Актуальные направления современной иммунологии

© Будихина А.С., Пащенко М.В., 2021

Будихина А.С., Пащенко М.В.

Роль гликолиза в иммунном ответе

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, 115522, г. Москва, Российская Федерация

Резюме

При активации клеток иммунной системы происходит их метаболическое репрограммирование – масштабная перестройка метаболизма, направленная на обеспечение возросших потребностей клеток в энергии и строительном материале для построения белков, липидов, нуклеиновых кислот. Одним из наиболее важных метаболических путей в клетке является гликолиз. В обзоре представлены данные о роли гликолиза и отдельных ферментов гликолиза во врожденном и адаптивном иммунном ответе. Рассматривается возможность воздействия на характер иммунного ответа через модуляцию метаболизма клеток иммунной системы, в частности гликолиза.

Ключевые слова: гликолиз; врожденный иммунный ответ; адаптивный иммунный ответ; гексокиназа; пируваткиназа; 2-дезоксид-глюкоза; макрофаги; цитокины

Поступила 07.11.2020. Принята в печать 16.12.2020.

Для цитирования: Будихина А.С., Пащенко М.В. Роль гликолиза в иммунном ответе. Иммунология. 2021; 42 (1): 5–20. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-1-5-20>

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 16-15-10314.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции
Пащенко Михаил Владимирович –
доктор медицинских наук,
и.о. заведующего лабораторией
клинической иммунологии
ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии»
ФМБА России, Москва,
Российская Федерация
E-mail: mvpashenkov@yandex.ru
<http://orcid.org/0000-0002-6995-1790>

Budikhina A.S., Pashenkov M.V.

The role of glycolysis in immune response

National Research Center – Institute of Immunology of the Federal Medical-Biological Agency, 115522, Moscow, Russian Federation

Abstract

Activation of immune system's cells is accompanied by metabolic reprogramming, i.e. profound rearrangement of cellular metabolism aimed at fulfillment of increased demands for energy and building blocks for the synthesis of proteins, lipids and nucleic acids. One of the most important metabolic pathways in the cell is glycolysis. In this review, we present data about the role of glycolysis and particular glycolytic enzymes in innate and adaptive immune response. We also consider the possibility to modulate immune response by altering metabolism of cells of the immune system, in particular glycolysis.

Keywords: glycolysis; innate immune response; adaptive immune response; hexokinase; pyruvate kinase; 2-deoxy-D-glucose; macrophages; cytokines

Received 07.11.2020. Accepted 16.12.2020.

For citation: Budikhina A.S., Pashenkov M.V. The role of glycolysis in immune response. Immunologiya. 2021; 42 (1): 5–20. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-1-5-20> (in Russian)

Funding. The work was supported by the Russian Science Foundation grant No. 16-15-10314.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

For correspondence
Mikhail V. Pashenkov – MD, PhD,
Acting Head of the Laboratory
of Clinical Immunology,
NRC Institute of Immunology
FMBA of Russia,
Moscow, Russian Federation
E-mail: mvpashenkov@yandex.ru
<http://orcid.org/0000-0002-6995-1790>

1. Введение

В клетках иммунной системы, как и в любых других клетках, протекает обмен веществ, лежащий в основе всех остальных биологических процессов. Совокупность обменных процессов, влияющая на функцию клеток иммунной системы, называется иммунометаболизмом.

Активация различных типов клеток иммунной системы, как правило, требует резкого увеличения анаболизма. Так, для выработки регуляторных и эффекторных белковых молекул (цитокинов, антител, антимикробных белков и пептидов) необходимо возрастание синтеза белка, усиление синтеза фосфолипидов для увели-

чения размеров эндоплазматического ретикулула, где синтезируются белки, а также повышение синтеза нуклеотидов для построения мРНК, служащей матрицей для производства белков. Те же процессы плюс синтез ДНК необходимы для пролиферации активированных клеток адаптивной иммунной системы. Для успешного фагоцитоза требуется увеличение синтеза фосфолипидов для восполнения потерь поверхностных клеточных мембран. Для всех этих процессов необходимы определенные исходные метаболиты, определенные ферменты, во многих случаях – специализированные органеллы, а также энергия в виде АТФ, получаемая в результате процессов катаболизма. Таким образом, параметры метаболизма клеток иммунной системы не являются раз и навсегда заданными, а меняются в ходе активации клеток. Перестройки метаболизма, происходящие при переходе клеток с одного уровня активации на другой, получили название «метаболическое репрограммирование».

Несмотря на очевидно важную роль метаболизма в развитии иммунного ответа, до недавнего времени эта область иммунологии вызывала лишь ограниченный интерес [1]. Всплеск работ по взаимоотношениям метаболизма и иммунного ответа произошел в последние 5–10 лет, что во многом обусловлено развитием технологий масс-спектрометрии, позволяющих одновременно измерять уровни десятков и сотен метаболитов в клетках, а также технологий измерения метаболизма в живых клетках в реальном времени. Обнаружилось, что метаболические процессы не просто поддерживают жизнедеятельность клеток иммунной системы, но тесно связаны с конкретными характеристиками иммунного ответа [2, 3]. Разные типы активации одних и тех же клеток иммунной системы характеризуются разными типами метаболизма. Например, покоящиеся макрофаги в качестве основного источника энергии используют окислительное фосфорилирование (ОФ); при активации макрофагов по провоспалительному М1-типу значительно усиливается гликолиз; при активации по противовоспалительному М2-типу возрастают β -окисление жирных кислот (ОЖК) и глутаминолиз [2, 4, 5], в меньшей степени гликолиз [6]. Данные по взаимосвязям метаболизма и иммунного ответа допускают две трактовки. Первая подразумевает, что перестройки метаболизма играют в активации клеток иммунной системы лишь обеспечивающую роль и являются следствием программ активации и дифференцировки, которые определяются другими факторами, например сигналами от паттерн-распознающих, антигенных или цитокиновых рецепторов. Согласно другой интерпретации, метаболические процессы могут сами влиять на направление активации и дифференцировки клеток иммунной системы [7, 8]. Различить эти два варианта событий в эксперименте не всегда возможно. Однако оба варианта допускают возможность воздействовать на параметры иммунного ответа путем воздействия на метаболизм клеток иммунной системы, что привлекает большой интерес.

Выделяют несколько основных метаболических путей: гликолиз, цикл трикарбоновых кислот, окислительное фосфорилирование, пентозофосфатный путь, окисление и синтез жирных кислот, метаболизм аминокислот [1]. Все они тесно связаны между собой, при этом каждый играет уникальную роль в иммунном ответе и регулируется определенными внутриклеточными сигнальными путями. В данном обзоре мы рассмотрим роль одного из основных метаболических путей – гликолиза – в функционировании клеток иммунной системы. В завершение будут рассмотрены возможности терапевтического применения модуляторов гликолиза для лечения заболеваний, связанных с дисфункцией иммунной системы.

2. Общая характеристика гликолиза

Гликолиз – это каскад из 10 биохимических реакций, в результате которых одна молекула глюкозы расщепляется до двух молекул пирувата; при этом расходуются две молекулы окисленного никотинамиддинуклеотида (NAD^+) и образуются две молекулы восстановленного никотинамиддинуклеотида (NADH) и две молекулы АТФ (рис. 1).

Поддержание непрерывности гликолиза (*glycolytic flux*) критически зависит от регенерации NAD^+ . Обратное превращение NADH в NAD^+ может происходить двумя путями: в анаэробных условиях – в реакции восстановления пирувата до молочной кислоты (лактата) под действием лактатдегидрогеназы, в аэробных условиях и при нормальной функции митохондрий – путем отдачи электронов в митохондриальную дыхательную цепь.

Гликолиз тесно связан с клеточным дыханием. Конечный продукт гликолиза – пируват – в аэробных условиях подвергается окислительному декарбоксилированию с образованием ацетил-коэнзима А (ацетил-КоА), CO_2 и NADH . Ацетил-КоА далее метаболизируется в цикле Кребса, а молекулы NADH и FADH_2 , образовавшиеся при окислении субстратов, вовлекаются в процесс ОФ, доставляя электроны от субстратов в цепь транспорта электронов на внутренней мембране митохондрий. В процессе транспорта электронов на молекулы кислорода формируется протонный градиент между митохондриальным матриксом и межмембранным пространством, необходимый для работы митохондриальной АТФ-синтазы. В ходе ОФ синтезируются 30–36 молекул АТФ на 1 молекулу глюкозы, что в 15–18 раз превышает удельный синтез АТФ в гликолизе.

3. Аэробный гликолиз (эффект Варбурга)

Реакции гликолиза не требуют присутствия кислорода. Под термином «аэробный гликолиз» понимают такой тип метаболизма, при котором, несмотря на благоприятные условия для ОФ (достаточное поступление кислорода в клетку, наличие функционирующих митохондрий), существенная часть клеточной АТФ образуется в гликолитическом каскаде, а регенерация NAD^+

Рис. 1. Гликолиз, его связи с другими метаболическими путями и регуляцией иммунного ответа

Серым цветом в рамке выделены метаболиты гликолитического каскада, двойной рамкой – другие пути метаболизма, серым цветом – участие ферментов и метаболитов гликолиза в регуляции иммунного ответа. * ТФИ – триозофосфатизомераза. (Детальные пояснения см. в тексте.)

осуществляется преимущественно путем превращения пирувата в лактат, что ведет к интенсивной секреции лактата. Данный тип метаболизма вначале был обнаружен у опухолевых клеток (в 20-е годы XX в.) и был назван «эффект Варбурга» в честь первооткрывателя, немецкого биохимика Отто Варбурга [9]. В последующем выяснилось, что аэробный гликолиз характерен также для активированных клеток иммунной системы [2, 10–13]. Хотя гликолиз, в отличие от ОФ, позволяет использовать лишь малую часть внутренней энергии молекул глюкозы, предполагается, что гликолитический

тип метаболизма дает клеткам другие преимущества, которые могут быть обусловлены перечисленными ниже функциями гликолиза [1, 9].

3.1. Энергетическая функция

Реакции гликолиза протекают в 10–100 раз быстрее, чем реакции ОФ [9], что позволяет генерировать больше молекул АТФ за единицу времени, чем при ОФ, несмотря на низкую энергоэффективность. «Гликолитическая» АТФ доступнее, чем митохондриальная АТФ, так как образуется непосредственно в цитозоле, где на-

ходятся ее основные потребители. Возросшие энергетические потребности активированной клетки гораздо быстрее и проще обеспечиваются путем усиления гликолиза (с помощью аллостерической регуляции уже наработанных ферментов гликолиза и/или повышения экспрессии генов, кодирующих ферменты гликолиза), чем путем усиления ОФ (необходимо образование новых митохондрий) [9, 14]. Наконец, переход на гликолиз в аэробных условиях подготавливает клетки иммунной системы к возможному попаданию в условия гипоксии, имеющие место в очагах воспаления. Гликолиз – единственный процесс, позволяющий получать АТФ независимо от ОФ, тогда как другие катаболические процессы (ОЖК, глутаминолиз) не генерируют АТФ самостоятельно, а поддерживают ОФ, поставляя электроны в митохондриальную дыхательную цепь.

3.2. Биосинтетическая функция

Гликолиз вместе со своими «ответвлениями» генерирует углеродный «скелет» и доноры электронов для биосинтетических процессов [15–17]. Функция гликолиза как поставщика углерода реализуется в первую очередь через окислительное декарбоксилирование пирувата до ацетил-КоА, который является исходным метаболитом для синтеза жирных кислот и далее липидов, а также питает цикл Кребса, из которого изымаются метаболиты на построение аминокислот (см. рис. 1). Кроме того, глюкозо-6-фосфат – первый промежуточный метаболит гликолиза – является исходным метаболитом пентозофосфатного пути (ПФП), который необходим для синтеза пентоз, идущих на построение нуклеотидов. Также в ходе ПФП образуется восстановленный NADPH, который служит донором электронов при биосинтезе жирных кислот. 3-фосфоглицерат – продукт 7-й реакции гликолиза, может конвертироваться в серин, который идет на биосинтез ряда других аминокислот, а также азотистых оснований. Пируват может конвертироваться в аланин.

