

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА НАИВНЫХ CD4⁺T-ЛИМФОЦИТОВ И CD4⁺T-КЛЕТОК ПАМЯТИ В ПОКОЕ И ПРИ ПРОЛИФЕРАЦИИ

Власова В.В.¹,
Сайдакова Е.В.^{1,2},
Королевская Л.Б.¹,
Шмагель Н.Г.¹,
Шмагель К.В.¹

¹ Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН –
филиал ФГБУН «Пермский федеральный
исследовательский центр» УрО РАН
(614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, Россия)

² ФГАОУ ВО «Пермский государственный
национальный исследовательский
университет» (614068, г. Пермь,
ул. Букирева, 15, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Власова Виолетта Викторовна,
e-mail: violetbaudelaire73@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Пролиферация CD4⁺T-клеток памяти является основой ускоренного иммунного ответа при повторной стимуляции. Свойства CD4⁺T-клеток памяти, позволяющие им делиться быстрее наивных CD4⁺T-лимфоцитов, остаются малоизвестными. Пролиферативный потенциал клеток в значительной степени определяется состоянием их метаболизма. Сведения о метаболических особенностях пролиферирующих CD4⁺T-лимфоцитов памяти остаются ограниченными.

Цель исследования. Сравнить особенности метаболизма наивных CD4⁺T-лимфоцитов и CD4⁺T-клеток памяти в состоянии покоя и пролиферации.

Методы. Мононуклеарные клетки периферической крови анализировали методом проточной цитофлуориметрии. Пролиферирующие клетки идентифицировали по экспрессии CD71. Поглощение глюкозы и жирных кислот клетками оценивали с использованием флуоресцентных аналогов глюкозы (2-NBDG) и пальмитата (BODIPY-FL-C16) соответственно. Экспрессию транспортера глутамин анализировали, окрашивая клетки анти-ASCT2 антителами. Массу и заряд митохондрий определяли с использованием MitoTracker Green и MitoTracker Orange соответственно.

Результаты. В состоянии покоя CD4⁺T-клетки памяти потребляли больше глюкозы и пальмитата, чем наивные CD4⁺T-лимфоциты ($p < 0,001$). При переходе к пролиферации уровень потребления данных субстратов в обеих субпопуляциях усиливался ($p < 0,001$). Делящиеся наивные CD4⁺T-лимфоциты превосходили клетки памяти по поглощению глюкозы и пальмитата ($p < 0,001$). При переходе к пролиферации возросла масса митохондрий в наивных CD4⁺T-лимфоцитах ($p < 0,001$) и клетках памяти ($p < 0,05$). В наивных CD4⁺T-лимфоцитах, но не в клетках памяти увеличение массы органелл сопровождалось ростом заряда их мембраны ($p < 0,001$).

Заключение. В CD4⁺T-лимфоцитах памяти изменение метаболизма при пролиферации носит умеренный характер и в малой степени влияет на активность митохондрий. Пониженные биоэнергетические затраты могут способствовать ускоренной пролиферации CD4⁺T-клеток памяти при вторичном иммунном ответе.

Ключевые слова: CD4⁺T-лимфоциты, T-клетки памяти, наивные T-клетки, глюкоза, жирные кислоты, глутамин, митохондрии, пролиферация

Для цитирования: Власова В.В., Сайдакова Е.В., Королевская Л.Б., Шмагель Н.Г., Шмагель К.В. Особенности метаболизма наивных CD4⁺T-лимфоцитов и CD4⁺T-клеток памяти в покое и при пролиферации. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 167-178. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.18

Статья поступила: 02.06.2022

Статья принята: 13.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

METABOLIC FEATURES OF NAIVE AND MEMORY CD4⁺T CELLS IN QUIESCENCE AND DURING PROLIFERATION

Vlasova V.V.¹,
Saidakova E.V.^{1,2},
Korolevskaya L.B.¹,
Shmagel N.G.¹,
Shmagel K.V.¹

¹ Institute of Ecology and Genetics
of Microorganisms, Perm Federal
Research Center of the Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences
(Goleva str. 13, Perm 614081,
Russian Federation)

² Perm State University (Bukireva str.
15, Perm 614068, Russian Federation)

Corresponding author:

Violetta V. Vlasova,
e-mail: violetbaudelaire73@gmail.com

ABSTRACT

Background. Memory CD4⁺T cells proliferation is the basis for accelerated secondary immune response. The characteristics of memory CD4⁺T cells providing their faster division compared to naive CD4⁺T lymphocytes are poorly understood. T cells proliferative ability is determined by their metabolism. The metabolic features of proliferating memory CD4⁺T cells remain elusive.

The aim. To compare the metabolic features of naive and memory CD4⁺T cells in quiescence and during proliferation.

Methods. Peripheral blood mononuclear cells were analyzed using flow cytometry. Dividing cells were identified by CD71 expression. Cellular glucose and fatty acid uptake was assessed using fluorescent glucose (2-NBDG) and palmitate (BODIPY-FL-C16) analogs, respectively. Glutamine transporter expression was analyzed by staining the cells with anti-ASCT2 antibodies. Mitochondrial mass and membrane potential were measured using MitoTracker Green and MitoTracker Orange, respectively.

Results. Quiescent memory CD4⁺T cells exhibited elevated levels of glucose and palmitate uptake when compared to naive CD4⁺T lymphocytes ($p < 0.001$). Both subsets had increased substrate consumption when proceeding to proliferation ($p < 0.001$). When dividing, naive CD4⁺T cells consumed more glucose and palmitate than memory CD4⁺T cell ($p < 0.001$). Proliferation caused an increase in mitochondrial mass in naive ($p < 0.001$) and memory CD4⁺T lymphocytes ($p < 0.05$). In memory CD4⁺T cells, unlike naive CD4⁺T lymphocytes, an increase in mitochondrial mass wasn't accompanied by an increase in membrane potential.

Conclusion. In memory CD4⁺T cells, compared to naive CD4⁺T lymphocytes, the metabolic change induced by proliferation is moderate and affects the mitochondrial activity to a lesser extent. Lower bioenergetic expenses of memory CD4⁺T cells can contribute to their rapid proliferation during secondary immune response.

Key words: CD4⁺ T lymphocytes, memory T cells, naive T cells, glucose, fatty acids, glutamine, mitochondria, proliferation

Received: 02.06.2022

Accepted: 13.09.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Vlasova V.V., Saidakova E.V., Korolevskaya L.B., Shmagel N.G., Shmagel K.V. Metabolic features of naive and memory CD4⁺T cells in quiescence and during proliferation. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 167-178. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.18

ОБОСНОВАНИЕ

Пролиферация Т-лимфоцитов играет ключевую роль в адаптивном иммунитете. При проникновении антигена в организм число специфических к нему клеток слишком мало для реализации эффективного иммунного ответа [1]. Лимфоциты, распознавшие презентированный им чужеродный пептид, преодолевают данное ограничение путём активного деления [2]. За пролиферацией лимфоцитов следует фаза контракции, в результате которой основная часть антигенспецифических клеток погибает, оставляя немногочисленный пул долгоживущих клеток памяти. Такие лимфоциты имеют низкий порог активации и способны к ускоренному делению при повторном взаимодействии с чужеродным пептидом [3]. Активная пролиферация клеток памяти при вторичном иммунном ответе является одним из важнейших свойств адаптивной иммунной системы и лежит в основе создания вакцин.

Деление клетки тесно связано с изменением её метаболизма. Так, при пролиферации большинство клеток переключаются на «аэробный гликолиз», характеризующийся формированием лактата из пировиноградной кислоты в присутствии кислорода [4]. Активация данного метаболического пути способствует образованию субстратов для биосинтеза липидов, аминокислот, гексозаминов и нуклеотидов, необходимых для продуктивного деления [5]. Переход к аэробному гликолизу в делящихся клетках сопровождается повышением поглощения глюкозы [4]. Большинство пролиферирующих клеток также увеличивают потребление глутаминовой кислоты, являющейся основным источником азота при *de novo* синтезе нуклеотидов [6]. Регуляторные CD4⁺Т-лимфоциты усиливают транспорт экзогенных жирных кислот, участвующих в биосинтезе липидов [7]. Кроме того, в делящихся клетках усиливается функция митохондрий [8]. Данные органеллы играют важную роль в биосинтезе аминокислот и нуклеотидов [9], а также в регуляции содержания циклинов D1, E и B1 при прогрессии делящейся клетки через различные фазы клеточного цикла [10, 11]. Важно отметить, что протекающие метаболические изменения имеют комплексный характер и зависят от типа клеток, вступающих в пролиферацию.

