

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ИММУННОЙ СИСТЕМЕ СТАРЕЮЩИХ МЫШЕЙ

К. С. Матвеева, Д. В. Шевырев ✉

Научно-технологический университет «Сириус», Федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия

Накопление сенесцентных клеток в тканях связано с функциональным ухудшением и развитием возраст-ассоциированных патологий. Ключевую роль в этом процессе играет сенесцент-ассоциированный секреторный фенотип (SASP), способствующий хроническому вялотекущему системному воспалению, которое ассоциировано с повышенным риском аутоиммунных и онкологических заболеваний, а также снижением устойчивости к инфекциям. В норме иммунная система удаляет сенесцентные клетки, однако с возрастом эффективность этого процесса падает, в том числе по причине старения иммунной системы. Целью исследования было изучить возрастные изменения в основных популяциях лимфоцитов и миелоцитов в образцах селезенки и костного мозга мышей преклонного возраста. Исследование проводили на группах молодых ($n = 8$) и пожилых ($n = 4$) мышей линии C57BL/6. Анализ популяций проводили с использованием флуоресцентно-меченых антител методом проточной цитометрии. Фенотип старения оценивали по активности фермента β -Gal с предварительной обработкой бафиломицином A1, который обеспечивает защелачивание лизосом и позволяет выявить повышенную активность фермента, типичную для стареющих клеток (SA- β -Gal). В результате у пожилых мышей было выявлено значимое повышение содержания миелоидных популяций, CD11c⁺B-клеток, дважды негативных Т-лимфоцитов, а также снижение CD8 α^+ дендритных клеток. Кроме того, при старении значимо возрастало содержание клеток позитивных по SA- β -Gal, особенно в популяциях миелоидных клеток. Полученные данные указывают, что возрастные изменения носят системный характер и отражают так называемый миелоидный сдвиг, а также накопление провоспалительных популяций в миелоидном и лимфоидном компартментах.

Ключевые слова: старение, сенесценция, старение иммунной системы, β -галактозидаза, SA- β -Gal, лимфоциты, миелоциты, мыши

Финансирование: данная работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда, проект № 24-15-20003 <https://rscf.ru/project/24-15-20003/> (дата доступа 19 августа 2025 г.).

Вклад авторов: К. С. Матвеева — проведение экспериментов, обработка данных, оформление рукописи, Д. В. Шевырев — проведение экспериментов, статистический анализ, рецензирование рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Университета «Сириус» (протокол № 7.1 от 12 апреля 2024 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Даниил Вадимович Шевырев
Олимпийский проспект, д. 1, г. Сочи, 354349, Россия; dr.daniil25@mail.ru

Статья получена: 27.08.2025 **Статья принята к печати:** 23.09.2025 **Опубликована онлайн:** 30.09.2025

DOI: 10.24075/vrgmu.2025.043

Авторские права: © 2025 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

AGE-RELATED ALTERATIONS IN THE IMMUNE SYSTEM OF AGING MICE

Matveeva KS, Shevyrev DV ✉

Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodarsky Krai, Russia

Accumulation of senescent cells in the tissues is associated with functional impairment and the development of age-related disorders. The key role in this process is played by the senescence-associated secretory phenotype (SASP) contributing to chronic systemic inflammation, which is associated with the increased risk of autoimmune disorders and cancer, as well as the decreased resistance to infections. Normally, the immune system eliminates senescent cells, but the effectiveness of this process decreases with age, including due to the immune system aging. The study aimed to assess age-related alterations in the main lymphocyte and myelocyte populations in the spleen and bone marrow samples of senile mice. The study involved groups of young ($n = 8$) and elderly ($n = 4$) C57BL/6 mice. Populations were tested by flow cytometry using the fluorescence-labeled antibodies. The aging phenotype was assessed based on the β -Gal enzyme activity with pre-treatment with bafilomycin A1, ensuring lysosomal alkalization and allowing one to detect the increased enzyme activity typical for the aging cells (SA- β -Gal). As a result, the significantly increased levels of myeloid populations, CD11c⁺ B cells, double-negative T cells, along with the decreased levels of the CD8 α^+ dendritic cells, were reported in elderly mice. Furthermore, aging was associated with the significant increase in the levels of SA- β -Gal-positive cells, especially in the populations of myeloid cells. The data obtained suggest that the age-related alterations are of systemic nature and reflect the so-called myeloid shift, as well as accumulation of pro-inflammatory populations in the myeloid and lymphoid compartments.

Keywords: aging, senescence, immune system aging, β -galactosidase, SA- β -Gal, lymphocytes, myelocytes, mice

Funding: the study was supported by the Russian Science Foundation работа, project No. 24-15-20003 <https://rscf.ru/project/24-15-20003/> (date of access: August 19, 2025).

Author contribution: Matveeva KS — experimental procedure, data processing, manuscript formatting, Shevyrev DV — experimental procedure, statistical analysis, manuscript reviewing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Sirius University of Science and Technology (protocol No. 7.1 dated 12 April 2024).

✉ **Correspondence should be addressed:** Daniil V. Shevyrev
Olimpiyskiy prospekt, 1, Sochi, 354349, Russia; dr.daniil25@mail.ru

