

АКТИВАЦИЯ СИГНАЛЬНОГО КАСКАДА PI3K/Akt/mTOR/p70S6K1 В МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ. СВЯЗЬ С УРОВНЕМ ИНСУЛИНА И ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА В КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ И ДИАБЕТОМ

Т.С. ВАЦЕБА², Л.К. СОКОЛОВА¹, В.В. ПУШКАРЕВ¹, Е.И. КОВЗУН¹,
Б.Б. ГУДА¹, В.М. ПУШКАРЕВ¹, Н.Д. ТРОНЬКО¹

¹ ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины», Киев

² ГБУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет», Ивано-Франковск

E-mail: pushkarev.vm@gmail.com

Целью работы было определение содержания инсулина и инсулино-подобного фактора роста (IGF-1) в крови в сопоставлении с активностью конечных звеньев каскада PI3K/Akt/mTORC1/p70S6K в мононуклеарных клетках периферической крови (PMBC) больных диабетом 2 типа (Д2Т) и раком. Методом иммуноферментного анализа изучали уровень инсулина и IGF-1 в крови и фосфорилирование Akt (Сер473), p70S6K (Тре389) в PMBC в следующих группах: 1 – контрольная группа – здоровые люди, репрезентативные по возрасту; 2 – больные Д2Т; 3 – больные раком; 4 – больные раком и Д2Т. Показано, что в крови больных Д2Т, а также Д2Т и раком (4 группа) уровень инсулина заметно повышен. Количество IGF-1 существенно выше у больных раком. Фосфорилирование Akt и p70S6K возрастает у больных раком, что свидетельствует об активации этих протеинкиназ. Обсуждаются механизмы связывающие активацию Akt и p70S6K в PMBC с уровнем инсулина и IGF-1 в крови больных раком и диабетом.

Ключевые слова: мононуклеарные клетки периферической крови, Akt, p70S6K, инсулин, инсулино-подобный фактор роста, диабет 2 типа, рак.

Вступление. Сигнальный каскад PI3K/PDK1/Akt/mTOR/p70S6K опосредует эффекты инсулина и инсулиноподобного фактора роста (IGF) в клетках млекопитающих. Нарушение регуляции этого каскада приводит к тяжелым хроническим заболеваниям, таким как рак, ожирение и диабет 2 типа (Д2Т). Протеинкиназа Akt является ключевой эффекторной киназой этого каскада, активирующей нижележащие киназы – mTORC1 (mammalian target of rapamycin complex 1) и p70S6K (ribosomal protein

S6 kinase). Akt активируется вышестоящей киназой PDK1 фосфорилированием по Тре308 и дополнительно комплексом mTORC2 фосфорилированием по Сер473, что необходимо для ее максимальной активации. mTOR контролирует рост клеток и гомеостаз, в том числе синтез белка, липогенез, обмен глюкозы, аутофагию, биогенез лизосом, пролиферацию и выживание, в ответ на внешние сигналы, такие как уровни аминокислот, глюкозы, энергии, кислорода и действие факторов роста. Субстратом mTORC1 является протеинкиназа p70S6K, которая контролирует синтез белка и биогенез рибосом, клеточный цикл, апоптоз [1].

В состав мононуклеаров периферической крови (PMBC) входят несколько типов клеток, которые играют существенную роль в развитии таких патологических состояний, как рак, диабет и его осложнения [2–4]. Поэтому, клетки крови представляют собой ценный инструмент для изучения и понимания основных механизмов этих заболеваний.

Сигнальный путь PI3K/Akt играет важную роль в активации макрофагов и лимфоцитов, секреции ими цитокинов, инициации в них воспалительных процессов и защите опухолей от иммунной системы [5].