Следует учитывать, что для поддержания непрерывности гликолиза необходима регенерация NAD^+ , который расходуется в 6-й реакции гликолиза (см. рис. 1). Если регенерация NAD^+ происходит только путем восстановления пирувата до лактата, то все продукты 6-й и последующих реакций гликолиза должны пойти на образование лактата, который экскретируется клеткой, т. е. не включается в биосинтетические процессы. Отсюда следует, что биосинтетическая функция гликолиза может в полной мере реализоваться только в аэробных условиях, когда существуют другие возможности регенерации NAD^+ , помимо образования лактата [9].

3.3. Сигнальные функции и регуляция экспрессии генов

Участие гликолиза в сигнальных процессах может реализовываться, например, через ПФП, в ходе которого образуется NADPH, являющийся донором электронов для NADPH-оксидаз. Активные формы кислорода, генерируемые этой группой ферментов, играют важную роль в так называемой редокс-сигналикации [18]. Также

NADPH служит донором электронов для восстановления глутатиона – одного из важнейших клеточных антиоксидантов. При интенсивном гликолизе возрастает митохондриальный мембранный потенциал, что является причиной обратного транспорта электронов и повышенного образования митохондриальных активных форм кислорода, тоже участвующих во внутриклеточных сигнальных процессах [19].

Кроме того, гликолиз может влиять на активацию и дифференцировку клеток через эпигенетические механизмы [5, 9, 20, 21]. В частности, ацетил-КоА, образующийся в реакции декарбоксилирования пирувата, необходим для ацетилирования различных белков, регулирующих экспрессию генов, в первую очередь гистонов и некоторых факторов транскрипции [21]. Ацетилирование гистонов приводит к усилению транскрипции генов и является одним из важнейших эпигенетических механизмов, регулирующих в том числе экспрессию провоспалительных цитокинов [20]. Кроме того, некоторые ферменты гликолиза могут непосредственно регулировать экспрессию генов и продукцию белков, участвующих в иммунном ответе (см. ниже).

3.4. Микробицидная функция

Участие гликолиза в антимикробных эффекторных механизмах может реализовываться многочисленными способами: 1) через биосинтетическую функцию (генерация АТФ и предшественников аминокислот для синтеза антимикробных белков и пептидов; генерация предшественников фосфолипидов для восполнения потерь поверхностной мембраны в процессе фагоцитоза и т. д.); 2) через ПФП, обеспечивающий продукцию микробицидных активных форм кислорода NADPH-оксидазами; 3) через подпитывание цикла Кребса, один из метаболитов которого – *цис*-аконитат, может превращаться в мощное антимикробное соединение – итаконат [22].

4. Изменения гликолиза при активации клеток врожденного и адаптивного иммунитета

Клетки врожденной иммунной системы распознают микробы с помощью паттерн-распознающих рецепторов (ПРР), которые расположены на поверхностных и эндосомальных мембранах (например, Toll-подобные рецепторы [TLR]), а также в цитозоле (например, NOD-подобные рецепторы [NLR]) [23, 24]. Агонистами ПРР являются консервативные структуры микробов – патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (ПАМП). В результате связывания ПАМП с ПРР происходит активация ряда сигнальных каскадов (NF- κ B-зависимого, MAP-киназного и др.), обеспечивающих экспрессию генов иммунного ответа. Кульминацией врожденного иммунного ответа является развитие воспаления.

Агонисты ПРР и в особенности сочетания агонистов ПРР с интерфероном- γ (ИФН- γ) активируют макрофаги по M1-типу, который характеризуется интенсивной продукцией провоспалительных цитокинов, активных форм кислорода и азота, высокой внутриклеточной

бактерицидностью, а также интенсивным гликолизом [25, 26]. В базальном состоянии основным источником энергии для макрофагов служит ОФ [5]. В культурах макрофагов мыши и человека уже через 10 мин после добавления агонистов ПРР возрастает скорость закисления внеклеточной среды с выходом на максимум примерно к 60-й минуте [27–30]. Повышение скорости закисления среды обусловлено ростом секреции лактата вследствие усиления гликолиза и блокируется ингибиторами гликолиза, такими как 2-дезоксид-D-глюкоза (2-ДГ) [30, 31]. Наряду с этим в М1-макрофагах возрастает потребление глюкозы, повышаются внутриклеточные концентрации промежуточных метаболитов гликолиза [2, 4, 27, 29, 32–35]. Таким образом, под действием агонистов ПРР макрофаги довольно быстро – в течение десятков минут – переходят на гликолитический тип метаболизма. Интерлейкин (ИЛ)-10, который подавляет активацию макрофагов по М1-типу, также подавляет гликолиз в макрофагах [36].

В отличие от агонистов ПРР и ИФН- γ , ИЛ-4 активирует макрофаги по М2-типу [26]. М2-макрофаги обладают противовоспалительными свойствами и способствуют регенерации тканей. В М2-макрофагах гликолиз тоже усилен по сравнению с покоящимися макрофагами, но в меньшей степени, чем в М1-макрофагах [6]. Однако эти данные показывают, что усиление гликолиза не является исключительной чертой М1-активации.

При ЛПС-индуцированной активации дендритных клеток (ДК) мыши, полученных из костномозговых предшественников путем культивирования с ГМ-КСФ, также отмечено быстрое усиление гликолиза [31]. Однако культуры ДК, полученные таким способом, содержат значительную примесь макрофагоподобных клеток [37]. У ДК, полученных из моноцитов человека в присутствии ГМ-КСФ и ИЛ-4, агонисты TLR и NOD-подобных рецепторов вызывают довольно незначительное повышение гликолиза по сравнению с макрофагами, полученными от тех же доноров [38]. Усиление гликолиза отмечено также в моноцитах, активированных агонистами ПРР [20].

В М1-макрофагах мыши, активированных липополисахаридом (ЛПС) + ИФН- γ , а также в ДК мыши, активированных ЛПС, наряду с усилением гликолиза отмечено угнетение ОФ. Это обусловлено, в частности, подавлением активности II комплекса дыхательной цепи (сукцинатдегидрогеназы), а также ингибированием различных компонентов дыхательной цепи активными формами азота, образующимися в результате активности NO-синтазы [2, 39, 40]. В то же время в макрофагах и ДК человека, активированных ЛПС и агонистами NOD-рецепторов, не происходит существенного подавления ОФ [30], что позволяет более эффективно использовать метаболические преимущества, которые предоставляет усиленный гликолиз (см. выше).

Схожая картина наблюдается и в адаптивной иммунной системе. В покоящихся Т-клетках интенсивность гликолиза невелика, их энергетические потребности обеспечивает ОФ. Гликолиз значительно усиливается

в активированных CD4⁺-Т-клетках (в особенности в Th17-клетках, но также в Th1- и Th2-клетках) [7, 12, 41], в CD8⁺-Т-клетках [42], В-клетках [13]. Интересно, что CD8⁺-Т-клетки памяти при активации быстрее переключаются на гликолитический тип метаболизма, чем наивные CD8⁺-Т-клетки [42]. Напротив, в индуцибельных Трег-клетках интенсивность гликолиза сравнительно невелика (хотя и выше, чем в наивных Т-клетках), при этом Трег-клетки используют в качестве основного источника энергии ОЖК [12, 43].

В целом аэробное усиление гликолиза представляет собой довольно стереотипный ответ клеток иммунной системы на различные активирующие воздействия, однако провоспалительные стимулы являются более мощными активаторами гликолиза.

5. Регуляция гликолиза в клетках врожденного и адаптивного иммунитета

Возрастание интенсивности гликолиза при активации клеток иммунной системы может осуществляться как минимум двумя способами: 1) с помощью «быстрых» механизмов, не требующих синтеза белка *de novo* (путем аллостерической активации уже имеющихся ферментов гликолиза, их фосфорилирования и внутриклеточного перераспределения); 2) с помощью «медленных» механизмов (путем увеличения транскрипции генов, кодирующих ферменты гликолиза).

5.1. Механизмы, не зависящие от транскрипции

Возрастание гликолиза в первые десятки минут после начала стимуляции является результатом «быстрых» механизмов.

5.1.1. Регуляция на уровне гексокиназы и транспортеров глюкозы. Роль протеинкиназы Akt

Глюкоза доставляется из внеклеточной среды в цитозоль клеток иммунной системы главным образом с помощью белка GLUT1 из семейства транспортеров глюкозы [34, 35, 44]. В клетке глюкоза быстро фосфорилируется гексокиназой (1-й фермент гликолитического каскада) (см. рис. 1, 2) с образованием глюкозо-6-фосфата, что препятствует выходу глюкозы из клетки. В организме существует четыре изоформы гексокиназ (HK1, HK2, HK3 и HK4), из которых в клетках иммунной системы экспрессируются первые три [45].

В отличие от остальных ферментов гликолиза, которые функционируют в этом качестве исключительно в цитозоле, гексокиназы могут находиться как в цитозоле, так и на наружной мембране митохондрий [46, 47], причем связывание с митохондриями является условием для их оптимальной ферментативной активности (предполагают, что в этом случае гексокиназы получают доступ к митохондриальному АТФ, что облегчает фосфорилирование глюкозы) [47, 48]. На N-конце молекул HK1 и HK2 присутствует аминокислотный мотив, отвечающий за связывание с потенциал-зависимым ионным каналом VDAC1 на внешней мембране митохондрий [48]. HK1 связана с митохондриями конститутивно, тогда как HK2 распределена между мито-

Рис. 2. Регуляция гликолиза в клетках врожденного иммунитета

Сплошными стрелками указаны активационные воздействия, пунктирными стрелками – изменения состояния, ⊥ – ингибирующие воздействия. (Детальные пояснения и расшифровка сокращений см. в тексте.)

хондриями и цитозолем, причем соотношение свободной и связанной с митохондриями HK2 меняется при активации клетки, а также при изменениях поступления глюкозы в клетку [47, 48]. Перераспределение HK2 позволяет регулировать интенсивность гликолиза.

Ключевую роль в регуляции гликолиза через активность HK2 играет серин-треониновая киназа Akt (протеинкиназа B). Существуют три isoформы этого фермента, несколько различающиеся по своим биологическим функциям [49]. Сигнальный путь, приводящий к активации Akt, начинается с активации фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K), которая взаимодействует с активационными YXXM-мотивами PRR или их сигнальных адаптеров [50]. В Т-клетках для активации этого сигнального пути необходимо одновременное перекрестное связывание Т-клеточного рецептора и костимуляторного рецептора CD28 [42]. Также

PI3K активируется при перекрестном связывании В-клеточного рецептора [13]. PI3K создает на внутренней поверхности клеточной мембраны сайты для закрепления Akt и протеинкиназы PDK1, в результате чего PDK1 сближается с Akt и фосфорилирует ее по остатку треонина-308 [51]. Для полной активации Akt необходимо ее дополнительное фосфорилирование по серину-473, которое осуществляется ферментным комплексом mTORC2 [49] и некоторыми другими киназами, участвующими в передаче сигнала от PRR, такими как TBK-1 и IKKε [31].

