

DOI: 10.31793/1680-1466.2023.28-1.5

# Активність сигнального каскаду PI3K/Akt у плазмі та мононуклеарах периферичної крові у хворих на цукровий діабет 2-го типу<sup>1</sup>

М.Д. Тронько,  
О.І. Ковзун,  
Н.І. Левчук,  
В.В. Пушкарьов,  
О.С. Лукашеня,  
В.М. Пушкарьов

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

**Резюме.** У статті узагальнено та проаналізовано матеріал, присвячений біохімічним механізмам розвитку цукрового діабету 2-го типу (ЦД2), а також наведено власні дані досліджень щодо оцінки перспективності використання антидіабетичних препаратів та їх комбінацій (цукрознижувальна терапія, ЦЗТ) для лікування ЦД2. При ЦД2 в мононуклеарах периферичної крові (МНПК) спостерігалось фосфорилування Akt по T308, що свідчить про активацію кінази через шлях PI3K/PDK1, а не мішені рапаміцину ссавців (mammalian target of rapamycin, mTOR), mTORC2, тобто, про реципрокність, а не адитивність активації Akt. Активність Akt у плазмі крові хворих на діабет суттєво знижується. Стан фосфорилування кінази рибосомального білка S6 (ribosomal protein S6 kinase, p70S6K) і збагаченого проліном субстрату 40 кДа (proline-rich Akt substrate of 40 kDa, PRAS40) у МНПК свідчить про активність mTORC1 та її субстратів при ЦД2. Зниження рівня p70S6K у хворих, які отримували монотерапію метформіном (МФ), може свідчити про зниження фосфорилування субстрату інсулінового рецептора-1 (insulin receptor substrate-1, IRS-1), і як наслідок, інсулінорезистентності (ІР). Показано, що активації кінази, що регулюється позаклітинними сигналами (extracellular signal-regulated kinase, ERK1/2) у МНПК хворих на ЦД2 не спостерігається, тоді як у хворих на діабет 1-го типу (ЦД1) чи автоімунним тиреоїдитом вона суттєво зростала. Встановлено активацію ERK1/2 в плазмі крові хворих на ЦД2. Кількість 5'AMP-активованої протеїнкінази (5' AMP-activated protein kinase, AMPKa) та IRS-1 у плазмі крові пацієнтів, хворих на діабет також помітно підвищується. Рівень аполіпопротеїну А1 (apolipoprotein A1, ApoA1) у крові хворих на ЦД1 та ЦД2 був нижчим, а рівень ApoB та окислених ліпопротеїдів низької щільності — вищим, ніж у крові здорових людей. Кількість ендотеліну 1 (endothelin 1, ET-1) та натрійуретичного пептиду в крові хворих на ЦД2 перевищує його вміст у контрольних зразках. Монотерапія МФ приводить до зниження рівнів ET-1 та N-кінцевого прогормону натрійуретичного пептиду головного мозку

<sup>1</sup> Стаття підготовлена за результатами виконання науково-дослідної роботи «Вивчення активності сигнального каскаду PI3K/Akt у мононуклеарах периферичної крові у хворих на цукровий діабет 2-го типу» ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» (№ державної реєстрації: 0120U100641).

## Фундаментальні дослідження

(N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide, NT-proBNP) а також підвищення рівня глюкагоноподібного пептиду-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) у крові пацієнтів із ЦД2. У сироватці хворих на ЦД2 спостерігалось помітне збільшення мікроРНК-142 і зниження мікроРНК-126. При оцінці дії ЦЗТ було виявлено, що при монотерапії дапагліфлозином і комбінації дапагліфлозину з інсуліном і МФ кількість мікроРНК-126 зростає до контрольного рівня. Дослідження ефекту дапагліфлозину показали, що багаторазове введення препарату щирам з ІР призводить до вірогідного зниження активності ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ) в сироватці крові тварин.

**Ключові слова:** цукровий діабет 2-го типу, сигнальний каскад PI3K/Akt, мононуклеари периферичної крові, антидіабетичні препарати.

ЦД2 є глобальною медико-соціальною проблемою не лише в Україні, але й в усьому світі, що зумовлено значною його поширеністю серед населення. Це хронічне ендокринне захворювання, основною ознакою якого є стійке підвищення рівня глюкози в крові, внаслідок зниження чутливості тканин організму до дії інсуліну та порушення його секреції підшлунковою залозою. Як відомо, спадковість, вік, ожиріння, артеріальна гіпертензія, стреси, гіподинамія і незбалансоване харчування з надмірним споживанням легкозасвоюваних вуглеводів є факторами ризику розвитку ЦД2 [1].

ЦД2 є захворюванням, що прогресує та потребує комплексного підходу його лікування. Основним завданням фармакологічної терапії, з одного боку, є досягнення контролю рівня глюкози в організмі, а з іншого — проведення профілактики й/або уповільнення розвитку мікро- та макросудинних ускладнень, які призводять до ранньої інвалідації та передчасної смерті хворих. Сучасна терапевтична діабетологія володіє широким спектром медикаментозних засобів для лікування ЦД2. Проте, попри широкий їх вибір, підбір адекватної ЦЗТ та досягнення бажаного ступеня компенсації захворювання в осіб на ЦД2 становлять чималі труднощі. Наразі подолання ІР — головної патогенетичної причини розвитку захворювання залишається актуальною проблемою клінічної ендокринології. Тому з'ясування механізмів розвитку ІР надасть можливість оптимально підбирати фармакологічні препарати для лікування хворих на ЦД2 залежно від ступеня важкості його перебігу.

Аналіз даних літератури продемонстрував, що порушення метаболічної реакції клітин тканин на інсулін може бути пов'язано з

порушенням функціонування деяких компонентів внутрішньоклітинних сигнальних систем, активності ферментів, зміною рівня експресії транскрипційних чинників, мікроРНК тощо.

Протягом останніх років у відділі фундаментальних і прикладних проблем ендокринології розробляється нова діагностична система, що базується на дослідженні експресії та активності факторів інсулінового сигнального каскаду в МНПК та плазмі крові.

У статті узагальнено та проаналізовано матеріал, присвячений біохімічним механізмам розвитку ЦД2, а також наведено власні дані досліджень щодо оцінки перспективності використання антидіабетичних препаратів та їх комбінацій для лікування ЦД2 та його ускладнень залежно від ступеня тяжкості захворювання.

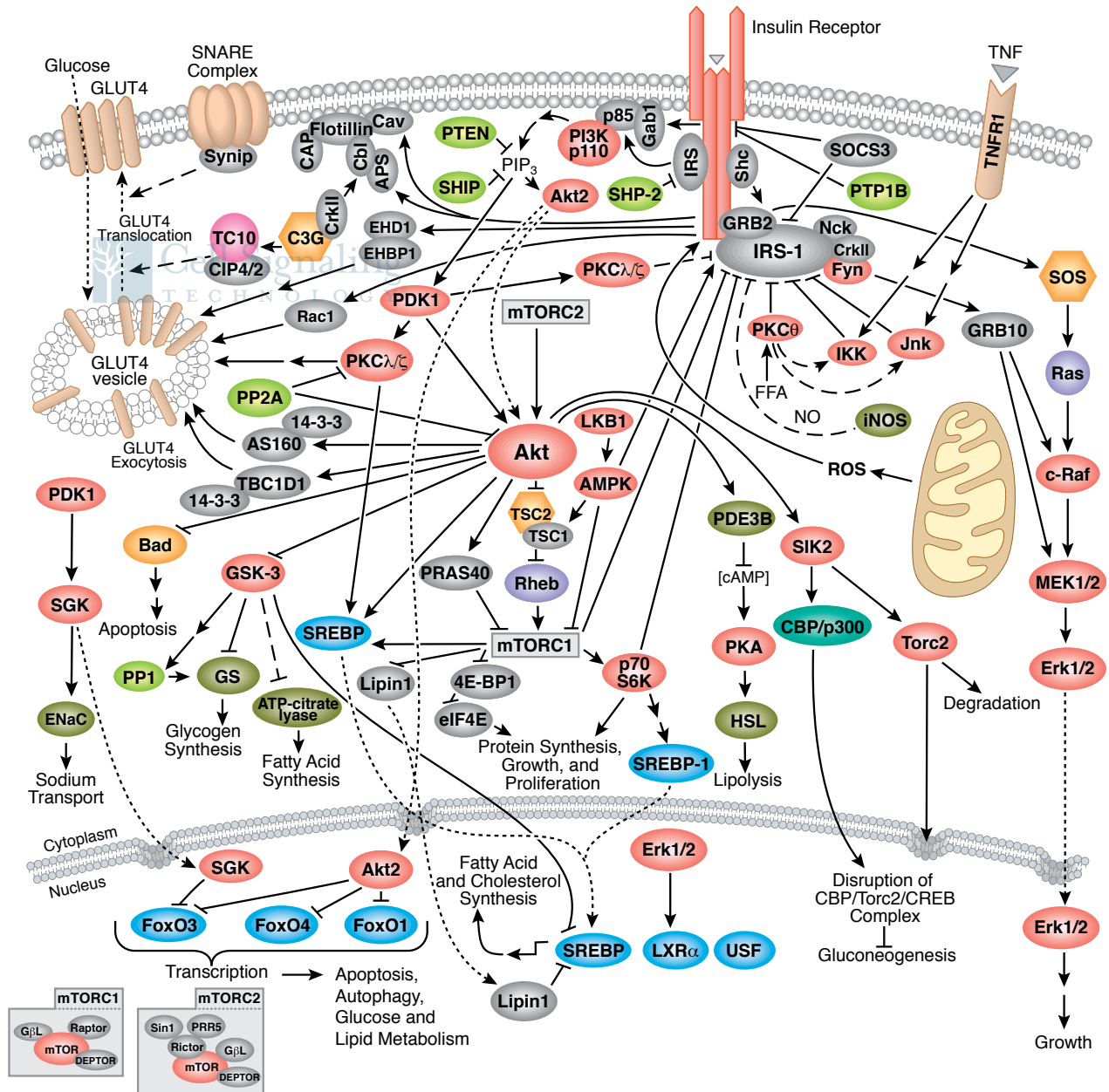
### **1. Роль внутрішньоклітинного сигнального шляху PI3K/Akt/mTOR/p70S6K у розвитку ЦД2.**

Сигнальні системи клітини — це сукупність механізмів, що регулюють внутрішньоклітинні та міжклітинні процеси шляхом сприймання клітинами та їх реагування на зміни умов довкілля. Здатність клітин правильно розпізнати та відповісти на ці зміни є підґрунтям нормального розвитку, регенерації тканин та імунітету. Порушення в сигнальних системах можуть спричинити виникнення низки серйозних хронічних захворювань.

Виникнення і розвиток ІР пов'язують із порушеннями регуляції кількох важливих чинників: рецептора інсуліну, IRS, фосфоінозитид-3-кінази (phosphoinositide 3-kinase, PI3K), Akt, mTOR, p70S6K, що входять до складу PI3K/Akt/mTOR/p70S6K — сигнального

каскаду, який контролює метаболічні та ростові процеси в клітинах (рис.). Виявлено, що в результаті порушення функції зазначених

білків та їхніх комплексів при гіперінсулінемії, сигнальний каскад надмірно активується і кінцеві його ланки фосфорилують IRS, що



**Рис.** Схема внутрішньоклітинного перенесення сигналу інсуліну в клітинах-мішенях (<https://www.cellsignal.com/pathways>).

