

ОСОБЕННОСТИ СОСТОЯНИЯ МИТОХОНДРИЙ CD4⁺T-ЛИМФОЦИТОВ РАЗЛИЧНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ

Королевская Л.Б., Шмагель К.В.

Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал
ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук»,
г. Пермь, Россия

Резюме. Пул циркулирующих в периферической крови CD4⁺T-лимфоцитов неоднороден и включает в себя наивные элементы, клетки центральной и эффекторной памяти, терминально-дифференцированные эффекторы. Каждая из субпопуляций выполняет различные функции и обладает уникальными метаболическими свойствами. Митохондрии являются жизненно важными органеллами CD4⁺T-лимфоцитов, которые связаны с метаболизмом, производством энергии, продукцией активных форм кислорода, клеточным дыханием, пролиферацией, дифференцировкой и апоптозом. Использование митохондриально-селективных флуоресцентных красителей совместно с мечеными моноклональными антителами является относительно доступным и простым способом оценки ряда параметров митохондрий в CD4⁺T-клетках различной степени зрелости методом проточной цитометрии. Целью данной работы было исследование показателей состояния митохондрий в различных субпопуляциях CD4⁺T-лимфоцитов. Объектом исследования служили мононуклеарные клетки, полученные из периферической крови девяти относительно здоровых добровольцев. Методом проточной цитометрии с использованием коммерческих флуоресцентных красителей MitoTracker Green FM и MitoTracker Deep Red FM были определены, соответственно, масса и заряд мембраны митохондрий в общем пуле CD4⁺T-лимфоцитов и в субпопуляциях клеток: наивных (CD45R0⁺CCR7⁺), центральной памяти (CD45R0⁺CCR7⁺), эффекторной памяти (CD45R0⁺CCR7⁻) и терминально-дифференцированных эффекторах (CD45R0⁻CCR7⁻). Показано, что у здоровых лиц CD4⁺T-лимфоциты центральной и эффекторной памяти по сравнению с наивными клетками обладают более высокой массой и величиной мембранного потенциала митохондрий. Масса органелл в функционально различных субпопуляциях CD4⁺T-клеток памяти существенно отличается: снижена в лимфоцитах центральной памяти относительно таковой в клетках эффекторной памяти. При этом обе субпопуляции клеток памяти не различаются между собой величиной заряда мембраны митохондрий. Терминально-дифференцированные эффекторы отличаются от остальных субпопуляций CD4⁺T-лимфоцитов уникальными характеристиками митохондрий: при высокой массе обладают сниженным зарядом мембраны. Данная особенность может быть связана с «готовностью» клеток, находящихся на терминальной стадии дифференцировки, к программируемой гибели.

Ключевые слова: масса митохондрий, мембранный потенциал митохондрий, CD4⁺T-лимфоциты, наивные клетки, клетки памяти, терминально-дифференцированные элементы, проточная цитометрия

Адрес для переписки:

Королевская Лариса Борисовна
Институт экологии и генетики микроорганизмов
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13.
Тел.: 8 (342) 280-83-34.
Факс: 8 (342) 280-92-11.
E-mail: bioqueen@mail.ru

Address for correspondence:

Larisa B. Korolevskaya
Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms
13 Golev St
Perm
614081 Russian Federation
Phone: +7 (342) 280-83-34.
Fax: +7 (342) 280-92-11.
E-mail: bioqueen@mail.ru

Образец цитирования:

Л.Б. Королевская, К.В. Шмагель «Особенности состояния митохондрий CD4⁺T-лимфоцитов различных субпопуляций» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 2. С. 207-212.
doi: 10.46235/1028-7221-16589-FOM

© Королевская Л.Б., Шмагель К.В., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

L.B. Korolevskaya, K.V. Shmagel "Features of mitochondrial state in CD4⁺T lymphocyte subsets", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 2, pp. 207-212.
doi: 10.46235/1028-7221-16589-FOM

© Korolevskaya L.B., Shmagel K.V., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16589-FOM

FEATURES OF MITOCHONDRIAL STATE IN CD4⁺T LYMPHOCYTE SUBSETS

Korolevskaya L.B., Shmagel K.V.

Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Abstract. Peripheral blood CD4⁺T lymphocytes are heterogenous, including naive, central memory, effector memory, and terminally differentiated effector cells. Each subset performs different functions and possesses unique metabolic properties. Mitochondria are vital organelles of CD4⁺T lymphocytes, playing critical roles in metabolism, energy and active oxygen species production, cellular respiration, proliferation, differentiation, and apoptosis. The use of mitochondrial-selective fluorescent dyes in combination with labeled monoclonal antibodies is a relatively accessible and simple way to study a range of mitochondrial parameters in CD4⁺T cells of varying maturity by flow cytometry. The aim of this study was to investigate mitochondrial indices in different CD4⁺T lymphocyte subsets. We obtained mononuclear cells from peripheral blood of nine relatively healthy volunteers. By flow cytometry using commercial fluorescent dyes MitoTracker Green FM and MitoTracker Deep Red FM, we determined the mass and membrane potential of mitochondria in the total pool of CD4⁺T lymphocytes and in their subsets: naive (CD45R0⁻CCR7⁺), central memory (CD45R0⁺CCR7⁺), effector memory (CD45R0⁺CCR7⁻), and terminally differentiated effectors (CD45R0⁻CCR7⁻). We show that in healthy individuals, central and effector memory CD4⁺T lymphocytes compared to naive cells have increased mitochondrial mass and membrane potential. The mass of organelles in functionally different memory CD4⁺T cell subsets vary significantly: it is lower in central memory lymphocytes than in effector memory cells. Nevertheless, two subsets have similar mitochondrial membrane potential. Terminally differentiated effectors differ from other CD4⁺T lymphocyte subsets in unique characteristics of mitochondria: despite high mass, they have a reduced membrane potential. This feature may be linked to cells being prepared for programmed cell death during the terminal differentiation stage.

Keywords: mitochondrial mass, mitochondrial membrane potential, CD4⁺T lymphocytes, naïve cells, memory cells, terminally differentiated effector cells, flow cytometry

Работа выполнена в рамках государственного задания «Изучение механизмов регуляции клеток иммунной системы и разработка методов их оценки в норме и патологии» (номер гос. регистрации 124020500027-7).

Введение

CD4⁺T-лимфоциты являются ключевыми координаторами адаптивного иммунного ответа. Пул циркулирующих в периферической крови CD4⁺T-клеток неоднороден и на основе экспрессии одной из изоформ общего лейкоцитарного антигена CD45 (CD45RA или CD45R0) и наличия хемокинового рецептора CCR7 может быть разделен на четыре субпопуляции [11]. Наивные лимфоциты экспрессируют высокие уровни CD45RA и CCR7 (CD45RA⁺CD45R0⁻CCR7⁺). Приобретение клетками фенотипа памяти приводит к потере экспрессии CD45RA в лимфоцитах центральной памяти (CD45RA⁻CD45R0⁺CCR7⁺) и дальнейшей утрате экспрессии молекул CCR7 в клетках эффекторной памяти (CD45RA⁻CD45R0⁺CCR7⁻). Часть CCR7-негативных лимфоцитов восстанавливает экспрессию молекул CD45RA и относится к пулу терминально-дифференцированных клеток (CD45RA⁺CD45R0⁻CCR7⁻). Каждая из субпопуляций CD4⁺T-лимфоцитов выполняет различные функции и обладает уникальными метаболическими свойствами [10].

Митохондрии являются жизненно важными органеллами CD4⁺T-лимфоцитов, которые связаны с метаболизмом, продукцией энергии, клеточным дыханием, пролиферацией, дифференцировкой и апоптозом [2]. Адаптация митохондрий к потребностям клетки реализуется через модификацию формы и размера органелл [2, 4], что сопровождается изменением их массы и числа в клетке. Еще одним важным показателем функционального состояния митохондрий является заряд их мембраны. Митохондриальный мембранный потенциал возникает в результате окислительно-восстановительных реакций, связанных с активностью цикла Кребса, и служит промежуточной формой хранения энергии, которая в дальнейшем используется для синтеза аденозинтрифосфата (АТФ) [2]. Ранее мы показали, что у здоровых субъектов масса и заряд митохондрий CD4⁺T-лимфоцитов, позитивных и негативных по экспрессии молекул CD45RA, существенно различается [1].

