



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

DILIANA FRANCISCA RODRIGUES GONÇALVES

O ENVELHECIMENTO E A AUTOIMUNIDADE

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE MEDICINA

TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:

PROF. DOUTOR MANUEL TEIXEIRA VERÍSSIMO

DRA. CATARINA CANHA

JANEIRO/2015

O Envelhecimento e a Autoimunidade

Diliana Francisca Rodrigues Gonçalves ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal.

Correspondência:

Diliana Francisca Rodrigues Gonçalves

Mestrado Integrado em Medicina - 6º ano

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Morada: Rua Adolfo Coelho nº 16, 3000-005

Coimbra

E-mail: dilianagoncalves@gmail.com

RESUMO

O aumento da esperança média de vida verificado nas últimas décadas contribuiu para a problemática do envelhecimento populacional. Evidências atuais apontam para alterações em grau variável dos diferentes componentes do sistema imune.

Verificou-se uma menor eficácia na imunidade inata dos idosos devido a alterações encontradas no número e função das suas células efetoras, designadamente os neutrófilos, as células *Natural Killer* e as células dendríticas.

Na imunidade adquirida constataram-se também modificações da função das células B, mas não se verificaram alterações significativas no seu número com o envelhecimento. As células T são particularmente afetadas pela imunossenescência e identificaram-se adaptações no número e função das subpopulações mais estudadas. Entre estas, as células T reguladoras são alvo particular de atenção pois afiguram-se como possíveis alvos terapêuticos para doenças tais como as neoplásicas.

A atrofia tímica é um dos fatores considerados como promotores da senescência das células T, pois contribui para a menor eficácia da imunidade celular contra antígenos, para a ocorrência de fenómenos de autoimunidade e redução da população de células T *naïve*.

As alterações decorrentes da imunossenescência podem explicar, em parte, o aumento da incidência de determinadas doenças relacionadas com a idade e a maior susceptibilidade dos idosos a infecções, neoplasias, fenómenos autoimunes e uma menor resposta à vacinação.

O melhor conhecimento dos processos de envelhecimento do sistema imune poderá permitir o desenvolvimento de métodos efetivos de prevenção, abordagem e terapêutica de doenças associadas à idade.

Nos últimos anos foram desenvolvidas diversas estratégias de prevenção ou minimização dos efeitos da imunossenescência, no entanto a maioria não teve aplicabilidade clínica significativa. Estas estratégias consistem na administração de citocinas recombinantes, anticorpos monoclonais, métodos hormonais, antioxidantes, assim como em modificações dietéticas e prática regular de exercício físico, com a finalidade de promover o envelhecimento saudável e minimizar a morbimortalidade do idoso.

Palavras-chave: immune system, autoimmune phenomena, ageing, autoimmune diseases, immunosenescence, Tregs, gerontology.

ABSTRACT

The increasing average life expectancy found in recent decades contributed to the problem of the aging population. Current evidence points to changes in variable degree of the different components of the immune system.

Innate immunity has become less effective in the elderly due to changes found in the number and function of its effector cells, including neutrophils, natural killer cells and dendritic cells.

In acquired immunity there were also found changes in the function of B cells, but there was not a significant change in their number with aging. T cells are particularly affected by immunosenescence and adjustments were identified both in the number and function of the most studied subpopulations. Among these, regulatory T cells are given particular attention because they appear to be potential therapeutic targets for diseases such as cancer.

Thymus atrophy is one factor considered as promotor of T cell senescence, as it contributes to reduced efficacy of cellular immunity against antigens, to the occurrence of autoimmune phenomena and to the reduction of the number of *naïve* T cells.

It is thought that the changes arising from immunosenescence may partly explain the increased incidence of certain age-related diseases and greater susceptibility to infection, cancer, autoimmune phenomena and a lower response to vaccination.

The better understanding of the immune system aging processes may allow the development of effective preventive methods and therapeutic approaches to age-related diseases.

In recent years several strategies have been developed in order to prevent or minimize the effects of immunosenescence, however most had no significant clinical applicability. These consist in the administration of recombinant cytokines, monoclonal antibodies, hormonal methods, antioxidants as well as dietary changes and regular physical exercise, in order to promote healthy aging and minimize the morbidity and mortality of the elderly.

Keywords: immune system, autoimmune phenomena, ageing, autoimmune diseases, immunosenescence, Tregs, gerontology.

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS

- ABC** - Células B Associadas ao Envelhecimento
- ADN** - Ácido Desoxirribonucleico
- AID** - Citidina Desaminase Induzida por Ativação
- APC** - Células Apresentadoras de Antígenos
- Bcl-2** -Linfoma de células B 2
- BCR** - Receptores de células B
- Células NK** - Células Natural killer
- CMV** -*Citomegalovirus*
- CSR** - Recombinação Class Switch
- CTLA-4** - Antígeno-4 associado aos linfócitos T citotóxicos
- EBV** - Vírus *Epstein-Barr*
- FOXP3⁺** - Forkhead Box Protein 3
- GITR** - Receptor do fator de Necrose Tumoral Induzido por Glicocorticóides
- GM-CSF** - Fator Estimulador de Colónias de Monócitos e Granulócitos
- GRO** -Oncogene Relacionado com o Crescimento
- HDAC** - Histona Desacetilase
- HLA** -Antígeno Leucocitário Humano
- HSV** - Vírus *Herpes simplex*
- ICAM-1** - Molécula de Adesão Intercelular-1
- Ig** - Imunoglobulina
- IGF-1** -Fator de Crescimento Insulina-like 1
- IL** - Interleucina
- IMC** - Índice de Massa Corporal
- INF** - Interferão
- IRP** - Perfil de Risco Imune
- KIR** - Receptor Imunoglobulina-like de Célulasnatural killer
- KLRG-1** - Receptor 1 Lectina-like de Células natural killer
- LFA-1** - Antígeno-1 da função de linfócitos
- MIP-1a** - Proteína Inflamatória Macrofágica-1a
- MIP-1β** -Proteína Inflamatória Macrofágica-1β
- MAPK** - Proteínas-cinase Ativadas por Mitogénios
- mARN** - ARN mensageiro

MBL2 - Lectina Ligadora da Manose 2

MCP-1 - Proteína Quimiotática de Monócitos-1

mDC - Células dendríticas mielóides

miARN - micro Ácido Ribonucleico

NCR - Receptores Citotóxicos Naturais

NF- κ B - Fator Nuclear kappa B

NKGD2 - Natural killer grupo 2, membro D

NO - Óxido Nítrico

OMS - Organização Mundial de Saúde

pDC -Células dendríticas plasmacitóides

PI3K - Fosfatidilinositol-3-cinase

pRB -Proteína Retinoblastoma

PRR -Receptores de Reconhecimento de Patogéneos

PUFA - Ácidos Gordos Polinsaturados

RANTES -Regulated Upon Activation Normal T-cell Expressed, and Presumably Secreted

SIDA - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SIRT1 - Sirtuína-1

STAT3 - Sinal do Transdutor e Ativador de Transcrição 3

TCR - Receptores de células T

TGF - Factor de Transformação do Crescimento

Th - T *helper*

TLR - Receptor Toll-like

TNF -Factor de Necrose Tumoral

TREC - Círculos Excisionais do TCR

VCAM-1 -Molécula-1 de Adesão Celular Vascular

VEGF - Fator de Crescimento do Endotélio Vascular

VIH - Vírus da Imunodeficiência Humana

VZV - Vírus *Varicella zoster*

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO	13
II. OBJETIVOS	15
III. MATERIAL E MÉTODOS	17
IV. A IMUNOSSENESCÊNCIA	19
A. A problemática do envelhecimento na sociedade atual	19
B. Definição e fatores potencialmente contribuidores	21
C. Senescência da Imunidade Inata.....	26
a. Neutrófilos Polimorfonucleares.....	26
b. Células Natural Killer.....	27
c. Células Dendríticas	31
d. Monócitos/Macrófagos.....	33
D. A Senescência da Imunidade Adquirida	35
E. A Imunossenescência e o conceito de inflamm-aging.....	40
V. A SENESCÊNCIA DAS CÉLULAS T	43
A. Células T reguladoras (Treg).....	47
B. Atrofia tímica.....	48
C. Consequências da senescência das células T.....	50
a. Aumento da susceptibilidade a infecções.....	50
b. Redução da resposta à vacinação	53
c. Maior incidência de neoplasias.....	55
d. Fenómenos de autoimunidade	57
VI. PERSPECTIVAS FUTURAS	61
VII. CONCLUSÕES	67
VIII. REFERÊNCIAS / BIBLIOGRAFIA	71

I. INTRODUÇÃO

A imunossenescência refere-se ao envelhecimento fisiológico do sistema imune.

O estudo dos fenômenos associados ao envelhecimento do sistema imunitário procura identificar as implicações deste na saúde do idoso, nomeadamente no que diz respeito ao desenvolvimento de doenças relacionadas com a idade, bem como às consequências destas a nível funcional e de morbimortalidade destes indivíduos.

A imunossenescência associa-se, provavelmente, ao aumento da susceptibilidade dos idosos a determinadas doenças inflamatórias, entre elas algumas doenças degenerativas, doenças neoplásicas e infecciosas, bem como fenômenos de autoimunidade e diminuição da resposta à vacinação.

O envelhecimento do sistema imune tem um impacto distinto nos diferentes tipos celulares, sendo que as células T são particularmente afetadas por este processo. Entre elas, as células T reguladoras apresentam um papel central na homeostasia imunitária e nos processos da imunossenescência.

Perante o aumento da esperança média de vida e tratando-se os idosos numa população com características muito especiais, o estudo dos fenômenos ocorridos durante o envelhecimento torna-se pertinente. Neste trabalho de revisão tenta-se sistematizar o conhecimento atual sobre os efeitos do envelhecimento no sistema imune.

II. OBJETIVOS

Este artigo de revisão tem como finalidade a revisão e análise sistemática da informação atualmente disponível na literatura científica sobre os fenómenos adaptativos que ocorrem no âmbito do envelhecimento fisiológico do sistema imune.

Pretende-se descrever os pontos-chave atuais sobre a imunossenescência incluindo as alterações genéticas, moleculares e celulares associadas ao envelhecimento e as respetivas consequências destas, com particular ênfase na senescência das células T.

Dentro destes fenómenos adaptativos incluem-se os fenómenos autoimunes, acerca dos quais se pretende fazer uma abordagem da fisiopatologia relacionada com o envelhecimento.

III. MATERIAL E MÉTODOS

O presente artigo de revisão foi elaborado com base numa pesquisa bibliográfica utilizando a base de dados PubMed.

A referida pesquisa foi realizada utilizando a pesquisa dos termos: *immunesystem*, *autoimmune phenomena*, *ageing*, *autoimmunediseases*, *immunosenescence*, *Tregs*, *gerontology*, e os limites aplicados foram: Humans, English, Portuguese, publicação entre 2010 – 2014.

IV. A IMUNOSSENESCÊNCIA

A. A problemática do envelhecimento na sociedade atual

A população mundial tem vindo a apresentar ao longo do último século um aumento da esperança média de vida. Este aumento é explicado por diversos factores tais como a melhoria dos cuidados de saúde, das condições de saneamento básico, da nutrição e maior proteção contra doenças infecciosas através da vacinação. Daqui resultou o envelhecimento global da população, que é constatado atualmente e que ocorre a diferentes velocidades consoante consideremos países desenvolvidos e países em desenvolvimento, sendo mais evidente nos países desenvolvidos ⁽³⁾.

As alterações demográficas são mais evidentes no Este Asiático e em alguns países da Europa, nos quais o número de idosos ultrapassa o número de crianças, ou aqueles onde essa situação é previsível a curto prazo. Este fenómeno é acompanhado pela redução do número de indivíduos trabalhadores ⁽³⁾, contribuindo para a sobrecarga dos sistemas de saúde e dos financeiros com a população idosa ⁽⁸⁾, assim como o impacto psicológico e financeiro cada vez maior para as respectivas famílias.

A percentagem da população idosa (com idade igual ou superior a 60 anos) aumentou de 8% em 1950 para 10% no ano 2000, sendo expectável um aumento de até 21% em 2050 ⁽¹⁾, estimando-se que, de acordo com a Organização das Nações Unidas, 75% dos idosos vivam nos países em desenvolvimento ⁽⁹⁾.

O envelhecimento populacional torna cada vez mais importante a reflexão e estudo sobre as alterações que lhe conferem, aparentemente, maior susceptibilidade a infecções, neoplasias e fenómenos autoimunes ⁽²⁾. O melhor conhecimento destas alterações poderá permitir desenvolver mais e melhores estratégias de abordagem, prevenção e terapêutica destas patologias, promovendo o envelhecimento saudável.

O envelhecimento é um processo multifactorial de elevada complexidade, no qual ocorre uma constante remodelação dos diferentes sistemas fisiológicos ao longo do tempo, com alteração da homeostasia do organismo e perda da capacidade de adaptação aos desafios do dia-a-dia, de forma cada vez mais pronunciada. Neste processo estão incluídas as alterações do sistema imunitário, tanto quantitativas como qualitativas ⁽⁵⁾.

Daqui resulta um aumento dos níveis de stress fisiológico e maior necessidade de recorrer às reservas do organismo ⁽⁴⁾, adivinhando-se a participação deste processo na patogenia de várias doenças associadas ao envelhecimento como doenças osteoarticulares, doenças cardiovasculares, Diabetes *mellitus* tipo 2, algumas doenças neurodegenerativas, bem como diversas neoplasias ⁽⁵⁾. Não estão ainda completamente compreendidas as interações entre estas doenças e o envelhecimento, embora se admita que a alteração do sistema imunitário seja parcialmente responsável pelo aparecimento deste tipo de patologias ⁽⁸⁾.

A investigação das adaptações do sistema imunitário associadas ao envelhecimento tem sido, efetivamente, objeto de inúmeros estudos na área da Gerontologia ⁽²⁾.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, é uma prioridade de Saúde Pública prevenir ou atenuar a ocorrência de doenças infecciosas na população idosa, pois estas são uma grande fonte de morbidade e mortalidade. Os departamentos de Envelhecimento e Qualidade de Vida e o de Vacinas e Imunização desta Organização têm tomado medidas neste sentido ⁽³⁾. Estas medidas consistem na investigação sobre o uso de vacinas e a imunização ao longo da vida dos indivíduos, assim como os benefícios decorrentes dos mesmos quanto ao aumento da qualidade de vida e aos menores gastos com cuidados de saúde ⁽¹³⁾. Entre as prioridades da OMS incluem-se o estudo de dados epidemiológicos da imunossenescência a nível mundial, bem como uma análise socioeconómica para comparar os benefícios de possíveis intervenções tais como a implementação de planos de vacinação ⁽¹³⁾.

B. Definição e fatores potencialmente contribuidores

A imunossenescência, termo que surgiu inicialmente pelo Dr. Roy Walford em 1969, designa um conjunto de fenómenos de remodelação progressiva que ocorrem no sistema imunitário decorrentes do processo fisiológico de envelhecimento ⁽⁶⁾.

Existe um interessante paradoxo no seio da imunossenescência, que compreende, por um lado, uma diminuição da eficácia do sistema imunitário no combate a patógenos, aumentando a susceptibilidade dos indivíduos idosos para as doenças infecciosas ⁽¹⁶⁾ e por outro lado uma aparente tendência para a ocorrência de fenómenos autoimunes ⁽³⁾, estes últimos caracterizados por uma ativação aumentada e inapropriada do sistema imunitário ⁽¹²⁾.

Foram também associados à senescência do sistema imune uma resposta incompleta à vacinação e uma maior incidência de neoplasias.

Este fenómeno constitui um complexo objeto de estudo e essa é uma das razões para que ainda existam mecanismos que não foram entendidos na sua totalidade ⁽¹⁴⁾. Para que fosse realizada uma investigação mais precisa no âmbito do envelhecimento do sistema imunitário foram elaborados vários trabalhos onde se excluíram idosos que apresentassem patologias, pois a presença destas pode alterar a função do sistema imunitário e o perfil de produção de citocinas dos indivíduos ⁽¹⁴⁾. Para isso, esses estudos passaram a utilizar o Protocolo SENIEUR, que consiste em rigorosos critérios de exclusão utilizados em trabalhos sobre a senescência do sistema imunitário. Segundo este protocolo, são selecionados apenas os indivíduos saudáveis com idades entre os 25 e os 34 anos e com mais de 65 anos. O protocolo foi criado para tentar atenuar a aparente discrepância nos resultados de diversos estudos sobre este tema, tentando excluir os inúmeros factores que exercem influência sobre o sistema imunitário, sendo que esta exclusão pode em si mesma constituir um viés ⁽²⁾. Uma limitação ao uso do protocolo SENIEUR é que atualmente apesar de ter aumentado o número de idosos, a seleção destes torna-se cada vez mais complexa devido ao aumento da incidência de doenças crónicas associadas à idade ⁽²⁾.

Uma possível limitação dos estudos realizados acerca da imunossenescência é o fato de recorrerem frequentemente a modelos animais ⁽⁴⁴⁾, que embora sejam facilmente manipulados e se consiga identificar os alvos dos estudos ⁽¹⁴⁾, apresentam necessariamente diferenças quanto ao fenótipo imune.

A complexidade da imunossenescência relaciona-se com sua natureza multifactorial e à interindividualidade, sendo que cada um tem o seu fenótipo imune ⁽⁸⁾, o seu próprio estilo de vida, exposição a diferentes agentes patogénicos e a diferentes níveis de stress, assim como características genéticas distintas, sendo que todos estes influenciam o processo de senescência ⁽⁷⁾.