Примітка: ▼ — інсулін; IRS — субстрат інсулінового рецептора; Ras, c-Raf, MEK, ERK — GTP-аза та протеїнкінази, що передають проліферативні сигнали в клітині; p110 (каталітична) та p85 (регуляторна) субодиниці фосфоінозитид-3-кінази (PI3K); PDK1 — фосфоінозитидзалежна кіназа; Akt — протеїнкіназа B; PKC $\lambda/\zeta$  — атиплові протеїнкінази C; GSK-3 $\beta$  — кіназа глікогенсинтази-3 $\beta$ ; PDE3 — фосфодіестераза-3; PKA — протеїнкіназа A; mTOR — мішень рапаміцину ссавців; p70S6K — рибосомальна S6 кіназа; PRAS40 — збагачений проліном субстрат 40 кДа; Bad — проапоптотичний фактор; FOXO — фактори транскрипції, що регулюють експресію генів ферментів гліколізу. Інші позначення в тексті.

**Fig.** Schema of intracellular insulin signal transduction in target cells (<https://www.cellsignal.com/pathways>).

Note: ▼ — insulin; IRS — insulin receptor substrate; Ras, c-Raf, MEK, ERK — GTPase and protein kinases that transmit proliferative signals in the cell; p110 (catalytic) and p85 (regulatory) subunits of phosphoinositide-3-kinase (PI3K); PDK1 — phosphoinositide-dependent kinase; Akt — protein kinase B; PKC $\lambda/\zeta$  — atypical protein kinases C; GSK-3 $\beta$  — glycogen synthase kinase-3 $\beta$ ; PDE3 — phosphodiesterase-3; PKA — protein kinase A; mTOR — mammalian target of rapamycin; p70S6K — ribosomal S6 kinase; PRAS40 — proline-enriched substrate of 40 kDa; Bad — proapoptotic factor; FOXO — transcription factors that regulate the expression of gluconeogenesis enzyme genes; GLUT-4 is a membrane protein transporter of glucose. Other designations in the text.

## Фундаментальні дослідження

призводить до його інактивації та деградації у протеасомах і до порушення сигналіngu інсуліну. Це, своєю чергою, може ініціювати розвиток тяжких хронічних захворювань, зокрема, ожиріння та ЦД2. Каскад PI3K/Akt є основним і опосередковує наступні ефекти інсуліну в клітинах: стимуляцію синтезу білка та глікогену, а також ліпогенез *de novo* та інгібування гліоконеогенезу, ліполізу, автофагії та апоптозу [2-6].

PI3K складається з двох субодиниць: p110 (каталітична) та p85 (регуляторна). Як каталітична, так і регуляторна субодиниці PI3K мають кілька ізоформ p110 $\alpha$ , 110 $\beta$ , p110 $\delta$  і p85 $\alpha$ /p55 $\alpha$ /p50 $\alpha$ , p85 $\beta$ , p55 $\gamma$  відповідно. Кілька дослідників показали, що в перенесенні сигналу інсуліну задіяна в основному p110 $\alpha$ . Мутації в гені PIK3R1, що кодує субодиниці p85 $\alpha$ /p55 $\alpha$ /p50 $\alpha$  призводять до тяжкої IP та SHORT синдрому [3-7].

Зв'язування регулятора з каталітичною субодиницею підвищує стабільність останньої та підтримує її в інгібованому стані. Цей стан змінюється при зв'язуванні регуляторної субодиниці зі специфічними мотивами фосфотирозину в IRS білках, що призводить до її активації [8]. Абляція p110 $\alpha$  і меншою мірою p110 $\beta$  у мишей призводить до непереносності глюкози та IP [9].

Під впливом інсуліну PI3K індукує активацію каскаду серин/треонінових протеїнкіназ (AGC), що включає фосфоїнозитид-залежну кіназу-1 (phosphoinositide-dependent protein kinase-1, PDK1), субстратом якої, своєю чергою, є ключова ефекторна кіназа даного каскаду — Akt, глюкокортикоїд-індукована протеїнкіназа та кілька ізоформ протеїнкінази C (protein kinase C, PKC), насамперед атипові протеїнкінази  $\lambda/\zeta/\iota$  [10]. PDK-1 є основною висхідною кіназою, що відповідає за фосфорилування та активацію кіназ AGC, контрольованих PI3K [11]. PDK-1 фосфорилує та активує протеїнкінази AGC за залишками серину/треоніну, таких як Thr308 для Akt. Однак для повної активації потрібне фосфорилування залишку Ser473 Akt, яке здійснюється mTORC2 [12]. Активність Akt регулюється шляхом mTORC1-залежного фосфорилування та стабілізації Grb10 [13], який пригнічує взаємодію IRS із ключовим фосфотирозином IR; інгібуванням mTORC2

через S6K1-опосередковане фосфорилування Rictor та, опосередкованим фактором гіпоксії HIF1 $\alpha$ , посиленням транскрипції гена фосфатази та гомологу тензину (phosphatase and tensin homolog, PTEN) — фосфатази, що інгібує PI3K-каскад [12].

Мобілізація та активація PI3K залежить від зв'язування двох доменів гомології Src (Src homology 2, SH2) у регуляторних субодиницях із фосфорильованими по тирозину білками IRS [14]. Це призводить до активації каталітичної субодиниці, яка швидко фосфорилує фосфатидилінозитол-4,5-бісфосфат (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP2), утворюючи другий ліпідний месенджер PIP3. Останній рекрутує Akt на плазматичну мембрану, де вона активується фосфорилуванням і трансдукує низхідний сигнал.

Сімейство білків Akt складається з трьох різних ізоформ, що кодуються різними генами [15]. Усі ізоформи містять плекстриновий домен (pleckstrin homology domain, PH), що дозволяє взаємодіяти з PIP3 і зв'язуватися з плазматичною мембраною. Основною ізоформою, що бере участь у передачі сигналу інсуліну, є Akt2, якою збагачені тканини-мішені гормону [2]. Відомо, що миші з нокаутом Akt2 стійкі до інсуліну та розвивають діабет, на відміну від мишей Akt1-/- та Akt3-/-.

Субстрати Akt:

1. Кіназа глікогенсинтази-3 $\beta$  (Glycogen synthase kinase-3 beta, GSK-3 $\beta$ ), що регулює синтез глікогену та активується за відсутності ростових факторів; Rab — GTP-аза, що активує білок AS160/TBC1D4, який контролює транспорт глюкози. При мутаціях гена *TBC1D4* знижується інсулін-стимульоване поглинання глюкози в м'язах, що призводить до гіперглікемії після їди, порушеної толерантності до глюкози та IP [16].
2. Активованій RhebGTP-азою комплекс туберозного склерозу (tuberous sclerosis complex protein 1/2, TSC1/2), що регулює mTOR, яка контролює p70S6 кіназу та білковий синтез. Активація mTORC1 також може досягатися шляхом фосфорилування PRAS40 інгібітора mTORC1, що послаблює інгібування. Комплекс mTORC1 потім фосфорилує і пригнічує 4E-зв'язуючий білок 1 (4E-binding protein 1, 4E-BP1), активує рибосомні S6-кінази S6K1/2 і білок, що

зв'язує стеринний регуляторний елемент 1 (sterol regulatory element-binding protein 1, SREBP1), що призводить до регуляції мережі генів, які контролюють метаболізм і синтез білка в клітині [17].

3. Фактори транскрипції сімейства білків О боксу forkhead (forkhead box protein O, FOXO), що впливають на експресію генів ферментів глюконеогенезу, ліпогенезу, а також генів, які контролюють рівень проапоптотичного білка Bad та апоптоз [18] (рис.). Akt фосфорилує FOXO за кількома залишками серину/треоніну, які формують докінг-сайти для зв'язування білків сімейства 14-3-3. Ця взаємодія призводить до виключення FOXO з ядра, знижуючи його транскрипційну активність [19].
4. Akt-залежне фосфорилування коактиватора гама-рецептора, що активується проліфератором пероксисом 1 $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 $\alpha$ , PGC-1 $\alpha$ ) погіршує здатність останнього стимулювати глюконеогенез та окислення жирних кислот [20].
5. Фосфорилування фосфодіестерази 3В (Phosphodiesterase 3В, PDE3В) призводить до її активації та зниження рівня cAMP, який відіграє важливу роль в ефектах інсуліну щодо інгібування ліполізу в адипоцитах та секреції інсуліну  $\beta$ -клітинами [21].

Akt відіграє центральну роль в опосередкуванні багатьох інших ефектів інсуліну, регулюючи експресію та активність широкого спектра білків, включаючи ферменти, фактори транскрипції та білки, що регулюють клітинний цикл, апоптоз і виживання. Akt фосфорилує та інгібує Вах, Bad і каспазу-9, що сприяє виживанню клітин. Akt може фосфорилувати та активувати кіназу ІкВ (IkB kinase, IKK), що призводить до активації ядерного фактора  $\kappa$ В (nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B). Akt активує ендотеліальну синтазу оксиду азоту (eNOS), яка каталізує утворення вазодилатора та антизапального фактора – оксиду азоту (NO), забезпечуючи потенційний зв'язок між IP та серцево-судинними захворюваннями [22].

Без інгібуючого фосфорилування з боку Akt: AS160/TBC1D4 лімітує поглинання глюкози; GSK-3 $\beta$  пригнічує перетворення глюкози на глікоген; FOXO1 сприяє транскрипції генів глюконеогенезу в печінці; TSC2 блокує

стимуляцію синтезу білка інгібуючи mTOR/p70S6K.

### Ras/MAPK каскад

Із ТК-рецепторами (тирозинкінази) пов'язаний адаптерний механізм, що включає суперсімейство малих GTP-зв'язуючих білків, найбільш відомим представником яких є Ras. Останній відомий також як онкоген, мутації якого зустрічаються в багатьох типах пухлин. Ця обставина показує, що Ras знаходиться в ключовій ділянці механізму, що передає з мембранних рецепторів сигнали критичної важливості для життєдіяльності клітини. Ras, своєю чергою, активується системою адаптерів Grb2 і SOS (son-of-sevenless) [23, 24]. Активовані рецептори та білки IRS мають місця стикування адаптерних молекул Grb2 і Shc, які містять домену SH2. Карбокситермінальний SH3-домен Grb2 зв'язується з білками, такими як Gab-1, тоді як амінокінцевий SH3-домен зв'язується з багатьма проліном областями білка SOS. SOS являє собою фактор обміну гуанінового нуклеотиду (Guanine nucleotide exchange factor, GEF) для Ras, що контролює перемикач зв'язаного з мембраною Ras із неактивної, пов'язаної з GDP форми (Ras-GDP) в активну GTP-пов'язану форму (Ras-GTP). Подальше перенесення сигналу інсуліну з Ras на внутрішньоклітинні процеси здійснює другий за значущістю каскад Raf/MEK/MAPK, який ініціює проліферативні процеси та активується незалежно від каскаду PI3K/Akt [5, 24].

Перша ланка каскаду – протеїнкіназа c-Raf (B-Raf, A-Raf) активується безпосередньо Ras-GTP, остання, мітоген-активована протеїнкіназа, що регулюється позаклітинними сигналами (extracellular signal-regulated kinase, ERK), яка транслокується в ядро, де її субстратами виступають фактори транскрипції (рис.). Цей каскад є стандартним шляхом перенесення проліферативного сигналу при стимуляції клітин інсуліном, так і ростовими факторами [5, 25].

