


doi 10.18699/vjgb-25-118

## Старение кожи связано с локальным дисбалансом в Т-клеточном иммунитете

К.С. Матвеева, С.К. Колмыков, Т.С. Соколова, Д.Р. Салимов, Д.В. Шевырев  

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

 dr.daniil25@mail.ru

**Аннотация.** Старение организма сопровождается накоплением поврежденных нефункциональных клеток, которые называют сенесцентными. Эти клетки находятся в состоянии ареста клеточного цикла, устойчивы к апоптозу, имеют нарушенный метаболизм, а также продуцируют широкий спектр провоспалительных факторов – цитокинов, хемокинов, протеаз, молекул адгезии и продуктов арахидонового каскада. Накопление таких клеток с возрастом связано с нарушением функций тканей, способствует хроническому воспалению (inflammaging) и развитию различных возраст-ассоциированных заболеваний. В свою очередь, элиминация сенесцентных клеток восстанавливает тканевые функции и позитивно сказывается на общем метаболизме. В норме сенесцентные клетки удаляются системой врожденного иммунитета, однако с возрастом эффективность этого процесса падает. При этом участие адаптивного иммунитета и роль Т-лимфоцитов в удалении сенесцентных клеток остаются неизученными. Целью исследования был поиск изменений в локальном Т-клеточном иммунитете, которые связаны с накоплением сенесцентных клеток в коже человека. Анализ проводился на открытых данных РНК секвенирования единичных клеток биоптатов кожи. Сенесцентный статус клеток оценивали при помощи алгоритма SenePy с применением смешанных гауссовских моделей. Было выявлено, что появление клеток с выраженными признаками сенесцентности в пределах ткани происходит неравномерно среди клеточных типов. Накопление этих клеток ассоциировано с изменением соотношения популяций CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> лимфоцитов, а также сопряжено с увеличением содержания регуляторных Т-лимфоцитов. В ходе функционального анализа обнаружено, что данные количественные изменения с возрастом сопровождаются более выраженной активацией регуляторных Т-лимфоцитов совместно с анергией и истощением CD8<sup>+</sup> лимфоцитов, тогда как функциональные изменения CD4<sup>+</sup> лимфоцитов имеют гетерогенный характер. Полученные результаты подчеркивают значение адаптивного иммунитета в поддержании тканевого гомеостаза и указывают на потенциальную дисфункцию эффекторных тканевых Т-лимфоцитов, которая возникает с возрастом. Понимание механизмов взаимодействия адаптивного иммунитета с сенесцентными клетками важно в контексте разработки сенолитических вакцин и других иммунологических подходов, направленных на усиление эндогенной элиминации сенесцентных клеток.

**Ключевые слова:** сенесцентность; адаптивный иммунитет; регуляторные Т-лимфоциты; транскриптом единичных клеток; старение; генетические сигнатуры; тканерезидентные Т-лимфоциты; элиминация сенесцентных клеток; кожа

**Для цитирования:** Матвеева К.С., Колмыков С.К., Соколова Т.С., Салимов Д.Р., Шевырев Д.В. Старение кожи связано с локальным дисбалансом в Т-клеточном иммунитете. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(7):1137-1144. doi 10.18699/vjgb-25-118

**Финансирование.** Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 24-15-20003, <https://rscf.ru/project/24-15-20003/>

## Senescent cell accumulation is associated with T-cell imbalance in the skin

K.S. Matveeva, S.K. Kolmykov, T.S. Sokolova, D.R. Salimov, D.V. Shevyrev  

Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar region, Russia

 dr.daniil25@mail.ru

**Abstract.** Organismal aging is accompanied by the accumulation of senescent cells – damaged, non-functional cells that exhibit cell cycle arrest, resistance to apoptosis, metabolic dysfunction, and production of a wide range of pro-inflammatory substances. The age-related accumulation of these cells is associated with impaired tissue function, contributes to chronic inflammation (inflammaging), and promotes the development of various age-associated diseases. Conversely, the elimination of senescent cells restores tissue functions and positively affects overall metabolism. Under normal conditions, senescent cells are removed by the innate immune system; however, the efficiency of this process declines with age. The involvement of adaptive immunity and the role of T cells in

the clearance of senescent cells remain poorly understood. The aim of this study was to identify alterations in local T cell immunity associated with the accumulation of senescent cells in human skin. The analysis was performed on publicly available single-cell RNA-sequencing data from skin biopsies, and the senescent status was assessed using the SenePy algorithm with Gaussian mixture models. It was found that the emergence of senescent cells occurs heterogeneously across cell types within the tissue. The accumulation of these cells is associated with alterations in the CD4<sup>+</sup> to CD8<sup>+</sup> T cell ratio, as well as with an increased abundance of regulatory T cells. Functional analysis revealed that these quantitative age-related shifts were accompanied by more pronounced activation of regulatory T cells together with features of anergy and exhaustion in CD8<sup>+</sup> T cells, whereas functional changes in CD4<sup>+</sup> T cells were heterogeneous. These findings underscore the importance of adaptive immunity in maintaining tissue homeostasis and suggest potential age-related dysfunction of tissue-resident T cells. Understanding the mechanisms underlying the interaction between adaptive immunity and senescent cells is crucial for the development of senolytic vaccines and other immunological approaches aimed at enhancing endogenous elimination of senescent cells.

**Key words:** senescence; adaptive immunity; regulatory T cells; single-cell transcriptome; aging; genetic signatures; tissue-resident T cells; senescent cell elimination; skin

**For citation:** Matveeva K.S., Kolmykov S.K., Sokolova T.S., Salimov D.R., Shevyrev D.V. Senescent cell accumulation is associated with T-cell imbalance in the skin. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov J Genet Breed.* 2025;29(7): 1137-1144. doi 10.18699/vjgb-25-118

## Введение

Сенесцентность – это состояние необратимой остановки клеточного цикла, которое возникает в ответ на различные стрессовые факторы, включающие репликативное истощение, повреждение ДНК, укорочение теломер, окислительный стресс и активацию онкогенов (Regulski, 2017; Di Micco et al., 2021). Сенесцентные клетки устойчивы к апоптозу, имеют сниженную функцию, нарушенный метаболизм и различные aberrации в машинерии контроля качества белков. Важная особенность таких клеток – постоянная продукция широкого спектра провоспалительных факторов (так называемый SASP фенотип – senescence-associated secretory phenotype), являющаяся одной из главных причин хронического вялотекущего воспаления, которое наблюдается при старении (inflammaging). Хотя сенесцентности отводится роль противоопухолевой защиты, длительное присутствие и накопление сенесцентных клеток приводит к нарушению функций тканей и органов, а также способствует возрастным и дегенеративным заболеваниям (Di Micco et al., 2021; Liao et al., 2021; Witham et al., 2023).