Entre os factores que podem ter impacto sobre o sistema imunitário contam-se o ambiente social e económico em que os indivíduos estão inseridos, bem como o seu *status* mental e nutricional ⁽²⁾. Estes influenciam-se mutuamente, no sentido em que por exemplo indivíduos expostos à solidão, demência, depressão, pobreza e/ou alterações gastrointestinais, geralmente apresentam-se malnutridos, com ingestão proteica insuficiente e deficiências vitamínicas (principalmente de Vitaminas A, C e E) e de elementos vestigiais, sobretudo de Zinco, que é essencial à proliferação linfocitária ⁽²⁾.

A idade *per se* é seguramente um dos factores major para a imunossenescência, embora a investigação da última deva ir para além da caracterização das alterações atribuídas à idade, devendo incluir também factores socioeconómicos.

As classes sociais mais desfavorecidas associam-se a uma maior incidência e prevalência de problemas de saúde e foi colocada a hipótese de estas classes apresentarem uma função imunitária menos eficaz e um maior encurtamento telomérico, em relação às classes sociais mais altas. Uma justificação para esta hipótese relaciona-se com uma maior exposição dos indivíduos das classes mais baixas a factores imunodepressores como o stress, tabaco, obesidade, sedentarismo e pessimismo ⁽³⁸⁾.

Vários trabalhos tentaram investigar a possível relação entre o nível socioeconómico e o comprimento dos telómeros, com resultados contraditórios ⁽³⁸⁾. A consideração de factores socioeconómicos como a etnia do indivíduo, o tipo de trabalho, a respetiva remuneração ou o nível educacional no impacto a nível do sistema imune é uma interessante área de pesquisa, no sentido em que promove o conhecimento dos processos psicobiológicos relacionados com a imunossenescência ⁽³⁸⁾.

Os idosos podem ter a função do sistema imunitário afetada pela maior incidência de eventos traumáticos, cirurgias e doenças sistémicas como doença renal crónica, hepatopatia e insuficiência cardíaca ⁽²⁾. Para além do efeito direto destas situações no sistema imune, também as terapêuticas a que elas obrigam podem condicionar efeitos imunomoduladores ⁽²⁾.

A imunossenescência pode também associar-se a alterações do ritmo circadiano, com perda da interação entre subtipos linfocitários, hormonas com função imunomoduladora, citocinas e quimiocinas^(29, 49). O cortisol tem efeitos imunossupressores e a melatonina tem um papel imunomodulador através de vias opiatérgicas. A melatonina também estimula células T *helper* ativadas a produzir agonistas opióides e citocinas (IL-2 e IL-4)⁽²⁹⁾.

A hormona do crescimento e o *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) são conhecidos estimuladores da linfopoiese. O IGF-1 estimula a maturação dos linfócitos na medula óssea e a função destes a nível dos tecidos periféricos⁽⁴⁹⁾. Mazzocchi G. *et al* verificaram que células T *helper* e citotóxicas sofrem variações circadianas. Esta ritmicidade ocorre em fases opostas entre estes dois grupos celulares, o que pode ser indicador da presença de uma organização funcional temporal linfocitária⁽⁴⁹⁾.

Um assunto que tem grande relevância atualmente para a investigação da dinâmica de divisão e replicação celulares, bem como da imunossenescência, é a teoria do encurtamento dos telómeros, sob a ação da enzimatelomerase.

Os telómeros humanos contêm sequências repetitivas ricas em guanina, que são perdidas gradualmente aquando de cada divisão mitótica. Este processo é conhecido como erosão telomérica e ocorre porque a *ADN polimerase* é incapaz de replicar cromossomas lineares⁽¹⁹⁾.

Esta teoria preconiza que o encurtamento dos telómeros está associado ao processo de envelhecimento e resulta numa redução da capacidade proliferativa das células, “forçando-as” a entrar em senescência⁽¹⁹⁾. Nos adultos é considerado um fator preditor de maior morbilidade e de mortalidade mais precoce⁽²²⁾.

As células do sistema imunitário originam-se a partir de células progenitoras hematopoiéticas, que por sua vez derivam de linhagens mielóides e linfóides⁽¹⁹⁾. Estas estão permanentemente em renovação, dependente da eficiência da manutenção dos telómeros⁽¹⁹⁾. Os últimos protegem as terminações cromossómicas da degradação e fusão “*topo-a-topo*” com outros cromossomas, o que poderia originar translocações cromossómicas, perturbação do crescimento celular e fenómenos de malignização⁽²⁵⁾.

As células hematopoiéticas tornam-se progressivamente menos capazes de renovar as várias populações de células sanguíneas devido ao encurtamento dos telómeros e a erros cumulativos no ADN derivados da produção de radicais livres formados durante o metabolismo destas⁽⁷⁾.

Paradoxalmente, verificou-se que nos primeiros anos de vida uma velocidade relativamente alta de encurtamento telomérico, possivelmente devido a uma maior taxa de divisões mitóticas nesta altura da vida ⁽¹⁹⁾. Não podemos então afirmar que existe um processo de encurtamento telomérico linear ao longo da vida.

Durante os últimos anos foram identificados alguns dos fatores que intervêm no processo de erosão telomérica entre os quais se encontram defeitos genéticos, infeções virais crónicas e stress ⁽¹⁹⁾.

Alguns aspetos da imunossenescência não são explicados por esta teoria do encurtamento telomérico, pois esta apenas explica a ocorrência desse encurtamento em células rapidamente proliferativas e não explica defeitos ocorridos nos linfócitos que não estão em fase replicativa e que tiveram proliferação limitada, como por exemplo os linfócitos T e B *naïve* ⁽¹²⁾.

A variabilidade significativa que existe no processo de envelhecimento entre populações deriva, entre outros aspetos, de uma heterogeneidade a nível de fatores epigenéticos, tais como o estado de metilação do ADN, modificação de histonas ou miARN ⁽¹⁹⁾. Existe perda de metilcitosinas com o envelhecimento, principalmente nos sítios CpG com sequências repetitivas Alu e sequências retrovirais endógenas ⁽¹⁹⁾.

Relativamente ao miARN, há alguma evidência da sua participação na determinação do envelhecimento e longevidade, sendo que entre os implicados nesses processos estão por exemplo miR-1, miR-145, miR-140, miR-34a e miR-449. Alguns destes modulam moléculas que intervêm na senescência celular e na remodelação da cromatina, tais como histona desacetilases (HDAC), sirtuína-1 (SIRT1), p21, p53 ou pRb ⁽¹⁹⁾.

Diversos grupos de genes estão possivelmente associados a uma maior longevidade humana, bem como a doenças relacionadas com a idade. Entre estes incluem-se genes do sistema antigénio leucocitário humano (HLA), genes codificadores de moléculas HLA-like como a CD1, genes codificadores do receptor da *Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor* (KIR), genes do receptorFc leucocitário, genes codificadores de citocinas e dos seus receptores, genes da família TLR (*Toll-like receptor*), genes do receptor do TNF e da *Mannose-binding Lectin2* (MBL2) ⁽²³⁾.

Atualmente não é certo o papel desempenhado por estes genes na longevidade, nem o grau de impacto que os fatores genéticos têm sobre o envelhecimento ⁽²³⁾.

Aparentemente o envelhecimento do sistema imune afeta quase todos os seus componentes, mas parece ter efeitos mais marcados a nível da imunidade adquirida ⁽¹⁰⁾,

na qual se constataram um decréscimo no número absoluto de células B e T com a idade, alteração ou manutenção do número de células NK (*Natural Killer*) e variações na proporção de subtipos de células T. As adaptações ocorridas na imunidade celular são provavelmente um ponto-chave no entendimento deste processo ⁽²⁾.

A involução tímica, a constante remodelação do repertório de células imunes pela ativação contínua do sistema imunitário, a desregulação das funções do *Toll-like receptor* (TLR), a redução da produção de células B *naïve*, o surgimento de defeitos intrínsecos nas células B residentes, o estado nutricional e alterações nos processos de sinalização hormonais contribuem para a imunossenescência ⁽⁸⁾.

C. Senescência da Imunidade Inata

A imunidade inata consiste na primeira linha de defesa do organismo contra agentes patogénicos, produzindo uma resposta imediata e inespecífica a agentes externos⁽¹⁶⁾. Tem também a capacidade de estimular a resposta imune adquirida, nomeadamente células B e T, através da produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias. É, portanto, essencial na elaboração de respostas imunitárias, logo na proteção do organismo contra infeções⁽²⁴⁾.

Dentro da imunidade inata os efeitos da imunossenescência são mais evidentes a nível das suas células efetoras, entre as quais as mais relevantes são os neutrófilos, as células NK e as células dendríticas⁽⁵⁾.

Essas alterações consistem na diminuição da eficácia da defesa imediata contra agentes patogénicos e na redução da capacidade de iniciação dos mecanismos da imunidade adaptativa, bem como um aumento da ocorrência de reações inflamatórias⁽¹³⁾.

a. Neutrófilos Polimorfonucleares

Os neutrófilos polimorfonucleares circulantes são recrutados pelo tecido inflamado por um processo de quimiotaxia em que os macrófagos desse tecido produzem citocinas (nomeadamente TNF- α , IL-1 e IL-8), que atraem os neutrófilos polimorfonucleares para o local da inflamação através da expressão aumentada de selectina e integrinas neutrofílicas (CD11a/CD18 e CD11b/CD18) nas células endoteliais⁽¹⁴⁾.

Uma vez no tecido inflamado, os neutrófilos polimorfonucleares fagocitam partículas opsonizadas e destroem microrganismos invasores por meio de enzimas lisosómicas e produção de espécies reativas de oxigénio⁽¹⁴⁾. Os neutrófilos também têm a capacidade de reconhecer microrganismos invasores através de padrões moleculares associados aos patógenos (PMAPs) e ligam-se a receptores específicos da região Fc da IgG (CD16, CD32 ou CD64) ou através de moléculas do sistema de complemento (CD35, CD11b/CD18). Os níveis de CD11b e complemento sérico não parecem estar

alterados com o envelhecimento, mas foi descrito um decréscimo de CD16, o que pode proporcionar uma redução na fagocitose mediada por Fc⁽¹⁴⁾.

Estas células mostram outros efeitos relacionados com a idade⁽¹³⁾, mais especificamente uma menor resposta a estímulos quimiotáticos e a fatores de crescimento⁽¹⁴⁾, redução da infiltração de tecidos inflamados, produção de espécies reativas de oxigênio e redução da capacidade de eliminação de patógenos intracelulares⁽¹³⁾. Foi também constatada em vários estudos uma diminuição da capacidade de fagocitose, que se deve em parte a níveis aumentados de cálcio nos neutrófilos e à alteração da produção de citocinas⁽¹⁴⁾. *Butcher et al* descrevem uma alteração na expressão dos receptores de superfície destas células, fato que pode estar relacionado com a senescência das mesmas⁽¹⁵⁾. Daqui resulta uma menor eficácia na resolução de eventos infecciosos, com tempo de atuação mais alargado⁽¹⁹⁾ e maior susceptibilidade a agentes invasores⁽¹³⁾.

Com o envelhecimento parece haver uma perda da capacidade lisossômica dos neutrófilos polimorfonucleares de eliminarem microrganismos patogênicos. A produção de espécies reativas de oxigênio diminui com bactérias Gram-positivas e isso pode dever-se a uma redução da sinalização de cálcio intracelular⁽¹⁴⁾.

Nos idosos verificou-se um decréscimo no número de células polimorfonucleares devido provavelmente à perda de capacidade antiapoptótica com a idade, pois nos indivíduos jovens constatou-se a maior produção de mediadores inflamatórios que conferem esta capacidade, tais como IL-2 ou GM-CSF (Fator Estimulador de Colônias de Monócitos e Granulócitos)⁽¹⁴⁾. No entanto, apenas se verificou um aumento da apoptose de células polimorfonucleares ativadas⁽¹⁴⁾.

b. Células Natural Killer

Um segundo grupo de células efetoras da imunidade inata é o das células NK (*Natural Killer*), que correspondem a cerca de 10 a 15% de todos os linfócitos⁽¹⁷⁾. Estas células têm origem em progenitores linfóides comuns e sofrem maturação nos tecidos linfóides (baço, medula óssea e amígdalas) antes de entrarem na circulação sanguínea⁽⁷⁾.

O papel destas células é mais conhecido em doenças neoplásicas e infeções virais, mas não foi ainda completamente compreendido noutros contextos, principalmente em fenómenos autoimunes ou imunovigilância em infeções crónicas ⁽⁷⁾.

Pertencem a uma classe de linfócitos não-T citotóxicos ⁽¹⁷⁾ que provoca a destruição de células infetadas por patogéneos intracelulares através da produção de perforina e granzima e também ativam macrófagos no sentido de fagocitar microrganismos invasores ⁽¹⁴⁾.

Estas células desempenham um papel importante na ligação entre as imunidades inata e adquirida ao estimular a imunovigilância e atividade citotóxica das células T CD8⁺ no hospedeiro ⁽⁷⁾.

As células NK apresentam diferenças em relação aos restantes linfócitos, sendo uma das principais a ausência de expressão de moléculas de superfície tais como CD3, BCR ou TCR ⁽⁷⁾. Outro aspeto distinto é que as NK reagem mais rapidamente, horas após o estímulo, do que os linfócitos T CD8⁺, que demoram alguns dias a proliferar e diferenciar-se em efetores citotóxicos⁽¹⁷⁾. As NK estão aptas a eliminar diretamente outras células que não possuam moléculas MHC classe I, sem necessidade de sensibilização, ligação a antígenos ou apresentação prévia ⁽⁷⁾.

As NK são as células que apresentam a maior capacidade citotóxica no sistema imunitário e geram uma resposta rápida e eficaz contra agentes invasores. Alterações tanto no seu número ou função terão um impacto considerável na função imunitária, embora ainda não esteja esclarecida a relação entre os dois ⁽⁷⁾. O estudo desta relação pode oferecer uma maior compreensão das doenças relacionadas com o envelhecimento e as causas da hiporresponsividade do sistema imunitário nos idosos ⁽⁷⁾.

A função citotóxica das células NK é rigorosamente regulada eo seu mecanismo de controlo resulta de um equilíbrio entre sinais recebidos pelos seus receptores inibitórios e ativadores expressos na superfície. Estes determinam se estas células procedem ou não à eliminação de outras, sendo os estímulos inibitórios dominantes. Estes sinais são transmitidos por duas famílias de receptores, os imunoglobulina-like e as lectinas tipo C⁽⁷⁾.

As NK apresentam fenótipos distintos de acordo com a expressão de diversos marcadores, capacidade citotóxica e produção de citocinas⁽¹⁷⁾. Podem definir-se como células CD3⁻ CD56⁺ CD16⁺⁽⁷⁾ e são agrupadas em dois subtipos funcionais com base na densidade da expressão à superfície de CD56. Existem as células denominadas CD56^{bright} (imunorreguladoras) e as células CD56^{dim} (citotóxicas) ⁽¹⁷⁾. Ambos os subtipos

celulares foram já extensivamente estudados quanto às suas funções, fenótipo e localização tecidual.

Com o envelhecimento constatou-se um aumento no número absoluto de células NK, mas ao mesmo tempo uma redução na sua produção. Também existe uma redistribuição dos subtipos celulares, que consiste numa redução marcada das células CD56^{bright} com concomitante aumento do subtipo CD56^{dim}. O aumento do número absoluto de células NK com a idade deve-se à expansão do subtipo CD56^{dim}(17). As células NK CD57⁺ CD56^{dim} são uma subpopulação celular muito diferenciada e esta diferenciação parece estar associada à expressão da molécula CD57. Há uma acumulação de células NK mais diferenciadas nos idosos, com expressão aumentada de CD57⁽¹⁷⁾, que apresentam maior capacidade citotóxica, maior sensibilidade à estimulação por CD16, menor resposta a citocinas e menor capacidade proliferativa, quando comparadas com células NK CD57⁻. Estes aspetos apoiam a hipótese da existência de um “*shift*” gradual da função das NK durante a sua diferenciação, desde células CD56^{bright}, passando por células CD56^{dim} CD57⁻ até células CD56^{dim} CD57⁺(17).

Esta hipótese pode contribuir para a desregulação noutros tipos celulares, pois com a redução do número de células NK CD56^{bright}, que são essenciais para a resposta a citocinas pelas células NK, pode haver prejuízo da resposta imunitária. Este prejuízo ocorre nomeadamente a nível da ativação das células dendríticas e função dos monócitos, pois a interação das células NK com monócitos promove a inflamação(17).

A IL-2 desempenha um papel importante na função das células NK, pois induz a proliferação destas e modifica o perfil de secreção de citocinas, aumentando a produção de IFN- α , IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10. No entanto, nos indivíduos idosos, a IL-2 induz a proliferação das células NK de forma mais moderada (ou até mesmo não a induz)⁽⁷⁾. A produção de outras citocinas como IL-12 e INF- γ diminui devido à IL-2. Apesar disto, a capacidade citotóxica destas células parece mantida⁽¹⁷⁾.

Com o envelhecimento foram observadas diversas alterações a nível da capacidade proliferativa das células NK, com redução da produção de citocinas ou quimiocinas (como INF- γ , RANTES, MIP1a e IL-8), alteração da expressão de alguns receptores celulares (como receptores citotóxicos naturais - NCRs, CD226 e KIRG-1), e expressão aumentada de KIR HLA-específico (*HLA-specific killer immunoglobulin-like receptor*)⁽¹⁹⁾.