Received: 27.08.2025 **Accepted:** 23.09.2025 **Published online:** 30.09.2025

DOI: 10.24075/brsmu.2025.043

Copyright: © 2025 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Клеточное старение — это сложный многокомпонентный процесс, триггером которого выступают различные стрессы: повреждения ДНК, укорочение теломера, активация ретроэлементов, окислительный и механический стрессы, а также неблагоприятные физические, химические и биологические факторы [1, 2]. Накопление мутаций и различных повреждений в стареющих клетках повышает риск опухолевой трансформации. В настоящее время считается, что одним из механизмов противоопухолевой защиты является переход в состояние сенесцентности [3, 4]. В целом сенесцентность реализуется через конвергенцию нескольких сигнальных каскадов, главными из которых являются p53/p21CIP1 и p16INK4a/RB [5]. Эти пути активируются в ответ на укорочение теломера и повреждение ДНК (DNA damage response, или DDR), активацию онкогенов, эпигенетические нарушения, нарушения архитектуры хроматина, избыток реактивных форм кислорода, в результате дисфункции органелл (в первую очередь митохондрий), а также в ответ на некоторые воспалительные и паракринные сигналы [6, 7]. Стресс-индуцированная активация NF- κ B и mTOR путей приводит к продукции широкого спектра провоспалительных субстанций сенесцентными клетками (SASP) и нарушению аутофагии [8, 9]. А сопутствующая активация белков BCL-2, BCL-XL и MCL-1 блокирует апоптоз [10]. Эти изменения определяют ключевые особенности сенесцентных клеток, такие как перманентная остановка клеточного цикла, устойчивость к апоптозу, воспалительный фенотип SASP, дисфункции митохондрий и нарушения протеостаза [11]. Морфофункциональным отражением метаболического дисбаланса и лизосомной дисфункции сенесцентных клеток является гипертрофия лизосомного аппарата и повышение активности фермента лизосом — β -галактозидазы (β -Gal) [12]. Таким образом, высокое содержание фермента в увеличенных лизосомах приводит к детектируемой активности β -галактозидазы в неоптимальном диапазоне pH = 6,0, что позволяет использовать этот фермент в качестве маркера сенесцентных клеток (SA- β -Gal) [13, 14]. Обычно для определения активности β -Gal используют хромогенные субстраты, которые не подходят для многопараметрического фенотипического анализа сенесцентных клеток флуоресцентными методами, включая проточную цитометрию. Появление флуорогенного субстрата β -Gal значительно расширяет область применения этого маркера и позволяет одновременно оценивать активность SA- β -Gal в разных клеточных популяциях методом проточной цитометрии [15]. В настоящее время мало данных об изменении активности данного фермента в различных популяциях клеток иммунной системы при старении. Оценка активности SA- β -Gal в различных лимфоидных и миелоидных популяциях центрального и периферического отделов иммунной системы представляет интерес в контексте изучения возрастных изменений в иммунной системе. Поскольку иммунная система в течение жизни подвергается воздействию различных по природе и интенсивности стрессовых факторов, отдельные субпопуляции лимфоидных и миелоидных клеток будут иметь неодинаковые траектории и темпы старения. Увеличение сенесцентного бремени в иммунной системе усугубляет «inflammaging», повышает риск развития аутоиммунных и онкологических процессов, а также увеличивает восприимчивость к инфекциям [16]. Поэтому детальное изучение возрастных изменений в иммунной системе закладывает фундамент для разработки

направленных подходов восстановления компетентности иммунной системы в пожилом возрасте. Таким образом, целью данной работы было проведение сравнительного анализа активности SA- β -Gal в основных популяциях клеток иммунной системы, полученных из селезенки и костного мозга мышей молодого (3 месяца) и крайне пожилого возраста (26 месяцев). Такой подход позволил изучить распределение клеток с признаками старения в иммунной системе пожилых мышей, а также сравнить центральный и периферический отделы иммунной системы по содержанию таких клеток.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мыши

Исследование проводили на 12 мышах линии C57BL/6: 8 мышах в возрасте 3 месяца и 4 пожилых мышах в возрасте 26 месяцев. Животных содержали в виварии с 12-часовым световым циклом, свободным доступом к воде и сбалансированному лабораторному корму. Эвтаназию проводили с соблюдением принципов гуманного обращения с животными, в условиях глубокой анестезии изофлураном методом цервикальной дислокации. Сразу после эвтаназии проводили сбор необходимых материалов.

Выделение спленоцитов

После эвтаназии извлекали селезенку, помещали в стеклянный гомогенизатор с холодным PBS (1% FCS, 0,02% EDTA) и мягко растирали стеклянным пестиком до получения однородной суспензии. Полученную клеточную взвесь дважды фильтровали через нейлоновый фильтр (70 мкм), промывая раствором PBS. Фильтрат центрифугировали 5 мин — 300 g при 8 °C. Осадок ресуспендировали в 5 мл буфера для лизиса эритроцитов в течение 2 мин. Затем добавляли 10 мл PBS с 1% FBS и повторно центрифугировали. После удаления супернатанта клетки ресуспендировали в нужной концентрации в полной среде RPMI-1640 или PBS в зависимости от целей.

Выделение клеток костного мозга

Клетки костного мозга выделяли из бедренных и большеберцовых костей мыши путем вымывания костного мозга раствором PBS из полости кости с помощью шприца (27 G). Полученную суспензию дважды фильтровали через нейлоновый фильтр 70 мкм, отмывали в растворе PBS (0,02% EDTA) центрифугированием 5 мин — 300 g при 8 °C. Далее проводили лизис эритроцитов (см. выше) и ресуспендировали в полной среде или PBS.

Жизнеспособность спленоцитов и клеток костного мозга оценивали флуоресцентным методом с помощью акридинового оранжевого и пропидия йодида и составляла в среднем 98%.

Окрашивание SA- β -Gal

Для оценки активности SA- β -Gal в живых клетках использовали витальный краситель SPiDER- β Gal (Cellular Senescence Detection Kit, Dojindo Laboratories, Japan), который является флуорогенным субстратом, специфичным для β -Gal. Клетки костного мозга или спленоциты в количестве 2×10^5 клеток на лунку инкубировали в 96-луночном

плоскодонном планшете (NEST Biotechnologies, Китай) в полной среде RPMI-1640 в объеме 200 мкл с добавлением бафиломицина A1 (Sigma Aldrich, США) в конечной концентрации 100 нМ в качестве агента, защелачивающего лизосомы, в течение 1 ч в CO₂-инкубаторе при 37 °С. Далее к клеткам добавляли субстрат в конечной концентрации 1 мкмоль/л и инкубировали при тех же условиях в течение 1 ч. Затем клетки отмывали центрифугированием 5 мин — 300 g, 20 °С), окрашивали красителем FVS780 (BD Biosciences, США) согласно протоколу производителя для удаления из последующего анализа мертвых клеток и метили антителами. В качестве положительного контроля клетки параллельно инкубировали с субстратом без добавления бафиломицина. В качестве негативного контроля клетки инкубировали с добавлением бафиломицина и без добавления субстрата.