В исследованиях на животных моделях показано, что удаление сенесцентных клеток улучшает функцию тканей и метаболизм, увеличивает продолжительность жизни и замедляет развитие возрастных заболеваний (Yousefzadeh et al., 2019; Yang et al., 2023). В норме сенесцентные клетки удаляются иммунной системой, причем механизмы врожденного иммунитета в этом контексте изучены наиболее подробно. NK-клетки распознают их с помощью рецептора NKG2D, а затем элиминируют перфорин-гранзимовым путем и за счет секреции IFN-γ (Antonangeli et al., 2019). iNKT-клетки также могут устранять сенесцентные клетки при активации гликолипидными антигенами (Agora et al., 2021). Макрофаги, привлеченные факторами SASP, поглощают сенесцентные клетки при ремоделировании тканей (Song P. et al., 2020). С возрастом способность организма удалять сенесцентные клетки снижается, по-видимому, из-за старения самой иммунной системы. Это приводит к увеличению сенесцентной нагрузки, хроническому воспалению, дисфункции тканей и способствует развитию возрастных заболеваний (Song S. et al., 2020; Hense et al., 2024).

Несмотря на обширные исследования в области физиологической элиминации сенесцентных клеток, о роли адаптивного иммунитета в их удалении известно мало (Matveeva et al., 2024). Традиционные методы не позволяют адекватно воссоздать сложную трехмерную архитектуру тканей, где происходят ключевые взаимодействия между компонентами адаптивного иммунитета и сенесцентными клетками. Значительная часть Т-лимфоцитов находится в тканях, не выходит в циркуляцию и обладает функциональными свойствами, отличающимися от периферических Т-лимфоцитов (Li et al., 2025). В свою очередь, сенесцентные клетки локализованы преимущественно в паренхиме и строме органов, где могут формировать микросреду, влияющую на эффективность иммунного ответа (Zhang W. et al., 2024). В этом контексте данные транскриптома единичных клеток (scRNA-seq), полученные непосредственно из тканей, имеют особое значение, поскольку позволяют выявить сенесцентные клетки в разных клеточных типах, а также оценить основные характеристики адаптивного иммунитета по содержанию тех или иных субпопуляций и по их функциональной компетентности. Благодаря сохранению тканевого контекста данные scRNA-seq из различных тканей позволяют соотнести накопление сенесцентных клеток с изменениями (численными и функциональными) в различных популяциях Т-лимфоцитов – основными эффекторами адаптивного иммунитета (Kim S., Kim C., 2021).

В этом исследовании мы использовали данные scRNA-seq из открытых источников, чтобы оценить, связано ли возрастное накопление стареющих клеток в тканях с изменениями в пуле Т-лимфоцитов соответствующей ткани. В настоящее время принято считать, что старение разных типов клеток происходит и проявляется по-разному (Cohn et al., 2023). Кроме того, отсутствуют достоверные и уникальные маркеры сенесцентности, универсальные для всех сенесцентных клеток. Поэтому для определения сенесцентного статуса клеток мы применяли алгоритм SenePy, который вместо традиционного анализа дифференциальной экспрессии находит сетевые кластеры ко-экспрессии генов, ассоциированные со старением (Sanborn et al., 2025). Старение кожи – это многогранный процесс, который связан с действием разнообразных повреждаю-

щих факторов в течение жизни. Накопление стареющих клеток, нарушение архитектуры дермального матрикса и деградация эластиновых волокон совместно с нарушением барьерной функции – это основные признаки старения кожи (Shin et al., 2025). В нашем исследовании выявление сенесцентных клеток в каждом клеточном типе кожи человека наряду с оценкой содержания различных субпопуляций Т-лимфоцитов позволило выявить значимые возрастные изменения тканевых Т-лимфоцитов, которые были ассоциированы с накоплением сенесцентных клеток.

## Материалы и методы

Для проведения анализа были взяты данные scRNA-seq, опубликованные в базах GEO NCBI и GSA-Human. В автоматическом режиме были собраны данные секвенирования биоптатов кожи, полученных от здоровых доноров ( $n = 32$ ) в возрасте от 18 до 76 лет (табл. S1 Приложения)<sup>1</sup>.

Матрицы подсчетов UMI (Unique Molecular Identifiers) были получены из сырых прочтений с использованием программы 10x Genomics Cell Ranger v.9.0.1. Обработку матриц и метаданных проводили преимущественно в пакете Scanpy (Wolf et al., 2018). Предварительно из образцов были исключены клетки с низким числом прочтений ( $>5$  MAD (median absolute deviations) и менее 500 UMI на клетку), низким числом экспрессированных генов ( $>5$  MAD), а также высокой долей экспрессии митохондриальных генов ( $>4$  MAD, или более 15 %). Выявление и фильтрация дуплетов осуществлялись с использованием пакета Scrublet (Wolock et al., 2019).

Далее образцы объединяли в единый набор данных и подготавливали к кластеризации, что включало в себя нормализацию (`scanpy.pp.normalize_total(target_sum=1e4)`), логарифмирование, масштабирование, снижение размерности с помощью анализа главных компонент и коррекцию батч-эффекта путем применения алгоритма Harmony (Korsunsky et al., 2019). Аннотацию клеточных типов проводили на лог-нормализованных данных с использованием инструмента CellTypist (Domínguez Conde et al., 2022), в основе которого лежат предсуществующие классификаторы логистической регрессии. Для аннотации была выбрана модель “Adult\_Human\_Skin” (Reynolds et al., 2021), содержащая информацию о различных типах дермальных, эпидермальных и иммунных клеток кожи человека. Для контроля и уточнения автоматической аннотации клетки кластеризовали с помощью алгоритма Лейдена. Кластеры сопоставляли с результатами автоматической аннотации и, при необходимости, корректировали ее. Последовательность обработки данных представлена на рис. 1. Контроль аннотации субпопуляций Т-лимфоцитов выполнялся особо тщательно. Для этого кластер, соответствующий Т-лимфоцитам, выделяли из общего набора данных, предобработывали начиная с исходных значений матрицы подсчетов UMI для более точного представления клеток в пространстве сниженной размерности и корректировали аннотацию при необходимости. Образцы с низкой представленностью конкретных клеточных типов исключались из анализа на соответствующих этапах исследования.

