

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco109363>

Оценка метаболической активности и энергетической обеспеченности лимфоцитов периферической крови

О.В. Зубаткина, Л.К. Добродеева, А.В. Самодова, С.Д. Круглов

Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лавёрова, Архангельск, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Т-клетки способны изменять свой метаболизм в ответ на активационные сигналы. В состоянии покоя Т-клетки преимущественно используют для своих энергетических нужд окисление высших жирных кислот и окислительное фосфорилирование в митохондриях, а после активации переходят на аэробный гликолиз и глутаминолиз, используя в качестве субстратов глюкозу и глутамин соответственно.

Цель. Определение метаболической активности и энергообеспеченности лимфоцитов периферической крови у практически здоровых северян путём установления внутриклеточного содержания HIF-1 α (гипоксией индуцируемого фактора 1- α), SIRT3 (сиртуина 3) и АТФ (аденозинтрифосфата).

Материалы и методы. Обследованы 39 волонтеров — жителей Архангельской области (23 женщины и 16 мужчин, возраст от 23 до 62 лет), у которых определяли общее количество лимфоцитов в периферической крови с проведением CD-типирования лимфоцитов (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD71⁺) методом непрямой иммунопероксидазной реакции, в лизате лимфоцитов определяли содержание HIF-1 α и SIRT3 методом иммуноферментного анализа, концентрацию АТФ методом люминесцентного анализа с использованием люциферин-люциферазной реакции. Статистическую обработку результатов исследования проводили в программе Statistica 10.0, применяли кластерный анализ с использованием метода k-средних, вычисляли средние значения (M), стандартное отклонение (SD); нормальность распределения оценивали по критерию Колмогорова–Смирнова и Лиллиефорса, вычисляли t-критерий Стьюдента, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Установлено, что у обследованных волонтеров метаболическая активность лимфоцитов, связанная с HIF-1 α -регуляцией, статистически значимо различается, при этом в группе с более низким общим количеством лимфоцитов и их субпопуляций (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD71⁺) наблюдается преимущественная гликолитическая направленность метаболизма и более высокий уровень энергообеспеченности клеток.

Заключение. Метаболическая активность, о которой можно судить по соотношению HIF-1 α /SIRT3, и энергетическая обеспеченность лимфоцитов оказывают существенное влияние на их дифференцировку, пролиферацию и функционирование.

Ключевые слова: лимфоциты; иммунометаболизм; сиртуин 3; гипоксией индуцируемый фактор 1 α ; аденозинтрифосфат.

Как цитировать:

Зубаткина О.В., Добродеева Л.К., Самодова А.В., Круглов С.Д. Оценка метаболической активности и энергетической обеспеченности лимфоцитов периферической крови // Экология человека. 2022. Т. 29, № 12. С. 855–863. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco109363>

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco109363>

Assessment of metabolic activity and energy supply of peripheral blood lymphocytes

Ol'ga V. Zubatkina, Lilija K. Dobrodeeva, Anna V. Samodova, Sergej D. Kruglov

N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research, Arkhangelsk, Russian Federation

ABSTRACT

BACKGROUND: T-cells have the capability to change their metabolism in response to activation signals. Resting T-cells primarily use the oxidation of higher fatty acids and oxidative phosphorylation in mitochondria for their energy needs, whereas activated T-cells switch to aerobic glycolysis and glutaminolysis, using glucose, and glutamine as substrates, respectively.

AIM: To determine the metabolic activity and energy supply of peripheral blood lymphocytes in predominantly healthy northerners by measuring the intracellular content of HIF-1 α (hypoxia-induced factor 1 α), SIRT3 (sirtuin 3), and ATP (adenosine triphosphate).

MATERIALS AND METHODS: 39 volunteers, residents of the Arkhangelsk region (23 women and 16 men, 23–62 years old), were selected, and examined for this experiment. We established the total number of peripheral blood lymphocytes with CD-typing of lymphocytes (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD71⁺) by indirect immunoperoxidase reactions, the content of HIF-1 α and SIRT3 in the lymphocyte lysate employing enzyme immunoassay, the concentration of ATP by luminescent analysis through luciferin-luciferase reaction. Statistical analysis was conducted in "Statistica 10.0", cluster analysis was applied using the k-means method. Mean values (M) and standard deviations (SD) were calculated, the normal distribution was tested by the Kolmogorov–Smirnov and Lilliefors criterion. Student's t-test was calculated, and the differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

RESULTS: The study revealed that the metabolic activity of lymphocytes associated with HIF-1 α regulation differs significantly in the examined volunteers, while in the group with a lower total number of lymphocytes and their subpopulations (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD71⁺) there is a predominant glycolytic orientation of metabolism with proliferated cells energy supply.

CONCLUSION: Metabolic activity which can be determined by the HIF-1 α /SIRT3 ratio, and the energy supply of lymphocytes have a substantial impact on their differentiation, proliferation, and functioning.

Keywords: lymphocytes; immunometabolism; sirtuin 3; hypoxia-induced factor 1 α ; adenosine triphosphate.