Целью настоящей работы была оценка состояния митохондрий в различных субпопуляциях CD4⁺T-лимфоцитов.

Материалы и методы

Объектом исследования были мононуклеарные клетки, полученные из периферической крови относительно здоровых добровольцев (n = 9). Каждый обследованный подписал согласие на участие

в исследовании, проведение которого было одобрено этическим комитетом (рег. № IRB00008964). Забор крови проводили в вакуумные пробирки, содержащие этилендиаминтетрауксусную кислоту (Weihai Hongyu Medical Devices Co Ltd, Китай). Мононуклеарные клетки выделяли путем центрифугирования двукратно разведенной крови (раствор фосфатно-солевого буфера Дульбекко (DPBS), Gibco, США) в градиенте плотности Диаколла (1,077, ООО «Диаэм», Россия). Выделенные клетки после двукратного отмывания в растворе DPBS помещали в термоинактивированную эмбриональную телячью сыворотку (Biowest, Колумбия), содержащую 10% диметилсульфоксида (AppliChem, Германия), и подвергали контролируемому замораживанию в жидком азоте. Перед проведением исследования клетки размораживали.

Идентификацию жизнеспособных субпопуляций T-лимфоцитов проводили на проточном цитофлуориметре CytoFLEX S (Beckman Coulter, США) с использованием моноклональных анти-CD3-BV605, анти-CD4-PE, анти-CCR7-PE/Cy7 (BioLegend, США), анти-CD45R0-APC-eFluor™780 антител (Thermo Fisher Scientific, США) и витального красителя Zombie UV Fixable Viability Kit (BioLegend, США). Среди CD4⁺T-лимфоцитов выявляли наивные клетки (CD45R0⁻CCR7⁺), клетки центральной (CD45R0⁺CCR7⁺) и эффекторной (CD45R0⁺CCR7⁻) памяти, а также терминально-дифференцированные эффекторы (CD45R0⁻CCR7⁻). Митохондриально-селективные флуоресцентные красители MitoTracker Green FM и MitoTracker™ Deep Red FM (Invitrogen, США) были применены, соответственно, для оценки массы и мембранного потенциала митохондрий в CD4⁺T-лимфоцитах. Реагенты готовили согласно прилагаемым инструкциям, конечные концентрации MitoTracker Green FM (MTG) и MitoTracker Deep Red FM (MTDR) составили 100 нМ и 75 нМ соответственно. Блокирование АТФ-связывающих кассетных транспортеров (ATP-binding cassette (ABC) transporters) для предотвращения экспорта митохондриальных красителей [7] осуществляли добавлением верапамила (Sigma, США) в конечной концентрации 40 мкМ.

Статистический анализ выполняли с помощью непараметрических методов. В выборке рассчитывали медиану и интерквартильный размах (25-75 перцентиль). Достоверность различий определяли с помощью критерия Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

Средний возраст обследованных здоровых субъектов составил 40 лет (32,5-43,5 года), на долю мужчин приходилось 56%. Различий по всем исследованным параметрам между женщинами и мужчинами не выявлено. Относительное количество CD4⁺T-лимфоцитов крови составило 36,7% (34,4-46,8%), что соответствует норме. Субпопуляционный состав CD4⁺T-клеток был представлен следующим образом. Наиболее многочисленными были наивные лимфоциты, на

долю которых приходилось 57,0% (31,7-60,5%) общего пула. Клетки центральной памяти составили почти треть всего пула CD4⁺T-лимфоцитов: 30,9% (25,2-43,9%). Относительное число клеток эффекторной памяти и терминально-дифференцированных эффекторов составило 14,6% (11,1-21,8%) и 0,7% (0,4-1,6%) соответственно. Установленные в настоящей работе показатели распределения CD4⁺T-лимфоцитов периферической крови здоровых лиц по субпопуляциям соответствуют ранее представленным данным [13].

