaling, and targeting: an overview. *Bull Natl Res Cent*, 43 (187) <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0227-2>
- Li Nie, Shi-Yu Cai, Jian-Zhong Shao, & Jiong Chen (2018). Toll-Like Receptors, Associated Biological Roles, and Signaling Networks in Non-Mammals *Front. Immunol.* <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01523>
- Hu, C., Yang, J., Qi, Z., Wu, H., Wang, B., Zou, F., Mei, H., Liu, J., Wang, W., & Liu, Q. (2022). Heat shock proteins: Biological functions, pathological roles, and therapeutic opportunities. *MedComm*, 3(3), e161. <https://doi.org/10.1002/mco2.161>
- Singh, M. K., Shin, Y., Ju, S., Han, S., Choe, W., Yoon, K.-S., Kim, S. S., & Kang, I. (2024). Heat Shock Response and Heat Shock Proteins: Current Understanding and Future Opportunities in Human Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(8), 4209. <https://doi.org/10.3390/ijms25084209>
- Hoffmann, A., Cheng, G. & Baltimore, D. (2025). NF-κB: master regulator of cellular responses in health and disease. *Immun. Inflamm.* 1, 2 <https://doi.org/10.1007/s44466-025-00014-0>
- Guo, Q., Jin, Y., Chen, X. et al. (2024). NF-κB in biology and targeted therapy: new insights and translational implications. *Sig Transduct Target Ther* 9, 53 <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01757-9>
- Pieretti J.C., Rubilar O., Richard B., Weller R.B., Tortella G.R. & Seabra A.B. Nitric oxide (NO) and nanoparticles – Potential small tools for the war against COVID-19 and other human coronavirus infections (2021). *Virus Research*, 291, 198202 <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198202>
- Bhatia M, Gaddam RR. Hydrogen Sulfide in Inflammation: A Novel Mediator and Therapeutic Target. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2021;34(17):1368-1377. doi:10.1089/ars.2020.8211