Целью работы было определение концентрации инсулина и IGF-1 в крови в сопоставлении с активностью конечных звеньев каскада PI3K/Akt/mTORC1/p70S6K в мононуклеарных клетках периферической крови больных диабетом 2 типа и раком.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе отдела диабетологии Института. Все пациенты подписывали информированное согласие на использование биомате-

© Т.С. ВАЦЕБА, Л.К. СОКОЛОВА, В.В. ПУШКАРЕВ,
Е.И. КОВЗУН, Б.Б. ГУДА, В.М. ПУШКАРЕВ,
Н.Д. ТРОНЬКО, 2019

риалов для проведения дальнейших диагностических и научных исследований. Сразу же после забора кровь разводили в 2 раза натрий-фосфатным буфером (PBS) (рН 7,4), наслаивали на Histopaque 1077 («Sigma», США), центрифугировали в бакет-роторе (микро-центрифуга Hermle Z-300) при 400 g (комн. темп.) в течение 30 мин в конических пробирках Falcon™ объемом 15 мл. Собранные РВМС промывали PBS центрифугированием при 200 g для удаления тромбоцитов и замораживали при -80°C до использования.

Для определения количества фосфо-Akt1/2/3 (ф-Сер473) и фосфо-p70S6K1 (ф-Тре389) использовали наборы для иммуноферментного анализа 85-86046 и 85-86053, соответственно («Invitrogen», США).

Клетки лизировали в буфере для экстракции из набора, содержащего ингибиторы протеаз и фосфатаз. Исследования проводились в триплетах. Концентрацию белка в лизате определяли с помощью наборов (BCA protein assay kit) фирмы Novagen (США). Уровни инсулина и IGF-1 определяли методом иммуноферментного анализа на автоматическом анализаторе Stat fax 303+ (США) с использованием диагностических наборов Insulin ELISA (EIA-2935) и IGF-1600 ELISA (EIA-4140) фирмы DRG (Германия). Измерения проводили на микропланшетном ридере фирмы Bio-tek Instruments (США) при длине волны 450 нм. HbA1c определяли методом ионообменной хроматографии, с помощью анализатора Bio-Rad D-10 (США). Результаты экспериментов представляли как $M \pm \text{Std}$ и $M \pm m$, $n = 6-30$. Для сравнения групп данных использовали One-Way ANOVA и t -критерий Стьюдента. Значения $P \leq 0,05$ считались достоверными.

Результаты исследований и их обсуждение.

Учитывая повышенный риск рака эндометрия и молочной железы у женщин и, независимо от пола, рака кишечника и поджелудочной железы при сахарном диабете 2 типа, в исследования были вовлечены пациенты с онкологическими заболеваниями данной локализации.

Исследовали следующие группы: 1 – контрольная группа – здоровые люди, репрезентативные по возрасту и индексу массы тела (ИМТ); 2 – больные Д2Т; 3 – больные раком; 4 – больные раком и Д2Т.

Средний уровень HbA1c у пациентов 2 и 4 групп $8,14 \pm 1,62$ и $8,07 \pm 0,99$ % соответствовал декомпенсации сахарного диабета.

Группы пациентов были репрезентативны по возрасту и ИМТ. Все обследованные пациенты принадлежали к кавказской расе, возраст находился в диапазоне от 46 до 72 лет. Половые характеристики и ИМТ пациентов приведены в табл. 1. Пациенты и контрольная группа были выбраны с близким возрастом и индексом массы тела.

Сахароснижающая терапия пациентов с Д2Т II и IV групп включала таблетированные препараты (метформин, в первую очередь) и инсулин.

Онкологические больные отвечали II клинической группе. Забор крови произведен до назначения специальной противоопухолевой терапии (химиотерапии, гормональной терапии и радиотерапии).

Из рис. 1. видно, что концентрация инсулина в крови больных диабетом 2 типа более чем в два раза выше, чем в крови контрольной группы (рис. 1.2). Уровень гормона в крови больных и раком, и диабетом также существенно выше контроля (рис. 1.4). Достоверных различий от

Таблица 1. Пол и ИМТ пациентов

Характеристика пациентов	I группа		II группа		III группа		IV группа	
	Мужчины (n = 3)	Женщины (n = 3)	Мужчины (n = 6)	Женщины (n = 6)	Мужчины (n = 5)	Женщины (n = 10)	Мужчины (n = 3)	Женщины (n = 4)
Возраст (годы)	$57,0 \pm 1,70$	$60,0 \pm 3,71$	$60,17 \pm 2,94$	$57,50 \pm 1,17$	$60,4 \pm 5,8$	$59,2 \pm 2,19$	$61,3 \pm 2,12$	$55,5 \pm 1,9$
ИМТ (кг/м ²)	$27,39 \pm 2,37$	$30,22 \pm 1,13$	$32,44 \pm 1,25$	$32,12 \pm 1,49$	$30,75 \pm 1,46$	$32,47 \pm 0,93$	$32,8 \pm 1,6$	$29,2 \pm 1,8$

