

IWONA CICHON, ELŻBIETA KOŁACZKOWSKA

*Zakład Immunologii Ewolucyjnej  
Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych  
Uniwersytet Jagielloński  
Gronostajowa 9, 30-387 Kraków  
E-mail: ela.kolaczowska@uj.edu.pl*

## IMMUNOMETABOLIZM CZYLI JAK PROCESY BIOCHEMICZNE KONTROLUJĄ FUNKCJE OBRONNE LEUKOCYTÓW\*

### WSTĘP

Układ odpornościowy chroni nasz organizm przed patogenami i wydzielanymi przez nie toksynami, na które jesteśmy nieustannie narażeni. W warunkach homeostazy, komórki układu odpornościowego są relatywnie nieaktywne, jednak po rozpoznaniu patogenów i/lub zmienionych struktur własnych ulegają aktywacji, produkując szeroką gamę mediatorów, w tym cytokin, chemokin i peptydów przeciwbakteryjnych (PEARCE i PEARCE 2013). Ponadto, komórki te przemieszczają się w organizmie pomiędzy różnymi tkankami i narządami, np. przechodzą z krwi do tkanek objętych zapaleniem. Taka intensywna aktywność leukocytów w czasie reakcji odpornościowej wymaga znaczącego nakładu energetycznego i skutkuje zwiększonym metabolizmem komórkowym. Dodatkowo, w ostatnich latach, zwrócono uwagę na fakt, iż komórki układu odpornościowego są zdolne do przełączania metabolizmu pod wpływem zmieniających się warunków środowiska wewnątrz- i zewnątrzkomórkowego, co jest kluczowe dla sprawowania prawidłowych funkcji obronnych (O'NEILL i współaut. 2016). Obserwowana jest również odwrotna zależność; zmiany w metabolizmie leukocytów mogą prowadzić do zmian ich fenotypu i co za tym idzie, działania. Początkowo naukowcy zajmujący się związkiem pomiędzy immunologią a metabolizmem byli zainteresowani poznaniem mechanizmów odpowiedzi immunologicznej towarzyszącej chorobom meta-

bolicznym, takim jak otyłość czy cukrzyca (ZHANG i współaut. 2007, VAN GREEVENBROEK i współaut. 2013). Badania te doprowadziły m.in. do stwierdzenia, iż nadmiar tkanki tłuszczowej uruchamia odpowiedź układu odpornościowego, co w konsekwencji prowadzi do chronicznego, choć o niskim stopniu nasilenia stanu zapalnego towarzyszącego otyłości (HEILBRONN i CAMPBELL 2008). Obecnie związek pomiędzy odpornością a metabolizmem jest opisywany jako „immunometabolizm” i pod tym pojęciem rozumiemy zależność pomiędzy podstawowymi procesami biochemicznymi: metabolizmem składników odżywczych i produkcją energii a funkcjonowaniem leukocytów i przebiegiem procesów immunologicznych. W niniejszym opracowaniu skupimy się na wybranych zagadnieniach dotyczących immunometabolizmu neutrofile, makrofagów i limfocytów.

### ZARYS STRATEGII OBRONNYCH LEUKOCYTÓW

Mechanizmy obronne leukocytów, mających zdolność do przemieszczania się po organizmie komórek układu odpornościowego, możemy podzielić na wrodzone oraz nabyte. Komórki wrodzonego układu odpornościowego: neutrofile i inne granulocyty oraz makrofagi i komórki dendrytyczne, rozpoznają wzorce molekularne związane z patogenami (ang. patogen associated molecular pattern, PAMP), charakterystyczne struktury patogenów, np. lipopolisacharyd (LPS) bakterii czy

\*Praca powstała dzięki wsparciu finansowemu Narodowego Centrum Nauki w ramach grantu 2014/15/B/NZ6/02519 (Opus 8).

mannany drożdży, za pośrednictwem obecnych na ich powierzchni receptorów rozpoznających wzorce (ang. pattern recognition receptors, PRR), np. receptorów Toll-podobnych (ang. Toll-like receptors, TLR) (ZYKAK i współaut. 2013, JIN i współaut. 2014). Innym typem wzorców rozpoznawanych przez leukocyty są wzorce molekularne związane z uszkodzeniem/niebezpieczeństwem (ang. damage/danger associated molecular pattern, DAMP), do których zalicza się struktury, które w prawidłowych warunkach występują we wnętrzu komórek własnych, ale są z nich uwalniane po ich uszkodzeniu. Są to między innymi: jądrowe/chromosomalne białko HMGB1 (ang. high mobility group box protein-1), białka szoku cieplnego (ang. heat shock proteins, hsp), kwas moczowy, czy własne DNA (RANI i współaut. 2017). Aktywowane komórki odpowiedzi wrodzonej zapoczątkowują odpowiedź zapalną, zwalczając infekcję i/lub uczestnicząc w naprawie tkanek (MILLS i współaut. 2016).

W obrębie komórek stanowiących pierwszą linię obrony organizmu, kluczową rolę odgrywają neutrofile i makrofagi. Neutrofile realizują swoje funkcje obronne na drodze jednego z trzech głównych procesów (1) fagocytozy, czyli zabijania wewnątrzkomórkowego (pochłonięcia patogenu i jego wewnątrzkomórkowego enzymatycznego strawienia, bądź zabicia w trakcie wybuchu tlenowego), (2) degranulacji, czyli zabijania zewnątrzkomórkowego, po wydzieleniu do środowiska enzymów i białek przeciwbakteryjnych z ziarnistości oraz (3) poprzez wyrzucenie neutrofilowych sieci zewnątrzkomórkowych (ang. neutrophil extracellular trap, NET), które mają za zadanie schwytać i unieszkodliwienie mikroorganizmów. Te ostatnie struktury składają się z DNA, do którego przyłączone są histony oraz enzymy i peptydy pochodzące z ziarnistości i cytoplazmy neutrofilii (PIJANOWSKI i współaut. 2011). Zostały one omówione pracach PIJANOWSKI i współaut. oraz SANTOCKI i KOŁACZKOWSKA zamieszczonych w tym zeszycie KOSMOSU.

Wybuch tlenowy, który prowadzi do powstania reaktywnych form tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS), zachodzi dzięki istnieniu w błonach komórek i fagosomów (pęcherzyków zawierających pochłonięte patogeny) kompleksów oksydazy NADPH (PANDAY i współaut. 2015). Ten kompleks enzymatyczny katalizuje reakcję przeniesienia elektronu ze zredukowanej formy fosforanu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADPH), znajdującego się po wewnętrznej stronie błony plazmatycznej, na tlen cząsteczkowy, znajdujący się w płynie zewnątrzkomórkowym lub we wnętrzu tworzącego się fagosomu, powodując jednoelektronową

redukcję cząsteczki tlenu do anionorodnika ponadtlenkowego ( $O_2^-$ ) (PANDAY i współaut. 2015). Pod wpływem stymulacji fagocytów, latentny kompleks oksydazy NADPH (zwanej również NOX2, ang. nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase 2) jest aktywowany, co pozwala na generowanie bakteriobójczego anionorodnika ponadtlenkowego, nadtlenku wodoru oraz pozostałych ROS i ich dalszych metabolitów (PANDAY i współaut. 2015). Dodatkowo generowane są reaktywne formy azotu, takie jak tlenek azotu (ang. nitric oxide NO) (AKTAN 2004).

Makrofagi dzielimy w oparciu o różnice w ekspresji markerów cytoplazmatycznych, wydzielane substancje oraz o zróżnicowaną odpowiedź na bodźce stymulujące, na dwie główne populacje: aktywowane klasycznie (fenotyp M1) oraz aktywowane alternatywnie (fenotyp M2). Makrofagi M1 charakteryzują się znaczną produkcją mediatorów zapalenia w odpowiedzi na czynniki prozapalne takie jak LPS i IFN- $\gamma$ , natomiast makrofagi M2 wykazują właściwości przeciwzapalne w odpowiedzi m.in. na IL-4 (MILLS i O'NEILL 2016, GORDON i MARTINEZ-POMARES 2017). Należy zaznaczyć, że obecnie wyróżnia się również formy pośrednie pomiędzy fenotypami M1 i M2 (MARTINEZ i GORDON 2014), ale w niniejszej pracy skoncentrujemy się tylko na tych dwóch głównych formach funkcjonalnych makrofagów.

Makrofagi, podobnie jak neutrofile, są wyspecjalizowane do przeprowadzania fagocytozy, produkcji ROS i NO, a także produkcji szeregu mediatorów i cytokin (NAZIMEK i BRYNIARSKI 2012). Co więcej, sprawują funkcję komórek prezentujących antygeny (ang. antygen presenting cells, APC) limfocytom T, co umożliwia aktywację tych drugich.

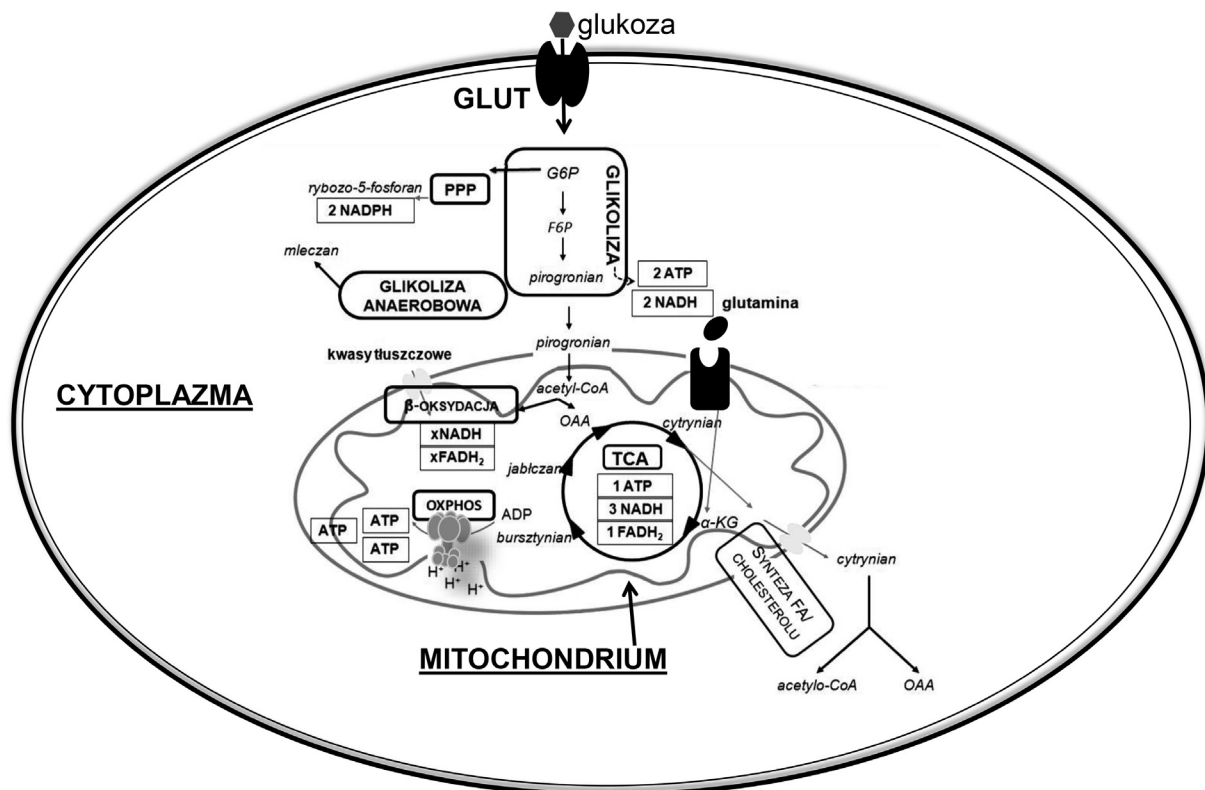
Limfocyty T obejmują kilka populacji: limfocyty cytotoksyczne (Tc), limfocyty pomocnicze (ang. T helper, Th) i limfocyty regulatorowe (ang. Treg). Limfocyty cytotoksyczne wydzielają cytotoxiczne białka (perforyny, granzymy) i/lub kierują zainfekowane lub zmienione komórki własne na drogę apoptozy (programowanej śmierci komórkowej) (JANEWAY i współaut. 2001). Limfocyty T pomocnicze, wśród których wyróżnia się wiele subpopulacji: Th1, Th2, Th17, Th9, Th pęcherzykowe (ang. follicular helper T cells), po aktywacji, proliferacji i zróżnicowaniu, odgrywają istotną rolę w odpowiedzi immunologicznej, w czasie której pośredniczą i wspomagają aktywację komórek, zarówno wrodzonej, jak i nabytej odporności (LUCKHEERAM i współaut. 2012). Limfocyty T regulatorowe stanowią populację odpowiedzialną za wyciszenie nadmiernej reakcji odpornościowej, poprzez wydzielanie cytokin immunosupresyjnych (np. TGF- $\beta$ , IL-10),