To cite this article:

Zubatkina OV, Dobrodeeva LK, Samodova AV, Kruglov SD. Assessment of metabolic activity and energy supply of peripheral blood lymphocytes. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2022;29(12):855–863. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco109363>

Received: 15.07.2022

Accepted: 25.11.2022

Published online: 16.12.2022

ВВЕДЕНИЕ

Метаболическая активность с превалированием тех или иных путей наработки аденозинтрифосфата (АТФ) — аэробного гликолиза, глутаминолиза, окислительного фосфорилирования — определяет функционирование Т-клеток, обеспечивает развитие всех этапов Т-клеточного адаптивного ответа: от реагирования до формирования клеток памяти и исчерпания клеточного пула. В период дифференцировки и активной пролиферации Т-клеток для удовлетворения их возросших энергетических потребностей происходит так называемое метаболическое перепрограммирование [1], которое характеризуется повышенным поглощением нутриентов, высоким уровнем аэробного гликолиза, увеличением глутаминолиза, делением и слиянием митохондрий [2–4]. В процессе Т-клеточной экспансии наблюдается перераспределение митохондрий в иммунные синапсы и локальное увеличение концентрации АТФ [5]. Известно, что находящиеся в метаболическом покое наивные Т-клетки для поддержания своего функционального состояния при минимальном поглощении нутриентов преимущественно используют высокоэффективный по продукции АТФ путь окислительного фосфорилирования (OXPHOS, oxidative phosphorylation) в митохондриях [3]. В противоположность этому антиген-активированные клетки переходят на максимальное поглощение нутриентов с активацией аэробного гликолиза [6], который является более быстрым, но менее эффективным по сравнению с OXPHOS путём продукции АТФ. Несмотря на сокращение участия в производстве энергии, роль митохондрий в активированных Т-клетках остаётся значимой для обеспечения критически важных в период роста и пролиферации процессов синтеза липидов, белков, формирования одноуглеродных группировок, поддержания внутриклеточного гомеостаза кальция и других [7, 8]. Кроме того, митохондрии вовлечены в метаболическую перестройку и координируют дифференцировку Т-клеток посредством ключевых метаболитов и побочных продуктов обмена. Так, пролиферативная активность Т-клеток стимулируется активными формами кислорода (ROS, reactive oxygen species), образующимися в процессе тканевого дыхания [9]. Нарастание митохондриального пула характерно для Т-клеток памяти, которым для функционирования требуется высокая активность митохондрий [10, 11].

Контроль метаболической активности Т-клеток осуществляется с помощью механизмов внутриклеточного сигналинга. К ним относятся регуляция гликолиза с помощью гипоксией индуцируемого фактора 1 (HIF-1, hypoxia inducible factor 1) и контроль работы митохондрий с участием белка с деацетилазной активностью сиртуина 3 (sirtuin 3, SIRT3). Так, SIRT3 влияет на проницаемость митохондриальной мембраны, стимулирует работу цикла трикарбоновых кислот и цепи переноса электронов (ETC, electron transport chain), повышает эффективность

OXPHOS [12]. Путь HIF-1-сигналинга способствует повышению экспрессии генов белков-участников гликолиза: мембранных транспортёров глюкозы (Glut1, 4) [13], многих гликолитических ферментов [14], монокарбоксилатного переносчика 4 [15], что ведёт к повышению интенсивности гликолитического потока за счёт увеличения поступления глюкозы в клетку, скорости её окисления до пирувата, превращения пирувата в лактат и, наконец, выхода лактата из клетки. Интересно, что при негативном влиянии на митохондриальную продукцию АТФ в процессе OXPHOS HIF-1 оказывает позитивный эффект в отношении пластической роли митохондрий в период пролиферативной активности Т-клеток [16, 17]. Механизмы регулирования и варианты взаимодействия путей внутриклеточного сигналинга, роль ключевых метаболитов и молекулярных сенсоров в функционировании лимфоцитов периферической крови в настоящее время активно изучаются.

Целью исследования стало определение метаболической активности и энергообеспеченности лимфоцитов периферической крови у практически здоровых северян путем установления внутриклеточного содержания HIF-1 α , SIRT3 и АТФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Участниками исследования стали 39 волонтеров — практически здоровых жителей Архангельска и области, среди которых было 16 мужчин и 23 женщины (возраст — от 23 до 62 лет). Все волонтеры дали добровольное информированное согласие на участие в обследовании, которое проводилось в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения медицинских исследований (2013). У волонтеров утром натощак забирали венозную кровь, далее выделяли лимфоцитарную фракцию крови, в которой определяли исследуемые параметры.

CD-типирование лимфоцитов (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD71⁺) проводили методом непрямой иммунопероксидазной реакции (реактивы производства ООО «Сорбент», Россия). В лизате лимфоцитов определяли содержание HIF-1 α и SIRT3 методом твёрдофазного иммуноферментного анализа на автоматическом иммуноферментном анализаторе Evolis (BioRad, Германия) с использованием реагентов фирмы Cloud-Clone (США). Перед лизированием предварительно определяли концентрацию лимфоцитов во взвеси на автоматическом анализаторе XS 500i (System Corporation, Япония). Лизис проводили с помощью лизирующего раствора производства Cloud-Clone (США) согласно прилагаемой к набору инструкции. Концентрацию АТФ измеряли на люцинометре с использованием люциферин-люциферазной реакции (набор реагентов производства «Люмтек», Россия).

Статистическую обработку результатов исследования выполняли в программе Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). В модуле «многомерный разведочный анализ»

выделяли кластерные группы с использованием метода k -средних. В модуле «описательные статистики» вычисляли средние значения (M), стандартное отклонение (SD), для проверки данных на нормальность распределения использовали критерий нормальности Колмогорова–Смирнова и Лиллиефорса. При распределении, близком к нормальному, для сравнения результатов вычисляли t -критерий Стьюдента, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. В модуле «графика» вычерчивали 3М-графики поверхностей (в осях XYZ) и последовательные 2М-графики для нескольких показателей.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Был установлен характер флуктуаций значений определяемых показателей с помощью построенных последовательно и без перекрытия 2М-графиков, которые включали все определяемые случаи (рис. 1). Отображённый результат наложения графиков отражает односторонненность колебаний содержания клеток $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD71^+$ и концентраций внутриклеточных регуляторов ($HIF-1\alpha$, $SIRT3$). Визуализация зависимости от уровня регуляторов метаболизма изменений количества лимфоцитов с рецепторами $CD3$, $CD4$, $CD8$, $CD71$ была получена с помощью статистических 3М-графиков поверхностей,

построенных в осях XYZ, где X — концентрация $SIRT3$, Y — концентрация $HIF-1\alpha$ и Z — содержание лимфоцитов (рис. 2). Как видно из графиков, наибольшие количества лимфоцитов с каждым из определяемых дифференцировочных антигенов наблюдаются на высоте концентраций регуляторов метаболизма, при этом график, отражающий содержание клеток $CD4^+$ (рис. 2, *b*), имеет сдвиг высоты площади поверхности в сторону оси Y ($HIF-1\alpha$), что указывает на выраженную зависимость от гликолитического пути метаболизма.