Akt фосфорилирует HK2 по треонину-473, что способствует связыванию HK2 с митохондриями [52] и приводит к быстрому возрастанию гликолиза при стимуляции агонистами PRR [31] (по другим данным, это фосфорилирование препятствует отсоединению HK2 от митохондрий в присутствии высоких концентраций

глюкозо-6-фосфата [47]). Также Akt вызывает перераспределение GLUT1 на поверхностную мембрану клеток, что дополнительно усиливает гликолиз [53]. Ингибирование Akt, а также принудительное отсоединение HK2 от митохондрий с помощью пептидного антагониста приводит к подавлению базальной гликолитической активности макрофагов и ДК и полностью исключает усиление гликолиза при активации [30, 31, 52]. Следует отметить, что Akt участвует не только в быстрых, но и в медленных (транскрипционных) механизмах регуляции гликолиза через сигнальный путь Akt – mTORC1 – HIF1 (см. ниже).

5.1.2. Аллостерическая регуляция фосфофруктокиназы-1

Фосфофруктокиназа-1 (ФФК-1) – 3-й фермент гликолиза, катализирует превращение фруктозо-6-фосфата во фруктозо-1,6-бисфосфат. Активность этого фермента аллостерически ингибируется АТФ. Параллельно фермент ФФК-2, не относящийся к основному гликолитическому каскаду, превращает фруктозо-6-фосфат во фруктозо-2,6-бисфосфат (см. рис. 1). Последний является мощным аллостерическим активатором ФФК-1. Данный механизм ускоряет переработку глюкозы при ее высокой концентрации в клетке. Если возникает дефицит АТФ (например, при гипоксии), то уменьшается ингибирующее действие АТФ на ФФК-1, а также снижается соотношение уровня АТФ к уровням АДФ и АМФ. На это изменение реагирует АМФ-активируемая киназа (АМРК), которая активирует ФФК-2 путем ее фосфорилирования по серину-461 или -466 (в зависимости от изоформы ФФК-2) [54]. При помещении моноцитов в условия гипоксии этот механизм в течение часа приводит к повышению уровня фруктозо-2,6-бисфосфата и компенсаторному приросту гликолиза [54]. При стимуляции моноцитов или макрофагов ЛПС активность ФФК-2 тоже повышается, но это связано с повышением экспрессии отдельных изоформ ФФК-2 (см. ниже) [54, 55].

5.2. Транскрипционная регуляция гликолиза

Долгосрочное усиление гликолиза, наблюдаемое при активации клеток врожденной и адаптивной иммунной системы, обусловлено повышением экспрессии ферментов гликолиза, которое обеспечивается взаимодействием нескольких сигнальных путей: NF-κB-зависимого, PI3K-Akt-зависимого, MAP-киназного, HIF-1-зависимого.

5.2.1. HIF-1

Ключевым регулятором экспрессии ферментов гликолиза (HK2, пируваткиназы M2, фосфоглицераткиназы, лактатдегидрогеназы и др.), а также мембранных переносчиков глюкозы является фактор транскрипции HIF-1 (hypoxia-inducible factor-1) [45, 56]. Также HIF-1 регулирует экспрессию индуцибельной изоформы ФФК-2, которая кодируется геном *PFKFB3* [57–59]. Количество самого HIF-1 регулируется на трех уровнях: экспрессия мРНК, синтез белка, стабильность белка (см. рис. 2).

HIF-1 состоит из субъединиц HIF-1α и HIF-1β, из которых первая является индуцибельной, а вторая экспрессируется конститутивно. Экспрессию мРНК HIF-1α индуцируют факторы транскрипции семейства NF-κB [60], которые активируются при стимуляции практически всех сигнальных ППР [61], а также фактор транскрипции STAT3, передающий сигнал от рецепторов ИЛ-6 и ряда других цитокинов [62, 63].

Далее на мРНК HIF-1α синтезируется белок, чему способствует общее увеличение трансляции в активированной клетке. Главным регулятором синтеза белка в клетке является протеинкиназный комплекс mTORC1 (mechanistic target of rapamycin complex 1) [64]. Комплекс mTORC1 интегрирует сигналы от рецепторов ростовых факторов, от сенсоров аминокислот и АТФ, а также от активационных рецепторов иммунной системы [65, 66]. Непосредственными активаторами mTORC1 являются киназы семейства Akt, а также MAP-киназы, IκB-киназа (IKK) и TBK-1 [67–70]. Активированный mTORC1 фосфорилирует протеинкиназу p70 (S6-киназу), которая, в свою очередь, фосфорилирует и активирует рибосомальный белок S6 и фактор инициации трансляции eIF4B. Кроме того, mTORC1 фосфорилирует белок 4EBP1, который в базальном состоянии ингибирует другой фактор инициации трансляции – eIF4E. Фосфорилированный 4EBP1 отделяется от eIF4E, что способствует активации последнего и запуску трансляции. Параллельно MAP-киназа p38, которая является универсальным участником сигнальных путей от ППР, через киназы MNK1 и MNK2 фосфорилирует и дополнительно активирует белок eIF4E [71–73]. В совокупности это приводит к активации трансляции белков, в том числе HIF-1α.

В условиях нормоксии белок HIF-1α гидроксилируется кислород-зависимыми пролингидроксилазами (PHD) по остаткам пролина-402 и -564 [74, 75], после чего немедленно подвергается убиквитинированию и протеасомной деградации [76]. При гипоксии, а также при повышении уровня сукцината и активных форм кислорода в клетке происходит ингибирование PHD, в результате чего уровень белка HIF-1α возрастает [19, 33, 77]. Накопление сукцината в макрофагах, активированных агонистами ППР, происходит вследствие ингибирования сукцинатдегидрогеназы (SDH) – одного из ферментов цикла Кребса и одновременно II комплекса митохондриальной дыхательной цепи [33]. В ППР-активированных макрофагах резко повышается экспрессия фермента аконитатдекарбоксилазы-1 (ACOD1) [2], превращающего *цис*-аконитат (один из метаболитов цикла Кребса) в итаконат, который и является ингибитором SDH [40].

Накапливающийся в клетке белок HIF-1α связывается с белком HIF-1β, количество которого в клетке постоянно. Этот комплекс перемещается в ядро, где связывается с HRE-последовательностями (hypoxia response elements) в промоторах HIF-1-зависимых генов, в том числе генов ферментов гликолиза и лактатдегидроге-

назы, повышая их экспрессию [45, 56]. Таким образом, активация HIF-1-зависимой экспрессии генов является результатом взаимодействия многих сигнальных и метаболических путей в клетке. Данный процесс является многостадийным и требует для своего развития как минимум нескольких часов.

Помимо экспрессии ферментов гликолиза, HIF-1 контролирует экспрессию большого количества других генов, адаптирующих клетки к гипоксии, а также экспрессию некоторых медиаторов воспаления, в частности экспрессию NO-синтазы и позднюю стадию экспрессии ИЛ-1 β в макрофагах [33, 56, 78]. Также HIF-1 необходим для дифференцировки Th17-клеток, так как индуцирует экспрессию ключевого транскрипционного фактора Th17-клеток ROR γ t и совместно с ним активирует экспрессию ИЛ-17 [8]. Таким образом, HIF-1 способствует приобретению клетками иммунной системы воспалительного фенотипа. Кроме того, HIF-1 ингибирует апоптоз и индуцирует аутофагию через повышение экспрессии белков BNIP3 и BNIP3L [79].

5.2.2. HIF-1-независимая транскрипционная регуляция гликолиза

Экспрессия некоторых генов, относящихся к гликолизу, регулируется более быстрыми HIF1-независимыми механизмами [4]. Так, МАП-киназа p38 через киназу МК-2 (МАРКАРК2) активирует фактор транскрипции SRF (serum response factor), который наряду с HIF-1 α регулирует транскрипцию гена *PFKFB3* [80]. Этот механизм приводит к повышению экспрессии индуцибельной изоформы ФФК-2 в течение часа после стимуляции ПРР [30].

Важную роль в активации гликолиза в Т-клетках играет фактор транскрипции (протоонкоген) с-Мус [81]. Для индукции экспрессии с-Мус в Т-лимфоцитах необходимо перекрестное связывание Т-клеточного рецептора и присутствие ИЛ-2 [82]. Активация белка с-Мус происходит путем фосфорилирования МАП-киназой ERK. Белок с-Мус индуцирует экспрессию ферментов гликолиза на ранней стадии активации Т-клеток, HIF-1 – на более поздней стадии и лишь в некоторых субпопуляциях Т-клеток, преимущественно в Th17- и CD8⁺-Т-клетках [8, 83]. В макрофагах с-Мус и HIF-1 играют взаимодополняющую роль: ростовые факторы, такие как М-КСФ, активируют с-Мус-зависимую экспрессию ферментов гликолиза и пролиферацию, тогда как ЛПС подавляет экспрессию с-Мус и пролиферацию, но активирует HIF-1-зависимую экспрессию ферментов гликолиза [84].

6. Роль отдельных ферментов гликолиза в регуляции иммунного ответа

Некоторые ферменты гликолиза непосредственно участвуют в сигнальных процессах, регулирующих активацию клеток иммунной системы. Такими ферментами являются гексокиназа НК2, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, енолаза и пируваткиназа (см. рис. 1).

6.1. НК2 и активация инфламмасом

Особая подгруппа ПРР (NLRP3, AIM2 и др.) отвечает за активацию инфламмасом – мультимолекулярных комплексов, необходимых для процессинга и секреции цитокинов семейства ИЛ-1 [85]. Помимо рецептора, в состав инфламмасом входят белок-адаптер и прокаспазы-1. В инфламмасомах происходит превращение прокаспазы-1 в активную каспазу-1, которая далее конвертирует неактивные процитокины семейства ИЛ-1 в активные секретируемые цитокины [85]. Механизм активации инфламмасом пока не раскрыт; триггером для их активации являются различные виды клеточного стресса [86]. В работе A.J. Wolf и соавт. (2016) сообщалось, что НК2 участвует в активации NLRP3-инфламмасы в макрофагах мыши [87]. Согласно этой работе, различные чужеродные сахара, в том числе N-ацетил-D-глюкозамин (компонент бактериального пептидогликана и его фрагментов – мурамилпептидов) и 2-ДГ, вызывают диссоциацию НК2 от наружной мембраны митохондрий, что и запускает активацию инфламмасы. Хотя механизм, связывающий эти два события, в работе не был установлен, НК2 позиционируется авторами как «врожденный рецептор пептидогликана» [87]. Мы не смогли воспроизвести эти результаты на модели макрофагов человека [30]. Хотя мурамилпептиды, содержащие N-ацетил-D-глюкозамин, являются эффективными индукторами экспрессии про-ИЛ-1 β , они не вызывают существенной секреции ИЛ-1 β макрофагами человека [30, 88], т. е. не активируют инфламмасому. 2-ДГ в концентрации до 50 мМ также не индуцирует значимую секрецию ИЛ-1 β макрофагами человека, активированными ЛПС или мурамилпептидами [30]. Возможно, различия между результатами работы A.J. Wolf и соавт. и нашей работы обусловлены видоспецифичностью свойств НК2.

Кроме того, НК2 участвует в регуляции апоптоза и аутофагии. В молекуле НК2 существует особый мотив, через который она взаимодействует с mTORC1 и ингибирует этот ферментный комплекс, запуская процесс аутофагии в условиях отсутствия глюкозы [48]. НК2, ассоциированная с митохондриями, защищает клетки от апоптотических стимулов. НК2 конкурентно ингибирует связывание проапоптотического фактора Вах с митохондриями и таким образом предотвращает активацию митохондриального пути апоптоза [89].