chronią przed autoagresją oraz odpowiadają za utrzymanie tolerancji immunologicznej na poziomie całego organizmu (LUCKHEERAM i współaut. 2012). Z kolei efektorowe limfocyty B, po rozpoznaniu antygeny i aktywacji przez limfocyty Th2, ulegają przekształceniu w komórki plazmatyczne, których podstawową funkcją jest produkcja przeciwciał. Struktury te mogą neutralizować toksyny bakteryjne, blokować wnikanie patogenów do komórek (np. wiążąc wirusy), opsonizować patogeny, aktywować cytotoxicytność i układ dopełniacza, przyczyniając się do eliminacji patogenów (ALBERTS i współaut. 2002). Oba typy limfocytów, T i B, po rozpoznaniu antygeny proliferują, a wśród komórek potomnych wyróżniamy limfocyty efektorowe, uczestniczące bezpośrednio w walce z patogenami, oraz limfocyty pamięci, które nie angażują się w bieżącą walkę i pozostają w organizmie przez kilka, kilkanaście lat. Ich zadaniem jest szybsza i efektywniejsza reakcja w sytuacji ponownego wniknie-

cia tego samego patogenu do organizmu w przyszłości (LUCKHEERAM i współaut. 2012).

### ATP – „ENERGETYCZNA WALUTA KOMÓRKI”

Funkcjonowanie wszystkich komórek organizmu, w tym leukocytów, wymaga energii. Podstawową cząsteczką przenoszącą energię jest adenozynotrifosforan (ATP), który jest nukleotydem składającym się z adeniny, rybozy i trifosforanu, a swój wysokoenergetyczny charakter cząsteczka ta zyskuje dzięki obecności dwóch bezwodnikowych wiązań fosforanowych (STRYER i współaut. 2003). Energia uwalniana jest, gdy ATP ulega hydrolizie częściowej do adenozynodifosforanu (ADP) i ortofosforanu ( $P_i$ ), bądź całkowitej hydrolizie do adenozynomonofosforanu (AMP) i pirofosforanu ( $PP_i$ ). W typowej komórce ATP jest nieustannie przetwarzany, już w ciągu minuty od jego powstania. Najlepiej fakt ten obrazuje wyliczenie, że w ciągu doby, czło-



Ryc. 1. Podstawowe i pomocnicze szlaki metaboliczne zachodzące w komórkach organizmu: glikoliza, szlak pentozofosforanowy (PPP), cykl kwasu cytrynowego (TCA),  $\beta$ -oksydacja, synteza kwasów tłuszczowych (FA) i cholesterolu, fosforylacja oksydacyjna (OXPHOS). GLUT, transporter glukozy; Slc1a5, transporter glutaminy; G6P, glukoza-6-fosforan; F6P, fruktozo-6-fosforan; NADPH, fosforan dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (forma zredukowana); NADH, dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (forma zredukowana); FADH<sub>2</sub>, dinukleotyd flawinoadeninowy (forma zredukowana); ATP, adenozynotrifosforan; ADP, adenozynodifosforan; acetylo-CoA, acetylokoenzym A; OAA, szczawiooctan;  $\alpha$ -KG,  $\alpha$ -ketoglutaran. Na rycinie nazwy szlaków i ich substraty zaznaczono pogrubioną czcionką, nazwy produktów pośrednich szlaków kursywą.

wiek w stanie spoczynku zużywa aż 40 kg ATP (STRYER i współaut. 2003).

## PODSTAWOWE SZLAKI METABOLICZNE

Energia w postaci ATP i/lub siły redukcyjnej może być produkowana poprzez szybko zachodzące procesy (związane z enzymami cytozoolowymi i/lub mitochondrialnymi): glikolizę i szlak pentozofosforanowy, cykl Krebsa, glutaminolizę, bądź procesy zachodzące wolno (związane z aktywacją mitochondrialną): fosforylację oksydacyjną oraz utlenianie kwasów tłuszczowych ( $\beta$ -oksydację). Przebieg podstawowych i pomocniczych szlaków metabolicznych został zilustrowany na Ryc. 1.

### GLIKOLIZA I SZLAK PENTOZOFOSFORANOWY

Glikoliza jest łańcuchem reakcji przekształcających glukozę w pirogronian i jest stosunkowo mało wydajnym procesem wytwarzania energii, gdyż prowadzi do powstania zaledwie dwóch cząsteczek ATP. Natomiast zaletą glikolizy jest jej szybkość, tak więc na szlak ten wchodzi komórki, które muszą uzyskać energię natychmiast (DELMASTRO-GREENWOOD i PIGANELLI 2013). Przykładem komórki, której metabolizm bazuje głównie na pozyskiwaniu energii z glikolizy jest neutrofil, który musi ulec natychmiastowej aktywacji po rozpoznaniu patogenu i, co także istotne, posiada niewiele mitochondriów (MAIANSKI i współaut. 2004) (patrz „Przemiany metaboliczne w neutrofilach”).

Na glikolizę składa się dziesięć reakcji, które zachodzą w cytoplazmie komórki i jest to etap wstępny do cyklu kwasu cytrynowego (Krebsa) oraz fosforylacji oksydacyjnej (OXPHOS), dzięki którym komórka pozyskuje największą liczbę cząsteczek ATP. Warunkiem niezbędnym do rozpoczęcia glikolizy jest pobranie przez komórkę glukozy ze środowiska zewnętrznego. W tym procesie wykorzystywane są transportery glukozy (ang. glucose transporters, GLUT), które uczestniczą w korzystnym termodynamicznie, zgodnym z gradientem stężeń, transporcie glukozy w poprzek błony komórkowej (MUECKLER i THORENS 2013). Miejsce wiążące glukozę na GLUT, zwrócone początkowo na zewnątrz komórki, po związaniu substratu ulega ewersji (odwróceniu) na skutek zmian konformacyjnych wewnątrz cząsteczki transportera, w kierunku wnętrza komórki. Na wystętkach komórkach ssaczy powszechnie występują transportery GLUT1, GLUT3 i GLUT4, które transportują glukozę w poprzek błony plazmatycznej do wnętrza komórki w sposób ciągły (SCHUSTER i współaut. 2007). GLUT 1 występuje w przede wszystkim w mózgu i w erytrocytach (WOOD i TRAYHURN 2003).

Niższą ekspresję genu dla tego transportera wykazano w tkance tłuszczowej, mięśniach i wątrobie. GLUT 3 ma duże powinowactwo do glukozy, dlatego występuje w tkankach, gdzie zapotrzebowanie na ten substrat energetyczny jest bardzo duże, w szczególności w mózgu. GLUT 4, znany jest jako transporter glukozy odpowiedzi na insulinę, obecny jest w sercu, mięśniach szkieletowych i tkance tłuszczowej. W efekcie działania insuliny, GLUT4 przemieszcza się z cytoplazmy do błony komórkowej, prowadząc do nawet 20-krotnego zwiększenia transportu glukozy. Jednak w przebiegu cukrzycy, ekspresja *glut4* obniża się w tkance tłuszczowej (WOOD i TRAYHURN 2003).

Enzymami katalizującymi decydujące etapy szlaku glikolizy są: heksokinaza uczestnicząca w przemianie glukozy do glukoz-6-fosforanu (G6P), fosfofruktokinaza oraz kinaza pirogronianowa, natomiast ostatecznym produktem cyklu są dwie cząsteczki pirogronianu stanowiące substrat dla dalszych przemian metabolicznych (Ryc. 1).

Glukoza jest także niezbędna do przeprowadzenia szlaku pentozofosforanowego (ang. penthose phosphate pathway, PPP), choć nie wchodzi bezpośrednio w cykl PPP. Po przemianie glukozy w pierwszej reakcji glikolizy, katalizowanej przez heksokinazę, uzyskiwany jest bezpośredni substrat zapoczątkowujący ten proces, a zatem szlak pentozofosforanowy jest ściśle zależny od przemian glikolitycznych (STRYER i współaut. 2003). Najważniejszą funkcją szlaku PPP jest dostarczanie komórce NADPH, niezbędnego do reakcji redukcji w cytozolu (STRYER i współaut. 2003). NADPH jest wytwarzany poprzez utlenienie glukoz-6-fosforanu w reakcji katalizowanej przez dehydrogenazę glukoz-6-fosforanu (ang. glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD). Ostatecznymi produktami cyklu są: rybozo-5-fosforan, niezbędny do syntezy nukleotydów i kwasów nukleinowych, oraz dwie cząsteczki NADPH wykorzystywane m. in. przez oksydazę NADPH znajdującą się w błonach komórek fagocytujących do produkcji reaktywnych form tlenu (PANDAY i współaut. 2015).