CD4⁺Т-лимфоциты являются основными регуляторами иммунного ответа: участвуют в активации макрофагов [12] и CD8⁺Т-лимфоцитов [13], экспансии В-клеток и переключении классов иммуноглобулинов [14]. Кроме того, CD4⁺Т-лимфоциты продуцируют разнообразные цитокины и хемокины [15], а также подавляют активность клеток иммунной системы [16]. Метаболизм CD4⁺Т-лимфоцитов динамичен и неразрывно связан с их функциональным состоянием [17], что позволяет управлять функциями CD4⁺Т-клеток путём регуляции их обменных процессов. Так, ингибиторы ферментов, участвующих в окислении жирных кислот, снижают супрессорную функцию регуляторных CD4⁺Т-клеток, в частности, их способность подавлять пролиферацию CD8⁺Т-лимфоцитов [18]. Возможность регуляции деления CD4⁺Т-клеток путём изменения их метаболизма может иметь существенный терапевтический потенциал для борьбы с аутоиммунными и

инфекционными заболеваниями, а также для повышения эффективности вакцинации. При этом немного известно о том, какие обменные процессы характерны для пролиферирующих CD4⁺Т-лимфоцитов в здоровом организме.

Результаты современных исследований позволили установить некоторые закономерности изменения обменных процессов при переходе покоящихся наивных CD4⁺Т-клеток к делению [19, 20]. Первое исследование, посвящённое особенностям обменных процессов активированных CD4⁺Т-клеток памяти, было опубликовано в 2019 г. [21]. Авторы показали, что в CD4⁺Т-лимфоцитах памяти стимуляция Т-клеточного рецептора приводит к более слабому повышению уровня аэробного гликолиза, чем в наивных клетках. Кроме того, в отличие от наивных CD4⁺Т-лимфоцитов, активация клеток памяти не сопровождалась увеличением интенсивности окислительного фосфорилирования. Тем не менее, результаты другого исследования [22] не обнаружили подобных отличия между субпопуляциями. В целом представленные на текущий момент сведения немногочисленны и отчасти противоречивы, а проведённые исследования ограничиваются системами *in vitro*. Вопрос о том, чем метаболизм пролиферирующих CD4⁺Т-клеток памяти отличается от такового наивных клеток, требует дальнейшего изучения.

Целью настоящей работы была оценка метаболических характеристик покоящихся и пролиферирующих наивных CD4⁺Т-лимфоцитов и CD4⁺Т-клеток памяти здоровых людей.

МЕТОДЫ

Участники исследования. План исследования был утверждён этическим комитетом (рег. № IRB00008964). Были обследованы относительно здоровые добровольцы ($n = 22$), каждый из которых предоставил письменное информированное согласие на участие в исследовании. Критерием включения в исследование являлось отсутствие: признаков респираторной инфекции в течение 14 дней до забора крови; поверхностного антигена вируса гепатита В и антител к вирусам гепатита С и иммунодефицита человека в периферической крови; болезней печени, почек, сердечно-сосудистой системы. Средний возраст обследованных добровольцев составил 42 года (34–50 лет). Доля женщин среди участников исследования составила 50 %.

Получение биоматериала. Забор крови осуществлялся натошак из локтевой вены в пробирки типа «Vacutainer», содержащие этилендиаминтетрауксусную кислоту. Мононуклеарные клетки выделяли путём центрифугирования в градиенте плотности Диаколл (1,077 г/мл; Диаэм, Россия). Образцы подвергали контролируемому замораживанию до –80 °С в течение суток в среде, содержащей 90 % инактивированной теплом эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) (Biowest, Колумбия) и 10 % диметилсульфоксида (AppliChem, Германия), и помещали в жидкий азот для длительного хранения. Перед проведением исследования клетки размораживали при +37 °С, отмывали в 10 мл полной питательной среды (10 % ЭТС, 100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл

стрептомицина (Sigma, США) в RPMI-1640, затем в 10 мл фосфатно-солевого буферного раствора Дульбекко (DPBS, Dulbecco's phosphate buffered saline; Gibco, США).

Проточная цитометрия. Анализ мононуклеарных клеток периферической крови проводили на проточных цитофлюориметрах Fortessa (Becton Dickinson, США) и CytoFLEX S (Beckman Coulter, США). Жизнеспособные клетки выделяли по отсутствию окрашивания витальным красителем LIVE/DEAD® Fixable Aqua Dead Cell Stain

Kit (Invitrogen, США) или Zombie UV Fixable Viability Kit (Biolegend, США). При определении CD4⁺Т-лимфоцитов и оценке их субпопуляционного состава использовали анти-CD3-AF700 (Becton Dickinson, США), анти-CD4-Qdot605, анти-CD45R0-APC-eFluor780 (Invitrogen, США), анти-CD3-PE-Dazzle594, анти-CD4-PE-Fire780 и анти-CD45RA-BV650 (Biolegend, США) антитела. Определяли наивные CD4⁺Т-клетки (CD3⁺CD4⁺CD45RA⁺/CD3⁺CD4⁺CD45R0⁻) и клетки памяти (CD3⁺CD4⁺CD45RA⁻/CD3⁺CD4⁺CD45R0⁺; рис. 1).

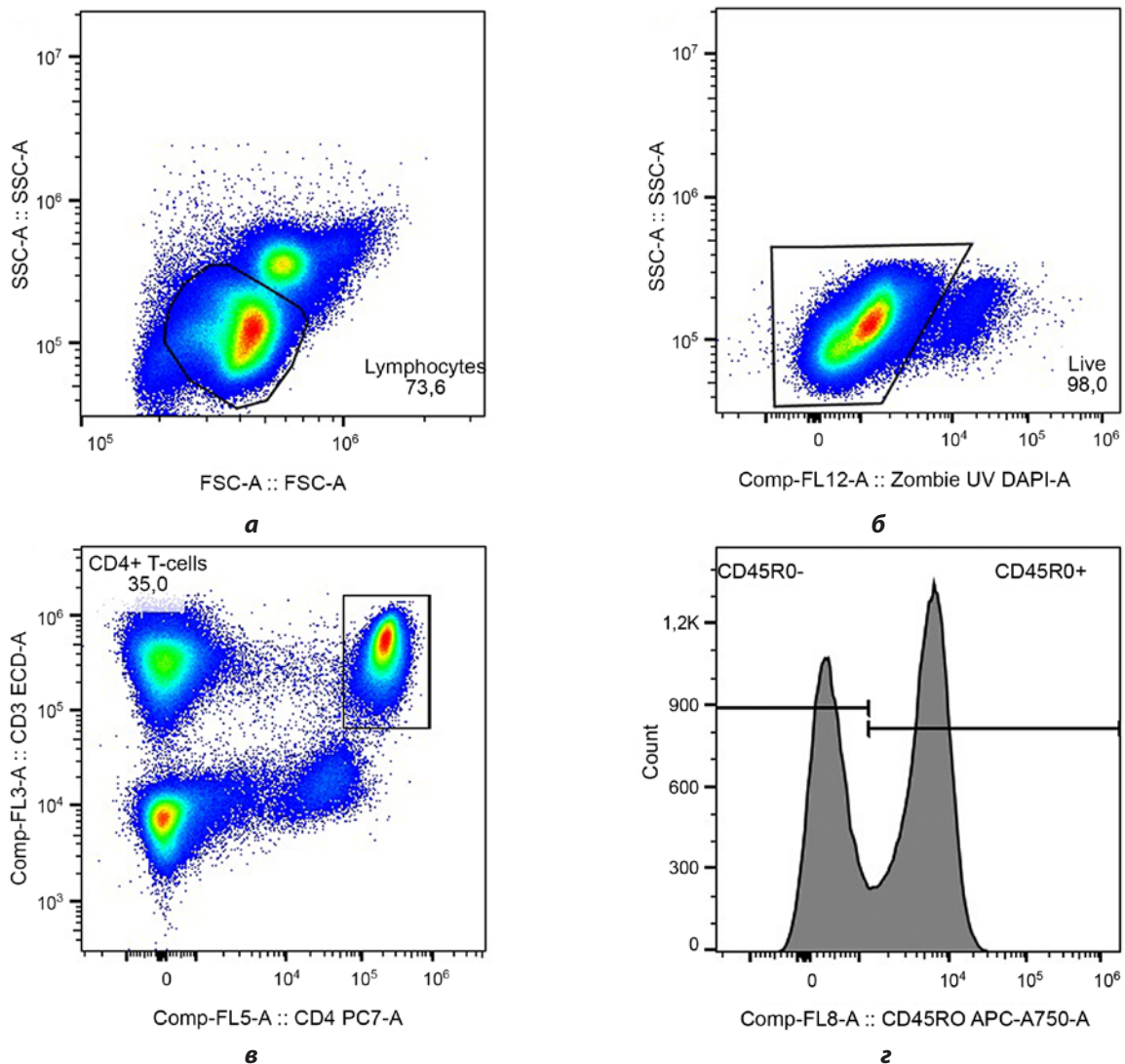


РИС. 1.