Фенотипирование

Для окрашивания антителами 2×10^5 клеток ресуспендировали в 200 мкл FACS-буфера, добавляли 50 мкл смеси антител, тщательно перемешивали пипетированием и инкубировали при 4°C — 30 мин в темноте. Используемые против мыши антитела: TCR β BB700 (#745846, BD Biosciences, США), CD19 BV605 (#563148, BD Biosciences, США), CD11c APC (#550261, BD Biosciences, США), CD11b BV510 (#562950, BD Biosciences, США), Ly6G PE (#12-9668-82, ThermoFisher, США), Ly6C PE-Cy7 (#560593, BD Biosciences, США), CD4 SB702 (#67-0041-82, ThermoFisher, США), CD8 SB780 (#78-0081-82, ThermoFisher, США). Затем клетки дважды отмывали 5 мин — 300 г FACS-буфером и ресуспендировали в объеме 300 мкл. Далее их анализировали на проточном цитометре BD LSRFortessa (BD Biosciences, США).

Статистический анализ

Анализ данных проточной цитометрии проводили с использованием программы FlowJo 10.8.1. (BD Bioscience, США). Статистический анализ — в программе GraphPad Prism 9.3.1 (GraphPad Software, США). Распределения проверяли на нормальность с помощью теста Шапиро–Уилка. Сравнение групп молодых и пожилых мышей проводили с помощью непараметрического теста Манна–Уитни. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Использование многоцветной проточной цитометрии позволило изучить активность SA- β -Gal в десяти различных популяциях клеток иммунной системы. Анализируемые популяции были условно разделены по происхождению на лимфоидные (T- and B-cells) и миелоидные (конвенциональные дендритные клетки, моноциты, макрофаги и гранулоциты). Стратегия гейтирования представлена на рис. 1A. Затем в каждой из обозначенных популяций оценивали долю клеток с повышенной активностью SA- β -Gal. Границу гейта определяли по контролю FMO (от англ. fluorescence minus one), в качестве которого выступали клетки без добавления флуорогенного субстрата SPIDER- β Gal, но с добавлением бафиломицина A1 (рис. 1B). Последнее особенно важно для контрольных образцов, так как бафиломицин A1 сам по себе влияет на уровень аутофлуоресценции клеток.

При анализе данных, полученных из селезенки мышей, мы выявили значимое повышение содержания моноцитов (8,2% (5,6–12,4) против 23,7% (17,3–29,2), $p < 0,05$), дендритных клеток (12,9% (12–14,2) против 27,9% (18,2–29,5), $p < 0,05$) и В-лимфоцитов (53,5%

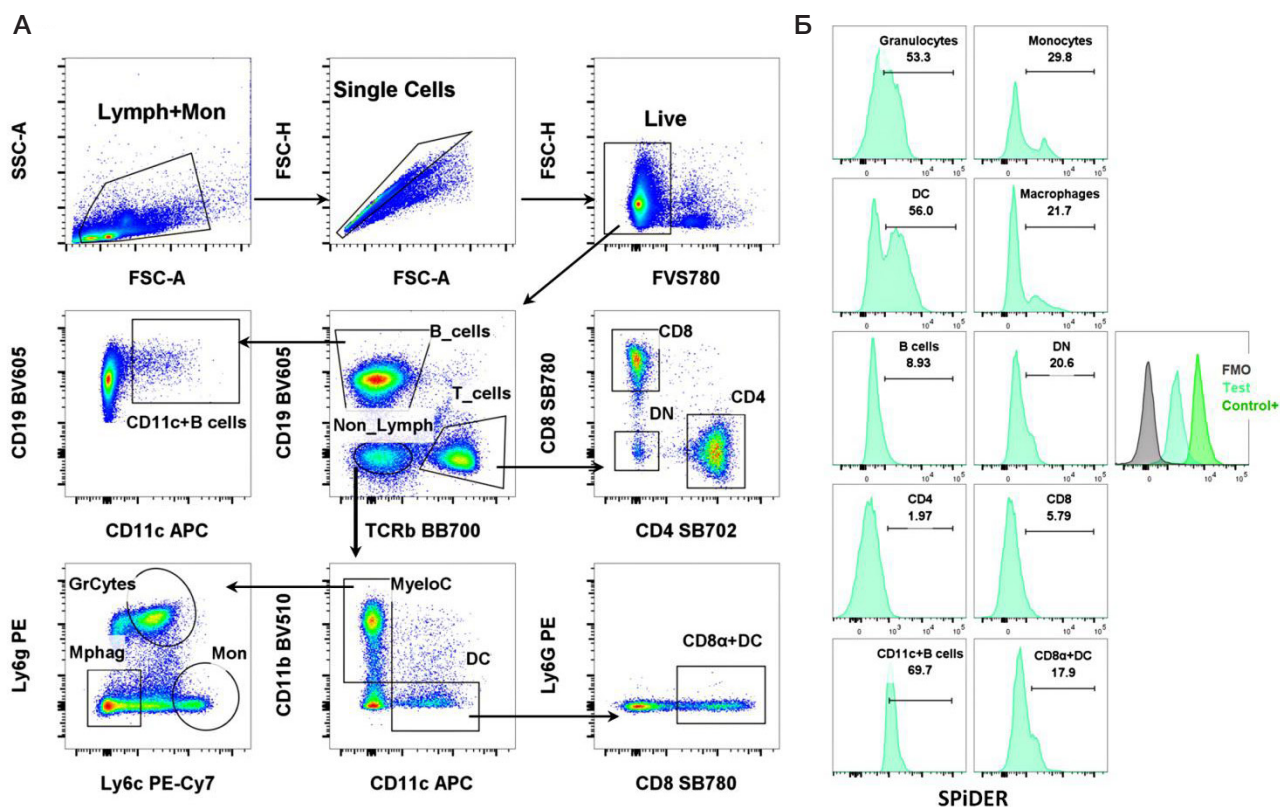


Рис. 1. Стратегии гейтирования лимфоидных и миелоидных популяций в образцах селезенки и костного мозга мышей **(А)** и оценки доли положительных по SA- β -Gal клеток в каждой анализируемой популяции **(Б)**. Справа представлена гистограмма, отражающая уровень флуоресценции SPIDER в канале 488-530/30 в FMO-контроле без добавления субстрата и в положительном контроле Control+ без добавления бафиломицина A1

(49,8–57,5) против 66,4% (64,9–69,5), $p < 0,05$) в группе пожилых мышей (рис. 2А). Интересно отметить, что с возрастом значительно увеличивалось содержание CD11c⁺В-клеток (0,39% (0,32–0,47) против 2,18% (1,33–2,58), $p < 0,01$) — это относительно недавно описанная популяция В-клеток, ассоциированных со старением. Также, несмотря на увеличение общей популяции дендритных клеток, содержание CD8 α ⁺DC значительно снижалось (31,9% (29–33) против 23,8% (19,3–31,2), $p < 0,01$). В образцах костного мозга тоже наблюдалось увеличение содержания моноцитов (18,2% (14–20) против 23,7% (22–28,2), $p < 0,05$) и снижение содержания В-клеток (32,9% (29,9–36,3) против 26,2% (22,8–27,5), $p < 0,05$) при этом содержание CD11c⁺В-клеток возрастало (0,03% (0,025–0,048) против 0,26% (0,18–0,4), $p < 0,01$), а CD8 α ⁺DC снижалось (21,6% (19,1–24) против 6,5% (4,9–7,1), $p < 0,01$) — аналогично образцам селезенки (рис. 2Б).

