



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

IMUNOSENESCÊNCIA

Trabalho submetido por

Cristiana Filipa dos Santos Paulo

para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por

Professora Doutora Maria Guilhermina Moutinho

Outubro de 2013

Agradecimentos

À minha família.

À minha orientadora.

A todos os autores e autoras que tão gentilmente me concederam acesso aos seus artigos e respetiva autorização para utilizá-los na realização desta monografia.

Sem vós não teria sido possível.

Um muito obrigado!

Resumo

A Imunosenescência ou o envelhecimento do Sistema Imunitário trata-se de um processo natural, defendido por alguns estudiosos como sendo inclusive uma evolução para prevenir falhas na resposta contra a autoimunidade e surgimento de tumores ou cancro. Fato é que com a idade as células do Sistema Imunitário sofrem alterações a nível genético como a deleção ou surgimento de genes que alteram a sua expressão de superfície, a sua proliferação e a sua resposta a antigénios. As próprias alterações dos Órgãos do Sistema Linfático, sendo exemplo a involução tímica, têm forte influência na expressão de recetores e no nível de Linfócitos T periféricos, evidenciando-se uma inversão no rácio de Linfócitos T CD4 e CD8, *naïve* e maduros. Conduz isto, a uma capacidade de resposta diminuída a uma vacinação preventiva, a uma resposta imunológica deficiente a novas morbilidades ou ao ressurgimento de antigas infeções latentes. Vírus com capacidade latente apresentam capacidade de esgotar a capacidade proliferativa do Sistema Imunitário acelerando o processo de Imunosenescência. Novos estudos procuram apurar a resposta imunológica na vacinação da população idosa.

O encurtamento de Telómeros marca a Imunosenescência na proliferação celular, sendo a replicação celular limitativa na maturação destas, surgindo em último caso Linfócitos T não proliferantes mas ainda secretores de citoquinas pró-inflamatórias, tais como a IL-6 e TNF- α . Aliada a um acumular de lesões fruto de radicais oxidativos provenientes da respiração celular que podem causar dano no ADN, surgem as condições necessárias para uma condição crónica de Inflamação prejudicial aos tecidos. Como resposta a todas as agressões as células desenvolvem um Fenótipo Secretório Associado à Imunosenescência procurando defender o organismo do desenvolvimento de cancros conduzindo as células a um envelhecimento programado. Falhas no correto funcionamento do ADN podem causar resistência à Apoptose e o acumular de células incapazes e paradoxalmente conduzir a casos de maior Inflamação crónica.

Palavras-chave: Imunosenescência, Sistema Imunitário Inato, Sistema Imunitário Adaptativo, Vacinação.

Abstract

Immunosenescence and aging Immune System it is a natural process, advocated by some scholars as being even an evolution to prevent failures in the response to the emergence of autoimmunity and cancer or tumors. The fact is that with age the immune system cells undergo changes at the genetic level as the emergence or deletion of genes that alter their surface expression, their proliferation and their response to antigens. The very change of Organs Lymphatic System given the example of thymic involution, have a strong influence on the expression of receptors and the level of peripheral T lymphocytes showing a reversal in the ratio of CD4 and CD8 T cells, naïve and mature. This leads to a small response to preventive vaccination, a poor immune response to new morbidities or resurgence of old latent infections. Virus with latent capability have faculty to exhaust the proliferative aptitude of the Immune System accelerating the process of Immunosenescence. New studies looking to enhance the immune response in vaccination of the elderly population are being made.

The shortening of telomeres marks the Immunosenescence in cell proliferation, cell replication and maturation of the cells. T lymphocytes show a limited proliferation although the ability to secrete proinflammatory cytokines such as IL- 6 and TNF- α , may remain intact. Coupled to an accumulation of lesions result of oxidative radicals from cellular respiration which can cause DNA damage, there are the essential conditions for a chronic inflammation condition damaging the tissues. In response to all the assaults cells develop one Immunosenescence Associated Secretory Phenotype that seeks to defend the body from developing cancer cells leading to an aging schedule. Failures in the correct functioning of DNA can cause resistance to apoptosis and accumulation of cells incapable and paradoxically lead to higher instances of chronic inflammation.

Key-words: Immunosenescence, Natural Immune System, Adaptative Immune System, Vaccination.

Índice Geral

Lista de Acrónimos.....	11
Índice de Figuras.....	13
1. Introdução.....	15
2. Breves Conceitos do Sistema Imunitário (SI).....	17
3. Senescência da Imunidade Inata ou Natural.....	23
1. Células <i>Natural Killer</i>	23
2. Células Dendríticas	25
3. Monócitos e Macrófagos.....	27
4. Neutrófilos.....	29
5. Mastócitos.....	30
4. <i>Stress</i> Oxidativo.....	31
5. Inflamação Crónica.....	33
6. Fenótipo Secretório Associado à Imunosenescência.....	34
7. Senescência da Imunidade Adaptativa.....	37
1. Involução Tímica.....	37
2. Linfócitos.....	41
1. Linfócitos T reguladores.....	44
2. Linfócitos T CD8.....	45
3. Linfócitos T CD4.....	49
4. Linfócitos B.....	51
8. O Sistema Imunitário e o Citomegalovírus.....	54
9. O Envelhecimento do SI e o VIH.....	55
10. Vacinação.....	59
1. Vírus <i>Influenza</i>	60
2. <i>Streptococcus pneumonia</i>	62
3. Diphtheria, Tetanus e Pertussis.....	62
4. Vírus Herpes Zoster.....	63
5. Vírus Síncial Respiratório.....	63
11. Conclusão.....	64
12. Bibliografia.....	66
ANEXOS.....	81

Lista de Acrónimos

ADA: Adenosina Deaminase	<i>adhesion molecule 1</i>
ADN: Ácido desoxirribonucleico	MALT: Tecido linfático associado às mucosas
AGM: <i>Aorta-Gonad-Mesonephros</i>	MAPK: <i>Mitogen activated protein kinase</i>
AID: <i>Activation induced cytidine deaminase</i>	MARCO: Recetor dos macrófagos com estrutura de colagénio
APC: Células apresentadoras de antígeno	MCP-1: Proteína quimioatrativa de monócitos 1
ARN: Ácido ribonucleico	MHC: Complexo de histocompatibilidade major
ARNsi: <i>small interfering RNA</i>	MZM: Macrófagos da zona marginal
ATP: Adenosina trifosfato	NADPH: <i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
BAFF: Recetor da citocina ativadora de linfócitos	NCAM: <i>Neural cell adhesion molecule</i>
BCR: Recetores das células B	NF- κ B: <i>Nuclear kappa B factor</i>
CEH: Células estaminais hematopoiéticas	NK: <i>Natural killer</i>
Células M: Células <i>microfold</i>	NLRP: <i>NOD-like receptor family pyrin domain</i>
CMV: Citomegalovírus	Pd-1: <i>Programmed cell death 1</i>
DAMP: <i>Damage-associated molecular patterns</i>	PGE2: Prostaglandina E2
FGFR: <i>Fibroblast growth factor receptor</i>	PPAR: <i>Peroxisoma proliferator activated receptors</i>
FOXP3: <i>Forkhead box protein 3</i>	PPS: Polissacarídeo Pneumocócico
GH: Hormona de Crescimento	Rag: Gene ativador da recombinação
GHSR: Recetor secretagogo da hormona de crescimento	Ras: <i>Rat sarcoma</i>
GM-CSF: <i>Granulocyte macrophage colony-stimulation factor</i>	RB: Retinoblastoma
HLA: <i>Human Leucocyte Antigen</i>	RSV: Vírus Sincicial Respiratório
HP: <i>Herpes Zoster</i>	SASP: Fenótipo secretório associado à senescência
hs-CRP: <i>high-sensitivity C reactive protein</i>	SA- β -gal: β -galactosidase associada à senescência
ICAM: Moléculas de Adesão Intercelular	SHIP: Inibidores da fosfatase
IFN: Interferão	SI: Sistema Imunitário
IGF-1: <i>Insuline growth factor 1</i>	SIGN-R1: <i>Grabbing nonintegrin receptor 1</i>
IGFBP: Proteínas ligantes IGF	SOCS: Supressor do sinal das citocinas
IL: Interleucina	TCR: Recetores dos linfócitos T
ITAM: <i>Tyrosine-based activation motif</i>	TERT: <i>Telomerase reverse transcriptase</i>
ITIM: <i>Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif</i>	TGF: <i>Transforming Growth factor</i>
KIR: <i>Killer cell immunoglobulin-like receptor</i>	TNF: Fator necrose tumoral
KLRG1: <i>Killer cell lectin-like</i>	TRF: <i>Thyrotropin releasing factor</i>
Lck: <i>Lymphocyte protein tyrosine kinase</i>	TTP: Tristetraporlina
LFA: <i>Lymphocyte functional antigen-1</i>	VIH: Vírus da imunodeficiência humana
LFA-1: <i>Lymphocyte function associated antigen 1</i>	
LGL: <i>Large granule lymphocyte</i>	
LHRH: <i>Luteinizing Hormone releasing-hormone</i>	
LIR: <i>Leucocyte Inhibitory receptor</i>	
LPS: Lipopolissacárido	
Mac: <i>Membrane attack complex</i>	
MAdCAM1+: <i>Mucosal addressin cell</i>	

Índice de Figuras

Figura 1. Ativação de Linfócito T <i>helper</i> pela apresentação de antigénio por um Macrófago.....	19
Figura 2. Esquema representativo das alterações sofridas pelos Linfócitos T e surgimento de recetores NK-like.....	25
Figura 3. Esquema da diferenciação dos Monócitos em M1 e M2.....	29
Figura 4. Ativação do Complexo da NADPH Oxidase.....	32
Figura 5. Mecanismo para a Indução de SASP.....	36
Figura 6. Resumo das características da Involução Tímica e Moléculas Protetoras.....	41
Figura 7. Esquema representativo do Complexo <i>Shelter</i> que protege os Telómeros.....	42
Figura 8. Representação esquemática do DOT PLOT da atividade da Telomerase nos Linfócitos CD8 ⁺ purificados com VARIOMACS e ativados com anti-CD3.....	47
Figura 9. Características da Proliferação dos Linfócitos CD8.....	49
Figura 10. Esquema da Influência do HIV e outras comorbilidades na Imunosenescência acelerada.....	59

Imunosenescência

1. Introdução

O processo de envelhecimento natural do Sistema Imunitário caracteriza-se por uma diferenciação de respostas na Imunidade Inata assim como na Imunidade Adaptativa, dando-se a esse processo o nome de Imunosenescência (Moro-Garcia, Alonso-Arias & López-Larrea, 2013). Esta é descrita como uma deterioração do Sistema Imunológico associado à idade, conseqüentemente surgem patologias associadas, tais como doenças neurodegenerativas, cardiovasculares, cancro e aumento de suscetibilidade para novas infecções (Solana *et al*, 2012). Uma vez que o Sistema Imunitário está dependente de uma regeneração das células precursoras hematopoiéticas, (Le Sauz, Weyand & Goronzy, 2012) este caracteriza-se por mudanças no equilíbrio entre a proliferação, produção e morte programada destas. Na Imunosenescência, evidencia-se *in vitro* ausência da enzima telomerase que conduz a um encurtamento dos telómeros, protetores da conservação do ADN nos cromossomas, que se manifesta em processos imunosenescentes (Pinke *et al*, 2013), tais como falha na apoptose, conservando mutações. As mudanças funcionais que ocorrem durante o envelhecimento natural contribuem igualmente para uma perda da eficácia de vacinação e um aumento de problemas autoimunes (Deeks S., Verdin E., & McCune J., 2012).

Calcula-se que em 2050 cerca de 40% dos europeus e americanos terão mais de 60 anos [Lutz W. *et al* (1997) através de Mehr R. and Melamed D., 2011]. Sabendo que a melhoria das condições socio-económicas permitiu à população dos países desenvolvidos um aumento da esperança média de vida, o número de idosos virá a aumentar, assim como os cuidados a estes que devem ser prestados, é portanto, objetivo desta monografia fazer uma compilação sobre o que tem sido estudado sobre esta característica que a todos os Seres Vivos afeta, a Imunosenescência.

2. Breves Conceitos do Sistema Imunitário

Existe uma grande heterogenia entre as células do sistema imunitário derivando a maioria de células estaminais hematopoéticas como demonstra o Anexo I. As células do SI têm como origem o saco vitelino, posteriormente a região AGM, *Aorta-Gonad-Mesonephros*, e finalmente o fígado durante o período fetal, posteriormente, após o nascimento o seu desenvolvimento dá-se na medula óssea (Arosa F., Cardoso E. and Pacheco F., 2007). Como demonstra o Anexo I, a partir de uma célula estaminal progenitora e através de diversos estímulos e influência genética, estas células divergem em várias linhagens essenciais à sobrevivência do Organismo. Uma dessas linhagens torna-se fundamental para a primeira linha de defesa do organismo, a Imunidade Inata que reconhece os organismos patogénicos utilizando recetores que não exigem um rearranjo a nível genético para desencadear resposta inflamatória, citotóxica e de fagocitose (Solana *et al*, 2012).

O SI Inato é composto por granulócitos polimorfonucleares onde se incluem os neutrófilos polimorfonucleares, os basófilos e os eosinófilos, as células Natural Killer, os mastócitos, os monócitos e a sua forma mais madura, os macrófagos. Uma vez invadido o organismo por agentes patogénicos externos, como bactérias, vírus, parasitas ou fungos, um dos mecanismos de defesa ativado é denominado por fagocitose, sendo as primeiras células do SI Inato a atuar, os macrófagos e as células dendríticas. Com a sua capacidade de deslocação, estas são das primeiras células a entrar em ação através de recetores de membrana que interagem com péptidos ou carboidratos presentes nas paredes celular dos antígenos, iniciando o processo de fagocitose (Janeway C. *et al.*, 2005). A secreção de citocinas proinflamatórias, tais como a IL-6, TNF- α e a IL-8, atraem neutrófilos e células *Natural Killer*, iniciado o processo de Apresentação de Antígeno (Sambhara S. and McElhaney J., 2009).

Interessa referir relativamente à Imunidade Inata, a importância do Sistema Complemento como mecanismo de defesa. Este é composto por três vias: a Via Clássica, ativada por isótipos de anticorpos ligados a antígeno, é iniciada pela ligação da proteína C1 ao domínio C_H2 da IgG ou C_H3 do anticorpo IgM. A Via Alternativa, ativada através da proteólise da molécula C3 e ligação do seu produto C3b à própria superfície do patogénico sem a presença de anticorpo, e a Via da Lectina que se liga a resíduos de Manose presentes nos antígenos. Todas as vias desencadeiam uma cascata de reações que resultam na clivagem dos complexos C4b2a, na Via Clássica e na Via da

Lectina e, do complexo C3bBb, na Via Alternativa. A enzima C3 convertase cliva a proteína C3 em C3b e C3a, ligando-se a C3b aos primeiros complexos e contribuindo assim por sua vez, para a clivagem da molécula C5 pela C5 convertase, em C5b e C5a. A molécula C5b atrai em cascata as moléculas C6, C7 que ao formar um outro complexo ligam-se à camada lipídica da membrana celular do organismo invasor, tornando-se este recetor das moléculas C8 e C9, formando um poro na membrana, ou *Membrane Attack Complex* (MAC) semelhante ao formado pelo grânulo citolítico Perforina, destabilizando assim, o equilíbrio eletroquímico da célula invasora. Esta ao não possuir a proteína de membrana CD59 que protege as células do organismo contra a formação de MAC é suscetível ao mecanismo de ação do Sistema Complemento (Abbas A., Lichtman A. and Pillai S., 2012).

Por sua vez, a resposta do SI Adaptativo tem início aquando da fagocitose de um agente patogénico por uma célula dendrítica imatura num tecido infetado. Através deste processo, apresentam capacidade de limpeza do organismo, porém a sua principal função é como Célula Apresentadora de Antígeno (APC). Enquanto APC, tem por função processar o antígeno e transportá-lo para os órgãos linfóides onde se encontram os Linfócitos T e B (Janeway C. *et al.*, 2005).

