

Н. А. Панова

## Количественный и качественный анализ популяций CD8<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup> Т-клеток селезёнки и костного мозга у лактирующих мышей

### Аннотация.

**Цель:** установить фенотип клеток адаптивного иммунитета в селезёнке и костном мозге у лактирующих мышей.

**Материалы и методы.** Исследования проводились на лактирующих мышах. Для опыта у животных отбирали селезёнку и костный мозг. Суспензию отдельных спленоцитов готовили путем измельчения селезёнки. Костный мозг получали, промывая костномозговую полость шприцем с 1-2 мл сбалансированного солевого раствора. Фенотип клеток адаптивного иммунитета определяли с помощью набора флуорохром-конъюгированных антител: CD4-PerCP-Cy5.5, CD8-PE/Cy7, CD62L-APC/Cy7, CD44-BV510 (Biolegend, США), в присутствии реагента True Stain, содержащего антитела к CD16/CD32 (Biolegend, США) для блокировки неспецифического связывания антител. Сбор данных осуществляли на проточном цитометре CytoFlex (Beckman Coulter, США). Результаты анализировали в программе Kaluza Analysis 2.1 (Beckman Coulter, США).

**Результаты.** В результате исследования установлено, что CD8<sup>+</sup> Т-клеток эффекторной ( $T_{EM}$ ) и центральной памяти ( $T_{CM}$ ) в 2,2 раза больше в красном костном мозге, тогда как в селезёнке преобладают все субпопуляции CD4<sup>+</sup> Т-клеток памяти ( $T_{CM}$ ;  $T_{EM}$ ;  $T_{NV}$ ). Содержание субпопуляции CD8<sup>+</sup> Т-клеток наивной памяти ( $T_{NV}$ ) в костном мозге и селезёнке было почти одинаковым и составило  $52,57 \pm 1,58$  % и  $57,40 \pm 2,63$  %, соответственно. Установлено достоверно низкое содержание ( $p < 0,001$ ) популяций CD8<sup>+</sup> Т-клеток эффекторной памяти ( $T_{EM}$ ; CD44<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>) в селезёнке  $4,9 \pm 1,39$  % по сравнению с Т-клетками ( $T_{EM}$ ; CD44<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>) красного костного мозга  $11,04 \pm 2,58$  %.

**Заключение.** Популяция CD4<sup>+</sup> Т-клеток эффекторной памяти ( $T_{EM}$ ) в большом количестве аккумулируется в селезёнке, чтобы в дальнейшем ответить клеточным или гуморальным механизмом в ответ на проникновение в организм антигена. Костный мозг количественно и качественно превосходит селезенку по накоплению и размещению CD8<sup>+</sup> Т-клеток эффекторной ( $T_{EM}$ ) и центральной памяти ( $T_{CM}$ ), которые отвечают за иммунологическую память и адаптивный иммунный ответ.

**Ключевые слова:** лактирующие мыши, селезёнка, костный мозг, лимфоциты, CD8<sup>+</sup> Т-клетки, CD4<sup>+</sup> Т-клетки, память.

### Авторы:

Панова Наталия Александровна — кандидат биологических наук; Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины; 196084, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5; e-mail: ranova\_na@mail.ru.

**Введение.** Костный мозг выступает в качестве основного места образования всех зрелых клеток крови в процессе кроветворения. Сложный гемопоетический процесс, который дает начало этим клеткам, происходит в красной (кроветворной) части костного мозга. При рождении костный мозг в основном состоит из красного костного мозга (ККМ), но с возрастом уменьшается и заменяется желтым (адипоцитарным) костным мозгом [1]. У взрослых особей красный костный мозг преимущественно расположен на эпифизах, тогда как желтый костный мозг в основном находится в диафизах длинных костей. Эпифиз в

отличие от диафиза в основном состоит из трабекулярной (губчатой) кости, ячеистое строение которой создаёт оптимальные условия для функционирования красного костного мозга. С возрастом отмечено снижение миелоидных клеток из костного мозга.