Для оценки массы митохондрий в CD4⁺T-лимфоцитах был применен флуоресцентный краситель MTG. Данный реагент спонтанно проникает в клетку и предпочтительно аккумулируется в митохондриях, взаимодействуя с остатками цистеина в составе белков матрикса [5]. При этом интенсивность его свечения прямо пропорциональна массе органелл и не зависит от их поляризованного статуса [5]. Цитофлуориметрический анализ выявил отличия в способности накопления красителя MTG разными субпопуляциями CD4⁺T-клеток (рис. 1).

Наивные лимфоциты по сравнению с субпопуляциями клеток памяти и терминально-дифференцированных эффекторов обладали сниженной массой митохондрий ($p < 0,001$). Ранее рядом авторов было установлено, что CD4⁺T-клетки эффекторной памяти содержат митохондрии элонгированной/разветвленной формы [8] и, в отличие от наивных лимфоцитов, демонстрируют более высокую интенсивность свечения при окраске MTG [7]. Повышенная масса митохондрий T-клеток памяти обеспечивает их биоэнергетическое преимущество при повторном контакте с антигеном, что позволяет рассматривать клетки памяти как метаболически более адаптированную субпопуляцию лимфоцитов [10].

Проведенный нами анализ интенсивности флуоресценции MTG в пуле CD45R0⁺ элементов показал, что по сравнению с клетками центральной памяти лимфоциты эффекторной памяти обладали более высокой массой митохондрий ($p < 0,001$). Две субпопуляции клеток памяти отличаются экспрессией хемокинового рецептора CCR7, определяющего пути миграции лимфоцитов. Циркулирующие в крови CCR7⁺ лимфоциты центральной памяти способны входить в лимфатические узлы, тогда как CCR7-негативные клетки эффекторной памяти экспрессируют рецепторы для миграции в периферические ткани, где по сравнению с кровотоком содержание кислорода значительно ниже [3]. По-видимому, метаболическая адаптация клеток эффекторной памяти к различным условиям микроокружения (циркуляция между богатой кислородом кровью и тканями с его дефицитом) обеспечивается, в том числе, и за счет повышенной массы митохондрий. Так, было показано, что в экспериментально созданных условиях гипоксии выживаемость наивных

CD4⁺T-лимфоцитов была снижена по сравнению с клетками эффекторной памяти, при этом последние продуцировали больше АТФ и обладали лучшей миграционной способностью [8].

Ряд авторов указывает на более высокую массу митохондрий в терминальных эффекторах по сравнению с менее дифференцированными субпопуляциями Т-лимфоцитов [4]. Проведенная нами оценка интенсивности флуоресценции красителя MTG показала, что масса митохондрий в терминально-дифференцированных CD4⁺T-лимфоцитах не отличалась от таковой в клетках эффекторной памяти, но была выше, чем в лимфоцитах центральной памяти ($p < 0,01$) и наивных элементах ($p < 0,001$).

В целом, полученные данные указывают на то, что наивные CD4⁺T-лимфоциты здоровых добровольцев обладают сниженной массой митохондрий, чем более дифференцированные субпопуляции. При этом масса органелл в функционально различных субпопуляциях клеток памяти

существенно отличается: повышена в лимфоцитах эффекторной памяти относительно таковой в клетках центральной памяти. Более зрелые субпопуляции CD4⁺T-лимфоцитов – клетки эффекторной памяти и терминально-дифференцированные эффекторы – не различаются по показателям массы митохондрий, но демонстрируют повышенную массу органелл по сравнению с наивными элементами и клетками центральной памяти.