Para que se proceda à apresentação do antígeno aos Linfócitos T, este sofre uma degradação nos fagolisomas das APC's em pequenos fragmentos que posteriormente irão ser apresentados, através de moléculas do Complexo de Histocompatibilidade de classe I ou classe II (MHC I ou MHC II), aos Recetores dos Linfócitos T (TCR). Uma parte inicial da interação, entre os Linfócitos T e as APC's, é assegurada por Moléculas de Adesão, como são exemplo as Moléculas de Adesão Intercelular, ICAM, que interagem com integrinas, como a *Lymphocyte Functional Antigen-1*, LFA-1 ou CD11a/CD18, sendo a interação rapidamente dissociada na falta de interação específica entre as células. Pode-se dizer que existem quatro fases na apresentação de antígeno: a adesão, a ativação, a co-estimulação e a sinalização através da produção de citoquinas. Sem a co-estimulação os Linfócitos T permanecem sem resposta. Os co-estimuladores mais importantes das APC's são da superfamília de imunoglobulinas B7, como é exemplo o B7-1, ou CD80, ou a B7-2, ou CD86, que se ligam aos recetores CD28 ou CTLA-4 expresso após a ativação CD28-B7. O recetor CTLA-4 possui na sua constituição, um denominado *Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif* (ITIM) que recruta inibidores das fosfatases (SHIP) que por sua vez, removem os grupos fosfatos das

tirosinas quinases da família Src - Fyn, Blk e Lyn - desencadeando um sinal negativo desativando os Linfócitos T. (Male D., *et al*, 2006). Relativamente ao MHC, as moléculas MHC-I apresentam os péptidos aos Linfócitos T CD8 e podem ser reconhecidas por recetores *Natural Killer*. Por sua vez, as moléculas MHC-II apresentam os péptidos aos Linfócitos T CD4, podendo estas ser encontradas nas Células Dendríticas, Macrófagos e Linfócitos B, inclusive (Arosa F. *et al*, 2007). A molécula MHC Classe I Não-Clássica, CD1, aparentemente reconhece antígenos próprios, e apresenta molécula lipídicas presentes em micobactérias, como a *Haemophilus influenza*, ou parasitas como o *Plasmodium falciparum* e o *Trypanosoma brucei* (Male D., *et al*, 2006). As moléculas de MHC são codificadas por um grupo de genes estáveis que não sofrem qualquer tipo de rearranjo, os isótipos resultantes do polimorfismo geneticamente herdado consistem numa diversidade composta por múltiplos alelos, resultando nos isótipos denominados *Human Leucocyte Antigen*, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F e HLA-G, de classe I e, HLA-DM, HL-DO, HLA-DP, HLA-DQ e HLA-DR, de classe II, codificados por largas centenas de genes de 3 regiões distintas do complexo HLA, no braço curto do cromossoma 6 (Parham P., 2009).

Os Linfócitos T *helper* secretam citocinas para a diferenciação e mudança de classe de Ig dos Linfócitos B que na forma de plasmócitos iniciam a secreção de anticorpos específicos – figuram 1 (Sambhara S. *and* McElhaney J., 2009).

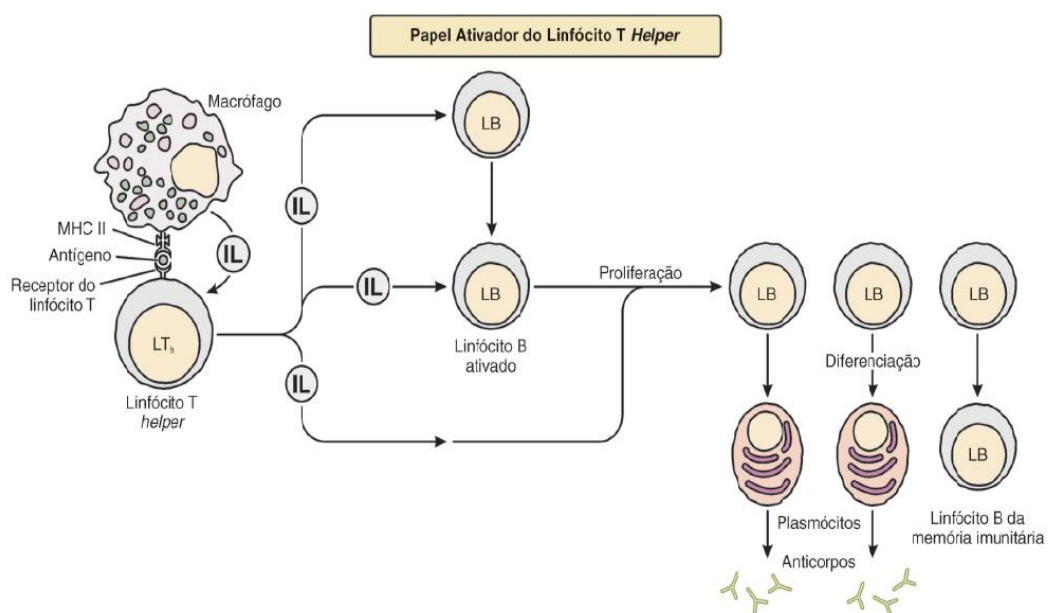


Figura 2. Ativação de Linfócito T *helper* pela apresentação de antígeno por um Macrófago. Fonte: Junqueira L. *and* Carneiro J., 2008.

Os linfócitos utilizam o sistema circulatório para migrar de um local para o outro, estando a grande maioria alojada nos tecidos e órgãos linfoides. Estes dividem-se em Órgãos Linfoides Primários, onde pertencem a Medula Óssea e o Timo e, Órgãos Linfoides Secundários, constituídos por Baço, Gânglios Linfáticos e Tecidos Linfoides associados a Mucosas (Arosa F. et al, 2007).

Na idade adulta é a Medula Óssea que funcionalmente participa na produção de células sanguíneas. Esta divide-se em medula óssea vermelha, onde se proliferam as células hematopoiéticas, e medula óssea amarela, constituída por células adiposas. A medula apresenta microrregiões onde as células encontram condições de diferenciação, contendo a matriz extracelular fibras de colagénio I e de reticulina, laminina e fibronectina e ainda, ácido hialurónico e sulfato de heparano. As células hematopoiéticas encontram-se principalmente no parênquima e as células como os macrófagos ou os capilares sinusoides encontram-se no estroma. Estas células hematopoiéticas incluem as células pluripotentes que como se pode ver no anexo I dão origem às restantes, incluído à linhagem mieloide e linfoide (Gonçalves C. and Bairos Vasco, 2007). A melatonina apresenta-se numa elevada concentração na medula óssea comparativamente aos seus níveis séricos, tratando-se de uma molécula que se acredita possuir propriedades protetoras do SI preservando a integridade deste sistema contra agentes oxidativos e verifica-se a sua capacidade de atrasar o dano ligado ao *stress* oxidativo em neutrófilos e linfócitos envelhecidos. Também foi demonstrada a sua capacidade inibitória de citocinas proinflamatórias tais como a IL-8 e o TNF- α . (Espino J., Pariente J. and Rodríguez A., 2012)

O Timo é um órgão linfoide central de diferenciação e maturação dos Linfócitos T localizado no tórax, por detrás do esterno e por cima dos grandes vasos. Possui dois lobos envolvidos por uma cápsula de tecido conjuntivo que se insere no interior dividindo o parênquima deste em lóbulos. Estes são formados por uma zona cortical mais periférica com grande número de Linfócitos e uma zona medular, mais central, onde se encontram os corpúsculos de Hassall, formados por células reticulares epiteliais (Junqueira L. and Carneiro J., 2008). A sua involução é apontada como a maior causa de envelhecimento e falta de respostas do Sistema Imunitário como é mais à frente abordado.

O Baço é um órgão linfoide secundário vascularizado que se divide em polpa vermelha, com grande quantidade de eritrócitos, células NK, macrófagos, plasmócitos e células do estroma, formando um rede reticular; e, polpa branca, que se divide em folículos e zona marginal, rica em Linfócitos B e bainha periarterial, por sua vez rica em Linfócitos T (Arosa F. *et al.*, 2007). Visualmente em estudos de dissecação nos ratinhos jovens, a zona marginal é aquela pela qual os antígenos presentes no sangue penetram no Baço, esta é uniforme e com uma aparência densa à volta da zona branca e dos folículos. Nos ratinhos idosos começam a evidenciar um desarranjo estrutural e redução das células fagocitárias tais como os Macrófagos da Zona Marginal (MZM) e os Linfócitos B da zona marginal, não havendo reposição destas. OS MZM são células com recetores de superfície, MARCO (*Macrophage receptor with collagenous structure*) que interage com bactérias como o *Staphylococcus aureus* e a *Escherichia coli*, assim como o recetor SIGN-R1, *grabbing nonintegrin receptor 1*, que se liga ao recetor capsular da *Streptococcus pneumoniae*. Respondem rapidamente a antígenos tais como o *T-independent*, o componente da vacina anti-pneumocócica, e a redução das MZM explica um aumento da suscetibilidade dos idosos para infeções provocadas por estes antígenos. A redução da CCL21, a quimoquina responsável pela chamada das MZM à Zona Marginal também se encontra reduzida nos ratinhos mais velhos. Outra característica é, o baixo nível de E2A e de IL-7, e ainda uma alteração evidenciada da difusão da MAdCAM1+, *mucosal addressin cell adhesion molecule 1* (Shirin Z. *et al.*, 2013).

Ao longo dos vasos linfáticos podemos encontrar os gânglios linfáticos, órgãos encapsulados constituídos por tecido linfoide. Por estes encaminha-se a linfa e são divididos em trabéculas demarcando o parênquima em compartimentos incompletos. Imediatamente abaixo da capsula encontra-se a zona cortical, dividida em superficial, onde se encontram os seios subcapsulares e peritrabeculares, assim como folículos linfáticos, e na região central, tem-se a zona medular, com cordões medulares onde se encontram os Linfócitos B, e o hilo, por onde saem os vasos eferentes (Junqueira L., *et al.*, 2008).

As barreiras fisiológicas protegem o organismo contra agentes patogénicos invasores. O epitélio da pele, a mucosa gastrointestinal, a mucosa respiratória e a mucosa urogenital previnem a colonização por estes microrganismos.

A pele apresenta uma capacidade contínua proliferativa das suas células epiteliais ou queratinócitos, diferenciando-se do interior para o exterior, onde formam após morte programada uma camada queratinosa protetora. Os próprios queratinócitos expressam inclusive recetores *toll-like* e são produtores de citoquinas, tais como a TNF, a IL-1, IL-6 e a IL-18, IL-10, CCL17; CCL20, CCL27 e GM-CSF, ativando a resposta imunológica proliferativa e inflamatória. As células imunológicas características da pele são os macrófagos e as células dendríticas de Langerhans que ao se ligarem ao patogénico perdem a sua adesão à epiderme, passam a expressar o recetor CCR7 e encaminham-se para os nódulos linfáticos para apresentar o antígeno aos linfócitos T. Estes também surgem na pele apresentando fenótipo de memória, sendo encontrados Linfócitos T *helper* e T reg, expressando muitos Linfócitos T intradermais no rato e no humano com o fenótipo T $\gamma\delta$ (Abbas A. *et al*, 2012). No entanto, com a idade, a renovação epitelial estende-se no tempo, a camada córnea avoluma, existe uma diminuição no número de células de Langerhans, a secreção de suor e sebo diminui conferindo à pele maior secura no idoso e evidencia-se uma diminuição da capacidade fagocitária dos macrófagos (Sambhara S. *and* McElhaney J., 2009).

As mucosas constituem uma barreira protetiva entre o sistema em contato com o exterior ou com produtos provenientes do exterior e o organismo tendo por isso um sistema imunitário muito próprio cujas superfícies se encontram banhadas com secreções aliada a uma flora saprófita também ela protetora nas regiões do intestino, colon, cavidade oral e nasal, assim como no trato reprodutivo da mulher. Existem portanto associado à proteção das mucosas um tecido linfático especializado denominado *Mucosa Associated Lymphatic Tissue*, MALT, coberto por células diferenciadas *microfold* ou M, que recolhem os antígenos do lúmen da mucosa intestinal e nasal e encaminham-nos por tráfego de encontro a Células Dendríticas e Macrófagos presentes desencadeando a resposta imunológica (McGhee J. *and* Fujihashi K., 2012). Podem-se dividir os Linfócitos T nestas regiões em dois tipos consoante o fenótipo do seu recetor *toll-like*, podendo ser então Linfócitos T $\alpha\beta$ que participam nas respostas convencionais contra os antígenos e, Linfócitos T com fenótipo TCR $\gamma\delta$, não

se ligando estes aos ligandos MHC-péptido normais e encontrando-se especialmente abundantes na mucosa oral. O anticorpo predominante trata-se da IgA, nomeadamente a IgA1 e a IgA2, encontrando-se na mucosa predominantemente na forma de dímero, sendo mais resistente que a sua homóloga plasmática que se encontra na forma de monómero (Janeway C. Jr., et al, 2005). Kobayashi A. *et al* (2012) demonstrou que a densidade das células M diminui com a idade nos ratinhos, a expressão aumentada de Spi-B e diminuída da quimoquina CCL20 leva a um enfraquecimento na maturação destas células e compromete a atração de Linfócitos B.

Uma absorção intestinal diminuída, como acontece na população idosa, pode levar à deficiência dos chamados micronutrientes essenciais. A deficiência de zinco demonstra efeitos negativos no sistema imunológico, nomeadamente uma redução do número de Linfócitos T *helper*, na atividade das células NK, hipoplasia dos tecidos linfoides e em casos extremos *acrodermatitis enteropathica*, causadora de atrofia do timo e grande suscetibilidade ao surgimento de infeções. O zinco é essencial para a transdução de sinal de diversas vias, nomeadamente a Lck, *Lymphocyte protein tyrosine kinase*, promovendo a sua ativação que por sua vez ativa os Linfócitos T CD8 e CD4 (Haase H. and Rink L., 2009).

3. Senescência da Imunidade Inata ou Natural

3.1. Células *Natural Killer*

As células NK são como linfócitos grandes e granulares (LGL, do inglês *Large Granular Lymphocyte*) citotóxicos contra células infetadas e tumorais, caracterizados pela expressão de CD56 e/ou CD16 provenientes de progenitores linfoides comuns aos Linfócitos B e T, diferenciam-se pela falta dos recetores BCR, CD3, TCR ou *Toll-like* (Gayoso I. *et al*, 2011; Camous X. *et al*, 2012). O processo de diferenciação das células NK nos locais de Inflamação nos tecidos periféricos e posterior regresso à corrente sanguínea pode ter início através da interação do recetor CD56, cuja isoforma 140 kDa também com o nome de NCAM interage com o recetor FGFR1 presente nos fibroblastos (Chan A. *et al* 2013).

As células NK consideram-se a primeira linha de defesa para a eliminação de células infetadas com vírus assim como células cancerígenas, atuando quando existe um

desequilíbrio entre os recetores inibitórios *Ig-like*, KIR – *Killer Cell Immunoglobulin-like receptor* - e LIR – *Leucocyte Inhibitory Receptor*, assim como nos recetores inibitórios Tipo C – Ly49 e CD94/NKG2A-B, e os recetores ativadores CD16, NKp46, NKp30 e NKp44, da família *Ig-like*, e CD94/ NKG2C-E e NKG2D, recetores lectinas tipo C (Camous X., *et al*, 2012). Estas células NK encontram-se divididas em dois grupos funcionais: as CD56*bright*, imunoreguladoras, com grande número de recetores de superfície CD56, e as CD56*dim*, com menor expressão de CD56, citotóxicas e em maior número, apresentando fenótipos diferentes, assim como diferentes funções e localizações a nível tecidual (Gayoso I. *et al*, 2011; Solana *et al*, 2012). O recetor CD16, é um recetor Fc IgG de baixa afinidade, e está associado ao imunoreceptor *tyrosine-based activation motif* (ITAM), estes em conjunto ativam a cascata para a produção de citocinas, IFN- γ , GM-CSF e diversas quimioquinas que causam a desgranulação das células NK. Sabe-se que a sua função e expressão não são afetadas pela idade (Gayoso I. *et al*, 2011). No entanto, existe uma redistribuição na sua população havendo um aumento das células CD56*dim*CD16⁺ citotóxicas e uma diminuição das células CD56*bright*CD16⁻, imunoreguladoras, mais imaturas do que as primeiras (Camous X., *et al*, 2012). As células CD56*dim*CD16⁺ exibem telómeros mais curtos do que as segundas revelando um nível de diferenciação mais avançado (Chan A. *et al*, 2013). Células CD56⁻CD16⁺ representam uma pequena percentagem de células presentes em infeções crónicas tais como Hepatite C e VIH (Solana *et al*, 2012). Verifica-se também nos recém-nascidos uma alta expressão de CD94/ NKG2A até ao estado adulto onde se dá uma diminuição da expressão deste recetor e um aumento do recetor KIR. O recetor CD94/ NKG2A está relacionado com o reconhecimento de HLA-E e de KLRG1, coordenador de respostas inibitórias, em indivíduos com mais de 60 anos de idade, afetando a capacidade das Células NK de mediar a Lise de Células Infetadas (Hayhoe R. *et al*, 2010).

Le Garff-Tarvenier M. *et al* (2010) conduziu um estudo bastante acessível sobre o fenótipo e mudanças funcionais das Células NK humanas realçando que estas numa população muito jovem apresentam características de imaturidade tais como a baixa expressão de LIR-1/ILT-2, aumentando posteriormente com o avançar da idade, alcançando o dobro do valor em idosos do que aquele verificado em adultos numa faixa etária compreendida entre os 18 e os 60 anos de idade. Podendo este recetor ser induzido através da citocina IL-15. Outra característica é a expressão do recetor CD69 que aumenta com a idade e a capacidade de produzir INF- γ que se encontra ligeiramente

afetada. Uma observação importante deste estudo foi a verificação de que a capacidade da função das Células NK é recuperável através da indução por IL-2 (Le Garff-Tarvenier M. *et al*, 2010). A produção de IFN- γ , TNF- α e IL-12 encontra-se diminuída com a idade contribuindo para uma pior resposta dos Linfócitos T. A citotoxicidade das células NK demonstra melhoria através da administração de hormonas tiroideias, T3 e T4, melatonina, hormona de crescimento, *insuline growth factor 1* (IGF-1) e zinco (Mahbub S., Brubaker A. and Kovacs E., 2011).