Alguns trabalhos realizados sobre as células NK mostraram resultados conflituosos⁽¹⁴⁾. Esses resultados podem dever-se aos diferentes critérios de inclusão

utilizados nos estudos com humanos, pois alguns utilizaram o Protocolo SENIEUR, incluindo apenas os indivíduos idosos mais saudáveis, enquanto outros não utilizaram uma seleção tão restrita e estudaram idosos com patologias ⁽¹⁷⁾. Neste último caso foram estudadas as relações entre as alterações das células NK com doenças associadas à idade e com o risco de morte. Verificou-se nestes indivíduos uma redução do número de células NK e que essa redução estaria relacionada com um aumento da incidência de doenças infecciosas (e morte devido a estas) neste grupo etário ⁽¹⁷⁾. A redução da função das células NK foi associada a uma maior frequência de outras doenças como a aterosclerose ⁽¹⁷⁾.

Nos trabalhos publicados em que foram selecionados apenas idosos saudáveis constatou-se um aumento no número de células NK com a idade, sem alterações significativas da função citotóxica. Segundo os mesmos autores, constatou-se que uma função preservada das células NK se associa à manutenção de um estilo de vida autónomo, melhor perfil nutricional, níveis séricos mais elevados de Vitamina D, concentrações mais elevadas de micronutrientes, um estado de saúde mais preservado, menor incidência de infeções respiratórias, assim como uma melhor resposta à vacina contra o vírus *Influenza* ⁽¹⁷⁾.

Considerando todos estes dados, podemos concluir que a preservação do número e função das células NK pode constituir um marcador mais ou menos exato do envelhecimento saudável, mas ainda é necessário reunir mais conhecimentos dado que ainda não se conhecem completamente as interações entre os fenótipos das células NK com a função destas e com a ocorrência de doenças relacionadas com a idade e o seu respetivo impacto na saúde dos idosos.

c. Células Dendríticas

As células dendríticas são as principais células apresentadoras de antígenos (APC) do organismo.

Estas células constituem dois grupos populacionais funcionalmente distintos⁽²⁰⁾, as células mDC (mielóides) e pDC (plasmacitóides). As células plasmacitóides podem induzir a diferenciação de células B em plasmócitos e desta forma parecem promover a produção de autoanticorpos e exercer um papel na indução de imunotolerância⁽²⁰⁾. As células mielóides, por seu lado, são produtoras de citocinas como IL-12, têm função quimiotática e de ativação de células T CD4⁺naïve via apresentação antigénica.

As células dendríticas ao desempenhar a função de apresentação antigénica estabelecem uma relação fundamental entre as componentes inata e adquirida da resposta imunitária⁽¹²⁾. A função de apresentação antigénica está reduzida em idosos⁽¹⁹⁾, o que pode afetar profundamente a imunidade celular⁽⁷⁾, tendo-se verificado uma variação da expressão de moléculas importantes envolvidas na apresentação antigénica, tais como um decréscimo da expressão de moléculas do MHC, de ligandos co-estimulatórios e da expressão de moléculas reguladoras⁽¹²⁾.

As células dendríticas reconhecem os agentes patogénicos através de *receptores de reconhecimento de patógenos* (PRR), de que é exemplo o TLR⁽²⁴⁾. Foi identificada uma redução da expressão de TLR1, TLR3 e TLR8 nas células mielóides e diminuição da expressão de TLR7 e TLR9 pela população plasmacitóide com a idade⁽⁵⁵⁾.

A secreção de citocinas pelas células dendríticas é crucial para que se inicie a proliferação e polarização de células T. Esta polarização dá-se no sentido de Th1/Th2/Th17/Treg⁽²⁴⁾. A secreção de IL-12 induz a produção de INF- γ pelas células T, favorecendo a resposta destas células no sentido de Th1, enquanto a secreção de IL-10 favorece uma resposta destas no sentido Th2 e também a produção de IL-5⁽²⁴⁾.

A maturação das células dendríticas é fundamental para a iniciação da resposta imune, pois apesar de estas células imaturas serem extremamente eficazes na captura e processamento antigénico, são muito mais eficazes a induzir a ativação de células T naïve após sofrerem maturação⁽³⁵⁾.

As células dendríticas mielóides e plasmacitóides apresentam uma ativação constitucional em indivíduos a partir dos 65 anos, comparativamente a indivíduos entre os 21 e 30 anos de idade⁽¹³⁾ na ausência de infeção. Esta ativação basal traduz-se numa

maior produção de citocinas pró-inflamatórias (tais como TNF- α e IL-6) e maiores níveis de ativação de NF- κ B⁽¹⁹⁾.

As moléculas CD80 e CD86 são co-receptores estimulatórios da ligação entre o TCR das células T e o MHC das células APC aquando da apresentação antigénica às células T⁽³⁷⁾. As células dendríticas dos idosos não apresentam sobre-regulação de CD80 e CD86 à sua superfície, o que sugere que a ativação destas células é apenas parcial⁽¹⁹⁾. Não existe uma explicação definitiva para esta ativação parcial, mas pensa-se que esteja relacionada com o aumento dos níveis de mediadores pró-inflamatórios e a modificações de autoantígenos que aumentam a imunogenicidade destes, alterações estas relacionadas com o envelhecimento⁽¹⁹⁾.

As células dendríticas parcialmente ativadas possuem maior função estimuladora das células T, o que pode indicar que a sua capacidade indutora de tolerância a autoantígenos está afetada⁽¹⁹⁾, devido à menor ativação da *Fosfatidilinositol-3-cinase* (PI3K), que por sua vez leva à ativação de NF- κ B⁽¹⁹⁾.

A IL-10 é uma das principais citocinas anti-inflamatórias, que exerce função inibitória sobre a produção de citocinas pró-inflamatórias por um mecanismo de *feedback*. Esta citocina inibe diversas funções das células dendríticas e macrófagos e tem um importante papel na limitação da lesão tecidual que ocorre durante infeções. A IL-10 minimiza também a ocorrência de fenómenos autoimunes ao limitar a duração e a intensidade da resposta imune. Existem evidências atuais de que a produção de IL-10 se encontra reduzida nos idosos⁽²⁴⁾.

As células dendríticas funcionam também como “*checkpoint*” entre a resposta imunitária e a imunotolerância⁽¹⁹⁾.

O seu papel na indução de imunotolerância parece estar modificado devido ao envelhecimento, o que leva a um aumento da incidência de fenómenos de autoimunidade⁽¹³⁾. Estes estão relacionados com uma maior reatividade apresentada por estas células em relação a autoantígenos intracelulares e células apoptóticas, em comparação com células dendríticas de indivíduos mais jovens⁽¹⁹⁾.

A capacidade fagocítica das células dendríticas sofre também um decréscimo durante o envelhecimento e contribui para a acumulação de células apoptóticas⁽²⁰⁾.

Para além de apresentarem antígenos e produzirem citocinas, estas células eliminam detritos celulares e células apoptóticas através de fagocitose⁽²⁰⁾. Esta função é essencial no sentido de limitar a ocorrência de inflamação local e prevenir fenómenos de autoimunidade. Se as células apoptóticas permanecerem nos tecidos vão sofrer

necrose secundária, resultando na produção de mediadores pró-inflamatórios e autoantígenos intracelulares⁽²⁰⁾. Com uma maior apresentação destes antígenos há, conseqüentemente, ativação de linfócitos autorreativos⁽¹⁹⁾.

O papel das células dendríticas no idoso e as suas alterações no contexto da imunossenescência tem algumas lacunas por preencher, tais como a definição dos defeitos específicos dos seus diferentes subtipos celulares com o envelhecimento e o impacto destes na função imunitária do idoso⁽¹²⁾, especialmente no desenvolvimento de fenômenos autoimunes e aumento da susceptibilidade a infecções.

Torna-se pertinente a compreensão dos mecanismos subjacentes à função destas células de forma a entender melhor a interação entre as imunidades inata e adquirida.

d. Monócitos/Macrófagos

Os monócitos são produzidos na medula óssea a partir de precursores mielóides e lançados para a circulação sanguínea. Quando recebem um estímulo inflamatório sofrem quimiotaxia e a nível do tecido inflamado são ativados a macrófagos e células dendríticas⁽¹⁹⁾. Os últimos possuem capacidade fagocítica, através do reconhecimento de padrões moleculares antigénicos ou de opsoninas. Uma vez no fagossoma, os agentes invasores são destruídos após a fusão deste com o lisossoma, por meio de enzimas e substâncias tóxicas contidas neste, como espécies reativas de oxigénio e óxido nítrico (NO)⁽¹⁴⁾. Após a fagocitose, os macrófagos secretam citocinas pró-inflamatórias (como IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, TNF- α , TGF- β , IFN- α e IFN- β), quimiocinas (como IL-8 e *oncogene relacionado com o crescimento - GRO*), fatores de coagulação, componentes do sistema de complemento, leucotrienos e prostaglandina E₂⁽¹⁴⁾. Estas substâncias vão amplificar a imunidade inata e ativar a imunidade adaptativa⁽¹⁴⁾.

Durante o envelhecimento não se verificou redução do número de macrófagos, no entanto sabe-se que as células hematopoiéticas têm um tempo de vida funcional limitado e que nos idosos a medula óssea apresenta hipocelularidade e decréscimo significativo do número de precursores macrofágicos⁽¹⁴⁾. Estes fatores apontam para a possibilidade de existir uma redução efetiva do número de macrófagos nestes indivíduos.

A produção de citocinas e quimiocinas pelos macrófagos parece sofrer alterações no envelhecimento, um ligeiro declínio ou até manutenção da sua produção⁽¹⁴⁾. Constataram-se alterações a nível dos receptores celulares, que resultam em deficiente fagocitose, reduzida eliminação de células apoptóticas e espécies reativas de oxigénio, culminando numa exacerbação do estado inflamatório crónico observado nos idosos⁽¹⁹⁾. Um tipo de receptores cuja expressão e função estão alteradas com a idade é o TLR^(14, 55). Este é um tipo de receptor transmembranar de reconhecimento de padrões patogénicos (PRR) geralmente expressos pelas células dendríticas, monócitos, macrófagos e neutrófilos⁽²⁶⁾. Estão envolvidos no reconhecimento de moléculas antigénicas e quando ativados, desencadeiam a produção de citocinas pró-inflamatórias e ativação das células da imunidade inata.

O número de monócitos da subpopulação CD56⁺ (produtores de TNF- α via TLRs 2 e 4) aumenta com a idade, enquanto os monócitos que não expressam esta molécula sofrem redução do seu número⁽¹⁹⁾.

Com o envelhecimento, a redução da expressão de TLR1 à superfície dos neutrófilos e monócitos humanos foi associada à redução da produção de citocinas induzida por TLR1/TLR2 e diminuição da resposta à vacinação. Demonstrou-se num outro estudo que a expressão TLR-dependente das moléculas co-estimulatórias CD80 e CD86 em monócitos de idosos estava alterada⁽⁵⁵⁾.

Observou-se também que no envelhecimento os monócitos que expressam CD16 sofrem expansão, o que se verifica também durante infeções bacterianas e infeções por VIH não tratadas⁽⁵⁴⁾.

A prostaglandina E₂ é um potente imunomodulador, tanto a nível do processo inflamatório como da resposta imunitária. Estudos mostraram um aumento da produção deste eicosanóide pelos macrófagos de idosos⁽¹⁴⁾.

Uma limitação da maior parte destas descobertas reside no fato de terem sido constatadas em modelos animais com ratos⁽¹³⁾ e existe uma marcada distância evolucionária entre estes e os humanos, bem como diferenças no sistema imunitário. É prudente haver alguma precaução quanto a possíveis extrapolações que possam ser feitas acerca dos resultados⁽⁹⁾.

D. A Senescência da Imunidade Adquirida

A imunidade adquirida tem como características centrais a produção de anticorpos com elevada especificidade para um determinado antígeno, a geração de memória imunitária de longa duração e a tolerância aos componentes do *self*⁽⁵⁰⁾.

No contexto da imunidade adquirida verifica-se uma redução na diversidade clonal das células T *naïve*, uma expansão do número de clones de células T de memória e alterações na sinalização de células T⁽⁵⁾. Existe também um aumento do número de células T efetoras tardias e um marcado decréscimo no repertório de células T⁽¹⁰⁾.

Entre os idosos verificaram-se modificações na resposta humoral, que podem ser causadas pela diminuição do número e repertório de células B⁽¹³⁾, condicionando uma menor resposta a novos antígenos e à vacinação nos idosos⁽³¹⁾.

A resposta da imunidade adquirida é ativada quando recebe um estímulo por parte da componente inata. As células T expressam à superfície *receptores de células T* (TCR) que são responsáveis pelo reconhecimento de antígenos quando estes estão ligados a moléculas do MHC à superfície das células dendríticas ou outras células apresentadoras de antígenos⁽²⁰⁾. As células T ativadas em resposta a um determinado antígeno correspondem àquelas que possuem um TCR específico para esse antígeno. Em seguida essas células proliferam, num processo designado de expansão clonal e diferenciam-se em células T efetoras, que incluem as células T CD8⁺ (citotóxicas) e as CD4⁺ (*helper*). As células T CD8⁺ reconhecem o complexo antígeno-MHC à superfície celular e eliminam as células infetadas, enquanto as células T CD4⁺ regulam outras células, tais como as B⁽²⁰⁾. Para que possa ocorrer a diferenciação das células T ativadas, estas têm que receber dois tipos de sinais das células dendríticas. Um deles resulta da interação entre o TCR e a molécula antigénica ligada ao MHC das células dendríticas; o outro sinal é desencadeado com a ligação entre a molécula B7 da célula dendrítica e o receptor CD28 da célula T⁽²⁰⁾. As células T que interagem fortemente contra peptídeos do *self*, em vez de reagirem contra moléculas antigénicas, recebem o primeiro sinal, mas não o segundo. Consequentemente, estas células são eliminadas ou entram num estado designado de anergia, no qual são refratárias à ativação⁽²⁰⁾.

As células-tronco hematopoiéticas dão origem às células das linhagens mielóide e linfóide; podem ser classificadas segundo o seu potencial fixo de diferenciação em precursoras de células mielóides e precursoras de células linfóides⁽²⁰⁾.

Um aspeto interessante das células-tronco hematopoiéticas dos idosos é que, apesar de não sofrerem redução significativa do seu número, apresentam um "*shift*" a nível das suas subpopulações⁽²⁰⁾, que se caracteriza pela maior proliferação de células mielóides, com reduzida proliferação de células linfóides. Assim, a proporção entre precursores mielóides e linfóides está alterada nos idosos⁽³⁹⁾ e a depleção de precursores linfóides pode contribuir para o declínio no número de precursores de células T verificado no envelhecimento⁽²⁰⁾.

As células B podem atuar como células apresentadoras de antígenos ou como células efectoras antígeno-específicas. As células B *naïve* que apresentam imunoglobulinas específicas para um determinado antígeno apresentam-no às células T CD4⁺ que exibem também receptores específicos para esse antígeno. Estas, por sua vez, estimulam a expansão clonal das células B e a sua diferenciação em plasmócitos produtores de anticorpos⁽²⁰⁾. Os anticorpos atuam sobre os agentes patogénicos e os seus produtos tóxicos através de processos de neutralização, opsonização (que consiste na "marcação" destes para fagocitose pelas células da imunidade inata) ou ativação do sistema de complemento, promovendo a eliminação destes agentes⁽²⁰⁾.

As células B, para além de produtoras de anticorpos, desempenham outras funções, como a estimulação da ativação de células T CD4⁺ e CD8⁺ e a modulação da função das células T⁽³⁶⁾.

Embora a maior parte das células B e T ativadas se tornem efectoras e sofram apoptose após a resposta imunitária primária terminar, um pequeno número delas sobrevive e tornam-se células de memória, quiescentes na ausência de infeção pelo antígeno específico que as ativa. Se mais tarde estas células encontrarem esse antígeno são ativadas e desencadeiam a resposta imunitária secundária, mais intensa e rápida do que a primeira resposta a esse antígeno⁽²⁰⁾.

A adaptação da resposta humoral relacionada com o envelhecimento é, em parte, consequência da senescência das células T. No entanto, as alterações que ocorrem nas células B têm também impacto significativo na execução da resposta humoral⁽³¹⁾.

Nos idosos, o número total de células B não sofre alterações substanciais⁽³³⁾, passando antes por uma modificação qualitativa na qual existe redução do número de células *naïve* e aumento concomitante de células de memória^(19, 20). As células B de

memória inserem-se em duas populações distintas, as células *IgM de memória* ($IgG^-IgA^-CD27^+$) e as células *switch de memória* ($IgG^+IgA^+CD27^{+-}$)⁽³¹⁾. As primeiras representam a maior parte das células B de memória e não sofrem alterações significativas com a idade⁽³¹⁾.

Uma característica peculiar das células B de memória é que estas desenvolvem uma resposta mais fraca perante estímulos antigénicos, o que se traduz numa menor expansão clonal ou menor capacidade de diferenciação em plasmócitos⁽¹⁹⁾. Esta pode ser uma consequência de defeitos moleculares intrínsecos (como a deterioração de hipermutações somáticas aquando dum estímulo antigénico)⁽¹⁹⁾ das células B senescentes, que resultam na produção de anticorpos com reduzida afinidade e especificidade para determinado antigénio^(33, 35). Assim, a resposta contra novos antigénios é menos eficaz⁽²⁰⁾.

Outro aspeto importante da senescência das células B é a presença de alterações no BCR⁽¹⁹⁾, que condicionam uma redução do repertório de células B. O gene codificador do BCR é codificado pelo mesmo gene que codifica a imunoglobulina.

As células B imaturas que expressam IgM saem da medula óssea e migram para os órgãos linfóides secundários. Ao encontrarem um antigénio, migram para a medula do gânglio linfático, onde completam a sua diferenciação. Aqui acontece também o *class switching*, processo pelo qual se tornam plasmócitos produtores de anticorpos⁽⁵⁰⁾. Em seguida migram para um folículo linfóide próximo e formam um centro germinativo através da sua rápida proliferação. Os genes da imunoglobulina sofrem hipermutação somática, resultando na seleção positiva de células B que expressam as imunoglobulinas com maior afinidade para o antigénio encontrado previamente^(50, 53).