### SZLAKI METABOLICZNE ZACHODZĄCE W MITOCHONDRiach

Cykl kwasu cytrynowego, zwany również cyklem kwasów trójkarboksylowych (ang. tricarboxylic acid cycle, TCA) lub cyklem Krebsa, jest wspólnym szlakiem utleniania aminokwasów, węglowodanów i kwasów tłuszczowych, przebiegającym w mitochondriach (STRYER i współaut. 2003). Cykl, choć nieefektywny w wytwarzaniu ATP, netto powstaje tylko jedna jego cząsteczka, to jest źródłem produktów pośrednich: NADH

(dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego) i  $FADH_2$  (dinukleotydu flawinoadeninowego) oraz acetylokoenzymu A (acetylo-CoA), niezbędnych do innych syntez (STRYER i współaut. 2003). Cykl rozpoczyna się od przemiany cytrynianu do izocytrynianu, z którego kolejno powstaje  $\alpha$ -ketoglutaran (w reakcji generowana jest jedna cząsteczka NADH), produkt łączący cykl TCA ze szlakiem przemian aminokwasów (MILLS i O'NEILL 2016). Glutamina, aminokwas odgrywający szczególnie istotną rolę w funkcjonowaniu i przetrwaniu komórek intensywnie proliferujących (NEWSHOLME i współaut. 2003), w cyklu przemian zwanym glutaminolizą, pod wpływem enzymu glutaminazy ulega hydrolizie do glutaminianu. Następnie, w reakcji katalizowanej przez dehydrogenazę glutaminianową, ulega deaminacji (odłączeniu grupy aminowej), co prowadzi do powstania  $\alpha$ -ketoglutaranu (WASINSKI i współaut. 2014). Kolejno, w cyklu TCA,  $\alpha$ -ketoglutaran ulega przemianie do bursztynianu (powstaje druga cząsteczka NADH), który przekształca się w fumaran (z wytworzeniem jednej cząsteczki  $FADH_2$ ), z którego po przyłączeniu cząsteczki wody tworzy się jabłczan. Jabłczan ulega następnie przemianie do szczawiooctanu (OAA) z wytworzeniem ostatniej już cząsteczki NADH w cyklu (Ryc. 1). Produkty cyklu Krebsa są wykorzystywane do syntezy ATP w dalszych przemianach metabolicznych, tj. fosforylacji oksydacyjnej (łańcuchu transportu elektronów) i utlenianiu kwasów tłuszczowych.

Utlenianie kwasów tłuszczowych,  $\beta$ -oksydacja, to proces zachodzący w mitochondriach komórek, w czasie którego długo- i krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (ang. fatty acids, FA) ulegają przekształceniu w produkty, które mogą zostać wykorzystane do syntezy ATP w łańcuchu transportu elektronów (STRYER i współaut. 2003). Pierwszym etapem szlaku jest aktywacja FA, odbywająca się w cytozolu, polegająca na przyłączeniu acetylo-CoA do reszty kwasu tłuszczowego. Następnie, w zależności od długości łańcucha alifatycznego, kwasy tłuszczowe są transportowane na drodze dyfuzji do macierzy mitochondrium (krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, < 6 atomów węgla) lub są przenoszone z udziałem enzymu karnityno-palmitoil-transferazy 1 (ang. carnitine palmitoyltransferase 1, CPT1; kwasy tłuszczowe zawierające > 6 atomów węgla). Po wewnętrznej stronie błony mitochondrialnej inny enzym, CPT2, jest odpowiedzialny za usunięcie karnityny z kompleksu z acetylo-CoA-FA, która wraca do cytozolu i może wiązać kolejne kwasy tłuszczowe (O'NEILL i współaut. 2016). W macierzy mitochondrium kwasy tłuszczowe są rozkładane przez stop-

niowe usuwanie jednostek dwuwęglowych, a każdy cykl prowadzi do powstania acetylo-CoA, NADH i  $FADH_2$  (STRYER i współaut. 2003).

NADH i  $FADH_2$  wytworzone podczas glikolizy, utleniania kwasów tłuszczowych i cyklu kwasu cytrynowego są wykorzystywane w szeregu reakcji, określonych wspólnie mianem fosforylacji oksydacyjnej (ang. oxidative phosphorylation, OXPHOS), zachodzącej w wewnętrznej błonie mitochondrialnej (JONCKHEERE i współaut. 2012). OXPHOS jest głównym źródłem ATP w organizmach oddychających tlenowo i jest to proces skomplikowany pod względem mechanizmu molekularnego, obejmujący przepływ elektronów przez szereg przenośników na końcowy akceptor, którym jest tlen cząsteczkowy. Mitochondrialna oksydacja pirogronianu czy kwasów tłuszczowych generuje odpowiednio 31,5 oraz 113 cząsteczek ATP (WEINBERG i współaut. 2015). Jest to możliwe dzięki istnieniu w wewnętrznej błonie mitochondrialnej kompleksu enzymatycznego, syntazy ATP ( $F_0F_1$ -ATPazy), złożonej z kanałowej podjednostki  $F_0$  (strona cytoplazmatyczna) i katalitycznej podjednostki  $F_1$  (strona macierzy) (JONCKHEERE i współaut. 2012). Fizjologiczna rola  $F_1$  polega na katalizowaniu syntezy ATP, dzięki wytworzonemu gradientowi protonowemu, za pośrednictwem przepływu protonów przez hydrofobowy segment  $F_0$ . Dodatkowo, dodatni potencjał błonowy tworzy duże, lokalne stężenie jonów wodorowych ( $H^+$ ), przyczyniając się tym samym do syntezy ATP. Liczba ATP powstających w procesie glikolizy czy cyklu Krebsa jest liczbą całkowitą, natomiast liczba uzyskanych na drodze fosforylacji oksydacyjnej cząsteczek ATP niekoniecznie musi być całkowita, co wynika ze stechiometrii reakcji chemicznych oraz stechiometrii przepływu protonów. Syntezę jednej cząsteczki ATP napędzają bowiem 4 protony, podczas gdy np. transport ze strony cytoplazmatycznej do macierzy mitochondrialnej pary elektronów z NADH, prowadzi do wypompowania przez kompleksy łańcucha transportu elektronów, łącznie 10  $H^+$ , co pozwala na wytworzenie 2,5 cząsteczek ATP ( $10 H^+/4 = 2,5$ ) (STRYER i współaut. 2003).

#### mTOR – CENTRALNA ROLA W IMMUNOMETABOLIZMIE

Metabolizm tlenowy (oksydacyjny) jest wysoce efektywny w generowaniu energii, jednak przemiana związków węglowych do dwutlenku węgla celem syntezy ATP, ogranicza zdolność do syntezy dużych cząsteczek (RATHMELL 2012). Glikoliza, sprzężona z metabolizmem glutaminy, pozwala jed-

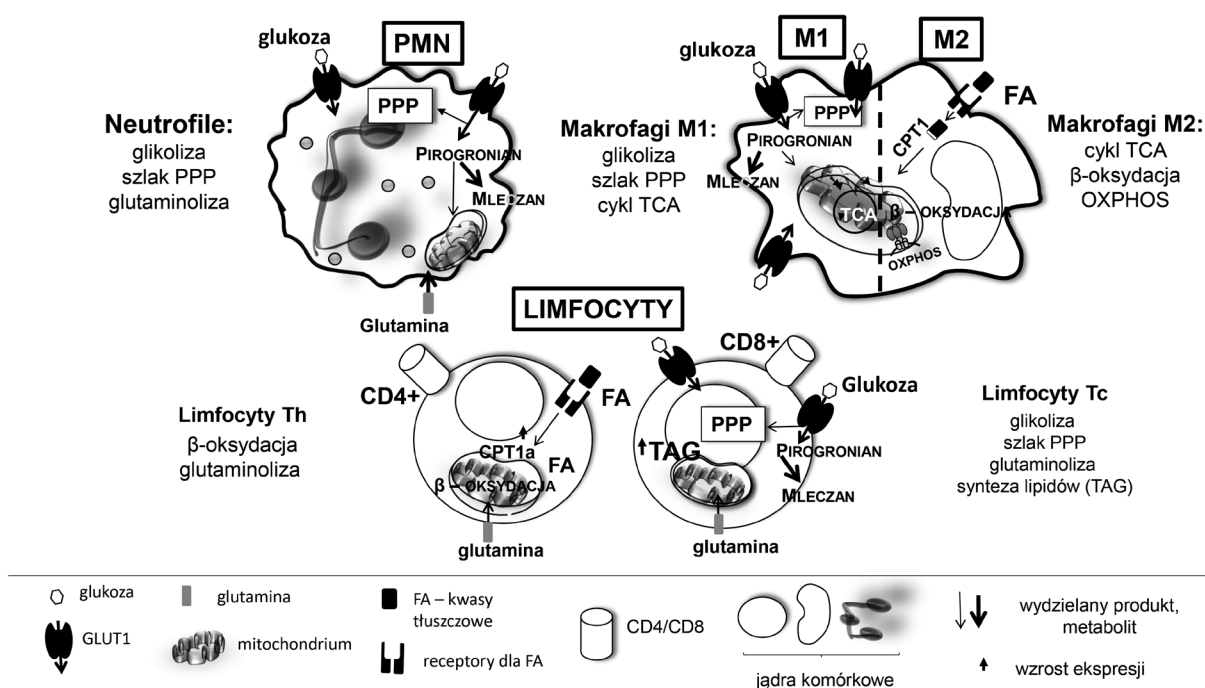
nak na dostarczenie ATP, jak również produktów pośrednich niezbędnych do syntezy nukleotydów, lipidów i aminokwasów. Zdolność komórek do przesunięcia metabolizmu z oksydacyjnego na glikolityczny i odwrotnie, musi podlegać ścisłej regulacji w zależności od tego czy komórka pozostaje w stanie spoczynku, czy też intensywnie się dzieli (RATHMELL 2012). Z punktu widzenia komórki należącej do układu odpornościowego ma to niebagatelne znaczenie, gdyż np. limfocyty pod wpływem stymulacji wchodzą w cykl komórkowy średnio co 4-6 h, a intensywnie proliferując wymagają nie tylko dużego nakładu ATP, ale także znacznej liczby prekursorów do różnego rodzaju biosyntezy, umożliwiających różnicowanie nowo powstających limfocytów (RATHMELL 2012). Jednym z mechanizmów sygnalizacyjnych, ściśle kontrolujących metabolizm komórek, jest anaboliczny szlak – ssaczy cel rapamycyny (ang. mammalian target of rapamycin, mTOR), który odpowiada za utrzymanie odpowiedniego stanu energetycznego, regulację ekspresji cytokin, prezentację antygenów, polaryzację makrofagów i migrację komórek do miejsca zapalenia (WEICHART i współaut. 2015). Specyficznym inhibitorem szlaku mTOR jest rapamycyna, która została opisana po raz pierwszy jako lek o działaniu przeciwrzybczym, a następnie scharakteryzowana jako substancja efektywnie hamująca proliferację limfocytów T (WEICHHART i SÄEMANN 2009). Szlak mTOR aktywowany jest w odpowiedzi na sygnały środowiskowe, w tym składniki odżywcze oraz obecność czynników wzrostu i cytokin. W warunkach prawidłowych, pod wpływem składników odżywczych/czynników wzrostu, dochodzi do aktywacji mTOR, natomiast przy ich braku aktywność szlaku zostaje zahamowana (RAO i współaut. 2010). mTOR tworzy dwa wielkocząsteczkowe kompleksy: mTORC1 i mTORC2. Pierwszy kompleks odpowiada m.in. za podziały komórkowe, natomiast mTORC2 jest odpowiedzialny głównie za organizację cytoszkieletu (JANUS i SMOLEWSKI 2007).