6.2. Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (GAPDH)

GAPDH находится в цитозоле в виде гомотетрамеров и катализирует 6-ю реакцию гликолиза – превращение глицеральдегид-3-фосфата в 1,3-дифосфоглицерат. Наряду с этим GAPDH выполняет разнообразные функции, напрямую не связанные с гликолизом, в частности может связываться с митохондриями и регулировать митохондриальный путь запуска апоптоза, а также проникать в ядро и модулировать экспрессию генов [90]. С точки зрения иммунного ответа наиболее важно участие GAPDH в посттранскрипционной регуляции экс-

прессии цитокинов, в частности ФНО (в макрофагах) и ИФН- γ (в Т-клетках) [41, 91]. При низкой интенсивности гликолиза GAPDH связывается с аденил/уридил-богатыми участками в 3'-нетранслируемых областях мРНК *TNF* и *IFNG*, что приводит к ингибированию трансляции. При высокой интенсивности гликолиза GAPDH отсоединяется от целевых мРНК, чему способствует высокий уровень субстрата (глицеральдегид-3-фосфата) и кофактора (NAD^+), а также малонилирование GAPDH по остатку лизина-213 [41, 91, 92].

В экспериментах на мышах было показано, что внутрибрюшинное введение очищенной GAPDH за 1,5 ч до внутрибрюшинной инъекции летальной дозы ЛПС приводило к уменьшению летальности, снижению уровней провоспалительных цитокинов (ИФН- γ , ИЛ-6, ФНО) в сыворотке, уменьшению привлечения нейтрофилов в легочную ткань и уменьшению повреждения легкого [93]. Механизм действия внеклеточной экзогенной GAPDH в данной работе остался неясным.

6.3. Енолаза и фосфоенолпируват

Енолаза катализирует 9-ю реакцию гликолиза – превращение 2-фосфоглицерата в фосфоенолпируват. В организме представлена тремя изоферментами; в клетках иммунной системы экспрессируется преимущественно енолаза-1 (ENO1).

Фосфоенолпируват играет важную роль в активации $CD4^+$ - и $CD8^+$ -Т-клеток, в частности способствует поддержанию активности сигнального пути Ca^{2+} – кальмодулин – NFAT (ядерный фактор активированных Т-клеток) [94]. Факторы транскрипции семейства NFAT регулируют экспрессию ключевых эффекторных молекул, таких как ИЛ-2, ИФН- γ и CD40L, в Т-клетках [95]. Стимуляция Т-клеточного рецептора вызывает повышение концентрации ионов Ca^{2+} в цитозоле, что приводит к активации цепочки кальмодулин – кальциневрин – NFAT. Фосфоенолпируват ингибирует кальциевую АТФазу саркоэндоплазматического ретикула (SERCA), предотвращая возврат Ca^{2+} из цитозоля в эндоплазматический ретикулум и продлевая активацию NFAT [94].

В то же время белки NFAT необходимы для индукции экспрессии генов, имеющих отношение к гликолизу, при активации Т-клеток. В $CD8^+$ -Т-клетках с нокаутом одного из генов, кодирующих белки семейства NFAT (NFATc1), снижена экспрессия большинства генов, кодирующих транспортеры глюкозы и ферменты гликолиза [96]. Вероятно, что NFATc1 регулирует экспрессию этих генов не напрямую, а через индукцию ИЛ-2. Добавление экзогенного ИЛ-2 приводит к восстановлению экспрессии ферментов гликолиза [96]. Так или иначе, здесь образуется кольцо положительной обратной связи, в котором фосфоенолпируват поддерживает активацию NFAT, а NFAT через усиление гликолиза поддерживает уровень фосфоенолпирувата.

При малом поступлении в клетку глюкозы и низком уровне фосфоенолпирувата происходит подавление активности сигнального пути Ca^{2+} – NFAT, однако этот

дефект активации Т-клеток может быть скорректирован путем трансгенной экспрессии фосфоенолпируват-карбоксикиназы (PEPCK) – фермента глюконеогенеза, который катализирует образование фосфоенолпирувата из оксалоацетата [94]. Трансгенная экспрессия PEPCK усиливает эффекторные противоопухолевые свойства $CD4^+$ - и $CD8^+$ -Т-клеток [94]. Интересно, что экспрессия PEPCK повышается в ходе естественной активации $CD8^+$ -Т-клеток, и это событие необходимо для успешной дифференцировки $CD8^+$ -Т-клеток памяти [97].

Как и GAPDH, енолаза-1 может транслоцироваться в ядро и регулировать экспрессию генов, что, как и в случае GAPDH, имеет место при низкой интенсивности гликолиза. В частности, при дифференцировке индуцибельных регуляторных Т-клеток (iTreg) из наивных Т-клеток (при субоптимальной стимуляции Т-клеточного рецептора) енолаза-1 контролирует альтернативный сплайсинг мРНК *FoxP3* [98]. По данным V. De Rosa и соавт., гликолиз необходим для дифференцировки iTreg, тогда как ингибирование гликолиза с помощью 2-ДГ приводит к уменьшению супрессорных свойств iTreg [98]. В присутствии 2-ДГ енолаза-1 транслоцируется в ядро, где препятствует образованию сплайс-варианта мРНК *FOXP3* с включением 2-го экзона (именно этот сплайс-вариант обеспечивает дифференцировку Treg). Подавление экспрессии енолазы-1 приводит к восстановлению экспрессии данного сплайс-варианта *FOXP3* [98].

6.4. Пируваткиназа

Пируваткиназа катализирует завершающую реакцию гликолиза, в ходе которой фосфоенолпируват отдает фосфат на молекулу АДФ с образованием пирувата и АТФ. Существуют четыре изоформы пируваткиназы: PKL (печеночная), PKR (эритроцитарная), PKM1 и PKM2 (мышечные), из которых первые две не экспрессируются в клетках иммунной системы. Изоформы M1 и M2 кодируются одним геном (*PKM2*) и образуются путем альтернативного сплайсинга. PKM1, или «взрослая» изоформа, существует в виде гомотетрамеров и является конститутивно активным ферментом гликолиза. PKM2, или «эмбриональная» изоформа, существует в клетке в виде мономеров, димеров и тетрамеров, что определяет ее функциональную направленность.

Тетрамеры PKM2 находятся в цитоплазме и функционируют как ферменты гликолиза. Момеры и димеры PKM2 лишены пируваткиназной активности, однако димеры способны проникать в ядро и выступать в качестве регулятора транскрипции. В частности, димеры PKM2 фосфорилируют транскрипционный фактор STAT3, что приводит к его активации [99], а также фосфорилируют гистон H3 в промоторных участках ряда генов, что необходимо для активации их транскрипции [100]. Кроме того, димерная PKM2 является ядерным кофактором HIF-1 α (см. рис. 2). При активации макрофагов ЛПС димеры PKM2 образуют комплексы с HIF-1 α , способ-

ствуя стабилизации HIF-1 α , и в виде этих комплексов связываются с промоторами HIF-1-зависимых генов, кодирующих в том числе ферменты гликолиза и провоспалительные цитокины, такие как ИЛ-1 β [101]. Интересно, что ЛПС индуцирует экспрессию гена *PKM2* в макрофагах, однако вновь синтезируемая PKM2 преимущественно принимает форму мономеров и димеров [101]. Повышенная экспрессия димеров PKM2 необходима для поддержания аэробного гликолиза в опухолевых клетках и макрофагах [101–103]. Малые синтетические молекулы DASA-58 и TEP-46 переводят PKM2 в тетрамерную форму и активируют ее пируваткиназную функцию. Это приводит к снижению уровня PKM2 в ядре, снижению экспрессии HIF-1-зависимых генов, перепрограммированию макрофагов с провоспалительного, бактерицидного M1-типа на противовоспалительный M2-тип [101]. Также при тетрамеризации PKM2 ингибируется дифференцировка провоспалительных Th17- и Th1-клеток [104].

Таким образом, PKM2 выступает фактически в роли «диспетчера» гликолиза. Если PKM2 находится преимущественно в димерной форме, то нарастает экспрессия ферментов гликолиза и лактатдегидрогеназы, но при этом несколько уменьшается образование пирувата (он продолжает образовываться, так как активна PKM1). В результате происходит накопление метаболитов на вышестоящих этапах гликолиза, что способствует их уходу в «ответвления» гликолиза, в частности в пентозофосфатный путь, в синтез аминокислот и т. д. Также за счет повышения экспрессии лактатдегидрогеназы увеличивается конверсия пирувата в лактат (один из главных признаков эффекта Варбурга) [102]. Если PKM2 находится преимущественно в тетрамерной форме, то глюкоза эффективно перерабатывается в пируват при несколько меньшей общей интенсивности гликолиза, причем большая часть пирувата метаболизируется в ацетил-КоА [101, 102].

В связи с этим важен вопрос о механизмах, регулирующих соотношение димерной и тетрамерной форм PKM2. Тетрамеризация происходит в присутствии высокой концентрации фруктозо-1,6-бисфосфата и серина, т. е. в условиях высокой интенсивности вышестоящих этапов гликолиза [103, 105]. Фосфорилирование PKM2 по остатку тирозина-105 переводит фермент в димерную форму, препятствуя связыванию PKM2 с фруктозо-1,6-бисфосфатом [106]. PKM2 фосфорилируется в ЛПС-активированных макрофагах [101], однако неизвестно, какие киназы осуществляют этот процесс.

Также PKM2 может участвовать в активации NLRP3- и AIM2-зависимых инфламмасом [107], хотя неясно, какая форма PKM2 для этого требуется (димеры или тетрамеры). Ингибирование и нокдаун *PKM2* в ЛПС-активированных макрофагах *in vitro* ограничивает процессинг и секрецию ИЛ-1 β ; условный нокаут *PKM2* в миелидных клетках у мышей *in vivo* тоже ингибирует высвобождение ИЛ-1 β и улучшает выживаемость животных на модели септического шока [107].

Таким образом, некоторые ферменты гликолиза участвуют в регуляции экспрессии генов и в активации NLRP3-инфламماسом. При этом ферментативная и регуляторная функции ферментов гликолиза являются взаимоисключающими. Регуляторная функция активируется при низком уровне субстрата и/или при наличии посттрансляционных модификаций, ингибирующих ферментативную активность.

7. Связь между гликолизом и продукцией провоспалительных цитокинов.

Проблема использования 2-ДГ

Выше рассмотрена роль отдельных ферментов гликолиза в регуляции экспрессии генов иммунного ответа. Однако какова роль гликолиза как такового в развитии иммунного ответа, в частности в продукции провоспалительных цитокинов?

В большинстве работ, посвященных изучению связи между гликолизом и активацией клеток иммунной системы, для ингибирования гликолиза используется 2-ДГ [7, 20, 27, 31, 33, 108–110]. 2-ДГ транспортируется в клетку теми же переносчиками, что и глюкоза, и фосфорилируется гексокиназой с образованием 2-дезоксиглюкозо-6-фосфата. Последний конкурентно ингибирует второй фермент гликолиза – глюкозо-6-фосфатизомеразу (фосфогексоизомеразу). В результате в клетке накапливаются 2-дезоксиглюкозо-6-фосфат и глюкозо-6-фосфат, избыток которых приводит к ингибированию гексокиназ. В большинстве работ сообщалось об угнетающем эффекте 2-ДГ на продукцию провоспалительных цитокинов, индуцированную агонистами PPP *in vitro* и *in vivo* [20, 27, 31, 33, 108–110]. Во многом на основании этих работ сформировалось представление о провоспалительной роли гликолиза. При этом в некоторых работах 2-ДГ подавляла исключительно трансляцию цитокинов при отсутствии эффекта на экспрессию соответствующих мРНК [31], а в других – подавляла также и экспрессию мРНК цитокинов [27]. Наряду с этим в отдельных работах 2-ДГ усиливала продукцию провоспалительных цитокинов [111] либо вовсе не оказывала эффекта [112]. Интересно, что в тех работах, где сообщалось об ингибирующем эффекте 2-ДГ на продукцию цитокинов *in vitro*, этот эффект проявлялся уже при довольно низких концентрациях 2-ДГ (1 мМ) [27, 33, 109], тогда как для конкурентного ингибирования гликолиза концентрация 2-ДГ в культуральной среде должна быть как минимум не ниже, чем концентрация глюкозы в традиционно используемой среде RPMI-1640 (11 мМ).

