

О. М. Камишний, Д. А. Путілін, І. Є. Сухомлінова, В. А. Камишна

## Імунометаболізм лімфоцитів і його зміни при експериментальному цукровому діабеті

Запорізький державний медичний університет, Україна

**Ключові слова:** лімфоцити, імунометаболізм, цукровий діабет.

Лімфоцити чутливо реагують на зміни метаболізму. Метаболічні зміни, що розвиваються в умовах ЦД, передусім гіперглікемія, здатні безпосередньо впливати на імунометаболізм лімфоцитів. Т-клітини експресують низку транспортерів глюкози, основним з яких є Glut 1. Продіабетогенні Th1 і Th17-клітини, що викликають інсуліт, характеризуються високим рівнем експресії Glut 1 і схильністю до гліколізу. У супресорних Treg, навпаки, низький рівень експресії Glut 1 і висока швидкість окислювального метаболізму.

**Мета роботи** – здійснити аналіз сучасних літературних і власних даних, що отримали, стосовно імунометаболізму лімфоцитів і його змін в умовах діабету. З'ясувати роль 6 ключових метаболічних шляхів, що відіграють вирішальну роль у диференціюванні та виживанні імунних клітин: 1) гліколіз; 2) цикл трикарбонових кислот; 3) пентозофосфатний цикл; 4) окислювання жирних кислот; 5) синтез жирних кислот; 6) метаболізм амінокислот, кожен із них по-різному активний в окремих типах імуніцитів.

**Висновки.** Різні типи імунних клітин віддають перевагу різним шляхам метаболізму. Ефекторні Th1-, Th2-, Th17-клітини та M1-макрофаги використовують переважно гліколіз, ПФШ і СЖК, тоді як Т-регуляторні, CD8<sup>+</sup>-клітини пам'яті та M2-макрофаги – цикл трикарбонових кислот та ОЖК. Зміни в метаболізмі різних амінокислот можуть впливати на генерацію як ефекторних, так і Treg-лімфоцитів. Висока активність mTOR здатна посилювати прогресію діабету через активацію ефекторних прозапальних субпопуляцій лімфоцитів і, навпаки, низька активність сприяє диференціюванню Treg, що блокують інсуліт. У наших роботах дослідили рівень експресії мРНК генів Glut 1, mTOR і AMPK1α у ПЛВ щурів з експериментальним стрептозототин-індукованим цукровим діабетом і після введення метформіну та з'ясували, що гіперглікемія викликала транскрипційну індукцію гена транспортерів глюкози Glut 1 у клітинах ПЛВ. Встановлене нами збільшення рівня мРНК генів транспортерів глюкози Glut 1 і протеїнкінази mTOR в імунних клітинах при діабеті є важливим тригером їхнього диференціювання в ефекторні прозапальні субпопуляції Th1 і Th17.

*Патологія. – 2016. – №3 (38). – С. 102–108*

### Иммунометаболизм лимфоцитов и его изменения при экспериментальном сахарном диабете

*А. М. Камышный, Д. А. Путилин, И. Е. Сухомлинова, В. А. Камышная*

Лимфоциты чутко реагируют на изменения метаболизма. Метаболические изменения, развивающиеся в условиях СД, прежде всего гипергликемия, способны непосредственно влиять на иммунометаболизм лимфоцитов. Т-клетки экспрессируют ряд транспортеров глюкозы, основным из которых является Glut 1. Продиабетогенные Th1 и Th17-клетки, которые вызывают инсулит, характеризуются высоким уровнем экспрессии Glut 1 и склонностью к гликолизу. В супрессорных Treg, наоборот, низкий уровень экспрессии Glut 1 и высокая скорость окислительного метаболизма.

**Цель работы** – провести анализ современных литературных и собственных полученных данных относительно иммунометаболизма лимфоцитов и его изменений в условиях диабета. Выяснить роль 6 ключевых метаболических путей, играющих решающую роль в дифференцировке и выживании иммунных клеток: 1) гликолиз; 2) цикл трикарбоновых кислот; 3) пентозофосфатный цикл; 4) окисление жирных кислот; 5) синтез жирных кислот и 6) метаболизм аминокислот, каждый из которых по-разному активен в отдельных типах иммуноцитов.

**Выводы.** Разные типы иммунных клеток предпочитают различные пути метаболизма. Эффекторные Th1-, Th2-, Th17-клетки и M1-макрофаги используют преимущественно гликолиз, ПФП и СЖК, тогда как Т-регуляторные, CD8<sup>+</sup>-клетки памяти и M2-макрофаги – цикл трикарбоновых кислот и ОЖК. Изменения в метаболизме различных аминокислот могут влиять на генерацію как эффекторных, так и Treg-лимфоцитов. Высокая активность mTOR способна усиливать прогрессию диабета через активацию эффекторных провоспалительных субпопуляций лимфоцитов и, наоборот, низкая активность способствует дифференцировке Treg, блокирующих инсулит. В наших работах мы исследовали уровень экспрессии мРНК генов Glut 1, mTOR и AMPK1α в ПЛУ крыс с экспериментальным стрептозототин-индуцированным сахарным диабетом и после введения метформина и выяснили, что гипергликемия вызывала транскрипционную индукцию гена транспортеров глюкозы Glut 1 в клетках ПЛУ. Установленное нами увеличение уровня мРНК генов транспортеров глюкозы Glut 1 и протеинкиназы mTOR в иммунных клетках при диабете является важным триггером их дифференцировки в эффекторные провоспалительные субпопуляции Th1 и Th17.

**Ключевые слова:** лимфоциты, иммунометаболизм, сахарный диабет.

*Патологія. – 2016. – №3 (38). – С. 102–108*

### Immunometabolism of lymphocytes and its changes in experimental diabetes mellitus

*A. M. Kamyshny, D. A. Putilin, I. Ye. Sukhomlinova, V. A. Kamyshnaya*

Lymphocytes are sensitive to changes in metabolism. Metabolic changes, which develop in conditions of diabetes mellitus, especially hyperglycemia, can directly influence the immunometabolism of lymphocytes. The T cells express a series of glucose transporters, the main of which is the Glut 1. The prodiabetogenic Th1 and Th17-cells that cause insulinitis are characterized by high level of expression of Glut 1 and tendency to glycolysis. The suppressor Treg, on the contrary, has the low expression of Glut 1 and the high rate of oxidative metabolism.