На следующем этапе изучали распределение клеток с повышенной активностью SA- β -Gal среди лимфоидных и миелоидных популяций. В образцах селезенки было выявлено значительное повышение содержания позитивных по SA- β -Gal гранулоцитов (7,2% (2,4–15,5) против 62,5% (45,8–66,1), $p < 0,001$), макрофагов (23,8% (16,8–29,1) против 57,2% (55,1–63,5), $p < 0,001$) и моноцитов (50,5% (43,8–86) против 85,1% (77,7–90,2), $p < 0,01$), а также CD11c⁺В-лимфоцитов (39,2% (35,4–43) против 60,5% (57,5–73,3), $p < 0,01$) в группе пожилых мышей (рис. 2В). В костном мозге выявлено возрастное увеличение SA- β -Gal позитивных макрофагов (64,4% (56,8–65,8) против 70,9% (66,1–76,5), $p < 0,05$), CD8 α ⁺DC (1,5% (0,96–1,7) против 3,25% (2,71–4,26), $p < 0,05$), дважды негативных лимфоцитов (19,5% (15,2–28,3) против 41% (30,9–53,3), $p < 0,05$) и CD11c⁺В-клеток (38,4% (34,2–43,6) против 62% (47,8–76,8), $p < 0,05$) (рис. 2Г).

Таким образом, в результате исследования были выявлены возрастные изменения в основных популяциях лимфоидных и миелоидных клеток, которые сопровождались увеличением доли клеток с повышенной активностью SA- β -Gal. В костном мозге, как в первичном лимфоидном органе, эти изменения были выражены менее существенно.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты показали, что физиологическое старение иммунной системы происходит неравномерно [17] и сопровождается значимыми количественными изменениями в популяциях В-лимфоцитов, дендритных клеток и моноцитов. Кроме того, в популяциях миелоидной линии накопление клеток с повышенной активностью SA- β -Gal происходит быстрее, чем в лимфоидном компартменте.

Увеличение содержания В-клеток в селезенке пожилых мышей может отражать историю антигенных вызовов в течение жизни, а накопление возраст-ассоциированных CD11c⁺В-клеток связывают со старением и повышением риска аутоиммунных заболеваний и феноменом «inflammaging» [18, 19]. Это клетки с нарушенными функциями, которые способствуют приобретению макрофагами провоспалительного фенотипа, их содержание часто повышено при различных аутоиммунных заболеваниях, и они могут составлять значительную часть популяции зрелых В-клеток в пожилом организме [20].

В костном мозге наоборот наблюдалось снижение содержания В-клеток, что отражает возрастное снижение их продукции и, по-видимому, негативно влияет на способность иммунной системы отвечать на новые антигенные вызовы [21]. При этом, несмотря