Проведённый кластерный анализ с использованием метода k -средних позволил выделить две группы из числа обследуемых, которые имели статистически значимые различия по всем изучаемым иммунным показателям и $HIF-1\alpha$, в то время как в отношении $SIRT3$ таких различий выявлено не было (табл. 1). Следует отметить, что в группе 1 ($n=15$) при статистически более низких по сравнению с группой 2 ($n=24$) количественных показателях лимфоцитарного пула рассчитанное отношение $HIF-1\alpha$ к $SIRT3$ было в 1,9 раза больше, как и концентрация внутриклеточного АТФ. Последняя в среднем составила 3,71 (1,319) и 1,25 (0,387) мкмоль/ 10^6 клеток ($p < 0,0001$) в группах 1 и 2 соответственно. Зависимость между соотношением $HIF-1\alpha/SIRT3$ и АТФ отображена в виде пропорций на круговой диаграмме с выносом

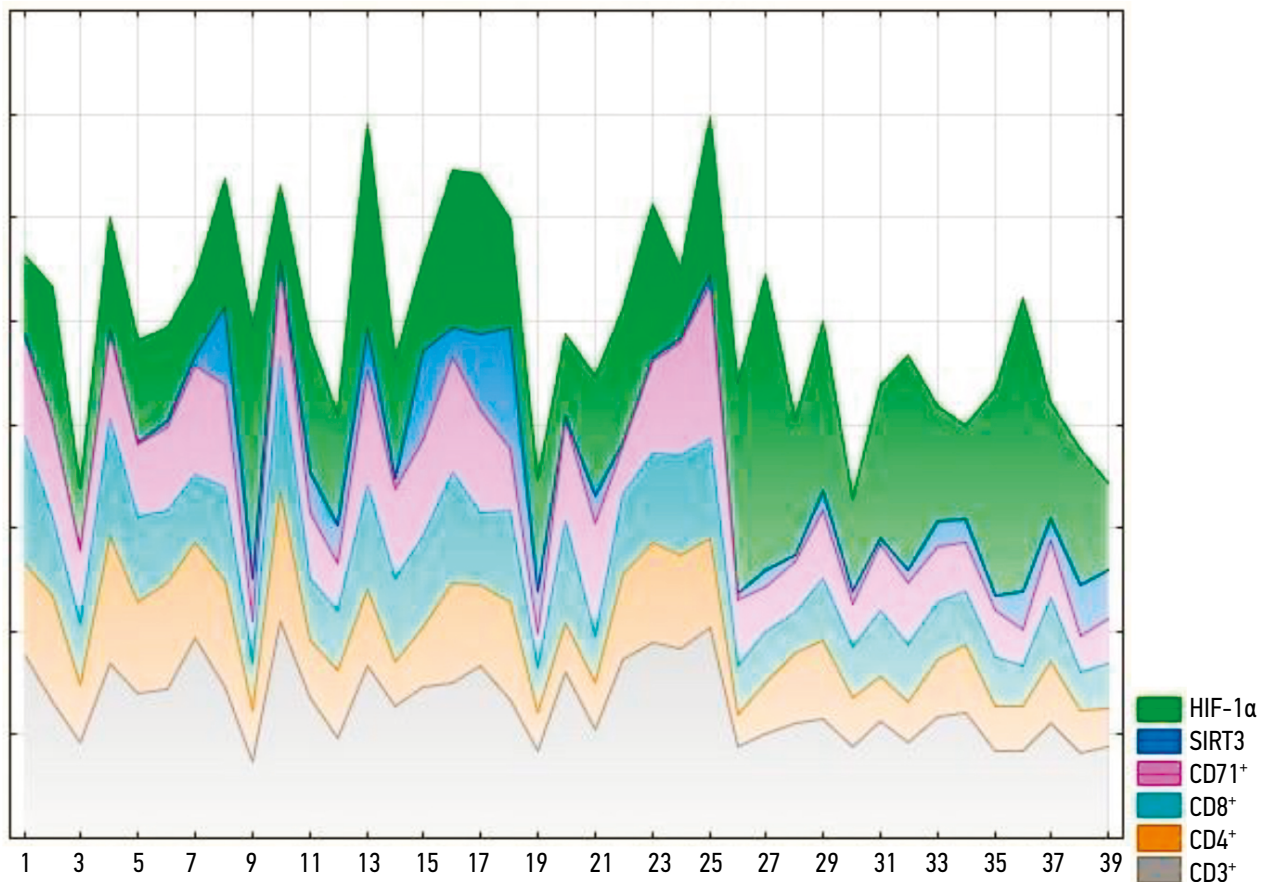


Рис. 1. Последовательные/наложенные графики переменных $HIF-1\alpha$, $SIRT3$, $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD71^+$.

Fig. 1. Sequential/overlaid plots of variables $HIF-1\alpha$, $SIRT3$, $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD71^+$.