W układzie odpornościowym aktywacja szlaku mTOR następuje pod wpływem stymulacji receptorów TLR, receptorów dla cytokin (np. IL-2, IL-4), jak również pod wpływem aktywacji receptorów wiążących antygeny na powierzchni limfocytów T czy B (WEICHHART i SÄEMANN 2009). Bez odpowiedniej aktywacji, kompleksy mTORC1 i 2 pozostają w tych komórkach nieaktywne. mTOR wpływa na funkcje komórek układu immunologicznego m.in. poprzez indukcję: czynnika transkrypcyjnego HIF-1 $\alpha$  (ang. hypoxia inducible factor), PPAR $\gamma$  (ang. peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ ), SREBPs (ang. sterol regulatory element-binding proteins),

indukując syntezę kwasów nukleinowych, białek i lipidów. Dodatkowo wzmagają przemiany metaboliczne poprzez nasilenie procesów glikolizy i fosforylacji oksydacyjnej, dzięki czemu zapewnia leukocytom energię niezbędną dla sprawowania odpowiednich funkcji obronnych (WEICHART i współaut. 2015). Kontrola metabolizmu leukocytów poprzez szlak mTOR odbywa się w szczególności za pośrednictwem HIF-1 $\alpha$ , czynnika indukowanego niedotlenieniem (hipoksją). Stężenie tlenu w warunkach homeostazy, w zdrowych tkankach, mieści się w granicach od 2,5 do 9%, podczas gdy w trakcie zapalenia spada poniżej 1%, na skutek uszkodzeń naczyń krwionośnych, intensywnej aktywności metabolicznej patogenów oraz znacznego napływu komórek immunokompetentnych do miejsca infekcji (IMTIYAZ i SIMON 2010). HIF-1 jest czynnikiem transkrypcyjnym, funkcjonującym jako heterodimer składający się z HIF-1 $\alpha$  (o ściśle regulowanej ekspresji) i HIF-1 $\beta$  (wykazujący ekspresję konstytutywną) (SCHUSTER i współaut. 2007). W warunkach normoksji (prawidłowej zawartości tlenu w tkankach) HIF-1 $\alpha$  jest degradowany w proteasomie, natomiast w przypadku niedostatecznej zawartości tlenu w tkankach, czynnik ten jest stabilizowany i w kompleksie z HIF-1 $\beta$  ulega translokacji do jądra komórkowego, gdzie wiąże się do DNA i indukuje transkrypcję ponad 100 genów, w tym tych kodujących enzymy uczestniczące w glikolizie oraz transportery glukozy (LIU i współaut. 2012). Wykazano, iż HIF-1 $\alpha$  pobudza także ekspresję dehydrogenazy mleczanu (LDH), enzymu katalizującego przemianę pirogronianu w mleczan, co ogranicza przebieg cyklu Krebsa poprzez zmniejszenie puli acetylo-CoA, a promuje glikolizę beztlenową (KELLY i O'NEILL 2015). HIF-1 $\alpha$  zwiększa także poziom kinazy dehydrogenazy pirogronianowej, która hamuje dehydrogenazę pirogronianu poprzez przyłączenie fosforanu (enzym katalizujący formowanie acetylo-CoA z pirogronianu), także ograniczając przebieg cyklu TCA (KELLY i O'NEILL 2015). Fakt, iż HIF-1 może być aktywowany przez cytokiny (np. TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ), wskazuje na istotną rolę tego czynnika transkrypcyjnego także w zapaleniu. Co więcej, HIF-1 $\alpha$  sam może zwiększać ekspresję genów dla cytokin prozapalnych takich jak TNF- $\alpha$ , IL-1 i IL-12 (IMTIYAZ i SIMON 2010).

#### PRZEMIANY METABOLICZNE W NEUTROFILACH

Już w latach 50. XX w. zdano sobie sprawę, że neutrofile wykorzystują glukozę i proces glikolizy do pozyskania energii umożliwiającej przeprowadzenie wybuchu tlenowe-



Ryc. 2. Główne szlaki metaboliczne wykorzystywane przez neutrofile (PMN), makrofagi o fenotypie prozapalnym (M1) i przeciwzapalnym (M2), limfocyty cytotoksyczne (Tc) oraz limfocyty pomocnicze (Th). Glikoliza oraz szlak pentozofosforanowy (PPP) to szlaki metaboliczne zachodzące głównie w neutrofilach, makrofagach M1 oraz limfocytach Tc. Cykl kwasu cytrynowego (TCA) zachodzi zarówno w makrofagach M1, jak i M2, przy czym w makrofagach prozapalnych ma nietypowy, fragmentaryczny przebieg. Makrofagi o fenotypie M2 wykorzystują ponadto fosforylację oksydacyjną (OXPHOS) i  $\beta$ -oksydację kwasów tłuszczowych (FA). Za transport i aktywację tych ostatnich odpowiedzialny jest enzym CPT1a (karnityno-palmitoilo-transferaza 1). W przeciwieństwie do limfocytów Tc, które podczas aktywacji głównie syntetyzują triacyloglicerole (TAG), szlakiem zapewniającym energię limfocytom T pomocniczym jest  $\beta$ -oksydacja.

go (SBARRA i KARNOVCKY 1959, KELLY i O'NEILL 2015). Spójny z tym poglądem jest fakt, że liczba mitochondriów w neutrofilach jest niewielka, a rola tych organelli ogranicza się do utrzymania potencjału mitochondrialnego, regulującego wchodzenie tych komórek na szlak apoptotyczny (KRAMER i współaut. 2014).

Rola glukozy, jako głównego źródła energii dla neutrofilii, nie podlega obecnie dyskusji, gdyż potwierdzono ją w licznych eksperymentach. I tak, neutrofile myszy, stymulowane LPS, charakteryzują się zwiększonym wychwytem glukozy, jak również wzrostem ekspresji genu dla transportera glukozy – GLUT1 (SCHUSTER i współaut. 2007). Głównym procesem, w którym neutrofil pozytywnie wykorzystuje ATP jest glikoliza, gdzie glukoza jest metabolizowana do mleczanu (BORREGAARD i HERLIN 1982, DELMASTRO-GREENWOOD i PIGANELLI 2013) (Ryc. 2). W neutrofilu jedynie 2 do 3% glukozy jest utleniana w cyklu Krebsa (ALBA-LOUREIRO i współaut. 2007). Zahamowanie glikolizy prowadzi do upośledzenia fagocytozy i wewnątrzkomórkowego zabijania patogenów (BORREGAARD i HER-

LIN 1982). Wykazano ponadto, że glikoliza odgrywa istotną rolę w powstawaniu NET, choć nie wyklucza się zaangażowania w ten proces także innych szlaków metabolicznych (RODRÍGUEZ-ESPINOSA i współaut. 2015). Na przykład zastosowanie specyficznego inhibitora syntazy ATP osłabiało tworzenie NET, jednak w mniejszym stopniu niż zahamowanie glikolizy (RODRÍGUEZ-ESPINOSA i współaut. 2015). Glikoliza jest procesem, w którym nie dochodzi do całkowitego utlenienia glukozy (STRYER i współaut. 2003), dlatego też dalsze przemiany produktów pośrednich tego szlaku mogą prowadzić do generowania dodatkowej energii, w postaci ATP, bądź siły redukcyjnej, przyczyniając się do wzrostu puli energetycznej w neutrofilach wykorzystywanej dla sprawowania odpowiednich funkcji obronnych.

Obok glikolizy, ważnym szlakiem metabolicznym zachodzącym w neutrofilach jest szlak pentozofosforanowy, podtrzymujący odpowiedni poziom zredukowanej formy NADPH dla prawidłowego działania oksydazy NADPH (Ryc. 2). Rola szlaku PPP w funkcjonowaniu neutrofilii została szczegółowo

poznana w przypadku pacjentów z deficytem dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu (G6PD), enzymu katalizującego pierwszą reakcję omawianego szlaku (SILER i współaut. 2017). U pacjentów tych obserwuje się zwiększoną podatność na infekcje i upośledzenie zdolności do wytwarzania NET (SILER i współaut. 2017). Wykazano, że pod wpływem stymulacji neutrofilii, aktywność enzymu G6PD wzrasta, natomiast specyficzny inhibitor tego enzymu upośledza proces formowania NET (AZEVEDO i współaut. 2015). W innych badaniach dowiedziono, że wysokie stężenie glukozy obniża wewnątrzkomórkową zawartość NADPH poprzez zahamowanie G6PD (50% spadek NADPH) (PERNER i współaut. 2003). W konsekwencji, niefizjologicznie wysoki poziom tego substratu energetycznego zmniejsza produkcję anionorodnika ponadtlenkowego. Ten sam wynik uzyskano także, gdy zastosowano bezpośredni inhibitor G6PD (PERNER i współaut. 2003). Wyniki te sugerują, iż szlak PPP odgrywa istotną rolę w procesie zabijania zależnego od tlenu, a tym samym wpływa na zdolność neutrofilii do eliminacji patogenów. Ponadto, przedstawione dane zwracają uwagę na rolę fizjologicznego poziomu glukozy w organizmie dla utrzymania prawidłowych funkcji obronnych neutrofilii. Zwłaszcza, że w patologii cukrzycy neutrofile charakteryzują się upośledzoną chemotaksją, aktywnością przeciwbakteryjną, fagocytozą i ograniczoną produkcją ROS (ALBA-LOUREIRO i współaut. 2007).

Równie istotny dla prawidłowego funkcjonowania neutrofilii jest szlak przemian glutaminy, gdyż aminokwas ten jest nie tylko substratem dla pozyskania ATP i NAD(P)H, ale także bierze udział w biosyntezie wielu białek (np. cytokin) i lipidów (np. triacylogliceroli) (PITHON-CURI i współaut. 2003) (Ryc. 2). Wykazano, że glutamina opóźnia proces spontanicznej apoptozy neutrofilii, z drugiej strony jej poziom (ale nie innych aminokwasów) spada w neutrofilach przechodzących przez proces programowanej śmierci (NUNN i współaut. 1996), a usunięcie wewnątrzkomórkowego glutaminianu indukuje proces apoptozy (O'NEILL i współaut. 2000). Glutamina jest więc istotna dla skutecznej eliminacji patogenów w czasie zapalenia, ponieważ opóźniona apoptoza wydłuża czas przeżycia neutrofilii w ognisku zapalnym pozwalając na dłuższą walkę z infekcją. Dodatkowo, glutamina wspomaga proces fagocytozy. Neutrofile utrzymywane w warunkach *in vitro* w obecności glutaminy wykazywały znacząco większą zdolność do fagocytozy bakterii i składników drożdży, w porównaniu do komórek pozbawionych tego aminokwasu w pożywce hodowlanej (PITHON-CURI i współaut. 2003).