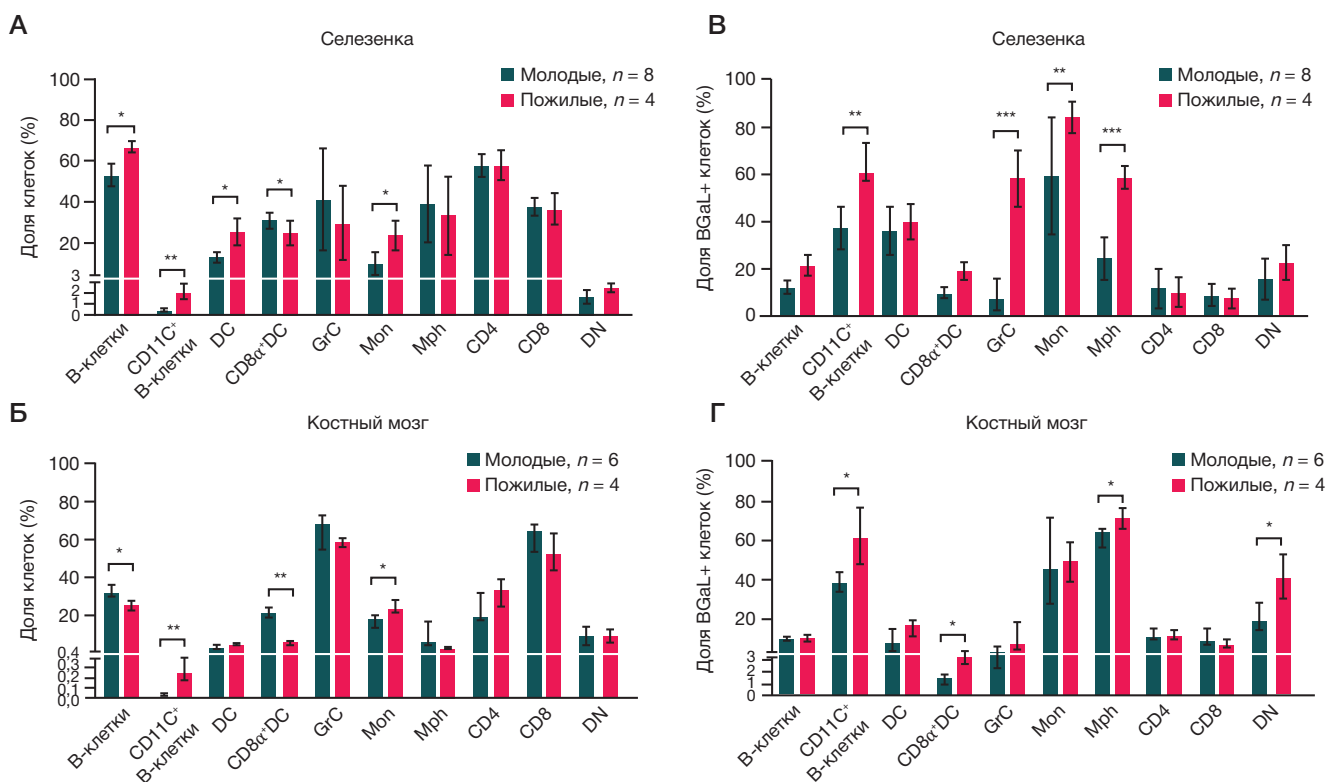


Рис. 2. Содержание лимфоидных и миелоидных популяций в образцах селезенки (А) и костного мозга (Б), а также анализ содержания клеток с признаками сенесцентности позитивных по маркеру SA- β -Gal в образцах селезенки (В) и костного мозга (Г). DC — дендритные клетки, GrC — гранулоциты, Mon — моноциты, Mph — макрофаги, DN — дважды негативные Т-клетки. Сравнение групп проводили методом Манна-Уитни. Данные представлены в виде Me $\pm$ IQR; * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$

на уменьшение общей популяции В-лимфоцитов, содержание CD11c⁺В-клеток было повышено, как и в селезенке. Возрастное увеличение содержания CD11c⁺ дендритных клеток в селезенке, а моноцитов и в костном мозге, по-видимому, отражает так называемый «миелоидный сдвиг» — характерную особенность старения иммунной системы, которая хорошо описана в недавних исследованиях [22–24]. Особый интерес представляет выявленное увеличение доли SA-β-Gal-позитивных гранулоцитов, моноцитов и макрофагов в селезенках пожилых мышей. Возрастное накопление SA-β-Gal-позитивных клеток в миелоидных популяциях, по-видимому, вносит вклад в хроническое вялотекущее воспаление — *inflammaging*, которое преимущественно обусловлено продукцией факторов SASP сенесцентными миелоидными клетками [25, 26]. Повышенное содержание SA-β-Gal-позитивных макрофагов, DN Т-лимфоцитов и, особенно, CD11c⁺В-клеток в костном мозге указывает на вовлечение центральных отделов иммунной системы в процессы старения. В этом контексте стоит отметить, что непосредственная близость стареющих макрофагов и CD11c⁺В-клеток к гемопоэтическим стволовым клеткам (HSC) может негативно влиять на микроокружение в нишах за счет продукции факторов SASP и приводить к функциональному истощению и снижению лимфопоэтического потенциала HSC [27]. Так может замыкаться порочный круг, когда накопление клеток с признаками сенесценции в костном мозге негативно влияет на гемопоэз, что в свою очередь усиливает накопление дисфункциональных и стареющих клеток [28].

Мы обнаружили существенное повышение активности SA-β-Gal в различных лимфоидных и миелоидных популяциях в группе пожилых мышей, что наряду с существующими данными позволяет использовать этот маркер в контексте изучения процессов старения иммунной системы. Тем не менее, стоит отметить определенные ограничения нашего исследования. Полученные данные основаны на оценке активности SA-β-Gal как основного маркера клеточной сенесценции, однако этот маркер не является абсолютно специфичным и может повышаться при активации и изменении метаболизма в некоторых типах клеток, а также на этапе перехода клеток в сенесцентное состояние [29, 30]. Кроме того, нами не проводилась оценка функционального потенциала изучаемых популяций и не использовались дополнительные маркеры сенесценции, такие как p16INK4a, p21CIP1, HMGB1 [5] или компоненты SASP [31], что ограничивает интерпретацию наблюдаемых явлений исключительно в контексте клеточной сенесценции.

Однако старение это сложный и многогранный процесс, который не ограничивается одним переходом клеток в сенесцентное состояние. Так, выявленные нами количественные изменения в содержании лимфоидных и миелоидных субпопуляций в группе пожилых мышей, наряду с изменениями в активности SA-β-Gal, по-видимому, отражают наиболее выраженные возрастные изменения в иммунной системе. Поэтому необходимы дальнейшие комплексные исследования, включающие анализ транскриптома и протеома, а также функциональные тесты, направленные на изучение различных аспектов старения иммунной системы. Такой подход будет способствовать более глубокому пониманию механизмов иммунного старения и созданию стратегий, направленных на восстановление компетентности иммунной системы в пожилом возрасте.

ВЫВОДЫ

Полученные результаты подтверждают гипотезу о неравномерном старении различных компонентов иммунной системы и указывают на миелоидный сдвиг как на ключевую особенность старения иммунной системы. Стоит также отметить, что возрастные изменения помимо периферического отдела наблюдались и в костном мозге. Так, снижение содержания В-клеток отражает возрастное угнетение продукции В-лимфоцитов, а значительное повышение содержания провоспалительных CD11c⁺В-клеток и позитивных по SA-β-Gal DN Т-лимфоцитов, макрофагов и CD8α⁺-дендритных клеток свидетельствует о вовлечении центральных отделов иммунной системы в процессы старения [27]. Необходимо подчеркнуть, что накопление SA-β-Gal-позитивных клеток происходит в костном мозге в непосредственной близости от гемопоэтических стволовых клеток, где продукция факторов SASP может нарушать функциональное состояние ниш, снижать лимфопоэтический потенциал и тем самым замыкать порочный круг возраст-ассоциированной дисфункции иммунной системы [27, 28]. Эти данные дополняют современные представления о динамических изменениях в иммунной системе, которые происходят при старении. Таким образом, дальнейшее изучение возрастных изменений в иммунной системе с применением комплекса методов, включая оценку SA-β-Gal, имеет практическую значимость с точки зрения разработки подходов селективного удаления воспалительных сенесцентных клеток, восстановления лимфопоэтического потенциала и улучшения функциональной активности иммунной системы в пожилом возрасте.