Наряду с его важной функцией в качестве первичного лимфоидного органа костный мозг может быть второстепенным лимфоидным органом. Дендритные клетки в костном мозге могут поглощать и представлять антигены, передающиеся через кровь, и тем самым активировать локальные наивные Т-клетки [2]. Нейтрофилы

способны захватывать и транспортировать антигены в костный мозг, что приводит к активации CD8<sup>+</sup> Т-клеток антигенпрезентирующими клетками. Костный мозг активно участвует в иммунологической памяти. Эффекторные Т-клетки, которые взаимодействуют с антигеном, превращаются в центральные Т-клетки памяти костного мозга. Здесь они обеспечивают пожизненную защиту от повторного заражения [3, 4]. Исследования на мышах показали, что цитокины IL-7 и IL-15 и их рецепторы IL-7R $\alpha$  (CD127) и IL-15R $\beta$  (CD122) жизненно необходимы для поддержания памяти CD8<sup>+</sup> Т-клеток, так как они влияют как на их образование, так и на выживание [5]. Эти эффекты могут быть как прямыми, так и опосредованными через индукцию костимулирующих молекул, которые контролируют выживание Т-клеток памяти [6]. CD8<sup>+</sup> Т-клетки памяти костного мозга приобретают IL-7 путем стыковки с IL-7-продуцирующими ретикулярными стромальными клетками. Кроме того, CD8<sup>+</sup> Т-клетки памяти тесно контактируют с различными клетками костного мозга, продуцирующими IL-15. Эти клетки костного мозга проявляли морфологические характеристики стромальных, дендритных клеток и моноцитов [7].

Костный мозг важен для долгосрочного обслуживания памяти и поэтому чаще включается в исследования (адаптивных) иммунных ответов. К центральным органам иммунной системы относятся костный мозг и тимус. Костный мозг как первичный орган лимфатической системы закладывается в ранний период внутриутробного раз-

вития и содержит в себе полипотентные стволовые клетки, из которых при дифференцировке образуется две популяции клеток: лимфоидного и миелоидного ряда. Также в костном мозге происходит гемопоэз и созревание В-лимфоцитов. Костный мозг заполняет губчатое вещество метафизов трубчатых костей, также находится в плоских костях ребер, грудной кости, костей таза и позвонков [8, 9].

К периферическим лимфоидным органам относят лимфатические узлы, селезенку и лимфоидную ткань, ассоциированную со слизистыми оболочками - MALT-систему (mucosa-associated lymphoid tissue - MALT). К MALT-системе относятся небные миндалины, брыжеечные лимфатические узлы и пейеровы бляшки. Пейеровы бляшки, как вторичный лимфоидный орган формируются у животных в конце внутриутробного развития. В пейеровых бляшках происходит распознавание, презентация антигена и формирование популяции антигенспецифических Т- и В-лимфоцитов. Лимфоидные образования ЖКТ принимают участие в формировании отдельных видов лейкоцитов и отвечают за локальный иммунный ответ [10, 11].

Выйдя из костного мозга, стволовые клетки попадают в тимус, где под действием гормонов (тимопоэтина, тимозина, тимусного гормонального фактора) преобразуются в Т-лимфоциты или тимусзависимые. Клетки, которые могут превращаться в Т-лимфоциты, способны попадать из костного мозга в лимфатические узлы, в селезенку, а в дальнейшем уже в этих органах

**Таблица 1. Процент популяций лимфоцитов CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> от общего числа лимфоидных клеток, выявляемых проточной цитометрией**

| Популяции Т-клеток | Селезенка, %     | Красный костный мозг, % |
|--------------------|------------------|-------------------------|
| CD4 <sup>+</sup>   | 14,86 $\pm$ 3,51 | 5,08 $\pm$ 2,49*        |
| CD8 <sup>+</sup>   | 2,17 $\pm$ 0,93  | 3,08 $\pm$ 1,06         |

**Таблица 2. Субпопуляции Т-клеток селезенки и костного мозга лактирующей мыши**

| Популяции Т-клеток | Субпопуляции Т-клеток | Селезенка, %      | КМ, %            |
|--------------------|-----------------------|-------------------|------------------|
| CD4 <sup>+</sup>   | CD4 CM                | 10,28 $\pm$ 2,87  | 2,71 $\pm$ 0,28  |
|                    | CD4 EM                | 31,47 $\pm$ 0,68* | 12,88 $\pm$ 1,15 |
|                    | CD4 Naive             | 37,30 $\pm$ 4,32  | 26,23 $\pm$ 2,81 |
| CD8 <sup>+</sup>   | CD8 CM                | 2,68 $\pm$ 1,73   | 5,90 $\pm$ 3,21  |
|                    | CD8 EM                | 4,90 $\pm$ 1,39   | 11,04 $\pm$ 2,58 |
|                    | CD8 Naive             | 57,40 $\pm$ 2,63  | 52,57 $\pm$ 1,58 |

Примечание: \* $p < 0,001$  по сравнению с содержанием популяций CD8<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup> Т-клеток эффекторной памяти (Т<sub>ЕМ</sub>) в селезенке.

превращаться в Т-лимфоциты под действием гормонов вилочковой железы. Благодаря системе Т-лимфоцитов образуется клеточный иммунитет.