Importa distinguir as células NK dos Linfócitos T NK provenientes de Linfócitos T, cuja perda do recetor CD28, ligada a uma mudança de fenótipo nos recetores da sua superfície levam a aquisição de características das Células NK, nomeadamente o surgimento de recetores CD158B1, CD158K, CD94 e CD244 (Hohensinner P. *et al*, 2011). Como demonstra a figura 2, os Linfócitos T NK expressam recetores típicos NK e TCR, apresentam atividade antiviral e antitumoral e, ainda apresentam uma subpopulação iNKT com o recetor CD1d produtora de IL-17a que reconhece antígenos com propriedades lipídicas (Mahbub S. *et al*, 2011).



Figura 2. Esquema representativo das alterações sofridas pelos Linfócitos T e surgimento de recetores NK-like. Adaptado de Moro-Garcia M. *et al.*, 2012.

3.2. Células Dendríticas

As Células Dendríticas podem ser divididas em Plasmacitoides, DCp, ou Mieloides, DCm e, são importantes Apresentadoras de Antígeno do Complexo Major de

Histocompatibilidade, patrulhando enquanto imaturas os tecidos periféricos, e aquando da maturação, após o reconhecimento de agentes externos, desenvolvem então a expressão do recetor CCR7 e encaminham-se para os Nódulos Linfáticos (Osterlund P. *et al*, 2005). Células Dendríticas expressam o recetor CD123 específico da Interleucina 3 e apresentam uma capacidade de produzir rapidamente IFN em resposta a infeções através da transcrição de níveis elevados do fator IRF-7. Apresentam uma resposta imunitária eficaz contra agentes patogénicos externos, nomeadamente vírus, apesar do seu fraco poder fagocitário, através de Recetores *Toll-like*, TLR7 e TLR9, regulando a expressão citotóxica dos Linfócitos CD8, assim como a sua secreção de IFN- γ , tanto destes como dos Linfócitos CD4 (Sridharan A. *et al*, 2011). As Células Dendríticas expressam uma morfologia de membrana típica com recetores de classe II HLA, CD1a, CD11c, CD54, CD80 e CD86, e são produtoras de IL-12 e TNF- α , não existindo uma diferença substancial na resposta a um estímulo proliferativo seja na população jovem humana quer na população idosa (Shurin M., Shurin G. & Chatta G., 2007).

A sua resposta a vírus reflete-se na síntese de IFN- α e IFN- β e citocinas do tipo I IFN-like, IL-28 A, ou IFN- λ 2 IFN- λ 3, e B e IL-29, ou IFN- λ 1, que restringem a replicação viral e protegem células não infetadas. Porém, denotou-se uma ineficácia do Vírus Influenza em induzir eficazmente a maturação das DCm, verificando-se uma maior resposta das DCp em produzir IFN. Este vírus apresenta uma proteína não-estrutural NS1 que bloqueia a ativação do fator de regulação 3 e ainda interfere com o correto processamento do pré-ARNm da célula. No entanto, o pré-tratamento com IFN- α e IFN- β demonstrou ser eficaz no aumento de expressão dos genes que codificam os respetivos IFN, assim como as citocinas, os Recetores *Toll-like* e os fatores de regulação. (Osterlund P. *et al*, 2005) Agrawal A. *et al* (2013) comparou as diferenças nas células dendríticas entre idosos e indivíduos jovens, chegando à conclusão de que não existe em termo de número, de diferenciação e de maturação uma diferença substancial. Não obstante, revelou-se um aumento da secreção de TNF- α e de IL-6 nos indivíduos idosos, sem alteração das restantes citocinas estudadas, a IL-12p40, a IL-12p70 e a IL-10 em resposta à estimulação do TLR, pensando-se que se trata de um processo de sinalização intracelular destes recetores. Esta sinalização destes recetores é feita por proteínas quinases que levam à ativação do fator regulatório do IFN e da família fator nuclear *kappa* B (NF- κ B) que por sua vez induzem a regulação dos genes reguladores dos TLR (Sirén J. *et al*, 2013). O fator de transcrição NF- κ B regula os processos inflamatórios através de moléculas tais como as citocinas,

metaloproteínas, moléculas de adesão e a ciclo-oxigenase 2 (COX₂), sendo esta ativada pela P13K/Akt, pela *mitogen activated protein kinase* (MAPK) e ela própria por citocinas (Macaulay R., Akbar A. & Henson S., 2012). O NFκB liga-se e é negativamente regulado pelo inibidor *kappa* B no citoplasma, este ao ser inibido por fosforilação através de estímulo inflamatório permite a ativação da translocação para o núcleo do NFκB e sua consequente transcrição. Assim, é induzido um aumento da proliferação celular, são induzidas também alterações a favor de tumorigênese, ativação de fatores de crescimento endotelial e as células a tornarem-se resistentes à apoptose por inibição de proteínas apoptóticas 1 e 2 (Shetter A., Heegaarg N. and Harris C., 2009). Com a idade a atividade das células dendríticas encontra-se diminuída devido a perda do recetor CD28 e diminuição da fosforilação da proteína quinase Akt (Macaulay r. *et al*, 2012).

3.3. Monócitos e Macrófagos

Os Monócitos, assim como os Neutrófilos e os Eosinófilos apresentam uma característica fagocitária conduzida por sistemas de recetores apresentados no Anexo II, elaborado por Dale D., Boxer L. e Liles W. (2008) entre os quais se encontram a família dos recetores *toll-like*. Estes elaboram um sinal utilizando a proteína MyD88 ou a via TRIF que ativam o NF-κB e estimulam a produção de citocinas pró-inflamatórias (Dale D., Boxer L. & Liles W., 2008). Os monócitos podem ser divididos em clássicos com o fenótipo CD14⁺⁺CD16⁻, intermédios, CD14⁺⁺CD16⁺ e não clássicos CD14⁺CD16⁺⁺. As mudanças associadas à idade nos três fenótipos resumem-se a um aumento da expressão de CD11b, associado a um aumento de formação de placas ateroscleróticas nos ratinhos. Uma redução de CD62L também se evidencia como uma alteração de fenótipo com a idade, sendo este ligando responsável pela adesão dos monócitos a células endoteliais, estando assim a sua migração afetada. Uma redução do CD115 e na expressão de TLR3 nos monócitos clássicos, e um aumento de CXCL10 no plasma está associado a um aumento de IFN-γ (Hearps A. *et al*, 2012).

Os Macrófagos têm como precursores os Monócitos e são de máxima importância na medida em que limpam o organismo das células apoptóticas. Podem ser ativados pela via clássica, M₁, ou pela via alternativa, M₂, influenciando a sua interação respetivamente com os Linfócitos Th₁ ou Th₂ conforme a via de ativação optada. Como se pode ver na figura 3, os Monócitos M1 caracterizam-se pela produção de

citoquinas pró-inflamatórias tais como a IL-6, TNF- α , IL-12 e a IL-1 β , por sua vez, os Monócitos M2 apresentam um fenótipo anti-inflamatório sob a estimulação com IL-13 e IL-4 por si só, ou associadas a IL-10, produzindo esta mesma e IL-1RA, antagonista do recetor da IL-1 (Beenakker K. *et al.*, 2013). Os Monócitos expressam de recetores CD4 e CD16 diferenciais, em que existe a presença da expressão de CD62L, CD64 e CCR2 em células com o fenótipo CD14⁺CD16⁻ e a expressão de CX3CR1 nas células CD14^(low)CD16⁺. Com o avançar da idade denota-se um aumento da produção de prostaglandina E2 cuja expressão inibe a expressão de moléculas de MHC II e a produção de IL-12 (Solana R. *et al*, 2012). Pinke *et al* (2013) concluíram após a medição *in vitro* de citoquinas em duas populações, uma jovem e outra idosa, que os monócitos sofrem mudanças com a idade. Em indivíduos com mais idade evidenciou-se um aumento de TNF- α , relacionando-a ao desenvolvimento de inflamação, carcinogénese e doenças autoimunes, tal como a artrite reumatoide, e a da proteína quimioatrativa de monócitos 1 (MCP-1) como resposta ao estímulo inflamatório, estando relacionada com a preservação de população de células T e progressão de arteriosclerose, também existe evidência de uma diminuição da TGF- β , uma citoquina com ação anti-inflamatória. Concluiu-se também que as células linfocitárias possuem um efeito imunomodulador, tanto no grupo jovem como no grupo idoso, no entanto sob a estimulação com LPS denotou-se uma perturbação em ambos os grupos, denotando-se a sobreprodução de IL-6, IL-1 β , MCP-1 e IL-10, e um decréscimo da TGF- β (Pinke *et al*, 2013). Os Macrófagos apresentam uma capacidade diminuída de produzir reagentes oxidativos com a idade. A atividade da Ciclo-oxigenase 2 (COX-2) encontra-se amplificada o que conduz a alterações no metabolismo do ácido araquidónico conduzido a estados de inflamação crónica (Albright J. *and* Albright J., 2003).

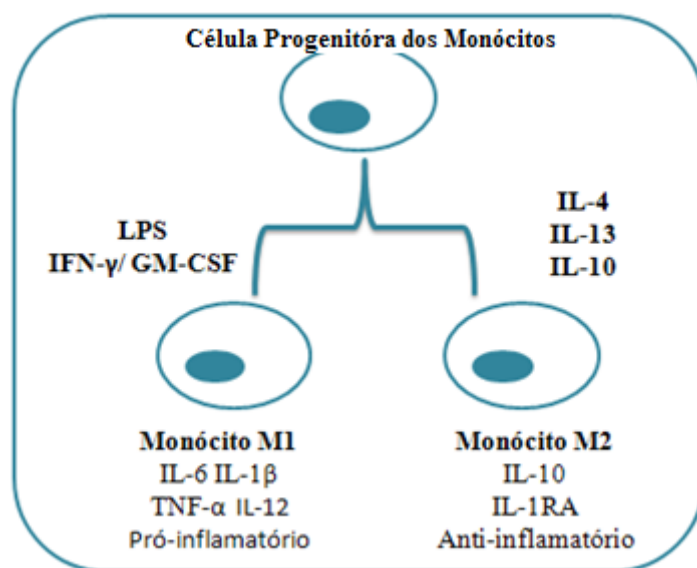


Figura 3. Esquema da diferenciação dos Monócitos em M1 e M2. Adaptado de Beenakker K. *et al.*, 2013

3.4. Neutrófilos

Neutrófilos ou Linfócitos Polimorfonucleares são células granulocíticas pós-mitóticas com um tempo de semivida de 12 a 18 horas produzidos na medula óssea. A sua resposta com a idade difere se estiver em discussão a diferença entre bactérias Gram⁻, tal como a *E. Coli* cujo recetor envolvido, o CD14, se liga ao Lipopolissacarido, e bactérias Gram⁺, dependentes do Sistema Complemento, e este sim afetado com a idade ao contrário do primeiro (Butcher S. K. *et al*, 2001). Os Neutrófilos atuam como primeira linha de defesa dentro da Imunidade Inata induzindo a maturação das Células Dendríticas que por sua vez irão diferenciar os Linfócitos T em Th1 ou Th2. São também descritos como legionários podendo afetar colateralmente os tecidos na sua luta contra partículas infecciosas e apresentam capacidade apresentadora de antígeno expressando recetores MHC II. Podem ainda ser divididos em Grânulos Peroxidase Positivos ou Azurofílicos e Grânulos Peroxidase Negativos (Kumar V. *and* Sharma A., 2010). Dale D. *et al.* (2008) através de Klebanoff (1968) faz referência à importância das enzimas NADPH oxidase e mieloperoxidase - esta última libertada dos grânulos durante a fagocitose - como produtoras de hidróxido de hidrogénio nos neutrófilos conferindo-lhe propriedades anti-inflamatórias. Uma característica da senescência dos neutrófilos é o decréscimo da efetividade da fagocitose com a idade, sendo a fusão do fagossoma com as vesículas de modo a formar o fagolisossoma essencial para a sua

correta ação. Uma vez que o nível elevado de Ca^{2+} livre no citosol é essencial para a fusão destes, a diminuição do seu influxo é crítica para o correto funcionamento dos neutrófilos. Pensa-se que esta diminuição estará relacionada com deficiências da via de inositol-fosfolípido originada com alterações na composição da própria camada lipídica das membranas celulares (Albright J. *and* Albright J., 2003).

3.5. Mastócitos

Os Mastócitos são células residentes dos tecidos em contato com alérgenos externos como é o caso da epiderme, o trato respiratório e a mucosa gastrointestinal. Chatterjee V. e Gashev A. (2012) demonstraram uma subida no número total de mastócitos de 27% em ratinhos com 24 meses, considerados idosos, com um aumento de aproximadamente 400% da sua ativação no tecido mesentérico. Sendo células de primeira linha de defesa, produtoras de mediadores vasoativos e promotores da inflamação, tais como a serotonina, leucotrienos B4 e C4, assim como de tromboxano A2 e histamina, sendo esta, um potente modulador dose-dependente da contratilidade do sistema linfático que com o envelhecer perde o seu dinamismo, podendo criar situações de edema (Chatterjee V. *and* Gashev A., 2012). Expressam ainda, os recetores IL-3R, c-KIT, Fc γ III e Fc ϵ RI - recetor de alta afinidade à IgE - e através destes, estão associados a imunorespostas relacionadas com esta imunoglobulina. Contendo no seu interior heparina, as suas principais funções resumem-se a desgranulação como, por exemplo, de proteases, triptases e quimases, transcrição de genes e produção de eicasinóides. Considerados como efetores críticos de reações inflamatórias, qualquer alteração na célula pode ter graves consequências de hipersensibilidade, como é o caso da reprogramação induzida pela idade da sua desgranulação coordenada pela Prostaglandina E2, PGE₂. Estão associados a doenças como a asma, alergias, arteriosclerose e doença isquémica coronária, entre outras (Grizzi F. *et al*, 2013).

4. Stress Oxidativo

A mitocôndria é um organito presente nas células animais que possui o seu próprio ADN mitocondrial circular de dupla cadeia, *ADNmt*, com 16 569 pb que codifica 13 subunidades de proteínas ligadas à cadeia respiratória e 24 componentes de ARN necessários à síntese de proteínas mitocondriais, não desfazendo a grande maioria das proteínas mitocondriais produzidas também pelo ADN nuclear (Trifunovic A. and Larsson N., 2008). É sabido que o número de mitocôndrias assim como o número de cópias de ADN mitocondrial e respectivos níveis de proteínas decresce com a idade. As próprias mitocôndrias começam a apresentar uma forma arredondada e, embora não seja notada uma alteração na atividade nos complexo II, III e ATP Síntase, os restantes complexos, I e IV, apresentam uma diminuição na sua atividade (Bratic A. and Larsson N., 2013). A mitocôndria apresenta como sua principal função a produção de energia na forma de ATP para possibilitar às células o seu normal funcionamento. Este processo de fosforilação oxidativa conduzida por quatro complexos e a ATP Síntase presentes na membrana interna mitocondrial conduz à formação de produtos, tais como radicais livres, capazes de induzir *stress* oxidativo (Bratic A. and Larsson N., 2013). A Teoria do Envelhecimento através de Radicais Livres associa a degeneração a efeitos prejudiciais de espécies de oxigénio reativas produzidas na Cadeia de Transporte de Eletrões que induzem dano nos lípidos, nas proteínas e nos ácidos nucleicos das células provocando uma cascata de disfunções culminando em mutações do ADN, resultando no processo de Envelhecimento e em último caso, em Doenças Degenerativas (Trifunovic A. *et al*, 2005). Não obstante, as células aeróbias apresentam mecanismos de defesa na forma de enzimas antioxidantes que metabolizam estas moléculas reativas sendo exemplo a Superóxido Dismutase (SOD), a Glutathione Peroxidase e a Catalase. Curiosamente a atividade das duas últimas aumenta com a idade enquanto que a atividade da SOD sofre uma diminuição (Espino J. *et al*, 2012). O próprio ADN mitocondrial é bastante sensível ao dano oxidativo, e consequentemente suscetível a mutações devido à sua proximidade com o local de produção de radicais livres e falta de histonas protetoras. A mitocôndria também revela um papel na hemóstase do cálcio, sendo verificado aquando da administração de um inibidor de troca iónica de cálcio, os níveis de espécies radicalares oxidativas a diminuírem consequentemente, verificando o seu aumento novamente com a entrada de cálcio citolósico (López-Armada M., *et al* 2013).

Neutrófilos, Macrófagos, Células Dendríticas e Monócitos libertam espécies reativas como forma de combater microrganismos invasores. Este mecanismo envolve uma escala de reações entre as quais: a conversão catalítica de O₂ no seu radical superóxido através do complexo NADPH, sendo depois convertido em H₂O₂ pela Superóxido Dismutase, posteriormente é então convertido em radicais livres reativos, ·OH e H·. De seguida a enzima Mieloperoxidase, apenas presente no sistema imunitário inato, converte estes radicais em Peroxinitrito, na presença de NO, ou Hipoclorito, na presença de Cl⁻ (Cannizo E. *et al*, 2011). Os reagentes oxidativos induzem a cascata de transdução de p53 e p16^{INK4A}-RB conduzindo as células ao fenómeno de senescência (Kuilman T. *et al.*, 2010). O complexo NADPH representado na figura 4 reduz o oxigénio a superóxido, catalisando uma subida abrupta na formação de superóxidos após fagocitose por macrófagos logo a seguir a uma ativação através do recetor FcR. A sua ação é inativada pelo inibidor MAPK p38 que induz a translocação de p47 e Rac através da membrana, bloqueando a ativação da Rac (Park J., 2003).