Чем обусловлены описанные выше нестыковки? Мы исследовали кинетику активации макрофагов агонистами рецепторов TLR4 и NOD1 в традиционной среде RPMI-1640, в присутствии 2-ДГ и в условиях глюкозного голодания (RPMI-1640 без глюкозы). Оказалось, что 2-ДГ ингибирует экспрессию провоспалительных цитокинов ФНО, ИЛ-6 и ИЛ-1 β на ранней стадии активации (в первые 1–3 ч), но усиливает ее на

более поздних стадиях [30]. Таким образом, 2-ДГ может оказывать разнонаправленное действие на экспрессию цитокинов в зависимости от продолжительности воздействия на клетки. В то же время если гликолиз ингибировали не с помощью 2-ДГ, а путем глюкозного голодания, то экспрессия и продукция ФНО и ИЛ-6 практически не менялись, а продукция ИЛ-1 β незначительно ингибировалась по сравнению со стандартными условиями (11 мМ глюкозы) [30]. Очевидно, что описываемые в литературе эффекты 2-ДГ на продукцию цитокинов связаны в основном не с ингибированием гликолиза.

Основным механизмом, посредством которого 2-ДГ влияет на экспрессию и продукцию цитокинов, является, судя по всему, индукция так называемого ответа на несложенные белки (unfolded protein response – UPR). Это обусловлено тем, что 2-ДГ конкурирует не только с D-глюкозой, но и с ее стереоизомером – D-маннозой. D-глюкоза и D-манноза различаются расположением атома кислорода при 2-м атоме углерода. Поскольку в молекуле 2-ДГ этот атом кислорода отсутствует, то 2-дезоксид-глюкоза идентична 2-дезоксид-маннозе, что позволяет ей выступать в роли конкурента D-маннозы при N-гликозилировании белков. 2-ДГ встраивается вместо D-маннозы в формирующиеся гликановые цепи, приводя к их преждевременному обрыву [113, 114]. Данный эффект 2-ДГ хорошо известен в экспериментальной онкологии [115], но он не учитывался иммунологами, исследующими гликолиз. Нарушение N-гликозилирования приводит к нарушению корректного складывания (фолдинга) белков, перегрузке эндоплазматического ретикулама неправильно сложенными белками и развитию UPR [114], который оказывает существенное влияние на различные функции клеток, в том числе на экспрессию генов и продукцию белков, включая цитокины. В частности, одним из основных проявлений UPR являются неизбирательная деградация мРНК и подавление синтеза белка, что объясняет ингибирование продукции цитокинов в присутствии 2-ДГ [116]. В то же время на определенных этапах UPR наблюдается гиперчувствительность клеток врожденной иммунной системы к агонистам ПРР [117, 118], что может объяснять гиперпродукцию некоторых провоспалительных цитокинов макрофагами на поздних стадиях активации. Поскольку концентрация D-маннозы во внеклеточных средах и в клетке на порядок ниже, чем концентрация D-глюкозы [114], то и эффекты 2-ДГ, опосредованные через индукцию UPR, могут проявляться уже при низких концентрациях 2-ДГ (см. выше). Мы подтвердили, что 2-ДГ индуцирует UPR в макрофагах и ДК, а добавление к клеткам избытка D-маннозы устраняет или ослабляет эффекты 2-ДГ на продукцию цитокинов [30].

Из вышеизложенного следует несколько выводов. Во-первых, результаты экспериментов, в которых для ингибирования гликолиза использовалась 2-ДГ, должны перепроверяться с помощью других подходов, более

специфичных в отношении гликолиза. Во-вторых, аэробный гликолиз, по крайней мере в условиях *in vitro*, играет в выработке провоспалительных цитокинов меньшую роль, чем принято считать на основании экспериментов с 2-ДГ. Интересно, что макрофаги способны выживать в безглюкозной среде RPMI-1640 в течение как минимум 72 ч [30]. В последующем их жизнеспособность снижается, однако это не влияет на выработку цитокинов, которая происходит в основном в 1-е сутки после активации агонистами ПРР. Против критического вклада гликолиза в продукцию цитокинов свидетельствует и тот факт, что ДК и макрофаги человека, активированные ЛПС *in vitro*, вырабатывают сопоставимые количества ФНО и ИЛ-6 при существенно более низких уровнях гликолиза в ДК [38]. Можно предположить, что многие функции гликолиза (продукция АТФ, образование ацетил-КоА и т. д.) в аэробных условиях могут быть компенсированы другими процессами, например ОЖК, что и объясняет отсутствие критического влияния гликолиза на выработку цитокинов. Роль аэробного гликолиза в других процессах, таких как фагоцитоз [119] и миграция клеток [120], нуждается в уточнении.

Следует подчеркнуть, что процитированные выше работы по взаимосвязям гликолиза и продукции цитокинов выполнены в условиях *нормоксии*. Однако ситуация меняется в условиях *гипоксии*: в этом случае ингибирование гликолиза в макрофагах с помощью как 2-ДГ, так и глюкозного голодания приводит к резкому подавлению продукции цитокинов и к гибели клеток в течение 24 ч [121]. Аналогичный эффект в условиях гипоксии оказывают и другие способы подавления гликолиза, например ингибирование ФФК-2 [59]. Как отмечено выше, гликолиз является единственным катаболическим процессом, генерирующим АТФ независимо от ОФ. На наш взгляд, физиологическая роль аэробного гликолиза в активированных клетках иммунной системы заключается не столько в регуляции выработки конкретных медиаторов воспаления, сколько в подготовке клеток к функционированию в условиях гипоксии, которые имеют место в очаге воспаления. С этой точки зрения, гликолиз является метаболической основой воспаления.

8. Модуляция иммунного ответа через модуляцию гликолиза

Наиболее тяжелым клиническим проявлением воспаления являются сепсис и его крайняя форма – септический шок [122, 123]. Выделяют две стадии сепсиса. На первой стадии развивается системное гипервоспаление, вызванное избыточной активацией клеток врожденного иммунитета микробами и продуктами их разрушения. Системный воспалительный ответ является причиной нарушений микроциркуляции и полиорганной недостаточности [122, 123]. На второй стадии происходит истощение иммунного ответа (иммунный паралич), что чревато присоединением вторичных инфекций. Метаболизм клеток иммунной системы в этих

двух стадиях сепсиса кардинально различается. Первая стадия характеризуется интенсивным аэробным гликолизом. По данным экспериментальных и клинических исследований, на этой стадии наблюдаются гипогликемия и гиперлактатемия, причем высокие уровни лактата в плазме коррелируют с неблагоприятным прогнозом [35, 112, 124]. Поскольку лактат обладает иммуносупрессивными свойствами [109], его гиперпродукция в дальнейшем может способствовать развитию иммунного паралича [125]. На второй стадии сепсиса происходит переключение метаболизма с гликолиза на ОЖК [126, 127].

Отрицательная роль гликолиза при бактериальном сепсисе продемонстрирована в работе A. Wang и соавт. [112]. Авторы задались целью объяснить, почему при тяжелых инфекционных заболеваниях развивается анорексия. Оказалось, что анорексия как способ подавления гликолиза защищает от бактериального сепсиса: введение глюкозы мышам, зараженным 50 % летальной дозой (LD_{50}) *Listeria monocytogenes*, увеличивает летальность до 100 %, тогда как дополнительное подавление гликолиза с помощью 2-ДГ снижает летальность до 0 % [112]. В целом ингибирование гликолиза либо отдельных ферментов гликолиза в эксперименте оказывает положительный эффект на течение и исход бактериального сепсиса и летальной эндотоксемии, в частности уменьшает повреждение органов [107, 110, 112, 128, 129]. За неимением других подходящих ингибиторов гликолиза обычно используют 2-ДГ. Однако при вирусной инфекции (например, гриппе) 2-ДГ увеличивает летальность зараженных животных; примечательно, что это обусловлено индукцией UPR в нейронах головного мозга [112]. В качестве альтернативы 2-ДГ используется кетогенная (бедная углеводами, богатая жирами) диета. В некоторых работах отмечено снижение ЛПС-индуцированных уровней ФНО и ИЛ-6 в сыворотке мышей, получающих такую диету, по сравнению с контрольной диетой [130, 131]. Известно по крайней мере об одном планируемом клиническом испытании, в котором предполагается оценить влияние низкоуглеводной диеты на параметры метаболизма и иммунного статуса у пациентов с сепсисом [132].

Переключение клеток врожденного иммунитета на аэробный гликолиз отмечено также при COVID-19 – тяжелой респираторной инфекции, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2 [133, 134]. HIF-1-зависимое повышение гликолиза способствует репликации SARS-CoV-2 в моноцитах и гиперпродукции ими ИЛ-1 β , тогда как ингибирование гликолиза с помощью 2-ДГ или глюкозного голодания подавляет эти процессы [134]. Предполагается, что гипергликемия у пациентов с неконтролируемым сахарным диабетом может подпитывать гликолитический метаболизм в моноцитах и тем самым приводить к развитию тяжелых форм COVID-19 [134].

В то же время заблаговременное (до инфицирования) переключение метаболизма клеток врожденного

иммунитета на аэробный гликолиз может играть позитивную роль; так, аэробный гликолиз рассматривается как метаболическая основа так называемой тренировки врожденного иммунитета, т. е. длительного повышения реактивности врожденной иммунной системы и резистентности к патогенам после воздействия агонистов некоторых ПРР [20].

Заключение

В последнее десятилетие наблюдается взрывной рост интереса к иммунометаболизму. Мы теперь гораздо лучше понимаем важность обменных процессов в работе иммунной системы. В то же время на многие вопросы в этой области еще предстоит получить ответы. Например, применительно к гликолизу: какова истинная роль аэробного гликолиза в развитии врожденного и адаптивного иммунного ответа? Очевидно, что аэробный гликолиз – это универсальный ответ клеток иммунной системы на различные активационные воздействия. Однако насколько он критичен для поддержания конкретных функций в различных типах клеток иммунной системы: фагоцитоза, представления антигена, миграции, пролиферации, выработки провоспалительных медиаторов белковой и небелковой природы, выработки эффекторных молекул, клеточной цитотоксичности? В какой степени аэробный гликолиз может быть заменен другими метаболическими процессами в условиях нормоксии? Не является ли переключение на аэробный гликолиз лишь подготовкой клеток иммунной системы к функционированию в условиях гипоксии в воспалительном очаге? Это объясняло бы, почему клетки с наиболее высоким воспалительным потенциалом (M1-макрофаги, Th17-клетки) характеризуются наиболее высокими уровнями гликолиза.

Вторая группа вопросов касается «негликолитических» функций ферментов гликолиза. Присущи ли эти функции другим ферментам, помимо четырех, рассмотренных в этом обзоре? Если это общий феномен, то в чем его биологический смысл?

Наконец, накопленные фундаментальные знания в области иммунометаболизма ожидают практической реализации в виде новых методов лечения заболеваний, связанных с дисрегуляцией иммунного ответа. Большое значение имеет разработка способов избирательного воздействия на метаболизм конкретных видов клеток иммунной системы, не затрагивающих метаболические процессы в других клетках и тканях. Доклинические исследования таких подходов позволят лучше понять роль тех или иных метаболических процессов в развитии иммунного ответа *in vivo*, а также отобрать наиболее эффективные препараты для последующих клинических испытаний.

Вклад авторов

Будихина А.С. – поиск и анализ литературы, написание обзора; Пашенков М.В. – поиск и анализ литературы, написание и редактирование обзора.