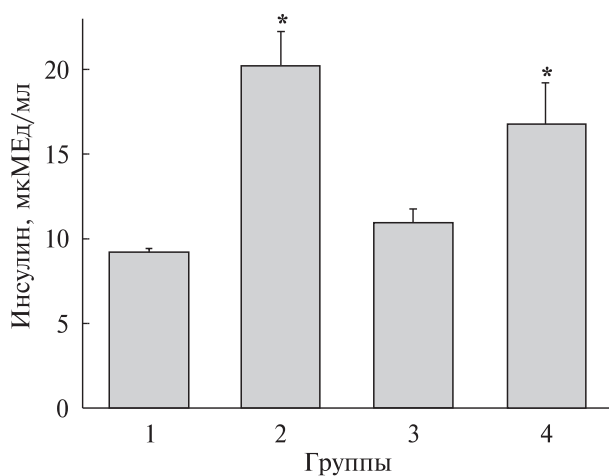


Рис. 1. Концентрация инсулина в крови больных раком и диабетом. 1 – контроль ($n = 10$); 2 – пациенты с диабетом 2 типа ($n = 26$); 3 – онкологические больные ($n = 30$); 4 – пациенты с диабетом и раком ($n = 21$). $M \pm Std$, * – отличие от контрольной группы является достоверным, $P < 0,05$

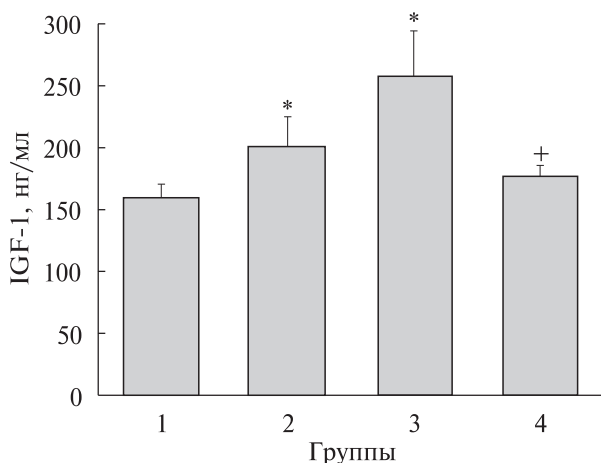


Рис. 2. Концентрация IGF-1 в крови больных раком и диабетом. 1 – контроль ($n = 10$); 2 – пациенты с диабетом 2 типа ($n = 21$); 3 – онкологические больные ($n = 30$); 4 – пациенты с диабетом и раком ($n = 21$). $M \pm Std$, * – отличие от контрольной группы является достоверным, $P < 0,05$; + – отличие от группы 3 является достоверным, $P < 0,05$

контрольных значений у больных раком обнаружено не было (рис. 1.3).

Таким образом, уровень инсулина заметно выше в крови пациентов с диабетом, а также у онкологических больных с диабетом.

Концентрация IGF-1 возрастает в крови больных диабетом и существенно выше у больных раком (рис. 2.2 и 2.3). У больных 4-й группы уровень фактора роста достоверно не отличается от контрольного (рис. 2.4).

Эффекты инсулина и IGF-1 в клетке опосредуют сигнальные каскады IRS/PI3K/PDK1/Akt/mTOR/p70S6K и Ras/MAPK. Рецептор инсулиноподобного фактора роста – IGF-1R связан с мобилизацией адаптерных белков Shc (Src homology 2 domain containing) transforming protein 1), Gab-1 (GRB2 associated binding protein 1) и активацией генов, участвующих в пролиферации клеток, тогда как рецептор инсулина – IR более эффективен в регулировании фосфорилирования IRS-1 и генов, участвующих в метаболических путях [6]. Была идентифицирована одна аминокислота в околомембранной области рецепторов, определяющая эти различия. Замена лейцина 973 IR на фенилаланин, который присутствует в IGF-1R, имитирует многие из сигналов IGF-1R и экспрессию генов [7].