Classificam-se como *Damage-associated Molecular Patterns*, DAMP's, as moléculas capazes de induzir resposta inflamatória como consequência de dano celular. Tem-se atribuído o surgimento de algumas destas moléculas às mitocôndrias. Estas moléculas capazes de ativar APC's induzem a produção de IL-1β, IL-6, MCP-1 e TNF-α como forma de ativação de inflamassomas pela via NLRP3. Podem inclusive, desencadear autofagia como forma de tentar controlar uma infeção em resposta a um *stress* de privação, tal como hipoxia ou má-nutrição. (López-Armada M. *et al*, 2013)

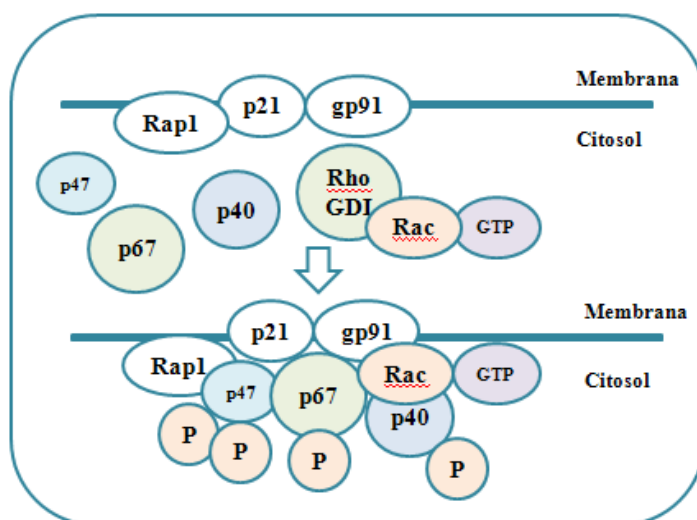


Figura 4. Ativação do Complexo da NADPH Oxidase. Adaptado de Park J., 2003.

5. Inflamação Crónica

O processo de Inflamação caracteriza-se por uma resposta localizada com consequências sistémicas e é desencadeado por um trauma ou uma infeção, procurando destruir ou reduzir o agente causal e o tecido lesado, levado a cabo por um grupo de citocinas pro-inflamatórias e mediadores do Sistema Imune Inato (Candore G. *et al*, 2010). A uma desregulação dos mecanismos inflamatórios e anti-inflamatórios, provocando um estado de inflamação crónica de baixa intensidade que se manifesta com a idade foi denominado com o termo anglo-saxónico de “*Inflaming*”, caracterizado por um aumento de mediadores inflamatórios como as citocinas e proteínas de fase aguda (Frasca *et al*, 2012). Embora uma inflamação bem estabelecida no tempo e no espaço possa ser benéfica para o organismo, a sua forma crónica pode predispor as células para uma transformação oncogénica, provocando instabilidade genómica, elevação de angiogénese, produção aberrante de citocinas e fatores pró-inflamatórios, aumento de COX-2 e de fator *kappa* B nuclear, NFκB, entre outros. Considera-se a inflamação crónica como causa *major* de cancro, existindo casos bastante conhecidos como o carcinoma hepatocelular provocado pela infeção crónica que tem como origem o vírus da Hepatite B e da Hepatite C. Outros exemplos, tratam-se do cancro do estômago provocado pela gastrite crónica com origem na colonização por *Helicobacter pylori*, o cancro da bexiga provocado por *Schistosoma hematobium*, e as mais conhecidas fibras de asbesto do fumo do tabaco (Schetter A. *et al*, 2009).

No anexo III apresenta-se um resumo de biomarcadores de senescência identificados em lesões neoplásicas associados a dano genético e induzidos pelo *stress*. O cancro pode ser definido como a doença da velhice devido à sua cada vez maior incidência com o aumentar de esperança média de vida e exposição a fatores de *stress* ou ambientais desencadeantes. A enzima Telomerase oferece às células, incluindo as células somáticas, uma capacidade de potencial imortalidade observada em cerca de 80 a 90% dos casos de cancro, tornando-se num biomarcador desta enfermidade, não se expressando ou expressando-se pobremente nas células somáticas normais (Mazzola P. *et al.*, 2012).

6. Fenótipo Secretório Associado à Senescência - SASP

A Senescência é tida como um fenómeno de progressivo encurtamento dos telómeros a cada divisão celular, desencadeando respostas uma vez o dano no ADN, quando se chega a um estado crítico e limitativo da proliferação celular ou em resposta a *stress* oxidativo conduzindo a célula a apoptose ou a um estado de Senescência Replicativa (Priour A. *and* Peeper D., 2008). Refere-se a um estado irreversível de cessamento de proliferação celular embora ainda metabolicamente ativa seguida de um estímulo em resposta a condições pré-malignas desencadeando um mecanismo anticancerígeno. O relaxamento da cromatina pela histona deacetilase leva a um acordar de genes supressores de tumores, assim como de proteínas que ativam a senescência celular. Pode ser considerado como um marcador de senescência a expressão de β galactosidase associada a senescência, SA β -gal, marcador de uma atividade lisossômica aumentada. Outro marcador será a proteína supressora de tumor p16^{INK4a} que ativa o gene retinoblastoma, Rb, cuja função principal será de reprimir a transcrição de genes que induzem a entrada da célula na fase S do ciclo celular (Penfield J. *et al*, 2013). Considerado como um sistema evolutivo contra o cancro na idade jovem adulta, com a idade considera-se que o Fenótipo Secretório Associado à Senescência, SASP, é paradoxalmente o principal condutor para uma inflamação crónica, nomeadamente no tecido adiposo, através das suas proteínas TNF- α , IL-6, MCP-1 e proteínas ligantes IGF, IGFBP (Tchkonia T. *et al.*, 2013). O TNF- α está associado a uma perda de força muscular uma vez que estimula o decaimento proteico nas células do tecido muscular, induz a produção de IL-6 que por *feedback* negativo inibe a expressão do gene TNF (Schaap L. A. *et al*, 2009). Por sua vez, a citocina IL-6 promove a produção de Proteína C Reativa que corrobora o risco de uma futura doença cardiovascular (Kiecolt-Glaser J. *et al*, 2003). Laberge R. *et al.* (2012) demonstraram o efeito da redução da secreção de IL-6 através da administração de cortisol e de corticosterona, apresentando a primeira um efeito mais acentuado do que a segunda. A administração destes glucocorticoides também suprimiu a produção de IL-8, GM-CSF, MCP-2 e de IL-1 α . Esta última citocina ativa o recetor IL-1R desencadeando a cascata NF- κ B e através de um efeito de *feedback* positivo produzindo-se mais IL-1 α . O aumento de TNF- α , IL-6 e IL-1 está relacionado com uma declínio cognitivo e risco de doença de Alzheimer, aumento de atividade protrombótica, menor capacidade gástrica, reabsorção óssea, diminuição de osteoblastos e aumento de stress oxidativo (Michaud M. *et al.*, 2013).

Kuilman T. *et al.* (2010) na sua revisão descreve a senescência celular como «uma perda a longo termo de capacidade proliferativa apesar de uma viabilidade e uma atividade metabólica continuada». As células apresentam formas características distintas consoante o fator desencadeador da senescência. Células planas estão associadas à indução pelo gene oncogénico H-RAS, causa de hiperproliferação e, células em forma de fuso devem-no à expressão de BRAF ou ao silenciamento por parte do gene p400. O oncogene *rat sarcoma*, RAS, após mutação torna-se dominante e induz proliferação celular, crescimento tumoral e angiogénese, sendo estes dois últimos induzidos pela quimiocina IL-8 cuja expressão é induzida por este oncogene, assim como a expressão de IL-6 e IL-11 (Freund A. *et al.*, 2011).

A transdução de sinal do gene p53 - sendo a p16^{INK4A} um dos seus ativadores - e do p16^{INK4A}-RB medeia a ativação da senescência das células, existindo acumulação de p21^{CIP1} e p15I^{NK4B}. O gene p53 medeia sinais emergentes de uma ativação oncogénica, disfunção de telómeros, espécies reativas de oxigénio e dano de ADN. (Kuilman T. *et al.*, 2010) Este gene suprime a tumorigénese e limita o desenvolvimento de um ambiente pró-inflamatório limitando a SASP. Sabe-se que o gene p53 inibe a SASP contendo a ativação da *mitogen-activated protein kinase*, MAPK p38 que por sua vez regula a SASP através da via de transcrição NF-κB (Freund A. *et al.*, 2011). Os fatores de crescimento *insulin-like* ligantes à proteína 3 e 5, IGFBP3 e IGFBP5, estão associados a uma regulação da atividade do gene p53, contribuindo para a diminuição da proliferação celular (Kuilman T. *and* Peeper D., 2009). Os genes supressores de tumores e os seus respetivos produtos podem conter uma resposta farmacológica na regressão de cancros. Uma vez que a inativação continuada do p53 é necessária para a manutenção e sobrevivência do tumor, este gene promove a senescência ao ativar genes que inibem a proliferação celular, tais como o p21/Cip1/Waf1 e o microARN miR-34. A sua mutação leva um aumento da proliferação e promoção de instabilidade genómica e inclusive pode levar a uma resistência a fármacos quimioterapêuticos (Penfield J. *et al.*, 2013).

A expressão de p19^{ARF} tem um lugar dominante como marcador de Imunosenescência, enquanto que o gene Arf atua como supressor tumoral nos ratinhos (Kuilman T. *et al.*, 2010). Baker D. *et al.* (2012) conduziram um estudo em que demonstraram uma correlação entre o gene p16^{INK4a} e a sua deleção com o atraso de patologias teciduais que se acumulam nas células com a idade, medindo-o através da ativação de PPAR γ e submetendo as células dos ratinhos a uma senescência forçada através do uso de rosiglitazona. Teyssier J.R. *et al.* (2012) por sua vez fizeram uma

pesquisa procurando relacionar genes implicados na disfunção de telômeros e consequente senescência correlacionando-os com desordens depressivas major. Concluíram pois que o gene $p16^{INK4A}$, *stathmin* (STMN1) e *telomerase reverse transcriptase* (TERT) estão presentes em mulheres que padecem desta condição. O gene $p16^{INK4A}$ faz parte do locus CDKN2A que se encontra envolvido no controlo do ciclo celular como supressor tumoral inibindo a fase S. O STMN1 codifica a molécula estamina que regula sinais do ambiente celular, regulando a formação de microtúbulos, encontrando-se altas concentrações de estamina em células pré-senescentes e aquando a sua submissão a radiações gama. Também foi relacionado um aumento da molécula 8-hidroxi-29-deoxiguanina com a prevalência da patologia depressiva crónica. Esta molécula é clivada pela proteína expressada pelo gene OGG1, uma vez que se acumula nas repetições TTAGGG dos telômeros devido a ação de radicais livres provocando uma rutura no ADN e consequente erosão telomérica (Teyssier J.R. *et al*, 2012). Como demonstra a Figura 5, os mecanismos cima enumerados levam ao surgimento da SASP levando a uma condição de inflamação crónica, como consequência do dano do DNA que por sua vez altera o correto funcionamento celular, potenciando o efeito de Imunosenescência.

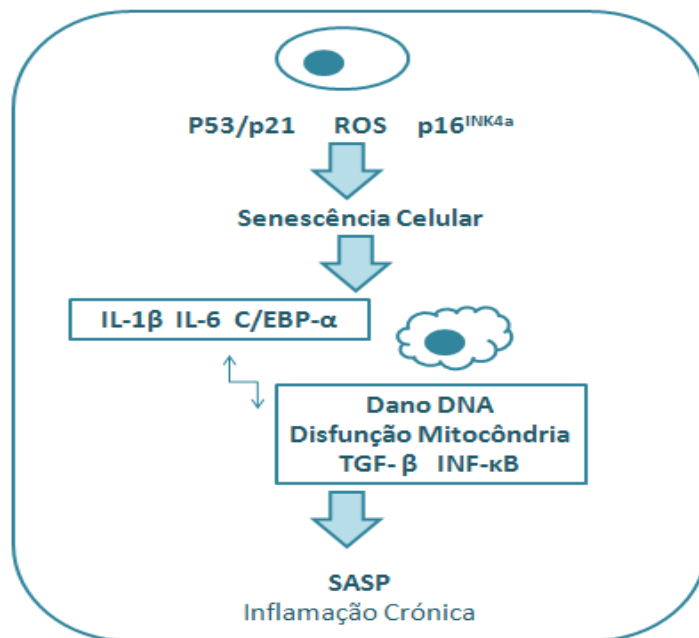


Figura 5. Mecanismo para a Indução de SASP. Adaptado Tchkonina T. *et al.*, 2013

7. Senescência da Imunidade Adaptativa

É necessário o equilíbrio entre a Hemóstase e Adaptação a fatores de *stress* externos criando no organismo uma memória imunológica. (Le Sauz *et al*, 2012). O SI Adaptativo depende da sua capacidade de reconhecer um epítipo presente na superfície celular de qualquer agente patogénico através dos recetores dos Linfócitos T (Johnson L. F. P *et al*, 2012). A função dos linfócitos T decai com a idade levando a uma maior suscetibilidade dos idosos a infeções e uma maior prevalência de cancro (Tatari-Calderone Z. *et al*, 2012).

A produção de Linfócitos a partir de um progenitor não-diferenciado dá-se nos Órgãos Linfóides, sendo exemplo destes a medula óssea, onde maturam os Linfócitos B e o timo, onde maturam os Linfócitos T. Consideram-se os gânglios linfáticos, o baço e os tecidos linfóides associados às mucosas, Órgãos Linfóides Secundários, onde se encontram os Linfócitos T *naïve* e o antigénio (Arosa F. *et al*, 2007).

7.1. Involução tímica

Os Linfócitos T migram da medula óssea para o timo onde sofrem maturação. As células T ao passar pelo timo desenvolvem o seu fenótipo sofrendo então uma seleção onde as células auto-reativas são induzidas a uma morte programada, ou apoptose, sendo as restantes células libertadas para a periferia como células auxiliares (ou *helper*) Th *naïve*, CD4, ou células citotóxicas, CD8 (Gruver A. *and* Sempowski G., 2008). O timo desenvolve-se com a idade até à puberdade, altura em que se inicia a sua retração quer em tamanho quer em função (Appay, Sauce & Prelog, 2010). Nos ratinhos a involução tímica demonstra-se dependente de condição genética mapeada no cromossoma 4 e denominado *Til* idêntico ao gene *Tb2rl*, também no cromossoma 4, que regula a transcrição de TGF- β , um regulador da resposta proliferativa de células progenitoras estaminais (Kumar R, Avagyan S. *and* Snoeck H., 2010). A exposição a um nível basal de um padrão de moléculas associadas a um agente patogénico, PAMP's, conduz à involução tímica. Os MicroARN modulam a produção de proteínas a partir de ARNm provocando a sua destabilização e inibição de translação, regulando o sinal de exposição a PAMP's nos monócitos e células dendríticas. O MicroARN miR-29a

demonstra uma função protetora da arquitetura tímica, limitando a expressão de IFNAR1, que forma uma das duas cadeias dos recetores dos IFN, e diminuindo a sensibilidade a PAMP's, conservando o correto funcionamento do timo (Papadopoulo A. *et al*, 2013). A diferenciação de células progenitoras da medula óssea no microambiente do timo (Chinn I. *et al*, 2012) perfaz 50% do total da resposta proliferativa, sendo maior nos primeiros anos de vida e começando a declinar após a puberdade com a involução deste, cujas células, os timócitos, começam a biotransformar-se em adipócitos ocupando o espaço perivascular (Le Sauz *et al*, 2012), como está demonstrado no resumo das características da figura 6.

As células mesenquimais do timo apresentam um potencial de se diferenciar em adipócitos marcado pelo fenótipo PDGFR- α e PDGFR- β . Células PDGFR- α expressam um fator de transcrição *gama peroxissoma proliferator activated receptor* PPAR γ que induz adipogénese ectópica nomeadamente na medula óssea e no próprio timo (Dixit V, 2010). O PPAR γ em resposta a um balanço energético positivo crónico leva a uma diferenciação dos fibroblastos em adipócitos no tecido adiposo branco, é também necessário para a indução de sensibilidade à insulina necessária à Adipogénese. Na Medula Óssea a restrição calórica, definida com uma redução de 30 a 50% das calorias ingeridas, (Dorshkind K., Montecino-Rodriguez E. & Signer R., 2009) reduz o tamanho dos adipócitos mas não previne a sua formação, esta redução leva a um aumento da eficácia do metabolismo, assim como a um aumento da sensibilidade à insulina (Yang H. *et al*, 2009). A presença de adipócitos no Timo está ligada ao decaimento da produção de Linfócitos T *naive*, estando a expressão do gene ubiquitário Axin, especialmente nos fibroblastos do Timo, assim como nas Células Epiteliais Tímicas (TEC), ligada ao aumento de adipócitos e à redução da Timopoiese (Yang, *et al*, 2009). Yang *et al*, 2009, demonstraram que a Restrição Calórica prevenia um aumento da expressão do gene Axin provocada pela idade e inclusive estimulava a Ghrelina que pode reverter uma involução tímica. A Ghrelina trata-se de um péptido produzido predominantemente no estômago em resposta a um balanço energético negativo que inibe citocinas pró-inflamatórias num mecanismo dependente do Recetor Secretagogo da Hormona de Crescimento, GHSR (Youm Y. *et al*, 2008). A sua expressão declina com a idade e Youm Y. *et al* (2008) verificaram que a sua suplementação em velhos ratinhos inibia a expressão adipocítica das células do parênquima do timo, enquanto que ratinhos cuja expressão de Ghrelina foi anulada apresentavam um aumento do número de adipócitos e uma aceleração da involução do

timo. Outro estudo conduzido por Yang H. *et al* (2009) demonstra que a ablação de Ghrelina leva a uma perda das TEC's e a um aumento de adipócitos no timo.