Литература

1. Ajoalabady A, Pratico D, Bahijri S, Tuomilehto J, Uversky VN, Ren J. Hallmarks of cellular senescence: biology, mechanisms, regulations. *Exp Mol Med*. 2025; 57 (7): 1482–91. DOI: 10.1038/s12276-025-01480-7. Epub 2025 Jul 10. PMID: 40634753; PMCID: PMC12322015.
2. Kumari R, Jat P. Mechanisms of Cellular Senescence: Cell Cycle Arrest and Senescence Associated Secretory Phenotype. *Front Cell Dev Biol*. 2021; 9: 645593. DOI: 10.3389/fcell.2021.645593. PMID: 33855023; PMCID: PMC8039141.
3. Hornsby PJ. Senescence as an anticancer mechanism. *J Clin Oncol*. 2007; 25 (14): 1852–7. DOI: 10.1200/JCO.2006.10.3101. PMID: 17488983.
4. Baz-Martínez M, Da Silva-Álvarez S, Rodríguez E, Guerra J, El Motiam A, et al. Cell senescence is an antiviral defense mechanism. *Sci Rep*. 2016; 6: 37007. DOI: 10.1038/srep37007. PMID: 27849057; PMCID: PMC5111111.
5. Prieur A, Besnard E, Babled A, Lemaître JM. p53 and p16(INK4A) independent induction of senescence by chromatin-dependent alteration of S-phase progression. *Nat Commun*. 2011; 2: 473. DOI: 10.1038/ncomms1473. PMID: 21915115.
6. Dasgupta N, Arnold R, Equey A, Gandhi A, Adams PD. The role of the dynamic epigenetic landscape in senescence: orchestrating SASP expression. *NPJ Aging*. 2024; 10 (1): 48. DOI: 10.1038/s41514-024-00172-2. PMID: 39448585; PMCID:

- PMC11502686.
7. Miwa S, Kashyap S, Chini E, von Zglinicki T. Mitochondrial dysfunction in cell senescence and aging. *J Clin Invest.* 2022; 132 (13): e158447. DOI: 10.1172/JCI158447. PMID: 35775483; PMCID: PMC9246372.
 8. Kwon Y, Kim JW, Jeoung JA, Kim MS, Kang C. Autophagy Is Pro-Senescence When Seen in Close-Up, but Anti-Senescence in Long-Shot. *Mol Cells.* 2017; 40 (9): 607–12. DOI: 10.14348/molcells.2017.0151. Epub 2017 Sep 20. PMID: 28927262; PMCID: PMC5638768.
 9. Tilstra JS, Clauson CL, Niedernhofer LJ, Robbins PD. NF- κ B in Aging and Disease. *Aging Dis.* 2011; 2 (6): 449–65. Epub 2011 Dec 2. PMID: 22396894; PMCID: PMC3295063.
 10. Yosef R, Pilpel N, Tokarsky-Amiel R, Biran A, Ovadya Y, Cohen S, et al. Directed elimination of senescent cells by inhibition of BCL-W and BCL-XL. *Nat Commun.* 2016; 7: 11190. DOI: 10.1038/ncomms11190. PMID: 27048913; PMCID: PMC4823827.
 11. Dodig S, Čepelak I, Pavić I. Hallmarks of senescence and aging. *Biochem Med (Zagreb).* 2019; 29 (3): 030501. DOI: 10.11613/BM.2019.030501. Epub 2019 Aug 5. PMID: 31379458; PMCID: PMC6610675.
 12. Debacq-Chainiaux F, Erusalimsky JD, Campisi J, Toussaint O. Protocols to detect senescence-associated beta-galactosidase (SA- β gal) activity, a biomarker of senescent cells in culture and in vivo. *Nat Protoc.* 2009; 4 (12): 1798–806. DOI: 10.1038/nprot.2009.191. PMID: 20010931.
 13. Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995; 92 (20): 9363–7. DOI: 10.1073/pnas.92.20.9363. PMID: 7568133; PMCID: PMC40985.
 14. Yegorov YE, Akimov SS, Hass R, Zelenin AV, Prudovsky IA. Endogenous beta-galactosidase activity in continuously nonproliferating cells. *Exp Cell Res.* 1998; 243 (1): 207–11. DOI: 10.1006/excr.1998.4169. PMID: 9716464.
 15. Doura T, Kamiya M, Obata F, Yamaguchi Y, Hiya TY, Matsuda T, et al. Detection of LacZ-Positive Cells in Living Tissue with Single-Cell Resolution. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2016 Aug 8; 55(33):9620–4. DOI: 10.1002/anie.201603328. Epub 2016 Jul 12. PMID: 27400827.
 16. Franceschi C, Garagnani P, Parini P, Giuliani C, Santoro A. Inflammaging: a new immune-metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nat Rev Endocrinol.* 2018; 14 (10): 576–90. DOI: 10.1038/s41574-018-0059-4. PMID: 30046148.
 17. Liu Z, Liang Q, Ren Y, Guo C, Ge X, Wang L, et al. Immunosenescence: molecular mechanisms and diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 2023; 8 (1): 200. DOI: 10.1038/s41392-023-01451-2. PMID: 37179335; PMCID: PMC10182360.
 18. Frasca D, Diaz A, Romero M, Landin AM, Blomberg BB. Age effects on B cells and humoral immunity in humans. *Ageing Res Rev.* 2011; 10 (3): 330–5. DOI: 10.1016/j.arr.2010.08.004. Epub 2010 Aug 20. PMID: 20728581; PMCID: PMC3040253.
 19. Carey A, Nguyen K, Kandikonda P, Kruglov V, Bradley C, Dahlquist KJV, et al. Age-associated accumulation of B cells promotes macrophage inflammation and inhibits lipolysis in adipose tissue during sepsis. *Cell Rep.* 2024; 43 (3): 113967. DOI: 10.1016/j.celrep.2024.113967. Epub 2024 Mar 15. PMID: 38492219; PMCID: PMC11014686.
 20. Mouat IC, Goldberg E, Horwitz MS. Age-associated B cells in autoimmune diseases. *Cell Mol Life Sci.* 2022; 79 (8): 402. DOI: 10.1007/s00018-022-04433-9. PMID: 35798993; PMCID: PMC9263041.
 21. Zharhary D. Age-related changes in the capability of the bone marrow to generate B cells. *J Immunol.* 1988; 141 (6): 1863–9. PMID: 3262642.
 22. Pang WW, Price EA, Sahoo D, Beerman I, Maloney WJ, Rossi DJ, et al. Human bone marrow hematopoietic stem cells are increased in frequency and myeloid-biased with age. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108 (50): 20012–7. DOI: 10.1073/pnas.1116110108. Epub 2011 Nov 28. PMID: 22123971; PMCID: PMC3250139.
 23. Yamamoto R, Nakauchi H. In vivo clonal analysis of aging hematopoietic stem cells. *Mech Ageing Dev.* 2020; 192: 111378. DOI: 10.1016/j.mad.2020.111378. Epub 2020 Oct 3. PMID: 33022333; PMCID: PMC7686268.
 24. Ross JB, Myers LM, Noh JJ, Collins MM, Carmody AB, Messer RJ, et al. Depleting myeloid-biased haematopoietic stem cells rejuvenates aged immunity. *Nature.* 2024; 628 (8006): 162–170. DOI: 10.1038/s41586-024-07238-x. Epub 2024 Mar 27. PMID: 38538791; PMCID: PMC11870232.
 25. Kovtonyuk LV, Fritsch K, Feng X, Manz MG, Takizawa H. Inflamm-Aging of Hematopoiesis, Hematopoietic Stem Cells, and the Bone Marrow Microenvironment. *Front Immunol.* 2016; 7: 502. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00502. PMID: 27895645; PMCID: PMC5107568.
 26. Blevie A, Motta F, Durante B, Pandolfo C, Selmi C, Sica A. Immunosenescence, Inflammaging, and Frailty: Role of Myeloid Cells in Age-Related Diseases. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2023; 64 (2): 123–44. DOI: 10.1007/s12016-021-08909-7. Epub 2022 Jan 15. PMID: 35031957; PMCID: PMC8760106.
 27. Pappert M, Khosla S, Doolittle M. Influences of Aged Bone Marrow Macrophages on Skeletal Health and Senescence. *Curr Osteoporos Rep.* 2023; 21 (6): 771–78. DOI: 10.1007/s11914-023-00820-8. Epub 2023 Sep 9. PMID: 37688671; PMCID: PMC10724341.
 28. Hou J, Chen KX, He C, Li XX, Huang M, Jiang YZ, et al. Aged bone marrow macrophages drive systemic aging and age-related dysfunction via extracellular vesicle-mediated induction of paracrine senescence. *Nat Aging.* 2024; 4 (11): 1562–81. DOI: 10.1038/s43587-024-00694-0. Epub 2024 Sep 12. PMID: 39266768; PMCID: PMC11564114.
 29. de Mera-Rodríguez JA, Álvarez-Hernán G, Gañán Y, Martín-Partido G, Rodríguez-León J, Francisco-Morcillo J. Is Senescence-Associated β -Galactosidase a Reliable in vivo Marker of Cellular Senescence During Embryonic Development? *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9: 623175. DOI: 10.3389/fcell.2021.623175. PMID: 33585480; PMCID: PMC7876289.
 30. Severino J, Allen RG, Balin S, Balin A, Cristofalo VJ. Is beta-galactosidase staining a marker of senescence in vitro and in vivo? *Exp Cell Res.* 2000; 257 (1): 162–71. DOI: 10.1006/excr.2000.4875. PMID: 10854064.
 31. Coppé JP, Desprez PY, Krtolica A, Campisi J. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Annu Rev Pathol.* 2010; 5: 99–118. DOI: 10.1146/annurev-pathol-121808-102144. PMID: 20078217; PMCID: PMC4166495.