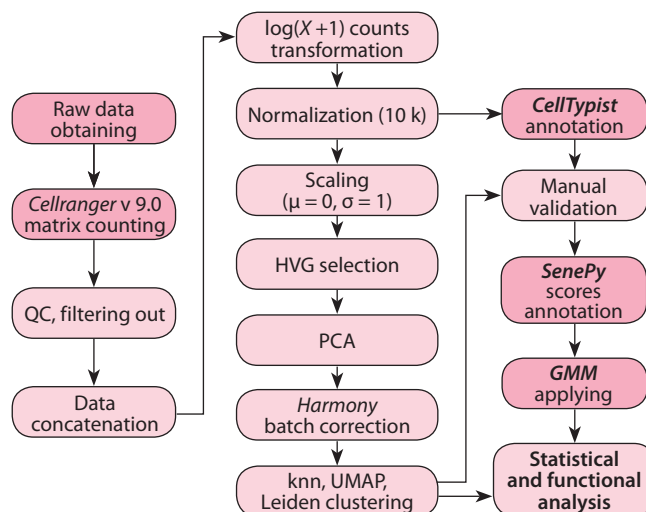


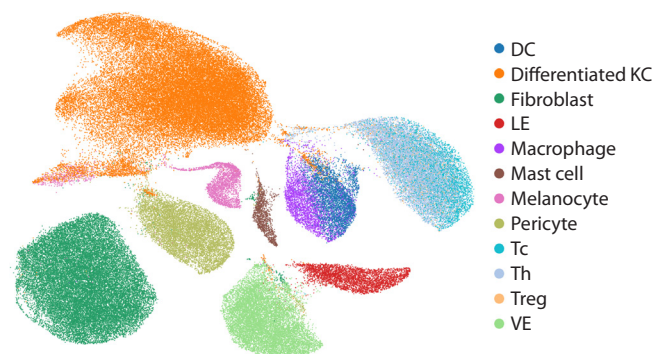
Рис. 1. Схематическое отображение последовательности обработки данных.

Известные маркеры клеточного старения специфичны для конкретных клеточных типов и плохо характеризуют состояние сенесцентности *in vivo*. Поэтому сенесцентный статус клеток оценивали с помощью опубликованного в 2025 г. алгоритма SenePy (Sanborn et al., 2025), позволяющего отличить специфические маркеры старения от генов, экспрессия которых повышается по причинам, не связанным с сенесцентностью. Поиск генов, потенциально связанных с возрастным накоплением сенесцентных клеток, в этом алгоритме происходит таким образом, чтобы ген присутствовал менее чем в 5 % молодых клеток, более чем в 1 % и менее чем в 20 % старых клеток. При этом доля клеток с данным геном в пожилом возрасте должна быть как минимум в 2.5 раза выше, чем в молодом, или абсолютный прирост доли клеток с геном (разница между старыми и молодыми донорами) должен быть больше 5 %. Это позволяет выявить набор генетических сигнатур сенесцентности, специфичных для каждого клеточного типа в ткани, что, в свою очередь, позволяет более точно определять сенесцентные клетки в образцах *ex vivo* по сравнению с традиционными методами. В результате каждой клетке присваивается числовая оценка *SenePy score*, отражающая степень соответствия ее профиля экспрессии конкретной сигнатуре сенесцентности.

После применения алгоритма SenePy модели смешанных гауссовских распределений (GMM) использовались для анализа распределения *SenePy score* клеток в каждом клеточном типе. В зависимости от распределения *SenePy score* в конкретном типе клеток модель включала в себя два или три компонента. Порог назначения клетке статуса сенесцентной определялся как значение между двумя последними компонентами GMM. Такой подход позволил количественно оценить долю клеток, имеющих выраженные признаки сенесцентности.

Корреляционный анализ проводили с помощью функции `spearmanr()` из модуля `scipy.stats` для вычисления коэффициента ранговой корреляции Спирмена и *p*-value. В условиях множественных сравнений применяли поправку Бонферрони.

<sup>1</sup> Табл. S1–S4 и рис. S1 Приложения см. по адресу:  
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2025-29/appx42.zip>



**Рис. 2.** Аннотация клеточных типов кожи человека с помощью инструмента CellTypist.

DC – дендритные клетки; KC – кератиноциты; LE – клетки лимфоидного эпителия; Tc – цитотоксические (классический фенотип – CD3+CD8+) T-лимфоциты; Th – Т-хелперы (классический фенотип – CD3+CD4+); Treg – регуляторные Т-лимфоциты (классический фенотип – CD3+CD4+FoxP3+); VE – эндотелиоциты.