### Механізми IP

Головною особливістю ЦД2 є резистентність до інсуліну, стан, при якому клітини не можуть нормально реагувати на інсулін. Це відбувається, перш за все, на рівні чутливих до інсуліну тканин, таких як печінка, м'язи та жир, і може бути викликано множинними механізмами.

## Фундаментальні дослідження

*Генетичні причини ІР.* Мутації в гені інсулінового рецептора були ідентифіковані в кількох рідкісних формах важкої ІР, включаючи лепречаунізм, синдром Рабсона-Менденхолла або синдром ІР типу А. Більшість із цих пацієнтів мають нонсенс або міссенс мутації в позаклітинному ліганд-зв'язувальному домені або внутрішньоклітинному ТК-домени рецептора, що веде до значного гальмування зв'язування з інсуліном, зміни кінетики зв'язування або зниження активності ТК. Відомі також дефекти промотора, що призводять до зменшення експресії мРНК рецептора [23].

*Ліпотоксичність.* Однією з особливостей метаболічного синдрому є ектопічне накопичення ліпідів, особливо жирних кислот (fatty acids, FA), які можуть викликати ІР через численні механізми. Посилений гідроліз циркулюючих тригліцеридів через надмірну експресію ліпопротеїнової ліпази в м'язах призводить до ІР, а зростання транспорту ліпідів у серці або печінці призводить до ліпотоксичної кардіоміопатії та неалкогольної жирової хвороби печінки. При ожирінні спостерігається підвищення кількості циркулюючих вільних жирних кислот (free fatty acids, FFA), що посилюють фосфорилування c-Jun N-кінцевої кінази (c-Jun N-terminal kinase, JNK), ІКК, РКС та IRS-1 (Ser307) [26]. Пальмітат відіграє особливу роль у підвищенні ІР, оскільки він індукує ER-стрес (ендоплазматичний ретикулум, endoplasmic reticulum), утворення цитокінів та активацію JNK. Крім того, пальмітат активує NF-κB, тоді як інгібування цього шляху знижує ліпід-індуковану ІР.

*Запалення.* Ожиріння характеризується розвитком стану хронічного низькорівневого запалення, що вважається ключовим фактором, який сприяє розвитку пов'язаної з ожирінням ІР [27]. Розростання жирової тканини відбувається у відповідь на калорійне навантаження та асоціюється з посиленням інфільтрації імунних клітин та подальшою прозапальною реакцією [28]. До цього сценарію долучено два особливо важливі типи клітин: адипоцити та макрофаги, причому обидва здатні секретувати прозапальні цитокіни та індукувати ІР. Підвищена секреція хемокіну MCP-1 адипоцитами стимулює накопичення макрофагів у жировій тканині та викликає ІР.

*Гіперглікемія.* Сама глюкоза в надфізіологічній концентрації здатна змінювати чутливість

до інсуліну в м'язах і жировій тканині, а також знижує секрецію інсуліну β-клітинами. Гіперглікемія, викликана зниженням транспорту глюкози в скелетні м'язи, порушує дію інсуліну в печінці і жировій тканині та індукує ІР через шляхи, пов'язані з окислювальним стресом. Кінцеві продукти неферментативного глікозилювання (advanced glycation end products, AGE) інгібують передачу сигналів інсуліну шляхом посилення фосфорилування IRS-1 по Ser-307 і формування метилгліоксаль-IRS-1 адуктів. Гіперглікемія посилює потік через гексозамінові та поліолльні шляхи, що активують JNK. Це сприяє ІР у жировій тканині, скелетних м'язах, печінці та підшлунковій залозі частково через O-GlcNAцилювання IRS. Крім того, гіперглікемія також призводить до O-GlcNAцилювання рецептора інсуліну, що порушує його димеризацію та активує фактор транскрипції FOXO1, посилюючи експресію генів глюконеогенезу [5].

*Мітохондріальна дисфункція та утворення активних форм кисню (reactive oxygen species, ROS).* Хоча низькі рівні ROS можуть посилювати дію інсуліну, висока концентрація ROS викликає окислювальний стрес. ROS — побічний продукт електронного транспортного ланцюга та основний наслідок мітохондріальної дисфункції. Підвищені рівні ROS спостерігаються при ожирінні, діабеті та можуть бути викликані збільшенням потоку метаболітів у мітохондрії, змінами мітохондріальних білків та зниженою експресією антиоксидантних ферментів. Окислювальний стрес призводить до активації стрес-кіназ, які індукують ІР шляхом фосфорилування серинових залишків IRS [5].

*ER-стрес.* Реакція стресу ER — UPR (відповідь на незгорнуті білки, unfolded protein response), є адаптивним процесом для забезпечення правильного складання, дозрівання та контролю якості білків у ER. Три основні фактори UPR (PERK, IRE1a та ATF6) активуються при ожирінні, щоб послабити реакцію на незгорнуті білки [29]. Миші з ожирінням демонстрували посилену активність PERK та IRE1a у жировій тканині та печінці, викликаючи активацію JNK, ІКК та розвиток ІР шляхом фосфорилування IRS-1 по Ser-307 [30].

**2. Діагноз, прогноз та оцінка перспективності застосування цукрознижувальних**

### препаратів для лікування ЦД2 з використанням моделі МНПК.

*Активність PI3K/Akt/mTOR/p70S6K при ЦД2.* Вивчали активацію кінцевих ланок сигнального каскаду PI3K/Akt/mTOR/p70S6K у крові хворих на ЦД2. При проведенні дослідження як матеріал використовували плазму та МНПК, які отримували із крові пацієнтів. До складу МНПК в основному входять моноцити (до 30%) і лімфоцити (до 90%) — надзвичайно пластичні клітини, які беруть участь у процесах клітинного і гуморального імунітету, а також у розвитку діабету обох типів та атеросклерозу [3, 31, 32]. Надмірна або недостатня активація компонентів та субстратів PI3K/Akt/mTOR/p70S6K у цих клітинах крові може вказувати на необхідність додаткової корекції метаболічних процесів у хворих на ЦД2. Тому клітини крові є цінним інструментом для вивчення і розуміння основних механізмів розвитку цього захворювання.

Результати аналізу продемонстрували, що рівень інсуліноподібний фактор росту 1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1), а, особливо, інсуліну в плазмі хворих на діабет, був значно вищим порівняно з рівнем контрольної групи. Підвищений рівень інсуліну у хворих на ЦД підтверджує стан гіперінсулінемії, яка пов'язана з ожирінням, ІР та діабетом [33, 34].

Відомо, що рівень IGF-1 пов'язаний із вмістом інсуліну в крові, оскільки гіперінсулінемія підвищує біодоступність IGF-1 шляхом зменшення вмісту IGF-1-зв'язуючого глобуліну-1 [3]. Інсулін також збільшує експресію IGF-1 у печінці з подальшою активацією рецептора IGF-1 та стимуляцією росту клітин. Крім того, гіперінсулінемія активує рецептор гормону росту в печінці, що спричиняє підвищену секрецію гормону, і додатково стимулює синтез IGF-1 та проліферативні процеси [35].

Для оцінки взаємодії між рівнями інсуліну та IGF-1 зі станом активності кінцевих ланок внутрішньоклітинного сигнального каскаду PI3K/Akt/mTOR/p70S6K у клітинах крові хворих на ЦД2 було досліджено активацію серин-треонінових протеїнкіназ — Akt, p70S6K, а також комплексу mTORC1. У результаті проведених досліджень було виявлено активацію всіх складових компонентів вищезазначеного сигнального шляху [33, 34, 36, 37]. Проте активації Akt кіназою mTORC2

(фосфорилування по залишку Ser473) не спостерігалось. Отже, при діабеті максимальної активації цієї протеїнкінази не відбувається. Очевидно, основний шлях активації Akt пролягає через фосфорилування залишку Thr308 протеїнкіназою PDK1. Факт активації Akt підтверджується активацією низхідних кіназ p70S6K і mTORC1. Про активацію mTORC1 свідчить фосфорилування природного інгібітора mTORC1 — PRAS40 за залишком Thr246, яке знімає пригнічення mTORC1. PRAS40, зокрема, зв'язує компонент mTORC1 — Raptor, перешкоджаючи, таким чином, взаємодії кінази з її субстратами. Активована mTORC1 своєю чергою активує наступну кіназу p70S6K. Остання кіназа фосфорилує білки рибосом і стимулює білковий синтез. Проте при надлишку нутрієнтів у крові та, відповідно, інсуліну, цей каскад постійно активований, і mTORC1 з p70S6K фосфорилують ключовий адаптерний білок — IRS-1. Відбувається пригнічення каскаду за типом зворотного зв'язку. Таке фосфорилування не тільки його інактивує, але й зумовлює деградацію IRS-1 шляхом фосфорилування по Ser422. Таким чином, ланцюг передачі сигналу переривається не тільки на рівні регуляції, а й фізично — виникає ІР [3, 5].

Існують і інші шляхи пригнічення функції IRS. Наприклад через прозапальні цитокіни (IL-1; -18; -8, TNF), які секретують лімфоцити та макрофаги, інфільтровані в метаболічні тканини й, у першу чергу, у жирову тканину. У цьому випадку активуються JNK та IKK2 які також фосфорилують IRS. Збільшення вмісту вільних жирних кислот (особливо насичених) у циркуляції також веде до ІР, через активацію РКС [3, 5].

Отже, причин для виникнення ІР може бути багато, але в кінцевому підсумку все зводиться до основного механізму — фосфорилування протеїнкіназами IRS.

*Вплив ЦЗТ на внутрішньоклітинні сигнальні шляхи.* Активність кінцевих ланок сигнального каскаду PI3K/Akt/mTOR/p70S6K у крові хворих на ЦД2 вивчали на тлі різних схем ЦЗТ. Порівняльний аналіз вмісту фосфор-p70S6K та фосфо-PRAS40 — у МНПК хворих на ЦД2 виявив суттєву різницю залежно від схеми ЦЗТ. Так, у хворих, які отримували монотерапію МФ виявлено достовірно нижчий вміст фосфо-p70S6K порівняно з показниками

## Фундаментальні дослідження

хворих, які отримували інші схеми гіпоглікемічних препаратів, зокрема: комбіновану терапію МФ та похідними сульфонілсечовини (СС), комбіновану терапію МФ, похідними СС та інгібіторами дипептидилпептидази-4 (іДПП-4), комбіновану терапію МФ з інсуліном та монотерапію інсуліном. Слід зазначити, що за терапії МФ рівень фосфо-p70S6K наближався до контрольного. Вміст фосфо-PRAS40 також був нижчим при терапії МФ, що може свідчити про пригнічення активації mTORC1 шляхом активації МФ 5' AMP-активованої протеїнкінази (5' AMP-activated protein kinase, AMPK), яка пригнічує mTORC1 за кількома механізмами [38]. Проте, ці зміни спостерігали лише в пацієнтів, які отримували комбіновану терапію МФ і похідними СС, хоча тенденція до зростання кількості фосфо-PRAS40 спостерігалась і при інших комбінаціях. Отже, нами встановлене зниження активації mTORC1 і p70S6K у хворих, які отримували монотерапію МФ, може свідчити про зниження фосфорилування IRS-1, і як наслідок, IP.