Czynnikiem kluczowym dla aktywacji neutrofilii i ich przetrwania jest HIF-1 $\alpha$  (WALMSLEY i współaut. 2005). Jest to zrozumiałe biorąc pod uwagę, że w miejscu zapalenia obserwuje się wysokie stężenie mleczanów, ale niski poziom tlenu (SCHOR i współaut. 2000). Wykazano, że neutrofile myszy nokaut, z niefunkcyjnym genem kodującym HIF-1 $\alpha$ , wykazują o 40% niższy poziom wewnątrzkomórkowego ATP. Podobne wyniki uzyskano po zastosowaniu specyficznego inhibitora glikolizy, a tym samym potwierdzono, iż HIF-1 $\alpha$  jest istotny dla utrzymania odpowiedniego poziomu energetycznego w neutrofilach (CRAMER i współaut. 2003).

Ponadto, podczas migracji neutrofilii do miejsca zapalenia HIF-1 $\alpha$ / $\beta$  zwiększa ekspresję cząsteczki adhezyjnej – integryny  $\beta$ 2, powodując tym samym przyleganie komórek do śródbłonka naczyń i zwiększając efektywność diapedezy (KONG i współaut. 2004).

HIF-1 $\alpha$  podlega ściślejszej regulacji poprzez szlak mTOR, którego udział został opisany także w procesie chemotaksji neutrofilii (CHAREST i FIRTEL 2010). mTORC2 został zidentyfikowany jako kompleks odpowiedzialny za regulację przebudowy cytoszkieletu w neutrofilach, a zablokowanie jego aktywności doprowadza do upośledzenia procesów polaryzacji (przebudowy cytoszkieletu) i migracji neutrofilii (CHAREST i FIRTEL 2010, LIU i współaut. 2010). mTORC1 reguluje natomiast ekspresję cyklooksygenazy 2 (COX-2), co prowadzi do zwiększonej produkcji prostaglandyn, które nasilają reakcję zapalną, powodując zmiany w przepuszczalności naczyń krwionośnych, które umożliwiają napływ leukocytów zapalnych (WEICHHART i współaut. 2015). Wykazano ponadto, że aktywacja mTOR/HIF-1 $\alpha$  w neutrofilach ma znaczenie dla formowania zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych, choć mechanizm ten jest złożony (MCINTURFF i współaut. 2012). Po zastosowaniu specyficznego inhibitora mTOR zablokowano bowiem zdolność do wyrzutu NET pod wpływem stymulacji LPS (MCINTURFF i współaut. 2012), ale nie formylowanych peptydów bakteryjnych (ang. formyl-methionyl-leucyl-phenyl-alanine, fMLP) (ITAKURA i MCCARTY 2013).

#### METABOLICZNE „REPROGRAMOWANIE” MAKROFAGÓW

Metabolizm makrofagów M1 opiera się głównie na przemianach glikolitycznych, nawet w środowisku obfitującym w tlen, którego zużywają bardzo niewiele (STREHL i współaut. 2014) (Ryc. 2). Natomiast alternatywnie aktywowane makrofagi (M2) konsumują znaczne ilości tlenu oraz wykorzy-



stują cykl Krebsa, fosforylację oksydacyjną i  $\beta$ -oksydację, w celu utrzymania odpowiedniego statusu energetycznego (O'NEILL i PEARCE 2016, O'NEILL i współaut. 2016). Metaboliczna plastyczność makrofagów podczas ich aktywacji została potwierdzona w badaniach nad makrofagami myszy, które pod wpływem stymulacji LPS (klasyczna droga aktywacji – fenotyp M1) odznaczały się zmniejszonym zużyciem tlenu (wskaźnik OCR, ang. oxygen consumption rate), a więc oddychaniem tlenowym oraz zwiększonym zakwaszeniem zewnątrzkomórkowym (wskaźnik ECAR, ang. extracellular acidification rate), a zatem zwiększonym poziomem glikolizy (HASCHEMI i współaut. 2012). W przypadku aktywacji makrofagów za pomocą IL-4 (fenotyp M2) obserwowano jedynie niewielki wzrost wskaźnika ECAR, natomiast nie odnotowano zmian w wartości OCR. To potwierdza, iż makrofagi prozapalne M1 podczas aktywacji przechodzą metaboliczne „reprogramowanie” w kierunku glikolizy beztlenowej (HASCHEMI i współaut. 2012). Dysproporcje w zaangażowaniu różnych szlaków metabolicznych w poszczególnych populacjach makrofagów zostały potwierdzone u myszy z deficytem podjednostki wchodzącej w skład kompleksu I łańcucha transportu elektronów, które wykazywały polaryzację makrofagów w kierunku M1 i znacznie osłabioną polaryzację w kierunku M2 (JIN i współaut. 2014). Zmniejszony udział mitochondrialnego metabolizmu tlenowego w makrofagach M1 ma istotne znaczenie dla produkcji reaktywnych form tlenu. Wykazano, iż na skutek prozapalnej stymulacji makrofagów, mitochondria tych komórek przemieszczają się do fagosomów zawierających pochłonięte bakterie, gdzie uczestniczą w produkcji ROS (WEST i współaut. 2011). Wytwarzanie reaktywnych form tlenu przez mitochondria to mechanizm zabijania wewnątrzkomórkowego zależny od tlenu, lecz niezależny od oksydazy NADPH, która zwykle odgrywa dominującą rolę w produkcji komórkowych ROS.

Przesunięcie metabolizmu makrofagów M1 w kierunku glikolizy zostało wielokrotnie potwierdzone (Ryc. 2). W hipoksji, nieodłącznie towarzyszącej zapaleniu, następuje wzmożony wychwyt glukozy, a także wzrost ekspresji genów glikolitycznych w monocytach i makrofagach człowieka (ROINIOTIS i współaut. 2009). Dodatkowo, zwiększone pobieranie glukozy, któremu towarzyszy wzrost aktywacji transportera GLUT1, jest znaną cechą makrofagów aktywowanych LPS (FUKUZUMI i współaut. 1996). Wykazano także, że LPS obniża stosunek ATP/ADP, przez co makrofagi tym bardziej muszą polegać na przemianach glikolitycznych, aby móc sprostać nowo pojawiającym się wymaganiom

energetycznym (MILLS i współaut. 2016). A zapotrzebowanie na ATP tych komórek jest bardzo duże, np. zahamowanie syntazy ATP hamuje produkcję IL-1 $\beta$  po aktywacji LPS (MILLS i współaut. 2016).

Znaczenie biogenezy mitochondrialnej w metabolizmie i sprawowaniu funkcji makrofagów M1 zostało wykazane w badaniach nad przebiegiem cyklu Krebsa, zachodzącym w tych komórkach (Ryc. 2). Cykl TCA zachodzi w nich w sposób nietypowy, fragmentaryczny i ulega rozprzężeniu w dwóch miejscach: i po syntezie cytrynianu, i po syntezie bursztynianu (JHA i współaut. 2015). W wyniku tego, oba powyższe produkty pośrednie cyklu ulegają akumulacji w makrofagach i pełnią określone, choć niestandardowe funkcje. I tak, nagromadzenie cytrynianu w makrofagach M1 jest szczególnie istotne dla produkcji trzech ważnych mediatorów prozapalnych: reaktywnych form tlenu, prostaglandyn i tlenku azotu (INFANTINO i współaut. 2011). Dla powstania tego ostatniego kluczowe jest, że z cytrynianu powstaje NADPH, który następnie jest wykorzystywany przez indukowalną syntazę tlenku azotu (ang. inducible nitric oxide synthase, iNOS) do produkcji NO. NADPH jest też niezbędny dla funkcjonowania oksydazy NADPH i wzbuchu tlenowego. Z kolei fakt, że cytrynian jest wykorzystywany do syntezy fosfolipidów, źródła kwasu arachidonowego niezbędnego do produkcji prostaglandyn, powoduje, że ma on wkład w postawanie tych ostatnich. Kolejną konsekwencją nagromadzenia cytrynianu w makrofagach M1 jest synteza kwasu itakonowego, który to metabolit wykazuje przeciwbakteryjne działanie (O'NEILL i współaut. 2016).

Drugim metabolitem, który gromadzi się w makrofagach M1 jest bursztynian. Konsekwencją jego akumulacji jest indukcja syntezy cytokiny IL-1 $\beta$  (MILLS i współaut. 2016). Mechanizmem odpowiedzialnym za to zjawisko jest aktywacja przez bursztynian HIF1- $\alpha$ , co z kolei indukuje ekspresję genu kodującego IL-1 $\beta$  (promotor genu tej cytokiny zawiera miejsce wiążące dla czynnika indukowanego hipoksją) (MILLS i współaut. 2016). Istotnie, HIF-1 $\alpha$  w makrofagach ulega aktywacji w warunkach hipoksji i reguluje ekspresję także wielu innych genów związanych z funkcją i metabolizmem tych komórek, tj. *CXCR4*, *glut1*, *CXCL8/IL-8*. Najnowsze doniesienia wskazują na nadrzędną rolę bursztynianu w funkcjach prozapalnych zaktywowanych makrofagów (MILLS i współaut. 2016). Obok nasilenia ekspresji genu dla cytokiny prozapalnej (IL-1 $\beta$ ), bursztynian hamuje ekspresję genów cytokin przeciwzapalnych, w tym IL-10, oraz wzmaga proces glikolizy w makrofagach aktywowanych LPS. Stwier-

dzono także, że zastosowanie inhibitora mitochondrialnego transportera bursztynianu (ang. diethyl butyl malonate, DEBM) skutkuje wewnątrzkomórkową akumulacją bursztynianu, co prowadzi do nasilenia produkcji IL-1 $\beta$ , a zahamowania IL-10. Co ciekawe, zastosowanie innego inhibitora, którego produkt hydrolizy funkcjonuje jako kompetycyjny inhibitor dehydrogenazy bursztynianowej katalizującej oksydację bursztynianu (ang. dehydrogenase succinate, SDH), także prowadzi do nagromadzenia bursztynianu w cytozolu komórek, ale niespodziewanie inhibitor ten hamuje ekspresję genu dla IL-1 $\beta$ . A zatem, zwiększone utlenianie bursztynianu w mitochondriach jest etapem decydującym dla polaryzacji makrofagów w fenotyp prozapalny M1 (MILLS i współaut. 2016).