**Purpose of the study.** To analyze the contemporary literature and own data, obtained concerning the immunometabolism of lymphocyte and its changes in conditions of diabetes. To determine the role of 6 key metabolic ways that play a crucial role in the differentiation and survival of immune cells: 1) glycolysis; 2) tricarboxylic acid (TCA) cycle; 3) pentose-phosphate cycle; 4) fatty acid oxidation; 5) fatty acid synthesis and 6) metabolism of amino acids, each of which have different activity level in specific types of immune cells.

**Conclusions.** Different types of immune cells prefer different ways of metabolism. The effector Th1-, Th2-, Th17-cells and M1-macrophages use primarily glycolysis, pentose-phosphate cycle and synthesis of fatty acids, while T-regulatory, CD8+ memory cells and M2-macrophages use the TCA cycle and oxidation of fatty acids. Changes in the metabolism of different amino acids can influence the generation of effector and Treg lymphocytes. The high activity of mTOR can enhance the progression of diabetes by activating the effector proinflammatory subpopulations of lymphocytes, and vice versa, the low activity promotes the differentiation of Treg, blocking the insulinitis. In our work we investigated the level of expression of mRNA of genes Glut 1, mTOR and AMPK1 $\alpha$  in PLN of rats with experimental streptozotocin-induced diabetes and after metformin introduction and found that the hyperglycemia caused the transcription induction of the gene of glucose transporters Glut 1 in PLN cells. The increase of the level of mRNA genes of glucose transporters Glut 1 and protein kinase mTOR in immune cells in diabetes, which we determined, is an important trigger of their differentiation into effector proinflammatory Th1 and Th17 subpopulations.

**Key words:** *Lymphocytes, Immunometabolism, Diabetes Mellitus.*

*Pathologia 2016; №3 (38): 102–108*

За останні п'ять років відбувся справжній прорив у вивченні метаболізму лімфоцитів, з'явився та почав активно використовуватись термін імунометаболізм. Це пов'язано передусім із появою дуже чутливих підходів до вивчення метаболізму. Імуноцити з різноманітними функціями використовують декілька різних метаболічних шляхів, щоб генерувати необхідні рівні енергії та підтримувати виживання, проліферацію. Можна виділити 6 ключових метаболічних шляхів, що відіграють вирішальну роль у диференціюванні та виживанні імунних клітин: 1) гліколіз; 2) цикл трикарбонових кислот; 3) пентозо-фосфатний цикл; 4) окислювання жирних кислот; 5) синтез жирних кислот; 6) метаболізм амінокислот, кожен із них по-різному активний в окремих типах імуноцитів.

#### Мета роботи

Здійснити аналіз сучасних літературних і власних даних, що отримали, стосовно імунометаболізму лімфоцитів і його змін в умовах діабету. З'ясувати роль 6 ключових метаболічних шляхів, що відіграють вирішальну роль у диференціюванні та виживанні імунних клітин: 1) гліколіз; 2) цикл трикарбонових кислот; 3) пентозо-фосфатний цикл; 4) окислювання жирних кислот; 5) синтез жирних кислот; 6) метаболізм амінокислот. Кожен із них по-різному активний в окремих типах імуноцитів.

**Гліколіз.** Незважаючи на те, що гліколіз – відносно не-ефективний метаболічний шлях для генерації клітиною АТФ (тільки 2 молекули АТФ на 1 молекулу глюкози), він надає низку ключових переваг для клітин, бо відіграє провідну роль у забезпеченні біосинтетичних проміжних ланок для синтезу рибози для нуклеотидів, амінокислот і жирних кислот. Багато ростових сигнальних шляхів за участю фосфатидилінозитол-3-кінази (phosphoinositide 3-kinases – PI3K) і мітоген-активованої протеїнкінази (mitogen-activated protein kinase – MAPK) сприяють використанню клітиною саме гліколізу, тому він є домінуючим шляхом у клітин, що швидко проліферують. Активовані Т-лімфоцити та макрофаги володіють високою спорідненістю до глюкози [1], а використання інгібіторів гліколізу (2-Deoxy-D-glucose) запобігає активації макрофагів *in vitro* й блокує запалення *in vivo* [2].

Парадоксально, але, незважаючи на не найефективніший спосіб виробити АТФ, активовані імунні клітини використовують переважно гліколіз (рис. 1). На відміну від цього шляху окислювальне фосфорилування потребує мітохондріальної біоенергетики, що є складнішим і, ймовірно, повільнішим процесом. Також лімфоцити, які мають генерувати АТФ, швидко перемикаються на гліколіз. Низка наукових робіт показала підсилення гліколізу у ЛПС-активованих макрофагах і ДК (дендритні клітини), в активованих НК-клітинах, Т- і В-лімфоцитах [3]. Ефекторні Т-лімфоцити демонструють збільшення гліколізу після активації, передусім Th17, Th1 і Th2-клітини, а також активовані ефекторні CD8<sup>+</sup> Т-лімфоцити [4]. Підвищення активності mTOR (mammalian target of rapamycin) корелює з підсиленням гліколізу та генерацією периферичних Т-регуляторних клітин (pTreg), але негативно відбивається на їхньому довгостроковому виживанні [5]. Тому посилення гліколізу можна вважати ознакою метаболічних змін в імуноцитах, що піддаються швидкій активації, наприклад, у відповідь на стимуляцію PRRs (Pattern recognition receptors), рецепторів цитокінів або ТКР (Т-клітинний рецептор), що дає можливість імуноциту надати достатньо АТФ для виконання конкретних ефекторних функцій.