■ Литература/References

- O'Neill L.A.J., Kishton R.J., Rathmell J. A guide to immunometabolism for immunologists. *Nat. Rev. Immunol.* 2016; 16 (9): 553–65.
- Jha A.K., Huang S.C.C., Sergushichev A., Lampropoulou V., Ivanova Y., Loginicheva E., et al. Network integration of parallel metabolic and transcriptional data reveals metabolic modules that regulate macrophage polarization. *Immunity.* 2015; 42 (3): 419–30.
- O'Neill L.A.J., Pearce E.J. Immunometabolism governs dendritic cell and macrophage function. *J. Exp. Med.* 2016; 213 (1): 15–23.
- Rodríguez-Prados J.-C., Través P.G., Cuenca J., Rico D., Aragónés J., Martín-Sanz P., et al. Substrate fate in activated macrophages: a comparison between innate, classic, and alternative activation. *J. Immunol.* 2010; 185 (1): 605–14.
- Van den Bossche J., O'Neill L.A., Menon D. Macrophage immunometabolism: where are we (going)? *Trends Immunol.* 2017; 38 (6): 395–406.
- Huang S.C.C., Smith A.M., Everts B., Colonna M., Pearce E.L., Schilling J.D., et al. Metabolic reprogramming mediated by the mTORC2-IRF4 Signaling axis is essential for macrophage alternative activation. *Immunity.* 2016; 45 (4): 817–30.
- Shi L.Z., Wang R., Huang G., Vogel P., Neale G., Green D.R., et al. HIF1 α -dependent glycolytic pathway orchestrates a metabolic checkpoint for the differentiation of TH17 and Treg cells. *J. Exp. Med.* 2011; 208 (7): 1367–76.
- Dang E. V., Barbi J., Yang H.Y., Jinasena D., Yu H., Zheng Y., et al. Control of TH17/Treg balance by hypoxia-inducible factor 1. *Cell.* 2011; 146 (5): 772–84.
- Liberti M. V., Locasale J.W. The Warburg effect: how does it benefit cancer cells? *Trends Biochem. Sci.* 2016; 41 (3): 211–8.
- Newsholme P., Curi R., Gordon S., Newsholme E.A. Metabolism of glucose, glutamine, long-chain fatty acids and ketone bodies by murine macrophages. *Biochem. J.* 1986; 239 (1): 121–5.
- Krawczyk C.M., Holowka T., Sun J., Blagih J., Amiel E., DeBerardinis R.J., et al. Toll-like receptor-induced changes in glycolytic metabolism regulate dendritic cell activation. *Blood.* 2010; 115 (23): 4742–9.
- Michalek R.D., Gerriets V.A., Jacobs S.R., Macintyre A.N., MacIver N.J., Mason E.F., et al. Cutting edge: distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4⁺ T cell subsets. *J. Immunol.* 2011; 186 (6): 3299–303.
- Doughty C.A., Bleiman B.F., Wagner D.J., Dufort F.J., Mataraza J.M., Roberts M.F., et al. Antigen receptor-mediated changes in glucose metabolism in B lymphocytes: role of phosphatidylinositol 3-kinase signaling in the glycolytic control of growth. *Blood.* 2006; 107 (11): 4458–65.
- Epstein T., Xu L., Gillies R.J., Gatenby R.A. Separation of metabolic supply and demand: aerobic glycolysis as a normal physiological response to fluctuating energetic demands in the membrane. *Cancer Metab.* 2014; 2: 7. DOI: <https://doi.org/10.1186/2049-3002-2-7>
- Feingold K.R., Shigenaga J.K., Kazemi M.R., McDonald C.M., Patzek S.M., Cross A.S., et al. Mechanisms of triglyceride accumulation in activated macrophages. *J. Leukoc. Biol.* 2012; 92 (4): 829–39.
- Heiden M.G.V., Cantley L.C., Thompson C.B. Understanding the Warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation. *Science.* 2009; 324 (5930): 1029–33.
- Diskin C., Palsson-McDermott E.M. Metabolic modulation in macrophage effector function. *Front. Immunol.* 2018; 9: 270. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00270>
- Brüne B., Dehne N., Grossmann N., Jung M., Namgaladze D., Schmid T., et al. Redox control of inflammation in macrophages. *Antioxid. Redox Signal.* 2013; 19 (6): 595–637.
- Mills E.L., Kelly B., Logan A., Costa A.S.H., Varma M., Bryant C.E., et al. Succinate dehydrogenase supports metabolic repurposing of mitochondria to drive inflammatory macrophages. *Cell.* 2016; 167 (2): 457–70.e13.
- Cheng S.C., Quintin J., Cramer R.A., Shepardson K.M., Saeed S., Kumar V., et al. mTOR- and HIF-1 α -mediated aerobic glycolysis as metabolic basis for trained immunity. *Science.* 2014; 345 (6204): 1250684. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1250684>
- Wellen K.E., Thompson C.B. A two-way street: reciprocal regulation of metabolism and signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2012; 13 (4): 270–6.
- Michelucci A., Cordes T., Ghelfi J., Pailot A., Reiling N., Goldmann O., et al. Immune-responsive gene 1 protein links metabolism to immunity by catalyzing itaconic acid production. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2013; 110 (19): 7820–5.
- Kawai T., Akira S. Pathogen recognition with Toll-like receptors. *Curr. Opin. Immunol.* 2005; 17 (4): 338–44.
- Pashenkov M.V., Dagil' Y.A., Pinegin B.V. NOD1 and NOD2: Molecular targets in prevention and treatment of infectious diseases. *Int. Immunopharmacol.* 2018; 54 : 385–400.
- Mantovani A., Sica A., Sozzani S., Allavena P., Vecchi A., Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol.* 2004; 25 (12): 677–86.
- Gordon S., Taylor P.R. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat. Rev. Immunol.* 2005; 5 (12): 953–64.
- Na Y.R., Gu G.J., Jung D., Kim Y.W., Na J., Woo J.S., et al. GM-CSF induces inflammatory macrophages by regulating glycolysis and lipid metabolism. *J. Immunol.* 2016; 197 (10): 4101–9.
- Tan Y., Kagan J.C. Innate immune signaling organelles display natural and programmable signaling flexibility. *Cell.* 2019; 177 (2): 384–98.e11.
- Муругина Н.Е., Балясова Л.С., Будихина А.С., Максимчик П.В., Дагиль Ю.А., Муругин В.В. и др. Метаболическое репрограммирование макрофагов при их активации агонистом рецептора NOD1. *Иммунология.* 2019; 40 (1): 5–14. [Murugina N.E., Balyasova L.S., Budikhina A.S., Maximchik P.V., Dagil' Y.A., Murugin V.V., et al. Metabolic reprogramming of macrophages upon activation with a NOD1 receptor agonist. *Immunologiya.* 2019; 40 (1): 5–14. (in Russian)]
- Murugina N.E., Budikhina A.S., Dagil' Y.A., Maximchik P.V., Balyasova L.S., Murugin V.V., et al. Glycolytic reprogramming of macrophages activated by NOD1 and TLR4 agonists: No association with proinflammatory cytokine production in normoxia. *J. Biol. Chem.* 2020; 295 (10): 3099–114.
- Everts B., Amiel E., Huang S.C.C., Smith A.M., Chang C.H., Lam W.Y., et al. TLR-driven early glycolytic reprogramming via the kinases TBK1-IRK ϵ supports the anabolic demands of dendritic cell activation. *Nat. Immunol.* 2014; 15 (4): 323–32.
- Chiba S., Hisamatsu T., Suzuki H., Mori K., Kitazume M.T., Shimamura K., et al. Glycolysis regulates LPS-induced cytokine production in M2 polarized human macrophages. *Immunol. Lett.* 2017; 183: 17–23.
- Tannahill G.M., Curtis A.M., Adamik J., Palsson-McDermott E.M., McGettrick A.F., Goel G., et al. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 β through HIF-1 α . *Nature.* 2013; 496 (7444): 238–42.
- Gamelli R.L., Liu H., He L.K., Hofmann C.A. Augmentations of glucose uptake and glucose transporter-1 in macrophages following thermal injury and sepsis in mice. *J. Leukoc. Biol.* 1996; 59 (5): 639–47.
- Fukuzumi M., Shinomiya H., Shimizu Y., Ohishi K., Utsumi S. Endotoxin-induced enhancement of glucose influx into murine peritoneal macrophages via GLUT 1. *Infect. Immun.* 1996; 64 (1): 108–12.
- Ip W.K.E., Hoshi N., Shouval D.S., Snapper S., Medzhitov R. Anti-inflammatory effect of IL-10 mediated by metabolic reprogramming of macrophages. *Science.* 2017; 356 (6337): 513–9.
- Helft J., Böttcher J., Chakravarty P., Zelenay S., Huotari J., Schraml B.U., et al. GM-CSF mouse bone marrow cultures comprise a heterogeneous population of CD11c⁺MHCII⁺ macrophages and dendritic cells. *Immunity.* 2015; 42 (6): 1197–211.
- Будихина А.С., Муругина Н.Е., Максимчик П.В., Дагиль Ю.А., Мельников М.В., Балясова Л.С. и др. Аэробный гликолиз не играет незаменимой роли в продукции провоспалительных цитокинов дендритными клетками. *Иммунология.* 2020; 41 (1): 31–41. [Budikhina A.S., Murugina N.E., Maximchik P.V., Dagil' Y.A., Melnikov M.V., Balyasova L.S., et al. Aerobic glycolysis is dispensable for pro-inflammatory cytokine production by dendritic cells. *Immunologiya.* 2020; 41 (1): 31–41. (in Russian)]
- Everts B., Amiel E., Van Der Windt G.J.W., Freitas T.C., Chott R., Yarasheski K.E., et al. Commitment to glycolysis sustains survival of NO-producing inflammatory dendritic cells. *Blood.* 2012; 120 (7): 1422–31.
- Lampropoulou V., Sergushichev A., Bambouskova M., Nair S., Vincent E.E., Loginicheva E., et al. Itaconate links inhibition of succinate dehydrogenase with macrophage metabolic remodeling and regulation of inflammation. *Cell Metab.* 2016; 24 (1): 158–66.