Для оценки взаимодействия инсулина и IGF-1 с каскадом IRS/PI3K/PDK1/Akt/mTOR/p70S6K в клетках крови изучали активацию Akt комплексом mTORC2 путем фосфорилирования по остатку Ser473. Из табл. 2 видно, что в PBMC больных диабетом протеинкиназа Akt не активируется. Отсутствует и активация

Таблица 2. Содержание фосфорилированных Akt (ф-Ser473) и p70S6K1 (ф-Thr389) в PBMC больных диабетом и раком, нормализованное относительно их общего количества в клетках

Akt		p70S6K1	
M	Std	M	Std
100 %	–	100 %	–
98,38	2,99	100,52	18,63
214,13 *	57,06	331,69 *	78,49
66,39 *+	2,076	133,64 *+	11,54

Примечание. 1 – контроль ($n = 6$); 2 – пациенты с диабетом 2 типа ($n = 12$); 3 – онкологические больные ($n = 15$); 4 – пациенты с диабетом и раком ($n = 7$). $M \pm m$, * – отличие от контрольной группы является достоверным, $P < 0,05$; + – отличие от группы 3 является достоверным, $P < 0,05$.

нижележащей в сигнальной цепи p70S6K1. В то же время в PBMC больных раком наблюдалось усиление фосфорилирования Akt более чем в 2 раза и p70S6K1 более чем в 3 раза (табл. 2). Интересно, что в клетках больных и раком, и диабетом уровень активности Akt снижался до 66 % от контроля. Количество фосфорилированной p70S6K1 также достоверно снижалось, по сравнению с 3-й группой пациентов.

Таким образом, несмотря на высокий уровень инсулина в крови больных диабетом (2 и 4 группы), реакция конечных звеньев каскада Akt/mTOR/p70S6K в клетках крови либо отсутствовала, либо была сниженной по сравнению с группой больных раком. В то же время, можно отметить совпадение уровня IGF-1 с активностью этих звеньев каскада, особенно в PBMC больных раком.

IR и IGF-IR являются трансмембранными тирозинкиназными рецепторами с высокой степенью гомологии. Их функции частично перекрываются и могут варьировать в зависимости от типа клетки. Тем не менее, инсулин/IR традиционно считается регулятором метаболизма, контролируя уровень глюкозы, белка и липидов, в то время как IGF-1/IGF-1R контролирует рост и пролиферативные процессы [8]. Во взрослых тканях рецептор инсулина главным образом экспрессируется в жировой ткани, мышцах и печени, тогда как IGF-1R экспрессируется практически во всех тканях человека [9]. Следовательно, отсутствие эффекта инсулина в клетках крови относительно активации каскада PI3K/Akt/mTOR/p70S6K может быть связано с ограниченным количеством рецепторов к гормону на поверхности этих клеток. Другая, возможно более важная причина, вероятно связана с тем, что при длительном воздействии на ткань высоких доз инсулина происходит множественное фосфорилирование ключевого адаптерного белка в сигналинге инсулина — субстрата рецептора инсулина (IRS), по серин-треониновым остаткам, которое препятствует активирующему фосфорилированию по остаткам тирозина и приводит к деградации субстрата в протеасомах. Было также продемонстрировано, что Ser422 является сайтом фосфорилирования комплексом mTORC1, что необходимо для деградации IRS-1 [10]. Известно, что у больных Д2Т активность mTORC1

повышена, что приводит к фосфорилированию IRS-1, нарушению сигнального пути инсулина и, как следствие, инсулинорезистентности [11]. Исследования с использованием ингибиторов подтверждают, что каскад PI3K/Akt/mTORC1 опосредует индуцируемую инсулином понижающую регуляцию IRS-1 [10]. Согласно другим данным, стимулирующие передачу сигналов IRS-1, остатки фосфо-Ser/Тре, которые накапливаются на IRS-1 во время передачи сигналов инсулина, являются определяющими для его субклеточного перераспределения, ин-активации и деградации в протеасомах [12]. Еще одной причиной снижения активности Akt/mTOR/p70S6K у больных Д2Т может быть известный эффект метформина, основного сахароснижающего препарата в терапии пациентов с Д2Т, активирующего AMPK и угнетающего mTORC1 [6].