Este rearranjo genético é crucial para a diversidade do repertório de células B, aumentando a variedade de imunoglobulinas produzidas, logo aumentando também a probabilidade de um determinado antigénio ser reconhecido⁽³⁶⁾.

A par destas alterações, verifica-se também nos idosos a perda da capacidade de distinção entre antigénios *self* e *não-self*, devido à expansão oligoclonal de uma subpopulação de células B com contato antigénico prévio⁽¹⁹⁾. Estas expressam CD5 à superfície, o que lhes confere a capacidade de produzir anticorpos com fraca afinidade. No contexto da produção de autoanticorpos estes eventos são importantes para desencadear fenómenos de autoimunidade⁽¹⁹⁾.

Em trabalhos realizados no âmbito da senescência das células B observou-se que tanto as percentagens como o número absoluto dos seus precursores medulares declinam apenas moderadamente ou não sofrem qualquer redução ^(19, 31).

Com o envelhecimento, o número de células pré-B decresce devido à diminuição da expressão e atividade dos fatores transcricionais E12 e E47, assim como à recombinação de genes ativadores da transição de células pró-B para células pré-B ⁽¹⁴⁾, perdendo-se alguma capacidade de diferenciação em células pré-B em cerca de 60 a 90% ⁽¹⁹⁾. Este defeito da ativação dos fatores transcricionais deve-se a instabilidade do mRNA e associa-se à redução da expressão de *Citidina Desaminase Induzida por Ativação* (AID), que é responsável pela indução do *Class Switch Recombination* (CSR) ⁽⁵³⁾. A presença de defeitos intrínsecos a nível do *Class Switch Stimulation*, que consiste na alteração durante a resposta imune da classe de imunoglobulina expressada à superfície (de IgG para IgM, IgE ou IgA) pode comprometer a eficácia da resposta das células B a novos antígenos ⁽⁵³⁾.

Estudos recentes identificaram uma nova subpopulação de células B periféricas em idosos, denominadas *células B associadas ao envelhecimento* (ABC). Estas expressam um fenótipo CD19⁺ CD11b⁺ CD11c⁺. Mostraram *in vitro* responder apenas a estímulos da imunidade inata, através da produção de autoanticorpos e citocinas. Possuem também a capacidade de potenciar a polarização das células Th17, o que associa possivelmente este novo subtipo celular a um fenótipo autoimune ⁽¹⁹⁾.

Um grupo muito especial de indivíduos é o dos idosos centenários. Estes correspondem atualmente a 1/8000 habitantes no continente europeu e tanto eles como os seus descendentes diretos apresentam um conjunto de características genéticas e funcionais que lhes conferem maior proteção cardiovascular e uma melhor função imunitária, semelhante à dos indivíduos jovens ⁽³⁰⁾. A nível das células B não se verificam nestes indivíduos as adaptações que ocorrem durante o envelhecimento noutros idosos mais jovens e saudáveis, designadamente o “*shift*” entre o número de células *naïve* e de memória, caracterizado pelo aumento do número de células de memória com concomitante redução do número de células *naïve*. Nos centenários existe, pelo contrário, um aumento de células *naïve* a par do aumento de células de

memória ⁽³⁰⁾. Nestes indivíduos não se verificatambém um declínio significativo na produção de anticorpos.

O aumento da reserva de células B *naïves* centenários e seus descendentes diretos constitui, provavelmente, um dos fatores proporcionadores da manutenção da eficácia da resposta imune humoral contra antigénios novos ⁽³⁰⁾. Logo, as alterações sofridas nas populações de células B relacionadas com a idade são marcadores potenciais do envelhecimento saudável, bem como da esperança de vida humana e um fator útil na avaliação de terapêuticas que intervêm na prevenção e/ou reversão dos processos da imunossenescência e os seus efeitos.

A consideração de todos estes aspetos explica, em grande parte, a menor eficácia da resposta imunitária dos idosos a novos antigénios, tanto vacinais como novos agentes infecciosos⁽¹⁰⁾. No entanto alguns aspetos permanecem não totalmente compreendidos, tais como a extensão dos defeitos das células imunitárias com a idade, os agentes que afetam a geração da resposta imunitária e os fatores que contribuem para o declínio dessa resposta nos idosos ⁽¹²⁾.

E. A Imunossenescência e o conceito de *inflamm-aging*

O conceito de *inflamm-aging* consiste na existência de um estado de inflamação crônica, subclínica, de baixo grau relacionada com o envelhecimento, em que há produção aumentada de mediadores pró-inflamatórios (como IL-6, TNF- α e IL-1 β)⁽¹⁰⁾. É uma das características mais interessantes associadas à imunossenescência⁽¹⁰⁾ e que tem vindo a ganhar relevância para explicar a maior incidência de doenças com conhecida inflamação subjacente entre a população idosa.

Atualmente não é clara a relação causa-efeito existente entre este estado de inflamação crônica observado em vários processos de envelhecimento e o desenvolvimento de doenças degenerativas crônicas⁽¹¹⁾.

As alterações metabólicas ocorridas no organismo dos idosos, que consistem no aumento do número de células apoptóticas e do stress oxidativo, mesmo em situação de saúde, induzem o sistema imunitário a passar de um estado quiescente para um estado de ativação basal mais elevado. Daí resulta que a resposta imunitária produzida nos idosos saudáveis difere de forma quantitativa e qualitativa daquela dos adultos saudáveis⁽¹³⁾.

O stress oxidativo parece ser um fator *major* na manutenção do estado inflamatório crônico de baixo grau típico dos idosos e das doenças associadas à idade, que afeta não só a imunidade inata mas também a adaptativa⁽¹¹⁾. O impacto potencial das consequências do stress oxidativo entre os idosos pode justificar o interesse do seu estudo de forma a poder representar mais uma vertente de atuação clínica, no sentido de reduzi-lo e poder oferecer maior qualidade de vida aos idosos.

As consequências do stress oxidativo sobre alguns tipos de células imunitárias, nomeadamente macrófagos, granulócitos e células dendríticas, podem ser parcialmente reversíveis devido ao fato de estas células terem um tempo de vida curto e serem constantemente substituídas por novas células⁽¹¹⁾.

Pensa-se que a exposição a diversos antigénios ao longo da vida levou a uma provável ativação desnecessária do sistema imunitário e isso pode ter originado o aumento sistémico de mediadores inflamatórios que são encontrados nos idosos⁽¹⁰⁾.

A acumulação de danos no ADN ao longo do tempo pode contribuir de forma significativa para o *inflamm-aging*, dado que o ADN danificado promove a secreção de citocinas pró-inflamatórias e pensa-se que os principais componentes do sistema

imunitário envolvidos no processo são os macrófagos, células senescentes, fibroblastos do estroma e células-tronco produtoras de citocinas⁽¹⁰⁾.

Foi identificada uma relação entre o aumento da inflamação sistêmica de baixo grau nos idosos com alterações neuroendócrinas e mecanismos supressores tumorais do organismo (também relacionados com a idade)⁽²⁶⁾. As alterações neuroendócrinas correspondem a níveis aumentados de glucocorticóides e níveis reduzidos de IGF-1. O estado pró-inflamatório basal promove danos celulares e genéticos através da produção de citocinas e radicais livres. Assim, é necessária a ativação do gene supressor tumoral p53 para eliminar as células lesionadas. No entanto este mecanismo de reparação tem função reduzida com o envelhecimento, pelo que existe uma facilitação dos processos oncogénicos devido à acumulação de células lesionadas e senescentes⁽²⁶⁾.

Dos trabalhos publicados sobre indivíduos centenários, apesar de se ter apurado a existência de marcadores inflamatórios nestes indivíduos, assim como em indivíduos não centenários e com patologias, constatou-se que o aparecimento de doenças de base inflamatória tais como a insulinoresistência ou neoplasias foi mais tardio e a severidade destas foi menor nos centenários que nos restantes indivíduos⁽¹⁰⁾.

Um estudo realizado por Terry *et al* comparou descendentes de idosos centenários com controlos da mesma idade e evidenciou uma menor incidência de doenças inflamatórias associadas ao envelhecimento nos primeiros⁽¹⁰⁾.

Uma explicação avançada para a discrepância entre os níveis de marcadores pró-inflamatórios existentes nos centenários e a menor incidência de doenças inflamatórias nestes é de que os mediadores inflamatórios são produzidos em diversos tipos de tecidos e, de acordo com o seu local de produção, podem apresentar funções biológicas distintas⁽¹⁰⁾. Um exemplo é a IL-6, que é uma citocina pró-inflamatória que favorece o crescimento de neoplasias e promove características agressivas nestas, mas aquela produzida no músculo desempenha um papel importante no metabolismo deste⁽¹⁰⁾. Assim, pode colocar-se a hipótese de que os efeitos patológicos do *inflamm-aging* podem ser independentes da quantidade total de mediadores pró-inflamatórios presentes e serem dependentes, pelo menos em parte, do local de produção desses mediadores e dos locais onde estes atuam⁽¹⁰⁾.

Estudos de coorte de grandes dimensões foram realizados com idosos, especificamente os estudos longitudinais suecos OCTO e NONA⁽¹⁰⁾. O estudo OCTO foi realizado com indivíduos selecionados segundo o protocolo SENIEUR (indivíduos com saúde excepcional) e o estudo NONA foi feito com recurso a indivíduos da

população geral ⁽²⁵⁾. Estes estudos contribuíram para a elaboração de um conjunto de parâmetros imunitários preditivos de maior morbidade e mortalidade nos idosos ⁽²⁰⁾, sendo este conhecido por Fenótipo de Risco Imunológico (“*Immuneriskphenotype*”).

Entre estes parâmetros encontram-se a elevada contagem de células T CD8⁺, a baixa contagem de células CD4⁺, a inversão da razão CD4⁺/CD8⁺ (para <1), a infeção crónica por *Citomegalovirus* e a resposta proliferativa reduzida das células T⁽²⁶⁾. Quando presentes, associam-se a um maior risco de mortalidade em populações do Norte da Europa, conforme observado nesses estudos ⁽¹⁰⁾.

V. A SENESCÊNCIA DAS CÉLULAS T

O envelhecimento tem impacto distinto entre os diferentes tipos de células imunitárias, sendo que um tipo celular particularmente afetado por este processo é das células T reguladoras, que apresentam um papel central na manutenção da homeostasia imunitária⁽¹³⁾.

As células T *naïve* são produzidas na medula óssea a partir de precursores linfóides que depois migram para o timo para aí sofrerem maturação. Durante este processo ocorre a seleção de linfócitos T capazes de reconhecer moléculas pertencentes ao *self* (das classes MHC I e II), no qual eles adquirem um TCR que se liga ao MHC⁽²⁵⁾. Estas células selecionadas vão sofrer maturação subsequente nos órgãos linfóides secundários⁽¹⁴⁾.

As células T *naïve* têm um primeiro contacto com antigénios através das células apresentadoras de antigénios e aí tornam-se células T ativadas⁽²⁾. A ativação destas é caracterizada principalmente pela proliferação e esta última tem sido considerada como um marcador do potencial imunitário humano⁽²⁾.

As células T efetoras desempenham funções especializadas, como a secreção de citocinas, reconhecimento e eliminação de “alvos” celulares, ativação de macrófagos e células B⁽²⁵⁾.

A homeostasia das células T sofre marcadas adaptações decorrentes da imunossenescência, que consistem principalmente na perda da capacidade de ativação, proliferação e diferenciação das células T *naïve* em células efetoras⁽¹³⁾.

Verifica-se também perda funcional das células de memória, alteração da resposta a antigénios, alterações na apoptose⁽¹⁴⁾, produção de menos citocinas, menor capacidade citotóxica, desregulação da capacidade de transdução de sinais intracelulares e redução da variedade do seu repertório, o que origina uma maior susceptibilidade a doenças infecciosas e neoplásicas⁽⁷⁾.

No momento do nascimento praticamente todas as células T expressam CD28, mas ao longo do tempo a expressão desta molécula tende a diminuir cerca de 40 a 50% nas células CD8⁺ e 85 a 90% nas células CD4⁺⁽¹⁹⁾. Esta redução é atribuída à estimulação antigénica repetida ao longo da vida no sangue periférico. Estas células sofrem uma reprogramação e passam a exprimir outros receptores à superfície, tais

como *killer immunoglobulin-like receptors* (KIR), CD70, perforina ⁽¹⁹⁾, NKG2D e *lymphocyte function-associated antigen 1* (LFA-1) ⁽²⁰⁾.

Os níveis crescentes de TNF- α circulantes nos idosos, para além de estimularem o recrutamento e a ativação das células imunitárias, podem causar a redução da expressão de CD28 e da atividade da telomerase das células T ⁽²⁰⁾.

A perda da expressão de CD28 é uma característica aparentemente determinante dos processos da imunossenescência e esta molécula promove sinais co-estimulatórios necessários à ativação e proliferação de células T, assim como à produção de citocinas e promoção da sobrevivência destas células ⁽¹⁹⁾. As células T CD8⁺ CD28⁻ podem constituir um potencial marcador biológico de imunossenescência ⁽³¹⁾.

O declínio da atividade das células T *helper* CD4⁺ CD28⁻ dos idosos tem influência na perda funcional das células B pelo fato de não exprimirem CD40, que é um ligando necessário à produção de anticorpos pelas células B *naïve* ⁽²⁰⁾.

As células T CD4⁺ *naïve* ativadas por um estímulo antigénico podem dividir-se em populações distintas com base nas citocinas que produzem. Até há poucos anos pensava-se que estas populações se limitavam a duas, as células Th1 e as Th2, mas recentemente identificou-se uma terceira população, a das células Th17. Embora as células CD4⁺ Th1 estejam reconhecidamente envolvidas nos fenómenos autoimunes mediados por células T, as células CD4⁺ Th17 estão também implicadas na ocorrência destes fenómenos ⁽²⁰⁾. As células Th17 são intervenientes essenciais no controlo de infeções por agentes patogénicos extracelulares, como *Klebsiella* ou *Candida* ⁽⁶⁰⁾. Produzem principalmente IL-17, IL-21 e IL-22 e promovem a expansão de células B em resposta a um antígeno específico, bem como a formação de centros germinativos por estas ⁽³⁷⁾. Estudos mostraram que no envelhecimento existe um défice na manutenção do número de células Th17 de memória, com conservação concomitante da sua capacidade de diferenciação, e isto relaciona-se com um aumento da susceptibilidade a infeções ⁽⁶⁰⁾.

Com o envelhecimento existe uma adaptação a nível da produção de citocinas pelas células T e, embora permaneça uma ideia controversa, parece haver um “*shift*” de uma resposta tipicamente Th1 para uma resposta Th2 ⁽¹⁴⁾, com aumento da libertação de citocinas típicas das células Th2 como IL-6, IL-10 e TGF- β ⁽²⁶⁾. O consenso que existe é que provavelmente este “*shift*” resulta de processos intrínsecos relacionados entre si, nomeadamente a involução tímica, a perda de capacidade de sobrevivência das células T, bem como as alterações das subpopulações e vias de sinalização nestas células ⁽¹⁴⁾.

Há alguma evidência de que a redução da proliferação de células T pode ser atribuída à relação colesterol/fosfolípidos elevada a nível das membranas celulares dos linfócitos de idosos. Esta relação aumentada relaciona-se com uma maior viscosidade membranar, reduz a proliferação linfocitária⁽²⁾ e afeta a sinalização dos receptores de IL-2 e IL-6 nas células T⁽³⁷⁾.

Foram reportadas alterações nas vias de sinalização das células T CD4⁺ envelhecidas, que se pensa estarem relacionadas com a redução da resposta imunitária a infeções e a uma incompleta resposta à vacinação verificada nos idosos. Um exemplo que tem sido alvo de investigação é o TCR⁽¹³⁾. Alterações na sinalização do TCR estão implicadas nas adaptações funcionais das células T CD4⁺ e CD8⁺ associadas à idade, tais como na sua capacidade proliferativa, produção de citocinas, estimulação da ativação das células B e na resposta à vacinação⁽³⁷⁾.

A ativação das células T requer dois sinais, um resultante da ligação entre o complexo TCR/CD3, e outro proveniente de moléculas co-estimulatórias. Destes dois sinais resulta a produção de IL-2 e proliferação celular⁽¹⁴⁾, sendo que a IL-2 estimula a proliferação de células T⁽¹⁴⁾. Uma característica interessante das células T CD4⁺ nos idosos é a incapacidade destas de produzir níveis significativos de IL-2 após estimulação do seu TCR, o que conduz a uma reduzida polarização Th1/Th2⁽¹⁹⁾.

As células T CD8⁺ são outra subpopulação de células T que é extensamente afetada pela imunossenescência. Estas células são as principais intervenientes na proteção do organismo contra infeções virais⁽¹³⁾. A redução do número de células T CD8⁺ *naïve* e o aumento simultâneo do número de células T efetoras de memória com fenótipo CD28⁻ podem ser acelerados se existir infeção latente por *Citomegalovirus*⁽¹³⁾. O mecanismo pelo qual ocorre a acumulação de células efetoras altamente diferenciadas permanece indeterminado. Como se verifica nestas células uma menor resistência à apoptose, descartou-se a hipótese de haver uma redução na sua eliminação para explicar esta acumulação⁽¹³⁾.