Логика гейтирования мононуклеарных клеток периферической крови при определении субпопуляционного состава CD4⁺Т-лимфоцитов: **а** – гейтирование лимфоцитов по параметрам светорассеяния (Lymphocytes); **б** – выделение жизнеспособных клеток (Live); **в** – гейтирование CD4⁺Т-лимфоцитов (CD4⁺ T cells); **г** – определение наивных (CD45R0⁻) CD4⁺Т-клеток и клеток памяти (CD45R0⁺). По оси абсцисс: **а** – интенсивность прямого светорассеяния (FSC-A); **б, в, г** – интенсивность флуоресценции клеток, окрашенных витальным красителем Zombie UV, анти-CD4 и анти-CD45R0 антителами соответственно. По оси ординат: **а, б** – интенсивность бокового светорассеяния (SSC-A); **в** – интенсивность флуоресценции клеток, окрашенных анти-CD3 антителами; **г** – число событий

FIG. 1.

The gating strategy used to identify CD4⁺ T cell subsets in peripheral blood mononuclear cells: **a** – gating of lymphocytes based on forward and side scatter (Lymphocytes); **б** – gating of viable cells (Live); **в** – gating of CD4⁺ T cells; **г** – gating of naive (CD45R0⁻) and memory (CD45R0⁺) CD4⁺ T cells. The abscissa axis: **а** – fluorescence intensity for forward scatter (FSC-A); **б, в, г** – fluorescence intensity of lymphocytes stained with Zombie UV vital dye, anti-CD4 antibodies or anti-CD45R0 antibodies, respectively. The ordinate axis: **а, б** – fluorescence intensity for side scatter (SSC-A); **в** – fluorescence intensity of lymphocytes stained with anti-CD3 antibodies; **г** – events count

Анализ цитофлуориметрических данных осуществляли с применением программы FlowJo v. 10.0 (FlowJo LLC, США).

Определение пролиферирующих клеток. Применение функциональных тестов для исследования метаболизма CD4⁺T-лимфоцитов исключает возможность использования таких широко распространённых маркеров пролиферации, как Ki-67 и PCNA (proliferating cell nuclear antigen), требующих фиксации и пермеабиллизации клеток на этапе пробоподготовки. Ранее в культуре живых CD4⁺T-клеток S.A. Younes и соавт. показали, что экспрессия рецептора трансферрина 1 (CD71) на их поверхности прямо связана с содержанием белка Ki-67 в ядрах [23]. Таким образом, CD71 может применяться в качестве альтернативы Ki-67 при идентификации пролиферирующих CD4⁺T-лимфоцитов в нагрузочных тестах. В настоящем исследовании для определения делящихся CD4⁺T-клеток использовались анти-CD71-BV421 (Becton Dickinson, США) и анти-CD71-AlexaFluor700 (Invitrogen, США) антитела.

Измерение потребления глюкозы. Клетки, окрашенные поверхностными антителами и витальным красителем Zombie UV, инкубировали в среде, содержащей 80 мкМ 2-NBDG (Abcam, Великобритания) при +37°C в течение 15 мин. Затем двукратно вносили DPBS, содержащий 1 % бычьего сывороточного альбумина (Bovine Serum Albumin – BSA; Sigma-Aldrich, США), и осаждали клетки центрифугированием (1000g, 3 мин). Образцы ресуспендировали в 100 мкл DPBS и инкубировали в течение 5 мин при температуре +4°C перед цитометрическим анализом.

Измерение потребления жирных кислот. К клеткам, окрашенным поверхностными антителами и витальным красителем Zombie UV, вносили раствор 1 % BSA (bovine serum albumin, бычий сывороточный альбумин) в DPBS, содержащий BODIPY FL C16 (Invitrogen, США) в конечной концентрации 50 нМ. Образцы инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре, затем дважды отмывали центрифугированием (1000 g, 3 мин) в растворе 1 % BSA в DPBS. Перед измерением клетки ресуспендировали в 100 мкл DPBS.

Определение уровня экспрессии транспортера глутамин. Клетки, окрашенные поверхностными антителами и витальным красителем Zombie UV, фиксировали/пермеабиллизировали с использованием набора True-Nuclear Transcription Factor Buffer Set (BioLegend, США), согласно инструкции производителя. Обработанные клетки инкубировали в 100 мкл пермеабиллизующего буфера, содержащего первичные анти-ASCT2 антитела (Abcam, Великобритания), в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем образцы окрашивали вторичными анти-IgG-AlexaFluor405 антителами (Abcam, Великобритания) в течение 30 мин при комнатной температуре. В пробы вносили раствор 1 % BSA в DPBS, центрифугировали образцы (400 g, 5 мин) и ресуспендировали клетки в 100 мкл DPBS перед измерением флуоресценции.

Оценка массы и трансмембранного потенциала митохондрий. В образцы клеток вносили митохондриальные красители MitoTracker™ Green FM и MitoTracker™

Orange CM-H₂TMRos (Invitrogen, США) в конечных концентрациях 25 нМ и 500 нМ соответственно. После инкубирования при +37 °C в течение 30 мин клетки осаждали центрифугированием (1000 g, 3 мин) и ресуспендировали в DPBS, содержащем 2 % ЭТС. Далее в образцы вносили поверхностные фенотипические антитела и витальный краситель Aqua Dead Cell Stain и инкубировали в течение 20 мин при комнатной температуре. Затем клетки осаждали центрифугированием и ресуспендировали в растворе 2 % ЭТС в DPBS для последующего измерения. Изменение средней интенсивности флуоресценции (ΔMFI) митохондриальных красителей в пролиферирующих клетках рассчитывали по формуле:

$$\Delta MFI = \frac{MFI(CD71^+) \cdot 100\%}{MFI(CD71^-)} - 100\%$$

где: CD71⁺ – делящиеся CD4⁺T-лимфоциты; CD71[–] – покоящиеся CD4⁺T-клетки.

Статистическая обработка данных. В выборках рассчитывали медиану, интерквартильный размах и 10–90%-е интервалы. Статистическую значимость различий между группами устанавливали с помощью U-критерия Манна – Уитни и W-критерия Уилкоксона. Статистические расчёты и построение графиков осуществляли с использованием программного обеспечения Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Субпопуляционный состав CD4⁺T-лимфоцитов.

Оценка относительного и абсолютного числа CD4⁺T-лимфоцитов среди наивных клеток и клеток памяти не выявила существенных отличий между субпопуляциями (рис. 2). Однако доля CD71-позитивных элементов среди CD4⁺T-клеток памяти была значительно выше, чем среди наивных клеток ($p < 0,001$).

Потребление глюкозы. Установлено, что в покое CD4⁺T-лимфоциты активно потребляют глюкозу. Доля клеток, поглощающих её флуоресцентный аналог 2-NBDG, в среднем составила 80,6 % (61,7–85,7 %) в общей популяции. Данный показатель был сопоставим в субпопуляциях наивных клеток (79,4 % (48,1–88,0 %)) и клеток памяти (88,8 % (74,3–93,6 %)). В то же время покоящиеся CD4⁺T-лимфоциты памяти при их сравнении с наивными клетками поглощали значительно больше глюкозы, о чём свидетельствовала повышенная средняя интенсивность флуоресценции данных клеток после инкубации в присутствии 2-NBDG ($p < 0,001$; рис. 3а).

При переходе к пролиферации уровень поглощения глюкозы CD4⁺T-клетками существенно возрос ($p < 0,001$; рис. 3б). Более того, наивные CD4⁺T-лимфоциты, характеризующиеся относительно низким потреблением глюкозы в покое, при вступлении в пролиферацию поглощали значительно больше субстрата, чем делящиеся клетки памяти ($p < 0,001$; рис. 3а).

Потребление жирных кислот. Дальнейший анализ показал, что покоящиеся CD4⁺T-лимфоциты используют экзогенные жирные кислоты в качестве одного из метаболических субстратов. Однако доля клеток, потре-

бляющих пальмитиновую кислоту, конъюгированную с BODIPY, составляла лишь 7,3 % (4,5–10,1 %). Относительное количество BODIPY-позитивных элементов в пуле наивных CD4⁺T-лимфоцитов (6,7 % (4,3–9,5 %)) и CD4⁺T-клеток памяти (9,6 % (7,8–11,3 %)) было сопоставимым. Переход к пролиферации также не привёл к увеличению доли CD4⁺T-лимфоцитов, потребляющих пальмитиновую кислоту в исследуемых субпопуляциях.