Іншою, не менш важливою кіназою, яка сприяє розвитку IP, ожирінню та ЦД2 є ERK — ключовий фермент Ret/Ras/Raf/MEK/ERK-сигнального каскаду [39]. Результати досліджень щодо визначення активації кінази в МНПК хворих на ЦД2, які отримували різні гіпоглікемічні препарати (11 — МФ, 16 — інсулін, 3 — СС) не продемонстрували вірогідних змін. Водночас, у хворих на ЦД1 чи автоімунним тиреоїдитом активація ERK1/2 у МНПК суттєво зростала, у хворих на ЦД1 з автоімунним тиреоїдитом — знижувалася до контрольного рівня, що можна пояснити конкуренцією між двома автоімунними процесами за спільні сигнальні шляхи. Отже, результати проведеної роботи показали, що лише в пацієнтів з автоімунними захворюваннями (ЦД1 або автоімунний тиреоїдит) відбувається активація MAPK/ERK-каскаду [40]. У МНПК хворих на ЦД2, який характеризується інтенсивною інфільтрацією макрофагів і лімфоцитів у метаболічні тканини, активації проліферативних процесів не відбувається. Можливо поділ таких клітин відбувається після інфільтрації. Автоімунні процеси, характерні для хворих на ЦД1 або АІТ, спричиняють посилення активації ERK1/2, що напевно

пов'язано з посиленням проліферації лімфоцитів та секреції лімфоцитами та макрофагами прозапальних цитокінів [41]. Цікаво відмітити суттєве (майже у 2,5 раза) зниження кількості ERK у плазмі хворих на ЦД2.

*Вплив ЦЗТ на активність AMPK.* AMPK є гетеротримером, що складається з каталітичної субодиниці ( $\alpha$ ) і двох регуляторних субодиниць ( $\beta$  і  $\gamma$ ).  $\gamma$ -субодиниця містить чотири потенційні сайти зв'язування аденинових нуклеотидів. Субодиниця  $\alpha$  має 2 ізоформи  $\alpha 1$  і  $\alpha 2$ . AMPK $\alpha 1$  і  $\alpha 2$  кодуються різними генами та спільно експресуються в більшості тканин для регулювання енергетичного обміну [38].

При енергетичному стресі в клітині та збільшенні концентрації АМФ, АТФ замінюється в центрах обміну на АМФ, що призводить до алостеричної активації AMPK через фосфорилування 172 треоніну  $\alpha$ -субодиниці комплексом кіназа печінки B1 (liver kinase B1, LKB1) у відповідь на зміни клітинної енергії, або кальцій/кальмодулін-залежна кіназа  $\beta$  (calcium/calmodulin-dependent protein kinase  $\beta$ , САМКК $\beta$ ), яка активується внутрішньоклітинним  $\text{Ca}^{2+}$  [38].

AMPK контролює енергетичний баланс клітини. Шляхом прямого фосфорилування метаболічних ферментів і факторів транскрипції AMPK стимулює катаболічні процеси — поглинання глюкози, жирних кислот та їх перетворення шляхом мітохондріального окислення і гліколізу. Крім того, AMPK пригнічує анаболічні процеси — синтез глюкози, глікогену, білків та ліпідів у печінці. При цукровому ЦД2 та ожирінні її активність знижується, а активність протеїнкіназ mTORC1/p70S6K підвищується, що призводить до фосфорилування IRS-1 та IP [3]. Дія гіпоглікемічних препаратів, наприклад МФ, пов'язана з активацією AMPK [42].

Встановлено, що зі збільшенням кількості HbA1c у крові, рівень активованої AMPK у лейкоцитах поступово знижується. Активність AMPK у МНПК пацієнтів із тривалістю захворювання ~ 20 років у три рази нижче, ніж у діабетиків із 10-річним стажем. Таким чином, активність AMPK у МНПК може бути індикатором діабетичної компенсації в пацієнтів із діабетом [43, 44]. При аналізі активності AMPK у клітинах крові при комбінованому лікуванні хворих на ЦД2 було показано, що

препарати МФ збільшують активність АМРК у клітинах крові пацієнтів із ЦД2 більш, ніж у 3-6 разів порівняно з хворими до лікування. Інсулін і його аналог повністю пригнічують активність АМРК, індуковану МФ у МНПК пацієнтів із ЦД2, що може свідчити про зниження терапевтичного ефекту МФ. Гліклазид MR збільшує активність АМРК у МНПК. За присутності МФ і гліклазиду рівень фосфорилювання АМРК знижується. Механізм активації АМРК гліклазидом MR, ймовірно, пов'язаний з ефектом останнього на Ерас2А. Дапагліфлозин підвищує активність АМРК і посилює ефект МФ у МНПК хворих ЦД2. Отже, активність АМРК у клітинах крові може слугувати одним із показників ефективності дії гіпоглікемічних препаратів [43-45].

Слід також зазначити, що кількість АМРК $\alpha$  в плазмі крові пацієнтів, хворих на діабет помітно, майже в 1,4 раза підвищується. Також зростає в плазмі кількість IRS-1 (більш ніж на 30%) [46, 47].

Дані щодо причини та значення появи АМРК $\alpha$  та IRS-1 у плазмі крові обмежені. Рівні АМРК $\alpha$ 1 у плазмі були знижені в пацієнтів із хворобою Альцгеймера [48]. Останні дані також вказують на нову роль АМРК у патогенезі серцево-судинних захворювань. Делеція АМРК $\alpha$ 2 збільшує атеросклероз в ApoE $\alpha$ -мишей, ймовірно, через посилений окислювальний стрес і стрес ER. Дефіцит АМРК $\alpha$ 1 порушує опосередковану автофагією диференціацію моноцитів і знижує виживаність моноцитів/макрофагів, що послаблює атеросклероз в ApoE $\alpha$ -мишей *in vivo* [48, 49].

Наші дані та результати інших авторів свідчать, що рівень IRS-1 у крові здорових людей досить низький. Однак при серйозних захворюваннях, таких як рак, він може зростати більш ніж удвічі. Він може бути потенційним біомаркером у діагностиці раку [50]. Поки що важко припустити, який механізм його появи в плазмі крові. Швидше за все його джерелом є клітини крові або пухлинні клітини у випадку раку. Фізіологічна роль IRS не обмежується метаболізмом глюкози та ростом. Відомо, що, крім участі в опосередкованні дії факторів росту, IRS бере участь в інших сигнальних механізмах, які ще недостатньо вивчені. IRS-1 підтримує здоров'я судин, а IRS-1 і IRS-2 регулюють обмін кісток і диференціювання адипоцитів [51].

*Вплив ЦЗТ на вміст мікроРНК.* МікроРНК — невеликі (17-25 нуклеотидів) ендегенні некодуючі висококонсервативні РНК, які беруть участь у численних процесах регуляції експресії генів. Вони можуть зв'язуватися з 3'-ділянкою мРНК, що не транслюється, і регулювати клітинні функції, шляхом дестабілізації мРНК та пригнічення трансляційної активності.

Профілі їх експресії та функції були ретельно вивчені. Через зміну доступності мРНК і швидкості синтезу білка мікроРНК регулюють такі процеси, як клітинний ріст, проліферація, диференціювання та апоптоз. Останні дослідження показали асоціацію ендотеліальної мікроРНК-126 і мікроРНК-142 з ЦД2. Перехресні дослідження показали помітне зниження мікроРНК-126 у хворих ЦД2. Ці зміни мікроРНК-126 були специфічними для ЦД2 з точністю до 89,2% [52].

Ми перевірили кількість циркулюючих мікроРНК-126 і мікроРНК-142 в сироватці вибраної когорти пацієнтів, які отримували звичайні препарати для лікування ЦД2 [53, 54]. Результати проведених досліджень продемонстрували, що в сироватці хворих на ЦД2 спостерігалось помітне збільшення мікроРНК-142 і зниження мікроРНК-126. При оцінці дії ЦЗТ, було виявлено, що при монотерапії дапагліфлозином і в комбінації з дапагліфлозином лікування інсуліном і МФ збільшує кількість мікроРНК-126 до рівня здорових добровольців. При лікуванні МФ, похідними СС (гліклазид) окремо або в комбінації з МФ чи дапагліфлозином рівень мікроРНК-126 стає вищим, ніж у контрольній сироватці. Ефект дапагліфлозину збігався зі зниженням рівня ET-1 в плазмі крові, що може мати причинний зв'язок.

У випадку з мікроРНК-142 рівень цієї мікроРНК знижувався нижче контрольного в усіх варіантах лікування [53, 54]. Щодо молекулярних механізмів впливу дапагліфлозину та гліклазиду на експресію мікроРНК-126 — зараз відомо дуже мало. Є дані, що неацильований грелін індукував up-регуляцію мікроРНК-126, викликаючи посилення експресії сіртуїну 1 (Sirtuin 1, SIRT1) [55]. За нашими даними і дапагліфлозин, і гліклазид активують в МНПК АМРК — основний енергетичний сенсор клітини. Відомо, що АМРК тісно контактує в клітині з SIRT1, формуючи цикл

## Фундаментальні дослідження

АМПК-SIRT1, який пов'язує енергію клітини з окислювально-відновним станом. Крім того, АМПК і сиртуїни діють на загальні транскрипційні активатори та коактиватори [3, 38].

Таким чином, використання мікроРНК як діагностичних маркерів може бути перспективним напрямком досліджень. МікроРНК, що циркулюють у крові, є цінними маркерами діабету, багатьох інших системних хвороб і потенційною мішенню для терапевтичних впливів.

### 3. Нові можливості цукрознижувальних препаратів щодо зниження ризику серцево-судинних захворювань у хворих на ЦД2.

Артеріальна гіпертензія (АГ) і порушення ліпідного обміну у хворих на ЦД2 належать до головних факторів ризику, що сприяють розвитку серцево-судинних ускладнень і, як наслідок, підвищення рівня інвалідизації та зменшення загальної тривалості життя.

На сьогодні експериментально доведено, що АГ і дисліпідемія тісно взаємозв'язані в прогресуванні розвитку ЦД2. Вирішальну роль у виникненні АГ при цій патології відіграє ренін-ангіотензин-альдостеронова система (РААС) [56]. Як відомо, підвищений тиск спричиняє структурно-функціональні зміни артеріальної стінки судин і сприяє розвитку атеросклерозу [57]. Його виникнення при ЦД2 визначається порушенням ліпідного обміну зі збільшенням вмісту в крові загального холестерину, тригліцеридів, ліпопротеїдів низької щільності та зменшенням ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) [58].

Наразі препаратами вибору для пацієнтів із ЦД2 і серцево-судинними захворюваннями атеросклеротичного генезу, крім інгібіторів АПФ, є застосування сполук, механізм дії яких пов'язаний із пригніченням натрій-глюкозних транспортерів. Одним із найбільш широко використовуваних препаратів, представників цієї фармакологічної групи, є дапагліфлозин. На відміну від пероральних протидіабетичних препаратів інших класів, дапагліфлозин, крім гіпоглікемічних ефектів, здатен призводити до зниження артеріального тиску і маси тіла [59].

Для з'ясування механізмів зниження АТ під впливом дапагліфлозину, визначали активність АПФ, рівень іонів натрію і калію в надниркових залозах та сироватці крові щурів за умов експериментального моделювання ІР.