У наш час уже є деяке молекулярне розуміння тих сигнальних шляхів, що ініціюють гліколіз під час активації імунних клітин. Наприклад, ЛПС викликають активацію індукцйбельного гіпоксією фактора 1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1-alpha – HIF1 $\alpha$ ) – транскрипційного фактора, який вкрай важливий для індукції декількох ферментів, котрі залучені у гліколіз [6]. Ядерний фактор  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells – NF $\kappa$ B) впливає на активацію вкрай важливого для регулювання гліколізу ферменту фосфофруктокінази 2 (phosphofruktokinase 2 – PFK2). ЛПС можуть також швидко викликати гліколіз у ДК через активацію кінази ТВК1 і/або інгібітор кінази NF $\kappa$ B  $\epsilon$  (IKK $\epsilon$ ) і гексокіназу 2 [7]. Ключовий механізм для підсилення гліколізу у ЛПС-активованих макрофагах – індукція ізоферменту піруваткінази M2 (PKM2). Використання інгібіторів гліколізу (2-Deoxy-D-glucose) сприяє перепрограмуванню Th17 у Treg клітини [8]. Ці дослідження підкреслюють зв'язок

між метаболізмом і фенотипом лімфоцитів. Другий цікавий аспект індукції гліколізу в активованих імунітах – роль гліколітичного ферменту гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (GAPDH). У Th1-клітинах було показано, що GAPDH зв'язується з mRNA, котрий кодує один з основних Th1-залежних ефекторних цитокінів *interferon- $\gamma$*  (IFN $\gamma$ ) [9], пригнічуючи його трансляцію. Як тільки гліколіз активовано, GAPDH відділяється від IFN $\gamma$  mRNA, дозволяючи йому транслюватися. У макрофагах інший гліколітичний фермент – гексокіназа 1 (hexokinase 1), що здатний взаємодіяти з NLRP3-інфламасомою, викликаючи її активацію та індукцію запалення.

**Цикл трикарбонних кислот.** Цикл трикарбонних кислот (цикл Кребса) – найефективніший спосіб продукції АТФ, що найбільш активно використовується у клітинах, які перебувають у стані спокою, або непроділюючих клітинах. Незважаючи на це, цикл Кребса повністю функціональний у більшій частині Т-лімфоцитів, активніше його використовують CD8<sup>+</sup> Т-лімфоцити пам'яті [10], а ефекторні Т-клітини більш тяжіють, як показано вище, до гліколізу. Найбільш вивчений вплив цього шляху на диференціювання 2 підтипів макрофагів. У макрофагах М2 цикл трикарбонних кислот активний, тоді як у М1 – пошкоджений у двох місцях: після цитрату та після сукцинату. При цьому надлишкове накопичення цитрату сприяє продукції оксиду азоту, простагландинів та ітаконової кислоти, що спричиняє прямі бактерицидні ефекти на такі мікроорганізми, як *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium* і *Mycobacterium tuberculosis* [11].

**Пентозофосфатний шлях (ПФ).** Два основних результати ПФ шляху – вироблення нуклеотидів (інтенсивно використовується клітинами, що активно проліферують) та продукція NADPH, використаного для генерації АКР макрофагами та нейтрофілами. ДК

також активно використовують NADPH, що необхідно для їхньої активації та секреції цитокінів [12]. Індукція ПФ шляху спостерігається у ЛПС-активованих макрофагах, а ключовий фермент для поляризації макрофагів – CARKL (carbohydrate kinase-like protein) [13]. Цей фермент обмежує потік через ПФ шлях і високо активний у М2-макрофагах. Якщо CARKL пригнічений, макрофаги набувають М1-подібний фенотип.

**Окислення жирних кислот (ОЖК).** У результаті цього метаболічного шляху мітохондріального перетворення жирних кислот утворюються численні продукти, які клітина може надалі використовувати для продукції енергії, включаючи ацетил-CoA, NADH і FADH<sub>2</sub>. ОЖК – один із ключових шляхів регуляції адаптивних і вроджених імунних реакцій. На відміну від гліколізу, що часто використовується ефекторними та клітинами, котрі швидко проліферують, ОЖК спостерігається в багатьох імунітах, що не є прозапальними за своєю природою та демонструють збільшену тривалість життя, включаючи макрофаги М2, Трег-клітини та Т-клітини пам'яті. Так, посилення ОЖК відзначається в Трег-лімфоцитах і знижено в ефекторних Th1, Th2 і Th17-клітинах [8]. Наступні роботи показали, що у Трег підсилена експресія генів, котрі залучені в окислення жирних кислот, включаючи Cpt1a (carnitine palmitoyl transferase I), порівняно з Th17-лімфоцитами [14]. Цікаво, що ефекторні Т-лімфоцити демонструють зниження активності ОЖК під час активації. ОЖК відіграє важливу роль і в генерації тривало живучих CD8<sup>+</sup> Т-клітин пам'яті. Стимуляція CD8<sup>+</sup> Т-клітин пам'яті з IL15 підсилює в них експресію гена Cpt1a і ОЖК, що призводить до збільшення виживання цієї популяції.

**Синтез жирних кислот (СЖК).** Метаболічний шлях СЖК дає змогу клітинам виробляти ліпіди, які необхідні для клітинного росту та швидкої проліферації. Реалізація

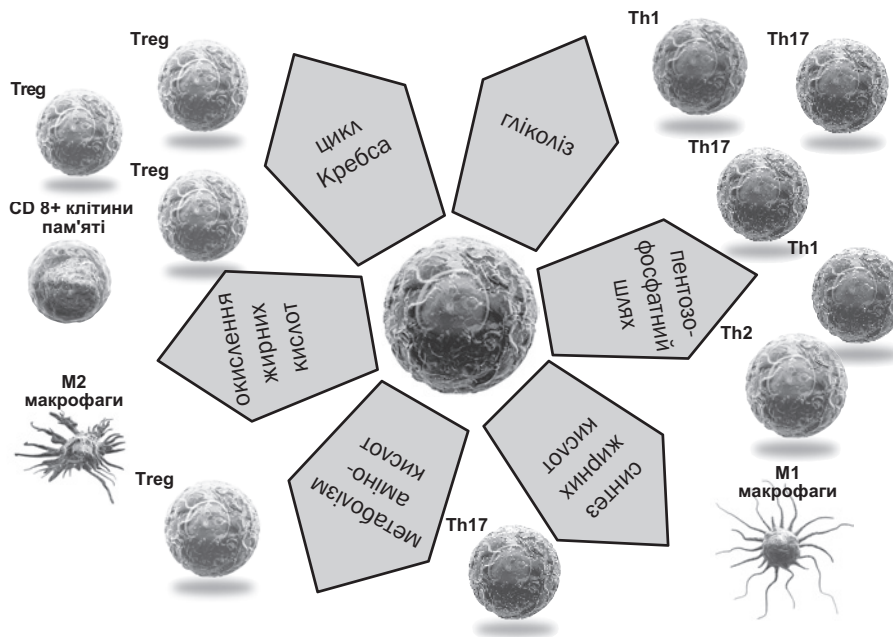


Рис. 1. Метаболізм різних типів імунних клітин.