Outra modificação associada ao envelhecimento que ocorre nas células T é uma diminuição da sua capacidade de sobrevivência e uma maior susceptibilidade à apoptose. A função destas células é altamente dependente da rápida expansão de células efetoras e subsequente sobrevivência para que originem células T de memória tardias⁽¹³⁾. A apoptose é uma forma de morte celular programada para que células anormais ou em fim de vida sejam eliminadas. Existem várias vias apoptóticas, das quais duas das mais conhecidas são a da estimulação de CD95 de superfície (Fas), que

ativa a caspase 8 e/ou a caspase 3 e a via do Bcl-2 que regula a homeostasia do cálcio celular ⁽¹⁴⁾. Estudos realizados em humanos mostraram um aumento da atividade da primeira via em células T CD4⁺ e CD8⁺ envelhecidas, tanto *naïve* como de memória ⁽¹⁴⁾.

Quanto à via do Bcl-2, esta proteína é expressa na superfície celular e tem atividade anti-apoptótica, que está reduzida nas células T CD4⁺ e CD8⁺ *naïve* e de memória envelhecidas, em comparação com controlos jovens ⁽¹⁴⁾.

Os telómeros desempenham também um papel na sobrevivência reduzida das células T CD4⁺ e CD8⁺, pois a perda sequencial ou o encurtamento do ADN telomérico observados com o envelhecimento estão relacionados com um aumento da apoptose destas células ⁽¹⁴⁾. Os linfócitos têm grande capacidade proliferativa e apresentam expressão aumentada da telomerase, assegurando assim um menor encurtamento desta ao fim de várias divisões celulares ⁽¹⁹⁾, comparativamente a outros tipos celulares.

Pensa-se que a IL-7 induz a via do Bcl-2 e foi também demonstrado num estudo em adultos jovens saudáveis que esta citocina induz a atividade da telomerase em células CD4⁺ *naïve*, pelo que se pensa ter um papel preventivo da morte celular por outros mecanismos para além da apoptose ⁽¹⁴⁾.

A proliferação celular está associada à presença de *stress* genómico e à ativação de vias de reparação de danos no ADN. Estas últimas estão comprometidas de forma cada vez mais marcada com o avanço da idade ⁽¹³⁾. A mais conhecida via de reparação celular é de fato a da telomerase ⁽¹³⁾. O encurtamento dos telómeros associado ao envelhecimento ocorre nas células T *naïve* e de modo mais marcado nas células T CD8⁺ efectoras e a expressão da telomerase parece ser um fator limitante da expansão clonal destas células ⁽¹³⁾.

Existem adicionalmente alterações a nível da cascata de sinalização das células T associadas ao metabolismo do cálcio, à fosforilação da tirosina cinase e translocação membranar da proteína cinase C. Estas adaptações culminam numa reduzida expressão das vias de sinalização das células T ⁽¹⁴⁾.

A diversidade antigénica é outra componente da resposta imunitária que está alterada com o envelhecimento e uma das funções mais debilitadas é a capacidade de produção de antígenos específicos ⁽¹⁴⁾. Isto pode estar relacionado com a alteração do número e tamanho dos centros germinativos dos gânglios linfáticos com a idade, assim como com a redução da expressão de CD40L em células T envelhecidas ⁽¹⁴⁾.

O aumento do número de células T CD4⁺ e CD8⁺ de memória deve-se, entre outros fatores, à existência de infecção viral crônica latente. Um vírus particularmente implicado no aumento do número de células T CD8⁺ é o *Citomegalovirus*⁽¹⁴⁾.

As células T diferenciadas têm especificidade antigénica limitada e são incapazes de se dividir em resposta a um estímulo antigénico, o que contribui para a redução do repertório das células T *naïve*. Daqui resulta uma reduzida capacidade do sistema imunitário reconhecer e eliminar novos antigénios⁽²⁵⁾.

A. Células T reguladoras (Treg)

As células T reguladoras (Treg) constituem um subgrupo de células T que é extensamente afetado pela imunossenescência a nível da sua frequência, distribuição em subpopulações e competência funcional⁽⁴³⁾. Tem surgido ao longo dos últimos anos um crescente interesse quanto a estas células pois existem alguns indícios, embora também algumas lacunas, de que estas células podem consistir num alvo terapêutico viável no futuro, no sentido de minorar a incidência de doenças inflamatórias associadas à idade. As células T reguladoras podem também constituir um marcador de imunossenescência, com evidente relevo no âmbito da investigação nesta área.

Estas células têm a capacidade de suprimir a resposta imune, desempenhando um papel central na manutenção da homeostasia imunitária⁽⁴³⁾. São divididas em dois grupos, as células inatas/naturais e as induzíveis/adaptativas⁽¹⁴⁾. Ambos desempenham funções semelhantes⁽⁴³⁾.

As células T reguladoras naturais provêm diretamente do timo. Apresentam o fenótipo CD4⁺ CD25⁺FOXP3⁺. O FOXP3⁺(*forkhead box protein 3*) é um fator de transcrição que define o compromisso celular para com uma função reguladora⁽⁴³⁾. Estas células podem expressar também CD62L, CD103, receptor do fator de necrose tumoral induzido por glucocorticóides (GITR) e antígeno 4 associado aos linfócitos T citotóxicos (CTLA-4)⁽¹⁴⁾.

As células T reguladoras induzíveis apresentam o fenótipo CD4⁺ CD25⁻ FOXP3⁻ e são assim designadas pois podem ser induzidas por TGF-β. Incluem as células T

reguladoras tipo 1, que secretam elevadas quantidades de IL-10 e as células Th3, que produzem TGF- β . Adquirem capacidade imunossupressora na periferia ⁽¹⁴⁾.

Diversos estudos realizados no âmbito destas células verificaram que há uma acumulação de células T reguladoras naturais, com concomitante redução das induzíveis ⁽⁴³⁾.

A capacidade reguladora das respostas imunes é uma das funções deficitárias e o indivíduo idoso apresenta uma atividade imunitária excessiva ou desajustada, que se traduz no estado crónico de inflamação basal que lhe é característico, bem como no aumento da incidência de fenómenos de autoimunidade, de neoplasias malignas e infeções ⁽⁴³⁾. A perda funcional das células T reguladoras pode ser em parte secundária à redução da expressão de IL-2 com o envelhecimento. Esta citocina é necessária à manutenção da homeostasia das células T ⁽¹⁴⁾.

A IL-2 tem um papel importante na regulação da imunidade adaptativa através do controlo da sobrevivência e proliferação das células T reguladoras. Esta citocina está também implicada na diferenciação e manutenção da homeostasia das células Th1, Th2, Th17 e CD8⁺ de memória ^(29, 49).

B. Atrofia tímica

O timo é o órgão linfóide primário responsável pela maturação das células T. Nos indivíduos jovens é constituído pelo córtex e medula (regiões externa e interna, respetivamente). Estes constituem o espaço timopoiético, que contém timócitos e células epiteliais. O espaço timopoiético subdivide-se em lobos e estes dividem-se em lóbulos. Os timócitos mais imaturos encontram-se no córtex e os mais maduros na medula ⁽³²⁾. No timo existe também espaço perivascular, que contém células não timopoiéticas e não epiteliais ⁽¹⁴⁾.

No timo ocorrem os processos de seleção das células T que exibem imunotolerância. A última é essencial a uma resposta imunitária adaptativa eficaz, de modo a que não sejam atacadas células e tecidos do *self*. A diferenciação e maturação das células T decorrem no sentido de eliminar as células T recém-formadas que são autorreativas. Apenas as células cujo TCR interage fracamente com complexos

peptídeo-*self*/MHC-*self* sobrevivem e prosseguem a sua maturação. Este processo é designado de seleção positiva. As restantes células são eliminadas, ou seja, sofrem seleção negativa⁽²⁰⁾.

Este órgão é caracteristicamente mais ativo no início da vida, atingindo um pico no primeiro ano e posteriormente perde a capacidade funcional gradualmente num processo denominado involução. Na quinta ou sexta décadas de vida a massa tímica encontra-se marcadamente reduzida⁽²⁵⁾. Por volta dos 70 anos de vida o espaço timopoiético apresenta uma extensão inferior a 10% do volume total do timo e há, por outro lado, uma expansão do espaço perivascular⁽¹⁴⁾.

No processo de involução tímica existe perda de progenitores de células T, de epitélio tímico expressor de peptídeos do “*self*”, defeitos no rearranjo dos genes do TCR- β e decréscimo da produção de IL-7 pelas células epiteliais tímicas⁽¹⁴⁾. A IL-7 é uma citocina produzida no estroma tímico e é essencial à timopoiese. Os seus níveis estão diminuídos em idosos⁽³²⁾, o que ajuda a explicar a perda de função tímica associada ao envelhecimento⁽²¹⁾ e as respetivas consequências a nível das células T.

A involução tímica tem efeitos diversos. Um é a produção de menor número de células T *naïve* novas, o que provoca uma compensação por parte das células T pré-existentes, que aumentam a sua sobrevivência e velocidade de divisão homeostática^(12, 32). Daqui resulta a acumulação destas células e redução do repertório de células T *naïve*⁽²⁵⁾. O menor número de células T *naïve* também reduz a diversidade do TCR⁽¹⁴⁾.

Estudos mostraram que muitas das alterações das células T associadas ao envelhecimento se devem a modificações durante as fases iniciais da ativação do TCR, a nível das vias de sinalização desta molécula. Estas modificações incluem a redução dos níveis de cálcio livre intracelular, alterações na translocação da proteína-quinase C e do NF- κ B, assim como redução da expressão da via das *proteínas-quinase ativadas por mitogénios* (MAPK)⁽¹⁹⁾. Estas alterações foram observadas tanto em células T *naïve* como de memória⁽¹⁹⁾.

O grau de involução tímica pode ser estimado pela medição dos círculos excisionais do TCR (TREC) e pela identificação *in vivo* de células emigrantes recentes tímicas⁽¹⁴⁾. Os TREC correspondem a círculos de ADN que resultam do rearranjo do gene codificador do TCR em timócitos em desenvolvimento⁽¹⁴⁾. Estes círculos são marcadores moleculares produzidos por células T *naïve* recentemente formadas. Não replicam juntamente com as células, logo a cada divisão as células vão diminuindo o seu conteúdo em TREC pelo que a medição deste pode indicar o número de vezes que

as células se dividiram. Pode constituir também um marcador do grau de diferenciação das células T ⁽³²⁾.

Em resumo, a disfunção tímica associada ao envelhecimento contribui para a perda de eficácia das respostas imunes mediadas por células contra antigénios, para fenómenos de autoimunidade e redução da população de células T *naïve*⁽¹⁹⁾.

C. Consequências da senescência das células T

a. Aumento da susceptibilidade a infeções

Diversos fatores podem ser implicados na maior tendência que os idosos apresentam para as doenças infecciosas. Um deles é o ambiente que rodeia o indivíduo ⁽¹³⁾, como por exemplo se habita em casa própria ou está institucionalizado, se tem apoio familiar e/ou social, ou o seu poder económico.

As infeções mais frequentes entre os idosos são as do trato respiratório (por *Influenza* e *Streptococcus pneumoniae*), do trato urinário (por bactérias Gram-negativas), assim como gastrites por *Helicobacter pylori* e reativações do vírus *Varicellazoster* (VZV) ⁽¹³⁾. Estas infeções constituem uma importante causa de morbimortalidade entre os idosos ⁽¹⁴⁾.

As infeções herpéticas persistentes que reativam em humanos e que são mais prevalentes nestes são o vírus *Herpes simplex* (HSV-1, HSV-2), vírus *Epstein-Barr* (EBV), vírus *Varicellazoster* (VZV) e *Citomegalovirus* (CMV) ⁽²⁵⁾. A infeção por *Citomegalovirus* é a mais frequentemente assintomática, no entanto é aquela associada a maiores efeitos deletérios sobre as células T. Constatou-se em diversos estudos que o número de células T citotóxicas CMV-específicas está inversamente relacionado com a sobrevivência dos idosos ⁽²⁵⁾, o que constitui um argumento a favor da teoria de que esta infeção é um dos principais fatores potenciadores da imunossenescência. A seropositividade para o CMV é a principal infeção herpética incluída no IRP⁽²⁵⁾.

Infeções herpéticas latentes associam-se a alterações nas células T e estas são independentes da idade cronológica, mas indicativas da idade biológica e imunossenescência⁽²⁵⁾.

O *Citomegalovirus* é um *herpesvirus* responsável por uma infeção crónica que é reativada intermitentemente e que afeta células da linhagem mielóide e células epiteliais das glândulas salivares e dos rins. De acordo com a seropositividade para a IgG CMV-específica, cerca de 45 a 75% da população adulta ocidental está infetada, com uma incidência variável com a idade e localização geográfica dos indivíduos ⁽²⁵⁾.

A infeção primária pode ocorrer por via vertical ou contacto interpessoal (através de fluidos corporais) e por transfusões sanguíneas ⁽²⁵⁾. A sua reativação é clinicamente assintomática em hospedeiros saudáveis devido a uma constante imunovigilância e estimulação repetida de células T ⁽²⁵⁾.

Da população de células T altamente diferenciadas que se acumulam durante o envelhecimento, cerca de 15% das células T CD8⁺ periféricas são específicas para este vírus. O número absoluto de células T em indivíduos infetados por CMV é 20% superior comparativamente aos que não apresentam a infeção, com a mesma idade ⁽²⁵⁾.

A estimulação antigénica repetida ao longo da vida pode ser proveniente de vírus, de antigénios tumorais ou de processos intrínsecos celulares ⁽²⁶⁾.

A repetida reativação de infeções virais latentes, que representa um estímulo antigénico repetido, proporciona um maior número de divisões celulares e senescência prematura, dado o maior encurtamento telomérico concomitante ⁽²⁵⁾. Paradoxalmente, a erosão telomérica acompanha-se de uma maior resistência à apoptose, o que contribui também para a acumulação de células T senescentes no sangue e tecidos. Estas células expressam um fenótipo CD57⁺ KLRG1⁺ CD28⁻. O KLRG1 (*killer cell lectin-like receptor 1*) inibe a expansão clonal de células T CD8⁺ e é expresso numa população de células T efetoras de memória terminalmente diferenciadas ⁽²⁵⁾. Estas células mantêm a função efetora e apresentam atividade pró-inflamatória pelo que a sua acumulação no organismo dos idosos pode ser parcialmente responsável pelo desenvolvimento de doenças inflamatórias relacionadas com a idade ⁽²⁵⁾. O facto de as células T CMV-específicas dos idosos apresentarem um fenótipo KLRG1⁺ CD28⁻ apoia a hipótese de que a infeção persistente por CMV pode induzir a senescência das células T CD8⁺ ⁽²⁵⁾.

Pensa-se que o envelhecimento e as infeções nos idosos funcionam como um ciclo vicioso, em que por um lado o envelhecimento aumenta a susceptibilidade para infeções e, por outro lado, algumas infeções contribuem para o envelhecimento ⁽¹⁹⁾. A infeção por CMV é possivelmente um co-fator para a progressão para SIDA em indivíduos VIH⁺ ⁽⁴⁶⁾. Nestes indivíduos identificou-se a presença precoce de células T

CD8⁺CD28⁻. Pensa-se que esta seja uma característica preditora de progressão rápida da infecção VIH ⁽¹⁹⁾.

A seropositividade para CMV associa-se a uma menor eficácia da resposta imune contra o vírus *Epstein-Barr*⁽⁴⁶⁾, traduzida por uma redução da produção de INF- γ , TNF- α , MIP-1 β e IL-2 ⁽⁵²⁾. Este aspeto pode ser sugestivo de que indivíduos seropositivos para CMV podem ter risco aumentado de morbilidade e mortalidade por infeções heterólogas ⁽⁴⁶⁾.

O aumento da susceptibilidade a infeções pode dever-se a diversas causas, designadamente a redução da capacidade fagocítica dos neutrófilos com o envelhecimento ⁽¹⁵⁾, linfopenia e reduzida produção de anticorpos específicos durante uma infeção ativa ⁽¹⁴⁾.

O estudo Leiden da longevidade foi realizado recorrendo a 450 famílias de indivíduos com mais de 88 anos e seus descendentes diretos. Verificou-se que estes apresentaram uma taxa de mortalidade 30% menor que a população geral ^(46, 58) e que pareciam não exibir as alterações tipicamente associadas ao envelhecimento fisiológico do sistema imune, como a redução do número de células T CD8⁺naïve ou a acumulação de células T CD8⁺ de memória tardias ⁽⁵⁸⁾. Este estudo colocou a hipótese de que a redução do número de células T CD8⁺naïve pode não ser necessariamente um aspeto negativo para a função imunitária destes indivíduos muito idosos, podendo possivelmente constituir um fator associado a maior sobrevida ⁽⁵⁹⁾.

É importante salientar o papel da nutrição e o seu impacto na função imunitária, pois uma nutrição deficitária tem um potente efeito imunossupressor e assim pode aumentar a probabilidade de ocorrerem infeções graves nos idosos ⁽¹³⁾. Este efeito deletério é notado por exemplo a nível da função das barreiras naturais do organismo, que perdem capacidade de defesa contra microrganismos invasores ⁽¹³⁾.

Os défices nutricionais constituem ainda atualmente um problema significativo entre a população idosa, particularmente nos países em desenvolvimento. Associa-se a um baixo Índice de Massa Corporal (IMC) e a um maior risco de morte devido a infeções. Este risco é mínimo para indivíduos com mais de 70 anos com IMC entre 25 e 30, mas torna-se mais elevado em indivíduos da mesma idade com IMC inferior a 20 ⁽¹³⁾. A presença de infeções, nomeadamente periodontais, pode influenciar o estado nutricional, sendo que estas infeções têm maior incidência nos idosos devido à redução da produção de saliva e alteração em outras funções da cavidade oral. Pode também precipitar a perda dentária e assim dificultar a mastigação ⁽¹³⁾.