Т-лимфоциты-эффекторы имеют ярко выраженное цитотоксическое действие или способность агрессивно разрушать клетки, поэтому Т-эффекторы образуют в организме системы уничтожения и иммунного надзора, которые активно действуют при проникновении чужеродного белка. Способность идентифицировать информацию, генетически отличающуюся от данного организма, носит рецепторный характер. Рецепторы, находящиеся на поверхности лимфоцитов, способны распознавать даже самые малейшие различия между белками. Другие Т-эффекторы стимулируют выработку антител В-лимфоцитами и продуцируют специальные вещества — лимфокины, активизирующие защитные механизмы других типов лейкоцитов. Т-супрессоры ограничивают силу иммунного ответа или сильно понижают активность иммунной реакции со стороны других типов Т-лимфоцитов. Функцией Т-хелперов является передача информации о присутствии чужеродного белка. Это приводит к иммунному ответу. При взаимном функционировании хелперов и супрессоров происходит взаимное динамическое равновесие, при котором не допускается как повышение уровня антител, так

и, напротив, недостаток их для высвобождения антигенов из организма [12]. В осуществлении иммунного ответа важное значение играет совместное функционирование Т- и В-лимфоцитов, а также макрофагов [10].

Детальное изучение клеточного состава красного костного мозга и селезёнки лактирующих мышей даёт возможность сравнить их функциональную значимость.

**Цель исследований** — установить фенотип клеток адаптивного иммунитета в селезёнке и костном мозге у лактирующих мышей.

**Материалы и методы.** Экспериментальная часть исследований проводилась на лактирующих линейных мышах. Для опыта отбирали клинически здоровых животных. Была сформирована группа животных в количестве 5 лактирующих мышей. При проведении исследований у лабораторных животных использовали селезёнку и материал, непосредственно отобранный из проксимального отдела бедренной кости, что позволяет получить более точную картину клеток селезёнки и костного мозга, особенно количественного состава отдельных клеток. Перед взятием костного мозга остатки мышечной ткани удаляют с помощью салфетки. Извлекают костный мозг, отрезав головку бедра, кусочек боль-