цього шляху тісно пов'язана з mTOR-сигналізацією, що сприяє СЖК посередництвом регулювання багатьох ключових ферментів, котрі відповідальні за *de novo* синтез ліпідів, включаючи SREBP (sterol regulatory element-binding proteins), FASN (fatty acid synthase) і ACC (acetyl-CoA carboxylase). На відміну від окислення жирних кислот СЖК сприяє генерації прозапальних субпопуляцій імунних клітин, активує вроджені та адаптивні імунні реакції. Декілька досліджень показали, що LPS і цитокіни ініціюють збільшення СЖК у макрофагах [15]. СЖК забезпечує зв'язок між вродженим та адаптивним імунітетом через регулювання функцій ДК. Так, TLR – опосередкована активація ДК супроводжується збільшенням СЖК. Цей метаболічний шлях також ключовий для проліферації Т- і В-лімфоцитів після їхньої активації через антигенні рецептори. Недавня робота продемонструвала, що Т-специфічна делеція ацетил-СоА карбоксилази 1 (ACC1) – обмежувального СЖК ферменту – призводить до зменшення числа антиген-специфічних CD8<sup>+</sup> Т-лімфоцитів [16]. Баланс ефекторних і Т-регуляторних клітин також частково залежить від СЖК. Фармакологічне або генетичне пригнічення ACC1 у CD4<sup>+</sup> Т-лімфоцитах показало: СЖК необхідні для диференціювання Th17, але не для функцій Treg [17].

**Метаболізм амінокислот.** Ці метаболічні шляхи залежать передусім від mTOR-сигналізації. Окремі амінокислоти відіграють важливу роль в імунометаболізмі лімфоцитів. Наприклад, глютамін та аргінін необхідні для активації Т- і В-лімфоцитів [18]. Метаболізм глютаміну також, імовірно, регулює баланс між ефекторними та Treg-клітинами, бо генетичний нокаут білка транспортера ASCT2 (який відповідальний за поглинання глютаміну в Т-лімфоцитах) призводить до порушення генерації та функцій Th1 і Th17, зниження

експресії mTORC1, але не впливає на Treg [19]. Метаболізм аргініну відіграє провідну роль у регуляції фенотипу M1- і M2-макрофагів [20], а триптофан необхідний для проліферації Т-лімфоцитів.

Отже, різні типи імунних клітин віддають перевагу різним шляхам метаболізму (рис. 1). Ефекторні Th1-, Th2-, Th17-клітини та M1-макрофаги використовують переважно гліколіз, ПФШ і СЖК, тоді як Т-регуляторні, CD8<sup>+</sup>-клітини пам'яті та M2-макрофаги – цикл трикарбонових кислот та ОЖК. Зміни в метаболізмі різноманітних амінокислот можуть впливати на генерацію як ефекторних, так і Treg-лімфоцитів.

Лімфоцити чутливо реагують на зміни метаболізму. Як такі основні лімфоцитарні сенсори імунометаболізму можна виділити: кіназу mTOR, що сприймає сигнали від амінокислот, ростових факторів тощо та є одним із центральних регуляторів проліферації та виживання лімфоцитів; ключовий сенсор глюкози та регулятор енергетичного балансу клітин АМФ-активована протеїнкіназа (AMPK); рецептори, що активовані пероксисомними проліфераторами PPAR $\gamma$ , ендогенними лігандами яких є вільні жирні кислоти та ейкозаноїди; образ-розпізнавальні рецептори вродженого імунітету (TLR, NLR, RLR тощо), які активуються не тільки мікробними лігандами, але й цілим рядом ендогенних патернів пошкодження, таких як HSP70, HMGB1; сенсори позаклітинної АТФ пуринергічні рецептори P2XR; сенсори ксенобіотиків арил-гідрокарбоніві рецептори (AHR); рецептори коротколанцюгових жирних кислот FFAR2, лігандами, для яких є такі мікробні метаболіти, як бутират, ацетат і пропіонат (рис. 2).

**Імунометаболізм лімфоцитів при діабеті.** Метаболічні зміни, що розвиваються в умовах ЦД, передусім гіперглікемія, здатні безпосередньо впливати на імунометаболізм лімфоцитів [22]. Т-клітини експресу-

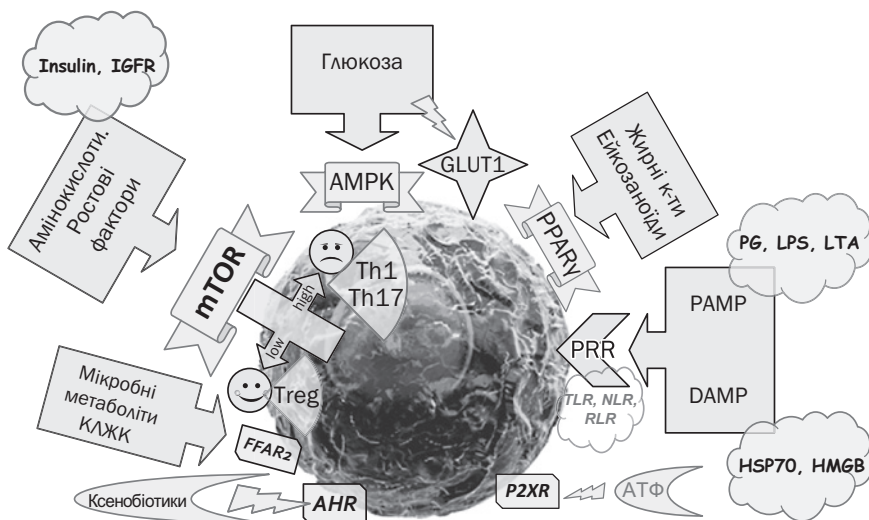


Рис. 2. Лімфоцит як сенсор змін метаболізму.