A pele constitui uma das barreiras primárias contra agentes invasores. Abriga células imunitárias residentes, recrutadas ou recirculantes dentro do tecido. Nos idosos verificou-se, a par de outros eventos infecciosos, um aumento da susceptibilidade para infeções cutâneas e processos de carcinogénese no mesmo órgão⁽³⁹⁾. Estes aspetos são indicadores de que também a nível da pele a função imunitária está alterada nesta faixa etária.

b. Redução da resposta à vacinação

A vacinação é uma das formas de intervenção mais custo-eficazes na saúde e mostrou-se essencial à prevenção da morbimortalidade devido a diversos agentes infecciosos⁽¹³⁾.

As infeções preveníveis com vacinação permanecem atualmente com um impacto significativo sobre as populações, não só entre idosos mas também na população adulta mais jovem, mesmo em países desenvolvidos⁽⁴⁵⁾. Estas doenças estão associadas a diversas complicações, especialmente nos idosos, que podem exigir hospitalização e serem causa de debilidade funcional ou até de morte⁽⁴⁵⁾.

As modificações na produção de anticorpos relacionadas com o envelhecimento, especialmente a redução da especificidade e afinidade destes, influencia a resposta à vacinação pelos idosos⁽⁴⁵⁾.

A eficácia de uma vacina depende da qualidade da resposta imunitária que o indivíduo produz, logo indivíduos imunodeprimidos têm risco acrescido de estarem protegidos de forma deficitária⁽⁴⁵⁾.

Um dos problemas de saúde pública atuais é a relativa baixa eficácia dos programas de vacinação em idosos devido às diferenças apresentadas por este grupo etário a nível do sistema imunitário. O desenvolvimento de vacinas mais eficazes para a população idosa é um dos grandes desafios do século⁽¹³⁾. O conhecimento das bases moleculares e celulares da imunossenescência e a identificação de vias moleculares que possam ser utilizadas como alvos terapêuticos específicos para melhorar a resposta à vacinação nos idosos⁽⁹⁾ constituem objetos essenciais de investigação.

Diversas estratégias foram desenvolvidas nos últimos anos com o objetivo de otimizar a eficácia da vacinação nos idosos, no entanto não obtiveram resultados significativamente satisfatórios⁽¹³⁾. Estas incluem a administração de doses mais

elevadas, o desenvolvimento de novos adjuvantes ou uma via de administração diferente (como por exemplo a via intradérmica) ⁽¹²⁾.

A resposta às vacinas depende da capacidade funcional das células apresentadoras de antígenos, de forma a gerar uma resposta adequada por parte das células T ⁽¹³⁾. A resposta insuficiente à vacinação em idosos correlaciona-se positivamente com a expansão clonal das células T CD8⁺CD28⁻ ⁽³¹⁾. A redução do número de células apresentadoras de antígenos, especialmente das células dendríticas, associa-se à reduzida resposta à vacinação em idosos. Outro é a disfunção do TLR, que afeta a capacidade da imunidade inata promover o desenvolvimento da resposta adaptativa ⁽⁴⁵⁾. Estudos verificaram que nas células apresentadoras de antígenos de idosos existe maior produção intracelular de citocinas na ausência de estimulação do ligando TLR, comparativamente a indivíduos jovens, sugerindo a presença de algum grau de disfunção na regulação da produção de citocinas ⁽⁴⁵⁾. O uso de vacinas com agonistas dos TLR como adjuvantes é uma das estratégias futuras para promover a eficácia da vacinação nos idosos ⁽⁵⁷⁾.

Um aspeto que tem vindo a ganhar importância atualmente é a existência de um número crescente de idosos que realiza terapêuticas imunomoduladoras (como a radio e quimioterapia) e o aumento da incidência de comorbilidades nestes indivíduos, o que tem impacto negativo sobre a qualidade da resposta imunitária ⁽¹²⁾. Existe não só uma diminuição na qualidade da resposta imunitária, como também da duração da proteção conferida por esta nos idosos ⁽³¹⁾.

Pensa-se que vacinas cujo alvo é a imunidade adaptativa mediada por células podem ser mais eficazes em idosos que aquelas que fornecem proteção imunitária através da estimulação da produção de anticorpos ⁽⁵¹⁾.

A vacina contra o vírus *Influenza* é um exemplo da resposta reduzida à vacinação nos idosos ⁽⁵¹⁾. A capacidade desta vacina induzir proteção imunitária mostrou estar relacionada com a idade do indivíduo, sendo que um estudo verificou uma eficácia desta vacina entre 70 e 90% em indivíduos com menos de 65 anos, enquanto esta não ultrapassou os 30 a 40% no grupo com mais de 65 anos ^(45, 32). A infeção grave por *Influenza* nos idosos frequentemente acompanha-se de infeções bacterianas secundárias, por vezes fatais. Recomenda-se atualmente a administração da vacina trivalente inativada deste vírus anualmente, para indivíduos com mais de 65 anos ⁽⁵¹⁾.

A vacina contra Pneumococos é outro exemplo da eficácia reduzida da resposta imunitária em idosos. Indivíduos com mais de 65 anos mostraram produzir menos

anticorpos específicos contra serotipos desta bactéria e estes anticorpos foram menos eficazes a realizar opsonização dos antígenos ⁽¹⁴⁾. As recomendações consistem na realização de vacinação anti-pneumocócica a cada cinco anos para indivíduos com mais de 65 anos que obtiveram uma resposta inicial favorável a esta ⁽¹⁴⁾.

Pensa-se que a altura da vida mais aconselhável para fazer vacinação é entre a quinta e a sexta décadas de vida, dado que corresponde ao período no qual se reúne uma maior susceptibilidade para eventos infecciosos (em comparação com adultos mais jovens) e uma maior capacidade imunitária, pois estes indivíduos não sofreram ainda efeitos significativos decorrentes da imunossenescência ⁽⁴⁵⁾.

A utilização dos títulos de anticorpos obtidos após vacinação como marcador único da eficácia destas é um aspeto que tem vindo a ser cada vez mais questionado perante a descoberta recente de novos possíveis alvos moleculares e celulares das vacinas ⁽⁵⁷⁾.

c. Maior incidência de neoplasias

As neoplasias constituem atualmente um problema de Saúde Pública, cuja incidência e mortalidade em indivíduos entre os 65 e os 85-90 anos aumenta substancialmente em ambos os sexos ⁽¹⁴⁾. As neoplasias mais comuns nesta faixa etária são da próstata, mama, cólon, pâncreas, bexiga, estômago, pulmão e reto ⁽⁷⁾.

Não estão completamente apuradas as razões que explicam a maior incidência e mortalidade destas neoplasias nos idosos mas alguns motivos foram equacionados. Um deles é que determinados cancros se desenvolvem lentamente devido ao seu potencial agressor intrínseco, ou ao fato de serem controlados pelo sistema imunitário e este processo de imunovigilância ao fim de alguns anos tornar-se deficitário ⁽⁷⁾, provavelmente por exaustão das células T após exposição antigénica crónica ⁽⁴⁷⁾. Para isto contribui também a falência de mecanismos de reparação genética e celular com a idade, com acumulação de substâncias tóxicas que levam ao aumento do stress oxidativo e à disfunção e morte celulares. Uma terceira razão é que o aumento da esperança média de vida nas últimas décadas compreende um tempo mais alargado de exposição a agentes carcinogénicos como poluentes ambientais, fumo de tabaco e radiação ultravioleta ⁽⁷⁾. O tempo em que ocorre acumulação de eventos carcinogénicos é considerado o fator mais determinante para o desenvolvimento de cancro ⁽²⁶⁾.

Outro motivo avançado para explicar a maior incidência de doenças malignas nos idosos é a presumível existência de mecanismos de "fuga" das células tumorais à imunovigilância ⁽²⁶⁾.

Pensa-se que existe alguma ambiguidade na atuação do sistema imune contra as células tumorais. Se por um lado o sistema imune exerce imunovigilância, operando no sentido de identificar e eliminar células malignas, por outro lado ao desenvolver uma resposta inflamatória contribui para um microambiente pró-inflamatório favorável à carcinogênese ⁽⁴⁷⁾.

Um sistema imunitário saudável é fundamental para combater neoplasias ⁽²²⁾. Os indivíduos que apresentam imunodeficiências primárias ou adquiridas têm maior risco de desenvolvimento de determinadas neoplasias ⁽¹⁴⁾. As células NK desempenham um importante papel na eliminação de células malignas. No entanto as alterações que ocorrem nestas células durante o envelhecimento podem explicar parcialmente o aumento da susceptibilidade dos idosos a este tipo de patologias.

Apesar de as células tumorais possuírem atividade de telomerase, a maior parte destas têm telómeros mais curtos que as células dos tecidos normais correspondentes e pensa-se que existe uma relação entre o encurtamento telomérico e a instabilidade genética ⁽⁴²⁾.

Uma teoria tem vindo a ganhar importância nos últimos anos, que relaciona a presença de telómeros mais longos com um risco aumentado de cancro. Esta ideia assenta no fato de as células com telómeros mais longos poderem replicar-se mais vezes que aquelas com telómeros mais curtos e com um maior número de divisões acumulariam mais erros no material genético, facilitando o desenvolvimento de neoplasias. No entanto existem estudos de polimorfismos genéticos associados ao cancro que contrariam esta hipótese, nos quais se verificou que telómeros mais longos têm um papel protetor ⁽²²⁾.

Os antígenos tumorais interagem não só com células apresentadoras de antígenos ativando as células T CD8⁺ *naïve* a citotóxicas, como também interagem com células T reguladoras CD4⁺ ⁽²⁶⁾. As células T CD8⁺ citotóxicas secretam IL-2, INF- γ e IL-12. No entanto a estimulação das células T reguladoras pelas tumorais suprime a atividade citotóxica das células T CD8⁺ através da produção de IL-10 e TGF- β , entre outros ⁽²⁶⁾.

A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória produzida em maior quantidade nos idosos. Associa-se a menor longevidade e estimula a metastização de células malignas

através da sobrerregulação de moléculas de adesão e aumento da expressão de *Fator de crescimento do endotélio vascular* (VEGF) nas células endoteliais ⁽¹⁴⁾.

As células T reguladoras mantêm e induzem a imunotolerância celular através da inibição de células T efetoras, células NK e células dendríticas através dum processo direto de contato célula-célula ^(26, 47). Pode haver uma relação entre o aumento do número de células T reguladoras observado nos idosos e o aumento da imunotolerância ao cancro ⁽²⁶⁾.

No envelhecimento tanto a imunidade inata como a adquirida sofrem adaptações. Como a resposta do sistema imune contra as células tumorais compreende a eficácia de ambas, é expectável que os idosos tenham uma resposta imunitária deficitária contra o cancro ⁽²⁶⁾.

d. Fenómenos de autoimunidade

A imunossenescência compreende, por um lado, a perda de capacidade do sistema imunitário de combater agentes invasores, num vasto conjunto de adaptações sofridas em praticamente todos os tipos de células imunitárias, em diversos níveis, que resulta num aumento da vulnerabilidade dos idosos para determinados tipos de doenças. No entanto existe um outro lado da imunossenescência que consiste não numa redução da sua função, mas num aumento desta. O que acontece é que esse aumento de função é exagerado e desajustado, resultando numa atuação deletéria para o organismo na qual o sistema imunitário reage contra moléculas do *self*, culminando não só na perda de autotolerância e fenómenos autoimunes, como também contribuindo para uma maior susceptibilidade para determinadas doenças como o cancro, devido à existência de uma maior estimulação imunitária, com maior produção de citocinas pró-inflamatórias e manutenção do estado de inflamação crónica basal encontrado nos idosos. Algumas destas citocinas são TNF- α , proteína C-reativa, IL-8, MCP-1 e RANTES⁽¹⁹⁾.

Também se verificaram alterações nas citocinas produzidas pelas células T, que podem contribuir para o desenvolvimento de fenómenos autoimunes, tais como o "*shift*" no perfil de citocinas produzidas por células Th1 para um perfil de citocinas de células Th2 (principalmente IL-4 e IL-6) ⁽¹⁹⁾. Identificou-se também um desequilíbrio entre células Th17 e células T reguladoras e um aumento de células T helper CD4⁺*naïve*

secretoras de IL-17, em contraste com um decréscimo de células T helper CD4⁺ de memória⁽¹⁹⁾.

Estudos realizados em roedores mostraram que o envelhecimento está associado a um decréscimo da diferenciação das células T CD4⁺ em células Th1 e Th2, enquanto a diferenciação em células Th17 está conservada, e que a produção de IL-17 pelas últimas está aumentada⁽²⁰⁾. As células Th17 parecem associar-se à ocorrência de fenómenos autoimunes, podemos considerar se esta diferenciação preferencial das células CD4⁺ em células Th17 pode contribuir para explicar a maior incidência destes fenómenos entre os idosos. No entanto é necessária alguma cautela na extrapolação destes resultados para a população humana devido às inúmeras diferenças entre modelos animais e humanos⁽²⁰⁾.

Constata-se uma maior produção de autoanticorpos nos idosos e este aumento é mais significativo nos não específicos de órgão⁽¹⁴⁾. Os mecanismos para a sua formação não estão completamente explicados mas é possível que resultem de erros da função de células supressoras⁽¹⁴⁾.

Os autoanticorpos mais frequentemente encontrados nos idosos são o antifosfolípido, os antinucleares, o fator reumatóide⁽¹⁴⁾ e os anticardiolipina⁽³⁶⁾.

Um outro ponto importante a considerar em relação aos fenómenos autoimunes são os fatores epigenéticos implicados na génese destes. Foram identificados genes associados ao desenvolvimento de doenças autoimunes, dos quais alguns sofrem hipermetilação com a idade, e outros hipometilação. Um exemplo é o gene FOXP3, que se encontra hipermetilado. Por outro lado, o gene da cadeia CD11a do *Antigénio I associado à função linfocitária* (LFA-1) sofre hipometilação com o envelhecimento, o que resulta na sua maior expressão em células envelhecidas e pode relacionar-se com o aumento da imunogenicidade verificado nos idosos⁽¹⁹⁾.

Ainda a nível genético, existem anomalias teloméricas associadas a respostas imunitárias disfuncionais, incluindo os fenómenos autoimunes. Diversos estudos estabeleceram uma relação entre o comprimento médio dos telómeros em células sanguíneas mononucleares e diversas doenças tais como as autoimunes. Verificou-se um aumento da proliferação de células T neste tipo de fenómenos, relacionado com um maior encurtamento telomérico tanto em células *naïve* como de memória⁽¹⁹⁾.

A perda de expressão de CD28 pode, possivelmente, favorecer a interação do CTLA-4 com os seus ligandos (CD80 e CD86), que estão também associados a um fenótipo autoimune⁽⁷⁰⁾.

As células T CD8⁺CD28⁻ desempenham, provavelmente, um papel a nível da autoimunidade ⁽²⁰⁾. Com o envelhecimento, estas células acumulam-se à periferia e, para além de perderem a expressão de CD28, adquirem a expressão de receptores *Killer immunoglobulin-like* (KIR), de receptores NKG2D e de *Antigénio 1 associado à função linfocitária* (LFA-1) ⁽²⁰⁾. A expressão destes novos receptores altera o modo como estas células interagem com o seu ambiente celular. O limiar para a ativação destas células por antígenos específicos diminui, facilitando também a ativação das células T independente da presença de um antígeno apropriado ⁽²⁰⁾.

Pensa-se que as células dendríticas também influenciam a ocorrência de fenómenos autoimunes pois são células essenciais para a indução de imunotolerância. Nos idosos estas apresentam alterações funcionais, sendo capazes de induzir a proliferação de células T em resposta a peptídeos do *self*, promovendo a autoimunidade ⁽²⁰⁾.

É importante salientar que embora aumente a incidência de fenómenos autoimunes com o envelhecimento, o mais comum é que estes fenómenos não se acompanhem de uma tradução clínica, na forma de doenças autoimunes ⁽³⁶⁾.

VI. PERSPECTIVAS FUTURAS

A prevenção ou tratamento das adaptações decorrentes da imunossenescência é um objetivo central de um envelhecimento saudável, pois o sistema imunitário desempenha uma função primordial no controlo de eventos infecciosos e da ocorrência de neoplasias, intervindo também na homeostasia e reparação tecidulares⁽³⁾.

Nos últimos anos têm sido desenvolvidas diversas estratégias cujo objetivo é o de prevenir o máximo possível a ocorrência da imunossenescência. Entre estas contam-se terapêuticas que fazem uso de citocinas, anticorpos monoclonais, métodos hormonais, antioxidantes⁽¹⁴⁾ e modificações dietéticas com a finalidade de eliminar clones expandidos de células T de memória efetora terminalmente diferenciadas⁽²⁵⁾. No entanto estas terapêuticas inovadoras encontraram objeções na sua implementação, tais como o seu elevado custo, o carácter invasivo e risco associado, assim como questões de ordem ética pelo fato destas terapêuticas serem direcionadas para indivíduos que não apresentam patologias⁽²⁵⁾.

Uma das grandes limitações atualmente impostas ao desenvolvimento destas terapêuticas é o fato de não estarem descortinados possíveis alvos terapêuticos, nomeadamente moleculares e genéticos. Esta área continua a ser objeto de crescente interesse científico, pelo benefício que irá representar aquando da sua implementação na prática clínica. O aperfeiçoamento destas terapêuticas irá permitir uma abordagem mais personalizada dos doentes, de acordo com as suas características genéticas e moleculares.