Усиленное mTORC2-зависимое фосфорилирование в гидрофобном мотиве Akt в PBMC 3 группы вероятно связано с повышенной концентрацией IGF-1 в крови больных раком. Следствием активации Akt, по-видимому, является активация mTORC1 и p70S6K1. Следует отметить, что Akt фосфорилируется с помощью комплекса mTORC2 по Ser473 частично IRS-независимым способом, что указывает на слабую связь такого фосфорилирования с сигналингом IRS/PI3K [12, 13]. Известно, что mTORC1 регулируется наличием питательных веществ, энергии и сигналами факторов роста, тогда как mTORC2 активируется сигналами факторов роста [14, 15].

Эффектом продолжительного действия инсулина, возможно, объясняется и снижение фосфорилирования Akt и p70S6K в PBMC больных раком и диабетом (4 группа). Не исключена конкуренция за общие сигнальные механизмы между инсулином и IGF-1, а также влияние метформина.

Сравнение IR и IGF-1R показало, что фосфорилирование белка IRS-1 было более чувствительным к инсулину, чем к IGF-1, но стимуляция MAPK и синтез ДНК были в равной степени активированы обоими. Другой анализ выявил несколько отличные результаты - было показано, что инсулин и IGF-1 стимулируют фосфорилирование IRS-1 сходным образом, зависящим от дозы и времени, но IGF-1 был

более эффективен в активации пути MAPK и синтеза ДНК [16].

Была установлена тесная связь между Д2Т и раком. Гиперинсулинемия усиливает экспрессию рецепторов инсулина и IGF, что вызывает кумулятивный митогенный эффект. Гипергликемия обеспечивает раковые клетки избытком глюкозы [17]. IGF-1 стимулирует деление клеток, ингибирует апоптоз и, следовательно, может способствовать развитию рака и метастазированию [18]. Показано, что при повышенном уровне IGF-1 усиливается рост раковых клеток. Кроме того, IGF-1 обеспечивает устойчивость опухолевых клеток к химио- и радиотерапии [19, 20]. В чувствительных к инсулину тканях IGF-1 передает сигналы через MAPK, стимулируя пролиферацию и не влияя на транскрипционную активность FOXO1, который регулирует метаболизм. Длительное воздействие на клетки IGF-1 может способствовать онкогенезу через каскад Ras/MAPK. Высокие уровни IGF-1 и инсулина в микроокружении обеспечивают вероятный механизм канцерогенеза и раннего роста опухоли посредством антиапоптотического сигналинга и метаболического репрограммирования, опосредованного PI3K/Akt/mTORC1. Известно, что для пациентов с ожирением свойственны более высокие уровни IGF-1 в крови, по сравнению с людьми с нормальным ИМТ [21]. Это согласуется с выводом о том, что диабет и ожирение повышают риск развития типов рака с фенотипом Варбурга [22, 23].

Необходимо отметить, что различия между показателями содержания инсулина и IGF-1 в крови, а также уровнем фосфорилирования Akt и p70S6K в PBMC у больных различными типами рака были недостоверными. Возможно, это связано с ограниченностью выборки. Не исключено, однако, что тяжелые хронические заболевания, такие как рак и диабет, оказывают широкое, системное влияние на все ткани организма, в том числе и на клетки крови. В состав PBMC в основном входят моноциты/макрофаги и лимфоциты (Т-клетки, В-клетки и NK) – чрезвычайно пластические клетки, участвующие в процессах клеточного и гуморального иммунитета. В частности, макрофаги участвуют в развитии диабета, атеросклероза, ожирения и рака [24, 25]. PI3K/Akt/mTOR яв-

ляется сигнальным каскадом, который в значительной степени определяет функционирование этих клеток крови при диабете и злокачественных новообразованиях [2–5].