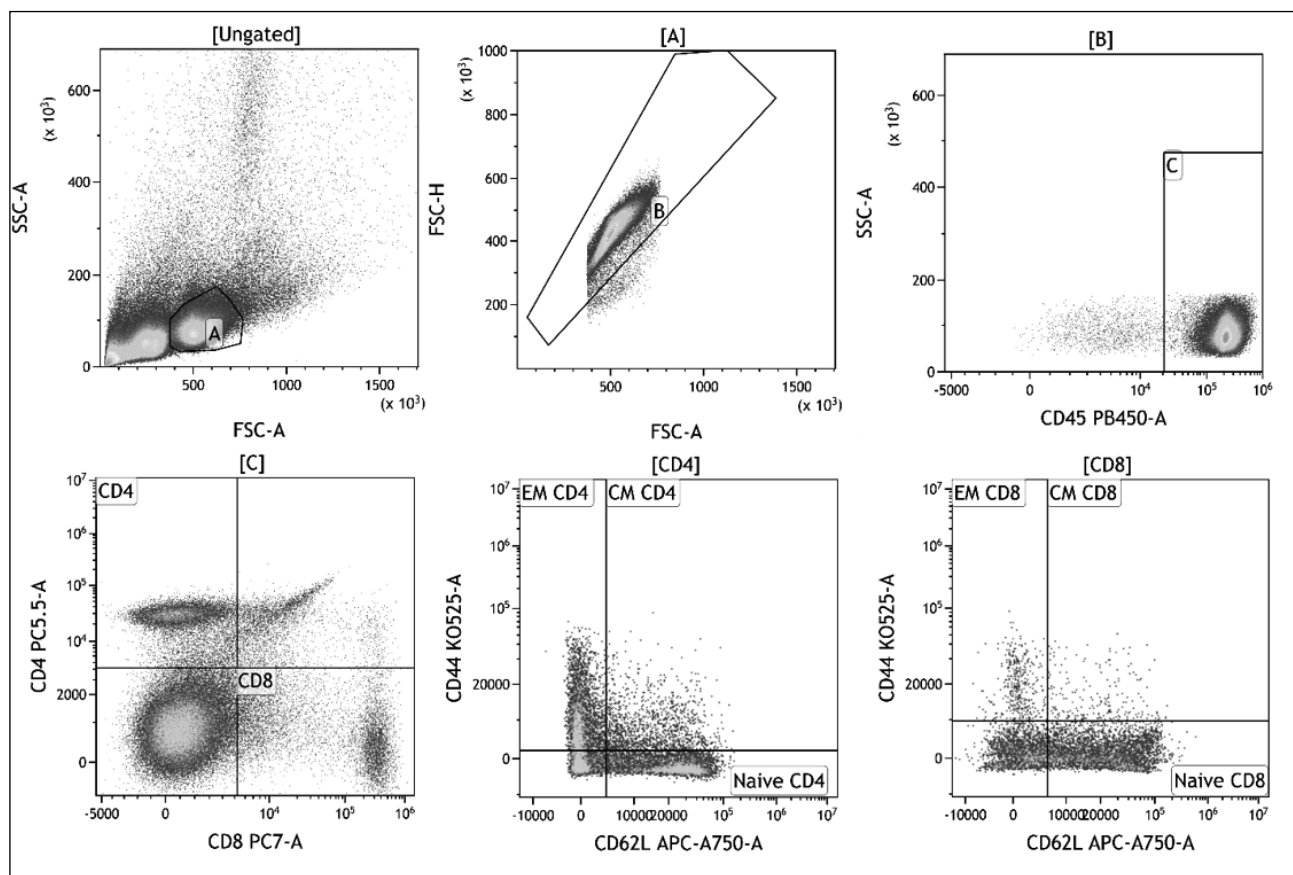


Рис. 1. Гистограмма по результатам проточной цитометрии суспензии клеток селезёнки лактирующей мыши

шого вертела и кусочек мышелка на другом конце кости. Затем продельвают отверстия в обоих губчатых концах кости при помощи шприца на 2 или 5 мл с иглой 250х0,6. Костный мозг извлекают, промывая костномозговую полость шприцем с 1-2 мл сбалансированного солевого раствора. О том, насколько полно удален костный мозг, можно судить по цвету диафиза кости [13].

Суспензию отдельных спленоцитов готовили путем измельчения селезенки через 40-мкм клеточный фильтр поршнем шприца. Эритроциты лизировали буфером для лизиса эритроцитов (155 mM NH<sub>4</sub>Cl, 10 mM KHCO<sub>3</sub>, 127 mM ЭДТА).

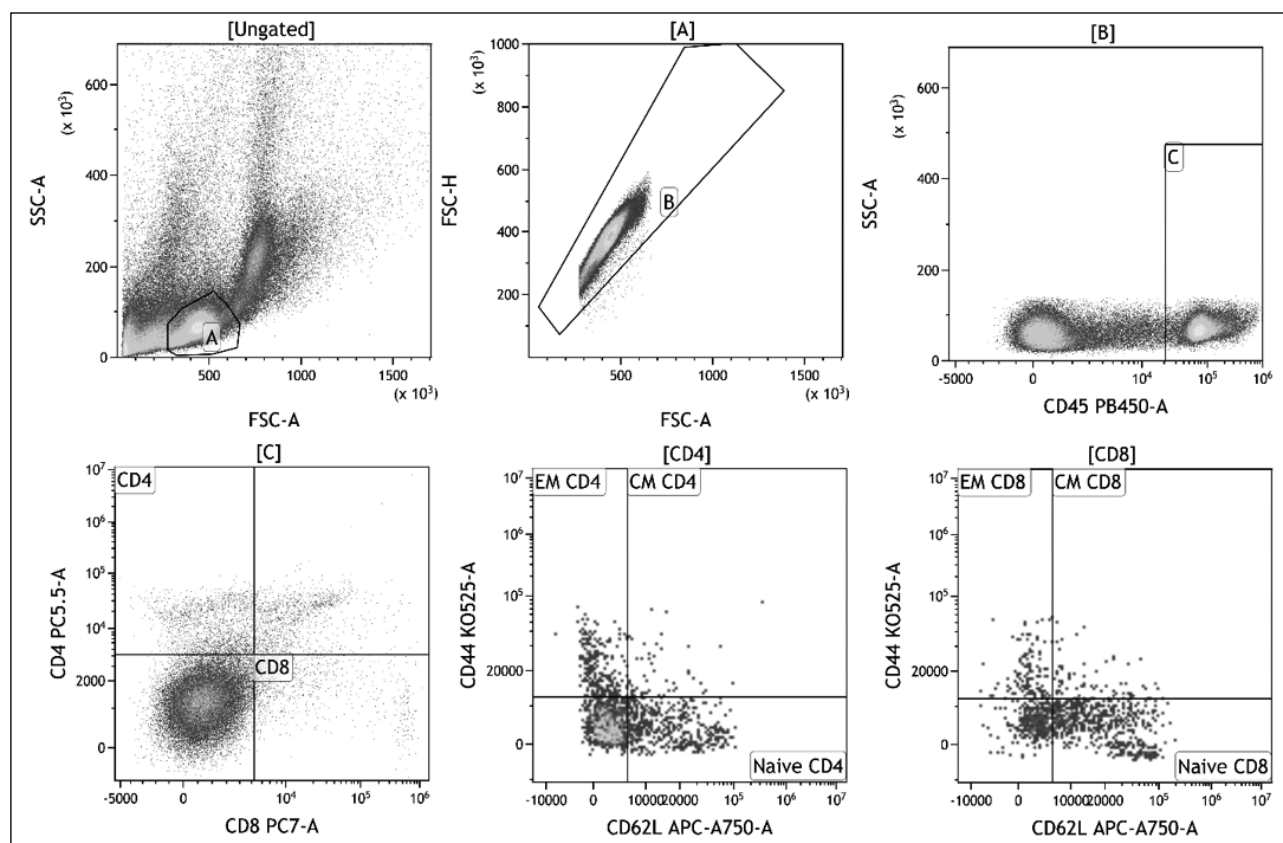
Фенотип клеток адаптивного иммунитета определяли с помощью набора флуорохром-конъюгированных антител: CCD45-BV421, CD4-PerCP-Cy5.5, CD8-PE/Cy7, CD62L-APC/Cy7, CD44-BV510 (Biolegend, США), в присутствии реагента True Stain, содержащего антитела к CD16/CD32 (Biolegend, США) для блокировки неспецифического связывания антител. Сбор данных осуществляли на проточном цитометре CytoFlex (Beckman Coulter, США). Результаты анализировали в программе Kaluza Analysis 2.1 (Beckman Coulter, США).