**Примітки:** mTOR – мішень рапаміцину; AMPK – АМФ-активована протеїнкіназа; PPAR $\gamma$ -рецептори, що активуються пероксисомними проліфераторами; Glut 1 – транспортери глюкози 1 типу; P2XR – пуринергічні рецептори; FFAR2 – рецептори коротколанцюгових жирних кислот; AHR – арил-гідрокарбоніві рецептори; PRR – образ-розпізнавальні рецептори вродженого імунітету; PAMP – патоген-асоційовані молекулярні патерни; DAMP – молекулярні патерни, що асоційовані з ушкодженням.

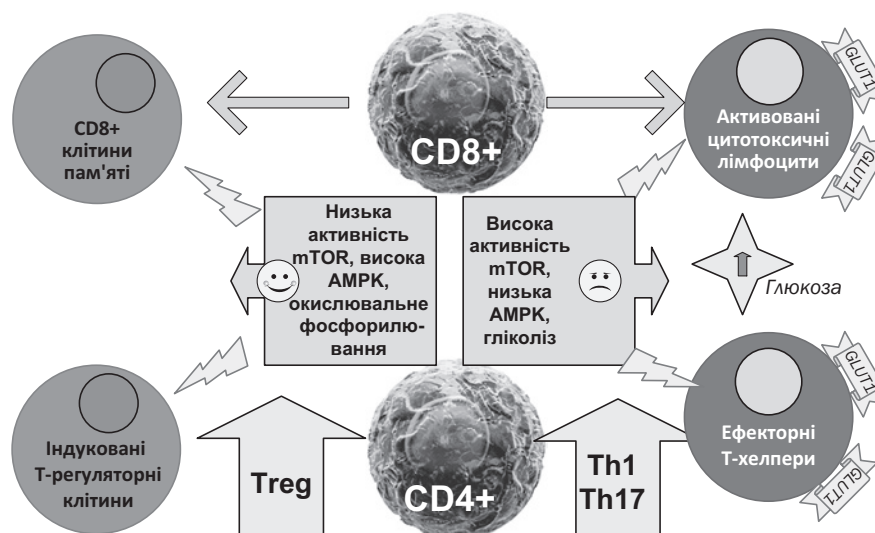


Рис. 3. Імунометаболізм лімфоцитів при діабеті.

ють низку транспортерів глюкози, основним із них є Glut 1 [22]. Продіабетогенні Th1 і Th17-клітини, що викликають інсуліт, характеризуються високим рівнем експресії Glut 1 і схильністю до гліколізу [23]. У супресорних Treg, навпаки, низький рівень експресії Glut 1 і висока швидкість окислювального метаболізму [24]. Імунні порушення призводять до розвитку ЦД 1 типу, а гіперглікемія, котра при цьому розвивається, підсилює аутоімунну атаку, призводячи до формування “ганебного” кола. Своєю чергою, важливим регулятором імунометаболізму лімфоцитів є протеїнкіназа mTOR, що наявна як субодиниця внутрішньоклітинних мультимолекулярних сигнальних комплексів mTORC1 і mTORC2 [25]. У складі цих комплексів mTOR є «провідником» як внутрішньоклітинних, так і позаклітинних сигналів і служить одним із центральних регуляторів метаболізму, росту, проліферації та виживання лімфоцитів та інших клітин, а одним із її блокувальників є метформін, який діє через AMPK (AMP-activated protein kinase) [26].

Висока активність mTOR здатна посилювати прогресію діабету через активацію ефektorних прозапальних субпопуляцій лімфоцитів і, навпаки, низька активність сприяє диференціюванню Treg [27], що блокують інсуліт. У наших роботах дослідили рівень експресії мРНК генів Glut 1, mTOR і AMPK1α у ПЛВ щурів з експериментальним стрептозотин-індукованим цукровим діабетом (ЕСПД) і після введення метформіну та з’ясували: гіперглікемія викликала транскрипційну індукцію гена транспортерів глюкози Glut 1 у клітинах ПЛВ [28,29]. Зокрема, розвиток діабету призводив до зростання вмісту мРНК Glut 1 в 9,9 рази ( $p < 0,05$ ) на 3 тиждень та у 28,9 рази ( $p < 0,05$ ) на 5 тиждень патологічного процесу. Ці зміни супроводжувались збільшенням рівня мРНК протеїнкінази mTOR у 5,3 рази ( $p < 0,05$ ) при 3-тижневому та у 3,3 рази ( $p < 0,05$ ) при 5-тижневому ЕСПД порівняно з контрольною групою щурів. Введення метформіну діабетичним щурам призводило до зростання рівня

транскрипційної активності АМФ-активованої протеїнкінази AMPK1α у ПЛВ. Так, відносна нормалізована кількість мРНК гена AMPK1α збільшувалась на 87 % ( $p < 0,05$ ) на 3 тиждень та майже у 38 разів ( $p < 0,05$ ) – на 5 тиждень розвитку ЕСПД. Індукція AMPK1α закономірно пригнічувала експресію mTOR: спостерігали зменшення рівня мРНК мішені рапаміцину у ПЛВ у 14,7 рази ( $p < 0,05$ ) при 3-тижневому та в 3 рази ( $p < 0,05$ ) при 5-тижневому ЕСПД порівняно з контрольною групою щурів. Отже, встановлене нами збільшення рівня мРНК генів транспортерів глюкози Glut 1 і протеїнкінази mTOR у клітинах ПЛВ при діабеті є важливим тригером їхнього диференціювання в ефektorні прозапальні субпопуляції Th1 і Th17 (рис. 3).