References

1. Ajoolabady A, Pratico D, Bahijri S, Tuomilehto J, Uversky VN, Ren J. Hallmarks of cellular senescence: biology, mechanisms, regulations. *Exp Mol Med.* 2025; 57 (7): 1482–91. DOI: 10.1038/s12276-025-01480-7. Epub 2025 Jul 10. PMID: 40634753; PMCID: PMC12322015.
2. Kumari R, Jat P. Mechanisms of Cellular Senescence: Cell Cycle Arrest and Senescence Associated Secretory Phenotype. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9: 645593. DOI: 10.3389/fcell.2021.645593. PMID: 33855023; PMCID: PMC8039141.
3. Hornsby PJ. Senescence as an anticancer mechanism. *J Clin Oncol.* 2007; 25 (14): 1852–7. DOI: 10.1200/JCO.2006.10.3101. PMID: 17488983.
4. Baz-Martínez M, Da Silva-Álvarez S, Rodríguez E, Guerra J, El Motiam A, et al. Cell senescence is an antiviral defense mechanism. *Sci Rep.* 2016; 6: 37007. DOI: 10.1038/srep37007. PMID: 27849057; PMCID: PMC5111111.
5. Prieur A, Besnard E, Babled A, Lemaître JM. p53 and p16(INK4A) independent induction of senescence by chromatin-dependent alteration of S-phase progression. *Nat Commun.* 2011; 2: 473. DOI: 10.1038/ncomms1473. PMID: 21915115.
6. Dasgupta N, Arnold R, Equey A, Gandhi A, Adams PD. The role of the dynamic epigenetic landscape in senescence: orchestrating SASP expression. *NPJ Aging.* 2024; 10 (1): 48. DOI: 10.1038/s41514-024-00172-2. PMID: 39448585; PMCID:

- PMC11502686.
7. Miwa S, Kashyap S, Chini E, von Zglinicki T. Mitochondrial dysfunction in cell senescence and aging. *J Clin Invest.* 2022; 132 (13): e158447. DOI: 10.1172/JCI158447. PMID: 35775483; PMCID: PMC9246372.
 8. Kwon Y, Kim JW, Jeoung JA, Kim MS, Kang C. Autophagy Is Pro-Senescence When Seen in Close-Up, but Anti-Senescence in Long-Shot. *Mol Cells.* 2017; 40(9): 607–12. DOI: 10.14348/molcells.2017.0151. Epub 2017 Sep 20. PMID: 28927262; PMCID: PMC5638768.
 9. Tilstra JS, Clauson CL, Niedernhofer LJ, Robbins PD. NF- κ B in Aging and Disease. *Aging Dis.* 2011; 2 (6): 449–65. Epub 2011 Dec 2. PMID: 22396894; PMCID: PMC3295063.
 10. Yosef R, Pilpel N, Tokarsky-Amiel R, Biran A, Ovadya Y, Cohen S, et al. Directed elimination of senescent cells by inhibition of BCL-W and BCL-XL. *Nat Commun.* 2016; 7: 11190. DOI: 10.1038/ncomms11190. PMID: 27048913; PMCID: PMC4823827.
 11. Dodig S, Čepelak I, Pavić I. Hallmarks of senescence and aging. *Biochem Med (Zagreb).* 2019; 29 (3): 030501. DOI: 10.11613/BM.2019.030501. Epub 2019 Aug 5. PMID: 31379458; PMCID: PMC6610675.
 12. Debacq-Chainiaux F, Erusalimsky JD, Campisi J, Toussaint O. Protocols to detect senescence-associated beta-galactosidase (SA-beta-gal) activity, a biomarker of senescent cells in culture and in vivo. *Nat Protoc.* 2009; 4 (12): 1798–806. DOI: 10.1038/nprot.2009.191. PMID: 20010931.
 13. Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995; 92 (20): 9363–7. DOI: 10.1073/pnas.92.20.9363. PMID: 7568133; PMCID: PMC40985.
 14. Yegorov YE, Akimov SS, Hass R, Zelenin AV, Prudovsky IA. Endogenous beta-galactosidase activity in continuously nonproliferating cells. *Exp Cell Res.* 1998; 243 (1): 207–11. DOI: 10.1006/excr.1998.4169. PMID: 9716464.
 15. Doura T, Kamiya M, Obata F, Yamaguchi Y, Hiyama TY, Matsuda T, et al. Detection of LacZ-Positive Cells in Living Tissue with Single-Cell Resolution. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2016 Aug 8; 55(33): 9620–4. DOI: 10.1002/anie.201603328. Epub 2016 Jul 12. PMID: 27400827.
 16. Franceschi C, Garagnani P, Parini P, Giuliani C, Santoro A. Inflammaging: a new immune-metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nat Rev Endocrinol.* 2018; 14 (10): 576–90. DOI: 10.1038/s41574-018-0059-4. PMID: 30046148.
 17. Liu Z, Liang Q, Ren Y, Guo C, Ge X, Wang L, et al. Immunosenescence: molecular mechanisms and diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 2023; 8 (1): 200. DOI: 10.1038/s41392-023-01451-2. PMID: 37179335; PMCID: PMC10182360.
 18. Frasca D, Diaz A, Romero M, Landin AM, Blomberg BB. Age effects on B cells and humoral immunity in humans. *Ageing Res Rev.* 2011; 10 (3): 330–5. DOI: 10.1016/j.arr.2010.08.004. Epub 2010 Aug 20. PMID: 20728581; PMCID: PMC3040253.
 19. Carey A, Nguyen K, Kandikonda P, Kruglov V, Bradley C, Dahlquist KJV, et al. Age-associated accumulation of B cells promotes macrophage inflammation and inhibits lipolysis in adipose tissue during sepsis. *Cell Rep.* 2024; 43 (3): 113967. DOI: 10.1016/j.celrep.2024.113967. Epub 2024 Mar 15. PMID: 38492219; PMCID: PMC11014686.
 20. Mouat IC, Goldberg E, Horwitz MS. Age-associated B cells in autoimmune diseases. *Cell Mol Life Sci.* 2022; 79 (8): 402. DOI: 10.1007/s00018-022-04433-9. PMID: 35798993; PMCID: PMC9263041.
 21. Zharhary D. Age-related changes in the capability of the bone marrow to generate B cells. *J Immunol.* 1988; 141 (6): 1863–9. PMID: 3262642.
 22. Pang WW, Price EA, Sahoo D, Beerman I, Maloney WJ, Rossi DJ, et al. Human bone marrow hematopoietic stem cells are increased in frequency and myeloid-biased with age. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108 (50): 20012–7. DOI: 10.1073/pnas.1116110108. Epub 2011 Nov 28. PMID: 22123971; PMCID: PMC3250139.
 23. Yamamoto R, Nakauchi H. In vivo clonal analysis of aging hematopoietic stem cells. *Mech Ageing Dev.* 2020; 192: 111378. DOI: 10.1016/j.mad.2020.111378. Epub 2020 Oct 3. PMID: 33022333; PMCID: PMC7686268.
 24. Ross JB, Myers LM, Noh JJ, Collins MM, Carmody AB, Messer RJ, et al. Depleting myeloid-biased haematopoietic stem cells rejuvenates aged immunity. *Nature.* 2024; 628 (8006): 162–170. DOI: 10.1038/s41586-024-07238-x. Epub 2024 Mar 27. PMID: 38538791; PMCID: PMC11870232.
 25. Kovtonyuk LV, Fritsch K, Feng X, Manz MG, Takizawa H. Inflamm-Aging of Hematopoiesis, Hematopoietic Stem Cells, and the Bone Marrow Microenvironment. *Front Immunol.* 2016; 7: 502. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00502. PMID: 27895645; PMCID: PMC5107568.
 26. Blevie A, Motta F, Durante B, Pandolfo C, Selmi C, Sica A. Immunosenescence, Inflammaging, and Frailty: Role of Myeloid Cells in Age-Related Diseases. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2023; 64 (2): 123–44. DOI: 10.1007/s12016-021-08909-7. Epub 2022 Jan 15. PMID: 35031957; PMCID: PMC8760106.
 27. Pappert M, Khosla S, Doolittle M. Influences of Aged Bone Marrow Macrophages on Skeletal Health and Senescence. *Curr Osteoporos Rep.* 2023; 21 (6): 771–78. DOI: 10.1007/s11914-023-00820-8. Epub 2023 Sep 9. PMID: 37688671; PMCID: PMC10724341.
 28. Hou J, Chen KX, He C, Li XX, Huang M, Jiang YZ, et al. Aged bone marrow macrophages drive systemic aging and age-related dysfunction via extracellular vesicle-mediated induction of paracrine senescence. *Nat Aging.* 2024; 4 (11): 1562–81. DOI: 10.1038/s43587-024-00694-0. Epub 2024 Sep 12. PMID: 39266768; PMCID: PMC11564114.
 29. de Mera-Rodríguez JA, Álvarez-Hernán G, Gañán Y, Martín-Partido G, Rodríguez-León J, Francisco-Morcillo J. Is Senescence-Associated β -Galactosidase a Reliable in vivo Marker of Cellular Senescence During Embryonic Development? *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9: 623175. DOI: 10.3389/fcell.2021.623175. PMID: 33585480; PMCID: PMC7876289.
 30. Severino J, Allen RG, Balin S, Balin A, Cristofalo VJ. Is beta-galactosidase staining a marker of senescence in vitro and in vivo? *Exp Cell Res.* 2000; 257 (1): 162–71. DOI: 10.1006/excr.2000.4875. PMID: 10854064.
 31. Coppé JP, Desprez PY, Krtolica A, Campisi J. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Annu Rev Pathol.* 2010; 5: 99–118. DOI: 10.1146/annurev-pathol-121808-102144. PMID: 20078217; PMCID: PMC4166495.