41. Chang C.H., Curtis J.D., Maggi L.B., Faubert B., Villarino A.V., O'Sullivan D., et al. Posttranscriptional control of T cell effector function by aerobic glycolysis. *Cell*. 2013; 153 (6): 1239.
42. Gubser P.M., Bantug G.R., Razik L., Fischer M., Dimeloe S., Hoenger G., et al. Rapid effector function of memory CD8⁺ T cells requires an immediate-early glycolytic switch. *Nat. Immunol.* 2013; 14 (10): 1064–72.
43. Angelin A., Gil-de-Gómez L., Dahiya S., Jiao J., Guo L., Levine M.H., et al. Foxp3 reprograms T cell metabolism to function in low-glucose, high-lactate environments. *Cell Metab.* 2017; 25 (6): 1282–93.e7.
44. Chakrabarti R., Jung C.Y., Lee T.P., Liu H., Mookerjee B.K. Changes in glucose transport and transporter isoforms during the activation of human peripheral blood lymphocytes by phytohemagglutinin. *J. Immunol.* 1994; 152 (60): 2660–8.
45. Perrin-Cocon L., Aublin-Gex A., Diaz O., Ramière C., Peri F., André P., et al. Toll-like receptor 4-induced glycolytic burst in human monocyte-derived dendritic cells results from p38-dependent stabilization of HIF-1 α and increased hexokinase II expression. *J. Immunol.* 2018; 201 (5): 1510–21.
46. Kurganov B.I., Sugrobova N.P., Mil'man L.S. Supramolecular organization of glycolytic enzymes. *J. Theor. Biol.* 1985; 116 (4): 509–26.
47. John S., Weiss J.N., Ribalet B. Subcellular localization of hexokinases I and II directs the metabolic fate of glucose. *PLoS One*. 2011; 6 (3): e17674. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017674>
48. Roberts D.J., Miyamoto S. Hexokinase II integrates energy metabolism and cellular protection: Acting on mitochondria and TORCing to autophagy. *Cell Death Differ.* 2015; 22 (2): 248–57.
49. Vergadi E., Ieronymaki E., Lyroni K., Vaporidi K., Tsatsanis C. Akt signaling pathway in macrophage activation and M1/M2 polarization. *J. Immunol.* 2017; 198 (3): 1006–14.
50. Laird M.H.W., Rhee S.H., Perkins D.J., Medvedev A.E., Piao W., Fenton M.J., et al. TLR4/MyD88/PI3K interactions regulate TLR4 signaling. *J. Leukoc. Biol.* 2009; 85 (6): 966–77.
51. Mora A., Komander D., Van Aalten D.M.F., Alessi D.R. PDK1, the master regulator of AGC kinase signal transduction. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2004; 15 (2): 161–70.
52. Miyamoto S., Murphy A.N., Brown J.H. Akt mediates mitochondrial protection in cardiomyocytes through phosphorylation of mitochondrial hexokinase-II. *Cell Death Differ.* 2008; 15 (3): 521–9.
53. Jacobs S.R., Herman C.E., MacIver N.J., Wofford J.A., Wieman H.L., Hammen J.J., et al. Glucose uptake is limiting in T cell activation and requires CD28-mediated Akt-dependent and independent pathways. *J. Immunol.* 2008; 180 (7): 4476–86.
54. Marsin A.S., Bouzin C., Bertrand L., Hue L. The stimulation of glycolysis by hypoxia in activated monocytes is mediated by AMP-activated protein kinase and inducible 6-phosphofructo-2-kinase. *J. Biol. Chem.* 2002; 277 (34): 30 778–83.
55. Ruiz-García A., Monsalve E., Novellademunt L., Navarro-Sabaté A., Manzano A., Rivero S., et al. Cooperation of adenosine with macrophage toll-4 receptor agonists leads to increased glycolytic flux through the enhanced expression of PFKFB3 gene. *J. Biol. Chem.* 2011; 286 (22): 19 247–58.
56. Semenza G.L., Jiang B.H., Leung S.W., Passantino R., Concordat J.P., Maire P., et al. Hypoxia response elements in the aldolase A, enolase 1, and lactate dehydrogenase A gene promoters contain essential binding sites for hypoxia-inducible factor 1. *J. Biol. Chem.* 1996; 271 (51): 32 529–37.
57. Obach M., Navarro-Sabaté A., Caro J., Kong X., Duran J., Gómez M., et al. 6-Phosphofructo-2-kinase (pfkfb3) gene promoter contains hypoxia-inducible factor-1 binding sites necessary for transactivation in response to hypoxia. *J. Biol. Chem.* 2004; 279 (51): 53 562–70.
58. Minchenko A., Leshchinsky I., Opentanova I., Sang N., Srinivas V., Armstead V., et al. Hypoxia-inducible factor-1-mediated expression of the 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase-3 (PFKFB3) gene: its possible role in the Warburg effect. *J. Biol. Chem.* 2002; 277 (8): 6183–7.
59. Tawakol A., Singh P., Mojena M., Pimentel-Santillana M., Emami H., Macnabb M., et al. HIF-1 α and PFKFB3 mediate a tight relationship between proinflammatory activation and anaerobic metabolism in atherosclerotic macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2015; 35 (6): 1463–71.
60. Van Uden P., Kenneth N.S., Rocha S. Regulation of hypoxia-inducible factor-1 α by NF- κ B. *Biochem. J.* 2008; 412 (3): 477–84.
61. Dev A., Iyer S., Razani B., Cheng G. NF- κ B and Innate Immunity. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2011; 349: 115–43.
62. Papadakis A.I., Paraskeva E., Peidis P., Muaddi H., Li S., Raptis L., et al. eIF2 α kinase PKR modulates the hypoxic response by stat3-dependent transcriptional suppression of HIF-1 α . *Cancer Res.* 2010; 70 (20): 7820–9.
63. Niu G., Briggs J., Deng J., Ma Y., Lee H., Kortylewski M., et al. Signal transducer and activator of transcription 3 is required for hypoxia-inducible factor-1 α RNA expression in both tumor cells and tumor-associated myeloid cells. *Mol. Cancer Res.* 2008; 6 (7): 1099–105.
64. Covarrubias A.J., Aksoylar H.I., Horng T. Control of macrophage metabolism and activation by mTOR and Akt signaling. *Semin. Immunol.* 2015; 27 (4): 286–96.
65. Shi J.H., Sun S.C. TCR signaling to NF- κ B and mTORC1: expanding roles of the CARMA1 complex. *Mol. Immunol.* 2015; 68 (2): 546–57.
66. Mondino A., Mueller D.L. mTOR at the crossroads of T cell proliferation and tolerance. *Semin. Immunol.* 2007; 19 (3): 162–72.
67. Katholnig K., Kaltenecker C.C., Hayakawa H., Rosner M., Lassnig C., Zlabinger G.J., et al. p38 α senses environmental stress to control innate immune responses via mechanistic target of rapamycin. *J. Immunol.* 2013; 190 (4): 1519–27.
68. Tee A.R., Anjum R., Blenis J. Inactivation of the tuberous sclerosis complex-1 and -2 gene products occurs by phosphoinositide 3-kinase/Akt-dependent and -independent phosphorylation of tuberlin. *J. Biol. Chem.* 2003; 278 (39): 37 288–96.
69. Bodur C., Kazyken D., Huang K., Ekim Ustunel B., Siroky K.A., Tooley A.S., et al. The IKK-related kinase TBK1 activates mTORC1 directly in response to growth factors and innate immune agonists. *EMBO J.* 2018; 37 (1): 19–38.
70. Lee D.F., Kuo H.P., Chen C. Te, Hsu J.M., Chou C.K., Wei Y., et al. IKK β suppression of TSC1 links inflammation and tumor angiogenesis via the mTOR pathway. *Cell.* 2007; 130 (3): 440–55.
71. Pashenkov M.V., Balyasova L.S., Dagil' Y.A., Pinegin B.V. The role of the p38-MNK-eIF4E signaling axis in TNF production downstream of the NOD1 receptor. *J. Immunol.* 2017; 198 (4): 1638–48. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600467>
72. Waskiewicz A.J., Flynn A., Proud C.G., Cooper J.A. Mitogen-activated protein kinases activate the serine/threonine kinases Mnk1 and Mnk2. *EMBO J.* 1997; 16 (8): 1909–20.
73. Fortin C.F., Mayer T.Z., Cloutier A., McDonald P.P. Translational control of human neutrophil responses by MNK1. *J. Leukoc. Biol.* 2013; 94 (4): 693–703.
74. Jaakkola P., Mole D.R., Tian Y.M., Wilson M.I., Gielbert J., Gaskell S.J., et al. Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation. *Science*. 2001; 292 (5516): 468–72.
75. Masson N., Willam C., Maxwell P.H., Pugh C.W., Ratcliffe P.J. Independent function of two destruction domains in hypoxia-inducible factor- α chains activated by prolyl hydroxylation. *EMBO J.* 2001; 20 (18): 5197–206.
76. Tanimoto K. Mechanism of regulation of the hypoxia-inducible factor-1 α by the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein. *EMBO J.* 2000; 19 (16): 4298–309.
77. Epstein A.C.R., Gleadle J.M., McNeill L.A., Hewitson K.S., O'Rourke J., Mole D.R., et al. C. elegans EGL-9 and mammalian homologs define a family of dioxygenases that regulate HIF by prolyl hydroxylation. *Cell*. 2001; 107 (1): 43–54.
78. Lee J.S., Park S., Jeong H.W., Ahn J.Y., Choi S.J., Lee H., et al. Immunophenotyping of covid-19 and influenza highlights the role of type I interferons in development of severe covid-19. *Sci. Immunol.* 2020; 5 (49): eabd1554. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abd1554>
79. Bellot G., Garcia-Medina R., Gounon P., Chiche J., Roux D., Pouyssegur J., et al. Hypoxia-Induced Autophagy Is Mediated through Hypoxia-Inducible Factor Induction of BNIP3 and BNIP3L via Their BH3 Domains. *Mol. Cell. Biol.* 2009; 29 (10): 2570–81.
80. Novellademunt L., Bultot L., Manzano A., Ventura F., Rosa J.L., Vertommen D., et al. PFKFB3 activation in cancer cells by the p38/MK2 pathway in response to stress stimuli. *Biochem. J.* 2013; 452 (3): 531–43.
81. Wang R., Dillon C.P., Shi L.Z., Milasta S., Carter R., Finkelstein D., et al. The transcription factor Myc controls metabolic reprogramming upon T lymphocyte activation. *Immunity*. 2011; 35 (6): 871–82.