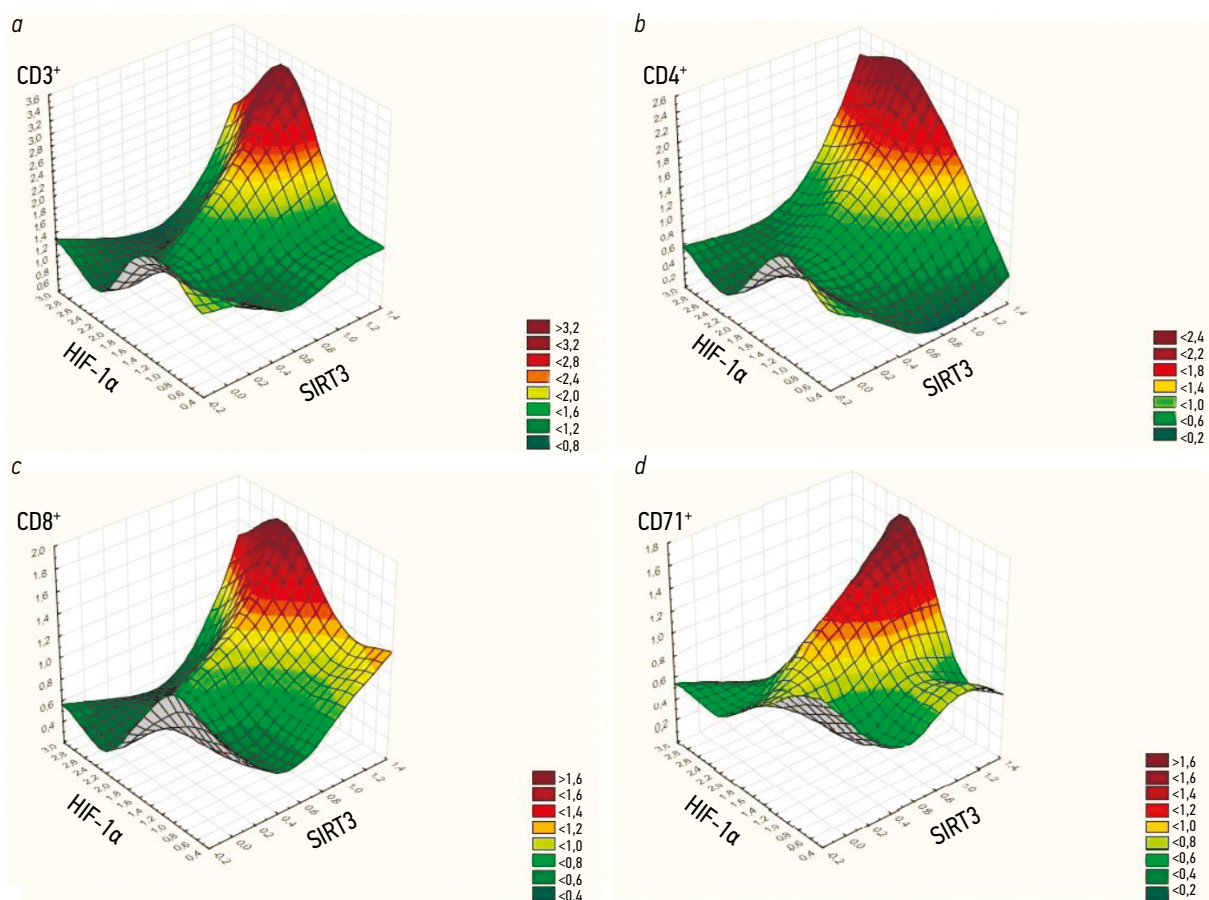


Рис. 2. XYZ-графики зависимости содержания лимфоцитов с рецепторами (CD) от уровня метаболических регуляторов, где X — SIRT3, Y — HIF-1α, Z — CD3⁺(a), CD4⁺(b), CD8⁺(c), CD71⁺(d).

Fig. 2. XYZ-graphs of the dependence of the lymphocytes with receptors (CD) content on the level of metabolic regulators, where X — SIRT3, Y — HIF-1α, Z — CD3⁺(a), CD4⁺(b), CD8⁺(c), CD71⁺(d).

Таблица 1. Значения определяемых показателей в выделенных кластерным анализом группах

Table 1. Values of determined indicators in groups identified by cluster analysis

Показатель Parameter	Группа 1 (n=15), M (SD) Group 1 (n=15), M (SD)	Группа 2 (n=24), M (SD) Group 2 (n=24), M (SD)	p
Лимфоциты, ×10 ⁹ кл./л Lymphocytes, ×10 ⁹ cells/L	1,45 (0,228)	2,26 (0,367)	<0,0001
CD3, ×10 ⁹ кл./л cells/L	0,93 (0,121)	1,54 (0,293)	<0,0001
CD4, ×10 ⁹ кл./л cells/L	0,48 (0,129)	0,81 (0,234)	<0,0001
CD8, ×10 ⁹ кл./л cells/L	0,49 (0,087)	0,85 (0,221)	<0,0001
CD71, ×10 ⁹ кл./л cells/L	0,49 (0,123)	0,87 (0,241)	<0,0001
HIF-1α, нг/10 ⁶ кл. cells/L	1,64 (0,714)	1,13 (0,221)	0,0046
SIRT3, нг/10 ⁶ кл. cells/L	0,22 (0,169)	0,28 (0,314)	0,5234

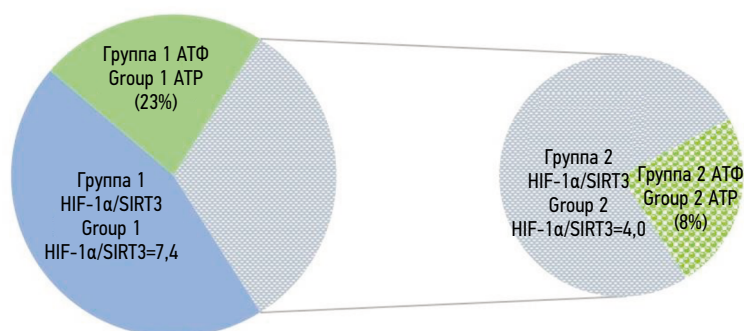


Рис. 3. Количественные изменения АТФ (%) в зависимости от соотношения HIF-1α/SIRT3.