Оценка интенсивности флуоресценции BODIPY FL C16 показала, что среди покоящихся CD4⁺T-лимфоцитов

клетки памяти поглощают больше пальмитиновой кислоты, чем наивные клетки ($p < 0,001$; рис. 4а). Кроме того, в обеих субпопуляциях BODIPY-позитивных CD4⁺T-клеток потребление жирных кислот усиливалось при переходе к пролиферации ($p < 0,001$; рис. 4б). Как и в случае с глюкозой, делящиеся наивные CD4⁺T-лимфоциты, несмотря на относительно низкий уровень поглощения субстрата в покое, потребляли пальмитиновую кислоту активнее, чем пролиферирующие клетки памяти ($p < 0,001$; рис. 4а).

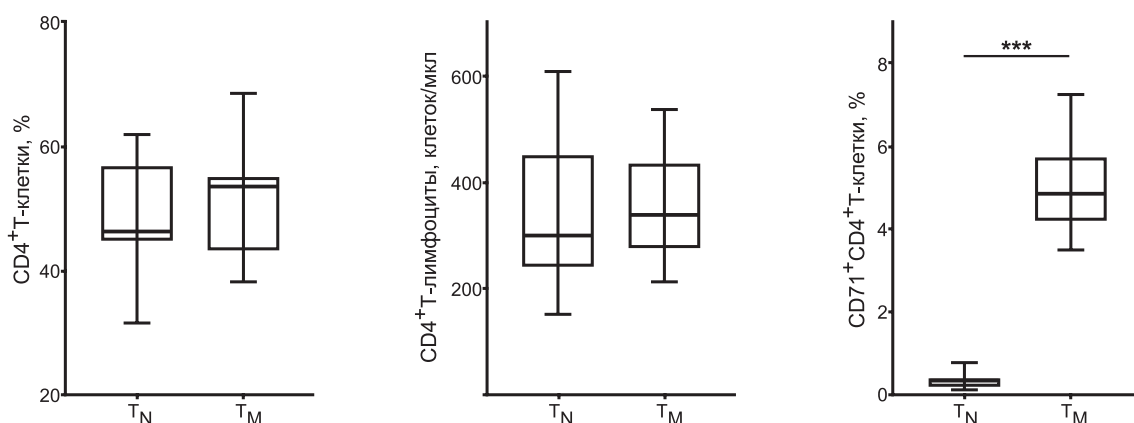


РИС. 2.

Размер субпопуляций CD4⁺T-лимфоцитов и доля пролиферирующих элементов среди наивных CD4⁺T-клеток и клеток памяти: T_N – наивные клетки; T_M – клетки памяти; *** – $p < 0,001$ (U-критерий Манна – Уитни). Представлены медианы (горизонтальные линии), интерквартильные размахи (прямоугольники) и 10–90%-е интервалы (вертикальные отрезки)

FIG. 2.

The size of naive and memory CD4⁺T lymphocyte subsets and the frequency of proliferating CD4⁺T cells: T_N – naive CD4⁺T cells; T_M – memory CD4⁺T cells; *** – $p < 0,001$ (Mann – Whitney U-test). The data is shown as medians (horizontal lines), interquartile ranges (boxes) and 10–90% intervals (whiskers)

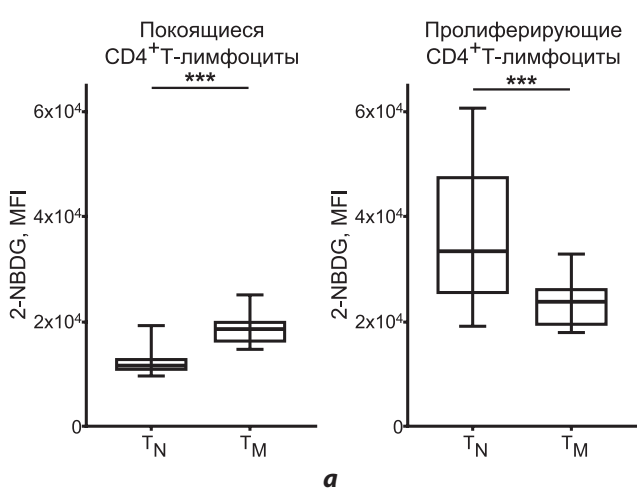


РИС. 3.

Потребление глюкозы наивными CD4⁺T-лимфоцитами и CD4⁺T-клетками памяти: **а** – средняя интенсивность флуоресценции (MFI) 2-NBDG в наивных CD4⁺T-лимфоцитах (T_N) и CD4⁺T-клетках памяти (T_M). Представлены медианы (горизонтальные линии), интерквартильные размахи (прямоугольники) и 10–90%-е интервалы (вертикальные отрезки); *** – $p < 0,001$ (U-критерий Манна – Уитни). **б** – средняя интенсивность флуоресценции 2-NBDG в покоящихся (CD71[−]) и пролиферирующих (CD71⁺) CD4⁺T-лимфоцитах. Линии соединяют показатели одного донора; *** – $p < 0,001$ (W-критерий Уилкоксона)

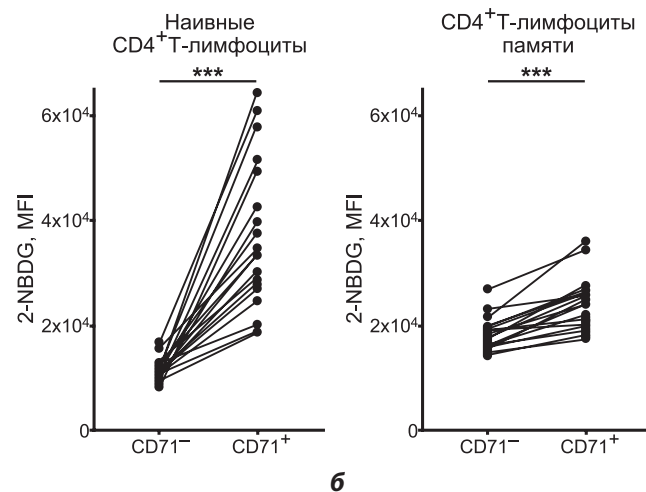


FIG. 3.

The levels of glucose uptake by naive and memory CD4⁺T cells: **а** – mean fluorescence intensity (MFI) of 2-NBDG in naive (T_N) and memory (T_M) CD4⁺T cells. The data is shown as medians (horizontal lines), interquartile ranges (boxes) and 10–90% intervals (whiskers); *** – $p < 0,001$ (Mann – Whitney U-test). **б** – MFI of 2-NBDG in quiescent (CD71[−]) and cycling (CD71⁺) CD4⁺T cells. The lines connect the values of the same donor; *** – $p < 0,001$ (Wilcoxon W-test)

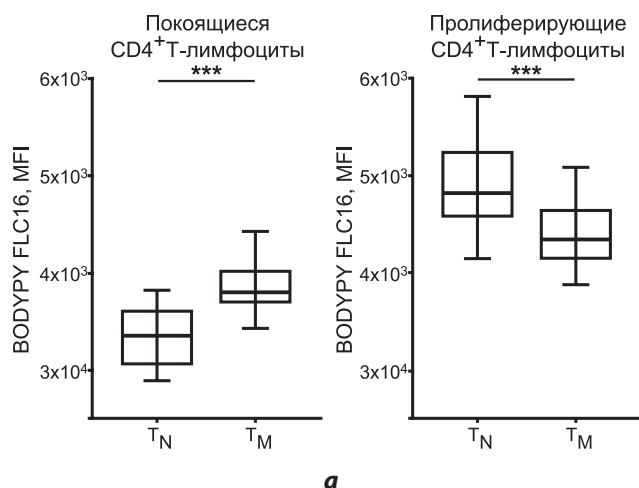


РИС. 4.

Уровень поглощения жирных кислот в субпопуляции BODIPY-позитивных наивных $CD4^+$ T-лимфоцитов и $CD4^+$ T-клеток памяти: **а** – средняя интенсивность флуоресценции (MFI) BODIPY FL C16 в наивных $CD4^+$ T-лимфоцитах (T_N) и $CD4^+$ T-клетках памяти (T_M). Представлены медианы (горизонтальные линии) интерквартильные размахи (прямоугольники) и 10–90%-е интервалы (вертикальные отрезки); *** – $p < 0,001$ (U-критерий Манна – Уитни). **б** – средняя интенсивность флуоресценции BODIPY FL C16 в покое ($CD71^-$) и пролиферирующих ($CD71^+$) $CD4^+$ T-лимфоцитах. Линии соединяют показатели одного донора; *** – $p < 0,001$ (W-критерий Уилкоксона)

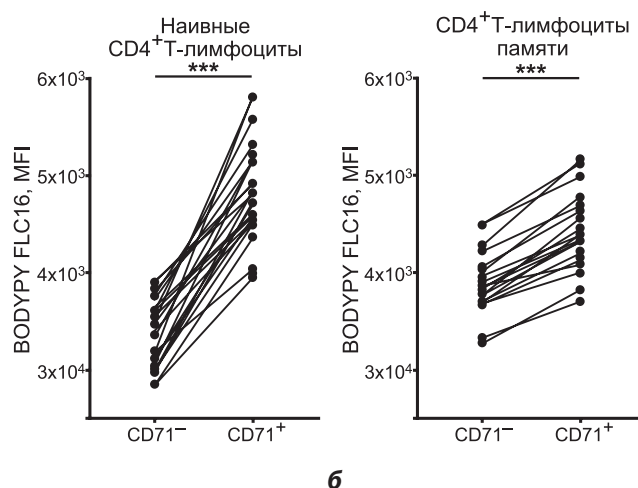


FIG. 4.