82. Preston G.C., Sinclair L. V., Kaskar A., Hukelmann J.L., Navarro M.N., Ferrero I., et al. Single cell tuning of Myc expression by antigen receptor signal strength and interleukin-2 in T lymphocytes. *EMBO J.* 2015; 34 (15): 2008–24.
83. Gnanaprakasam J.N.R., Sherman J.W., Wang R. MYC and HIF in shaping immune response and immune metabolism. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2017; 35: 63–70.
84. Liu L., Luc Y., Martinez J., Bi Y., Lian G., Wang T., et al. Pro-inflammatory signal suppresses proliferation and shifts macrophage metabolism from Myc-dependent to HIF1 α -dependent. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2016; 113 (6): 1564–9.
85. Schroder K., Tschopp J. The inflammasomes. *Cell.* 2010; 140 (6): 821–32.
86. Latz E., Xiao T.S., Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes. *Nat. Rev. Immunol.* 2013; 13 (6): 397–411.
87. Wolf A.J., Reyes C.N., Liang W., Becker C., Shimada K., Wheeler M.L., et al. Hexokinase is an innate immune receptor for the detection of bacterial peptidoglycan. *Cell.* 2016; 166 (3): 624–36.
88. Pashenkov M.V., Popilyuk S.F., Alkhazova B.I., L'vov V.L., Murugin V.V., Fedenko E.S., et al. Muropeptides trigger distinct activation profiles in macrophages and dendritic cells. *Int. Immunopharmacol.* 2010; 10 (8): 875–82. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2010.04.025>
89. Gall J.M., Wong V., Pimental D.R., Havasi A., Wang Z., Pastorino J.G., et al. Hexokinase regulates Bax-mediated mitochondrial membrane injury following ischemic stress. *Kidney Int.* 2011; 79 (11): 1207–16.
90. Tristan C., Shahani N., Sedlak T.W., Sawa A. The diverse functions of GAPDH: views from different subcellular compartments. *Cell. Signal.* 2011; 23 (2): 317–23.
91. Millet P., Vachharajani V., McPhail L., Yoza B., McCall C.E. GAPDH binding to TNF- α mRNA contributes to posttranscriptional repression in monocytes: a novel mechanism of communication between inflammation and metabolism. *J. Immunol.* 2016; 196 (6): 2541–51.
92. Galván-Peña S., Carroll R.G., Newman C., Hinchey E.C., Palsson-McDermott E., Robinson E.K., et al. Malonylation of GAPDH is an inflammatory signal in macrophages. *Nat. Commun.* 2019; 10 (1): 338. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-08187-6>
93. Takaoka Y., Goto S., Nakano T., Tseng H.P., Yang S.M., Kawamoto S., et al. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) prevents lipopolysaccharide (LPS)-induced, sepsis-related severe acute lung injury in mice. *Sci. Rep.* 2014; 4: 5204. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep05204>
94. Ho P.C., Bihuniak J.D., MacIntyre A.N., Staron M., Liu X., Amezcua R., et al. Phosphoenolpyruvate is a metabolic checkpoint of anti-tumor T cell responses. *Cell.* 2015; 162 (6): 1217–28.
95. Hogan P.G. Calcium–NFAT transcriptional signalling in T cell activation and T cell exhaustion. *Cell Calcium.* 2017; 63: 66–9.
96. Klein-Hessling S., Muhammad K., Klein M., Pusch T., Rudolf R., Flöter J., et al. NFATc1 controls the cytotoxicity of CD8 $^{+}$ T cells. *Nat. Commun.* 2017; 8 (1): 1–15.
97. Ma R., Ji T., Zhang H., Dong W., Chen X., Xu P., et al. A Pck1-directed glycogen metabolic program regulates formation and maintenance of memory CD8 $^{+}$ T cells. *Nat. Cell Biol.* 2018; 20 (1): 21–7.
98. De Rosa V., Galgani M., Porcellini A., Colamattéo A., Santopaolo M., Zuchegna C., et al. Glycolysis controls the induction of human regulatory T cells by modulating the expression of FOXP3 exon 2 splicing variants. *Nat. Immunol.* 2015; 16 (11): 1174–84.
99. Gao X., Wang H., Yang J.J., Liu X., Liu Z.R. Pyruvate kinase M2 regulates gene transcription by acting as a protein kinase. *Mol. Cell.* 2012; 45 (5): 598–609.
100. Yang W., Xia Y., Hawke D., Li X., Liang J., Xing D., et al. PKM2 phosphorylates histone H3 and promotes gene transcription and tumorigenesis. *Cell.* 2012; 150 (4): 685–96.
101. Palsson-McDermott E.M., Curtis A.M., Goel G., Lauterbach M.A.R., Sheedy F.J., Gleeson L.E., et al. Pyruvate kinase M2 regulates hif-1 α activity and il-1 β induction and is a critical determinant of the Warburg effect in LPS-activated macrophages. *Cell Metab.* 2015; 21 (1): 65–80.
102. Christofk H.R., Vander Heiden M.G., Harris M.H., Ramathanan A., Gerszten R.E., Wei R., et al. The M2 splice isoform of pyruvate kinase is important for cancer metabolism and tumour growth. *Nature.* 2008; 452 (7184): 230–3.
103. Mazurek S., Boschek C.B., Hugo F., Eigenbrodt E. Pyruvate kinase type M2 and its role in tumor growth and spreading. *Semin. Cancer Biol.* 2005; 15 (4): 300–8.
104. Angiari S., Runtzsch M.C., Sutton C.E., Palsson-McDermott E.M., Kelly B., Rana N., et al. Pharmacological activation of pyruvate kinase M2 inhibits CD4 $^{+}$ T cell pathogenicity and suppresses autoimmunity. *Cell Metab.* 2020; 31 (2): 391–405.e8.
105. Ashizawa K., Willingham M.C., Liang C.M., Cheng S.Y. In vivo regulation of monomer-tetramer conversion of pyruvate kinase subtype M2 by glucose is mediated via fructose 1,6-bisphosphate. *J. Biol. Chem.* 1991; 266 (25): 16 842–6.
106. Hitosugi T., Kang S., Vander Heiden M.G., Chung T.W., Elf S., Lythgoe K., et al. Tyrosine phosphorylation inhibits PKM2 to promote the Warburg effect and tumor growth. *Sci. Signal.* 2009; 2 (97): ra73. DOI: <https://doi.org/10.1126/scisignal.2000431>
107. Xie M., Yu Y., Kang R., Zhu S., Yang L., Zeng L., et al. PKM2-Dependent glycolysis promotes NLRP3 and AIM2 inflammasome activation. *Nat. Commun.* 2016; 7: 1–13.
108. Shirai T., Nazarewicz R.R., Wallis B.B., Yanes R.E., Watanabe R., Hilhorst M., et al. The glycolytic enzyme PKM2 bridges metabolic and inflammatory dysfunction in coronary artery disease. *J. Exp. Med.* 2016; 213 (3): 337–54.
109. Dietl K., Renner K., Dettmer K., Timischl B., Eberhart K., Dorn C., et al. Lactic acid and acidification inhibit TNF secretion and glycolysis of human monocytes. *J. Immunol.* 2010; 184 (3): 1200–9.
110. Hu K., Yang Y., Lin L., Ai Q., Dai J., Fan K., et al. Caloric restriction mimetic 2-deoxyglucose alleviated inflammatory lung injury via suppressing nuclear pyruvate kinase M2-signal transducer and activator of transcription 3 pathway. *Front. Immunol.* 2018; 9: 426. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00426>
111. Miller E.S., Koebel D.A., Sonnenfeld G. The metabolic stresser 2-deoxy-D-glucose (2-DG) enhances LPS-stimulated cytokine production in mice. *Brain Behav. Immun.* 1993; 7 (4): 317–25.
112. Wang A., Huen S.C., Luan H.H., Yu S., Zhang C., Gallezot J.D., et al. Opposing effects of fasting metabolism on tissue tolerance in bacterial and viral inflammation. *Cell.* 2016; 166 (6): 1512–25.e12.
113. Datema R., Schwartz R.T. Formation of 2-deoxyglucose-containing lipid-linked oligosaccharides: interference with glycosylation of glycoproteins. *Eur. J. Biochem.* 1978; 90 (3): 505–16.
114. Xi H., Kurtoglu M., Lampidis T.J. The wonders of 2-deoxy-D-glucose. *IUBMB Life.* 2014; 66 (2): 110–21.
115. Maximchik P., Abdrakhmanov A., Inozemtseva E., Tyurin-Kuzmin P.A., Zhivotovsky B., Gogvadze V. 2-Deoxy-D-glucose has distinct and cell line-specific effects on the survival of different cancer cells upon antitumor drug treatment. *FEBS J.* 2018; 285 (24): 4590–601.
116. Grootjans J., Kaser A., Kaufman R.J., Blumberg R.S. The unfolded protein response in immunity and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 2016; 16 (8): 469–84.
117. Martinon F., Chen X., Lee A.H., Glimcher L.H. TLR activation of the transcription factor XBP1 regulates innate immune responses in macrophages. *Nat. Immunol.* 2010; 11 (5): 411–8.
118. Smith J.A. Regulation of cytokine production by the unfolded protein response; Implications for infection and autoimmunity. *Front. Immunol.* 2018. 9: 422. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00422>
119. Michl J., Ohlbaum D.J., Silverstein S.C. 2-Deoxyglucose selectively inhibits Fc and complement receptor-mediated phagocytosis in mouse peritoneal macrophages II. Dissociation of the inhibitory effects of 2-deoxyglucose on phagocytosis and ATP generation. *J. Exp. Med.* 1976; 144 (6): 1484–93.
120. Semba H., Takeda N., Isagawa T., Sugiura Y., Honda K., Wake M., et al. HIF-1 α -PDK1 axis-induced active glycolysis plays an essential role in macrophage migratory capacity. *Nat. Commun.* 2016; 7: 11635. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms11635>
121. Будихина А.С., Муругина Н.Е., Максимчик П.В., Дагиль Ю.А., Николаева А.М., Баясова Л.С. и др. О роли гликолиза в продукции провоспалительных цитокинов макрофагами. *Иммунология.* 2019; 40 (5): 11–22. [Budikhina A.S., Murugina N.E., Maximchik P.V., Dagil' Y.A., Nikolaeva A.M., Balyasova L.S., et al. On the role of glycolysis in pro-inflammatory cytokine production by macrophages. *Immunologiya.* 2019; 40 (5): 11–22. (in Russian)]
122. Annane P.D., Bellissant P.E., Cavaillon J.M. Septic shock. *Lancet.* 2005; 365 (9453): 63–78.
123. Cavaillon J.M., Annane D. Compartmentalization of the inflammatory response in sepsis and SIRS. *J. Endotoxin Res.* 2006; 12 (3): 151–70.

124. Shapiro N.I., Howell M.D., Talmor D., Nathanson L.A., Lisbon A., Wolfe R.E., et al. Serum lactate as a predictor of mortality in emergency department patients with infection. *Ann. Emerg. Med.* 2005; 45 (5): 524–8.
125. Nolt B., Tu F., Wang X., Ha T., Winter R., Williams D.L., et al. Lactate and Immunosuppression in Sepsis. *Shock.* 2018; 49 (2): 120–5.
126. Cheng S.C., Scicluna B.P., Arts R.J.W., Gresnigt M.S., Lachmandas E., Giamarellos-Bourboulis E.J., et al. Broad defects in the energy metabolism of leukocytes underlie immunoparalysis in sepsis. *Nat. Immunol.* 2016; 17 (4): 406–13.
127. Arts R.J.W., Gresnigt M.S., Joosten L.A.B., Netea M.G. Cellular metabolism of myeloid cells in sepsis. *J. Leukoc. Biol.* 2017; 101 (1): 151–64.
128. Che Q., Lin L., Ai Q., Ge P., Dai J., Jiang R., et al. Caloric restriction mimetic 2-deoxyglucose alleviated lethal liver injury induced by lipopolysaccharide/d-galactosamine in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015; 459 (3): 541–6.
129. Zheng Z., Ma H., Zhang X., Tu F., Wang X., Ha T., et al. Enhanced glycolytic metabolism contributes to cardiac dysfunction in polymicrobial sepsis. *J. Infect. Dis.* 2017; 215 (9): 1396–406.
130. Anez-Bustillos L., Dao D.T., Finkelstein A., Pan A., Cho B.S., Mitchell P.D., et al. Metabolic and inflammatory effects of an ω -3 fatty acid-based eucaloric ketogenic diet in mice with endotoxemia. *J. Parenter. Enteral Nutr.* 2019; 43 (8): 986–97.
131. Nandivada P., Fell G.L., Pan A.H., Nose V., Ling P.R., Bistrian B.R., et al. Eucaloric ketogenic diet reduces hypoglycemia and inflammation in mice with endotoxemia. *Lipids.* 2016; 51 (6): 703–14.
132. Rahmel T., Hübner M., Koos B., Wolf A., Willemsen K.M., Strauß G., et al. Impact of carbohydrate-reduced nutrition in septic patients on ICU: study protocol for a prospective randomised controlled trial. *BMJ Open.* 2020; 10 (7): e038532.
133. Ajaz S., McPhail M.J., Singh K.K., Mujib S., Trovato F.M., Napoli S., et al. Mitochondrial metabolic manipulation by SARS-CoV-2 in peripheral blood mononuclear cells of COVID-19 patients. *Am. J. Physiol. Physiol.* 2020; Nov 5. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00426.2020>
134. Codo A.C., Davanzo G.G., Monteiro L. de B., de Souza G.F., Muraro S.P., Virgilio-da-Silva J.V., et al. Elevated glucose levels favor SARS-CoV-2 infection and monocyte response through a HIF-1 α /glycolysis-dependent axis. *Cell Metab.* 2020; 32 (3): 437–46.e5.

Сведения об авторах

Будихина Анна Сергеевна – канд. мед. наук, науч. сотр. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Российская Федерация
E-mail: budikhina@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-7718-6689>

Пашенков Михаил Владимирович – д-р мед. наук, и.о. зав. лабораторией клинической иммунологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Российская Федерация
E-mail: mvpashenkov@yandex.ru
<http://orcid.org/0000-0002-6995-1790>

Authors' information

Anna S. Budikhina – PhD, Researcher of the Laboratory of Clinical Immunology of NRC Institute of Immunology FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: budikhina@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-7718-6689>

Mikhail V. Pashenkov – MD, PhD, Acting Head of the Laboratory of Clinical Immunology of NRC Institute of Immunology FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: mvpashenkov@yandex.ru
<http://orcid.org/0000-0002-6995-1790>