Procesy, które napędzają przesunięcie metabolizmu w kierunku glikolizy w makrofagach M1 są hamowane w makrofagach M2. Jednym z przykładów powyższej kontroli statusu metabolicznego makrofagów jest ekspresja u-PFK2, izoformy fosfofruktokinazy-2, enzymu podtrzymującego na stałym poziomie przebieg procesu glikolizy (RODRIGUEZ-PRADOS i współaut. 2010). Poziom tego enzymu zwiększa się w makrofagach spolaryzowanych klasycznie, w przeciwieństwie do makrofagów M2, z których wydzielana jest inna izoforma enzymu, fruktozo-2,6-bisfosfataza (ang. fructose-2,6-bisphosphatase, PFKFB), znacznie mniej aktywna i osłabiająca intensywność szlaku glikolizy (KELLY i O'NEILL 2015). Różnice pomiędzy M1 i M2 widoczne są także w szlaku PPP, a mianowicie poziom CARKL (ang. sedoheptulose kinase), kinazy hamującej przebieg PPP, zwiększa się w makrofagach M2, natomiast spada w makrofagach M1 (HASCHEMI i współaut. 2012, JHA i współaut. 2015). Z drugiej strony, zahamowanie szlaku PPP doprowadza do spadku wydzielania cytokin prozapalnych (TNF- $\alpha$  i IL-6) (HASCHEMI i współaut. 2012).

W metabolizm makrofagów M2 zaangażowany jest proces  $\beta$ -oksydacji kwasów tłuszczowych (Ryc. 2). Mysie makrofagi inkubowane w obecności egzogennych kwasów tłuszczowych charakteryzują się znacząco wyższym zużyciem tlenu, świadczącym o zwiększonym metabolizmie tlenowym, a obserwowany efekt jest znoszony po zastosowaniu specyficznego inhibitora enzymu CPT1. Enzym ten jest niezbędny w procesie transportu zaktywowanych kwasów tłuszczowych do mitochondriów, gdzie następuje ich oksydacja (NOMURA i współaut. 2016). Wykazano także, że makrofagi pochodzące od myszy z wyciszonym genem dla CPT2, uwalniającego kwas tłuszczowy z kompleksu z nośnikiem (CPT1) po wewnętrznej stronie błony mitochondrialnej, także nie są zdolne do

przeprowadzenia procesu  $\beta$ -oksydacji (NOMURA i współaut. 2016). Utlenianie kwasów tłuszczowych jest procesem dostarczającym związków pośrednich koniecznych do podtrzymania cyklu Krebsa w tych komórkach. Zaobserwowano, że cykl kwasu cytrynowego zachodzi intensywniej w makrofagach M2, w porównaniu do M1, a dodatkowo w makrofagach M2 przebiega w sposób ciągły i prowadzi do produkcji produktów niezbędnych dla glikozylacji białek (VATS i współaut. 2006).

Immunometabolizm makrofagów ma swoje odbicie także w zjawisku znanym jako „wytrenowana odpowiedź wrodzona” (ang. „trained innate immunity”), polegającym na niespecyficznym, szybszym i efektywniejszym odpowiadzi komórek odporności wrodzonej w przypadku wielokrotnego kontaktu z tym samym patogenem (patrz też WOJDA w tym zeszycie KOSMOSU). Jest to proces mający cechy wspólne z „pamięcią immunologiczną” limfocytów, jednak zasadniczo od niego różnym (NETEA i współaut. 2016). Wykazano, że zjawisku temu towarzyszy przesunięcie metabolizmu tlenowego w kierunku glikolizy beztlenowej, w czym pośredniczy mTORC1 (CHENG i współaut. 2014).

## ROLA METABOLIZMU W FUNKCJONOWANIU LIMFOCYTÓW

Limfocyty, które rozpoznały specyficzne antygeny, rozpoczynają gwałtowne i intensywne podziały komórkowe, co znacząco zwiększa wychwytywanie ze środowiska zewnątrzkomórkowego substratów niezbędnych do nasilenia przemian metabolicznych i ich podtrzymania na wysokim poziomie (WANG i GREEN 2012). Choć limfocyty mogą wykorzystywać jako źródło energii glukozę, glutaminę, ciała ketonowe i kwasy tłuszczowe, wykazano, iż ich głównym „paliwem” jest glukoza i glutamina (WANG i GREEN 2012, WASINSKI i współaut. 2014) (Ryc. 2). W następstwie aktywacji, w komórkach limfocytów zwiększa się poziom enzymów: heksokinazy, dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu i glutaminazy zależnej od fosforanu, enzymów kluczowych odpowiednio w szlakach: glikolizy, szlaku pentozofosforanowym i glutaminolizy (WASINSKI i współaut. 2014). Również eksperymentalna nadekspresja genu dla transportera glukozy *glut1* prowadzi do wzrostu intensywności procesu glikolizy w limfocytach oraz do ich proliferacji i produkcji cytokin (JACOBS i współaut. 2008). Z drugiej strony, niemożność zwiększenia metabolizmu glukozy skutkuje spadkiem produkcji cytokin, proliferacji i może prowadzić do apoptozy limfocytów (JACOBS i współaut. 2008).

W ostatnich latach wykazano, że w różnicowaniu naiwnych limfocytów w komórkach efektorowe bardzo istotną rolę odgrywa metabolizm kwasów tłuszczowych (LOCHNER i współaut. 2015) (Ryc. 2). Istotnie, biosynteza lipidów jest integralną częścią aktywacji limfocytów T, bezpośrednio wiążącą metabolizm glukozy z syntezą kwasów tłuszczowych *de novo* (LOCHNER i współaut. 2015). To doniesienie zmieniło dotychczasowy pogląd, że lipidy są jedynie strukturalnymi makrocząsteczkami, składnikami błon biologicznych i pozwoliło na sformułowanie hipotezy, że metabolizm lipidów może odgrywać zasadniczą rolę w przełączaniu metabolizmu limfocytów efektorowych. W przypadku limfocytów, analiza metabolomu (systemowa identyfikacja i ocena drobnocząsteczkowych produktów metabolizmu), pozwoliła na głębsze zrozumienie zapotrzebowania energetycznego limfocytów T podczas ich aktywacji i proliferacji (WANG i współaut. 2011). Zaobserwowano, że w komórkach tych gromadzą się nie tylko metabolity związane z rozkładem nukleotydów i aminokwasów, ale także metabolity będące konsekwencją syntezy kwasów tłuszczowych. Co ciekawe, wzrost syntezy kwasów tłuszczowych był skorelowany ze spadkiem intensywności  $\beta$ -oksydacji, co sugeruje, że oba te procesy podlegają wzajemnej regulacji w limfocytach T (WANG i współaut. 2011). Co więcej, wykazano, że proces syntezy kwasów tłuszczowych podlega ścisłej kontroli mTOR, gdyż komórki pozbawione mTORC1 charakteryzowały się obniżoną zdolnością do syntezy lipidów (YANG i współaut. 2013). Wykazano ponadto, że zależna od mTORC1 synteza lipidów odbywa się poprzez aktywację białek SREBPs, które należą do rodziny czynników transkrypcyjnych odgrywających rolę w aktywacji kwasów tłuszczowych i syntezie cholesterolu (YANG i współaut. 2013).

Metabolizm limfocytów T jest niezwykle interesujący ze względu na istnienie kilku subpopulacji tych komórek, a także komórek efektorowych i pamięci. Podczas różnicowania limfocytów T w komórki pamięci następuje bowiem anaboliczno-katabolicznie przełączenie metabolizmu. Z dotychczas przeprowadzanej syntezy kwasów tłuszczowych dochodzi do przesunięcia równowagi w kierunku ich utleniania, tj. procesu  $\beta$ -oksydacji (VAN DER WINDT i współaut. 2012). W badaniach *in vitro* wykazano, że IL-15, cytokina niezbędna dla powstania limfocytów T pamięci, zwiększa poziom CPT1a (VAN DER WINDT i współaut. 2012). Szlak  $\beta$ -oksydacji jest równie istotny w procesach pozyskiwania energii przez limfocyty Treg, gdyż zablokowanie utleniania kwasów tłuszczowych zaburza ich powstawanie, natomiast suplementacja kwasami tłuszczowymi wspiera ich funkcje. Me-

tabolizm limfocytów Treg jest jednak bardziej złożony, gdyż wykazano, iż podanie inhibitora kompleksu I łańcucha transportu elektronów zwiększa całkowity procentowy udział limfocytów T regulatorowych w przebiegu astmy u myszy (MICHAŁEK i współaut. 2011). Także zablokowanie fosforylacji oksydacyjnej może promować i przyspieszać szlak glikolizy, co sugeruje, że może być ona istotna w sprawowaniu funkcji przez limfocyty Treg. Szlak przemian glutaminy stanowi także ważny szlak metaboliczny w czasie aktywacji limfocytów T, ponieważ jej ograniczona dostępność obniża proliferację oraz produkcję cytokin (YAQOUB i CALDER 1997). Na przykład, brak w limfocytach Th ekspresji transportera glutaminianu Slc1a5 obniża zdolność tych komórek do zwalczania infekcji bakteryjnych (NAKAYA i współaut. 2014).

## PODSUMOWANIE

Głównym wyzwaniem dla immunologów zajmujących się immunometabolizmem jest powiązanie skomplikowanych szlaków metabolicznych z funkcjami leukocytów. Szlaki te charakteryzuje obecność wielu metabolitów pośrednich (które wewnątrzkomórkowo mogą być zamieniane na inne), skomplikowany chemizm reakcji oraz wyrafinowany system enzymów kontrolujących przebieg podstawowych procesów metabolicznych w komórkach. Dlatego obecnie głównym celem immunologów zajmujących się biochemią komórek immunokompetentnych jest szczegółowe zglebienie procesów pozwalających leukocytom sprawować odpowiednie funkcje efektorowe. A przede wszystkim, jak wykorzystać tę wiedzę do kontroli i regulacji procesów odpornościowych, biorąc pod uwagę, że leukocyty mogą uruchamiać różne programy metaboliczne w odpowiedzi na patogeny. Wydaje się obecnie, że kontrola/reprogramowanie immunometabolizmu będzie jedną z strategii, która może być wkrótce stosowana terapeutycznie. Jednak nie można zapominać o tym, że przemiany biochemiczne zachodzące w samych patogenach mogą być równie ważne, zwłaszcza, że zapewne wykształciły one mechanizmy kontroli immunometabolizmu leukocytów. Ta dziedzina jest jednak ciągle bardzo słabo poznana i powinna być jednym z ważnych celów współczesnej nauki o odporności.

## PODZIĘKOWANIA

Dziękujemy Pani Weronice Ortmann za korektę redakcyjną.

## Streszczenie

W ostatnich latach nową, dynamicznie rozwijającą się gałęzią nauki o odporności jest immunometabolizm. Dział ten bada jak przemiany metaboliczne zachodzące w komórkach układu odpornościowego, wpływają na

ich przetrwanie, rozwój, ale także funkcje wykonawcze. W opracowaniu tym opisujemy przebieg podstawowych i pomocniczych szlaków pozyskania energii przez leukocyty, a w szczególności glikolizę, cykl Krebsa, szlak pentozofosforanowy oraz utlenienie kwasów tłuszczowych. Przedstawiamy znaczenie poszczególnych szlaków dla funkcjonowania leukocytów, rozwoju ich fenotypu (np. makrofagów M1 i M2), oraz przełączania szlaków podczas ich aktywacji. Zmiany te mogą wpływać na funkcje obronne w czasie reakcji zapalnej, infekcji lub uszkodzenia tkanek. Z drugiej strony, leukocyty mogą realizować różne programy metaboliczne, celem pozyskania energii do walki z patogenami. Zależność pomiędzy funkcjami obronnymi a metabolizmem rzuca także nowe światło na zrozumienie mechanizmów chorób metabolicznych, a przede wszystkim kompleksowej odpowiedzi immunologicznej.