Fig. 3. Quantitative changes in ATP (%) depending on the ratio of HIF-1α/SIRT3.

анализируемых значений на вторую диаграмму для акцентированной визуализации полученных между группами различий (рис. 3). Эта зависимость иллюстрирует, что с изменением соотношения HIF-1 α /SIRT3 согласованно меняется количество АТФ (повышается или снижается).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Транскрипционный фактор HIF-1 — центральный регулятор метаболической перестройки, лежащей в основе программы формирования Т-клеточных субпопуляций [18]. HIF-1 α является зависящей от кислорода субъединицей HIF-1, которая активно экспрессируется и остаётся стабильной при гипоксии. В условиях нормоксии происходит разрушение HIF-1 α в протеасомах, так как при достаточности кислорода аминокислотные остатки пролина в полипептидной цепи HIF-1 α гидроксилируются под действием кислород-чувствительной пролил-4-гидроксилазы (PHD, prolyl-4-hydroxylase domain) и это способствует убиквитин-опосредованной протеасомной деградации HIF-1 α [19]. Однако для иммунных клеток из-за специфики их метаболизма возможна гипоксия-независимая наработка и стабилизация HIF-1 α , или так называемая псевдогипоксия [16]. В разной степени экспрессии HIF-1 α способствуют стимуляция Т-клеточного рецептора (T-cell receptor, TCR), активация киназного каскада PI-3K/Akt/mTOR, STAT3-сигналинга, транскрипционных факторов NF- κ B, AP-4, c-Мус [20–22]. Так, mTOR, например, регулирует трансляцию HIF-1 α mRNA [23]. Стабилизация HIF-1 α в активированных Т-клетках может осуществляться через метаболическую регуляцию PHD с помощью сукцината [24] и ROS [25]. В частности, в ответ на TCR-стимуляцию повышается активность анаплеротического пути образования сукцината, который служит ингибитором PHD. Сукцинат также может продуцироваться в катализируемой PHD реакции с использованием α -кетоглутарата и по принципу отрицательной обратной связи ингибировать PHD [19]. ROS могут приводить к инактивации PHD, окисляя атом железа в его активном центре [26]. Кроме того, ROS весьма значимы для перепрограммирования активированных Т-клеток. Снижение ROS или нарушение передачи ROS-сигналинга ослабляет активацию и клональную экспансию Т-клеток [27], в то время как продукция ROS стимулирует Т-клеточную пролиферацию [9]. Установлено, что согласованно с увеличением уровня ROS повышается экспрессия HIF-1 α , который крайне важен для метаболически активных эффекторных Т-клеток, интенсивно использующих аэробный гликолиз [18, 28].

Ферментативное ацетилирование/деацетилирование белков является одним из общих путей посттрансляционной модификации и влияния на клеточный метаболизм. Деацетилазы семейства сиртуинов (SIRT) участвуют в регуляции метаболизма, способствуют функционированию и выживаемости клеток [29]. SIRT3 положительно

регулирует митохондриальный биогенез через активацию факторов пролиферации PPAR- α и PGC-1 α ; стимулирует цикл трикарбоновых кислот, повышая ферментативную активность ацетил-КоА синтетазы 2 и изоцитратдегидрогеназы; увеличивает OXPHOS, активируя работу комплексов I, II, III ETC; способствует глутаминолизу, позитивно влияя на глутаматдегидрогеназу [12, 29]. В то же время SIRT3 действует как супрессор фактора транскрипции HIF-1 α , подавляя ROS-опосредованную стабилизацию HIF-1 α [12].

Полученные нами данные показывают, что в выделенных с помощью кластерного анализа группах концентрация SIRT3 в лимфоцитах периферической крови не имела статистически значимых различий, в то время как содержание HIF-1 α статистически значимо различалось. Это отражает различие в метаболической активности лимфоцитов, а именно в выраженности гликолиза. Интересен тот факт, что более высокий уровень HIF-1 α наблюдался в группе с более низкими значениями показателей лимфоцитарного пула, в частности клеток с поверхностными антигенами CD3, CD4, CD8, CD71 (CD3 — общий Т-клеточный маркер активации, связанный с антигенраспознающим рецептором, CD4 — маркер клеток хелперов, CD8 — маркер цитотоксических клеток, CD71 — маркер активированных клеток, рецептор трансферрина, обеспечивающий поступление в клетку ионов железа, без которого невозможна пролиферация Т-клеток). Повышение уровня HIF-1 α можно рассматривать как вариант ответа на снижение количества Т-клеток, для которых HIF-1 выступает основным модератором метаболического сдвига при их активации. О выраженности гликолитической активности можно судить по увеличению соотношения HIF-1 α /SIRT3, что ведёт к росту количества АТФ, обеспечивая Т-клеткам необходимый энергетический уровень.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённого исследования установлено, что в группе практически здоровых людей могут наблюдаться внутригрупповые статистически значимые различия в концентрации взаимосвязанных показателей лимфоцитарного пула и метаболической активности лимфоцитов. В частности, группа обследованных, имеющих более низкое общее количество лимфоцитов и содержание лимфоцитов с рецепторами CD3, CD4, CD8, CD71, характеризовалась статистически значимым более высоким уровнем регулятора гликолиза HIF-1 α относительно группы сравнения и не имела статистически значимых различий по содержанию SIRT3, контролирующего работу митохондрий. Фактор транскрипции HIF-1 играет весьма значимую роль для отдельных субпопуляций Т-клеток, в особенности эффекторных, способствуя метаболизму с преобладанием гликолиза. Важным в оценке направленности метаболизма является изменение соотношения HIF-1 α /SIRT3, по возрастанию которого можно судить о повышении гликолитической активности. Доминирование гликолиза в метаболизме