С целью оценки другого показателя функционального состояния митохондрий – мембранного потенциала – нами был использован флуоресцентный краситель MTDR. Данный реагент относится к группе липофильных катионных красителей, которые свободно диффундируют в клетку и под действием потенциала на внутренней мембране митохондрий накапливаются в водном пространстве матрикса [12]. Ранее было установлено, что деполяризация митохондрий, индуцированная внесением карбонилцианид 3-хлорфенилгидразона (carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazone (CCCP)), сопровождается снижением интенсивности свечения MTDR в клетках [15], что позволяет использовать его как потенциал-чувствительный реагент. При исследовании нами показателей флуоресценции MTDR в различных субпопуляциях CD4⁺T-лимфоцитов было выявлено следующее (рис. 2).

Клетки с фенотипом памяти (CD45R0⁺) демонстрировали более высокую интенсивность свечения по сравнению с CD45R0⁻ негативными субпопуляциями – наивными лимфоцитами ($p < 0,01$) и терминально-дифференцированными эффекторами ($p < 0,05$). Оценка мембранного потенциала митохондрий в CD45R0⁺ субпопуляциях не выявила статистически значимых отличий между показателями в клетках центральной и эффекторной памяти. Хотя средняя интенсивность свечения красителя в терминально-дифференцированных элементах была выше, чем в наивных лимфоцитах, статистически значимых различий заряда мембраны митохондрий между обеими субпопуляциями не установлено ($p > 0,05$).

На основании полученных данных можно заключить, что у здоровых субъектов CD4⁺T-лимфоциты центральной и эффекторной памяти по сравнению с наивными клетками обладают более высокой массой и величиной мембранного потенциала митохондрий. Необходимо отметить, что при использовании нами ранее потенциал-чувствительного красителя MitoTracker Orange и изоформы общего лейкоцитарного антигена CD45RA были получены аналогичные данные: у здоровых добровольцев масса и заряд мембраны митохондрий в CD4⁺T-лимфоцитах памяти (CD45RA⁻) были выше, чем в CD45RA⁺ клетках [1]. Известно, что оба пула клеток неоднородны и включают лимфоциты с разными функциональными свойствами и метаболической активностью [10]. Выявленная нами более высокая масса митохондрий в CD4⁺T-лимфоцитах эффекторной памяти может

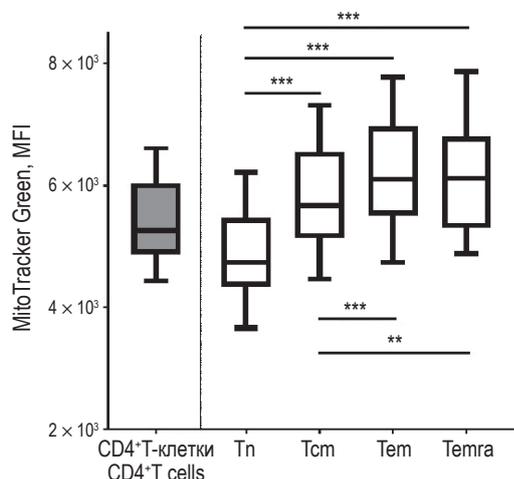


Рисунок 1. Оценка массы митохондрий в различных субпопуляциях CD4⁺T-лимфоцитов с использованием красителя MitoTracker Green

Примечание. CD4⁺T-клетки – общий пул CD4⁺T-лимфоцитов; субпопуляции клеток: T_n – наивные, T_{cm} – центральной памяти, T_{em} – эффекторной памяти, T_{emra} – терминально-дифференцированные. По оси ординат указана медиана яркости флуоресценции (MFI: Median Fluorescence Intensity) клеток, содержащих краситель в матриксе митохондрий. Представлены медианы (горизонтальные линии), межквартильные интервалы (прямоугольники) и 10-90% размахи (вертикальные отрезки). ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ (критерий Манна–Уитни).

Figure 1. Assessment of mitochondrial mass in CD4⁺T cells using the MitoTracker Green dye

Note. CD4⁺T cells, total pool of CD4⁺T lymphocytes; cells subsets: T_n, naive; T_{cm}, central memory; T_{em}, effector memory; T_{emra}, terminally differentiated (effector memory T cells re-expressing CD45RA).