Дослідження ефекту дапагліфлозину показали, що щоденне, багаторазове впродовж 8 днів введення препарату щурам з ІР призводить до вірогідного зниження активності АПФ в сироватці крові тварин. Активність АПФ, локалізованого в надниркових залозах щурів, також має тенденцію до зниження. Разом із тим, рівень досліджуваних електролітів крові, обмін яких пов'язаний зі змінами компонентів РААС, за умов дії дапагліфлозину залишається без змін. Таким чином, зниження активності циркулюючої форми сироваткового АПФ у щурів після багаторазового введення дапагліфлозину інсулінорезистентним тваринам може бути одним із механізмів, які забезпечують зниження артеріального тиску, що може позитивно впливати на функції нирок та кардіометаболізм [60].

Як відомо, підвищений рівень холестерину ліпопротеїнів високої щільності ЛПВЩ та ApoA1 у плазмі асоціюється зі зниженим ризиком розвитку серцево-судинних захворювань. Окрім потенційної кардіопротекторної функції, зазначені показники також мають протидіабетичні властивості. Встановлено, що рівень ApoA1 у крові хворих на ЦД був значно нижчим, а рівень аполіпопротеїну В (apolipoprotein B, ApoB) та окиснених ЛПНЩ – вищим, ніж у крові здорових людей [61, 62]. На рівень ApoA1 впливають супутні захворювання. Хронічний автоімунний тиреоїдит (ХАТ), хронічна ниркова недостатність (ХНН) та АГ призводять до вірогідного зниження рівня ApoA1 в крові. Метою роботи було провести порівняльний аналіз впливу антидіабетичних препаратів на рівень ApoA1. Встановлено, що лікування МФ, або у вигляді монотерапії, або в поєднанні з іншими препаратами (переважно інсуліном), суттєво не впливає на рівень ApoA1 порівняно зі середнім показником для всієї групи. У хворих, які отримували сульфонілсечовину, рівень ApoA1 значно нижчий від середнього рівня для групи та норми. Значний позитивний вплив на кількість ApoA1 у плазмі спостерігався у хворих, які отримували комбінацію препаратів з інгібіторами натрійзалежного котранспортера глюкози-2 та, особливо, інгібіторами дипептидилпептидази-4 [63-65].

Ендотеліальна дисфункція (ЕД) є однією з ключових патологічних подій у розвитку

хронічних судинних ускладнень діабету. Важливим ефектом ЕД є збільшення продукції та біологічної активності сильнодійного вазоконстриктора і прозапального пептиду ET-1. Згідно із сучасними рекомендаціями, МФ продовжує залишатися препаратом першої лінії для лікування ЦД2. Встановлено, що механізм дії МФ може бути пов'язаний із біохімічними процесами в шлунково-кишковому тракті. У зв'язку з цим метою роботи було провести визначення і зіставлення рівнів ET-1, NT-proBNP і GLP-1 у крові пацієнтів із ЦД2, які отримували МФ. Кількість ET-1 у крові хворих на ЦД2 значно перевищує його концентрацію в контрольних зразках. Монотерапія МФ приводить до зниження рівня ET-1 більше, ніж на 65%. Комбінована терапія МФ з інсуліном викликає ще більше зменшення кількості ET-1. Рівень GLP-1 у крові хворих на ЦД2 значно, більше ніж удвічі, знижений порівняно зі здоровими людьми. Після лікування МФ вміст GLP-1 збільшується до контрольного рівня. Кількість NT-proBNP у крові хворих на ЦД2 перевищує контрольні значення більше, ніж удвічі. Лікування МФ приводить до зниження рівня NT-proBNP більше, ніж на 40%. Таким чином, лікування МФ обумовлює зниження концентрацій ET-1 і NT-proBNP, а також підвищення рівня GLP-1 у крові пацієнтів із ЦД2. Разом ці події можуть указувати на позитивний захисний ефект МФ на серцево-судинну систему [66, 67].

### Теоретичні розробки

У відділі триває робота по аналізу та узагальненню даних наукової літератури щодо нових напрямків та перспектив розвитку сучасної ендокринології.

Низку оглядів було присвячено використанню стовбурових клітин для лікування різноманітних ендокринних захворювань і, особливо, діабету, розробки підходів для відновлення структури та функції підшлункової залози. Показана перспективність використання мезенхімальних стовбурових клітин, як найменш імуногенних та таких, що характеризуються численними позитивними терапевтичними властивостями [68-72].

Окрема серія робіт присвячена тонким механізмам патогенезу діабету 1 та 2 типів, з акцентом на запальні процеси як у залозі, так і інших тканинах організму. Важливим напрямком

сучасної клінічної ендокринології є аналіз механізмів виникнення ускладнень діабету – когнітивних порушень, раку та, особливо, серцево-судинних захворювань [38, 73-79].

Не залишаються поза увагою і традиційні питання сучасної молекулярної ендокринології – рецепція і внутрішньоклітинні механізми дії інсуліну, механізми дії цукрознижувальних препаратів та їх взаємодії при комбінованому лікуванні [3-6, 38, 43, 45, 80].

### Висновки

1. При діабеті спостерігалась активація Akt (Thr308) в МНПК, що свідчить про активність інсулінового каскаду та активацію основної ефекторної кінази через шлях PI3K. Активація mTORC1 та її субстратів при діабеті свідчить про активацію Akt шляхом її фосфорилування PDK1, а не mTORC2, тобто, про реципрокність, а не адитивність фосфорилування та активації цієї кінази. Активність Akt у плазмі крові хворих на діабет суттєво знижується.
2. Стан фосфорилування p70S6K та PRAS40 у МНПК свідчить про активність mTORC1 та її субстратів при діабеті, що може бути важливим для оцінки патологічного процесу та ефективності лікарських препаратів. У хворих із ЦД2 на монотерапії МФ виявлено нижчий вміст фосфо-PRAS40, а отже знижену активність mTORC1 у МНПК, порівняно з показником пацієнтів на комбінованій терапії МФ і похідними СС.
3. Зниження рівня p70S6K у хворих, які отримували монотерапію МФ, може свідчити про зниження фосфорилування IRS-1, і як наслідок, ІР.
4. Показано, що активації ERK1/2 у МНПК хворих на ЦД2 не спостерігається, тоді як у хворих на ЦД1 чи автоімунним тиреоїдитом вона суттєво зростала. Однак у хворих на ЦД1 з автоімунним тиреоїдитом активація ERK1/2 у МНПК знижувалася до контрольного рівня, що можна пояснити конкуренцією між двома автоімунними процесами за спільні сигнальні шляхи. Встановлено активацію ERK1/2 у плазмі крові хворих на ЦД2.
5. Показано, що рівень AroA1 у крові хворих на ЦД був значно нижчим, а рівень AroB

## Фундаментальні дослідження

та окислених ЛПНЩ — вищим, ніж у крові здорових людей. Кількість ЕТ-1 у крові хворих на ЦД2 перевищує його концентрацію в контрольних зразках. Монотерапія МФ та комбінована терапія МФ з інсуліном приводить до зниження рівня ЕТ-1. Кількість NT-проВNP у крові хворих на ЦД перевищує контрольні значення. Лікування МФ приводить до зниження рівня NT-проВNP, а також підвищення рівня GLP-1 у крові пацієнтів із ЦД2.

6. У сироватці хворих на ЦД2 спостерігалось помітне збільшення мікроРНК-142 і зниження мікроРНК-126. При оцінці дії ЦЗТ, було виявлено, що при монотерапії дапагліфлозином і в комбінації з дапагліфлозином лікування інсуліном і МФ збільшує кількість мікроРНК-126 до контрольного рівня.
7. Кількість АМРК $\alpha$  та IRS-1 у плазмі крові пацієнті, хворих на діабет помітно підвищується.
8. Дослідження ефекту дапагліфлозину показали, що багаторазове введення препарату щурам з ІР призводить до вірогідного зниження активності АПФ в сироватці крові тварин, що може, своєю чергою, бути одним із механізмів, які забезпечують зниження артеріального тиску.

## Список використаної літератури

1. Тронько МД, Большова ОВ, Соколова ЛК, Бельчіна ЮБ. Цукровий діабет 2-го типу: етіологія, патогенез, клініка, діагностика та лікування. Практикуючий лікар. 2021;10(4):35-44 (Tronko MD, Bolshova OV, Sokolova LK, Belchina YuB. Type 2 diabetes: etiology, pathogenesis, clinic, diagnosis and treatment. Practising doctor. 2021;10(4):35-44. Ukrainian).
2. Semple RK. EJE PRIZE 2016: How does insulin resistance arise, and how does it cause disease? Human genetic lessons. Eur J Endocrinol. 2016;174(5):R209-23. doi: 10.1530/EJE-15-1131.
3. Tronko ND, Pushkarev VM, Sokolova LK, Pushkarev VV, Kovzun EI. Molecular mechanisms of the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications. K.: TOV «Vydavnychyy dim Medknyha», 2018. 264 p. Russian.
4. Tronko ND, Kovzun EI, Pushkarev VV, Sokolova LK, Pushkarev VM. Reception and intracellular mechanisms of action of insulin (part 1). Endokrynologia. 2018;23(3):269-80. Russian.
5. Tronko ND, Kovzun EI, Pushkarev VV, Sokolova LK, Pushkarev VM. Reception and intracellular mechanisms of action of insulin (part 2). Endokrynologia. 2018;23(4):341-55. Russian.
6. Tronko ND, Kovzun EI, Pushkarev VM. Reception and intracellular mechanisms of action of insulin. Journal of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine. 2012; 18(4):430-7. Russian.
7. Chudasama KK, Winnay J, Johansson S, Claudi T, König R, Haldorsen I, et al. SHORT syndrome with partial lipodystrophy due to impaired phosphatidylinositol 3 kinase signaling. Am J Hum Genet. 2013;93(1):150-7. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.05.023.
8. Burke JE, Vadas O, Berndt A, Finegan T, Perisic O, Williams RL. Dynamics of the phosphoinositide 3-kinase p110 $\delta$  interaction with p85 $\alpha$  and membranes reveals aspects of regulation distinct from p110 $\alpha$ . Structure. 2011;19(8):1127-37. doi: 10.1016/j.str.2011.06.003.
9. Sopasakis VR, Liu P, Suzuki R, Kondo T, Winnay J, Tran TT, et al. Specific roles of the p110 $\alpha$  isoform of phosphatidylinositol 3-kinase in hepatic insulin signaling and metabolic regulation. Cell Metab. 2010;11(3):220-30. doi: 10.1016/j.cmet.2010.02.002.
10. Farese RV, Sajan MP. Metabolic functions of atypical protein kinase C: "good" and "bad" as defined by nutritional status. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2010;298(3):E385-94. doi: 10.1152/ajpendo.00608.2009.
11. Bayascas JR. PDK1: the major transducer of PI 3-kinase actions. Curr Top Microbiol Immunol. 2010;346:9-29. doi: 10.1007/82\_2010\_43.
12. Copps KD, White MF. Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2. Diabetologia. 2012;55(10):2565-82. doi: 10.1007/s00125-012-2644-8.
13. Hsu PP, Kang SA, Rameseder J, Zhang Y, Ottina KA, Lim D, et al. The mTOR-regulated phosphoproteome reveals a mechanism of mTORC1-mediated inhibition of growth factor signaling. Science. 2011;332(6035):1317-22. doi: 10.1126/science.1199498.
14. Lero MW, Shaw LM. Diversity of insulin and IGF signaling in breast cancer: Implications for therapy. Mol Cell Endocrinol. 2021 May 15;527:111213. doi: 10.1016/j.mce.2021.111213.
15. Schultze SM, Jensen J, Hemmings BA, Tschopp O, Niessen M. Promiscuous affairs of PKB/AKT isoforms in metabolism. Arch Physiol Biochem. 2011;117(2):70-7. doi: 10.3109/13813455.2010.539236.
16. Moltke I, Grarup N, Jørgensen ME, Bjerregaard P, Trebak JT, Fumagalli M, et al. A common Greenlandic TBC1D4 variant confers muscle insulin resistance and type 2 diabetes. Nature. 2014;512(7513):190-3. doi: 10.1038/nature13425.
17. Düvel K, Yecies JL, Menon S, Raman P, Lipovsky AI, Souza AL, et al. Activation of a metabolic gene regulatory network downstream of mTOR complex 1. Mol Cell. 2010;39(2):171-83. doi: 10.1016/j.molcel.2010.06.022.
18. Lee S, Dong HH. FoxO integration of insulin signaling with glucose and lipid metabolism. J Endocrinol. 2017;233(2):R67-79. doi: 10.1530/JOE-17-0002.
19. Tzivion G, Dobson M, Ramakrishnan G. FoxO transcription factors; Regulation by AKT and 14-3-3 proteins. Biochim Biophys Acta. 2011;1813(11):1938-45. doi: 10.1016/j.bbamcr.2011.06.002.
20. Li X, Monks B, Ge Q, Birnbaum MJ. Akt/PKB regulates hepatic metabolism by directly inhibiting PGC-1 $\alpha$  transcription coactivator. Nature. 2007;447(7147):1012-6. doi: 10.1038/nature05861.
21. Degerman E, Ahmad F, Chung YW, Guirguis E, Omar B, Stenson L, et al. From PDE3B to the regulation of energy homeostasis. Curr Opin Pharmacol. 2011;11(6):676-82. doi: 10.1016/j.coph.2011.09.015.
22. Yu Q, Gao F, Ma XL. Insulin says NO to cardiovascular disease. Cardiovasc Res. 2011;89(3):516-24. doi: 10.1093/cvr/cvq349.
23. Boucher J, Kleinridders A, Kahn CR. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2014;6(1):a009191. doi: 10.1101/cshperspect.a009191.
24. Гуда ББ, Пушкарьов ВВ, Ковзун ОІ, Пушкарьов ВМ, Тронько МД. Токсичність МАРК у карциномах ЩЗ. Механізми пригнічення сигнального каскаду (огляд літератури та власних даних). Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука. 2019;(3):84-96 (Guda BB, Pushkarev VV, Kovzun OI, Pushkarev VM, Tronko MD. Toxicity of MARK in thyroid carcinomas. Mechanisms of suppression of signal cascade (review of literature and own data). Hospital Surgery. Journal named after L.Ya.Kovalchuk. 2019;(3):84-96. Ukrainian).
25. Gehart H, Kumpf S, Ittner A, Ricci R. MAPK signalling in cellular metabolism: stress or wellness? EMBO Rep. 2010;11(11):834-40. doi: 10.1038/embo.2010.160.
26. Schenk S, Saberi M, Olefsky JM. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. J Clin Invest. 2008 Sep;118(9):2992-3002. doi: 10.1172/JCI34260.
27. Osborn O, Olefsky JM. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. Nat Med. 2012;18(3):363-74. doi: 10.1038/nm.2627.