лимфоцитов отражается на их энергообеспеченности, оказывая существенное влияние на функционирование и развитие субклеточных линий.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

Вклад авторов: О.В. Зубаткина — концепция, анализ и интерпретация данных, подготовка окончательного варианта статьи; Л.К. Добродеева — концепция и дизайн исследования, окончательное утверждение присланной в редакцию рукописи; А.В. Самодова — получение, анализ и интерпретация данных, подготовка первого варианта статьи; С.Д. Круглов — получение и анализ данных, статистическая обработка результатов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Authors' contribution: O.V. Zubatkina — conception, analysis and interpretation of data, consolidation and final drafting of article;

L.K. Dobrodeeva — the concept and design of the study, the final approval of the manuscript sanded to the editors; A.V. Samodova — obtaining, analyzing and interpretation of data preparation of the first version of the article; S.D. Kruglov — obtaining and analyzing of data, statistical processing of results. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept, research and preparation of the article, read and approved the final version before publication).

Финансирование. Исследование выполнено в рамках темы НИР лаборатории экологической иммунологии института физиологии природных адаптаций ФИЦКИА имени академика Н.П. Лавёрова Уро РАН, № гос. регистрации 122011300377-5.

Funding sources. The study was carried out under the theme of the scientific research of ecological immunology laboratory of Institute of Physiology of Natural Adaptations of N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. State registration number 122011300377-5.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов.

Competing interests. The authors declare no competing interests.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Almeida L., Lochner M., Berod L., Sparwasser T. Metabolic pathways in T cell activation and lineage differentiation // *Semin Immunol.* 2016. Vol. 28, N 5. P. 514–524. doi: 10.1016/j.smim.2016.10.009
- Baixauli F., Martín-Cófreces N.B., Morlino G., et al. The mitochondrial fission factor dynamin-related protein 1 modulates T-cell receptor signalling at the immune synapse // *EMBO J.* 2011. Vol. 30, N 7. P. 1238–1250. doi: 10.1038/emboj.2011.25
- Chandel N.S., McClintock D.S., Feliciano C.E., et al. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia inducible factor-1 α during hypoxia: a mechanism of O₂ sensing // *J Biol Chem.* 2000. Vol. 275, N 33. P. 25130–25138. doi: 10.1074/jbc.M001914200
- Chapman N.M., Chi H. Hallmarks of T-cell exit from quiescence // *Cancer Immunol Res.* 2018. Vol. 6, N 5. P. 502–508. doi: 10.1158/2326-6066.CCR-17-0605
- Chua Y.L., Dufour E., Dassa E.P., et al. Stabilization of hypoxia-inducible factor-1 α protein in hypoxia occurs independently of mitochondrial reactive oxygen species production // *J Biol Chem.* 2010. Vol. 285, N 41. P. 31277–31284. doi: 10.1074/jbc.M110.158485
- Desdín-Micó G., Soto-Herederó G., Mittelbrunn M. Mitochondrial activity in T cell // *Mitochondrion.* 2018. Vol. 41. P. 51–57. doi: 10.1016/j.mito.2017.10.006
- Diebold L., Chandel N.S. Mitochondrial ROS regulation of proliferating cells // *Free Radic Biol Med.* 2016. Vol. 100. P. 86–93. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.04.198
- Dimeloe S., Burgener A.V., Grehler J., Hess C. T-cell metabolism governing activation, proliferation and differentiation; a modular view // *Immunology.* 2017. Vol. 150, N 1. P. 35–44. doi: 10.1111/imm.12655
- Giralt A., Villarroya F. SIRT3, a pivotal actor in mitochondrial functions: metabolism, cell death and aging // *Biochem J.* 2012. Vol. 444, N 1. P. 1–10. doi: 10.1042/BJ20120030
- Gnanaprakasam J.N.R., Sherman J.W., Wang R. MYC and HIF in shaping immune response and immune metabolism // *Cytokine Growth Factor Rev.* 2017. Vol. 35. P. 63–67. doi: 10.1016/j.cytogfr.2017.03.004
- Houtkooper R.H., Pirinen E., Auwerx J. Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan // *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2016. Vol. 13, N 4. P. 225–238. doi: 10.1038/nrm3293
- Jaakkola P., Mole D.R., Tian Y.M., et al. Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation // *Science.* 2001. Vol. 292, N 5516. P. 468–472. doi: 10.1126/science.1059796
- Kim J.W., Tchernyshyov I., Semenza G.L., Dang C.V. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia // *Cell Metab.* 2006. Vol. 3, N 3. P. 177–185. doi: 10.1016/j.cmet.2006.02.002
- Liesa M., Shirihai O.S. Mitochondrial networking in T cell memory // *Cell.* 2016. Vol. 166, N 1. P. 9–10. doi: 10.1016/j.cell.2016.06.035
- Maciulek J.A., Pasternak J.A., Wilson H.L. Metabolism of activated T lymphocytes // *Curr Opin Immunol.* 2014. Vol. 27. P. 60–74. doi: 10.1016/j.coi.2014.01.006
- Mills E., O'Neill L.A. Succinate: a metabolic signal in inflammation // *Trends Cell Biol.* 2014. Vol. 24, N 5. P. 313–320. doi: 10.1016/j.tcb.2013.11.008
- Palmer C.S., Hussain T., Duette G. Regulators of glucose metabolism in CD4⁺ and CD8⁺ T cells // *Int Rev Immunol.* 2016. Vol. 35, N 6. P. 477–488. doi: 10.3109/08830185.2015.1082178
- Palmer C.S., Ostrowski M., Balderson B., et al. Glucose metabolism regulates T cell activation, differentiation, and functions // *Front Immunol.* 2015. Vol. 6. P. 1. doi: 10.3389/fimmu.2015.00001
- Pugha C.W., Ratcliffe P.J. New horizons in hypoxia signaling pathways // *Exp Cell Research.* 2017. Vol. 356, N 2. P. 116–121. doi: 10.1016/j.yexcr.2017.03.008