Uma das abordagens consiste na terapêutica hormonal. Com o envelhecimento há redução dos níveis de hormona do crescimento e a administração desta hormona não foi testada para a reversão do envelhecimento imunitário, mas em estudos feitos a doentes infetados com VIH a sua administração aumentou a massa tímica e estimulou a resposta imune periférica⁽¹⁴⁾. Esta terapêutica tem diversos efeitos adversos como artralgias, síndrome do túnel cárpico ou hiperglicémia⁽¹⁴⁾, para além de ser dispendiosa. A ablação de esteróides gonadais como terapêutica para o carcinoma da próstata em idosos revelou aumentar o número de células T *naïve* circulantes⁽¹⁴⁾.

A estimulação do timo foi tentada experimentalmente. Compreende dois tipos de intervenções, a intrínseca, através da estimulação de células hematopoiéticas, e a

extrínseca, pela estimulação de células do estroma tímico. A última é a mais eficaz mas permanece sem aplicação na clínica⁽²¹⁾.

Outra estratégia para retardar as consequências da involução tímica é a terapêutica com IL-7 recombinante. Esta citocina tem um papel fundamental na manutenção da homeostasia tímica. Em modelos animais tratados com IL-7 recombinante demonstrou-se uma reversão da atrofia tímica e um aumento da massa deste órgão. No entanto os estudos em humanos são muito limitados e não se investigou esta terapêutica no âmbito do envelhecimento⁽¹⁴⁾.

As vacinas contra o cancro têm sido também alvo de investigação. Os objetivos destas vacinas são a indução da morte imunogénica das células tumorais, optimização da apresentação de antígenos tumorais e bloqueio de pontos de controlo imunitários celulares⁽²⁶⁾. Destes últimos, aqueles mais relevantes são os antagonistas de fatores imunossupressores (como o TGF- β , IL-6 ou IL-10), oncogenes (como o STAT3) e os agonistas de co-receptores ativatórios, de que é exemplo o CD28⁽²⁶⁾.

Existem variadas formas de atuação para promover a eficácia da vacinação contra o cancro nos idosos, designadamente a eliminação de células supressoras da ativação das células T (como as células T reguladoras ou macrófagos), a estimulação de macrófagos capazes de eliminar células tumorais, a optimização da apresentação antigénica pelas células dendríticas e a estimulação do recrutamento de células T *naïve* pela IL-7⁽²⁶⁾.

Os miARNs foram identificados em diversos tecidos e constituem uma área muito interessante de investigação e possivelmente podem vir a ser utilizados em terapêuticas preventivas dos efeitos do envelhecimento. Foram testadas abordagens promotoras da eliminação de células imunes senescentes e redução do *inflamm-aging*⁽⁵⁵⁾. A identificação de vectores apropriados para a utilização de miARNs em humanos pode constituir uma abordagem futura viável não só no tratamento mas também no diagnóstico e prognóstico de doenças inflamatórias relacionadas com a idade⁽⁵⁵⁾.

Um dos alvos de múltiplos miARN é o NF-kB. Esta molécula é um dos principais reguladores da resposta inflamatória e de diversas respostas homeostáticas como a apoptose, autofagia ou atrofia tecidular. Todos estes apresentam desregulação com o envelhecimento⁽⁵⁵⁾.

Ao contrário dos fatores imutáveis associados à promoção da imunossenescência, como as alterações genéticas e moleculares, a nutrição é um

parâmetro modificável com reconhecida importância para uma função imunitária normal. A ideia central da nutrição saudável é reduzir o *inflamm-aging*⁽³⁷⁾. Vários estudos foram realizados no âmbito da relação entre o perfil nutricional dos idosos e o seu impacto na função imunitária.

A malnutrição proteico-calórica é um fator favorecedor do envelhecimento do sistema imune⁽⁴⁵⁾. Durante episódios infecciosos, as citocinas pró-inflamatórias produzidas pelos macrófagos induzem um estado de hipercatabolismo (com proteólise, lipólise e osteólise) que origina um grau variável de malnutrição endógena devido à mobilização de reservas nutricionais do organismo⁽⁴¹⁾. Uma alimentação equilibrada e variada é um requisito essencial para o envelhecimento saudável.

A dieta mediterrânea é uma forma de alimentação considerada saudável e mostrou ser eficaz na redução do risco da aterogénese e doenças neurodegenerativas entre indivíduos com risco elevado de morte por causa cardiovascular⁽³⁷⁾.

A Vitamina E é um componente abundante da membrana das células imunitárias. Foi associada à manutenção da função das células T, tanto de forma direta (influenciando a integridade membranar e a transdução de sinais) como indireta (através da redução da produção de fatores supressores como a PGE₂ pelos macrófagos)⁽³⁷⁾. Apesar de se terem feito progressos nos últimos anos na identificação da influência da Vitamina E sobre diversas funções imunitárias, não se estabeleceu ainda que indivíduos devem fazer suplementação com esta vitamina, tanto a nível preventivo do défice nem entre aqueles que já têm défice estabelecido, não existindo um valor de *cut-off* dos níveis desta vitamina definidos para suplementação.

A Vitamina D tem efeitos antimicrobianos conhecidos, sendo que o seu défice associa-se a um aumento da susceptibilidade para a infeção por *Mycobacterium tuberculosis*. A estimulação dos macrófagos pelo TLR induz a produção da enzima catelicidina que catalisa a conversão da Vitamina D na sua forma ativa, 1,25-dihidroxicolecalciferol. A catelicidina é um peptídeo antimicrobiano com capacidade de induzir a destruição do *Mycobacterium tuberculosis*⁽⁴¹⁾.

Os Carotenóides também foram alvo de investigação. Num estudo sobre os efeitos a nível do sistema imunitário com a suplementação dos mesmos verificou-se que no grupo de indivíduos que fizeram suplementação houve um aumento da atividade bactericida (com aumento do número de células NK e da função das células T *helper*) e também um efeito antioxidante, com redução da produção de radicais livres⁽³⁷⁾.

O Zinco é um micronutriente essencial ao normal funcionamento do sistema imune. É um componente necessário a funções proteicas (como das metaloenzimas) e fatores de transcrição associados ao Zinco ⁽³⁴⁾. Este é o elemento vestigial intracelular mais abundante no organismo humano. Os efeitos do Zinco na imunidade inata consistem na estimulação da fagocitose por macrófagos, da quimiotaxia e geração de *stress* oxidativo pelos neutrófilos, da capacidade das células NK de eliminarem agentes invasores e na ativação de mastócitos. A nível da imunidade adquirida o Zinco relaciona-se com a linfopoiese e a estimulação da resposta antigénica ⁽³⁴⁾.

O défice de Zinco é comum nos idosos e associa-se a atrofia tímica e redução da função da timulina (hormona tímica que regula a diferenciação das células T no timo e a função das células T maduras na periferia). Também está relacionado com linfopenia, alterações da imunidade adaptativa, inflamação crónica, maior susceptibilidade a infeções e progressão de doenças como asma, Diabetes *mellitus* e Doença de Alzheimer ⁽³⁴⁾.

Estudos nesta área observaram que com o envelhecimento ocorrem alterações da utilização, distribuição e absorção de Zinco. Estes resultados são, no entanto, discordantes com outros estudos que mostraram, paradoxalmente, um aumento da absorção de Zinco em idosos ⁽³⁴⁾, sendo necessários resultados mais conclusivos. A alteração da homeostasia do Zinco associada à idade também foi relacionada com a expressão alterada das metalotioneinas. Estas apresentam função quimiotática para as células imunitárias em situações inflamatórias. A sua produção aumentada no contexto de inflamação crónica pode alterar a resposta quimiotática normal que regula o tráfego de leucócitos, o que pode representar uma ameaça à eficácia da resposta imune nestas situações crónicas ⁽⁴⁸⁾.

Os transportadores transmembranares de Zinco também foram relacionados com o envelhecimento do sistema imunitário. A perda funcional destes associada à expressão alterada das metalotioneinas, com défice da libertação de zinco intracelular, provoca possivelmente efeitos deletérios sinérgicos na função imunitária com consequente emergência de algumas doenças relacionadas com a idade ⁽⁴⁸⁾.

Mais estudos são necessários para clarificar os efeitos do Zinco no sistema imune e as consequências do seu défice neste, assim como a definição da seleção de indivíduos a quem deve ser recomendada a suplementação com este micronutriente. Doses elevadas de suplementação de Zinco podem provocar apoptose de células imunitárias na presença de elevado *stress* oxidativo e inflamação, pelo que esta é

recomendada durante ciclos curtos e de forma intermitente ⁽⁴⁸⁾. A determinação dos níveis plasmáticos de Zinco isoladamente é insuficiente pois este está ligado a várias proteínas. Alternativas complementares são a quantificação da disponibilidade dos íons zinco intracelulares e a quantificação da libertação de Zinco pelas metalotioneínas⁽⁴⁸⁾.

Os probióticos são microrganismos vivos utilizados para modular respostas imunitárias a nível do trato gastrointestinal e outros tecidos através do seu impacto na imunidade inata da mucosa e das células imunitárias circulantes de e para esta. Nos idosos as populações de probióticos apresentam-se reduzidas, o que é um fator facilitador de infeções ⁽³⁷⁾. Os efeitos da suplementação com estes microrganismos foram estudados em idosos saudáveis e, embora estes estudos sejam limitados pela duração curta da suplementação (entre três a seis semanas), observaram-se efeitos benéficos para o sistema imunitário tais como o aumento da capacidade fagocítica e citotóxica celulares ⁽³⁷⁾. Para que se possam tirar conclusões mais exatas acerca dos benefícios imunitários dos probióticos a longo prazo são necessários estudos mais prolongados no futuro.

Os polifenóis são compostos encontrados em variados alimentos e bebidas, de que são exemplo o vinho tinto, frutas, vegetais, chá, café, cacau e cereais. Os compostos polifenólicos são constituídos maioritariamente por flavonóides. Os últimos dividem-se em flavonóis, flavonas, isoflavonas e flavanóis. Observaram-se efeitos imunitários derivados do consumo destes compostos, designadamente o aumento da produção de IL-10, IL-12, aumento da função das células B, maior produção de imunoglobulinas A e G e aumento do número de células NK e T *helper* ⁽³⁷⁾.

Os ácidos gordos são macronutrientes que intervêm em funções celulares importantes tais como no aporte energético e vias de sinalização. Fazem também parte da estrutura das membranas celulares ⁽³⁷⁾. A família dos ácidos gordos polinsaturados (PUFAs) é das mais estudadas entre os ácidos gordos. Estes atuam como precursores da síntese de prostaglandinas, leucotrienos, lipoxinas e resolvinas. Os PUFA n-3 são os que têm impacto mais reconhecido sobre a função imunitária, nomeadamente devido às suas propriedades anti-inflamatórias, com redução da produção de eicosanóides, citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , TNF- α e IL-6), quimiocinas (IL-8, MCP-1), moléculas de adesão (ICAM-1, VCAM-1, selectinas) e espécies reativas de oxigénio e de azoto ⁽³⁷⁾. Estes ácidos podem ser encontrados no peixe e derivados e em algumas plantas como a linhaça. O seu consumo foi associado a um menor risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, inflamatórias, autoimunes e algumas neurodegenerativas ⁽³⁷⁾.

Prática regular de exercício físico moderado é uma forma barata, segura, não invasiva e eficaz de contrariar ou prevenir os efeitos deletérios da imunossenescência e do envelhecimento no geral ⁽²⁵⁾. Apesar de os efeitos benéficos da prática de exercício físico não serem completamente conhecidos, diversos estudos realizados nesse âmbito revelaram que a realização regular de exercício aeróbio promove a mobilização preferencial de células T senescentes e altamente diferenciadas (algumas específicas para os vírus *Epstein-Barr* e *Citomegalovirus*) desde os tecidos periféricos para a circulação sanguínea, com subsequente eliminação destas células no sangue durante os estágios iniciais da recuperação após o exercício físico. Este fenômeno de mobilização celular não foi estudado extensivamente mas pensa-se que pode facilitar a expansão do repertório dos receptores antigénicos das células T, incluindo o das *naïve* ⁽²⁵⁾.

O exercício físico mostrou melhorar significativamente a eficácia da resposta imune dos idosos, por exemplo através da produção de anticorpos mais eficazes após a vacinação para o vírus *Influenza* ⁽¹³⁾.

Os benefícios da prática de exercício físico sobre a função imunitária nos idosos vem reforçar a implementação desta importante vertente de atuação na promoção de um envelhecimento saudável, com as vantagens que deste advêm, principalmente a nível económico, através da redução de custos de saúde com doenças relacionadas com a idade, e na qualidade de vida, com a obtenção de uma maior percentagem de idosos com maior autonomia funcional e melhor qualidade de vida.

VII. CONCLUSÕES

As alterações decorrentes do envelhecimento fisiológico do sistema imune, designadas por imunossenescência, foram associadas a uma maior incidência de doenças neoplásicas, de doenças infecciosas e de fenómenos autoimunes, assim como a uma menor resposta à vacinação nos idosos.

As evidências atuais apontam, efetivamente, para a existência de uma perda de capacidade protetora do sistema imune relacionada com o envelhecimento. Este declínio funcional afeta todos os tipos celulares imunitários mais estudados, tanto no contexto da imunidade inata como no da adquirida.

Dentre os processos adaptativos subjacentes ao envelhecimento fisiológico do sistema imune, as evidências atuais mostram que os fenómenos autoimunes têm maior incidência entre os idosos. Diversos mecanismos foram implicados na fisiopatologia destes fenómenos e podem contribuir para explicar o aumento da incidência destes nesta população.

As células T contribuem para a ocorrência de fenómenos autoimunes nos idosos. Constatou-se um *shift* no padrão de produção de citocinas por estas células, no qual se verificou uma menor produção de citocinas típicas de células Th1 e maior produção de citocinas típicas de Th2, principalmente um aumento da produção de IL-4 e IL-6, que podem estar associadas à ocorrência de fenómenos autoimunes nos idosos.

A involução tímica que decorre ao longo da vida pode estar associada à ocorrência de fenómenos autoimunes devido a alterações estruturais deste órgão, nomeadamente a perda de epitélio tímico expressor de peptídeos do *self* e a ocorrência de defeitos no rearranjo dos genes do TCR- β . As alterações sofridas pelo timo afetam também o processo de seleção e maturação das células T, devido a alterações do processo de reconhecimento de moléculas do *self*.

A função desajustada das células T reguladoras encontrada em idosos pode contribuir para a perda de imunotolerância e ocorrência de fenómenos autoimunes, devido a promoverem uma maior estimulação imunitária e contribuírem para a manutenção do estado pró-inflamatório basal constatado nestes indivíduos.

Outra subpopulação de células T implicada na ocorrência de fenómenos de autoimunidade nos idosos é a das células Th17, recentemente estudada e que tem sido

associada a um fenótipo autoimune. Constatou-se que, enquanto a diferenciação das células T CD4⁺ em Th1 e Th2 está reduzida com a idade, a diferenciação destas em Th17 está conservada e o maior número destas células pode contribuir para explicar os fenómenos de autoimunidade mais frequentes nos idosos.

Com o envelhecimento, diversas funções das células dendríticas estão alteradas e podem ajudar a explicar a maior ocorrência de fenómenos autoimunes nos idosos. Uma dessas funções é a de apresentação antigénica, que se encontra reduzida e acompanha-se de uma diminuição da expressão de moléculas do MHC à superfície celular. Estas células parecem sofrer uma ativação apenas parcial nos idosos e a esta ativação parcial associa-se uma maior função estimuladora de células T, o que pode indicar uma alteração da capacidade indutora de tolerância destas células a autoantígenos, devido a uma menor ativação de *Fosfatidilinositol-3-cinase*, que por sua vez promove a ativação de NF-κB. A função de eliminação de detritos celulares e células apoptóticas através de fagocitose está também diminuída. Esses detritos sofrem necrose secundária, o que promove a produção de mediadores pró-inflamatórios e autoantígenos intracelulares, com consequente ativação de linfócitos autorreativos e fenómenos de autoimunidade. As células dendríticas de idosos apresentam reatividade aumentada para autoantígenos intracelulares e células apoptóticas, comparativamente a células dendríticas de indivíduos mais jovens.

As evidências atuais não permitem afirmar se as células *Natural Killer* se relacionam com a ocorrência de fenómenos autoimunes.

Também as células B contribuem potencialmente para a autoimunidade, pois diversos trabalhos verificaram que os anticorpos produzidos pelos idosos possuem menor afinidade e especificidade antigénica comparativamente a antígenos produzidos por jovens e que a produção de autoanticorpos aumenta com a idade.

A produção alterada de citocinas nos idosos, em relação aos jovens, é outro fator que se pensa contribuir para a maior incidência de fenómenos autoimunes nesta faixa etária, na medida em que se verifica um aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias e redução da produção de citocinas anti-inflamatórias.

As alterações epigenéticas, na forma de fenómenos de metilação genética também mostraram ser fatores contribuidores para a ocorrência de autoimunidade. Dois exemplos consistem no gene FOXP3, que se encontra hipermetilado com a idade, e o gene da cadeia CD11a do *Antígeno 1 associado à função linfocitária* (LFA-1) que sofre hipometilação com o envelhecimento.

Fatores genéticos como anomalias teloméricas associadas a respostas imunitárias disfuncionais também se associam a fenômenos autoimunes.

Uma limitação vigente no estudo da imunossenescência é que alguns resultados foram obtidos em estudos realizados com roedores, com extrapolação para o sistema imune humano. Com o aperfeiçoamento das técnicas laboratoriais a elaboração destes trabalhos recorrendo a humanos poderá fornecer dados mais fidedignos acerca do envelhecimento do sistema imune humano.

VIII. REFERÊNCIAS / BIBLIOGRAFIA

⁽¹⁾Factors that may impact on immunosenescence: an appraisal. Ongrádi J, Kövesdi V. *Immun Ageing*. 2010 Jun 14;7:7. doi: 10.1186/1742-4933-7-7.