28. Sun K, Kusminski CM, Scherer PE. Adipose tissue remodeling and obesity. *J. Clin. Invest.* 2011;121:2094-101.
29. Pushkarev VV, Sokolova LK, Kovzun OI, Pushkarev VM, Tronko MD. The role of endoplasmic reticulum stress and NLRP3 inflammasomes in the development of atherosclerosis. *Cytology and Genetics.* 2021;55(4):331-9. doi: 10.3103/S0095452721040113.
30. Zhang J, Gao Z, Yin J, Quon MJ, Ye J. S6K directly phosphorylates IRS-1 on Ser-270 to promote insulin resistance in response to TNF-(alpha) signaling through IKK2. *J Biol Chem.* 2008;283(51):35375-82. doi: 10.1074/jbc.M806480200.
31. Subramanian V, Ferrante AW Jr. Obesity, inflammation, and macrophages. Nestle Nutr Workshop Ser Paediatr Program. 2009;63:151-9. doi: 10.1159/000209979.
32. Sokolova LK, Pushkarev VM, Pushkarev VV, Tronko ND. Diabetes and atherosclerosis. Cellular mechanisms of pathogenesis. *Endokrynologia.* 2017;22(2):127-38.
33. Vatsuba TS, Sokolova LK, Pushkarev VV, Kovzun OI, Pushkarev VM, Tronko MD. The study of the activation of mTORC1 and its substrate p70S6K involved in type 2 diabetes mellitus and oncogenetic processes. *Eastern Ukrainian Medical Journal.* 2020;8(2):182-90. doi: 10.21272/eumj.2020;8(2):182-90.
34. Vatsuba TS, Sokolova LK, Pushkarev VM, Kovzun OI, Guda BB, Pushkarev VV, et al. Activation of the PI3K/Akt/mTOR/p70S6K1 signaling cascade in peripheral blood mononuclear cells in patients with type 2 diabetes. Akt phosphorylation reciprocity. *Ukr Biochem J.* 2020;92(6):54-9. doi: 10.15407/ubj92.06.113.
35. Alderete TL, Byrd-Williams CE, Toledo-Corral CM, Conti DV, Weigensberg MJ, Goran MI. Relationships between IGF-1 and IGFBP-1 and adiposity in obese African-American and Latino adolescents. *Obesity (Silver Spring).* 2011;19(5):933-8. doi: 10.1038/oby.2010.211.
36. Вацеба ТС, Соколова ЛК, Пушкарёв ВВ, Ковзун ОІ, Пушкарёв ВМ, Тронько МД. Фосфорилування PRAS40 у лейкоцитах хворих на рак та діабет. *Допов Нац акад наук Укр.* 2019;5:102-7 (Vatsuba TS, Sokolova LK, Pushkarev VV, Kovzun OI, Pushkarev VM, Tronko MD. Phosphorylation of PRAS40 in leukocytes of patients with cancer and diabetes. *Dopov Nac akad nauk Ukr.* 2019;5:102-7. Ukrainian). doi: 10.15407/dopovidi2019.05.102.
37. Vatsuba TS, Sokolova LK, Pushkarev VV, Kovzun OI, Pushkarev VM, Guda BB, et al. Phosphorylation of protein kinase Akt by mTORC2 in leukocytes of patients with cancer and diabetes. *J Endocrinol Res.* 2019;01(01):8-12. doi: 10.30564/jer.v1i1.674.
38. Pushkarev VM, Sokolova LK, Pushkarev VV, Tronko ND. Role of AMPK and mTOR in the development of insulin resistance and type 2 diabetes. mechanism of action of metformin (literature review). *Problems of Endocrine Pathology.* 2016;(3):77-90.
39. Ozaki KI, Awazu M, Tamiya M, Iwasaki Y, Harada A, Kugisaki S, et al. Targeting the ERK signaling pathway as a potential treatment for insulin resistance and type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2016;310(8):E643-51. doi: 10.1152/ajpendo.00445.2015.
40. Pushkarev VV, Sokolova LK, Kovzun OI, Cherviakov SA, Vatsuba TS, Pushkarev VM, et al. Activation of extracellular signal-regulated kinase-1/2 in blood mononuclear cells of patients with diabetes and autoimmune thyroiditis. *Endokrynologia.* 2020;25(1):49-52. doi:10.31793/1680-1466.2020.25-1.49.
41. Arthur JSC, Ley SC. Mitogen-activated protein kinases in innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2013;13:679-92. doi: 10.1038/nri3495.
42. Meng S, Cao J, He Q, Xiong L, Chang E, Radovick S, et al. Metformin activates AMP-activated protein kinase by promoting formation of the  $\alpha\beta$  heterotrimeric complex. *J Biol Chem.* 2015;290(6):3793-802. doi: 10.1074/jbc.M114.604421.
43. Pushkarev VV, Sokolova LK, Pushkarev VM, Belchina YB, Vatsuba TS, Tronko ND. Effect of combined treatment with insulin and other hypoglycemic drugs on 5'AMP-activated protein kinase activity in lymphocytes in patients with diabetes mellitus. *Problems of Endocrine Pathology.* 2019;(3):74-82. doi: 10.21856/j-PEP.2019.3.10.
44. Pushkarev VV, Sokolova LK, Pushkarev VM, Belchina YB, Vatsuba TS, Tronko ND. Association of 5'AMP-activated protein kinase activity with duration of disease and glycated hemoglobin content in lymphocytes of patients with diabetes mellitus. *Mižnarodnij Endokrinologičnij Žurnal.* 2019;15(1):23-6. doi: 0.22141/2224-0721.15.1.2019.158688.
45. Sokolova LK, Pushkarev VM, Belchina YuB, Pushkarev VV, Tronko ND. Effect of combined treatment with insulin and metformin on 5'AMP-activated protein kinase activity in lymphocytes of diabetic patients. *Dopov Nac Akad Nauk Ukr.* 2018;(5):100-4. doi: 10.15407/dopovidi2018.05.100.
46. Tronko MD, Pushkarev VV, Sokolova LK, Cherviakov SA, Belchina YuB, Kovzun OI, et al. Effects of COVID-19, diabetes mellitus and cardiovascular diseases on insulin receptor substrate-1 amount in the blood plasma of patients. *Dopov Nac Akad Nauk Ukr.* 2021;(5):114-7. doi: 10.15407/dopovidi2021.05.114.
47. Tronko MD, Pushkarev VV, Sokolova LK, Cherviakov SA, Belchina YuB, Kovzun OI, et al. Effects of COVID-19 and diabetes mellitus on AMPK $\alpha$ 1 and IRS-1 amount in the blood plasma of patients. *Dopov Nac Akad Nauk Ukr.* 2022;(3):87-91. doi: 10.15407/dopovidi2022.03.087.
48. Wang X, Zimmermann HR, Lockhart SN, Craft S, Ma T. Decreased levels of blood AMPK $\alpha$ 1 but not AMPK $\alpha$ 2 isoform in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: A pilot study. *J Alzheimers Dis.* 2020;76(1):217-24. doi: 10.3233/JAD-191189.
49. Zhang M, Zhu H, Ding Y, Liu Z, Cai Z, Zou MH. AMP-activated protein kinase  $\alpha$ 1 promotes atherogenesis by increasing monocyte-to-macrophage differentiation. *J Biol Chem.* 2017;292(19):7888-903. doi: 10.1074/jbc.M117.779447.
50. Sun X, Chen Y, Tan J, Qi X. Serum IRS-1 acts as a novel biomarker for diagnosis in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol.* 2018;11(7):3685-90.
51. Hakuno F, Fukushima T, Yoneyama Y, Kamei H, Ozoe A, Yoshihara H, et al. The novel functions of high-molecular-mass complexes containing insulin receptor substrates in mediation and modulation of insulin-like activities: emerging concept of diverse functions by IRS-associated proteins. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2015;6:73. doi: 10.3389/fendo.2015.00073.
52. Ortega FJ, Mercader JM, Moreno-Navarrete JM, Rovira O, Guerra E, Esteve E, et al. Profiling of circulating microRNAs reveals common microRNAs linked to type 2 diabetes that change with insulin sensitization. *Diabetes Care.* 2014;37(5):1375-83. doi: 10.2337/dc13-1847.
53. Pushkarev VM, Sokolova L, Zhuravel O, Pushkarev VV, Belchina YB, Tronko M. Comparison of serum miRNAs expression of diabetic patients with healthy volunteers after type 2 diabetes drugs treatment. Abstracts of 52nd EASD Annual Meeting; 2016 Sep 12-16; Munich, Germany. *Diabetologia.* 2016 Aug;59 Suppl 1 (Suppl 1): p. S352. doi: 10.1007/s00125-016-4046-9.
54. Пушкарёв ВВ, Соколова ЛК, Ковзун ОІ, Бельчіна ЮБ, Вацеба ТС, Пушкарёв ВМ, та ін. Вміст мікроРНК-126 у сироватці крові хворих на діабет 2 типу при лікуванні деякими цукрознижуючими препаратами. *Проблеми ендокринної патології.* 2020;3:81-8 (Pushkarev VV, Sokolova LK, Kovzun OI, Belchina YB, Vatsuba TS, Pushkarev VM, et al. The miRNA-126 content in the blood serum of patients with type 2 diabetes after treatment with certain hypoglycemic drugs. *Problems of Endocrine Pathology.* 2020;3:81-8. doi: 10.21856/j-PEP.2020.3.10. Ukrainian).
55. Grieco GE, Brusco N, Licata G, Nigi L, Formichi C, Dotta F, et al. Targeting microRNAs as a therapeutic strategy to reduce oxidative stress in diabetes. *Int J Mol Sci.* 2019;20(24):6358. doi: 10.3390/ijms20246358.
56. Hsueh WA, Wyne K. Renin-Angiotensin-aldosterone system in diabetes and hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2011;13(4):224-37. doi: 10.1111/j.1751-7176.2011.00449.x.
57. Petrie JR, Guzik TJ, Touyz RM. Diabetes, hypertension, and cardiovascular disease: clinical insights and vascular mechanisms. *Can J Cardiol.* 2018;34(5):575-84. doi: 10.1016/j.cjca.2017.12.005.
58. Vergès B. Pathophysiology of diabetic dyslipidaemia: where are we? *Diabetologia.* 2015;58(5):886-99. doi: 10.1007/s00125-015-3525-8.
59. Brown RE, Gupta N, Aronson R. Effect of dapagliflozin on glycemic control, weight, and blood pressure in patients with type 2 diabetes attending a specialist endocrinology practice in Canada: a retrospective cohort analysis. *Diabetes Technol Ther.* 2017;19(11):685-91. doi: 10.1089/dia.2017.0134.
60. Калинська ЛМ, Левчук НІ, Лукашеня ОС, Ковзун ОІ. Вплив дапагліфлозину на активність ангіотензин-перетворюючого