## LITERATURA

- AKTAN F., 2004. *iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation*. *Life Sci.* 75, 639-653.
- ALBA-LOUREIRO T. C., MUNHOZ C. D., MARTINS J. O., CERCHIARO G. A., SCAVONE C., CURI R., SANNOMIYA P., 2007. *Neutrophil function and metabolism in individuals with diabetes mellitus*. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 40, 1037-1044.
- ALBERTS B., JOHNSON A., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WALTER P., 2002. *Molecular biology of the cell*. Garland Science, New York.
- AZEVEDO E. P., ROCHAEL N. C., GUIMARÃES-COSTA A. B., DE SOUZAVIEIRA T. S., GANILHO J., SARAIVA E. M., PALHANO F. L., FOGUEL D., 2015. *A metabolic shift towards pentose phosphate pathway is necessary for amyloid fibril- and phorbol 12-myristate 13-acetate-induced neutrophil extracellular trap (NET) formation*. *J. Biol. Chem.* 290, 22174-22183.
- BORREGAARD N., HERLIN T., 1982. *Energy metabolism of human neutrophils during phagocytosis*. *J. Clin. Invest.* 70, 550-557.
- CHAREST P. G., FIRTEL R. A., 2010. *"TORCing" neutrophil chemotaxis*. *Dev. Cell.* 19, 795-796.
- CHENG S. C., QUINTIN J., CRAMER R. A., SHEPARDSON K. M., SAEED S., KUMAR V., GIAMARELOS-BOURBOULIS E. J., MARTENS J. H., RAO N. A., AGHAJANIREFAH A., MANJERI G. R., LI Y., IFRIM D. C., ARTS R. J., VAN DER VEER B. M. i wsp. *aut.*, 2014. *mTOR- and HIF-1 $\alpha$ -mediated aerobic glycolysis as metabolic basis for trained immunity*. *Science* 345, 1250684.
- CRAMER T., YAMANISHI Y., CLAUSEN B. E., FÖRSTER I., PAWLINSKI R., MACKMAN N., HAASE V. H., JAENISCH R., CORR M., NIZET V., FIRESTEIN G. S., GERBER H.-P., FERRARA N., JOHNSON R. S., 2003. *HIF-1 $\alpha$  is essential for myeloid cell-mediated inflammation*. *Cell* 112, 645-657.
- DELMASTRO-GREENWOOD M. M., PIGANELLI J. D., 2013. *Changing the energy of an immune response*. *Am. J. Clin. Exp. Immunol.* 2, 30-54.
- FUKUZUMI M., SHINOMIYA H., SHIMIZU Y., OHISHI K., UTSUMI S., 1996. *Endotoxin-induced enhancement of glucose influx into murine peritoneal macrophages via GLUT1*. *Infect Immun.* 64, 108-112.
- GORDON S., MARTINEZ-POMARES L., 2017. *Physiological roles of macrophages*. *Pflugers Arch.* 469, 365-374.
- HASCHEMI A., KOSMA P., GILLE L., EVANS C. R., BURANT C. F., STARKL P., KNAPP B., HAAS R., SCHMID J. A., JANDL C., AMIR S., LUBEC G., PARK J., ESTERBAUER H., BILBAN M., BRIZUELA L., POSPISILIK J. A., OTTERBEIN L. E., WAGNER O., 2012. *The sedoheptulose kinase CARKL directs macrophage polarization through control of glucose metabolism*. *Cell Metab.* 15, 813-826.
- HEILBRONN L. K., CAMPBELL L. V., 2008. *Adipose tissue macrophages, low grade inflammation and insulin resistance in human obesity*. *Curr. Pharm. Des.* 14, 1225-1230.
- IMTIYAZ H. Z., SIMON M. C., 2010. *Hypoxia-inducible factors as essential regulators of inflammation*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 345, 105-120.
- INFANTINO V., CONVERTINI P., CUCCI L., PANARO M. A., DI NOIA M. A., CALVELLO R., PALMIERI F., IACOBACCI V., 2011. *The mitochondrial citrate carrier: a new player in inflammation*. *Biochem. J.* 438, 433-436.
- ITAKURA A., MCCARTY O. J. T., 2013. *Pivotal role for the mTOR pathway in the formation of neutrophil extracellular traps via regulation of autophagy*. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 305, C348-C354.
- JACOBS S. R., HERMAN C. E., MACIVER N. J., WOFFORD J. A., WIEMAN H. L., HAMMEN J. J., RATHMELL J. C., 2008. *Glucose uptake is limiting in T cell activation and requires CD28-mediated Akt-dependent and independent pathways*. *J. Immunol.* 180, 4476-4486.
- JANEWAY C. A., TRAVERS J. P., WALPORT M., SHLOMCHIK M. J., 2001. *Immunobiology. The immune system in health and disease*. Garland Science, New York.
- JANUS A., SMOLEWSKI P., 2007. *Inhibitory kinazy mTOR w leczeniu ostrej białaczki szpikowej*. *Acta Haematol. Pol.* 38, 203-211.
- JHA A. K., HUANG S. C., SERGUSHICHEV A., LAMPROPOULOU V., IVANOVA Y., LOGINICHEVA E., CHMIELEWSKI K., STEWART K. M., ASHALL J., EVERTS B., PEARCE E. J., DRIGGERS E. M., ARTYOMOV M. N., 2015. *Network integration of parallel metabolic and transcriptional data reveals metabolic modules that regulate macrophage polarization*. *Immunity* 42, 419-430.
- JIN Z., WEI W., YANG M., DU Y., WAN Y., 2014. *Mitochondrial complex I activity suppresses inflammation and enhances bone resorption by shifting macrophage-osteoclast polarization*. *Cell Metab.* 20, 483-498.
- JONCKHEERE A. I., SMEITINK J. A., RODENBURG R. J., 2012. *Mitochondrial ATP synthase: architecture, function and pathology*. *J. Inher. Metab. Dis.* 35, 211-225.
- KELLY B., O'NEILL L. A., 2015. *Metabolic reprogramming in macrophages and dendritic cells in innate immunity*. *Cell Res.* 25, 771-784.
- KONG T., ELTZSCHIG H. K., KARHAUSEN J., COLGAN S. P., SHELLEY C. S., 2004. *Leukocyte adhesion during hypoxia is mediated by HIF-1-dependent induction of beta2 integrin gene expression*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 10440-10445.
- KRAMER P. A., RAVI S., CHACKO B., JOHNSON M. S., DARLEY-USMAR V. M., 2014. *A review of the mitochondrial and glycolytic metabolism in human platelets and leukocytes: implications for their use as bioenergetic biomarkers*. *Redox Biol.* 2, 206-210.
- LIU L., LUO Y., CHEN L., SHEN T., XU B., CHEN W., ZHOU H., HAN X., HUANG S., 2010. *Rapamycin inhibits cytoskeleton reorganization and cell motility by suppressing RhoA expression and activity*. *J. Biol. Chem.* 285, 38362-38373.
- LIU W., SHEN S.-M., ZHAO X.-Y., CHEN G.-Q., 2012. *Targeted genes and interacting proteins*