**Результаты.** Результаты исследований представлены в таблицах 1 и 2. На рис. 1 и 2 показаны примеры гистограмм по результатам проточ-

ной цитометрии суспензий клеток селезенки и костного мозга у лактирующих мышей.

При анализе результатов, представленных в таблице 1, можно отметить значительное отличие в процентном отношении лимфоцитов CD4<sup>+</sup> в селезенке и красном костном мозге. Так, доля клеток данной популяции в селезенке в 2,93 раза превышает таковую в ККМ ( $P < 0,05$ ). В отношении клеток CD8<sup>+</sup> можно отметить обратную зависимость — в костном мозге процент их встречаемости выше, чем в селезенке в 1,42 раза, однако степень различия недостоверна. Что касается соотношения данных популяций в каждом кроветворном органе, то отмечается в целом преобладание популяции Т-клеток CD4<sup>+</sup>. Так, в селезенке выявляется семикратное превышение данной популяции ( $P < 0,01$ ), но в красном костном мозге это различие менее выражено — в 1,65 раза ( $P > 0,05$ ). Полученные данные свидетельствуют о разной степени дифференциации лимфоидных клеток в центральном и периферическом органах иммуногенеза.

Рассмотрим результаты, представленные в таблице 2, в которой приведена детализация дифференцированных Т-лимфоцитов по субпопуляциям. Что касается присутствия классических субпопуляций CD8<sup>+</sup> Т-клеток, т. е. эффектор-ной памяти (T<sub>ЕМ</sub>; CD44<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>),



**Рис. 2.** Гистограмма по результатам проточной цитометрии суспензии клеток костного мозга лактирующей мыши

центральной памяти ( $T_{CM}$ ;  $CD44^+CD62L^+$ ) и наивных ( $T_{NV}$ ;  $CD44^+CD62L^+$ ) Т-клеток [14], мы обнаружили, что до  $52,57 \pm 1,58$  % клеток  $T_{NV}$  находится в костном мозге, тогда как в селезёнке содержание наивных Т-клеток ( $T_{NV}$ ;  $CD44^+CD62L^+$ ) достигало  $57,40 \pm 2,63$  % (рис. 1, 2). Установлено достоверно низкое содержание ( $p < 0,001$ ) популяций  $CD8^+$  Т-клеток эффекторной памяти ( $T_{EM}$ ) в селезёнке  $4,9 \pm 1,39$  % по сравнению с Т-клетками ( $T_{EM}$ ) красного костного мозга  $11,04 \pm 2,58$  %. В костном мозге наблюдалось достоверно низкое содержание ( $P < 0,001$ ) популяций  $CD4^+$  Т-клеток эффекторной памяти ( $T_{EM}$ ) -  $12,88 \pm 1,15$  %, по сравнению с популяцией  $CD4^+$  Т-клеток эффекторной памяти ( $T_{EM}$ ) селезёнки -  $31,47 \pm 0,68$  %.