### Висновки

1. Різні типи імунних клітин віддають перевагу різним шляхам метаболізму. Ефektorні Th1-, Th2-, Th17-клітини та M1-макрофаги використовують переважно гліколіз, ПФШ і СЖК, тоді як Т-регуляторні, CD8+-клітини пам’яті і M2-макрофаги – цикл трикарбонових кислот та ОЖК. Зміни в метаболізмі різних амінокислот можуть впливати на генерацію як ефektorних, так і Treg-лімфоцитів.

2. Висока активність mTOR здатна посилювати прогресію діабету через активацію ефektorних прозапальних субпопуляцій лімфоцитів і, навпаки, низька активність сприяє диференціюванню Treg, що блокують інсуліт. У наших роботах дослідили рівень експресії мРНК генів Glut 1, mTOR і AMPK1α у ПЛВ щурів з експериментальним стрептозотин-індукованим цукровим діабетом і після введення метформіну та з’ясували: гіперглікемія викликала транскрипційну індукцію гена транспортерів глюкози Glut 1 у клітинах ПЛВ. Встановлене нами збільшення рівня мРНК генів транспортерів глюкози Glut 1 і протеїнкінази mTOR в імунних клітинах при діабеті є важливим тригером їхнього диференціювання в ефektorні прозапальні субпопуляції Th1 і Th17.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Список літератури**

1. Glucose Metabolism in T Cells and Monocytes. New Perspectives in HIV Pathogenesis / C.S. Palmer, C.L. Cherry, I. Sada-Ovalle, et al. // *EBioMedicine*. – 2016. – Vol. 6. – P. 31–41.
2. O’Neill L.A. Immunometabolism governs dendritic cell and macrophage function / L.A. O’Neill, E.J. Pearce // *J Exp Med*. – 2016. – Vol. 213(1). – P. 15–23.
3. Cutting edge: distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4+ T cell subsets / R.D. Michalek, V.A. Gerriets, S. R. Jacobs et al. // *J. Immunol.* – 2011. – Vol. 186. – P. 3299–3303.
4. Rapid effector function of memory CD8+ T cells requires an immediate-early glycolytic switch / P.M. Gubser, G.R. Bantug, L. Razik et al. // *Nat. Immunol.* – 2013. – Vol. 14. – P. 1064–1072.
5. Autophagy enforces functional integrity of regulatory T cells by coupling environmental cues and metabolic homeostasis / J. Wei, L. Long, K. Yang et al. // *Nat. Immunol.* – 2016. – Vol. 17. – P. 277–285.
6. Succinate is an inflammatory signal that induces IL 1 $\beta$  through HIF 1 $\alpha$  / G.M. Tannahill, A.M. Curtis, J. Adamik et al. // *Nature*. – 2013. – Vol. 496. – P. 38–242.
7. Control of PI(3) kinase in Treg cells maintains homeostasis and lineage stability / A. Huynh, M. DuPage, B. Priyadharshini, et al. // *Nat. Immunol.* – 2015. – Vol. 16. – P. 188–196.
8. Newton R. Immunometabolism of regulatory T cells / R. Newton, B. Priyadharshini, L.A. Turka // *Nat Immunol.* – 2016. – Vol. 17(6). – P. 618–25.
9. Posttranscriptional control of T cell effector function by aerobic glycolysis / C.H. Chang, J.D. Curtis, L.B.Jr. Maggi, et al. // *Cell*. – 2013. – Vol. 153. – P. 1239–1251.
10. Memory CD8+ T cells use cell-intrinsic lipolysis to support the metabolic programming necessary for development / D. O’Sullivan, G.J. van der Windt, S.C. Huang, et al. // *Immunity*. – 2014. – Vol. 41. – P. 75–88.
11. Immune-responsive gene 1 protein links metabolism to immunity by catalyzing itaconic acid production / A. Michelucci, T. Cordes, J. Ghelfi, et al. // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. – 2013. – Vol. 110. – P. 7820–7825.
12. TLR-driven early glycolytic reprogramming via the kinases TBK1 IKK $\epsilon$  supports the anabolic demands of dendritic cell activation / B. Everts, E. Amiel, S.C. Huang, et al. // *Nat. Immunol.* – 2014. – Vol. 15. – P. 323–332.
13. The sedoheptulose kinase CARKL directs macrophage polarization through control of glucose metabolism / A. Haschemi, P. Kosma, L. Gille, et al. // *Cell Metab.* – 2012. – Vol. 15. – P. 813–826.
14. Metabolic programming and PDHK1 control CD4+ T cell subsets and inflammation / V.A. Gerriets, R.J. Kishon, A.G. Nichols, et al. // *J. Clin. Invest.* – 2015. – Vol. 125. – P. 194–207.
15. Mechanisms of triglyceride accumulation in activated macrophages / K.R. Feingold, J.K. Shigenaga, M.R. Kazemi, et al. // *J. Leukoc. Biol.* – 2012. – Vol. 92. – P. 829–839.
16. Regulator of fatty acid metabolism, acetyl coenzyme a carboxylase 1, controls T cell immunity / J. Lee, M.C. Walsh, K.L. Hoehn, et al. // *J. Immunol.* – 2014. – Vol. 192. – P. 3190–3199.
17. De novo fatty acid synthesis controls the fate between regulatory T and T helper 17 cells / L. Berod, C. Friedrich, A. Nandan, et al. // *Nat. Med.* – 2014. – Vol. 20. – P. 1327–1333.
18. Glutamine uptake and metabolism are coordinately regulated by ERK/MAPK during T lymphocyte activation / E.L. Carr, A. Kelman, G.S. Wu, et al. // *J. Immunol.* – 2010. – Vol. 185. – P. 1037–1044.
19. Inflammatory T cell responses rely on amino acid transporter ASCT2 facilitation of glutamine uptake and mTORC1 kinase activation / M. Nakaya, Y. Xiao, X. Zhou, et al. // *Immunity*. – 2014. – Vol. 40. – P. 692–705.
20. Metabolism via arginase or nitric oxide synthase: two competing arginine pathways in macrophages / M. Rath, I. Muller, P. Kropf, et al. // *Front. Immunol.* – 2014. – Vol. 5. – P. 532.
21. T cell metabolism drives immunity / M.D. Buck, D. O’Sullivan, E.L. Pearce // *J Exp Med*. – 2015. – Vol. 212(9). – P. 1345–60.
22. Regulators of Glucose Metabolism in CD4+ and CD8+ T Cells / C.S. Palmer, T. Hussain, G. Duette, et al. // *Int Rev Immunol.* – 2016. – Vol. 35. – P. 477–488.
23. Cutting edge: distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4+ T cell subsets / R.D. Michalek, V.A. Gerriets, S.R. Jacobs, et al. // *J Immunol.* – 2011. – Vol. 186(6). – P. 3299–303.
24. Basu S. Foxp3-mediated inhibition of Akt inhibits Glut1 (glucose transporter 1) expression in human T regulatory cells / S. Basu, B. Hubbard, E.M. Shevach // *J Leukoc Biol.* – 2015. – Vol. 97(2). – P. 279–83.
25. mTORC1 and mTORC2 selectively regulate CD8+ T cell differentiation / K.N. Pollizzi, C.H. Patel, I.H. Sun, et al. // *J Clin Invest.* – 2015. – Vol. 125(5). – P. 2090–108.
26. Hardie D.G. AMPK: regulating energy balance at the cellular and whole body levels / D.G. Hardie, M.L. Ashford // *Physiology (Bethesda)*. – 2014. – Vol. 29(2). – P. 99–107.
27. Chapman N.M. TOR signaling, Tregs and immune modulation / N.M. Chapman, H. Chi // *Immunotherapy*. – 2014. – Vol. 6(12). – P. 1295–311.
28. Путилин Д.А. Изменения уровня экспрессии генов GLUT1, МTOR и AMPK1 $\alpha$  лимфоцитами панкреатических лимфатических узлов крыс при экспериментальном сахарном диабете / Д.А. Путилин, А.М. Камышный // *Медицинская иммунология*. – 2016. – Т. 18. – №4. – С. 339–346.
29. Putilin D.A. Features of immune metabolism of lymphocytes in pancreatic lymph nodes during experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus and after introduction of metformin / D.A. Putilin, A.M. Kamyshny // *Морфология*. – 2016. – Т. 10. – №2. – С. 61–68.