A estrutura das células T é diferenciada em nichos no estroma do timo composto por TEC que se subdividem em TEC cortical, responsáveis por uma seleção positiva da linhagem das células T, onde se destaca a diferenciação e a expansão timocítica e, a TEC medular que é requerida pra conferir uma autotolerância em estados finais na maturação dos timócitos. A degeneração do timo caracteriza-se por uma diminuição da complexidade da sua estrutura arquitetônica (Chinn I. *et al*, 2012). Napolitano L. *et al* (2008) conduziram um estudo que relaciona os efeitos da Hormona de Crescimento e do seu mediador a IGF-1, na função do timo de pacientes VIH-1 positivos, relacionando o tratamento destes com esta hormona com um aumento na densidade tímica e no número de Linfócitos T CD4 *naïve*, assim como nos Linfócitos CD8⁺CD45RA⁺CD26L⁺CD11a^{bright} em circulação, no entanto este tratamento desencadeou efeitos adversos tais como artralguas, edema e anormalidades no metabolismo da glucose entre outros, reversíveis com a descontinuação do tratamento (Napolitano L., *et al*, 2008). A Hormona de Crescimento (GH) sintetizada pela hipófise anterior demonstra efeitos na mediação de recetores de citocinas do tipo I, sendo indiretamente mediada pela IGF-1, sintetizada pelo fígado em resposta por parte de estimulação da primeira. Ambas demonstraram efeito na involução tímica em roedores. A GH demonstra efeito na proliferação de timócitos e TEC, estimulação de secreção de hormonas tímicas, citocinas e quimoquinas no microambiente do timo e indução de proteínas da matriz extracelular. A interação da quimoquina CXCL12 com o recetor CXCR4, mediada pela via JAK/STAT e inibida pela expressão de supressor da sinalização de citocinas 3 (SCOCS3), demonstra-se essencial para a libertação de células estaminais a partir da medula óssea. A administração de GH demonstra aumentar a expressão de SCOCS1 e 3 inibindo a quimoquina CXCL12 e consequentemente libertando células estaminais da medula óssea (Taub D., Murphy W. and Longo D., 2010).

Garfin *et al* (2013), nos seus estudos concluíram que a deleção dos genes da família Rb em ratinhos, conduzia a uma proliferação das TEC prevenindo a involução do timo. Os genes RB regulam a transcrição do Foxn1 que é expresso tanto na cTEC como na mTEC, que por sua vez está proposto que regula a transcrição da isoforma IIIb do Recetor 2 do Fator de Crescimento dos fibroblastos (FGFR2IIIb) essencial para a

proliferação e diferenciação das TEC (Chinn *et al*, 2012). As proteínas e ARN Foxn1 aumentaram no timo mutante, porém por si só, este mecanismo não é suficiente para fazer aumentar o tamanho do timo. Os níveis de Foxn1 também são influenciados pela atividade da E2F que se comporta como promotora do gene. A inibição dos genes RB e atividade não restringida da E2F provocam a expansão do timo nos ratinhos (Garfin *et al*, 2013). Hirakata A. *et al*. (2010) estudaram o efeito da administração da administração de um agonista da LHRH, *Luteinizing Hormone- Releasing Hormone*, o Lupron, normalmente utilizado no tratamento do cancro da próstata, no timo. Após o primeiro mês de tratamento, a glândula pituitária dessensibilizou-se devido ao prolongamento de sinal, e os níveis de testosterona diminuíram, notando-se como consequência um rejuvenescer do timo, indicando um relação inversa entre a sua estrutura e os níveis de testosterona.

Na revisão de 2011 de Aw D. e Palmer D., é dito que a involução do timo é evolucionária uma vez que está presente em todos os vertebrados. Sabido que o timo é um órgão de elevado gasto energético, devido à extensiva proliferação celular, e que a maioria dos timócitos em desenvolvimento é eliminada num processo de seleção natural, a involução do timo ocorre antes de qualquer outro órgão, pensando-se que a causa estará por detrás da acumulação de danos celulares, molecular e limitação nas funções de reparação. Aw D. e Palmer D., através de Zoller *et al* (2007), evidenciam também a diminuição do timo ocorrida durante a gravidez como forma de poupar energia e prevenir uma rejeição do feto por causas imunológicas, assim como através de Howard *et al* (1999), em que se demonstra que o estado de nutrição influencia a involução tímica e que a administração de Leptina, previne estas alterações devido ao seu mecanismo de prevenção de gasto energético. A Leptina é produzida nos adipócitos e apresenta um papel efetor no sistema neuroendócrino de comportamento de saciedade após alimentação. A sua estrutura similar com as citocinas de classe I, tal como a IL-6, atribuem-lhe parâmetros de citocina, promovendo a proliferação de Linfócitos T e de proteção do timo na atrofia induzida pelo Lipopolissacarido, LPS, presente nas membranas de antigénios (Gruver A. *et al*, 2008). A involução tímica pode ser induzida por estimulação antigénica com a função biológica protetora contra autoimunidade, otimização do repertório periférico ou para conservar energia.

O normal Envelhecimento é acompanhado pela redução do fator de transcrição traduzido pelo gene FoxN1 expresso nas TEC, resultando numa perda da arquitetura normal do timo aliado a um reduzido número de Linfócitos T *naïve* gerados (Guo J. *et*

al, 2012). Guo J. *et al* (2012) demonstraram que após a infecção com o vírus *Influenza*, o número de Linfócitos T CD8 específicos estavam reduzidos tanto no grupo de ratinhos em que se providenciou a uma deleção deste gene como em ratinhos idosos, demonstrando que a deleção do gene e a idade apresentavam os mesmos efeitos redutores na resposta específica à vacinação contra este vírus. Destaca-se portanto que para a Involução Tímica ocorrer três mecanismos a precedem, sendo estes: a redução de Células Estaminais Hematopoiéticas e seus defeitos intrínsecos, a perda das TEC e deterioração do microambiente do timo e, fatores circulantes extrínsecos (Dixit V, 2010).

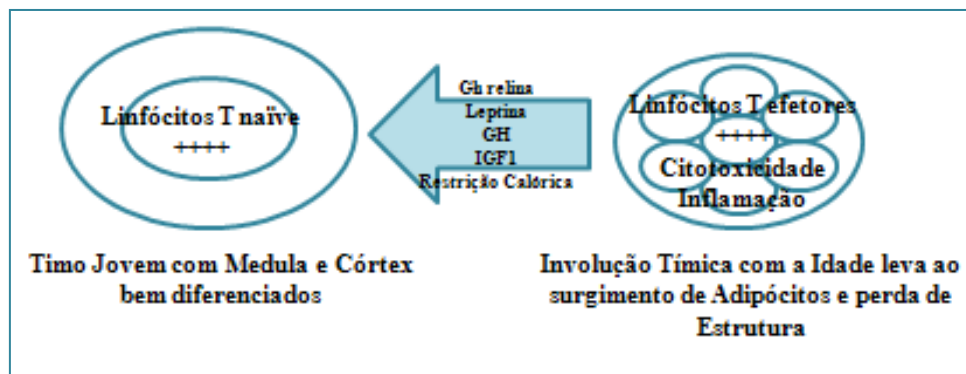


Figura 6. Resumo das características da Involução Tímica e Moléculas Protetoras. Adaptado Dixit V., 2010.

7.2. Linfócitos T

Os Linfócitos T devido à sua necessidade de expansão clonal apresentam uma capacidade de alongar os seus telómeros através da atividade da Telomerase que excetuando as Células Estaminais, não se verifica nas outras Células do Organismo denominadas Somáticas, sendo esta sua atividade maior nos Linfócitos T *naïve* do que nas Células Memória (Fauce S. *et al*, 2008; Hohensinner P., Goronzy J. & Weyand C., 2011). No final de cada cromossoma existe uma sequência *tandem* – TTAGGG - de nucleótidos que os protegem, os Telómeros. A Telomerase é uma enzima proveniente do gene hTERT capaz de restaurar o comprimento do ADN que é caracterizado por um encurtamento progressivo de cerca de 200 pb a cada ciclo celular. Curiosamente a sua atividade é bastante maior nos Linfócitos T CD4 do que nos Linfócitos T CD8, e perde-se paralelamente a quando da perda do recetor CD28, mostrando uma relação entre a sua atividade e a presença deste recetor (Dock J. *and* Effros R., 2011). Sabendo que a permanente perda da expressão do recetor CD28 que é um marcador da

Imunosenescência dos Linfócitos T, com um fenótipo $CD8^+CD28^-$, demonstrando telômeros mais curtos, perda da atividade da Telomerase e incapacidade de proliferar, Parish e os seus colegas demonstraram que a estimulação contínua da expressão do recetor CD28 por via exógena mantinha a atividade da Telomerase, reduzia a secreção de $TNF-\alpha$ e IL-6, assim como aumentava a expressão de $IFN-\gamma$ e IL-2, porém a capacidade proliferativa não era recuperada (Parish S. *et al*, 2010). Autores como Gillis S. e Smith K. (1977) chegaram a considerar a hipótese de que *in vitro* a adição contínua de Interleuquina-2 conferiria uma imortalidade celular que não é atualmente verificada, estando limitada a uma duplicação entre 20 a 40 ciclos até alcançar um estado de senescência proliferativa (Dock J. and Effros R., 2011).

Os telômeros representam as terminações dos cromossomas lineares protegendo as extremidades da cadeia de ADN. Pode-se verificar no esquema da Figura 7 a presença de um complexo dito *shelter* cuja função consiste em proteger o ADN de constantes tentativas de reparação não requeridas, portanto verifica-se na região de dupla cadeia a presença de fator libertador de tirotrópina 1 (TRF1), cuja remoção resulta numa elongação dos telômeros pela transcriptase reversa, e TRF2 que aquando verificada a sua ausência verifica-se um sinal de dano no ADN. A proteína POT1 confere a forma de *loop*, e as proteínas TIN2 e TPP1 interligam as restantes, enquanto a RAP1 protege o Telômero de reparações não requeridas (Hohensinner P. *et al*, 2011).

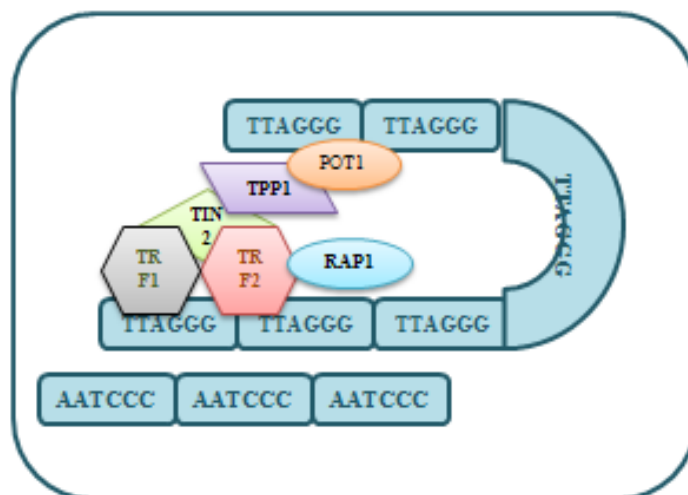


Figura 7. Esquema representativo do Complexo *Shelter* que protege os Telômeros. Fonte: Hohensinner P., Goronzy J. and Weyand C., 2011

Fauce S. *et al* (2008) demonstrou que a molécula de cicloastragenol, ou TAT2, apresentou aumento da atividade da Telomerase nos Linfócitos T tanto em dadores saudáveis como em dadores infetados com VIH, associando a sua atividade a uma melhoria da proliferação e capacidade de resposta imunológica, tais como produção de citocinas, especificidade antigénica e redução significativa na replicação viral nos doentes VIH⁺. A exposição à TAT2 levou a uma ativação da cascata MAPK/ERK seguida da transcrição do hTERT levando a uma melhor eficácia antiviral (Fauce S. *et al*, 2008).

Na presença de telómeros disfuncionais, a inativação do gene p53 leva a um acumular de danos a nível do ADN que leva à formação de um fenótipo secretório associado à senescência, SAPS. São portanto, necessários mecanismos capazes de prevenir o dano e as consequentes mutações celulares na forma de pelo menos dois Supressores de Tumores, o gene p53 e o pRB. Quando a senescência ocorre são ativados mecanismos de prevenção da proliferação das células como forma de as proteger contra o cancro. Um biomarcador de idade e Supressor Tumoral é também o p16^{INK4a}, um inibidor das quinases dependentes de ciclinas, CDKI, que por sua vez inibem o ciclo regulatório da fosforilação intracelulares que por sua vez inibem o pRB. (Coppé J. *et al*, 2011). A expressão de p16^{INK4a} aumenta com a idade e estudos demonstram que a sua inativação leva a uma morte prematura por tumores em roedores. No entanto, também se verifica um abrandamento de características de envelhecimento nos músculos esquelético e adiposo dos roedores, com a característica de serem BubR1 insuficiente. Esta por sua vez trata-se de uma proteína cuja expressão é regulada pela E2F que com a perda de p16^{INK4a} revela um aumento de atividade. Importa referir que no mesmo estudo a deleção de outro Supressor Tumoral a p19^{Arf} levou a um aumento das características de senescência ao contrário da sua homóloga p16^{INK4a} (Baker D. *et al*, 2008).

Outros estudos efetuados sobre a erosão funcional dos Linfócitos T, foi levada a cabo por Tatari-Calderone Z. *et al* (2012) que demonstraram que a expressão dos recetores CD5 e CD3 pode ser entendida como marcadores de autoreatividade em ratinhos com idade compreendida entre 18 a 24 meses. Após compromisso do timo evidenciou-se uma primeira fase de elevação do recetor CD5 e diminuição do recetor CD3. Também se evidenciou um aumento da produção de IL-10, seguida de um decréscimo do recetor CD5 e subsequente ineficácia de resposta por parte dos

Linfócitos, levando aos autores a crer tratar-se de um mecanismo de defesa contra reações autoimunes.

Como já foi referido, com a maturação os Linfócitos T começam a adquirir características de recetores comuns às Células NK, entre os quais o surgimento dos recetores KIR. Os recetores relativos à família de multigenes KIR, *Killer Immunoglobulin-like Receptor*, situam-se no cromossoma 19 e demonstram a sua importância nas moléculas MHC I. A sua distribuição é mantida pela metilação do ADN CpG, e uma vez inibida a ação da enzima ADN metiltransferase por 5-Aza-dC, 5-aza-2'-deoxicotodona, verifica-se a expressão de KIR nestas células. Esta desmetilação tem especial importância na diferenciação dos Linfócitos T em Linfócitos Th do tipo 1 e Linfócito Th do tipo 2. A sua expressão é normalmente encontrada nos Linfócitos T CD8 efetor CD45RA e CD45RO que se acumulam com a idade existindo um aumento da desmetilação de CpG nos primeiros, e não se observando o mesmo nos Linfócitos T CD4 (Li G. *et al.*, 2009). Os Linfócitos T helper estão ligados à síntese de citocinas, diferenciando-se em Th1, Th2, Th9, Th17, T helper folicular ou Linfócito T memória após ativação, aumentando com a idade o número de Th2 comparando com Th1 (Michaud M. *et al.*, 2013).

7.2.1. Linfócitos T reguladores

Os Linfócitos T reguladores (Treg) participam na prevenção de autoimunidade espontânea e expressam um fenótipo $CD4^+CD25^+Foxp3^+pSTAT5^+$, dividindo-se em duas linhagens: as Treg derivadas do timo, tTreg, e a derivadas da periferia, pTreg. A diferenciação destas células está dependente da sinalização por parte do TCR/CD28 sensibilizando-as para o sinal da IL-2 e da IL-15, seguida de uma indução da Foxp3 por estas citocinas, dependente de uma sinalização STAT5 e do recetor CD122. A citocina IL-2 é mandatária para a hemóstase destas células na periferia mas não no timo. A citocina TNF- α quando se apresenta ausente ou diminuída também demonstra uma descida de Treg's no timo. Esta citocina apresenta dois sinais através de dois recetores: o TNFR-1, que pode induzir apoptose ou pode ativar a via NF- κ B que regula e ativa a diferenciação celular, e o RNFR-2, que também ativa a proliferação celular. Ratinhos deficientes em TGF- β apresentam-se deficientes em Treg's e manifestam uma autoimunidade letal (Goldstein J. *et al.*, 2013). O declínio com a idade da IL-2, que

compartilha o recetor IL-2/15R β e o CD132 com a IL-15, resulta numa redução de CD25 e um aumento do recetor CD122. A redução de CD25 origina uma resposta mais vigorosa por parte dos Linfócitos T CD4 em ratinhos envelhecidos. As Células Treg FoxP3 maduras ostentam uma atividade supressiva igual ou aumentada comparando com as mais recentes. As Treg têm como maior regulador acumulado com a idade a molécula pro-apoptótica BIM, existindo um aumento destas com a deleção desta molécula (Raynor J. *et al.*, 2013).