**Обсуждение.** При анализе полученных результатов обращает на себя внимание тот факт, что большинство популяций  $CD8^+$  Т-клеток эффекторной памяти ( $T_{EM}$ ) накапливалось в костном мозге. В своей совокупности костный мозг содержал в 2,2 раза больше клеток эффекторной и центральной памяти ( $T_{EM}$  и  $T_{CM}$ ) по сравнению с селезёнкой. Наблюдалось достоверно низкое содержание ( $p < 0,001$ ) популяций  $CD4^+$  Т-клеток эффекторной памяти ( $T_{EM}$ ) в костном мозге -  $12,88 \pm 1,15$  %, по сравнению с популяцией  $CD4^+$  Т-клеток эффекторной памяти ( $T_{EM}$ ) в селезёнке -  $31,47 \pm 0,68$  %. Популяций  $CD8^+$  Т-клеток эффекторной памяти ( $T_{EM}$ ) установлено достоверно больше в костном мозге ( $p < 0,001$ ), чем в селезёнке, что свидетельствует о высокой активности цитотоксических лимфоцитов в центральных органах иммунной системы. При анализе результатов содержания наивных Т-клеток ( $T_{NV}$ ) достоверных различий в костном мозге и селезёнке не выявлено.

Иммунная система функционирует как единое целое благодаря центральным нейрогуморальным и местным факторам, регулирующим процессы пролиферации и дифференцировки, упорядоченную миграцию, осуществляемую через кровь и лимфу. У взрослых основным поставщи-

ком стволовых клеток крови становится костный мозг. При этом в кровь мигрирует за сутки около 2 % всех стволовых клеток костного мозга, в состав которых входят в большом количестве  $CD8^+$  Т-клеток эффекторной памяти ( $T_{EM}$ ) и  $CD8^+$  Т-клеток наивной памяти ( $T_{NV}$ ).

Циркуляция лимфоцитов зависит от специфических взаимодействий между поверхностью лимфоцита и поверхностью специализированных эндотелиальных клеток. Моноклональные антитела, связываясь с поверхностью лимфоцитов, помогают определить различные "homing-рецепторы" на эндотелиоцитах, от которых зависят пути миграции лимфоцитов [12]. При иммунном ответе происходит миграция предшественников эффекторных цитотоксических лимфоцитов и плазмочитов через кровь и лимфу во все отделы иммунной системы, где обеспечиваются условия для иммунного ответа. Рециркулирующие лимфоциты представляют собой основную часть лимфоцитов, имеющих оптимальную возможность к встрече с любой чужеродной мишенью, которую они сами непосредственно уничтожают [10, 15].

**Заключение.** В период лактации цитотоксические  $CD8^+$  Т-клетки эффекторной памяти ( $T_{EM}$ ) в большом количестве проникают в красный костный мозг. Популяция быстро рециркулирующих  $CD4^+$  Т-клеток эффекторной памяти ( $T_{EM}$ ), выходя из тимуса, в большом количестве аккумулируется в селезёнке. Большое количество популяций  $CD8^+$  Т-клеток эффекторной памяти ( $T_{EM}$ ) в костном мозге и  $CD4^+$  Т-клеток эффекторной памяти ( $T_{EM}$ ) в селезёнке свидетельствует о том, что эти лимфоциты принимают участие в клеточном и гуморальном механизмах иммунного ответа у лактирующих мышей. Костный мозг является важнейшим иммунологическим органом, так как количество превосходит селезенку по накоплению и размещению  $CD8^+$  Т-клеток памяти, которые отвечают за адаптивный иммунный ответ.

## Литература

1. Bianco P. Bone and the hematopoietic niche: a tale of two stem cells / P. Bianco // Blood. — 2011. — № 117. — P. 5281-5289. doi:10.1182/blood-2011-01-315069.
2. Feuerer M. Bone marrow as a priming site for T-cell responses to blood-borne antigen / M. Feuerer, P. Beckhove et al. // Nat Med. — 2003. — № 9. — P. 1151-1157. doi:10.1038/nm914 7.
3. Mazo I. B. Bone marrow is a major reservoir and site of recruitment for central memory  $CD8^+$  T cells / I. B. Mazo, M. Honczarenko et al. // Immunity. — 2005. — № 22. — P. 259-270. doi:10.1016/j.immuni.2005.01.008.
4. Tokoyoda K. Professional memory  $CD4^+$  T lymphocytes preferentially reside and rest in the bone marrow / K. Tokoyoda, S. Zehentmeier et al. // Immunity. — 2009. — № 30. — P. 721-730. doi:10.1016/j.immuni.2009.03.015.