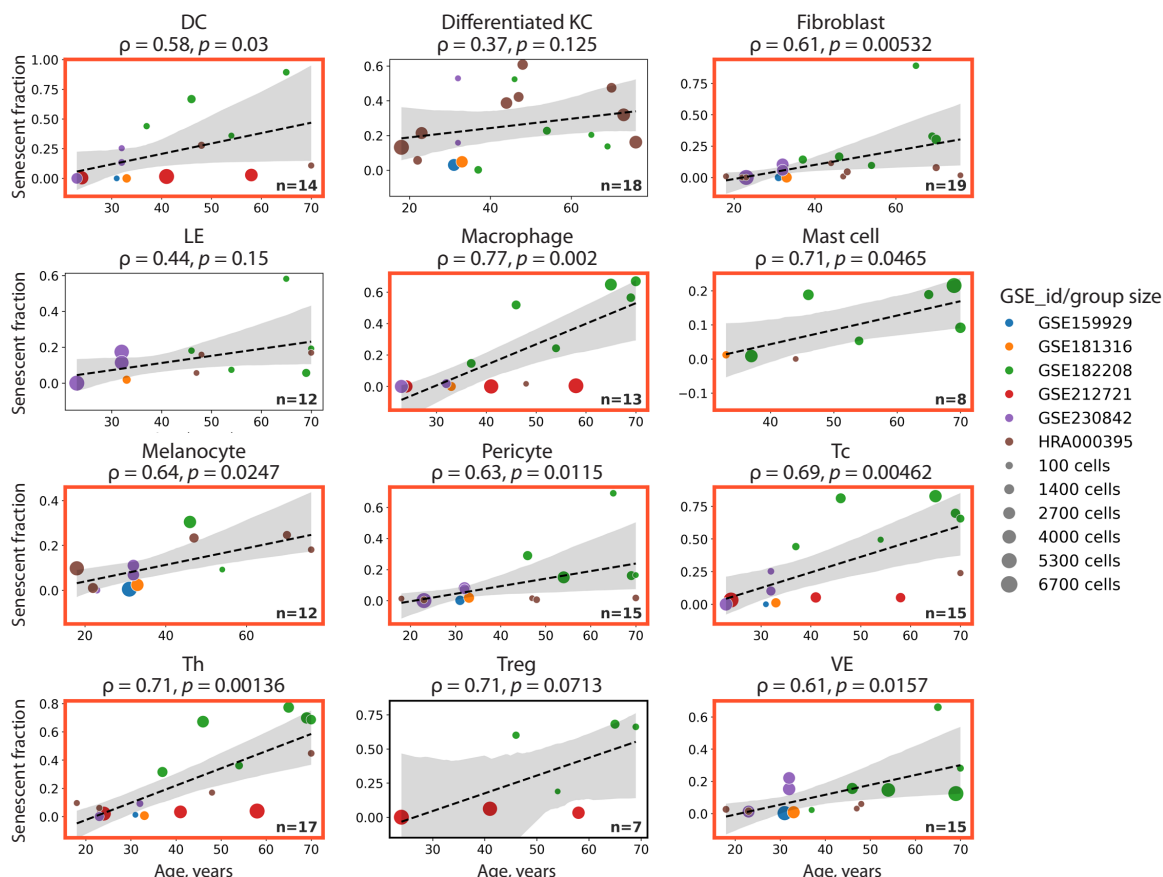
Для анализа дифференциально экспрессированных генов (ДЭГ) в популяциях Т-лимфоцитов молодых и старых доноров применяли функцию `rank_genes_groups()` пакета Scanpy с использованием U-критерия Манна–Уитни. Дифференциально экспрессированными считали гены с

FDR < 0.01, присутствующие в более 10 % клеток внутри группы интереса и менее 50 % клеток группы сравнения. Анализ функционального обогащения ДЭГ производили при помощи функции `enricher()` пакета clusterProfiler (Yu et al., 2021) на языке программирования R. Для анализа были взяты генные сигнатуры из коллекций C5 (ontology gene sets) и C7 (immunologic signature gene sets) базы данных MSigDB (Subramanian et al., 2005). Сигнатуры, для которых было показано достоверное обогащение, объединяли в функциональные группы вручную.

## Результаты

Для выявления сенесцентных клеток в тканях кожи человека мы адаптировали и использовали недавно опубликованный алгоритм SenePy (Sanborn et al., 2025) с последующим применением GMM. Анализ проводился на основных популяциях клеток кожи, которые были аннотированы ранее (рис. 2).

В результате мы выявили значительное возрастное повышение содержания таких клеток в различных клеточных типах образцов кожи (рис. 3). В частности, мы наблюдали увеличение доли сенесцентных клеток с возрастом в тканерезидентных дендритных клетках, макрофагах, Т-лимфоцитах, кератиноцитах, меланоцитах, фибробластах, перицитах и эндотелиальных клетках. При этом ско-



**Рис. 3.** Корреляции накопления сенесцентных клеток в разных клеточных типах кожи человека в зависимости от возраста.

Для каждого клеточного типа оценивалось число клеток; если оно было ниже 2SD от среднего числа по всем донорам, то образец исключался из анализа. Красными рамками выделены значимые корреляции. DC – дендритные клетки; KC – кератиноциты; LE – клетки лимфоидного эпителия; Tc – цитотоксические Т-лимфоциты; Th – Т-хелперы; Treg – регуляторные Т-лимфоциты; VE – эндотелиоциты.



рость накопления различалась между типами клеток, что отражает гетерогенность старения разных клеточных типов в пределах одной ткани.

Проведенный анализ выявил значительное накопление клеток с признаками сенесцентности в коже с возрастом, что согласуется с предыдущими данными о роли сенесцентности как одного из ключевых признаков старения тканей (Childs et al., 2015). Общее число сенесцентных клеток среди всех типов клеток тоже положительно коррелировало с возрастом (рис. 4), что указывает на прогрессирующее нарушение тканевого гомеостаза. Так как сенесцентные клетки не пролиферируют из-за устойчивого ареста клеточного цикла, их накопление с возрастом может быть связано со снижением эффективности механизмов, способствующих их элиминации.

В связи с этим мы решили проанализировать, как меняется содержание основных субпопуляций Т-лимфоцитов в коже в зависимости от возраста. Корреляционный анализ не выявил достоверного изменения содержания трех анализируемых субпопуляций Т-лимфоцитов, а также основных иммунологических индексов с возрастом (рис. 5). Поскольку мы не выявили возрастных изменений среди тканевых Т-лимфоцитов, дальнейший интерес представляло изучение потенциальной связи между популяциями Т-лимфоцитов и накоплением сенесцентных клеток вне возрастного контекста.