Esta subpopulação de Linfócitos T suprime a produção de IFN- γ pelos Linfócitos T efetores, aumenta com a idade e é responsável por manter uma autotolerância, assim como reduzir o dano tecidual após uma resposta inflamatória. A expressão de FOXP3, é necessária para a sua função e a depleção desta molécula resulta em ausência destes Linfócitos (Sakaguchi *et al.*, 1995; Fontenot G. *et al.*, 2003; Jiang L. *et al.*, 2003; Lahl L. *et al.* 2007; Nishioka S. *et al.*, 2006; Zhao S. *et al.*, 2007, Lages S. *et al.*, 2008 através de Williams-Bey Y., Jang J. & Murasko D., 2011). Williams-Bey Y. *et al.* (2011) puseram a hipótese de que o decréscimo da expansão de Linfócitos T CD8 em ratinhos idosos estava ligada a um aumento das Treg e para o verificar infetaram-nos com o vírus Influenza. Denotaram então uma ativação e um aumento na percentagem de Linfócitos Treg, assim como da expressão do seu recetor CD69 até pelo menos 5 dias após a injeção e, apenas ao décimo dia estas células regressaram aos seus níveis basais e finalmente os Linfócitos T CD8 puderam responder produzindo IFN- γ . Estes autores, ainda enfatizam a capacidade apresentadora de antígeno destas células através da expressão dos recetores GITR que podem estar a intervir com o correto funcionamento da expansão dos Linfócitos T CD8.

Está estabelecido um papel imunossupressor de metástases a estas células, evidenciando-se um aumento da expressão de ARNm FoxP3, *fator forkhead box P3*, aumentado em idosos com cancro pulmonar comparando com idosos e jovens saudáveis (Vadasz Z. *et al.*, 2013).

7.2.2. Linfócitos T CD8

Os Linfócitos T CD8 ou Linfócitos T citotóxicos apresentam um rácio invertido com os Linfócitos T CD4 que caracteriza a Imunosenescência do Sistema Imunitário (Chou & Effros, 2013). Os linfócitos T CD8 reconhecem o antígeno através da apresentação mediada pelas moléculas MHC-I existentes na superfície das APC, tais

como a Células Dendríticas, os Macrófagos e os Monócitos. Tal interação é mediada pelo co-recetor estimulatório CD28 pertencente aos Linfócitos T e o ligando CD80 ou CD86 das APC's que induz a proliferação de sinal (Strioga M., Pasukoniene V. & Characiejus D., 2011; Parish S., Wu J., & Effros R., 2010). Esta interação impele a produção de IL-2, ativa a telomerase, estabiliza o ARNm a determinadas citocinas (Parish S. *et al*, 2013), induz o metabolismo da glucose e provoca migração dos Linfócitos T (Parish S. *et al*, 2010). O recetor CD28 trata-se de uma glicoproteína de membrana com 44 kDa exposto nas membranas celulares do Linfócitos T, responsável pela apresentação de antígeno ao ligar-se ao recetor CD80, assim como é responsável pela transdução e proliferação de sinais e estabilização do ARN mensageiro para diversas citocinas (Stanley T., Wu, Jennifer & Effros R., 2010). Com o decréscimo do recetor CD28, verifica-se um aumento da expressão do recetor CD57, também observado nos Linfócitos T CD4, verificando-se o mesmo número de divisões nas células $CD8^+CD28^+CD57^+$ e $CD8^+CD28^-CD57^+$. Não se pode afirmar que o recetor CD28 se trata de um marcador de senescência no sentido lato uma vez que estas células podem ainda proliferar após ativação com apresentação de APC (Strioga M. *et al*, 2011). Como demonstra a Figura 9, os Linfócitos T CD8 tendem a perder a expressão dos recetores CD28 e ainda dos recetores CD27 com o desenvolver da sua maturação, diferenciando-se num fenótipo intermédio $CD28^-CD27^+$ ou $CD28^+CD27^-$ e posteriormente num fenótipo altamente diferenciado $CD28^-CD27^-$, apresentando estes últimos encurtamento dos telómeros e baixa capacidade de proliferação assim como de produção de IL-2 (Henson S. *et al*, 2009). A perda do recetor CD28 está relacionada com repetida ativação dos recetores dos Linfócitos T e com a ativação de citocinas com cadeia comum γ tais como a IL-2, IL-7 e a IL-15. Também está relacionada com interferões do tipo I, IFN- α e IFN- β , e ainda, com a expressão de moléculas LFA-1 de adesão como a perforina e a granzima B. Outra característica é a expressão de recetores típicos das células NK, KLR e KIR. A perda deste recetor é acompanhada por perda de complexos ligantes ao ADN nos Linfócitos T CD8, porém nos Linfócitos CD4 esta perda é mais ténue conferindo mais resistência à perda do recetor (Weng N., Akbar A. & Goronzy J., 2009). Os Linfócitos T $CD28^-$ apresentam-se mais citotóxicos e com menor capacidade e proliferação e produção de IL-2. São resistentes à apoptose explicando-se assim a sua acumulação, sendo novamente ativados devido à expressão dos recetores *NK-like* CD16, CD56, CD94, KLRG1, NKG2 ou CD159a e os recetores KIR (Moro-Garcia M., Alonso-Arias R. *and* López-Larrea C., 2012).

Plunkett F. *et al* (2013) demonstraram como está representado na Figura 8 que a perda dos recetores CD28 e CD27 deve-se primariamente a uma estimulação crónica e não ao fator idade por si só e que este recetor não é o único a induzir a atividade da Telomerase. Os recetores CD137, CD134, ICOS e OX40 também demonstraram uma indução desta enzima, ou seja, a senescência dos Linfócitos T não se deve à perda deste recetor por si só, mas a um conjunto de fatores. A reduzida expressão de hTERT, um substrato da Akt cujo local de fosforilação Ser⁴⁷³ nas células com o fenótipo CD8⁺CD2⁻CD27⁻ se encontra irregular também compromete a atividade da enzima. Embora células com este fenótipo não sejam capazes de produzir IL-2, a suplementação exógena desta citocina revelou um incremento na atividade da Telomerase, porém não alterou o comprometimento da fosforilação por parte da Akt (Plunkett F. *et al*, 2013). Parish S., Wu J. e Effros R. (2013) concluíram num dos seus estudos que a inibição de TNF- α atrasa a perda de expressão do recetor CD28 e que culturas de células com elevada expressão de CD28 apresentam baixos níveis de caspase-3. O recetor 1 de TNF- α é um sinal primatório para o desenvolvimento da via de desenvolvimento da caspase-3.

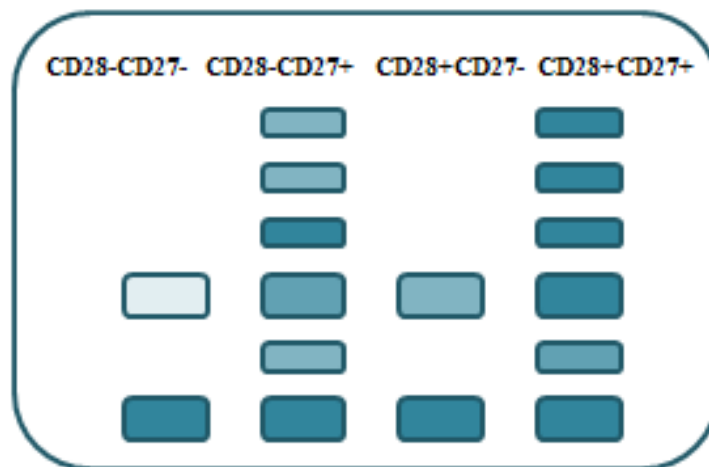


Figura 8. Representação esquemática do DOT PLOT da atividade da Telomerase nos Linfócitos CD8⁺ purificados com VARIOMACS e ativados com anti-CD3. Adaptado de Plunkett F. *et al*, 2013.

Nos Linfócitos CD8, a estimulação crónica repetitiva pode levar ao surgimento da expressão de PD-1 (ou *programmed cell death 1*) que normalmente a expressão diminui com a geração de células memória, no entanto tal não acontece se existir um estímulo repetitivo de estimulação antigénica como no caso de infeções crónicas levando à formação de Linfócitos T CD8 exaustos e sem resposta imunológica (Strioga M. *et al*, 2011).

Parish *et al* (2013) demonstraram que Linfócitos T CD8⁺CD28⁺ que apresentam a enzima Adenosina Deaminase (ADA) essencial para a conversão de Adenosina em Inosina possuem uma maior atividade da Telomerase. Calculando-se que uma perda superior a 50% da sua atividade está associada à exposição à Adenosina. A IL-2 regula a ADA e o recetor CD26 na célula, a sua perda gradual com a idade estará relacionada com a perda desta enzima aliado à perda do recetor CD28 (Parish S. *et al*, 2010). Hesdorffer C. *et al* (2012) chegaram à conclusão de que a parte do Sistema Imunológico Mediado pela Adenosina nos Linfócitos T, tanto CD8 como CD4 difere em três principais aspetos, sendo o primeiro: a concentração nos fluidos extracelulares bastante superior de Adenosina nos idosos em comparação ao grupo jovem, havendo uma resposta na inibição de IL-2 e IFN- γ em níveis constantes compreendidos entre 5 e 25 μ M; segundo, os jovens sentem mais o efeito de supressão da expressão de CD4 e CD8 nas células do que os idosos, afetando com mais significância a expressão do recetor CD8 na superfície celular, e a terceira trata-se da diferença do efeito da Adenosina na Quimiotaxia celular, tanto a nível exógeno como endógeno potenciado por um inibidor da ADA, afetando mais uma vez os mais jovens, suprimindo a resposta à quimioquina CCL21, um mediador crítico ao normal funcionamento do tecido linfoide (Hesdorffer *et al*, 2012).

A molécula co-inibitória *Killer Cell Lectin-like*, KLRG1, sugerida como marcadora de senescência replicativa encontra-se aumentada nos Linfócitos CD8⁺CD28⁻CD27⁻ uma vez que estes mostram-se incapazes de proliferar, outra característica da senescência trata-se da defetiva fosforilação por parte da Akt, nestas células cuja ação está relacionada com o KLRG1. O mecanismo de ação do KLRG1 baseia-se na interação do seu imunorecetor ITIM, com caderinas, nomeadamente a Caderina E, que ao ser bloqueada permite um acréscimo na fosforilação por parte da Akt e uma proliferação dos Linfócitos T CD8 (Henson S. *et al*, 2009).

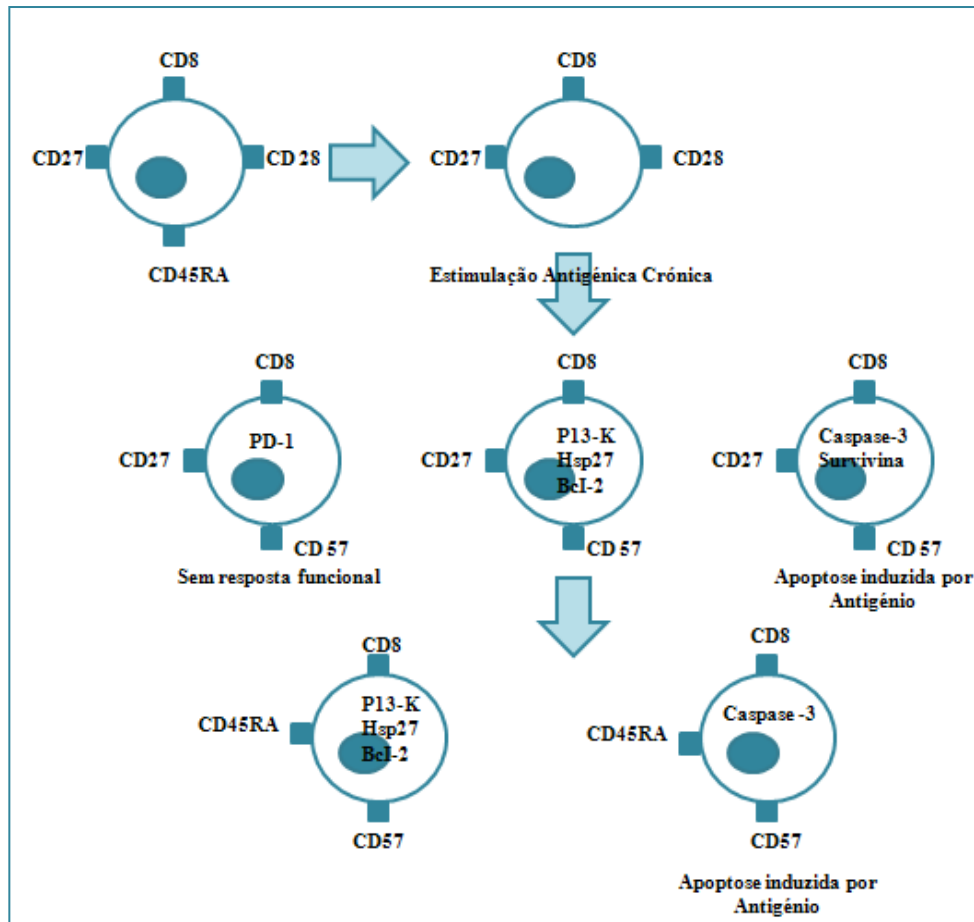


Figura 9. Características da Proliferação dos Linfócitos CD8+. Adaptado de Strioga M. *et al*, 2011.

7.2.3. Linfócitos T CD4

As Células T CD4 *naïve* permanecem constantes em número durante a vida adulta apesar da involução do timo. Estas caracterizam-se pela expressão de CD45RA, CD27, CD28, CD621, CCR7 e Recetor IL-7. Posteriormente diferenciam-se em Linfócitos T CD4 de memória central, produtoras de IL-2 e que por sua vez expressam os recetores CD45RO+, CCR7 e CD621, importantes para a mobilização destas células, sendo a sua proliferação assegurada por IL-7 na ausência de ativação. Estas células encontram-se nos Nódulos Linfáticos e quando são ativadas diferenciam-se em células T efetoras com maior sensibilidade do que as *naïve*. Uma vez em contato com o antígeno entram num processo de apoptose, diferenciando-se por sua vez as sobreviventes em células T de memória. As Células T CD4 memória evidenciam heterogenia de subpopulações: EM1, EM4 – memória e EM3 – efetora com perda de expressão do CCR7 e expressão de

CD26L. Apresentam função efetora rápida, são produtoras de INF-gama, IL-4 e IL-5 após horas de estimulação génica. Podem ser encontradas em maior quantidade nos pulmões, no fígado, e na garganta e, manifestam conseqüentemente uma progressiva perda de recetores CCR7, CD27 e CD28. As Células T CD4 memória RA revelam ser uma característica de senescência independente da Telomerase, sendo comuns em estados virais persistentes e síndromes pró-inflamatórias, podendo ser bastante diferenciadas ou não diferenciadas de todo (Moro-Garcia *et al*, 2013).

A diferenciação das várias linhagens depende da rede sinalização por citoquinas, fatores de transcrição e modificações epigénicas. A senescência replicativa é tida como um processo em que as células somáticas chegam a um estado irreversível no seu ciclo em que se denotam mudanças na expressão e função dos genes, levando a uma alteração fenotípica destas (Chou P. & Effros R., 2013).

A degeneração do timo leva a uma alteração na relação das células T CD4 *naive* e de memória é alterada, diminuindo as primeiras e aumentando as segundas. Os Linfócitos T CD4 são mais resistentes a mudanças de fenótipo e funcionais, sendo associada uma redução da capacidade proliferativa, conhecida como *Senescência Replicativa*, onde se evidencia corrosão dos telómeros (Deeks S. *et al*, 2012; Aw & Palmer 2011). Johnson L. F. P *et al*, (2012), conduziram um estudo que defende que uma seleção periférica dos linfócitos explica melhor a contração de diversidade das células CD4 *naive* do que a própria involução tímica por si só. Fato é que esta população adquire novas linhagens apenas através do timo ao contrário da população de linfócitos T memória, que podem adquirir novas linhagens através da exposição a novos antígenos durante a vida. A diversidade de Linfócitos T CD4 decresce subitamente com a idade após os 65 anos de idade.

Com a idade evidencia-se a perda da expressão do recetor CD28, sendo esta tida como um marcador associado ao declínio da função destes Linfócitos, não havendo por co-estimulação a produção de IL-2 que promove a proliferação celular. Estas células CD28⁻ acumulam-se por redução da suscetibilidade a apoptose, vírus CMV e outros antígenos crónicos (Moro-Garcia *et al*, 2013). Acumulam-se com a idade perfazendo 60% do total em indivíduos idosos e existem numa percentagem maior naqueles infetados com Herpes Vírus e infeções crónicas (Chou P. & Effros R., 2013).

Outra característica demonstrada com o tempo dos Linfócitos T CD4 *naïve* é a perda de sensibilidade aos recetores, nomeadamente aos recetores TCR. A diminuição da expressão de miR-181a aumenta a expressão das proteínas DUSP6 que por sua vez diminuem a fosforilação do regulador dos TCR's, ERK, levando a uma resposta imunológica anormal. Leva-se, portanto, a crer que a repressão de DUSP6 nos idosos devolveria a resposta proliferativa aos Linfócitos T através da expressão de miR181a utilizando-se para o efeito *ARN small interfering*, ou a repressão de DUSP6 com o inibidor (E) -2- bezilideno-3-(ciclohexilamino)-2,3-dihidro-1H-inden-1-one, sendo necessários mais estudos que comprovem tal hipótese (Li G. et al, 2012).