## Фундаментальні дослідження

- ферменту та рівень електролітів у надниркових залозах і крові інсулінорезистентних щурів. В: Караченцев ЮІ, Козаков ОВ, Микитюк МР, редактори. «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології» (Двадцять Данилевські читання): Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю; 4-5 березня 2021 р.; Харків, Україна. Харків: 2021. с. 29-30 (Kalynska LM, Levchuk NI, Lukashenia OS, Kovzun OI. Effect of dapagliflozin on angiotensin-converting enzyme activity and electrolyte level in adrenal glands and blood of insulin-resistant rats. In: Karachentsev YuI, Kozakov OV, Mykytyuk MR, editors. «Achievements and prospects of experimental and clinical endocrinology» (20 th Danylev's readings): Materials of the scientific and practical conference with international participation; 2021 Mar 4-5; Kharkiv, Ukraine. Kharkiv: 2021. p. 29-30. Ukrainian).
61. Tronko M, Chervyakova S, Pushkarev V, Belchina Yu, Kovzun O, Pushkarev V, et al. Apolipoprotein A1 level in plasma of patients with diabetes and diabetic patients with COVID-19 as a possible marker of disease. *Dopov Nac Akad Nauk Ukr.* 2021;(4):110-3. doi: 10.15407/dopovidi2021.04.110.
  62. Tronko MD, Pushkarev VV, Chervyakova SA, Belchina YuB, Kovzun OI. Apolipoprotein B and oxLDL levels in plasma of patients with diabetes, cardiovascular disease and COVID-19. *Dopov Nac Akad Nauk Ukr.* 2021;(6):126-30. doi: 10.15407/dopovidi2021.06.126.
  63. Соколова ЛК, Бельчіна ЮБ, Червякова СА, Пушкарєв ВВ, Фурманова ОВ, Ковзун ОІ, та ін. Вплив цукрознижуючих препаратів на рівень аполіпопротеїну А1 у пацієнтів із цукровим діабетом та коморбідними захворюваннями на тлі COVID-19. *Ендокринологія.* 2021;26(3):263-70 (Sokolova LK, Belchina YuB, Chervyakova SA, Pushkarev VV, Furmanova OV, Kovzun OI, et al. The effect of hypoglycemic drugs on the level of apolipoprotein A1 in patients with diabetes and comorbid diseases against the background of COVID-19. *Endokrynologia.* 2021;26(3):263-70. Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2021.26-3.263).
  64. Pushkarev VV, Sokolova LK, Chervyakova SA, Belchina YB, Kovzun OI, Pushkarev VM, et al. Plasma Apolipoproteins A1/B and OxLDL Levels in patients with Covid-19 as possible markers of the disease. *Cytology and Genetics.* 2021;55(6):519-23. doi: 10.3103/S0095452721060116.
  65. Пушкарєв ВВ, Соколова ЛК, Фурманова ОВ, Вишневська ОА, Червякова СА, Бельчіна ЮБ, та ін. Рівні аполіпопротеїнів А1/В, окислених ліпопротеїнів низької щільності та субстрату рецептора інсуліну-1 у плазмі крові хворих на COVID-19 і коморбідні захворювання, як можливі маркери важкості хвороби. *Ендокринологія.* 2022;27(2):106-13 (Pushkarev VV, Sokolova LK, Furmanova OV, Vishnevskaya OA, Chervyakova SA, Belchina YB, et al. Levels of apolipoproteins A1/B, oxidized low-density lipoproteins and insulin-1 receptor substrate in the blood plasma of patients with COVID-19 and comorbid diseases as possible severity markers. *Endokrynologia.* 2022;27(2):106-13. Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2022.27-2.106.
  66. Sokolova LK, Belchina YuB, Pushkarev VV, Chervyakova SA, Vatsaba TS, Kovzun OI, et al. The effect of metformin treatment on the level of GLP-1, NT-proBNP and endothelin-1 in patients with type 2 diabetes mellitus. *Mižnarodnij Endokrinologičnij Žurnal.* 2020;16(8):616-21. doi: 10.22141/2224-0721.16.8.2020.222882.
  67. Sokolova LK, Belchina YuB, Pushkarev VV, Chervyakova SA, Vatsaba TS, Kovzun OI, et al. The level of endothelin-1 in the blood of patients with diabetes, depending on the characteristics of the disease. *Mižnarodnij Endokrinologičnij žurnal.* 2020;16(3):204-8. doi: 10.22141/2224-0721.16.3.2020.205267.
  68. Тронько МД, Ковзун ОІ, Пушкарєв ВМ. Застосування стовбурових клітин в ендокринології: проблеми і перспективи. *Ендокринологія.* 2021;26(4):376-95 (Tronko MD, Kovzun OI, Pushkarev VM. Application of stem cells in endocrinology: problems and prospects. *Endokrynologia.* 2021;26(4):376-95. Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2021.26-4.376.
  69. Тронько МД, Пушкарєв ВМ, Ковзун ОІ, Соколова ЛК, Пушкарєв ВВ. Генерування інсулін-продукуючих клітин зі стовбурових клітин. Перепрограмування соматичних клітин. *Ендокринологія.* 2022;27(1):43-56 (Tronko MD, Pushkarev VM, Kovzun OI, Sokolova LK, Pushkarev VV. Generation of insulin-producing cells from stem cells. Reprogramming of somatic cells. *Endokrynologia.* 2022;27(1):43-56. Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2021.27-1.43.
  70. Тронько МД, Пушкарєв ВМ, Ковзун ОІ, Соколова ЛК, Пушкарєв ВВ. Мезенхімальні стовбурові клітини – головний ресурс клітинної терапії. Використання для лікування цукрового діабету. *Ендокринологія.* 2022;27(3):214-35 (Tronko MD, Pushkarev VM, Kovzun OI, Sokolova LK, Pushkarev VV. Mesenchymal stem cells are the main resource of cell therapy. Use for the treatment of diabetes. *Endokrynologia.* 2022;27(3):214-35. Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2022.27-3.214.
  71. Тронько МД, Пушкарєв ВМ, Ковзун ОІ, Пушкарєв ВВ. Основні сигнальні системи, що беруть участь у функціонуванні стовбурових клітин (огляд літератури). *Журнал Національної академії медичних наук України.* 2022;28(1):327-54 (Tronko MD, Pushkarev VM, Kovzun OI, Pushkarev VV. The main signaling systems involved in the functioning of stem cells (review of literature data). *Journal of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine.* 2022;28(1):327-54. Ukrainian). doi: 10.37621/JNAMSU-2022-1-3.
  72. Тронько МД, Пушкарєв ВМ, Ковзун ОІ, Соколова ЛК, Пушкарєв ВВ. Основні транскрипційні фактори, які беруть участь у функціонуванні стовбурових клітин. Особливості їх активації та експресії в β-клітинах підшлункової залози (Частина 1). *Ендокринологія.* 2022;27(4):325-40 (Tronko MD, Pushkarev VM, Kovzun OI, Sokolova LK, Pushkarev VV. Main transcription factors involved in the functioning of stem cells. Characteristics of their activation and expression in β-cells of the pancreas (part 1). *Endokrynologia.* 2022;27(4):325-40. Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2022.27-4.325.
  73. Pushkarev VM, Sokolova LK, Pushkarev VV, Tronko ND. Biochemical mechanisms connecting diabetes and cancer. Effects of methormine. *Endokrynologia.* 2018;23(2):67-79. Russian.
  74. Pushkarev VV, Sokolova LK, Kovzun OI, Pushkarev VM, Tronko MD. The role of endoplasmic reticulum stress and NLRP3. Inflammasomes in the development of atherosclerosis. *Cytology and Genetics.* 2021;55(4):43-53. doi: 10.3103/S0095452721040113.
  75. Sokolova LK, Pushkarev VM, Pushkarev VV, Kovzun OI, Tronko MD. Diabetes mellitus and atherosclerosis. The role of inflammatory processes in pathogenesis (literature review). *Mižnarodnij Endokrinologičnij Žurnal.* 2017;13(7):486-98. Russian. doi: 10.22141/2224-0721.13.7.2017.115747.
  76. Соколова ЛК, Пушкарєв ВМ, Пушкарєв ВВ, Тронько НД. Механізми патогенезу атеросклерозу у хворих на діабет. Роль NF-κB (огляд літератури) Проблеми ендокринної патології. 2017;2:64-76 (Sokolova LK, Pushkarev VM, Pushkarev VV, Tronko MD. Mechanisms of the pathogenesis of atherosclerosis in patients with diabetes. The role of NF-κB (the literature review). *Problems of Endocrine Pathology.* 2017;2:64-76. Ukrainian). doi: 10.21856/j-PEP.2017.2.10.
  77. Соколова ЛК, Пушкарєв ВМ, Пушкарєв ВВ, Ковзун ОІ, Тронько МД. Цукровий діабет і когнітивні порушення. Роль метформіну в патогенезі і лікуванні когнітивної дисфункції. (огляд літератури) Проблеми ендокринної патології. 2018;2:75-92 (Sokolova LK, Pushkarev VM, Pushkarev VV, Kovzun OI, Tronko MD. Diabetes mellitus and cognitive dysfunction. The role of metformin in pathogenesis and treatment of cognitive dysfunction (literature review). *Problems of Endocrine Pathology.* 2018;2:75-92. doi: 10.21856/j-PEP.2018.2.10. Ukrainian).
  78. Tronko ND, Pushkarev VM, Sokolova LK, Pushkarev VV. Nuclear factor NF-κB involvement in transformation of chronic inflammation into type 2 diabetes (review of literature and own data). *Journal of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine.* 2017;23(1-2):23-39. Russian.
  79. Sokolova LK, Pushkarev VM, Kovzun EI, Pushkarev VV, Tronko ND. Diabetes and atherosclerosis: epigenetic mechanisms of pathogenesis. A review. *Ukrainian Journal of Cardiology.* 2017;6:104-17. Russian.
  80. Соколова ЛК, Пушкарєв ВМ, Тронько МД. Предадіабет і метаболічний синдром. Характеристика, маркери, способи запобігання. *Ендокринологія* 2021;26(2):179-87. (Sokolova LK, Pushkarev VM, Tronko MD. Prediabetes and metabolic syndrome. Characteristics and markers. *Endokrynologia.* 2021;26(2):179-87. Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2021.26-2.58.