The y-axis shows the median fluorescence intensity (MFI: Median Fluorescence Intensity) of MitoTracker Green in cells containing the dye in the mitochondrial matrix. Medians (horizontal lines within boxes), interquartile ranges (boxes), and 10-90% ranges (vertical bars) are shown. **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$ (Mann–Whitney U test).

быть связана как с необходимостью адаптации к гипоксическим условиям периферических тканей, так и с готовностью органелл обеспечивать клетку энергией и молекулами для быстрого синтеза эффекторных цитокинов в ответ на антиген.

Ранее рядом авторов было установлено, что величина мембранного потенциала митохондрий является ключевым фактором формирования CD8⁺T-лимфоцитов памяти [14]. Полученные нами данные подтверждают это и для CD4⁺T-клеток: лимфоциты центральной и эффекторной памяти демонстрируют более высокий заряд мембраны митохондрий, чем наивные и терминально-дифференцированные элементы. Что касается пула CD45R0-негативных клеток, то наиболее интересные, на наш взгляд, данные были получены при оценке состояния митохондрий в терминально-дифференцированных эффекторах. Эти клетки рассматривают в качестве самых зрелых форм лимфоцитов [6]. Как и менее дифференцированная субпопуляция клеток эффекторной памяти терминально-дифференцированные лимфоциты демонстрируют схожую массу митохондрий. При этом величина мембранного потенциала митохондрий в терминально-дифференцированных эффекторах была существенно снижена по сравнению с таковыми показателями в обеих субпопуляциях клеток памяти. Исходя из этого, можно заключить, что терминально-дифференцированные эффекторы отличаются от остальных субпопуляций CD4⁺T-лимфоцитов уникальными характеристиками митохондрий: при высокой массе обладают сниженным зарядом мембраны. Известно, что клетки, находящиеся на терминальной стадии дифференцировки, демонстрируют признаки старения, ослабление пролиферативной активности, высокие уровни повреждения ДНК, потерю активности теломеразы, понижение экспрессии антиапоптотических белков семейства Bcl-2 [6]. Мембранный потенциал митохондрий является важным показателем функционального состояния митохондрий, а его утрата ассоциирована с митохондриальным путем апоптоза [9]. Полученные в настоящем исследовании данные о состоянии митохондрий терминально-дифференцированных эффекторов также свидетельствуют о «готовности» клеток к программируемой гибели.

Необходимо также отметить, что исследование показателей состояния митохондрий с помощью флуоресцентных красителей без внесения в схему эксперимента ингибиторов АТФ-связывающих кассетных транспортеров (АТФ-binding cassette (ABC) transporters) может влиять на оценку результатов цитофлуориметрического анализа. ABC-транспортеры расположены на мембранах клетки и способны выводить из нее различные субстраты. Как правило, большинство исследователей не принимает во внимание наличие данных белков-транспортеров, тогда как их активность представляет реальную проблему при оценке параметров митохондрий с использованием флюо-

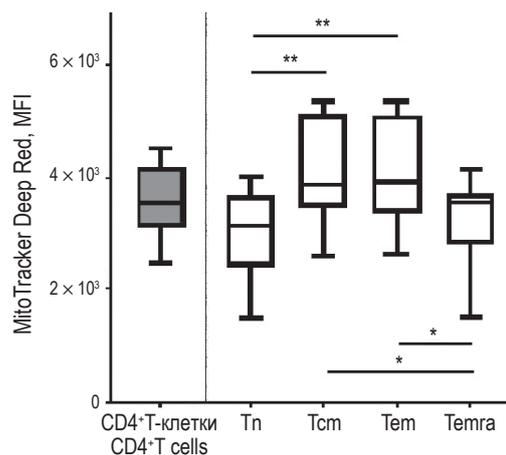


Рисунок 2. Исследование мембранного потенциала митохондрий в различных субпопуляциях CD4⁺T-лимфоцитов с использованием красителя MitoTracker Deep Red

Примечание. CD4⁺T-клетки – общий пул CD4⁺T-лимфоцитов; субпопуляции клеток: T_N – наивные, T_{CM} – центральной памяти, T_{EM} – эффекторной памяти, T_{EMRA} – терминально-дифференцированные. По оси ординат указана медиана яркости флуоресценции (MFI: Median Fluorescence Intensity) красителя в клетках с функционально активными митохондриями. Представлены медианы (горизонтальные линии), межквартильные интервалы (прямоугольники) и 10-90% размахи (вертикальные отрезки). * – p < 0,05; ** – p < 0,01 (критерий Манна–Уитни).