Разные клеточные типы могут отличаться скоростью старения или иммуногенностью сенесцентных клеток, что может объяснить разницу в накоплении таких клеток с возрастом. Сначала мы решили проверить наличие каких-либо изменений в популяциях кожных Т-лимфоцитов, связанных с накоплением сенесцентных клеток. Мы оценили связь накопления сенесцентных клеток в том или ином клеточном типе с содержанием субпопуляций Т-лимфоцитов (рис. S1). Было обнаружено повышение содержания Т-лимфоцитов при накоплении сенесцентных периферических, а также незначительные тенденции ( $p < 0.07$ )

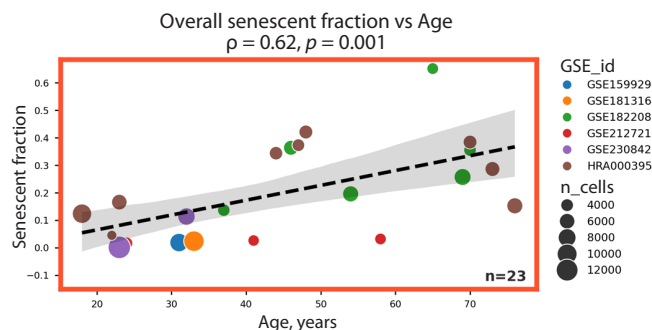


Рис. 4. Содержание сенесцентных клеток по всем клеточным типам в зависимости от возраста.

повышения числа регуляторных Т-лимфоцитов в зависимости от накопления сенесцентных клеток в некоторых клеточных типах.

На следующем этапе мы исследовали, как меняется содержание различных популяций Т-лимфоцитов в зависимости от общего числа сенесцентных клеток. Было выявлено значительное увеличение содержания Т-хелперов и регуляторных Т-лимфоцитов при повышении суммарного числа сенесцентных клеток из всех клеточных типов (рис. 6). Кроме того, следует подчеркнуть значимое повышение «тканевого иммунорегуляторного индекса», который отражает преобладание Т-хелперов над цитотоксическими лимфоцитами.

Таким образом, нами выявлена связь между накоплением сенесцентных клеток в коже человека и дисбалансом Т-клеточного иммунитета. Она выражалась повышением содержания регуляторных лимфоцитов и Т-хелперов, а также снижением числа цитотоксических лимфоцитов. При этом связи с возрастом обнаружено не было, что подчеркивает роль взаимодействия Т-клеточного иммунитета с сенесцентными клетками.

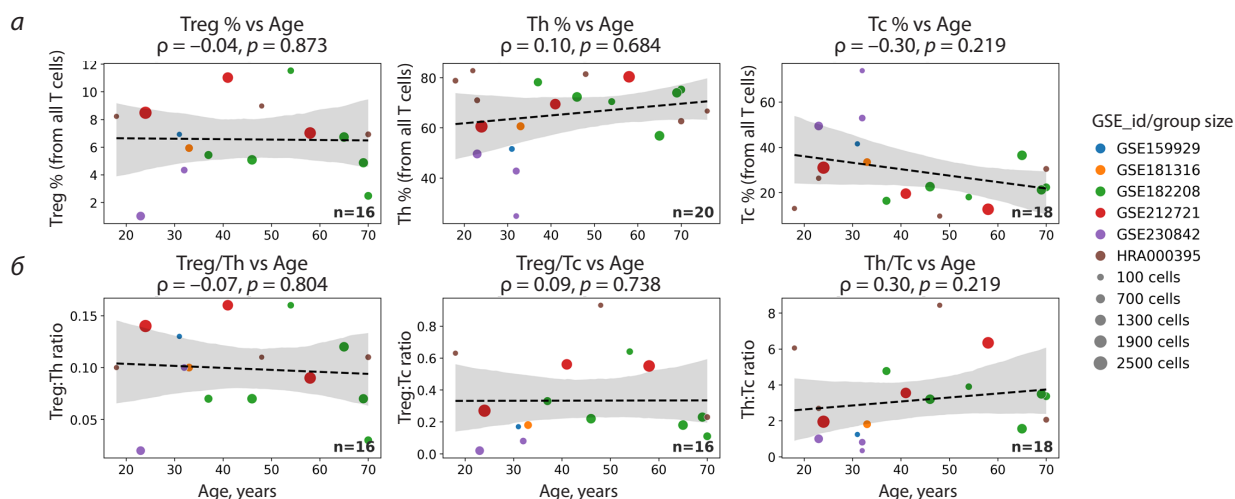
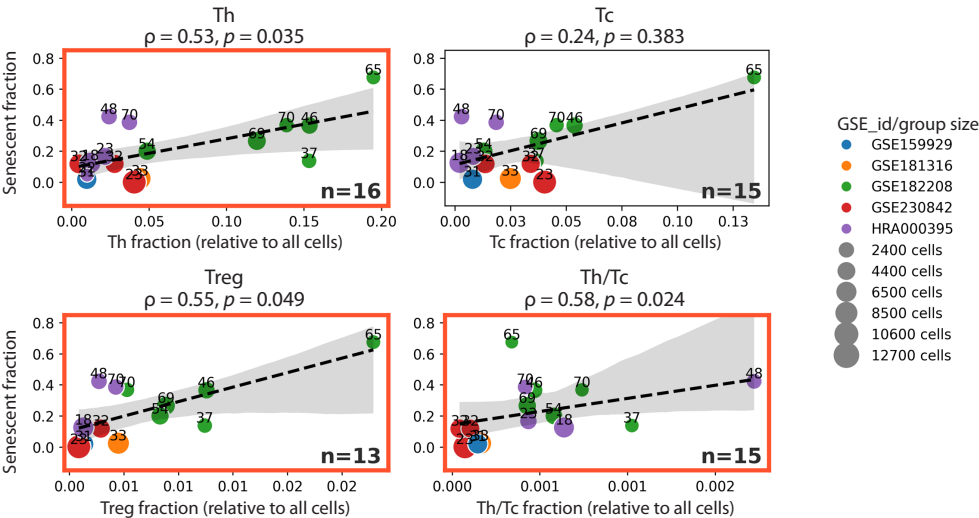


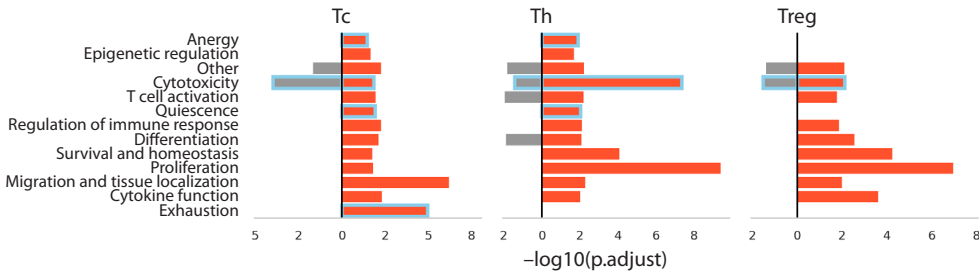
Рис. 5. Возрастное изменение содержания основных популяций Т-лимфоцитов (а), а также их соотношений (б).