## Список скорочень

**АПФ** — ангіотензинперетворюючий фермент  
**ІР** — інсулінорезистентність  
**МНПК** — мононуклеари периферичної крові  
**МФ** — метформін  
**ЦД** — цукровий діабет  
**ЦД1** — цукровий діабет 1-го типу  
**ЦД2** — цукровий діабет 2-го типу  
**ЦЗТ** — цукрознижувальна терапія  
**АМПК** — 5' AMP-activated protein kinase (5'AMP-активована протеїнкіназа);  
**АроА1** — apolipoprotein A1 (аполіпопротеїн А1)  
**ERK** — extracellular signal-regulated kinase (кіназа, що регулюється позаклітинними сигналами)  
**ЕТ-1** — endothelin 1 (ендотелін 1)  
**FOXO** — forkhead box protein O (білок O боксу forkhead)  
**GLP-1** — glucagon-like peptide-1 (глюкагоноподібний пептид-1)  
**IGF-1** — insulin-like growth factor 1 (інсуліноподібний фактор росту 1)  
**IRS** — insulin receptor substrate (субстрат інсулінового рецептора)  
**JNK** — c-Jun N-terminal kinase (c-Jun N-кінцева кіназа)  
**mTOR** — mammalian target of rapamycin (мішень рапамцину свавців)  
**NT-proBNP** — N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide (N-кінцевий прогормон натрійуретичного пептиду головного мозку)  
**p70S6K** — ribosomal protein S6 kinase beta-1 (рибосомальний білок S6 кіназа бета-1)  
**PDK1** — phosphoinositide-dependent protein kinase-1 (фосфоінозитид-залежна кіназа-1)  
**PI3K** — phosphoinositide 3-kinase (фосфоінозитид-3-кіназа)  
**PRAS40** — proline-rich Akt substrate of 40 kDa (збагачений проліном субстрат 40 кДа)  
**ROS** — reactive oxygen species (активні форми кисню)

## Activity of the PI3K/Akt signaling cascade in blood plasma peripheral mononuclear cells in patients with type 2 diabetes

**M.D. Tronko, O.I. Kovzun, N.I. Levchuk, V.V. Pushkarev, O.S. Lukashenia, V.M. Pushkarev**

State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

**Abstract.** The article summarizes and analyzes the data on the biochemical mechanisms of T2D development, as well as own research data on the assessment of the prospective use of antidiabetic drugs and their combinations (GLT) for the treatment of T2D. In diabetes, phosphorylation of Akt at T308 was observed in PBMC, which indicates activation of the kinase through the PI3K/PDK1 pathway, and not mTORC2, i.e., reciprocity and not additivity of Akt activation. The activity of Akt in the blood plasma of patients with diabetes is significantly reduced. The state of phosphorylation of p70S6K and PRAS40 in PBMC indicates the activity of mTORC1 and its substrates in diabetes. A decrease in the level of p70S6K in patients who re-

ceived metformin (MF) monotherapy may indicate a decrease in IRS-1 phosphorylation, and as a result, insulin resistance (IR). It was shown that the activation of ERK1/2 was not observed in the PBMC of patients with T2D, while it significantly increased in patients with type 1 diabetes or autoimmune thyroiditis. Activation of ERK1/2 in the blood plasma of patients with T2D was established. The amount of AMPK $\alpha$  and IRS-1 in the blood plasma of patients with diabetes was also markedly increased. The level of ApoA1 in the blood of patients with diabetes was lower, and the level of ApoB and oxidized LDL was higher than in the blood of healthy people. The amount of ET-1 and natriuretic peptide in the blood of patients with T2D exceeds its content in control samples. MF monotherapy leads to a decrease in the level of ET-1 and NT-proBNP, as well as an increase in the level of GLP-1 in the blood of patients with T2D. In the serum of patients with T2D, a marked increase in miRNA-142 and a decrease in miRNA-126 was observed. When evaluating the effect of GLT, it was found that with dapagliflozin monotherapy and dapagliflozin combination with insulin and MF, the amount of miRNA-126 increases to the control level. Studies of the effect of dapagliflozin have shown that repeated administration of the drug to rats with IR leads to a probable decrease in the activity of ACE in the blood serum of animals.

**Keywords:** type 2 diabetes, PI3K/Akt signaling cascade, peripheral blood mononuclear cells, antidiabetic drugs.

**Для цитування:** Тронько МД, Ковзун ОІ, Левчук НІ, Пушкарьов ВВ, Лукашеня ОС, Пушкарьов ВМ. Активність сигнального каскаду PI3K/Akt у плазмі та мононуклеарах периферичної крові у хворих на цукровий діабет 2-го типу. Ендокринологія. 2023;28(1):5-20. DOI: 10.31793/1680-1466.2023.28-1.5.

**Адреса для листування:** Левчук Наталія Іванівна, levnataly@meta.ua; ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, Київ 04114, Україна.

**Відомості про авторів:** Тронько Микола Дмитрович, д-р мед. наук, чл.-кор. НАН України, акад. НАМН України, завідувач відділу фундаментальних та прикладних проблем ендокринології, директор Інституту, ORCID: 0000-0001-7421-0981; Ковзун Олена Ігорівна, д-р біол. наук, проф., чл.-кор. НАМН України, заступник директора Інституту з наукових питань, ORCID: 0000-0001-8164-7671; Левчук Наталія Іванівна, канд. біол. наук, старш. наук. співроб., старший науковий співробітник відділу фундаментальних та прикладних проблем ендокринології, ORCID: 0000-0003-0482-5176; Пушкарьов Віктор Володимирович, канд. біол. наук, старший науковий співробітник відділу фундаментальних та прикладних проблем ендокринології, ORCID: 0000-0001-5940-5510; Лукашеня Оксана Сергіївна, канд. біол. наук, старший науковий співробітник відділу фундаментальних та прикладних проблем ендокринології, ORCID: 0000-0003-0088-4099; Пушкарьов Володимир Михайлович, д-р біол. наук, старш. наук. співроб., головний науковий співробітник відділу фундаментальних та прикладних проблем ендокринології, ORCID: 0000-0003-0347-7771.

**Особистий внесок:** Тронько М.Д. — керівництво роботою та редактування статті; Ковзун О.І., Левчук Н.І., Пушкарьов В.В., Лукашеня О.С. і Пушкарьов В.М. — аналіз літературних джерел, написання, оформлення, редактування статті та переклад резюме.

## Фундаментальні дослідження

**Фінансування:** стаття підготовлена в рамках бюджетного фінансування НАМН України за планом науково-дослідної роботи «Вивчення активності сигнального каскаду PI3K/Akt у плазмі та мононуклеарах периферичної крові у хворих на цукровий діабет 2-го типу» ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» (№ державної реєстрації: 0120U100641).

**Декларація з етики:** автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

**Стаття:** надійшла до редакції 01.02.2023 р.; перероблена 06.02.2023 р.; прийнята до друку 24.03.2023 р.; надрукована 30.03.2023 р.

**For citation:** Tronko MD, Kovzun OI, Levchuk NI, Pushkarev VV, Lukashenia OS, Pushkarev VM. Activity of the PI3K/Akt signaling cascade in blood plasma peripheral mononuclear cells in patients with type 2 diabetes. *Endokrynologia*. 2023;28(1): 5-20. DOI: 10.31793/1680-1466.2023.28-1.5.

**Correspondence address:** Levchuk Nataliia Ivanivna, levnaty@meta.ua; State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Vyshgorodska Str., 69, Kyiv 04114, Ukraine.

**Information about the authors:** Tronko Mykola Dmytrovych, Dr. Sci. (Medicine), Cor. Member of the NAS of Ukraine, Acad. of the NAMS of Ukraine, Head of the Department of Fundamental and Applied Problems of Endocrinology, Director of the Institute, ORCID: 0000-0001-7421-0981; Kovzun Olena Igorivna, Dr. Sci. (Biology),

Prof., Cor. Member of the NAMS of Ukraine, Deputy Director of the Institute for Scientific Affairs, ORCID: 0000-0001-8164-7671; Levchuk Nataliia Ivanivna, Cand. Sci. (Biology), Senior Scientist, Senior Research Fellow of the Department of Fundamental and Applied Problems of Endocrinology, ORCID: 0000-0003-0482-5176; Pushkarev Viktor Volodymyrovych, Cand. Sci. (Biology), Senior Research Fellow of the Department of Fundamental and Applied Problems of Endocrinology, ORCID: 0000-0001-5940-5510; Lukashenia Oksana Serhiivna, Cand. Sci. (Biology), Senior Research Fellow of the Department of Fundamental and Applied Problems of Endocrinology, ORCID: 0000-0003-0088-4099; Pushkarev Volodymyr Mykhaylovych, Dr. Sci. (Biology), Senior Scientist, Chief Researcher of the Department of Fundamental and Applied Problems of Endocrinology, ORCID: 0000-0003-0347-7771.

**Personal contribution:** Tronko M.D. — work management and editing; Kovzun O.I., Levchuk N.I., Pushkarev V.V., Lukashenia O.S. and Pushkarev V.M. — analysis of literature sources, writing, design, editing of the article and abstract translation.

**Funding:** the article was prepared within the budget funding of the NAMS of Ukraine according to the plan of research work «Study of the PI3K/Akt signaling cascade activity in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in patients with type 2 diabetes (T2D)» of the SI «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine» (№ state registration: 0120U100641).

**Declaration of ethics:** the authors have declared no conflicts of interest or financial obligations.

**Article:** received February 01, 2023; revised February 06, 2023; accepted March 24, 2023; published March 30, 2023.