5. Lodolce J. P. IL-15 receptor maintains lymphoid homeostasis by supporting lymphocyte homing and proliferation / J. P. Lodolce, D. L. Boone et al. / *Immunity*. — 1998. — № 9. — P. 669-676. doi: 10.1016/S1074-7613(00)80664-0.
6. Snell L. M. IL-15-dependent upregulation of GITR on CD8 memory phenotype T cells in the bone marrow relative to spleen and lymph node suggests the bone marrow as a site of superior bioavailability of IL-15 / L. M. Snell, G. H.Y. Lin, T. H. Watts // *J Immunol*. — 2012. — № 188. — P. 5915-5923. doi:10.4049/jimmunol.1103270.
7. Sercan A. O. Memory CD8+ T cells colocalize with IL-7+ stromal cells in bone marrow and rest in terms of proliferation and transcription / A. O. Sercan, S. Durlanik et al. // *Eur J Immunol*. — 2015. — № 45(4). — P. 975-987. doi:10.1002/eji.201445295.
8. Di Rosa F. The bone marrow: a nest for migratory memory T cells / F. Di Rosa, R. Pabst // *Trends Immunol*. — 2005. — № 26. — P. 360-366. doi:10.1016/j.it.2005.04.011.
9. Tokoyoda K. Signals controlling rest and reactivation of T helper memory lymphocytes in bone marrow / K. Tokoyoda, A. Radbruch // *Cell Mol Life Sci*. — 2012. — № 69. — P. 1609-1613. doi:10.1007/s00018-012-0969-6.
10. Скопичев В. Г. Иммунобиология молочной железы и молочная продуктивность / В. Г. Скопичев, В. Б. Прозоровский. — Beau Bassin: Lap Lambert Academic Publishing, 2018. — 328 с.
11. Panova N. A. A role for cellular immunity in early postpartum period / N. A. Panova, V. G. Skopichev // *Medical Immunology (Russia)*. — 2021. — Vol. 23. — № 4. — P. 853-858.
12. Скопичев В. Г. Молоко: учеб. пособие / В. Г. Скопичев, Н. Н. Максимюк. - Санкт-Петербург: Проспект Науки, 2011. — 368 с.
13. Патент РФ № 2743345. — 2021 г. Способ оценки клеточного иммунитета при молозивном вскармливании животных. Авт., Панова Н. А., Скопичев В. Г.
14. Weninger W. Migratory properties of naive, effector, and memory CD8(+) T cells / W. Weninger, M. A. Crowley, N. Manjunath, U. H. Von Andrian // *J. Exp. Med*. — 2001. — № 194. — P. 953-966. doi: 10.1084/jem.194.7.953.
15. Pogodaeva P. Cells of immune memory in mice in the colostrums / P. Pogodaeva, N. Panova, V. Skopichev et al. // *J. of the Reproduction in Domestic Animals*. — 2019. — Vol. 54. — № 3. — P. 103.

N. Panova

## Quantitative and qualitative analysis of spleen and bone marrow CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T cell populations in lactating mice

### Abstract.

**Purpose:** to investigate the phenotype of adaptive immunity cells in the spleen and bone marrow of lactating mice.

**Materials and methods.** The studies were carried out on lactating mice. For the experiment, the spleen and bone marrow were taken from animals. A suspension of individual splenocytes was prepared by grinding the spleen. Bone marrow was obtained by rinsing the medullary cavity with a syringe with 1–2 ml of a balanced salt solution. The phenotype of adaptive immunity cells was determined using a set of fluorochrome-conjugated antibodies: CD4-PerCP-Cy5.5, CD8-PE/Cy7, CD62L-APC/Cy7, CD44-BV510 (Biolegend, USA), in the presence of True Stain reagent containing antibodies to CD16/CD32 (Biolegend, USA) to block nonspecific antibody binding. Data collection was carried out on a CytoFlex flow cytometer (Beckman Coulter, USA). The results were analyzed using the Kaluza Analysis 2.1 program (Beckman Coulter, USA).

**Results.** As a result of the study, it was found that there are 2.2 times more CD8<sup>+</sup> T-cells of effector ( $T_{EM}$ )

and central memory ( $T_{CM}$ ) in the red bone marrow, while all subpopulations of  $CD4^+$  T-memory cells ( $T_{CM}$ ;  $T_{EM}$ ;  $T_{NV}$ ) predominate in the spleen. The content of the subpopulation of  $CD8^+$  T-cells of naive memory ( $T_{NV}$ ) in the bone marrow and spleen was almost the same and amounted to  $52.57 \pm 1.58\%$  and  $57.40 \pm 2.63\%$ , respectively. A significantly low content ( $p < 0.001$ ) of populations of  $CD8^+$  T-cells of effector memory ( $T_{EM}$ ;  $CD44^+CD62L^-$ ) in the spleen was found to be  $4.9 \pm 1.39\%$  compared with T-cells ( $T_{EM}$ ;  $CD44^+CD62L^-$ ) of red bone marrow brain  $11.04 \pm 2.58\%$ .