20. Ron-Harel N., Santos D., Ghergurovich J.M., et al. Mitochondrial biogenesis and proteome remodeling promote one-carbon metabolism for T cell activation // *Cell Metab.* 2016. Vol. 24, N 1. P. 104–117. doi: 10.1016/j.cmet.2016.06.007
21. Salmond R.J. mTOR regulation of glycolytic metabolism in T cells // *Front Cell Dev Biol.* 2018. Vol. 6. P. 122. doi: 10.3389/fcell.2018.00122
22. Saravia J., Raynor J.L., Chapman N.M., et al. Signaling networks in immunometabolism // *Cell Res.* 2020. Vol. 30, N 4. P. 328–342. doi: 10.1038/s41422-020-0301-1
23. Sena L.A., Li S., Jairaman A., et al. Mitochondria are required for antigen-specific T cell activation through reactive oxygen species signaling // *Immunity.* 2013. Vol. 38, N 2. P. 225–236. doi: 10.1016/j.immuni.2012.10.020
24. Shi L.Z., Wang R., Huang G., et al. HIF-1 α dependent glycolytic pathway orchestrates a metabolic checkpoint for the differentiation of TH17 and Treg cells // *J Exp Med.* 2011. Vol. 208, N 7. P. 1367–1376. doi: 10.1084/jem.20110278
25. Tan H., Yang K., Li Y., et al. Integrative proteomics and phosphoproteomics profiling reveals dynamic signaling networks and bioenergetics pathways underlying T cell activation // *Immunity.* 2017. Vol. 46, N 3. P. 488–503. doi: 10.1016/j.immuni.2017.02.010
26. Tao J.H., Barbi J., Pan F. Hypoxia-inducible factors in T lymphocyte differentiation and function // *Am J Physiol Cell Physiol.* 2015. Vol. 309, N 9. P. C580–C589. doi: 10.1152/ajpcell.00204.2015
27. Thomas L.W., Ashcroft M. Exploring the molecular interface between hypoxia-inducible factor signalling and mitochondria // *Cell Mol Life Sci.* 2019. Vol. 76, N 9. P. 1759–1777. doi: 10.1007/s00018-019-03039-y
28. Ullah M.S., Davies A.J., Halestrap A.P. The plasma membrane lactate transporter MCT4, but not MCT1, is up-regulated by hypoxia through a HIF-1 α -dependent mechanism // *J Biol Chem.* 2006. Vol. 281, N 14. P. 9030–9037. doi: 10.1074/jbc.M511397200
29. van der Windt G.J., Everts B., Chang C.H., et al. Mitochondrial respiratory capacity is a critical regulator of CD8 $^+$ T cell memory development // *Immunity.* 2012. Vol. 36, N 1. P. 68–78. doi: 10.1016/j.immuni.2011.12.007