- of hypoxia inducible factor-1. *Int. J. Biochem. Mol. Biol.* 3, 165-178.
- LOCHNER M., BEROD L., SPARWASSER T., 2015. *Fatty acid metabolism in the regulation of T cell function.* *Trends Immunol.* 36, 81-91.
- LUCKHEERAM R. V., ZHOU R., VERMA A. D., XIA B., 2012. *CD4<sup>+</sup>T cells: differentiation and functions.* *Clin. Dev. Immunol.* 2012, 925135.
- MAIANI N. A., GEISSLER J., SRINIVASULA S. M., ALNEMRI E. S., ROOS D., KUIJPERS T. W., 2004. *Functional characterization of mitochondria in neutrophils: a role restricted to apoptosis.* *Cell Death Differ.* 11, 143-153.
- MARTINEZ F. O., GORDON S., 2014. *The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment.* *F1000 Prime Rep.* 6, 6-13.
- MCINTURFF A. M., CODY M. J., ELLIOTT E. A., GLENN J. W., ROWLEY J. W., RONDINA M. T., YOST C. C., 2012. *Mammalian target of rapamycin regulates neutrophil extracellular trap formation via induction of hypoxia-inducible factor 1 alpha.* *Blood* 120, 3118-3125.
- MICHALEK R. D., GERRIETS V. A., JACOBS S. R., MACINTYRE A. N., MACIVER N. J., MASON E. F., SULLIVAN S. A., NICHOLS A. G., RATHMELL J. C., 2011. *Cutting edge: distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4<sup>+</sup> T cell subsets.* *J. Immunol.* 186, 3299-3303.
- MILLS E. L., O'NEILL L. A., 2016. *Reprogramming mitochondrial metabolism in macrophages as an anti-inflammatory signal.* *Eur. J. Immunol.* 46, 13-21.
- MILLS E. L., KELLY B., LOGAN A., COSTA A. S., VARMA M., BRYANT C. E., TOUROMOUSIS P., DÄBRITZ J. H., GOTTLIEB E., LATORRE I., CORR S. C., MCMANUS G., RYAN D., JACOBS H. T., SZIBOR M., XAVIER R. J., BRAUN T., FREZZA C., MURPHY M. P., O'NEILL L. A., 2016. *Succinate dehydrogenase supports metabolic repurposing of mitochondria to drive inflammatory macrophages.* *Cell* 167, 457-470.
- MUECKLER M., THORENS B., 2013. *The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters.* *Mol. Aspects Med.* 34, 121-138.
- NAKAYA M., XIAO Y., ZHOU X., CHANG J. H., CHANG M., CHENG X., BLONSKA M., LIN X., SUN S. C., 2014. *Inflammatory T cell responses rely on amino acid transporter ASCT2 facilitation of glutamine uptake and mTORC1 kinase activation.* *Immunity* 40, 692-705.
- NAZIMEK K., BRYNIARSKI K., 2012. *The biological activity of macrophages in health and disease.* *Post. Hig. Med. Dosw.* 66, 507-520.
- NETEA M. G., JOOSTEN L. A., LATZ E., MILLS K. H., NATOLI G., STUNNENBERG H. G., O'NEILL L. A., XAVIER R. J., 2016. *Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease.* *Science* 352, aaf1098.
- NEWSHOLME P., LIMA M. M., PROCOPIO J., PITHON-CURI T. C., DOI S. Q., BAZOTTE R. B., CURI R., 2003. *Glutamine and glutamate as vital metabolites.* *Braz. J. Med. Biol. Res.* 36, 153-163.
- NOMURA M., LIU J., ROVIRA I. I., GONZALEZ-HURTADO E., LEE J., WOLFGANG M. J., FINKEL T., 2016. *Fatty acid oxidation in macrophage polarization.* *Nat. Immunol.* 17, 216-217.
- NUNN A. V., BARNARD M. L., BHAKOO K., MURRAY J., CHILVERS E. J., BELL J. D., 1996. *Characterisation of secondary metabolites as associated with neutrophil apoptosis.* *FEBS Lett.* 392, 295-298.
- O'NEILL A. J., O'NEILL S., HEGARTY N. J., COFFEY R. N., GIBBONS N., BRADY H., FITZPATRICK J. M., WATSON R. W., 2000. *Glutathione depletion-induced neutrophil apoptosis is caspase 3 dependent.* *Shock* 14, 605-609.
- O'NEILL L. A., PEARCE E. J., 2016. *Immunometabolism governs dendritic cell and macrophage function.* *J. Exp. Med.* 213, 15-23.
- O'NEILL L. A., KISHTON R. J., RATHMELL J., 2016. *A guide to immunometabolism for immunologists.* *Nat. Rev. Immunol.* 16, 553-565.
- PANDAY A., SAHOO M. K., OSORIO D., BATRA S., 2015. *NADPH oxidases: an overview from structure to innate immunity-associated pathologies.* *Cell Mol. Immunol.* 12, 5-23.
- PEARCE E. L., PEARCE E. J., 2013. *Metabolic pathways in immune cell activation and quiescence.* *Immunity* 38, 633-643.
- PERNER A., NIELSEN S. E., RASK-MADSEN J., 2003. *High glucose impairs superoxide production from isolated blood neutrophils.* *Intensive Care Med.* 29, 642-645.
- PIJANOWSKI Ł., KOLACZKOWSKA E., CHADZIŃSKA M., 2011. *NET, czyli zewnątrzkomórkowe sieci uwalniane przez neutrofile jako nowy sposób walki z patogenami.* *Post. Biol. Kom.* 38, 547-713.
- PITHON-CURI T. C., SCHUMACHER R. I., FREITAS J. J., LAGRANHA C., NEWSHOLME P., PALANCH A. C., DOI S. Q., CURI R., 2003. *Glutamine delays spontaneous apoptosis in neutrophils.* *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 284, C1355-C1361.
- RANI M., NICHOLSON S. E., ZHANG Q., SCHWACHA M. G., 2017. *Damage-associated molecular patterns (DAMPs) released after burn are associated with inflammation and monocyte activation.* *Burns* 43, 297-303.
- RAO R. R., LI Q., ODUNSI K., SHRIKANT P. A., 2010. *The mTOR kinase determines effector versus memory CD8<sup>+</sup> T cell fate by regulating the expression of transcription factors T-bet and Eomesodermin.* *Immunity* 29, 67-78.
- RATHMELL J. C., 2012. *Metabolism and autophagy in the immune system: immunometabolism comes of age.* *Immunol. Rev.* 249, 5-13.
- RODRÍGUEZ-ESPINOSA O., ROJAS-ESPINOSA O., MORENO-ALTAMIRANO M. M., LÓPEZ-VILLEGAS E. O., SÁNCHEZ-GARCÍA F. J., 2015. *Metabolic requirements for neutrophil extracellular traps formation.* *Immunology* 145, 213-224.
- RODRÍGUEZ-PRADOS J. C., TRAVÉS P. G., CUENCA J., RICO D., ARAGONÉS J., MARTÍN-SANZ P., CASCANTE M., BOSCA L., 2010. *Substrate fate in activated macrophages: a comparison between innate, classic, and alternative activation.* *J. Immunol.* 185, 605-614.
- ROINIOTIS J., DINH H., MASENDYCZ P., TURNER A., ELSEGOOD C. L., SCHOLZ G. M., HAMILTON J. A., 2009. *Hypoxia prolongs monocyte/macrophage survival and enhanced glycolysis is associated with their maturation under aerobic conditions.* *J. Immunol.* 182, 7974-7981.
- SBARRA A. J., KARNOVSKY M. L., 1959. *The biochemical basis of phagocytosis. I. Metabolic changes during the ingestion of particles by polymorphonuclear leukocytes.* *J. Biol. Chem.* 234, 1355-1362.
- SCHOR H., VADAY G. G., LIDER O., 2000. *Modulation of leukocyte behavior by an inflamed extracellular matrix.* *Dev. Immunol.* 7, 227-238.
- SCHUSTER D. P., BRODY S. L., ZHOU Z., BERNSTEIN M., ARCH R., LINK D., MUECKLER M., 2007. *Regulation of lipopolysaccharide-induced increases in neutrophil glucose uptake.* *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 292, L845-L851.
- SILER U., ROMAO S., TEJERA E., PASTUKHOV O., KUZMENKO E., VALENCIA R. G., MEDA SPAC-

- CAMELA V., BELOHRADSKY B. H., SPEER O., SCHMUGGE M., KOHNE E., HOENIG M., FREIHORST J., SCHULZ A. S., REICHENBACH J., 2017. *Severe glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency leads to susceptibility to infection and absent NETosis*. J. Allergy Clin. Immunol. 139, 212-219.
- STREHL C., FANGRADT M., FEARON U., GABER T., BUTTGEREIT F., VEALE D. J., 2014. *Hypoxia: how does the monocyte-macrophage system respond to changes in oxygen availability?* J. Leukoc. Biol. 95, 233-241.
- STRYER L., BERG J. M., TYMOCZKO J. L., 2003. *Biochemia*. PWN, Warszawa.
- VAN DER WINDT G. J., EVERTS B., CHANG C. H., CURTIS J. D., FREITAS T. C., AMIEL E., PEARCE E. J., PEARCE E. L., 2012. *Mitochondrial respiratory capacity is a critical regulator of CD8+ T cell memory development*. Immunity 36, 68-78.
- VAN GREEVENBROEK M. M., SCHALKWIJK C. G., STEHOUWER C. D., 2013. *Obesity-associated low-grade inflammation in type 2 diabetes mellitus: causes and consequences*. Neth. J. Med. 71, 174-187.
- VATS D., MUKUNDAN L., ODEGAARD J. I., ZHANG L., SMITH K. L., MOREL C. R., WAGNER R. A., GREAVES D. R., MURRAY P. J., CHAWLA A., 2006. *Oxidative metabolism and PGC-1 $\beta$  attenuate macrophage-mediated inflammation*. Cell Metab. 4, 13-24.
- WALMSLEY S. R., PRINT C., FARAH N., PEYSSONNAUX C., JOHNSON R. S., CRAMER T., SOBOLEWSKI A., CONDLIFFE A. M., COWBURN A. S., JOHNSON N., CHILVERS E. R., 2005. *Hypoxia-induced neutrophil survival is mediated by HIF-1 $\alpha$ -dependent NF- $\kappa$ B activity*. J. Exp. Med. 2201, 105-115.
- WANG R., GREEN D. R., 2012. *Metabolic reprogramming and metabolic dependency in T cells*. Immunol. Rev. 249, 14-26.
- WANG R., DILLON C. P., SHI L. Z., MILASTA S., CARTER R., FINKELSTEIN D., MCCORMICK L. L., FITZGERALD P., CHI H., MUNGER J., GREEN D. R., 2011. *The transcription factor Myc controls metabolic reprogramming upon T lymphocyte activation*. Immunity 35, 871-882.
- WASINSKI F., GREGNANI M. F., ORNELLAS F. H., BACURAU A. V. N., CÂMARA N. O., ARAUJO R. C., BACURAU R. F., 2014. *Lymphocyte glucose and glutamine metabolism as targets of the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of exercise*. Mediators Inflamm. 2014, 10.
- WEICHHART T., SÄEMANN M. D., 2009. *The multiple facets of mTOR in immunity*. Trends Immunol. 30, 218-226.
- WEICHHART T., HENGSTSCHLÄGER M., LINKE M., 2015. *Regulation of innate immune cell function by mTOR*. Nat. Rev. Immunol. 15, 599-614.
- WEINBERG S. E., SENAL A., CHANDEL N. S., 2015. *Mitochondria in the regulation of innate and adaptive immunity*. Immunity 42, 406-417.
- WEST A. P., BRODSKY I. E., RAHNER C., WOOD D. K., ERDJUMENT-BROMAGE H., TEMPST P., WALSH M. C., CHOI Y., SHADEL G. S., GHOSH S., 2011. *TLR signalling augments macrophage bactericidal activity through mitochondrial ROS*. Nature 472, 476-480.
- WOOD I. S., TRAYHURN P., 2003. *Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins*. Br. J. Nutr. 89, 3-9.
- YANG K., SHRESTHA S., ZENG H., KARMAUS P. W., NEALE G., VOGEL P., GUERTIN D. A., LAMB R. F., CHI H., 2013. *T cell exit from quiescence and differentiation into Th2 cells depend on Raptor-mTORC1-mediated metabolic reprogramming*. Immunity 39, 1043-1056.
- YAQOUB P., CALDER P. C., 1997. *Glutamine requirement of proliferating T lymphocytes*. Nutrition 13, 646-651.
- ZHANG J., WRIGHT W., BERNLOHR D. A., CUSHMAN S. W., CHEN X., 2007. *Alterations of the classic pathway of complement in adipose tissue of obesity and insulin resistance*. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 292, E1433-E1440.
- ZYZAK J., MATUSZYK J., SIEDNIENKO J., 2013. *Wieloletapowy proces dojrzewania receptora Toll-podobnego 9*. Post. Hig. Med. Dosw. 67, 1034-1046.

**KOSMOS Vol. 66, 4, 635–649, 2017**

IWONA CICHON, ELŻBIETA KOŁACZKOWSKA

*Department of Evolutionary Immunology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Jagiellonian University,  
Gronostajowa 9, 30-387 Kraków, E-mail: ela.kolaczowska@uj.edu.pl*

IMMUNOMETABOLISM: HOW BIOCHEMICAL PROCESSES CONTROL IMMUNE RESPONSES OF LEUKOCYTES

Summary

In recent years, a new branch of immunology called immunometabolism has been established. The discipline focuses on intracellular metabolic changes in immune cells that impact – influence their survival, development, as well as defense mechanisms. Here we provide a brief summary of basic and ancillary metabolic pathways which leukocytes utilize to obtain energy, with a special focus on glycolysis, TCA cycle, penthosophosphate pathway and fatty acid oxidation. Significance of the given metabolic path for leukocyte functioning, phenotype changes (e.g. M1 *vs.* M2 macrophages) and biochemical changes during activation is discussed. The metabolic changes can in fact shape the effector functions during inflammation, infection or tissue injury. On the other hand, leukocytes can adopt different metabolic programs to gain energy required to eliminate pathogens. An interplay between immunity and metabolism sheds new light on understanding of metabolic diseases but foremost on complex immune responses.

Key words: adaptive immunity, innate immunity, lymphocytes, macrophages, metabolic pathways, neutrophils