**Conclusion.** The population of  $CD4^+$  T-cells of effector memory ( $T_{EM}$ ) accumulates in large numbers in the spleen in order to further respond with a cellular or humoral mechanism in response to the penetration of an antigen into the body. The bone marrow quantitatively and qualitatively surpasses the spleen in the accumulation and placement of effector ( $T_{EM}$ ) and central memory ( $T_{CM}$ )  $CD8^+$  T cells, which are responsible for immunological memory and adaptive immune response.

**Keywords:** lactating mice, spleen, bone marrow, lymphocytes,  $CD8^+$  T cells,  $CD4^+$  T cells, memory.

Author:

**Panova N.** — PhD (Biol. Sci.); St. Petersburg State University of Veterinary Medicine; 196084, Russia, St. Petersburg, Chernihiv Street, 5; e-mail: panova\_na@mail.ru.

### References

1. Bianco P. Bone and the hematopoietic niche: a tale of two stem cells / P. Bianco // Blood. — 2011. — № 117. — P. 5281-5289. doi:10.1182/blood-2011-01-315069.
2. Feuerer M. Bone marrow as a priming site for T-cell responses to blood-borne antigen / M. Feuerer, P. Beckhove et al. // Nat Med. — 2003. — № 9. — P. 1151-1157. doi:10.1038/nm914 7.
3. Mazo I. B. Bone marrow is a major reservoir and site of recruitment for central memory  $CD8^+$  T cells / I. B. Mazo, M. Honczarenko et al. // Immunity. — 2005. — № 22. — P. 259-270. doi:10.1016/j.immuni.2005.01.008.
4. Tokoyoda K. Professional memory  $CD4^+$  T lymphocytes preferentially reside and rest in the bone marrow / K. Tokoyoda, S. Zehentmeier et al. // Immunity. — 2009. — № 30. — P. 721-730. doi:10.1016/j.immuni.2009.03.015.
5. Lodolce J. P. IL-15 receptor maintains lymphoid homeostasis by supporting lymphocyte homing and proliferation / J. P. Lodolce, D. L. Boone et al. // Immunity. — 1998. — № 9. — P. 669-676. doi: 10.1016/S1074-7613(00)80664-0.
6. Snell L. M. IL-15-dependent upregulation of GTR on  $CD8$  memory phenotype T cells in the bone marrow relative to spleen and lymph node suggests the bone marrow as a site of superior bioavailability of IL-15 / L. M. Snell, G. H.Y. Lin, T. H. Watts // J Immunol. — 2012. — № 188. — P. 5915-5923. doi:10.4049/jimmunol.1103270.
7. Sercan A. O. Memory  $CD8^+$  T cells colocalize with IL-7+ stromal cells in bone marrow and rest in terms of proliferation and transcription / A. O. Sercan, S. Durlanik et al. // Eur J Immunol. — 2015. — № 45(4). — P. 975-987. doi:10.1002/eji.201445295.
8. Di Rosa F. The bone marrow: a nest for migratory memory T cells / F. Di Rosa, R. Pabst // Trends Immunol. — 2005. — № 26. — P. 360-366. doi:10.1016/j.it.2005.04.011.
9. Tokoyoda K. Signals controlling rest and reactivation of T helper memory lymphocytes in bone marrow / K. Tokoyoda, A. Radbruch // Cell Mol Life Sci. — 2012. — № 69. — P. 1609-1613.
10. Skopichev V.G. Immunobiology of the mammary gland and mammary productivity / V. G. Skopichev, V. B. Prozorovsky. — Beau Bassin: Lap Lambert Academic Publishing, 2018. — 328 p.
11. Panova N. A. A role for cellular immunity in early postpartum period / N. A. Panova, V. G. Skopichev // Medical Immunology (Russia). — 2021. — Vol. 23. — № 4. — P. 853-858.
12. Skopichev V. G. Moloko: Textbook. Manual / V. G. Skopichev, N. N. Maximyuk. — St. Petersburg: Science Avenue, 2011. — 368 p.
13. Patent of the Russian Federation No. 2743345. — 2021. The method for evaluating cellular immunity with colostrum of animals. Panova N.A., Skopichev V. G.
14. Weninger W. Migratory properties of naive, effector, and memory  $CD8^+$  T cells / W. Weninger, M. A. Crowley, N. Manjunath, U. H. Von Andrian // J. Exp. Med. — 2001. — № 194. — P. 953-966. doi: 10.1084/jem.194.7.953.
15. Pogodaeva P. Cells of immune memory in mice in the colostrums / P. Pogodaeva, N. Panova, V. Skopichev et al. // J. of the Reproduction in Domestic Animals. — 2019. — Vol. 54. — № 3. — P. 103.