Qualquer anomalia com os linfócitos T pode comprometer o correto funcionamento dos linfócitos B. (Frasca *et al*, 2011)

7.2.4. Linfócitos B

Os linfócitos B são os precursores dos Plasmócitos, produtores de anticorpos por excelência. E, apresentam-se com a capacidade tanto de células apresentadoras de antígeno, assim como de imunoregulação na medida em que produzem IL-10, prevenindo estímulos do SI desnecessários que podem conduzir ao surgimento de doenças autoimunes (Gibson K. *et al*, 2009). Estes estão divididos em duas principais populações denominadas de B-1, pertencentes ao SI inato produtoras de imunoglobulinas, produzidas a partir da fase embrionária no saco vitelino e na fase gestacional e, B-2 presentes nos órgãos linfoides e mediadoras da resposta adaptativa, produzidas na medula óssea após o nascimento, dividindo-se por sua vez numa população folicular (FO) e noutra minoritária de zonas marginais (MZ). As primeiras, B-1, ainda se dividem em B-1a, com um fenótipo sIgM+CD11b+CD5+ e B-1b, sIgM+CD11b+CD5-. Como a maioria dos estudos são efetuados em ratinhos, alguns autores duvidam da presença de Linfócitos B1 em humanos (Montecino-Rodriguez & Dorshkind, 2012) porém, tem vindo a ser demonstrada a similaridade entre os linfócitos B de velhos murinos e linfócitos B de humanos em que podem ser aplicados os mesmos princípios (Griffin D.O., Holodick N.E. & Rothstein T.L., 2011; Frasca D., 2013).

Os linfócitos B nos humanos adultos provêm continuamente das Células Estaminais Hematopoéticas (CEH) da Medula Óssea, revelando transformações tanto de tamanho

como de função com a idade. Tais alterações refletem-se no microambiente das CEH provocadas por mudanças na expressão gênica tais como o gene ativador da recombinação (RAG) essencial para a passagem da pro-célula B a pré-célula B que apresenta a sua atividade diminuída assim como o fator de transcrição E2A, onde se evidencia um aumento na degradação do ARNm que como consequência revela uma redução de reguladores da transcrição E47 essencial para gerar pro-células B (Cancro M. *et al*, 2009). O regulador da estabilidade do ARNm, Tristetraporlina (TTP) desfosforilada encontra-se aumentado em estudos com ratinhos com mais de 18 meses e liga-se à extremidade 3' UTR do ARNm das citocinas assim como nos fatores de transcrição destabilizando-o. Desta forma a capacidade de mudança de classe de Ig, ou Isótopos, encontra-se alterada, comprometendo a resposta imunitária. Uma das principais características dos Linfócitos B é esta sua capacidade de mutação de classe e capacidade de regulação de fagocitose dos macrófagos e apresentação de antígeno que se encontram diminuídas com a idade no ratinho devido a uma diminuição da ativação induzida pela Citidina Deaminase, também afetada pela degradação do ARNm (Landin A. *et al*, 2011). Landin A. e Frasca D., assim como os seus respetivos colegas (2011), demonstraram que através da adição da região 3' UTR por técnica retroviral foi possível recuperar a capacidade da célula B produzir os restantes fatores de transcrição e permitir uma mudança de classe para IgG1, para níveis iguais e nalguns grupos mesmo superiores aos demonstrados pelos ratinhos jovens, abrindo caminho para novos estudos que possam aumentar a resposta dos idosos a vacinas, nomeadamente ao vírus Influenza e H1N1. Nos estudos de Daniela Frasca *et al* (2012), foi constatado que células não estimuladas de ratinhos mais velhos produzem mais TNF- α do que as homónimas mais novas, existindo uma correlação inversa à quantidade de TNF- α produzido e a capacidade destas células de serem estimuladas *in vitro*. A produção de TNF- α induz a TTP que regula negativamente a estabilidade do ARNm para a produção de fatores de transcrição e de citocinas, sugerindo um controlo autócrino por *feedback* negativo da inflamação. Por outro lado, a TTP reduz a efetividade da resposta imunológica das células B através de uma diminuição da E47. Esta diminuição tem como consequência uma diminuição da AID, *Activation-Induced Cytidine Deaminase*, e na Recombinação de Classes de Imunoglobulina, levando a uma reduzida expressão de Anticorpos Recombinados nomeadamente de IgG, afetando assim uma das principais funções dos Linfócitos B aliado à baixa expressão de Linfócitos *naïve* em idosos (Frasca D. *et al*, 2013). A maioria dos Linfócitos B na periferia consiste em células maduras e foliculares

que circulam num estado quiescente cuja principal função é a de preservar a diversidade da memória destas células face a novas infeções. Para isso estão dependentes de sinais de sobrevivência tais como o complexo BCR, recetor do Linfócito B, e o recetor da citocina ativadora dos Linfócitos B, BAFF, juntos sinalizam a ativação de NF- κ B. Este fator de transcrição é essencial para o desenvolvimento, manutenção e estimulação dos Linfócitos B e permite a sobrevivência destes através da estimulação das células para entrar na fase S do ciclo celular, levando a um aumento de síntese de ADN e consequente divisão celular, assim como, através do aumento da expressão da proteína TAp63 que por sua vez, ativa o gene Bcl2 um agente antiapoptótico (Lantener F. *et al*, 2007).

Com a idade verifica-se nos ratinhos um decréscimo da frequência de precursores de Linfócitos B na Medula Óssea, enquanto na periferia se evidencia uma redução da sua diversidade assim como um aumento de células maduras (Keren Z. *et al*, 2011). Keren Z. *et al* (2011) adquiriram dados que suportam a hipótese de existência de um mecanismo de *feedback* no controlo da Linfopoiese de Linfócitos B através de uma regulação entre o acumular de células maduras na periferia e o desenvolvimento dos seus progenitores na Medula Óssea. Demonstraram assim que, quando não se evidencia um acumular de linfócitos B maduros, a Linfopoiese não decresce significativamente com a idade nos ratinhos idosos. Mehr R. e Melamed D. (2011) conduziram um estudo similar em ratinhos para demonstrar se seria possível reverter as alterações sofridas pela linhagem de Linfócitos B com a idade. Através da ablação do gene que codifica o recetor BAFF, essencial para a sobrevivência de Linfócitos B maduros, levou a uma ablação destas células ao nível periférico, procurando saber se a pressão homeostática estaria relacionada com a supressão da Linfopoiese dos Linfócitos B com a idade e ainda, noutro modelo, levaram à ablação destas células através de uma mimetização da terapêutica do Rituximab porém com anticorpos específicos, tentando demonstrar defeitos nas células precursoras para justificar a pobre Linfopoiese com a idade. Tanto num modelo como noutro, evidenciou-se uma regeneração do perfil de Linfócitos B nos ratinhos, passando estes a apresentar um repertório mais jovem com a elevação dos números de Linfócitos B pro-, pré- e imaturos nos ratinhos idosos. A Linfopoiese deu-se em resposta da necessidade de restaurar o perfil de Linfócitos B com resposta diminuída e neutralizados, porém os autores referem a importância de mais estudos para validar as suas conclusões uma vez que os ratinhos utilizados eram modelos imunoglobulino-

transgênicos e não ratinhos normais. Keren Z *et al* (2011) obtiveram iguais conclusões e ainda acrescentam que a taxa de reconstituição celular aumenta ainda mais após uma segunda e terceira ablação linfática. A ablação de Linfócitos B tem sido útil para o controle de doenças autoimunes tais como Esclerose Múltipla, Diabetes do tipo I e Artrite Reumatoide, não estando a eficácia da terapêutica relacionada com os níveis de anticorpos mas com a função regulatória destas células (Frasca D. *and* Blomberg B., 2011).

8. O Sistema Imunitário e o Citomegalovírus Humano

Le Saux *et al* (2012) concluíram que os vários mecanismos que provocam a involução tímica não eram suficientes para afetar o Sistema Imunitário por si só. Estudos comparativos demonstram uma Imunosenescência que cresce 50 anos em indivíduos timetomizados infetados com o Citomegalovírus (CMV) comparativamente a indivíduos CMV negativos, demonstrando que este vírus tem efeito acelerador da senescência do Sistema Imunitário (Le Saux *et al*, 2012). A infecção crônica por CMV caracteriza-se por um aumento progressivo de Células T memória com recrutamento contínuo de células T *naive*, levando a um desgaste do Sistema Imunitário, originando uma exaustão prematura em indivíduos timetomizados (Appay *et al*, 2010). A seropositividade relacionada ao CMV foi associada às mesmas mudanças fenotípicas e funcionais dos biomarcadores relativos ao avançar da idade dos Linfócitos T (Candore G., Caruso C. & Colonna-Romano G., 2010). Cicin-Sain L. *et al.* (2012) relacionaram a infecção com o CMV e o Envelhecimento com uma acentuação do declínio do sistema imunitário. Evidenciou-se uma constante ativação e um crescimento no número de Linfócitos T CD8 com encurtamento de telômeros, diminuindo o rácio CD4/CD8, diminuindo também a representação de células *naive* que consequentemente diminui a resposta a outras morbidades (Cicin-Sain L. *et al.*, 2012). O CMV tem como reservatório as células da linhagem mieloide, tais como os monócitos e as células dendríticas imaturas, a acumulação de anticorpos específicos refletem a sua reativação frequente, assim como a acumulação de Linfócitos tardiamente diferenciados acumulados. Este efeito acontece nos Linfócitos T CD4 memória que revelam perda da expressão dos recetores CD27 e CD28, revelando o marcador de senescência CD57.

Estudos comparativos entre vírus da família *Herpesviridae*, característicos pela sua latência e permanente reativação, revelam que a presença do Vírus Herpes Simplex, não possuía qualquer impacto significativo na distribuição e diferenciação dos Linfócitos CD4⁺, assim como os vírus Epstein-Barr e Varicella-Zoster não revelaram a presença de células memória diferenciadas ao mesmo nível que o CMV (Derhovanessian E. *et al*, 2011). Células CD8⁺CD57⁺ apresentam uma capacidade proliferativa limitada mesmo em resposta a estímulos como a IL-2, IL-7 ou a IL-15, e não auxiliam à produção de Ig's por parte dos Linfócitos B, embora apresentem capacidade citotóxica expressando porforina, granzima e granulosa. Estas células são comuns em ativações crônicas do sistema imunitário e aumentam com a idade, como acontece na infecção com CMV e VIH. Adultos que não respondem à vacinação contra o vírus Influenza apresentam altos níveis de IgG antiCMV, e uma percentagem elevada de Linfócitos CD57⁺ com altas concentrações de TNF- α , IL-6 e baixos níveis de cortisol (Focosi D. *et al*, 2009). Os genes da família de citocina IL-6, LIF, IL-6 e OSM, são considerados timo-supressivos e mediadores da involução do timo, estando presentes nas Células Epiteliais Tímicas. A LIF e a IL-6 são consideradas citocinas pró-inflamatórias induzidas por LPS e verificase uma proteção contra a atrofia tímica aquando do bloqueio de sinal da subunidade gp130 destas. Sabe-se que a expressão de LIF é dependente de produção corticosteroide, sendo incapaz de induzir atrofia tímica quando o eixo esteroide é bloqueado pela molécula metirapona ou extração da glândula adrenal (Gruver A. *et al*, 2008).

9. O Envelhecimento do Sistema Imunitário e o VIH

O Vírus da Imunodeficiência Humana 1 (VIH-1) é um *Retrovirus* do género *Lentivirus* que infecta o sistema imunitário do hospedeiro (Smith R. *et al*, 2013). A resposta imunitária na infecção por VIH é constantemente ativada devido à persistência de replicação do vírus, levando a falhas no ciclo de replicação que conferem especificidade antigénica na diferenciação e proliferação das células T e consequente senescência destas (Deeks S. *et al*, 2012). A terapia muito ativa antirretroviral (HAART) do VIH baseia-se em pelo menos três fármacos de duas classes distintas das seis principais existentes, cada uma da qual específica para uma determinada fase do ciclo de replicação do vírus, sendo estes: os Bloqueadores de Entrada (EI), os Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NRTI), os Inibidores Não-Nucleosídeos da

Transcriptase Reversa (NNRTI), os Inibidores da Protéase (IP), Inibidores da Maturação (MI) e os Inibidores da Integrase (II). Sem esta terapia o sistema imunitário dos indivíduos afetados entra em colapso em poucos anos proporcionando um mau prognóstico (Smith R. et al, 2013). O objetivo do tratamento é o de alcançar níveis de ARN viral do VIH indetectáveis em análise de forma a prevenir o surgimento de comorbilidades e assim aumentar a qualidade e esperança média de vida (Deeks S., 2009). Apesar do grande avanço na esperança média de vida conseguida através da HAART, ainda se verifica uma redução desta de cerca de 10 a 30 anos num indivíduo infetado tratado, dependendo da sua idade aquando do início do tratamento, permanecendo mais curta do que a da restante população não infetada (Smith R. et al, 2013). Embora outros estudos refiram que a esperança média de vida na população infetada permaneça tão próxima quanto a de indivíduos não infetados desde que se demonstrem assintomáticos após 24 semanas após o início do tratamento com HAART. O tratamento com antirretrovirais faz decrescer o valor de dímero-D, associado a um maior risco cardiovascular, *high-sensitivity C reactive protein*, hs-CRP, e IL-6, marcadores de inflamação e normalmente aumentados nesta população (Aberg J., 2011).

O VIH é visto como uma condição de inflamação crónica (Aberg J., 2012) que pode estar associada a outras comorbilidades tais como o vírus da Hepatite C ou o Citomegalovírus. Pacientes VIH⁺ apresentam manifestações de doenças e do estado imunitário característico de idade mais avançada mais precocemente, típico de um envelhecimento prematuro, afetando a sua qualidade de vida – figura 10. A terapia antirretroviral geralmente melhora a função imunológica, incluindo a função relacionada com a Imunosenesescência. Em terapias de longo termo evidenciou-se alterações persistentes dos níveis das células T CD4 e CD8 *naïve*, havendo um aumento do número de células memória, porém existe uma redução de células sem o marcador CD28⁻ e uma melhoria das suas funcionalidades (Deeks S. et al, 2012).

No trabalho de Anna C. Hearps et al (2012) podemos constatar a semelhança que existe nas características imunológicas dos indivíduos VIH positivos em relação a indivíduos VIH negativos com uma idade superior em cerca de 30 anos em relação aos primeiros, em termos de inflamação crónica, de proporção de Linfócitos T senescentes com Telómeros encurtados e um risco aumentado de doenças características da terceira idade, tais como risco cardiovascular devido a elevada expressão de sCD163, problemas renais e ósseos, assim como perturbação neurocognitiva originada com a elevada

expressão de neopterinina e CXCL10, produzida por monócitos como resposta ao $\text{IFN}\gamma$. A proporção de monócitos CD16^+ , produtores de TNF encontra-se aumentada nos indivíduos jovens VIH^+ , refletindo um nível de maturação induzido por citocinas, nomeadamente a M-CSF. Evidencia-se também, um aumento na expressão de CD11b , associada ao aumento de risco para a arteriosclerose, e uma redução da molécula de adesão CD26L , possivelmente devido a uma exposição a $\text{TNF-}\alpha$ ou a Lipopolissacárido (Hearps A. *et al*, 2012).

A expressão do recetor inibitório PD-1, ajuda a regular a resposta dos Linfócitos T a auto-antígenos assim como a antígenos virais, possuindo um efeito inibitório nos Linfócitos T ativado considerados assim exaustos por falta de resposta proliferativa e secretora. Nos Linfócitos T CD8 e CD4 está correlacionado positivamente com um acumular de carga viral e está correlacionado negativamente com a contagem de células CD4 , regulando portanto, a resposta a uma infeção crónica. Nos pacientes com VIH que expressavam PD-1 denotou-se nos Linfócitos T CD8 a expressão de recetores CD27 e de granzima B, porém denotou-se baixos níveis de CD28 , CCR7 e CD4RA e perforina, e ainda níveis intermédios de CD57 , CD62L e CD127 . Demonstrando assim que estas células possuem um fenótipo de células memória efetoras específicas no combate ao VIH. Nos Linfócitos T CD4 , o bloqueio da expressão de PD-1 levou a uma proliferação específica contra o VIH (Day C. *et al*, 2006).

Em estudos de marcadores de Imunosenesescência acelerada, Jennifer P. Chou *et al* (2013) relacionaram um decréscimo acelerado da Adenosina Deaminase, ADA, nos Linfócitos T de pacientes HIV^+ relacionando-a com uma elevada expressão de CD38 , sendo este relacionado a uma ativação imunológica, assim como a irregularidades nos Linfócitos B, Diabetes do tipo 2 e Tumores sólidos. Deduzindo assim uma associação entre a perda de atividade por parte da Telomerase e a elevada expressão deste recetor CD38 . Ainda associaram que a expressão do gene para a LRRN3 contribuía para uma diminuição da expressão de senescência dos Linfócitos T, na medida em que o ARNm desta proteína correlaciona-se com a expressão de CD28 , levando a uma hipótese ainda por comprovar se a estimulação sustentada deste gene conduziria a uma manutenção da função celular normal dos Linfócitos T (Chou J. *et al*, 2013).