Приведенные иммунологические индексы (соотношения Th/Tc, Treg/Tc и Treg/Th) позволяют с большей точностью и чувствительностью оценить состояние иммунитета в различных компрометирующих состояниях. На рисунке представлено содержание каждой популяции Т-лимфоцитов относительно их общего числа, что отражает баланс субпопуляций внутри всего пула кожных Т-лимфоцитов. Treg – регуляторные Т-лимфоциты; Th – Т-хелперы; Tc – цитотоксические Т-лимфоциты.



**Рис. 6.** Содержание основных популяций Т-лимфоцитов в зависимости от суммарного числа сенесцентных клеток.

Отражено содержание каждой популяции Т-лимфоцитов относительно общего числа всех клеток. Такой подход позволяет представить возрастные изменения в содержании субпопуляций Т-лимфоцитов относительно всех клеточных типов кожи, а не только изменения в пределах общей популяции тканевых Т-лимфоцитов. Это имеет физиологический смысл и лучше отражает изменения, связанные с накоплением клеток с признаками сенесценции. Th – Т-хелперы; Тс – цитотоксические Т-лимфоциты; Трег – регуляторные Т-лимфоциты.



**Рис. 7.** Результаты анализа функционального обогащения генов, дифференциально экспрессированных у пожилых доноров в сравнении с молодыми, в пуле тканевых Т-лимфоцитов.

Оранжевые столбцы соответствуют обогащению функциональных путей генами с повышенной экспрессией, серые – генами с пониженной экспрессией. Ось X отображает логарифмическое преобразование  $p$ -value после FDR-коррекции, при котором большее значение соответствует более выраженному обогащению. Тс – цитотоксические Т-лимфоциты; Th – Т-хелперы; Трег – регуляторные Т-лимфоциты.

Выявленные нами на предыдущих этапах изменения в пуле тканевых Т-лимфоцитов подчеркивают вовлеченность адаптивного иммунитета в процессы старения тканей. Однако они не отражают функциональные особенности регуляторных Т-лимфоцитов, Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов. Поэтому далее мы отобрали ДЭГ и провели анализ функционального обогащения по популяциям Т-лимфоцитов (см. Материалы и методы) для поиска обогащенных подмножеств генов в клетках пожилых доноров в сравнении с молодыми (рис. 7).

В результате анализа обнаружено статистически значимое обогащение путей, связанных с повышенной функциональной активностью Т-хелперов, тканевой адаптацией, дифференцировкой и ответом на цитокины, участвующие в гомеостазе этих клеток. Также встречалось обогащение путей, характерных для покоящихся (quiescence) клеток и клеток в состоянии анергии (отмечено голубыми рамками). При этом данная популяция Т-лимфоцитов не имела явных признаков истощения. Возрастные из-

менения, обнаруженные в популяции цитотоксических Т-лимфоцитов, были связаны с обогащением типичных для покоящихся клеток путей, состоянием анергии и истощением. Любопытно, что в этой популяции Т-лимфоцитов тоже наблюдалось значимое подавление путей, ассоциированных с их прямой функцией – цитотоксичностью. Напротив, регуляторные Т-лимфоциты не имели признаков покоящихся клеток (quiescence), анергии и истощения и наряду с Т-хелперами характеризовались повышенной функциональной и пролиферативной активностью. Также они имели обогащение генов, связанных с дифференцировкой и ответом на гомеостатические цитокины IL-2, IL-7 и IL-15, которые необходимы для тканевого поддержания регуляторных Т-лимфоцитов (табл. S2).

Таким образом, был проведен анализ функционального обогащения ДЭГ, идентифицированных с использованием данных scRNA-seq. Это позволило выявить признаки истощения и снижения функциональной активности в популяции цитотоксических лимфоцитов. При этом регу-

ляторные Т-лимфоциты отличались повышенной функциональной активностью и не имели признаков истощения или анергии. Изменения в популяции Т-хелперов носили более гетерогенный характер: наряду с повышением функциональной активности наблюдались признаки, типичные для анергии и покоящихся клеток.

## Обсуждение

Накопление сенесцентных клеток – ключевой признак старения тканей, тесно связанный с развитием вялотекущего системного воспаления, которое является фактором риска развития возрастных заболеваний (Franceschi et al., 2018). С помощью современного алгоритма поиска сигнатур сенесцентных клеток мы показали, что в коже человека с возрастом увеличивается число клеток с признаками сенесценции. При этом старение происходит неравномерно и затрагивает не все клеточные типы, что подчеркивает гетерогенность траекторий старения различных клеточных типов и многогранность процесса тканевого старения (Ge et al., 2022).

Иммунная система играет центральную роль в элиминации сенесцентных клеток. Провоспалительное микроокружение сенесцентных клеток привлекает макрофаги, нейтрофилы, NK и NKT-клетки (natural killer и natural killer T-cells соответственно), а также другие факторы неспецифического иммунитета, которые участвуют в распознавании и уничтожении сенесцентных клеток (Song P. et al., 2020). Хотя накапливается все больше сведений об участии Т-лимфоцитов в перечисленных выше процессах, роль адаптивного иммунитета остается неясной (Matveeva et al., 2024). Согласно нашим данным, накопление сенесцентных клеток ассоциировано с дисбалансом в локальном Т-клеточном иммунитете. Это свидетельствует об участии Т-лимфоцитов в процессе регуляции содержания сенесцентных клеток. Любопытно, что увеличение числа сенесцентных клеток ассоциировалось с увеличением доли регуляторных Т-лимфоцитов, а также с увеличением соотношения Th/Ts. Такой сдвиг указывает на формирование супрессорного микроокружения, которое может способствовать ускользанию сенесцентных клеток от элиминации иммунитетом (Zhang W. et al., 2024). Это предположение подкрепляется результатами анализа функционального состояния популяций Т-лимфоцитов пожилых доноров. Так, в популяции цитотоксических Т-лимфоцитов были выявлены признаки истощения и снижения функционального потенциала. В то же время регуляторные Т-лимфоциты и Т-хелперы имели признаки высокой функциональной активности и тканевой адаптации. Таким образом, в коже пожилых доноров наблюдались количественные и функциональные изменения в пуле тканевых Т-лимфоцитов, которые могут благоприятствовать формированию периферической толерантности к антигенам сенесцентных клеток. Это согласуется с гипотезой, согласно которой иммунная система с возрастом теряет способность распознавать и эффективно элиминировать сенесцентные клетки, что содействует их накоплению (Song P. et al., 2020).