Figure 2. Assessment of mitochondrial membrane potential in CD4⁺T cells using the MitoTracker Deep Red dye

Note. CD4⁺T cells, total pool of CD4⁺T lymphocytes; cells subsets: T_N, naive; T_{CM}, central memory; T_{EM}, effector memory; T_{EMRA}, terminally differentiated (effector memory T cells re-expressing CD45RA). The y-axis shows the median fluorescence intensity (MFI: Median Fluorescence Intensity) of MitoTracker Deep Red in cells with functionally active mitochondria. Medians (horizontal lines within boxes), interquartile ranges (boxes), and 10-90% ranges (vertical bars) are shown. *, p < 0.05; **, p < 0.01 (Mann-Whitney U test).

ресцентных реагентов. Так, группой авторов была показана способность ABC-транспортеров выкачивать MitoTracker Green из CD4⁺T-лимфоцитов, при этом блокирование транспортеров рядом ингибиторов приводило к росту интенсивности флуоресценции красителя [7]. На наш взгляд, эти данные свидетельствуют о важности стандартизации условий эксперимента при использовании митохондриально-селективных флуоресцентных реагентов. Кроме того, нарушение функционирования ABC-транспортеров может влиять на интерпретацию результатов оценки состояния митохондрий при исследовании их параметров в различных клинических группах.

Заключение

Таким образом, установлено, что у здоровых субъектов CD4⁺T-лимфоциты центральной и эффекторной памяти по сравнению с наивными клетками обладают более высокой массой и ве-

личиной мембранного потенциала митохондрий. Масса органелл в функционально различных субпопуляциях клеток памяти существенно отличается: повышена в лимфоцитах эффекторной памяти относительно таковой в клетках центральной памяти. Терминально-дифференцированные эффекторы отличаются от остальных субпопуляций CD4⁺T-лимфоцитов уникальными характеристиками митохондрий: при высокой массе об-

ладают сниженным зарядом мембраны. Данная особенность может быть связана с «готовностью» клеток, находящихся на терминальной стадии дифференцировки, к программируемой гибели.

Благодарности

В работе было использовано оборудование ЦКП «Исследования материалов и вещества» ПФИЦ УрО РАН.