The levels of fatty acids uptake in naive and memory $CD4^+$ T cells: **a** – mean fluorescence intensity (MFI) of BODIPY FL C16 in naive (T_N) and memory (T_M) $CD4^+$ T cells. The data is shown as medians (horizontal lines), interquartile ranges (boxes) and 10–90% intervals (whiskers); *** – $p < 0.001$ (Mann – Whitney U-test). **b** – MFI of BODIPY FL C16 in quiescent ($CD71^-$) and cycling ($CD71^+$) $CD4^+$ T cells. The lines connect the values of the same donor; *** – $p < 0,001$ (Wilcoxon W-test)

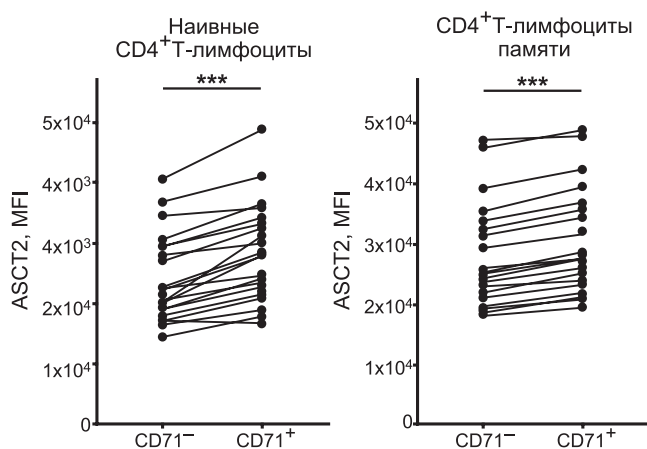


РИС. 5.

Экспрессия транспортера глутаминовой кислоты в покое ($CD71^-$) и пролиферирующих ($CD71^+$) $CD4^+$ T-лимфоцитах: по оси ординат – средняя интенсивность флуоресценции (MFI); линии соединяют показатели одного донора; *** – $p < 0,001$ (W-критерий Уилкоксона)

FIG. 5.

The expression of glutamine transporter (ASCT2) on the surface of quiescent ($CD71^-$) and cycling ($CD71^+$) $CD4^+$ T-cells: the ordinate axis – mean fluorescence intensity (MFI); the lines connect the values of the same donor; *** – $p < 0,001$ (Wilcoxon W-test)

Экспрессия транспортера глутаминовой кислоты. В ходе исследования было установлено, что все

$CD4^+$ T-лимфоциты экспрессируют на поверхности транспортер глутамин ASCT2. При этом в покое наивные $CD4^+$ T-лимфоциты и клетки памяти не отличались по содержанию ASCT2. Вместе с тем при пролиферации плотность экспрессии транспортера увеличивалась в обеих субпопуляциях $CD4^+$ T-лимфоцитов ($p < 0,001$; рис. 5). Сравнение экспрессии ASCT2 в делящихся наивных $CD4^+$ T-клетках и клетках памяти не выявило статистически значимых отличий между субпопуляциями.

Масса и заряд мембраны митохондрий. В обеих субпопуляциях $CD4^+$ T-лимфоцитов при переходе из покоего состояния к пролиферации увеличивается масса митохондрий, что проявляется в усилении яркости свечения клеток, содержащих MitoTracker Green (рис. 6а). При этом рост массы митохондрий в делящихся наивных $CD4^+$ T-клетках и клетках памяти происходил с одинаковой интенсивностью, поскольку коэффициент прироста флуоресценции MitoTracker Green в исследуемых субпопуляциях существенно не отличался (рис. 6в).

Заряд мембраны митохондрий в разных субпопуляциях $CD4^+$ T-лимфоцитов, напротив, изменялся неодинаково. Так, общий заряд митохондрий увеличивался при делении наивных $CD4^+$ T-клеток, но не клеток памяти (рис. 6б). В соответствии с этим коэффициент прироста флуоресценции MitoTracker Orange при переходе покоевых наивных $CD4^+$ T-лимфоцитов к пролиферации значительно превышал аналогичный показатель в клетках памяти (рис. 6г).

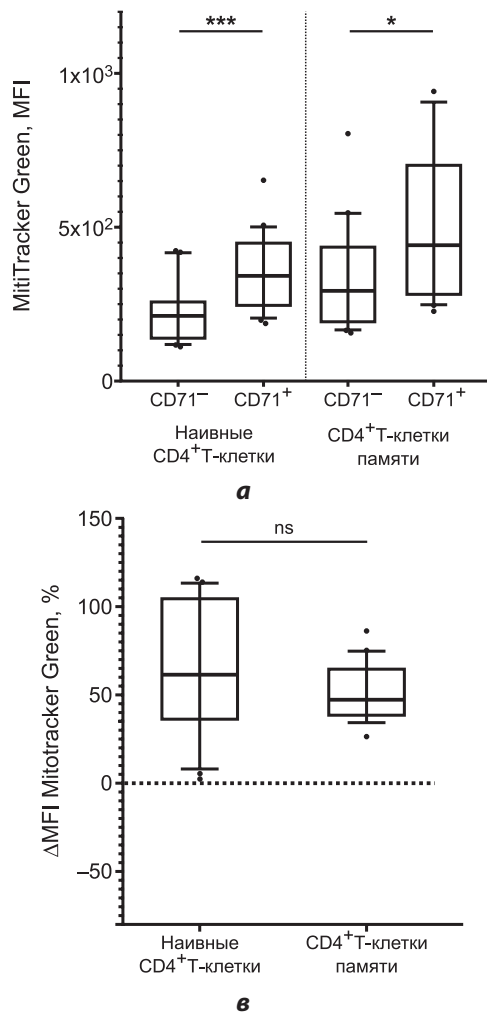


РИС. 6.

Изменение массы и заряда мембраны митохондрий CD4⁺T-лимфоцитов при переходе из покоевого состояния к пролиферации: **а, б** – средняя интенсивность флуоресценции (MFI) MitoTracker Green FM и MitoTracker Orange CM-H₂TMRos в покоевых (CD71⁻) и пролиферирующих (CD71⁺) CD4⁺T-лимфоцитах; **в, г** – изменение средней интенсивности флуоресценции (ΔMFI) красителей MitoTracker Green FM и MitoTracker Orange CM-H₂TMRos при переходе CD4⁺T-клеток к пролиферации. Представлены медианы (горизонтальные линии), интерквартильные размахи (прямоугольники) и 10–90%-е интервалы (вертикальные отрезки); * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$; ns – нет статистически значимых отличий (U-критерий Манна – Уитни)

В совокупности полученные в настоящей работе данные демонстрируют следующее. Покоящиеся CD4⁺T-клетки памяти характеризуются повышенной метаболической активностью и потребляют значительно больше глюкозы и пальмитиновой кислоты, чем наивные клетки в аналогичных условиях. При этом глюкоза поглощается большинством CD4⁺T-лимфоцитов, в то время как доля клеток, захватывающих экзогенные жирные кислоты, в обеих субпопуляциях невелика. Пролиферация CD4⁺T-лимфоцитов сопровождается перестройкой обменных процессов, проявляющейся увеличением

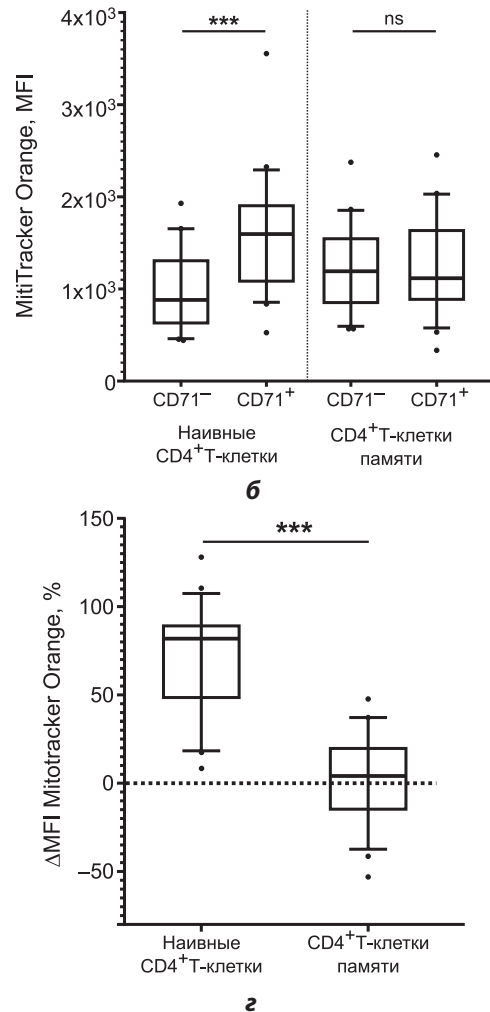


FIG. 6.