**References**

1. Palmer, C. S., Cherry, C. L., Sada-Ovalle, I., Singh, A., & Crowe, S. M. (2016). Glucose Metabolism in T Cells and Monocytes. *New Perspectives in HIV Pathogenesis. EBioMedicine*, 6, 31–41. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.02.012.
2. O’Neill, L. A., & Pearce, E. J. (2016). Immunometabolism governs dendritic cell and macrophage function. *J Exp Med.*, 213(1), 15–23. doi: 10.1084/jem.20151570.
3. Michalek, R. D., Gerriets, V. A., Jacobs, S. R., Macintyre, A. N., MacIver, N. J., Mason, E. F., et al. (2011). Cutting edge: distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4+ T cell subsets. *J. Immunol*, 186, 3299–3303. doi: 10.4049/jimmunol.1003613.
4. Gubser, P. M., Bantug, G. R., Razik, L., Fischer, M., Dimeloe, S., Hoenger, G., et al. (2013). Rapid effector function of memory CD8+ T cells requires an immediate-early glycolytic switch. *Nat. Immunol.*, 14, 1064–1072. doi: 10.1038/ni.2687.
5. Wei, J., Long, L., Yang, K., Guy, C., Shrestha, S., Chen, Z., et al. (2016). Autophagy enforces functional integrity of regulatory T cells by coupling environmental cues and metabolic homeostasis. *Nat. Immunol.*, 17, 277–285. doi: 10.1038/ni.3365.
6. Tannahill, G. M., Curtis, A. M., Adamik, J., Palsson-McDermott, E. M., McGettrick, A. F., Goel, G., et al. (2013). Succinate is an inflammatory signal that induces IL 1 $\beta$  through HIF 1 $\alpha$ . *Nature.*, 496, 238–242. doi: 10.1038/nature11986.
7. Huynh, A., DuPage, M., Priyadharshini, B., Sage, P. T., Quiros, J., Borges, C. M., et al. (2015). Control of PI(3) kinase in Treg cells maintains homeostasis and lineage stability. *Nat. Immunol.*, 16, 188–196. doi: 10.1038/ni.3077.
8. Newton, R., Priyadharshini, B., & Turka, L. A. (2016). Immunometabolism of regulatory T cells. *Nat Immunol.*, 17(6), 618–25. doi: 10.1038/ni.3466.
9. Chang, C. H., Curtis, J. D., Maggi, L. B. Jr., Faubert, B., Villarino, A. V., O’Sullivan, D., et al. (2013). Posttranscriptional control of T cell effector function by aerobic glycolysis. *Cell*, 153, 1239–1251. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.016.
10. O’Sullivan, D., van der Windt, G. J., Huang, S. C., Curtis, J. D., Chang, C. H., Buck, M. D. et al. (2014). Memory CD8+ T cells use cell-intrinsic lipolysis to support the metabolic programming necessary for development. *Immunity*, 41, 75–88. doi: 10.1016/j.immuni.2014.06.005.