В то же время возникает вопрос, насколько изменения активности каскада PI3K/Akt в PBMC соответствуют его активности в метаболических тканях, которые являются мишенями инсулина и IGF-1. Чтобы прояснить этот вопрос, необходимы дополнительные исследования. Если такое соответствие будет установлено, уровень Akt/mTOR/p70S6K в клетках крови, благодаря их доступности для анализа, может быть перспективным диагностическим параметром, а также может оказаться важным для прогноза болезни, выбора правильной комбинации сахароснижающих средств и оценки эффективности лечения.

Соответствие этическим стандартам. Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам национального Комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее дальнейших изменений или соответствующим нормам этики. От каждого из включенных в исследование участников, было получено информированное добровольное согласие.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Это исследование не получало любого конкретного гранта от финансирующих учреждений в государственном, коммерческом секторах.

ACTIVATION OF THE PI3K/AKT/MTOR/P70S6K1 SIGNALING CASCADE IN PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS. ASSOCIATION WITH INSULIN AND INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR LEVELS IN THE BLOOD OF CANCER PATIENTS AND DIABETES

T.S. Vatsaba, L.K. Sokolova,
V.V. Pushkarev, O.I. Kovzun,
B.B. Guda, V.M. Pushkarev, M.D. Tronko

SI «V.P. Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of NAMS of Ukraine», Kyiv
SHEI «Ivano-Frankivsk National Medical University»,
Ivano-Frankivsk.

E-mail: tamara.vatsaba@gmail.com, liubov_sokolova@

ukr.net, axolotle@gmail.com, kovzun.oi@gmail.com, bguda@ukr.net, pushkarev.vm@gmail.com, iem_admi@bigmir.net

The aim of the work was to determine the content of insulin and insulin-like growth factor (IGF-1) in the blood in association with the activity of the end units of the PI3K/Akt/mTORC1/p70S6K cascade in peripheral blood mononuclear cells (PMBC) of patients with type 2 diabetes (T2D) and cancer. The level of insulin and IGF-1 in the blood and the phosphorylation of Akt (Ser473), p70S6K (Thr389) in PMBC were studied by enzyme immunoassay in the following groups: 1 – control group – healthy people, representative by age; 2 – patients with T2D; 3 – cancer patients; 4 – cancer patients with T2D. It was shown that in the blood of patients with T2D, as well as T2D and cancer (group 4), the level of insulin is markedly increased. The IGF-1 content is significantly higher in cancer patients. Akt and p70S6K phosphorylation increases in cancer patients which indicates the activation of these protein kinases. The mechanisms linking Akt and p70S6K activation in PMBC with insulin and IGF-1 level in the blood of patients with cancer and diabetes are discussed.

АКТИВАЦІЯ СИГНАЛЬНОГО КАСКАДУ
PI3K/AKT/MTOR/P70S6K1
В МОНОНУКЛЕАРНИХ КЛІТИНАХ
ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ. ЗВ'ЯЗОК
З РІВНЕМ ІНСУЛІНУ І
ІНСУЛІНОПОДІБНОГО ФАКТОРУ РОСТУ
В КРОВІ ХВОРИХ НА РАК І ДІАБЕТ.

Т.С. Вацеба, Л.К. Соколова, В.В. Пушкар'юв,
О.І. Ковзун, Б.Б. Гуда,
В.М. Пушкар'юв, М.Д. Тронько