The change in mitochondrial mass and mitochondrial membrane potential induced by proliferation of naive and memory CD4⁺T-cells: **a, б** – mean fluorescence intensity (MFI) of MitoTracker Green FM and MitoTracker Orange CM-H₂TMRos in quiescent (CD71⁻) and cycling (CD71⁺) CD4⁺T cells; **в, г** – the change in MFI (ΔMFI) of MitoTracker Green FM and MitoTracker Orange CM-H₂TMRos induced by proliferation. The data is shown as medians (horizontal lines), interquartile ranges (boxes) and 10–90% intervals (whiskers); * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$; ns – not significant (Mann – Whitney U-test)

потребления глюкозы и пальмитата, а также повышением экспрессии транспортера глутамината. В наивных CD4⁺T-клетках перестройка метаболизма, связанная с делением, приводит к значительному усилению потребления глюкозы и пальмитиновой кислоты, а также к существенному увеличению суммарного заряда мембраны митохондрий. В то же время изменение метаболизма CD4⁺T-лимфоцитов памяти, вызванное пролиферацией, носит более умеренный характер и значительно не влияет на энергетическую функцию митохондрий. Таким образом, ускоренная пролиферация CD4⁺T-клеток памяти

ти при вторичном иммунном ответе может быть связана с меньшими, в сравнении с наивными клетками, биоэнергетическими затратами.

ОБСУЖДЕНИЕ

Особенностью данной работы является использование нового подхода к исследованию метаболизма живых делящихся CD4⁺T-клеток. Большинство Т-лимфоцитов в периферической крови человека находятся в покое, как показало настоящее исследование: доля пролиферирующих клеток составляет менее 1 % в субпопуляции наивных CD4⁺T-лимфоцитов и около 5 % среди клеток памяти. В связи с этим изучение особенностей функционирования делящихся CD4⁺T-клеток в условиях *ex vivo* требует использования специфических маркеров пролиферации. Наиболее распространённым среди них является белок Ki-67, экспрессируемый в ядрах клеток только в течение активных фаз клеточного цикла. Тем не менее, определение Ki-67 требует фиксации и пермеабелизации образцов, поэтому данный маркер не нашёл широкого применения при изучении метаболизма пролиферирующих CD4⁺T-лимфоцитов. Вместо этого, большинство исследователей стимулировали покоещиеся клетки *in vitro*, чтобы увеличить число делящихся CD4⁺T-лимфоцитов в популяции и исключить необходимость фенотипирования [21, 22]. Исследование, проведённое S.A. Younes и соавт. в 2018 году, показало, что делящиеся клетки в популяции живых CD4⁺T-лимфоцитов можно определять с использованием поверхностных маркеров [23]. Так, мы установили, что наличие белка Ki-67 в ядре пролиферирующих CD4⁺T-клеток связано с экспрессией молекулы CD71 на их поверхности ($r = 0,985$; $p < 0,001$). Используя данный маркер в настоящей работе, мы впервые изучили особенности обменных процессов CD4⁺T-лимфоцитов, пролиферирующих *in vivo*. Кроме того, сочетание CD71 с другими фенотипическими антителами впервые дало возможность исследовать метаболические свойства делящихся наивных CD4⁺T-лимфоцитов и CD4⁺T-клеток памяти одновременно.

Одним из основных результатов проведённого исследования является установление того факта, что при делении CD4⁺T-лимфоциты памяти в сравнении с наивными клетками потребляют меньше глюкозы. Ранее метаболизм глюкозы в наивных CD4⁺T-клетках и клетках памяти сравнивали только в активированных клетках, стимулированных *in vitro* [21]. При этом авторы оценивали продукцию лактата, то есть интенсивность окисления глюкозы в процессе аэробного гликолиза. В результате было установлено, что CD4⁺T-лимфоциты памяти в сравнении с наивными клетками меньше увеличивают активность аэробного гликолиза при стимуляции через Т-клеточный рецептор. Однако существенной разницы между продукцией лактата в активированных наивных CD4⁺T-клетках и клетках памяти установлено не было. Возможно, обнаруженное нами увеличение потребления глюкозы в пролиферирующих наивных CD4⁺T-лимфоцитах *ex vivo* связано с другими метаболическими путями.

Помимо этого, в ходе настоящего исследования было установлено, что небольшая часть CD4⁺T-клеток способна потреблять экзогенные жирные кислоты. В литературе относительно субпопуляционной принадлежности данных клеток нет единого мнения. Ранее было показано, что инкубация активированных CD4⁺T-клеток в среде, содержащей жирные кислоты, приводит к увеличению доли регуляторных CD4⁺T-лимфоцитов в популяции [24]. Этот факт позволяет предположить, что BODIPY-позитивные CD4⁺T-клетки могут относиться к регуляторным Т-лимфоцитам. Тем не менее, I. Pacella и соавт. продемонстрировали, что уровень поглощения флуоресцентного аналога пальмитата в регуляторных и конвенциональных CD4⁺T-лимфоцитах существенно не отличается [25]. Таким образом, роль экзогенных жирных кислот в жизнедеятельности различных субпопуляций CD4⁺T-клеток требует дальнейшего изучения.

Следующим этапом данной работы была оценка изменения состояния митохондрий при переходе CD4⁺T-лимфоцитов из покоящегося состояния к пролиферации. С этой целью мы проанализировали коэффициенты прироста массы и заряда мембраны митохондрий, т. е. проценты изменения средней интенсивности флуоресценции соответствующих красителей MitoTracker Green и MitoTracker Orange CM-H₂TMRos в делящихся CD4⁺T-клетках. Анализ данных показателей позволил установить, что и в наивных CD4⁺T-лимфоцитах, и в CD4⁺T-клетках памяти при пролиферации возрастает масса митохондрий. Вместе с тем, только в наивных элементах увеличение массы сопровождается повышением суммарного заряда мембраны митохондрий, в то время как в популяции CD4⁺T-лимфоцитов памяти заряд мембраны митохондрий в CD71-негативных и CD71-позитивных клетках был сопоставим.

Приведённые выше данные могут иметь два вероятных объяснения. Первое предполагает, что в CD4⁺T-клетках памяти митохондрии не испытывают значительных нагрузок при переходе из покоящегося состояния к пролиферации, в связи с чем их трансмембранный потенциал существенно не изменяется. Однако данная гипотеза кажется маловероятной с учётом важной роли митохондрий в регуляции клеточного цикла [11, 26]. Другим объяснением может служить то, что митохондрии CD4⁺T-лимфоцитов памяти в покоящемся состоянии адаптированы к нагрузкам, связанным с пролиферацией. Ранее было показано, что CD8⁺T-клетки памяти обладают биоэнергетическим преимуществом по отношению к наивным клеткам и отличаются повышенной резервной дыхательной ёмкостью митохондрий [27]. Авторы также установили, что эти особенности обуславливают способность CD8⁺T-лимфоцитов памяти быстрее вступать в иммунный ответ при повторной встрече с антигеном. Полученные нами данные демонстрируют, что схожие адаптации могут быть свойственны, в том числе, CD4⁺T-клеткам памяти.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе настоящего исследования было установлено, что CD4⁺T-лимфоциты памяти, способные быстрее реа-

гировать на вновь распознанный антиген, обладают рядом метаболических особенностей. При пролиферации такие клетки в меньшей степени усиливают потребление метаболических субстратов и, в отличие от наивных CD4⁺Т-лимфоцитов, не увеличивают заряд мембраны митохондрий. Возможная связь между метаболизмом CD4⁺Т-клеток и эффективностью вторичного иммунного ответа подчёркивает важность дальнейшего изучения обменных процессов CD4⁺Т-лимфоцитов памяти. Настоящая работа является одной из первых в данном направлении и указывает на то, что значительную роль в пролиферации CD4⁺Т-клеток памяти может играть состояние митохондрий.