REFERENCES

1. Chapman NM, Chi H. Hallmarks of T-cell exit from quiescence. *Cancer Immunol Res.* 2018;6(5):502–508. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-17-0605
2. Almeida L, Lochner M, Berod L, Sparwasser T. Metabolic pathways in T cell activation and lineage differentiation. *Semin Immunol.* 2016;28(5):514–524. doi: 10.1016/j.smim.2016.10.009
3. Dimeloe S, Burgener AV, Grehler J, Hess C. T-cell metabolism governing activation, proliferation and differentiation; a modular view. *Immunology.* 2017;150(1):35–44. doi: 10.1111/imm.12655
4. Maciolek JA, Pasternak JA, Wilson HL. Metabolism of activated T lymphocytes. *Curr Opin Immunol.* 2014;27:60–74. doi: 10.1016/j.coi.2014.01.006
5. Baixauli F, Martín-Cófreces NB, Morlino G, et al. The mitochondrial fission factor dynamin-related protein 1 modulates T-cell receptor signalling at the immune synapse. *EMBO J.* 2011;30(7):1238–1250. doi: 10.1038/emboj.2011.25
6. Palmer CS, Ostrowski M, Balderson B, et al. Glucose metabolism regulates T cell activation, differentiation, and functions. *Front Immunol.* 2015;6:1. doi: 10.3389/fimmu.2015.00001
7. Desdín-Micó G, Soto-Herederó G, Mittelbrunn M. Mitochondrial activity in T cell. *Mitochondrion.* 2018;41:51–57. doi: 10.1016/j.mito.2017.10.006
8. Ron-Harel N, Santos D, Ghergurovich JM, 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
9. Diebold L, Chandel NS. Mitochondrial ROS regulation of proliferating cells. *Free Radic Biol Med.* 2016;100:86–93. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.04.198
10. Liesa M, Shirihai OS. Mitochondrial networking in T cell memory. *Cell.* 2016;166(1):9–10. doi: 10.1016/j.cell.2016.06.035
11. van der Windt GJ, Everts B, Chang CH, et al. Mitochondrial respiratory capacity is a critical regulator of CD8 $^+$ T cell memory development. *Immunity.* 2012;36(1):68–78. doi: 10.1016/j.immuni.2011.12.007
12. Giralt A, Villarroya F. SIRT3, a pivotal actor in mitochondrial functions: metabolism, cell death and aging. *Biochem J.* 2012;444(1):1–10. doi: 10.1042/BJ20120030
13. Shi LZ, Wang R, Huang G, et al. HIF-1 α dependent glycolytic pathway orchestrates a metabolic checkpoint for the differentiation of TH17 and Treg cells. *J Exp Med.* 2011;208(7):1367–1376. doi: 10.1084/jem.20110278
14. Kim JW, Tchernyshyov I, Semenza GL, Dang CV. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab.* 2006;3(3):177–185. doi: 10.1016/j.cmet.2006.02.002
15. Ullah MS, Davies AJ, Halestrap AP. The plasma membrane lactate transporter MCT4, but not MCT1, is up-regulated by hypoxia through a HIF-1 α -dependent mechanism. *J Biol Chem.* 2006;281(14):9030–9037. doi: 10.1074/jbc.M511397200
16. Pugh CW, Ratcliffe PJ. New horizons in hypoxia signaling pathways. *Exp Cell Res.* 2017;356(2):116–121. doi: 10.1016/j.yexcr.2017.03.008
17. Thomas LW, Ashcroft M. Exploring the molecular interface between hypoxia-inducible factor signalling and mitochondria. *Cell Mol Life Sci.* 2019;76(9):1759–1777. doi: 10.1007/s00018-019-03039-y
18. Tao JH, Barbi J, Pan F. Hypoxia-inducible factors in T lymphocyte differentiation and function. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2015;309(9):C580–C589. doi: 10.1152/ajpcell.00204.2015
19. Jaakkola P, Mole DR, Tian YM, et al. Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O $_2$ -regulated prolyl hydroxylation. *Science.* 2001;292(5516):468–472. doi: 10.1126/science.1059796
20. Gnanaprakasam JNR, Sherman JW, Wang R. MYC and HIF in shaping immune response and immune metabolism. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2017;35:63–67. doi: 10.1016/j.cytogfr.2017.03.004
21. Saravia J, Raynor JL, Chapman NM, et al. Signaling networks in immunometabolism. *Cell Res.* 2020;30(4):328–342. doi: 10.1038/s41422-020-0301-1

22. Tan H, Yang K, Li Y, et al. Integrative proteomics and phosphoproteomics profiling reveals dynamic signaling networks and bioenergetics pathways underlying T cell activation. *Immunity*. 2017;46(3):488–503. doi: 10.1016/j.immuni.2017.02.010
23. Salmond RJ. mTOR regulation of glycolytic metabolism in T cells. *Front Cell Dev Biol*. 2018;6:122. doi: 10.3389/fcell.2018.00122
24. Mills E, O'Neill LA. Succinate: a metabolic signal in inflammation. *Trends Cell Biol*. 2014;24(5):313–320. doi: 10.1016/j.tcb.2013.11.008
25. Chua YL, Dufour E, Dassa EP, et al. Stabilization of hypoxia-inducible factor-1alpha protein in hypoxia occurs independently of mitochondrial reactive oxygen species production. *J Biol Chem*. 2010;285(41):31277–31284. doi: 10.1074/jbc.M110.158485
26. Chandel NS, McClintock DS, Feliciano CE, et al. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia inducible factor-1alpha during hypoxia: a mechanism of O2 sensing. *J Biol Chem*. 2000;275(33):25130–25138. doi: 10.1074/jbc.M001914200
27. Sena LA, Li S, Jairaman A, et al. Mitochondria are required for antigen-specific T cell activation through reactive oxygen species signaling. *Immunity*. 2013;38(2):225–236. doi: 10.1016/j.immuni.2012.10.020
28. Palmer CS, Hussain T, Duette G. Regulators of glucose metabolism in CD4+ and CD8+ T Cells. *Int Rev Immunol*. 2016;35(6):477–488. doi: 10.3109/08830185.2015.1082178
29. Houtkooper RH, Pirinen E, Auwerx J. Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2016;13(4):225–238. doi: 10.1038/nrm3293

ОБ АВТОРАХ

***Зубаткина Ольга Владимировна**, д.б.н., профессор;
адрес: Россия, 163000, Архангельск, набережная
Северной Двины, 23;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5039-2220>;
eLibrary SPIN: 1581-5178;
e-mail: ozbiochem@gmail.com

Добродеева Лилия Константиновна;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5080-6502>;
eLibrary SPIN: 4518-6925;
e-mail: dobrodeevalk@mail.ru

Самодова Анна Васильевна;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9835-8083>;
eLibrary SPIN: 6469-0408;
e-mail: annapoletaeva2008@yandex.ru

Круглов Сергей Дмитриевич;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4085-409X>;
eLibrary SPIN: 2532-9912;
e-mail: stees67@yandex.ru

AUTHORS INFO

***Ol'ga V. Zubatkina**, MD, Dr. Sci. (Biol.), professor;
address: 23 Severnoj Dviny embankment, 163000,
Arhangel'sk, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5039-2220>;
eLibrary SPIN: 1581-5178;
e-mail: ozbiochem@gmail.com

Lilija K. Dobrodeeva;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5080-6502>;
eLibrary SPIN: 4518-6925;
e-mail: dobrodeevalk@mail.ru

Anna V. Samodova;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9835-8083>;
eLibrary SPIN: 6469-0408;
e-mail: annapoletaeva2008@yandex.ru

Sergej D. Kruglov;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4085-409X>;
eLibrary SPIN: 2532-9912;
e-mail: stees67@yandex.ru

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author