Метою роботи було визначення вмісту інсуліну у інсулін-подібного фактору росту (IGF-1) в крові у співставленні з активністю кінцевих ланок каскаду PI3K/Akt/mTORC1/p70S6K в мононуклеарних клітинах периферичної крові (PMBC) хворих на діабет 2 типу (Д2Т) і раком. Методом імуноферментного аналізу вивчали рівень інсуліну і IGF-1 в крові та фосфорилування Akt (Сер473), p70S6K (Тре389) в PMBC в наступних групах: 1 – контрольна група – здорові люди, репрезентативні за віком; 2 – хворі Д2Т; 3 – хворі на рак; 4 – хворі на рак і Д2Т. Показано, що в крові хворих Д2Т, а також Д2Т і раком (4 група) рівень інсуліну помітно підвищений. Кількість IGF-1 істотно вище у хворих на рак. Фосфорилування Akt і p70S6K зростає у хворих на рак, що свідчить про активацію цих протеїнкіназ. Обговорюються механізми, що пов'язують активацію Akt і p70S6K в PMBC з рівнем інсуліну і IGF-1 в крові хворих на рак і діабет.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Yang, J., Nishihara, R., Zhang, X., Ogino, S., and Qian, Z.R., Energy sensing pathways: Bridging type 2 diabetes and colorectal cancer?, *J. Diabetes Complications*, 2017, vol. 31, no. 7. pp. 1228–36.
2. Senovilla, L., Vacchelli, E., Galon, J., Adjemian, S., Eggermont, A., Fridman, W.H., Sautis-Fridman, C., Ma, Y., Tartour, E., Zitvogel, L., Kroemer, G., and Galluzzi, L., Trial watch: Prognostic and predictive value of the immune infiltrate in cancer, *Oncoimmunology*, 2012, vol. 1, no. 8, pp. 1323–43.
3. de Oliveira, C.E., Oda, J.M., Losi Guembarovski, R., de Oliveira, K.B., Ariza, C.B., Neto, J.S., Banin Hirata, B.K., and Watanabe, M.A., CC chemokine receptor 5: the interface of host immunity and cancer, *Dis. Markers*, 2014, vol. 2014, p. 126954. doi: 10.1155/2014/126954.
4. Sokolova, L.K., Pushkarev, V.M., Pushkarev, V.V., and Tronko, N.D., Diabetes and atherosclerosis. Cellular mechanisms of pathogenesis, *Endokrinologia*, 2017, vol. 22, no. 2, pp. 127–38.
5. Dituri, F., Mazzocca, A., Giannelli, G., and Antonaci, S., PI3K functions in cancer progression, anticancer immunity and immune evasion by tumors, *Clin. Dev. Immunol.*, 2011, vol. 2011, p. 947858. doi: 10.1155/2011/947858.
6. Tronko, N.D., Pushkarev, V.M., Sokolova, L.K., Pushkarev, V.V., and Kovzun, O.I., *Molecular mechanisms of pathogenesis of diabetes and its complications*, Kyiv: Publishing house Medkniga, 2018. (In Russian).
7. Cai, W., Sakaguchi, M., Kleinriders, A., Gonzalez-Del Pino, G., Dreyfuss, J.M., O'Neill, B.T., Ramirez, A.K., Pan, H., Winnay, J.N., Boucher, J., Eck, M.J., and Kahn, C.R., Domain-dependent effects of insulin and IGF-1 receptors on signalling and gene expression, *Nat. Commun.*, 2017, vol. 8, 14892 p.
8. Bowers, L.W., Rossi, E.L., O'Flanagan, C.H., deGraf-fenried, L.A., and Hursting, S.D., The role of the insulin/IGF system in cancer: lessons learned from clinical trials and the energy balance-cancer link, *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 2015, vol. 6, p. 77. doi: 10.3389/fendo.2015.00077.
9. Pollak, M. The insulin and insulin-like growth factor receptor family in neoplasia: an update, *Nat. Rev. Cancer*, 2012, vol. 12, no. 3, pp. 159–69. doi: 10.1038/nrc3215.
10. Yoneyama, Y., Inamitsu, T., Chida, K., Iemura, S.I., Natsume, T., Maeda, T., Hakuno, F., and Takahashi, S.I., Serine phosphorylation by mTORC1 promotes IRS-1 degradation through SCF β -TRCP E3 ubiquitin ligase, *iScience*, 2018, vol. 5, pp. 1–18. doi: 10.1016/j.isci.2018.06.006.
11. Pushkarev, V.M., Sokolova, L.K., Pushkarev, V.V.,