Полученные данные позволяют предположить, что митохондрии Т-лимфоцитов памяти могут стать перспективной мишенью для разработки новых иммунотерапевтических стратегий. Ранее методы лечения, направленные на регуляцию обменных процессов в Т-клетках, показали свою эффективность при терапии ревматоидного артрита [28], сахарного диабета [29] и аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома [30]. Дальнейшие исследования в области метаболизма CD4⁺Т-клеток памяти могут открыть новые перспективы для решения других задач современной иммунологии, в частности – улучшения поствакцинального иммунитета.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственного задания «Роль метаболизма CD4⁺ Т-клеток памяти в нарушении регенерации иммунитета у ВИЧ-инфицированных пациентов на фоне антиретровирусной терапии»; номер государственной регистрации темы 121112500044-9.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Исследования материалов и вещества» ПФИЦ УРО РАН.

Соблюдение этических норм

Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием людей, соответствуют этическим стандартам национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации 1964 г. и её последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включённых в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

ЛИТЕРАТУРА

1. Burnet FM. A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection. *CA Cancer J Clin*. 1976; 26(2): 119-121. doi: 10.3322/canjclin.26.2.119
2. Heinzel S, Marchingo JM, Horton MB, Hodgkin PD. The regulation of lymphocyte activation and proliferation. *Curr Opin Immunol*. 2018; 51: 32-38. doi: 10.1016/j.coi.2018.01.002
3. Rogers PR, Dubey C, Swain SL. Qualitative changes accompany memory T cell generation: Faster, more effective responses at lower doses of antigen. *J Immunol*. 2000; 164(5): 2338-2346. doi: 10.4049/jimmunol.164.5.2338
4. Abdel-Haleem AM, Lewis NE, Jamshidi N, Mineta K, Gao X, Gjobori T. The emerging facets of non-cancerous Warburg effect. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017; 8: 279. doi: 10.3389/fendo.2017.00279
5. DeBerardinis RJ, Lum JJ, Hatzivassiliou G, Thompson CB. The biology of cancer: Metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab*. 2008; 7(1): 11-20. doi: 10.1016/j.cmet.2007.10.002
6. Shah AM, Wang Z, Ma J. Glutamine metabolism and its role in immunity, a comprehensive review. *Animals (Basel)*. 2020; 10(2): 326. doi: 10.3390/ani10020326
7. Yao CH, Fowle-Grider R, Mahieu NG, Liu GY, Chen YJ, Wang R, et al. Exogenous fatty acids are the preferred source of membrane lipids in proliferating fibroblasts. *Cell Chem Biol*. 2016; 23(4): 483-493. doi: 10.1016/j.chembiol.2016.03.007
8. Frezza C, Gottlieb E. Mitochondria in cancer: Not just innocent bystanders. *Semin Cancer Biol*. 2009; 19(1): 4-11. doi: 10.1016/j.semcancer.2008.11.008
9. Spinelli JB, Haigis MC. The multifaceted contributions of mitochondria to cellular metabolism. *Nat Cell Biol*. 2018; 20(7): 745-754. doi: 10.1038/s41556-018-0124-1
10. Spurlock B, Tullet J, Hartman JL, Mitra K. Interplay of mitochondrial fission-fusion with cell cycle regulation: Possible impacts on stem cell and organismal aging. *Exp Gerontol*. 2020; 135: 110919. doi: 10.1016/j.exger.2020.110919
11. Xiong W, Jiao Y, Huang W, Ma M, Yu M, Cui Q, et al. Regulation of the cell cycle via mitochondrial gene expression and energy metabolism in HeLa cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2012; 44(4): 347-358. doi: 10.1093/abbs/gms006
12. Cantor J, Haskins K. Recruitment and activation of macrophages by pathogenic CD4 T cells in type 1 diabetes: Evidence for involvement of CCR8 and CCL1. *J Immunol*. 2007; 179(9): 5760-5767. doi: 10.4049/jimmunol.179.9.5760
13. Borst J, Ahrends T, Bąbała N, Melief CJM, Kastenmüller W. CD4+ T cell help in cancer immunology and immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2018; 18(10): 635-647. doi: 10.1038/s41577-018-0044-0
14. MacLeod MKL, David A, McKee AS, Crawford F, Kappler JW, Marrack P. Memory CD4 T cells that express CXCR5 provide accelerated help to B cells. *J Immunol*. 2011; 186(5): 2889-2896. doi: 10.4049/jimmunol.1002955
15. Zhu J, Paul WE. CD4 T cells: Fates, functions, and faults. *Blood*. 2008; 112(5): 1557-1569. doi: 10.1182/blood-2008-05-078154
16. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol*. 1995; 155(3): 1151-1164.
17. Buck MD, O'Sullivan D, Pearce EL. T cell metabolism drives immunity. *J Exp Med*. 2015; 212(9): 1345-1360. doi: 10.1084/jem.20151159
18. Beier UH, Angelin A, Akimova T, Wang L, Liu Y, Xiao H, et al. Essential role of mitochondrial energy metabolism in Foxp3+ T-regulatory cell function and allograft survival. *FASEB J*. 2015; 29(6): 2315-2326. doi: 10.1096/fj.14-268409
19. Ricciardi S, Manfrini N, Alfieri R, Calamita P, Crosti MC, Gallo S, et al. The translational machinery of human CD4 + T Cells

is poised for activation and controls the switch from quiescence to metabolic remodeling. *Cell Metab.* 2018; 28(6): 895-906.e5. doi: 10.1016/j.cmet.2018.08.009

20. Ron-Harel N, Santos D, Ghergurovich JM, Sage PT, Reddy A, Lovitch SB, et al. Mitochondrial biogenesis and proteome remodeling promote one-carbon metabolism for T cell activation. *Cell Metab.* 2016; 24(1): 104-117. doi: 10.1016/j.cmet.2016.06.007

21. Jones N, Vincent EE, Cronin JG, Panetti S, Chambers M, Holm SR, et al. Akt and STAT5 mediate naïve human CD4+ T-cell early metabolic response to TCR stimulation. *Nat Commun.* 2019; 10(1): 2042. doi: 10.1038/s41467-019-10023-4

22. Clerc I, Moussa DA, Vahlas Z, Tardito S, Oburoglu L, Hope TJ, et al. Entry of glucose- and glutamine-derived carbons into the citric acid cycle supports early steps of HIV-1 infection in CD4 T cells. *Nat Metab.* 2019; 1(7): 717-730. doi: 10.1038/s42255-019-0084-1

23. Younes SA, Talla A, Pereira Ribeiro S, Saidakova EV, Korolevskaya LB, Shmagel KV, et al. Cycling CD4+ T cells in HIV-infected immune nonresponders have mitochondrial dysfunction. *J Clin Invest.* 2018; 128(11): 5083-5094. doi: 10.1172/JCI120245

24. Michalek RD, Gerriets VA, Jacobs SR, Macintyre AN, MacIver NJ, Mason EF, et al. Cutting edge: Distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4+ T cell subsets. *J Immunol.* 2011; 186(6): 3299-3303. doi: 10.4049/jimmunol.1003613

25. Pacella I, Procaccini C, Focaccetti C, Miacci S, Timperi E, Faicchia D, et al. Fatty acid metabolism complements glycolysis in the selective regulatory T cell expansion during tumor growth. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2018; 115(28): E6546-E6555. doi: 10.1073/pnas.1720113115

26. Mitra K, Wunder C, Roysam B, Lin G, Lippincott-Schwartz J. A hyperfused mitochondrial state achieved at G1-S regulates cyclin E buildup and entry into S phase. *Proc Natl Acad Sci.* 2009; 106(29): 11960-11965. doi: 10.1073/pnas.0904875106

27. van der Windt GJW, O'Sullivan D, Everts B, Huang SCC, Buck MD, Curtis JD, et al. CD8 memory T cells have a bioenergetic advantage that underlies their rapid recall ability. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110(35): 14336-14341. doi: 10.1073/pnas.1221740110

28. Четина Е.В., Демидова Н.В., Маркова Г.А. Метаболические аспекты прогнозирования достижения ремиссии по базальной экспрессии генов в крови у больных ревматоидным артритом при терапии метотрексатом. *Современная ревматология.* 2019; 13(2): 47-54. doi: 10.14412/1996-7012-2019-2-47-54

29. Ширинский И.В., Ширинский В.С. Плейотропные свойства PPAR-α: от экспериментов к клинике. *Медицинская иммунология.* 2021; 23(3): 439-454. doi: 10.15789/1563-0625-PEO-2222

30. Швец О.А., Дерипапа Е.В., Абрамова И.Н., Викторова Е.А., Родина Ю.А., Деордиева Е.А., и др. Эффективность сиrolимуса в терапии аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии.* 2018; 17(1): 46-53. doi: 10.24287/1726-1708-2018-17-1-46-53

REFERENCES

1. Burnet FM. A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection. *CA Cancer J Clin.* 1976; 26(2): 119-121. doi: 10.3322/canjclin.26.2.119