Список литературы / References

1. Королевская Л.Б., Сайдакова Е.В., Шмагель Н.Г., Шмагель К.В. Оценка состояния митохондрий CD4⁺ и CD8⁺ T-лимфоцитов здоровых лиц // Цитология, 2022. Т. 64, № 3. С. 232-239. [Korolevskaya L.B., Saidakova E.V., Shmagel N.G., Shmagel K.V. Assessment of Mitochondrial Condition in CD4⁺ and CD8⁺ T Cells from Healthy Subjects. *Tsitologiya = Cytology*, 2022, Vol. 64, no. 3, pp. 232-239. (In Russ.)]
2. Breda C.N.S., Davanzo G.G., Basso P.J., Saraiva Câmara N.O., Moraes-Vieira P.M.M. Mitochondria as central hub of the immune system. *Redox Biol*, 2019, Vol. 26, e101255. doi: 10.1016/j.redox.2019.101255.
3. Caldwell C.C., Kojima H., Lukashov D., Armstrong J., Farber M., Apasov S.G., Sitkovsky M.V. Differential effects of physiologically relevant hypoxic conditions on T lymphocyte development and effector functions. *J. Immunol.*, 2001, Vol. 167, no. 11, pp. 6140-6149.
4. Callender L.A., Carroll E.C., Bober E.A., Akbar A.N., Solito E., Henson S.M. Mitochondrial mass governs the extent of human T cell senescence. *Aging Cell*, 2020, Vol. 19, no. 2, e13067. doi: 10.1111/accel.13067
5. Cottet-Rousselle C., Ronot X., Leverve X., Mayol J.F. Cytometric assessment of mitochondria using fluorescent probes. *Cytometry A*, 2011, Vol. 79, no. 6, pp. 405-425.
6. Di Mitri D., Azevedo R.I., Henson S.M., Libri V., Riddell N.E., Macaulay R., Kipling D., Soares M.V., Battistini L., Akbar A.N. Reversible senescence in human CD4⁺CD45RA⁺CD27⁻ memory T cells. *J. Immunol.*, 2011, Vol. 187, no. 5, pp. 2093-2100.
7. Dimeloe S., Frick C., Fischer M., Gubser P.M., Razik L., Bantug G.R., Ravon M., Langenkamp A., Hess C. Human regulatory T cells lack the cyclophosphamide-extruding transporter ABCB1 and are more susceptible to cyclophosphamide-induced apoptosis. *Eur. J. Immunol.*, 2014, Vol. 44, no. 12, pp. 3614-3620.
8. Dimeloe S., Mehling M., Frick C., Loeliger J., Bantug G.R., Sauder U., Fischer M., Belle R., Develioglu L., Tay S., Langenkamp A., Hess C. The immune-metabolic basis of effector memory CD4⁺ T cell function under hypoxic conditions. *J. Immunol.*, 2016, Vol. 196, no. 1, pp. 106-114.
9. Gottlieb E., Armour S.M., Harris M.H., Thompson C.B. Mitochondrial membrane potential regulates matrix configuration and cytochrome c release during apoptosis. *Cell Death Differ.*, 2003, Vol. 10, no. 6, pp. 709-717.
10. Jameson S.C., Masopust D. Understanding subset diversity in T cell memory. *Immunity*, 2018, Vol. 48, no. 2, pp. 214-226.
11. Sallusto F., Lenig D., Förster R., Lipp M., Lanzavecchia A. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature*, 1999, Vol. 401, no. 6754, pp. 708-712.
12. Solaini G., Sgarbi G., Lenaz G., Baracca A. Evaluating mitochondrial membrane potential in cells. *Biosci. Rep.*, 2007, Vol. 27, no. 1-3, pp. 11-21.
13. Shmagel K.V., Saidakova E.V., Korolevskaya L.B., Shmagel N.G., Chereshevnev V.A., Anthony D.D., Lederman M.M. Influence of hepatitis C virus coinfection on CD4⁺ T cells of HIV-infected patients receiving HAART. *AIDS*, 2014, Vol. 28, no. 16, pp. 2381-2388.
14. Sukumar M., Liu J., Mehta G.U., Patel S.J., Roychoudhuri R., Crompton J.G., Klebanoff C.A., Ji Y., Li P., Yu Z., Whitehill G.D., Clever D., Eil R.L., Palmer D.C., Mitra S., Rao M., Keyvanfar K., Schrumpp D.S., Wang E., Marincola F.M., Gattinoni L., Leonard W.J., Muranski P., Finkel T., Restifo N.P. Mitochondrial membrane potential identifies cells with enhanced stemness for cellular therapy. *Cell Metab.*, 2016, Vol. 23, no. 1, pp. 63-76.
15. Xiao B., Deng X., Zhou W., Tan E.K. Flow cytometry-based assessment of mitophagy using mitotracker. *Front. Cell. Neurosci.*, 2016, Vol. 10, e76. doi: 10.3389/fncel.2016.00076.

Авторы:

Королевская Л.Б. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Пермь, Россия

Шмагель К.В. — д.м.н., заведующий лабораторией экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Пермь, Россия

Authors:

Korolevskaya L.B., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Shmagel K.V., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Поступила 11.03.2024
Принята к печати 17.03.2024

Received 11.03.2024
Accepted 17.03.2024