⁽²⁾Ageing-associated changes in cellular immunity based on the SENIEUR protocol. Wu J, Li W, Liu Z, Zhang YY, Peng Y, Feng DG, *et al*. *Scand J Immunol*. 2012 Jun;75(6):641-6. doi: 10.1111/j.1365-3083.2012.02698.

⁽³⁾ Understanding immunosenescence to improve responses to vaccines. Goronzy JJ, Weyand CM. *Nat Immunol*. 2013 May;14(5):428-36. doi: 10.1038/ni.2588. Epub 2013 Apr 18. Review.

⁽⁴⁾ Aging, immunosenescence and membrane rafts: the lipid connection. Fulop T, Le Page A, Garneau H, Azimi N, Baehl S, Dupuis G, Pawelec G, Larbi A. *LongevHealthspan*. 2012 Oct 4;1:6. doi: 10.1186/2046-2395-1-6. eCollection 2012. Review.

⁽⁵⁾ Immunosenescence: influenza vaccination and the elderly. Haq K, McElhaney JE. *Curr Opin Immunol*. 2014 Aug;29C:38-42. doi: 10.1016/j.coi.2014.03.008. Epub 2014 Apr 25. Review.

⁽⁶⁾ Age-related deregulation of naive T cell homeostasis in elderly humans. Ferrando-Martínez S, Ruiz-Mateos E, Hernández A, Gutiérrez E, Rodríguez-Méndez Mdel M, Ordoñez A, Leal M. *Age (Dordr)*. 2011 Jun;33(2):197-207. doi: 10.1007/s11357-010-9170-8. Epub 2010 Aug 11.

⁽⁷⁾ NK cells in healthy aging and age-associated diseases. Camous X, Pera A, Solana R, Larbi A. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012:195956. doi: 10.1155/2012/195956. Epub 2012 Nov 20. Review.

⁽⁸⁾Reversing T cell immunosenescence: why, who, and how. Lang PO, Govind S, Aspinall R. *Age (Dordr)*. 2013 Jun;35(3):609-20. doi: 10.1007/s11357-012-9393-y. Epub 2012 Feb 26. Review.

⁽⁹⁾Immunosenescence and vaccine failure in the elderly: Strategies for improving response. Boraschi D, Italiani P. *Immunol Lett*. 2014 Jun 21. pii: S0165-2478(14)00118-7. doi: 10.1016/j.imlet.2014.06.006.

⁽¹⁰⁾Immune system, cell senescence, aging and longevity--inflamm-aging reappraised. Salvioli S, Monti D, Lanzarini C, Conte M, Pirazzini C, Bacalini MG, *et al*. *Curr Pharm Des*. 2013;19(9):1675-9. Review.

⁽¹¹⁾ Oxidative stress, inflamm-aging and immunosenescence. Cannizzo ES, Clement CC, Sahu R, Follo C, Santambrogio L. *J Proteomics*. 2011 Oct 19;74(11):2313-23. doi: 10.1016/j.jprot.2011.06.005. Epub 2011 Jun 21. Review.

⁽¹²⁾ Immune senescence: new insights into defects but continued mystery of root causes. Swain SL, Blomberg BB. *Curr Opin Immunol*. 2013 Aug;25(4):495-7. doi: 10.1016/j.coi.2013.08.001. Epub 2013 Aug 17.

⁽¹³⁾ The gracefully aging immune system. Boraschi D, Aguado MT, Dutel C, Goronzy J, Louis J, Grubeck-Loebenstien B, Rappuoli R, Del Giudice G. *Sci Transl Med*. 2013 May 15;5(185):185ps8. doi: 10.1126/scitranslmed.3005624. Review.

⁽¹⁴⁾ Innate and adaptive immunosenescence. Agarwal S, Busse PJ. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2010 Mar;104(3):183-90; quiz 190-2, 210. doi: 10.1016/j.anai.2009.11.009. Review.

⁽¹⁵⁾ Erythrocyte aggregation and neutrophil function in an aging population. Christy RM, Baskurt OK, Gass GC, Gray AB, Marshall-Gradisnik SM. *Gerontology*. 2010;56(2):175-80. doi: 10.1159/000242461. Epub 2009 Sep 24.

⁽¹⁶⁾NK cells in healthy aging and age-associated diseases.Camous X, Pera A, Solana R, Larbi A.J BiomedBiotechnol. 2012;2012:195956. doi: 10.1155/2012/195956. Epub 2012 Nov 20. Review.

⁽¹⁷⁾ Immunosenescence of human natural killer cells.Gayoso I, Sanchez-Correa B, Campos C, Alonso C, Pera A, Casado JG, Morgado S, Tarazona R, Solana R.J InnateImmun. 2011;3(4):337-43. doi: 10.1159/000328005. Epub 2011 May 11. Review.

⁽¹⁸⁾Age-dependent histoarchitectural changes in human lymph nodes: an underestimated process with clinical relevance?Hadamitzky C, Spohr H, Debertin AS, Guddat S, Tsokos M, Pabst R.J Anat. 2010 May;216(5):556-62. doi: 10.1111/j.1469-7580.2010.01213.x. Epub 2010 Mar 19.

⁽¹⁹⁾Immunosenescence, aging, and systemic lupus erythematosus.Montoya-Ortiz G.AutoimmuneDis. 2013;2013:267078. doi: 10.1155/2013/267078. Epub 2013 Oct 24. Review.

⁽²⁰⁾ Rheumatoid arthritis: a role for immunosenescence?Lindstrom TM, Robinson WH.J Am Geriatr Soc. 2010 Aug;58(8):1565-75. doi: 10.1111/j.1532-5415.2010.02965.x. Epub 2010 Jul 19. Review.

⁽²¹⁾Immunosenescence: a product of the environment?Su DM, Aw D, Palmer DB.CurrOpinImmunol. 2013 Aug;25(4):498-503. doi: 10.1016/j.coi.2013.05.018. Epub 2013 Jun 25. Review.

⁽²²⁾Commentary: The evolutionary biology of the paternal age effect on telomere length.Eisenberg DT, Kuzawa CW.Int J Epidemiol. 2013 Apr;42(2):462-5. doi: 10.1093/ije/dyt027. Epub 2013 Mar 7.

⁽²³⁾16(th) IHIW: immunogenetics of aging.Naumova E, Ivanova M, Pawelec G, Constantinescu I, Bogunia-Kubik K, Lange A, *et al*.Int J Immunogenet. 2013 Feb;40(1):77-81. doi: 10.1111/iji.12027.

⁽²⁴⁾Dendritic cells from the elderly display an intrinsic defect in the production of IL-10 in response to lithium chloride. Agrawal S, Gollapudi S, Gupta S, Agrawal A. *Exp Gerontol*. 2013 Nov;48(11):1285-92. doi: 10.1016/j.exger.2013.08.006. Epub 2013 Aug 26.

⁽²⁵⁾ Aging, persistent viral infections, and immunosenescence: can exercise "make space"? Simpson RJ. *Exerc Sport Sci Rev*. 2011 Jan;39(1):23-33. doi: 10.1097/JES.0b013e318201f39d. Review.

⁽²⁶⁾ Potential role of immunosenescence in cancer development. Fulop T, Kotb R, Fortin CF, Pawelec G, de Angelis F, Larbi A. *Ann N Y Acad Sci*. 2010 Jun;1197:158-65. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05370.x. Review.

⁽²⁷⁾ A systems biology approach to the effect of aging, immunosenescence and vaccine response. Poland GA, Ovsyannikova IG, Kennedy RB, Lambert ND, Kirkland JL. *Curr Opin Immunol*. 2014 Aug;29C:62-68. doi: 10.1016/j.coi.2014.04.005. Epub 2014 May 13. Review.

⁽²⁸⁾ Aging is associated with circulating cytokine dysregulation. Alvarez-Rodríguez L, López-Hoyos M, Muñoz-Cacho P, Martínez-Taboada VM. *Cell Immunol*. 2012;273(2):124-32. doi: 10.1016/j.cellimm.2012.01.001. Epub 2012 Jan 12.

⁽²⁹⁾ Neuroendocrine-immune interactions in healthy aging. Mazzocchi G, Inglese M, De Cata A, Carughi S, Dagostino MP, Marzulli N, Damato M, Grilli M, Giuliani F, Greco A. *Geriatr Gerontol Int*. 2011 Jan;11(1):98-106. doi: 10.1111/j.1447-0594.2010.00628.x.

⁽³⁰⁾ B cells compartment in centenarian offspring and old people. Colonna-Romano G, Buffa S, Bulati M, Candore G, Lio D, Pellicanò M, Vasto S, Caruso C. *Curr Pharm Des*. 2010;16(6):604-8.

⁽³¹⁾ Aging affects human B cell responses. Frasca D, Blomberg BB. *J Clin Immunol*. 2011 Jun;31(3):430-5. doi: 10.1007/s10875-010-9501-7. Epub 2011 Feb 12. Review.

⁽³²⁾Immunity in the elderly: the role of the thymus. Aspinall R, Pitts D, Lapenna A, Mitchell W. *J Comp Pathol.* 2010 Jan;142 Suppl 1:S111-5. doi: 10.1016/j.jcpa.2009.10.022. Epub 2009 Dec 1. Review.

⁽³³⁾Dendritic cells and aging: consequences for autoimmunity. Agrawal A, Sridharan A, Prakash S, Agrawal H. *Expert Rev Clin Immunol.* 2012 Jan;8(1):73-80. doi: 10.1586/eci.11.77. Review.

⁽³⁴⁾Zinc and its role in age-related inflammation and immune dysfunction. Wong CP, Ho E. *Mol Nutr Food Res.* 2012 Jan;56(1):77-87. doi: 10.1002/mnfr.201100511. Epub 2011 Nov 11. Review.

⁽³⁵⁾Effect of age on surface molecules and cytokine expression in human dendritic cells. Ciaramella A, Spalletta G, Bizzoni F, Salani F, Caltagirone C, Bossù P. *Cell Immunol.* 2011;269(2):82-9. doi: 10.1016/j.cellimm.2011.04.010. Epub 2011 Apr 27.

⁽³⁶⁾B cell repertoire and ageing. Dunn-Walters DK, Ademokun AA. *Curr Opin Immunol.* 2010 Aug;22(4):514-20. doi: 10.1016/j.coi.2010.04.009. Epub 2010 May 25. Review.

⁽³⁷⁾Nutrition, diet and immunosenescence. Maijón M, Clements SJ, Ivory K, Nicoletti C, Carding SR. *Mech Ageing Dev.* 2014 Mar-Apr;136-137:116-28. doi: 10.1016/j.mad.2013.12.003. Epub 2013 Dec 25.

⁽³⁸⁾Cell aging and social disadvantage: perspectives on mechanisms underlying health disparities from "across the pond". Adler NE. *Brain Behav Immun.* 2011 Oct;25(7):1290-1. doi: 10.1016/j.bbi.2011.06.013. Epub 2011 Jun 23.

⁽³⁹⁾Immune senescence. Editorial overview. Grubeck-Loebenstien B, Cambier J. *Curr Opin Immunol.* 2011 Aug;23(4):509-11. doi: 10.1016/j.coi.2011.07.001. Epub 2011 Jul 23.

⁽⁴⁰⁾Mechanisms of immunosenescence: lessons from models of accelerated immune aging. Le Saux S, Weyand CM, Goronzy JJ. *Ann N Y Acad Sci.* 2012 Jan;1247:69-82. doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.06297.x. Epub 2012 Jan 6.

⁽⁴¹⁾Immunosenescence and infections, myth or reality? Crétel E, Veen I, Pierres A, Bongrand P, Gavazzi G. *Med Mal Infect.* 2010 Jun;40(6):307-18. doi: 10.1016/j.medmal.2009.12.008. Epub 2010 Jan 25. Review.French.

⁽⁴²⁾Immune senescence and cancer in elderly patients: results from an exploratory study. Falci C, Ganesin K, Sergi G, Giunco S, De Ronch I, Valpione S, *et al.* *Exp Gerontol.* 2013 Dec;48(12):1436-42. doi: 10.1016/j.exger.2013.09.011. Epub 2013 Oct 10.

⁽⁴³⁾ Regulatory T cells and the immune aging process: a mini-review. Jagger A, Shimojima Y, Goronzy JJ, Weyand CM. *Gerontology.* 2014;60(2):130-7. doi: 10.1159/000355303. Epub 2013 Nov 28.

⁽⁴⁴⁾Editorial: T cell memory, bone marrow, and aging: the good news. Effros RB. *J Leukoc Biol.* 2012 Feb;91(2):185-7. doi: 10.1189/jlb.0811438.

⁽⁴⁵⁾Immunosenescence: Implications for vaccination programmes in adults. Lang PO, Govind S, Michel JP, Aspinall R, Mitchell WA. *Maturitas.* 2011 Apr;68(4):322-30. doi: 10.1016/j.maturitas.2011.01.011. Epub 2011 Feb 12. Review.

⁽⁴⁶⁾Hallmark features of immunosenescence are absent in familial longevity. Derhovanessian E, Maier AB, Beck R, Jahn G, Hähnel K, Slagboom PE, de Craen AJ, Westendorp RG, Pawelec G. *J Immunol.* 2010 Oct 15;185(8):4618-24. doi: 10.4049/jimmunol.1001629. Epub 2010 Sep 20.

⁽⁴⁷⁾Immunosenescence and cancer. Pawelec G, Derhovanessian E, Larbi A. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2010 Aug;75(2):165-72. doi: 10.1016/j.critrevonc.2010.06.012. Review.

- ⁽⁴⁸⁾Zinc, metallothioneins and immunosenescence. Mocchegiani E, Malavolta M, Costarelli L, Giacconi R, Cipriano C, Piacenza F, *et al.* *Proc Nutr Soc.* 2010 Aug;69(3):290-9. doi: 10.1017/S0029665110001862. Epub 2010 Jun 28. Review.
- ⁽⁴⁹⁾A possible mechanism for altered immune response in the elderly. Mazzoccoli G, DE Cata A, Carughi S, Greco A, Inglese M, Perfetto F, Tarquini R. *In Vivo.* 2010 Jul-Aug;24(4):471-87.
- ⁽⁵⁰⁾T cell ageing: effects of age on development, survival & function. Salam N, Rane S, Das R, Faulkner M, Gund R, Kandpal U, *et al.* *Indian J Med Res.* 2013 Nov;138(5):595-608. Review.
- ⁽⁵¹⁾Immunosenescence and novel vaccination strategies for the elderly. Dorrington MG, Bowdish DM. *Front Immunol.* 2013 Jun 28;4:171. doi: 10.3389/fimmu.2013.00171. Print 2013.
- ⁽⁵²⁾CMV and Immunosenescence: from basics to clinics. Solana R, Tarazona R, Aiello AE, Akbar AN, Appay V, Beswick M, *et al.* *Immun Ageing.* 2012 Oct 31;9(1):23. doi: 10.1186/1742-4933-9-23.
- ⁽⁵³⁾Age effects on B cells and humoral immunity in humans. Frasca D, Diaz A, Romero M, Landin AM, Blomberg BB. *Ageing Res Rev.* 2011 Jul;10(3):330-5. doi: 10.1016/j.arr.2010.08.004. Epub 2010 Aug 20. Review.
- ⁽⁵⁴⁾Aging is associated with chronic innate immune activation and dysregulation of monocyte phenotype and function. Hearps AC, Martin GE, Angelovich TA, Cheng WJ, Maisa A, Landay AL, Jaworowski A, Crowe SM. *Aging Cell.* 2012 Oct;11(5):867-75. doi: 10.1111/j.1474-9726.2012.00851.x. Epub 2012 Jul 20.
- ⁽⁵⁵⁾ Effect of aging on microRNAs and regulation of pathogen recognition receptors. Fabiola Olivieri, Antonio Domenico Procopio and Ruth R Montgomery. *Current Opinion in Immunology* 2014, 29:29–37.

⁽⁵⁶⁾Relationship between functional ability in older people, immune system status, and intensity of response to CMV. Moro-García MA, Alonso-Arias R, López-Vázquez A, Suárez-García FM, Solano-Jaurrieta JJ, Baltar J, López-Larrea C. *Age (Dordr)*. 2012 Apr;34(2):479-95. doi: 10.1007/s11357-011-9240-6. Epub 2011 Apr 13.

⁽⁵⁷⁾The unmet need in the elderly: how immunosenescence, CMV infection, co-morbidities and frailty are a challenge for the development of more effective influenza vaccines. McElhaney JE, Zhou X, Talbot HK, Soethout E, Bleackley RC, Granville DJ, Pawelec G. *Vaccine*. 2012 Mar 9;30(12):2060-7. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.01.015. Epub 2012 Jan 27. Review

⁽⁵⁸⁾Hallmarks of human "immunosenescence": adaptation or dysregulation? Pawelec G. *Immun Ageing*. 2012 Jul 25;9(1):15. doi: 10.1186/1742-4933-9-15.

⁽⁵⁹⁾Lower proportion of naïve peripheral CD8+ T cells and an unopposed pro-inflammatory response to human Cytomegalovirus proteins in vitro are associated with longer survival in very elderly people. Derhovanessian E, Maier AB, Hähnel K, et al. *Age* 2013;35(4):1387-1399. doi:10.1007/s11357-012-9425-7.

⁽⁶⁰⁾Age-associated alteration in naive and memory Th17 cell response in humans. Lee JS, Lee WW, Kim SH, Kang Y, Lee N, Shin MS, Kang SW, Kang I. *Clin Immunol*. 2011 Jul;140(1):84-91. doi: 10.1016/j.clim.2011.03.018. Epub 2011 Apr 13.