2. Heinzel S, Marchingo JM, Horton MB, Hodgkin PD. The regulation of lymphocyte activation and proliferation. *Curr Opin Immunol.* 2018; 51: 32-38. doi: 10.1016/j.coi.2018.01.002

3. Rogers PR, Dubey C, Swain SL. Qualitative changes accompany memory T cell generation: Faster, more effective responses at lower doses of antigen. *J Immunol.* 2000; 164(5): 2338-2346. doi: 10.4049/jimmunol.164.5.2338

4. Abdel-Haleem AM, Lewis NE, Jamshidi N, Mineta K, Gao X, Gojobori T. The emerging facets of non-cancerous Warburg effect. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017; 8: 279. doi: 10.3389/fendo.2017.00279

5. DeBerardinis RJ, Lum JJ, Hatzivassiliou G, Thompson CB. The biology of cancer: Metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab.* 2008; 7(1): 11-20. doi: 10.1016/j.cmet.2007.10.002

6. Shah AM, Wang Z, Ma J. Glutamine metabolism and its role in immunity, a comprehensive review. *Animals (Basel).* 2020; 10(2): 326. doi: 10.3390/ani10020326

7. Yao CH, Fowle-Grider R, Mahieu NG, Liu GY, Chen YJ, Wang R, et al. Exogenous fatty acids are the preferred source of membrane lipids in proliferating fibroblasts. *Cell Chem Biol.* 2016; 23(4): 483-493. doi: 10.1016/j.chembiol.2016.03.007

8. Frezza C, Gottlieb E. Mitochondria in cancer: Not just innocent bystanders. *Semin Cancer Biol.* 2009; 19(1): 4-11. doi: 10.1016/j.semcancer.2008.11.008

9. Spinelli JB, Haigis MC. The multifaceted contributions of mitochondria to cellular metabolism. *Nat Cell Biol.* 2018; 20(7): 745-754. doi: 10.1038/s41556-018-0124-1

10. Spurlock B, Tullet J, Hartman JL, Mitra K. Interplay of mitochondrial fission-fusion with cell cycle regulation: Possible impacts on stem cell and organismal aging. *Exp Gerontol.* 2020; 135: 110919. doi: 10.1016/j.exger.2020.110919

11. Xiong W, Jiao Y, Huang W, Ma M, Yu M, Cui Q, et al. Regulation of the cell cycle via mitochondrial gene expression and energy metabolism in HeLa cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2012; 44(4): 347-358. doi: 10.1093/abbs/gms006

12. Cantor J, Haskins K. Recruitment and activation of macrophages by pathogenic CD4 T cells in type 1 diabetes: Evidence for involvement of CCR8 and CCL1. *J Immunol.* 2007; 179(9): 5760-5767. doi: 10.4049/jimmunol.179.9.5760

13. Borst J, Ahrends T, Bąbała N, Melief CJM, Kastenmüller W. CD4+ T cell help in cancer immunology and immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2018; 18(10): 635-647. doi: 10.1038/s41577-018-0044-0

14. MacLeod MKL, David A, McKee AS, Crawford F, Kappler JW, Marrack P. Memory CD4 T cells that express CXCR5 provide accelerated help to B cells. *J Immunol.* 2011; 186(5): 2889-2896. doi: 10.4049/jimmunol.1002955

15. Zhu J, Paul WE. CD4 T cells: Fates, functions, and faults. *Blood.* 2008; 112(5): 1557-1569. doi: 10.1182/blood-2008-05-078154

16. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol.* 1995; 155(3): 1151-1164.

17. Buck MD, O'Sullivan D, Pearce EL. T cell metabolism drives immunity. *J Exp Med.* 2015; 212(9): 1345-1360. doi: 10.1084/jem.20151159

18. Beier UH, Angelin A, Akimova T, Wang L, Liu Y, Xiao H, et al. Essential role of mitochondrial energy metabolism in Foxp3+ T-regulatory cell function and allograft survival. *FASEB J*. 2015; 29(6): 2315-2326. doi: 10.1096/fj.14-268409
19. Ricciardi S, Manfrini N, Alfieri R, Calamita P, Crosti MC, Gallo S, et al. The translational machinery of human CD4+ T Cells is poised for activation and controls the switch from quiescence to metabolic remodeling. *Cell Metab*. 2018; 28(6): 895-906.e5. doi: 10.1016/j.cmet.2018.08.009
20. Ron-Harel N, Santos D, Ghergurovich JM, Sage PT, Reddy A, Lovitch SB, et al. Mitochondrial biogenesis and proteome remodeling promote one-carbon metabolism for T cell activation. *Cell Metab*. 2016; 24(1): 104-117. doi: 10.1016/j.cmet.2016.06.007
21. Jones N, Vincent EE, Cronin JG, Panetti S, Chambers M, Holm SR, et al. Akt and STAT5 mediate naïve human CD4+ T-cell early metabolic response to TCR stimulation. *Nat Commun*. 2019; 10(1): 2042. doi: 10.1038/s41467-019-10023-4
22. Clerc I, Moussa DA, Vahlas Z, Tardito S, Oburoglu L, Hope TJ, et al. Entry of glucose- and glutamine-derived carbons into the citric acid cycle supports early steps of HIV-1 infection in CD4 T cells. *Nat Metab*. 2019; 1(7): 717-730. doi: 10.1038/s42255-019-0084-1
23. Younes SA, Talla A, Pereira Ribeiro S, Saidakova EV, Korolevskaya LB, Shmagel KV, et al. Cycling CD4+ T cells in HIV-infected immune nonresponders have mitochondrial dysfunction. *J Clin Invest*. 2018; 128(11): 5083-5094. doi: 10.1172/JCI120245
24. Michalek RD, Gerriets VA, Jacobs SR, Macintyre AN, MacIver NJ, Mason EF, et al. Cutting edge: Distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4+ T cell subsets. *J Immunol*. 2011; 186(6): 3299-3303. doi: 10.4049/jimmunol.1003613
25. Pacella I, Procaccini C, Focaccetti C, Miacci S, Timperi E, Faicchia D, et al. Fatty acid metabolism complements glycolysis in the selective regulatory T cell expansion during tumor growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018; 115(28): E6546-E6555. doi: 10.1073/pnas.1720113115
26. Mitra K, Wunder C, Roysam B, Lin G, Lippincott-Schwartz J. A hyperfused mitochondrial state achieved at G1-S regulates cyclin E buildup and entry into S phase. *Proc Natl Acad Sci*. 2009; 106(29): 11960-11965. doi: 10.1073/pnas.0904875106
27. van der Windt GJW, O'Sullivan D, Everts B, Huang SCC, Buck MD, Curtis JD, et al. CD8 memory T cells have a bioenergetic advantage that underlies their rapid recall ability. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013; 110(35): 14336-14341. doi: 10.1073/pnas.1221740110
28. Chetina EV, Demidova NV, Markova GA. Metabolic aspects of clinical remission prediction from baseline blood gene expression in patients with rheumatoid arthritis treated with methotrexate. *Modern Rheumatology Journal*. 2019; 13(2): 47-54. (In Russ.). doi: 10.14412/1996-7012-2019-2-47-54
29. Shirinsky IV, Shirinsky VS. Pleiotropic effects of PPAR-α – From benchside to bedside. *Medical Immunology (Russia)*. 2021; 23(3): 439-454. (In Russ.). doi: 10.15789/1563-0625-PEO-2222
30. Shvetz OA, Deripapa EV, Abramova IN, Victorova EA, Rodina YuA, Deordieva EA, et al. Sirolimus efficacy in treatment of autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*. 2018; 17(1): 46-53. (In Russ.). doi: 10.24287/1726-1708-2018-17-1-46-53

Сведения об авторах

Власова Виолетта Викторовна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, e-mail: violetbaudelaire73@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1656-7277>

Сайдакова Евгения Владимировна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией молекулярной иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН; доцент кафедры микробиологии и иммунологии, ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», e-mail: radimira@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4342-5362>

Королевская Лариса Борисовна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, e-mail: bioqueen@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9840-7578>

Шмагель Надежда Геннадьевна – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, e-mail: shmagel_ng@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2763-3620>

Шмагель Константин Владимирович – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, e-mail: shmagel@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6355-6178>

Information about the authors

Violetta V. Vlasova – Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: violetbaudelaire73@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1656-7277>

Evgeniya V. Saidakova – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; Associate Professor at the Department of Microbiology and Immunology, Perm State University, e-mail: radimira@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4342-5362>

Larisa B. Korolevskaya – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: bioqueen@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9840-7578>

Nadezhda G. Shmagel – Dr. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: shmagel_ng@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2763-3620>

Konstantin V. Shmagel – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: shmagel@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6355-6178>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».