Известно, что сенесцентные клетки могут не только формировать воспалительное микроокружение, но также подавлять функции эффекторных Т-лимфоцитов и ускользать от иммунологического надзора (Lorenzo et

al., 2022). Так, продукция некоторых хемокинов привлекает регуляторные Т-лимфоциты, а опосредованная сенесцентными клетками дифференцировка моноцитов в макрофаги 2-го типа приводит к подавлению активации цитотоксических Т-лимфоцитов (Zhang X. et al., 2024). Более того, в стареющих клетках активируются эндогенные ретротранспозоны, в частности LINE-1, что запускает IFN- $\gamma$ -опосредованный ответ (Zhang X. et al., 2020). Этот механизм аналогичен противовирусному иммунному ответу и может способствовать формированию хронического воспаления, а также истощению цитотоксических лимфоцитов, которое мы также наблюдаем в группе пожилых доноров.

Таким образом, наши данные свидетельствуют о том, что пул Т-лимфоцитов кожи претерпевает значительную функциональную перестройку с возрастом. Снижение цитотоксической активности в сочетании с усилением функций регуляторных Т-лимфоцитов может формировать иммунологическую толерантность, поддерживающую накопление сенесцентных клеток и развитие так называемого воспалительного старения (inflammaging). По-видимому, это активный процесс формирования периферической толерантности к ассоциированным с сенесценцией антигенам, при котором иммунная система теряет способность распознавать и элиминировать сенесцентные клетки. Выявленный дисбаланс в популяциях тканевых Т-лимфоцитов представляет потенциальную мишень для терапевтического вмешательства, направленного на восстановление иммунного надзора и элиминацию стареющих клеток.

## Заключение

В настоящем исследовании с помощью методов биоинформатического анализа, проведенного на открытых данных секвенирования РНК единичных клеток, полученных из биоптатов кожи здоровых доноров, нами были выявлены ассоциированные со старением изменения в тканевом адаптивном иммунитете. Так, нами показано, что старение кожи, выражающееся накоплением сенесцентных клеток в разных клеточных типах, связано с изменением баланса между Т-хелперами и цитотоксическими лимфоцитами, а также с накоплением регуляторных Т-лимфоцитов. При этом функциональный анализ выявил общее снижение цитотоксической активности в тканевых Т-лимфоцитах на фоне активации регуляторных функций. По-видимому, такие изменения отражают компенсаторные изменения в пуле тканевых Т-лимфоцитов, связанные с накоплением и персистенцией сенесцентных клеток, формирующих постоянную воспалительную среду в ткани. В этом случае изменения в пуле тканевых Т-лимфоцитов направлены на формирование иммуносупрессорной среды, что, вероятно, вносит вклад в возрастное снижение эффективности элиминации сенесцентных клеток.

Исследование данных scRNA-seq предоставляет мощный инструмент для изучения взаимодействий иммунной системы с сенесцентными клетками на тканевом уровне. Сохранение тканевого контекста позволяет выявлять физиологические сигнатуры старения, а также анализировать наборы генов, ассоциированные с активацией или подавлением тех или иных компонентов иммунного ответа. Однако этот подход имеет ограничения. Утрата инфор-

мации о пространственной архитектуре ткани снижает возможность непосредственной оценки клеточных взаимодействий. Кроме того, различные технические искажения, связанные с пробоподготовкой и объединением данных из разных источников, требуют тщательной предобработки, коррекции батч-эффектов и нормализации, что может вносить значительную погрешность в полученные результаты. Поэтому в будущем для более глубокого понимания роли адаптивного иммунитета в элиминации сенесцентных клеток необходимо сочетать scRNA-seq данные с пространственной транскриптомикой, гистологическими методами и подходами, позволяющими определять антигенную специфичность Т- и В-клеток, а также изучать динамические изменения в репертуарах антиген-распознающих рецепторов.