- and Tronko, M.D., The role of AMPK and mTOR in the development of insulin resistance and type 2 diabetes. The mechanism of metformin action (literature review), *Probl. Endocrin. Pathol.*, 2016, vol. 3, pp. 77–90 (In Russian).
12. Copps, K.D., Hanzer, N.J., Qiu, W., and White, M.F., Serine 302 phosphorylation of mouse insulin receptor substrate 1 (IRS1) is dispensable for normal insulin signaling and feedback regulation by hepatic S6 kinase, *J. Biol. Chem.*, 2016, vol. 291, no. 16, pp. 8602–17. doi: 10.1074/jbc.M116.714915.
 13. Copps, K.D., and White, M.F., Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2, *Diabetologia*, 2012, vol. 55, no. 10, pp. 2565–82. doi: 10.1007/s00125-012-2644-8.
 14. Rad, E., Murray, J.T., and Tee, A.R., Oncogenic signalling through mechanistic target of rapamycin (mTOR): a driver of metabolic transformation and cancer progression, *Cancers (Basel)*, 2018, vol. 10, no. 1, pp. E5. doi: 10.3390/cancers10010005.
 15. Jhanwar-Uniyal, M., Amin, A.G., Cooper, J.B., Das, K., Schmidt, M.H., and Murali, R., Discrete signaling mechanisms of mTORC1 and mTORC2: Connected yet apart in cellular and molecular aspects, *Adv. Biol. Regul.*, 2017, vol. 64, pp. 39–48. doi: 10.1016/j.jbior.2016.12.001.
 16. Solarek, W., Czarnecka, A.M., Escudier, B., Bielecka, Z.F., Lian, F., and Szczylik, C., Insulin and IGFs in renal cancer risk and progression, *Endocr. Relat. Cancer*, 2015, vol. 22, no. 5, pp. R253–R264. doi: 10.1530/ERC-15-0135.
 17. Pushkarev, V.M., Sokolova, L.K., Pushkarev, V.V., and Tronko, M.D., Biochemical mechanisms connecting diabetes and cancer. Effects of metformin, *Endokrynologia*, 2018, vol. 23, no. 2, pp. 167–79 (In Russian).
 18. Alemán, J.O., Eusebi, L.H., Ricciardiello, L., Paltidar, K., Sanyal, A.J., and Holt, P.R., Mechanisms of obesity-induced gastrointestinal neoplasia, *Gastroenterology*, 2014, vol. 146, pp. 357–73. doi: 10.1053/j.gastro.2013.11.051.
 19. Arnaldez, F.I., Helman, L.J., Targeting the insulin growth factor receptor 1, *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, 2012, vol. 26, no. 3, pp. 527–42. doi:10.1016/j.hoc.2012.01.004.
 20. Yang, Y., Yee, D., Targeting insulin and insulin-like growth factor signaling in breast cancer, *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 2012, vol. 17, no. 3–4, pp. 251–61. doi: 10.1007/s10911-012-9268-y.
 21. Brick, D.J., Gerweck, A.V., Meenaghan, E., Lawson, E.A., Misra, M., Fazeli, P., Johnson, W., Klibanski, A., and Miller, K.K., Determinants of IGF1 and GH across the weight spectrum: from anorexia nervosa to obesity, *Eur. J. Endocrinol.*, 2010, vol. 163, pp. 185–91.
 22. Klement, R.J., Fink, M.K., Dietary and pharmacological modification of the insulin/IGF-1 system: exploiting the full repertoire against cancer, *Oncogenesis*, 2016, vol. 5, p. e193. doi: 10.1038/oncsis.2016.2.
 23. Fine, E.J., Feinman, R.D., Insulin, carbohydrate restriction, metabolic syndrome and cancer, *Exp. Rev. Endocrin. Metab.*, 2014, vol. 10, pp. 15–24.
 24. Subramanian, V., and Ferrante, A.W.Jr., Obesity, inflammation, and macrophages. *Nestle Nutr. Workshop Ser. Pediatr. Program*, 2009, vol. 63, pp. 151–9.
 25. Menck, K., Behme, D., Pantke, M., Reiling, N., Binder, C., Pukrop, T., and Klemm, F., Isolation of human monocytes by double gradient centrifugation and their differentiation to macrophages in teflon-coated cell culture bags, *J. Vis. Exp.*, 2014, vol. 91, p. e51554, doi:10.3791/51554 (2014).

Поступила в редакцию 11.03.19
 После доработки 08.05.19
 Принята в печать 18.11.19