11. Michelucci, A., Cordes, T., Ghelfi, J., Pailot, A., Reiling, N., Goldmann, O., et al. (2013). Immune-responsive gene 1 protein links metabolism to immunity by catalyzing itaconic acid production. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 110, 7820–7825. doi: 10.1073/pnas.1218599110.
12. Everts, B., Amiel, E., Huang, S. C., Smith, A. M., Chang, C. H., Lam, W. Y., et al. (2014). TLR-driven early glycolytic reprogramming via the kinases TBK1 IKKε supports the anabolic demands of dendritic cell activation. *Nat. Immunol.*, 15, 323–332. doi: 10.1038/ni.2833.
13. Haschemi, A., Kosma, P., Gille, L., Evans, C. R., Burant, C. F., Starkl, P., et al. (2012). The sedoheptulose kinase CARKL directs macrophage polarization through control of glucose metabolism. *Cell Metab.*, 15, 813–826. doi: 10.1016/j.cmet.2012.04.023.
14. Gerriets, V. A., Kishton, R. J., Nichols, A. G., Macintyre, A. N., Inoue, M., Ilkayeva, O., et al. (2015). Metabolic programming and PDHK1 control CD4+ T cell subsets and inflammation. *J. Clin. Invest.*, 125, 194–207. doi: 10.1172/JCI176012.
15. Feingold, K. R., Shigenaga, J. K., Kazemi, M. R., McDonald, C. M., Patzek, S. M., Cross, A. S., et al. (2012). Mechanisms of triglyceride accumulation in activated macrophages. *J. Leukoc. Biol.*, 92, 829–839. doi: 10.1189/jlb.1111537.
16. Lee, J., Walsh, M. C., Hoehn, K. L., James, D. E., Wherry, E. J., Choi, Y. (2014). Regulator of fatty acid metabolism, acetyl coenzyme a carboxylase 1, controls T cell immunity. *J. Immunol.*, 192, 3190–3199. doi: 10.4049/jimmunol.1302985.
17. Berod, L., Friedrich, C., Nandan, A., Freitag, J., Hagemann, S., Harms, K. (2014). De novo fatty acid synthesis controls the fate between regulatory T and T helper 17 cells. *Nat. Med.*, 20, 1327–1333. doi: 10.1038/nm.3704.
18. Carr, E. L., Kelman, A., Wu, G. S., Gopaul, R., Senkevitch, E., Aghvanyan, A., et al. (2010). Glutamine uptake and metabolism are coordinately regulated by ERK/MAPK during T lymphocyte activation. *J. Immunol.*, 185, 1037–1044. doi: 10.4049/jimmunol.0903586.
19. Nakaya, M., Xiao, Y., Zhou, X., Chang, J. H., Chang, M., Cheng, X., et al. (2014). Inflammatory T cell responses rely on amino acid transporter ASCT2 facilitation of glutamine uptake and mTORC1 kinase activation. *Immunity*, 40, 692–705. doi: 10.1016/j.immuni.2014.04.007.
20. Rath, M., Muller, I., Kropf, P., Closs, E. I. & Munder, M. (2014). Metabolism via arginase or nitric oxide synthase: two competing arginine pathways in macrophages. *Front. Immunol.*, 5, 532. doi: 10.3389/fimmu.2014.00532.
21. Buck, M. D., O'Sullivan, D., & Pearce, E. L. (2015). T cell metabolism drives immunity. *J. Exp. Med.*, 212(9), 1345–60. doi: 10.1084/jem.20151159.
22. Palmer, C. S., Hussain, T., Duette, G., Weller, T. J., Ostrowski, M., Sada-Ovalle, I., & Crowe, S.M. (2016). Regulators of Glucose Metabolism in CD4+ and CD8+ T Cells. *Int Rev Immunol.*, 35, 477–488.
23. Michalek, R. D., Gerriets, V. A., Jacobs, S. R., Macintyre, A. N., MacIver, N. J., Mason, E. F., et al (2011). Cutting edge: distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4+ T cell subsets. *J Immunol*, 186(6), 3299–303. doi: 10.4049/jimmunol.1003613.
24. Basu, S., Hubbard, B., & Shevach, E. M. (2015). Foxp3-mediated inhibition of Akt inhibits Glut1 (glucose transporter 1) expression in human T regulatory cells. *J Leukoc Biol.*, 97(2), 279–83. doi: 10.1189/jlb.2AB0514-273RR.
25. Pollizzi, K. N., Patel, C. H., Sun, I. H., Oh, M. H., Waickman, A. T., Wen, J., et al. (2015). mTORC1 and mTORC2 selectively regulate CD8+ T cell differentiation. *J Clin Invest.*, 125(5), 2090–108. doi: 10.1172/JCI77746.
26. Hardie, D. G., & Ashford, M. L. (2014). AMPK: regulating energy balance at the cellular and whole body levels. *Physiology (Bethesda)*, 29(2), 99–107. doi: 10.1152/physiol.00050.2013.
27. Chapman, N. M., & Chi, H. (2014). mTOR signaling, Tregs and immune modulation. *Immunotherapy*, 6(12), 1295–311. doi: 10.2217/imt.14.84.
28. Putilin, D. A., & Kamyshnyi, A. M. (2016). Zmennyia urovnya e'kspresii genov GLUT1, MTOR i AMPK1a limfocytami pankreaticheskikh limfaticeskikh uzlov krysy pri e'ksperimental'nom sakharnom diabete. [Changes of Glut1, mTOR AND AMPK1a gene expression in pancreatic lymph node lymphocytes of rats with experimental diabetes mellitus]. *Medicinskaya immunologiya*, 18(4), 339–346. [in Russian] doi: http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2016-4-339-346.
29. Putilin, D. A., & Kamyshnyi, A. M. (2016). Features of immune metabolism of lymphocytes in pancreatic lymph nodes during experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus and after introduction of metformin. *Morfologiya*, 10(2), 61–68. [in Ukrainian].

#### **Відомості про авторів:**

Камишний О. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Путілін Д. А., асистент каф. нормальної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна, E-mail: des.doctor@mail.ru.

Сухомлінова І. Є., канд. мед. наук, доцент каф. нормальної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Камишна В. А., канд. мед. наук, доцент каф. анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

#### **Сведения об авторах:**

Камышный А. М., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Путилин Д. А., ассистент каф. нормальной физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина, E-mail: des.doctor@mail.ru.

Сухомлинова И. Е., канд. мед. наук, доцент каф. нормальной физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Камышная В. А., канд. мед. наук, доцент каф. анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

#### **Information about authors:**

Kamyshnyi A. M., MD, PhD, DSci, Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Zaporizhzhia State Medical University.

Putilin D. A., Assistant of the Department of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, E-mail: des.doctor@mail.ru.

Sukhomlinova I. Ye., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical University.

Kamyshnaya V. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Human Anatomy, Operative Surgery and Topographic Anatomy, Zaporizhzhia State Medical University.