## Список литературы / References

- Antonangeli F., Zingoni A., Santoni A., Soriani A. Senescent cells: living or dying is a matter of NK cells. *J Leukoc Biol.* 2019;105(6):1275-1283. doi 10.1002/jlb.mr0718-299r
- Arora S., Thompson P.J., Wang Y., Bhattacharyya A., Apostolopoulou H., Hatano R., Naikawadi R.P., Shah A., Wolters P.J., Koliwad S., Bhattacharya M., Bhushan A. Invariant natural killer T cells coordinate removal of senescent cells. *Med.* 2021;2(8):938-950. doi 10.1016/j.medj.2021.04.014
- Childs B.G., Durik M., Baker D.J., van Deursen J.M. Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy. *Nat Med.* 2015;21(12):1424-1435. doi 10.1038/nm.4000
- Cohn R.L., Gasek N.S., Kuchel G.A., Xu M. The heterogeneity of cellular senescence: insights at the single-cell level. *Trends Cell Biol.* 2023;33(1):9-17. doi 10.1016/j.tcb.2022.04.011
- Di Micco R., Krizhanovsky V., Baker D., d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2021;22(2):75-95. doi 10.1038/s41580-020-00314-w
- Domínguez Conde C., Xu C., Jarvis L.B., Rainbow D.B., Wells S.B., Gomes T., Howlett S.K., ... Sims P.A., Farber D.L., Saeb-Parsy K., Jones J.L., Teichmann S.A. Cross-tissue immune cell analysis reveals tissue-specific features in humans. *Science.* 2022;376(6594):eabl5197. doi 10.1126/science.abl5197
- 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):576-590. doi 10.1038/s41574-018-0059-4
- Ge M.X., Yu Q., Li G.H., Yang L.Q., He Y., Li J., Kong Q.P. Multiple time-series expression trajectories imply dynamic functional changes during cellular senescence. *Comput Struct Biotechnol J.* 2022;20:4131-4137. doi 10.1016/j.csbj.2022.08.005
- Hense J.D., Isola J.V.V., Garcia D.N., Magalhães L.S., Masternak M.M., Stout M.B., Schneider A. The role of cellular senescence in ovarian aging. *NPJ Aging.* 2024;10(1):35. doi 10.1038/s41514-024-00157-1
- Kim S., Kim C. Transcriptomic analysis of cellular senescence: one step closer to senescence atlas. *Mol Cells.* 2021;44(3):136-145. doi 10.14348/molcells.2021.2239
- Korsunsky I., Millard N., Fan J., Slowikowski K., Zhang F., Wei K., Baglaenko Y., Brenner M., Loh P.R., Raychaudhuri S. Fast, sensitive and accurate integration of single-cell data with Harmony. *Nat Methods.* 2019;16(12):1289-1296. doi 10.1038/s41592-019-0619-0
- Li J., Xiao C., Li C., He J. Tissue-resident immune cells: from defining characteristics to roles in diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 2025;10(1):12. doi 10.1038/s41392-024-02050-5
- Liao Z., Yeo H.L., Wong S.W., Zhao Y. Cellular senescence: mechanisms and therapeutic potential. *Biomedicine.* 2021;9(12):1769. doi 10.3390/biomedicine9121769
- Lorenzo E.C., Torrance B.L., Keilich S.R., Al-Naggar I., Harrison A., Xu M., Bartley J.M., Haynes L. Senescence-induced changes in CD4 T cell differentiation can be alleviated by treatment with senolytics. *Aging Cell.* 2022;21(1):e13525. doi 10.1111/ace1.13525
- Matveeva K., Vasilieva M., Minskaia E., Rybtsov S., Shevryev D. T-cell immunity against senescence: potential role and perspectives. *Front Immunol.* 2024;15:1360109. doi 10.3389/fimmu.2024.1360109
- Regulski M.J. Cellular senescence: what, why, and how. *Wounds.* 2017;29(6):168-174
- Reynolds G., Vegh P., Fletcher J., Poyner E.F.M., Stephenson E., Goh I., Botting R.A., ... Rajan N., Reynolds N.J., Teichmann S.A., Watt F.M., Haniffa M. Developmental cell programs are co-opted in inflammatory skin disease. *Science.* 2021;371(6527):eaba6500. doi 10.1126/science.aba6500
- Sanborn M.A., Wang X., Gao S., Dai Y., Rehman J. Unveiling the cell-type-specific landscape of cellular senescence through single-cell transcriptomics using SenePy. *Nat Commun.* 2025;16:1884. doi 10.1038/s41467-025-57047-7
- Shin S.H., Lee Y.H., Rho N.K., Park K.Y. Skin aging from mechanisms to interventions: focusing on dermal aging. *Front Physiol.* 2023;14:1195272. doi 10.3389/fphys.2023.1195272
- Song P., An J., Zou M.-H. Immune clearance of senescent cells to combat ageing and chronic diseases. *Cells.* 2020;9(3):671. doi 10.3390/cells9030671
- Song S., Kirkland J.L., Sun Y., Tchkonja T., Jiang J. Targeting senescent cells for a healthier aging: challenges and opportunities. *Adv Sci.* 2020;7(23):2002611. doi 10.1002/advs.202002611
- Subramanian A., Tamayo P., Mootha V.K., Mukherjee S., Ebert B.L., Gillette M.A., Paulovich A., Pomeroy S.L., Golub T.R., Lander E.S., Mesirov J.P. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102(43):15545-15550. doi 10.1073/pnas.0506580102
- Witham M.D., Granic A., Miwa S., Passos J.F., Richardson G.D., Sayer A.A. New Horizons in cellular senescence for clinicians. *Age Ageing.* 2023;52(7):afad127. doi 10.1093/ageing/afad127
- Wolf F.A., Angerer P., Theis F.J. SCANPY: large-scale single-cell gene expression data analysis. *Genome Biol.* 2018;19(1):15. doi 10.1186/s13059-017-1382-0
- Wolock S.L., Lopez R., Klein A.M. Scrublet: computational identification of cell doublets in single-cell transcriptomic data. *Cell Syst.* 2019;8(4):281-291.e9. doi 10.1016/j.cels.2018.11.005
- Yang D., Sun B., Li S., Wei W., Liu X., Cui X., Zhang X., Liu N., Yan L., Deng Y., Zhao X. NKG2D-CAR T cells eliminate senescent cells in aged mice and nonhuman primates. *Sci Transl Med.* 2023;15(709):eadd1951. doi 10.1126/scitranslmed.add1951
- Yousefzadeh M.J., Melos K.I., Angelini L., Burd C.E., Robbins P.D., Niedernhofer L.J. Mouse models of accelerated cellular senescence. In: Demaria M. (Ed.) Cellular Senescence. Methods in Molecular Biology. Vol. 1896. New York: Humana Press, 2019;203-230. doi 10.1007/978-1-4939-8931-7\_17
- Yu G., Wang L.G., Han Y., He Q.Y. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters. *OMICS.* 2012;16(5):284-287. doi 10.1089/omi.2011.0118
- Zhang W., Zhang K., Shi J., Qiu H., Kan C., Ma Y., Hou N., Han F., Sun X. The impact of the senescent microenvironment on tumorigenesis: insights for cancer therapy. *Aging Cell.* 2024;23(5):e14182. doi 10.1111/ace1.14182
- Zhang X., Zhang R., Yu J. New understanding of the relevant role of LINE-1 retrotransposition in human disease and immune modulation. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:657. doi 10.3389/fcell.2020.00657
- Zhang X., Ng Y.E., Chini L.C.S., Heeren A.A., White T.A., Li H., Huang H., Doolittle M.L., Khosla S., LeBrasseur N.K. Senescent skeletal muscle fibroadipogenic progenitors recruit and promote M2 polarization of macrophages. *Aging Cell.* 2024;23(3):e14069. doi 10.1111/ace1.14069

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 30.07.2025. После доработки 25.09.2025. Принята к публикации 26.09.2025.