Doentes VIH positivos apresentam uma redistribuição de Linfócitos Treg que expressam FoxP3, este fator de transcrição define a linhagem de células com capacidade de suprimir a ativação ou função de outras células. A expressão crónica deste fator pelos

linfócitos T CD8 está associada a uma ativação imune crônica, aumentando em pacientes com HIV. Comparativamente às células FoxP3⁺CD4⁺ evidenciam-se poucas FoxP3⁺CD8⁺ que expressem CD28, CD45RO e CTLA-4. Não se evidenciando diferenças entre indivíduos VIH⁺ e VIH⁻ na expressão de CTLA-4, CD57, CD28, CD45RO nas células FoxP3⁺CD4⁺, FoxP3⁺CD8⁺ ou FoxP3⁻CD8⁺ (Lim A., French m. & Price P., 2009).

A estimulação contínua causada pela replicação persistente do vírus VIH leva a um estado de exaustão imunológico e para o contrariar várias estratégias para ativar os linfócitos T e a sua expansão clonal foram efetuadas. Entre as quais a utilização de citocinas, como a IL-2 e a IL-7, como adjuvantes da terapêutica antirretroviral. A IL-2 sendo maioritariamente produzida por Linfócitos CD4⁺ T *helper* começa a decrescer em número com a seropositividade. Esta citocina promove as células NK e os Linfócitos B e Th na sua citotoxicidade, na produção de outras citocinas e na modulação da apoptose. No entanto, a sua administração subcutânea em indivíduos VIH⁺ com uma contagem celular inferior a 200 CD4⁺/mm³, em conjunto com a terapêutica antirretroviral, apesar de elevar o valor destes Linfócitos, a taxa de surgimento de doenças oportunistas e morte permaneceu inalterada, levando ao abandono desta estratégia. A utilização de IL-7, produzida pela Medula Óssea, células do estroma do Timo e Células Dendríticas Foliculares, apresentou resultados no aumento de Linfócitos T CD4 e CD8 citotóxicos contra o vírus e um aprimorar da resposta e expansão de Linfócitos Th1, sendo necessários mais estudos para demonstrar possíveis benefícios (Carcelaine G. *and* Autran B., 2013).

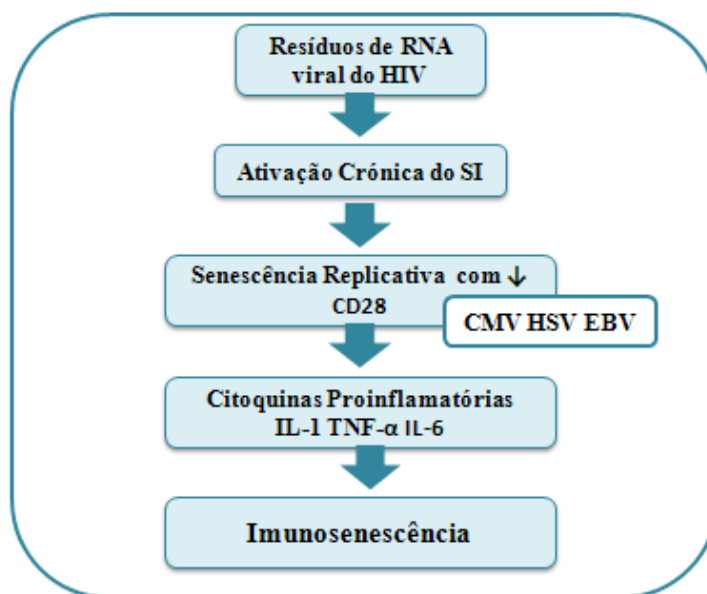


Figura 10. Esquema representativo da influência do VIH na indução de Imunosenescência. Adaptado de Deeks *et al.*, 2012.

10. Vacinação

A vacinação representa a forma mais eficiente em relação a custo-efetividade como forma de proteger a população. As vacinas atualmente utilizadas são eficazes na proteção da população jovem vulnerável, sendo no entanto esta eficácia cada vez menor com o aumentar da idade. Os idosos apresentam maior uma suscetibilidade para contrair infecções presentes na comunidade, assim como infecções nosocomiais.

A pneumonia, infecções do trato urinário e da pele, assim como, reativações de infecções latentes, como o vírus Varicella-Zoster e infecção por *Mycobacterium tuberculosis* encontram-se entre as principais morbidades na população idosa. Os níveis de anticorpos IgA e IgG encontram-se diminuídos e evidencia-se um declínio mais rápido destes, com a taxa de seroconversão cada vez mais reduzida com o avançar da idade. É portanto, recomendada nesta população uma vacinação anual quando aplicável e um reforço para aumentar a eficácia desta, também quando aplicável (Dorrington M. and Bowdish D., 2013; Weinberger B. *et al.*, 2007). Para tal efeito recorrem-se a várias estratégias nomeadamente o uso de adjuvantes, alteração da dose de antígeno e a identificação de melhores vias de administração (Liu W., *et al.*, 2011).

Os defeitos moleculares que prejudicam a produção de isótopos secundários são a causa da ineficácia da vacinação em idosos, por senescência dos Linfócitos B (Frasca D. et al, 2013). Simpson R. *et al.*, 2012, na sua revisão demonstram os efeitos benéficos do exercício físico como estimulador do SI. Nieman (1994) refere que pessoas que praticam exercício físico regular de média intensidade demonstram menos infeções respiratórias do que as restantes. É denotado também um aumento da atividade da enzima SOD, diminuindo o stress oxidativo nas células. Sendo necessário chamar a atenção para o contrário que acontece quando se efetua exercício físico extenuante. Em todo o caso, com exercício físico regular e moderado, o nível de proliferação dos Linfócitos T é aumentado, o número de células senescentes diminui, evidencia-se um aumento de IL-2 desencadeando aumento de células NK citolíticas e denota-se uma menor resposta pró-inflamatória nos idosos, embora seja denotada a necessidade de mais estudos na população idosa (Simpson R. *et al.*, 2012).

10.1. Vírus Influenza

Segundo a Organização Mundial de Saúde, o vírus Influenza divide-se em tipo A, B e C, sendo o tipo A o mais comum entre os humanos, nomeadamente os subtipos H1N1 e H3N2. Calcula-se que este vírus seja responsável por cerca de 3 a 5 milhões de casos graves a nível mundial e cerca de 250 000 a 500 000 mortes anualmente, das quais, cerca de 40 000 a 220 000 se verificam na Europa conforme a seriedade da estirpe (WHO e *European Centre for Disease Prevention and Control*, 2011 através de Lang P. *et al.*, 2012). O vírus Influenza interage com mediadores de sinal tais como os TLR, os recetores NOD-like, como o NLRP3 e o NOD2, e os recetores RIG-like. Os primeiros são expressos por Monócitos, Células Dendríticas e NK e a interação com estes leva a uma ativação de cascatas dependentes de MyD88 e TRIF conduzindo a uma produção de citocinas e de interferão do tipo I. Os recetores CD80 e CD86 expressos nas células APC ajudam a ativar os Linfócitos T através da interação com o recetor CD28. No entanto, a expressão destes recetores CD80 encontra-se diminuída na população idosa, consequentemente a resposta imunológica encontra-se diminuída (Lambert N. *et al.*, 2012). Para manter os níveis séricos de anticorpos é recomendado à população idosa com mais de 65 anos de idade que receba a vacina inativada trivalente contra o vírus Influenza. As estatísticas revelam uma redução de cerca de 27 a 45% nas hospitalizações e em 50% no número de óbitos (Dorrington M *and* Bowdish D., 2013

através de Gross et al., 1995; Jefferson et al., 2005 e Manzoli *et al.*, 2012). Embora a eficácia da vacina em adultos jovens se encontre entre os 70 a 90% esta eficácia desce para valores entre os 17 e 53% na população idosa (Li R. *et al.*, 2008).

Atualmente utiliza-se para proteção a vacina Trivalente com cerca de 15 µg de hemaglutinina dos tipos A/H1N1, A/H3N2 e B para indução de anticorpos contra estes tipos de vírus Influenza (Lang P. *et al.*, 2012). Para melhorar a resposta do idoso à vacinação contra o vírus Influenza têm-se adotado várias estratégias que têm resultado em melhores resultados. Por exemplo, o aumento da dose de antigénio para 60 µg ou mais nos idosos, alteração da via de administração tem conduzido a um aumento de anticorpos entre 48 a 70% numa vacinação intradérmica em comparação com a tradicional via intramuscular (Liu W. et al., 2011). Outra estratégia proposta por Wang B. *et al.* (2012) é a de desenvolver uma vacina através da fusão de proteínas antigénicas. Sendo assim, nos seus estudos, aumentaram a densidade de epítetos de membrana, multiplicando as cópias da proteína de membrana 2 do vírus Influenza A, M2. De seguida, fundiram-nas com a região variável grandemente imunogénica do flagelo da *Salmonella enterica serovar Typhimurium* de fase I, FliC, que interage como recetor TLR5, sendo o complexo por sua vez incorporado em partículas irais *M1-based*, VPL's, do vírus Influenza. Esta combinação demonstrou resultados nos ratinhos na medida em que aumentou a imunidade das mucosas, conferindo total proteção contra a estirpe H1N1 e H3N2, com pouca perda de peso, e a replicação do vírus nos pulmões restringida (Wang B. *et al.*, 2012). A utilização de adjuvantes também é utilizada eficazmente, nomeadamente em idosos com patologias crónicas, com a utilização da combinação de antigénio com a adjuvante emulsão O/A, MF59, com capacidade de induzir moléculas envolvidas na migração leucocitária, assim como na apresentação de antigénio, CCL2, CCR5, entre outras (Iob A. *et al.*, 2005). Antrobus R. *et al.* (2012) estudaram as propriedades de uma vacina recombinada com Virus Vaccinia Ankara modificado com expressão de nucleoproteína e proteína de matriz, M1, confirmando a sua segurança para utilização em adultos com mais de 50 anos de idade. Demonstraram que após a vacinação destes voluntários, existiu um aumento de secreção de TNF, IL-2 e IFN-γ e uma expansão clonal evidenciada pela falta de Linfócitos CD27+CD45RACD57-CCR7-, típico de um fenótipo de senescência, encorajando para uma imunização duradora por parte dos Linfócitos T (Antrobus R. *et al.*, 2012).

10.2. *Streptococcus pneumoniae*

Recomenda-se nos idosos a vacina 23-polissacarídea comercializada sob o nome de Pneumovax[®] 23 ou Pneumo[®] 23. A taxa de eficácia destas vacinas encontra-se entre os 50 a 70% na população idosa, embora não induza uma resposta robusta em termos imunológicos, reduz a mortalidade na doença invasiva pneumocócica. Quinze a trinta por cento dos casos de pneumonia estão associados a doença invasiva pneumocócica com uma taxa de mortalidade até 40% em idosos com mais de 85 anos de idade (Weinberger B. *et al.*, 2007; Dorrington M. *and* Bowdish D., 2013). A vacina Prevenar 13[®] é recomendada nas crianças não só para sua própria proteção mas como forma de prevenir novas infeções incluindo na população idosa que com estas convive (Prelog M., 2012).

Os anticorpos contra polissacarídeos capsulares contribuem para a opsonização e clearance contra a bactéria *Streptococcus pneumoniae*, sendo produzidos por células B-1b e células B da zona marginal como resposta ao um estímulo pela imunização com polissacarídeo pneumocócico (PPS), como por exemplo a Pneumovax[®] 23, ou proteína-PPS, como no caso da Prevenar 13[®]. Os resultados demonstraram uma melhor capacidade das células B-1b de produzir anticorpos específicos PPS nos ratinhos mais velhos. (Haas K. *et al.*, 2013). Sogaard O. *et al* (2010) conduziram um estudo para demonstrar o efeito da adição de um agonista do recetor TLR9 na resposta imunológica de indivíduos VIH+ com baixa resposta à imunização, através da vacinação composta por uma dupla vacinação com 7vPnC – Prevenar 13[®] - aos 0 e 3 meses e, uma dose de PPV-23 – Pneumovax[®] 23 – aos 9 meses. A adição deste agonista, denominado CGP 7909, teve como resultado um aumento da proporção de IgG específicos aos 9 meses com uma duração maior, assim como a magnitude de resposta, seguida do reforço com PPV-23 que levou a uma maior funcionalidade comparado com o grupo de controlo. No entanto, a adição deste composto ao PPV-23 não revelou qualquer aumento de eficácia.

10.3. *Diphtheria, Tetanus e Pertussis*

Os idosos apresentam a mais alta taxa de incidência destas patologias, sendo recomendada a vacinação a maiores de 65 anos de idade sendo os níveis de anticorpos desta aumentados com a administração da mesma vacinação ao longo da idade adulta (Dorrington M. *and* Bowdish D., 2013; Prelog M. 2012). A eficácia da vacina encontra-

se entre os 84 e 99%, após indução por *booster* de uma quantidade mais baixa da mesma vacina e outra vacina de vírus inativado contra a poliomielite, que por sua vez apresenta uma eficácia de 99% (Weinberger B. *et al.*, 2007).

10.4. Herpes Zoster

A doença Herpes *Zoster* (HP) é causada pela reativação do vírus Varicella-Zoster cuja latência persiste nos nervos dorsais causando uma dor muitas vezes desabilitante que pode durar vários meses, inclusive pode mesmo surgir uma forma de complicação denominada neuralgia pós-herpética (Tseng H., *et al.*, 2011). A sua vacina composta por vírus atenuado e apresenta uma eficácia de aproximadamente de 64% na população idosa (Weinberger B. *et al.*, 2007). Um estudo desenvolvido por Levin M. *et al.* (2013) teve como objetivo determinar o nível imunogénico da vacina contra a HP numa população compreendida entre os 50 e os 59 anos. Demonstrando uma eficácia de 69,8% da vacina, contra os 64% evidentes na faixa etária dos 60 aos 69 anos e 38% numa população com idade superior aos 70 anos de idade. A vacina Zostavax® recomendada pela *Food and Drugs Administration* (2005) é recomendada para idosos com idade superior a 60 anos, porém não é recomendada a doentes imunocomprometidos devido a perigo de uma disseminação e reativação da doença. Porém, em pacientes imunocompetentes, recomenda-se a sua administração independentemente da história de reativação devendo-se prestar especial atenção a casos não tratados de depressão que revelam falha terapêutica (Triglav T. *and* Poljak M., 2013).

10.5. Vírus Sincicial Respiratório

O Vírus Sincicial Respiratório (RSV), que inclui dois serotipos, o A e o B, é uma das principais causas de doença respiratória em crianças e não confere reação imunitária permanente podendo existir infeções recorrentes (Alvarez R. *et al.*, 2009). Cherukuri A. *et al.* (2012) conduziram um estudo em que demonstraram que a população idosa possui menor número de Linfócitos T CD8 CD107a específicos para a proteína RSV-F levando a uma maior suscetibilidade para este vírus. A expressão dos recetores CD107 e CD107a é essencial para a secreção de moléculas citolíticas, como a perforina e a granzima B, assim como de IFN- γ . Estes autores propõem um reforço como forma de

proteger esta população. Contudo, nos idosos preocupa o fato deste vírus desencadear uma exacerbação de qualquer doença crônica, não existindo uma forma eficaz e segura de conferir uma imunização em qualquer faixa etária. A vacina viva atenuada tem-se demonstrado pouco eficaz nesta população e uma qualquer tentativa de melhorar a sua eficácia através de associação de adjuvantes tem de ser cuidadosa, pois um efeito indesejável verificado desta adjuvatação é a promoção das células Th₂ exagerada (Zeng R. *et al.*, 2012). A promessa de uma vacina inativada com a adjuvatação de uma nanoemulsão tem oferecido boas expectativas na resposta específica IgG e IgA, não existindo uma potenciação da Th₂, e os níveis de IgE não se demonstrando aumentados. Esta vacina demonstrou um aprimorar das células Th₁ e Th₁₇, aumentando a resposta de ativação de neutrófilos e na produção de anticorpos (Lindell D. *et al.*, 2011). A incorporação de citocinas como a IL-12, ou membros da sua família, como a IL-23 ou a IL-27, tem sido estudada como uma hipótese concreta de adjuvante na vacina GIF/M2 contra o RSV como reguladoras do SI. A IL-23 permite a produção de IFN- γ a partir das células Th₁ e de IL-17 a partir das células Th₁₇. A IL-27 apresenta capacidade de supressão de hiperatividade, levando a sua ausência a um exacerbar da resposta das células Th₂ potencialmente originárias de Doenças Pulmonar após a injeção com GIF/M2 (Zeng R. *et al.*, 2012). Alvarez R. *et al.* (2009) propuseram silenciar a transcrição gênica do ARNm do vírus RSV a partir da incorporação de pequeno ARN sintéticos, ARN *small interfering* (ARNsi), denominados pelos cientistas como ALN-RSV01, complementar à região codificadora para a proteína N do RSV. Esta vacina seria veiculada por incorporação nasal com uma ação local preventiva e a rápida degradação do ALN-RSV01 preveniria exposição sistêmica.

11. Conclusão

A Imunosenescência trata-se de uma diminuição da capacidade do Sistema Imunitário de responder corretamente às agressões internas e externas, devido a alterações surgidas com a idade. Estas alterações refletem-se na capacidade de resposta Inata e Adaptativa, assim como na proliferação das suas células devido a constantes estímulos ou agressões. Na Imunidade Inata, a ineficiência de transdução de sinal relaciona-se com baixa citotoxicidade das células NK e diminuição da capacidade de apresentação celular das APC's. Alia-se a estas, uma capacidade pró-inflamatória

aumentada por níveis circulatórios de agentes homólogos dos macrófagos, contribuindo para estados propícios de degeneração de tecidos e nervos. Isto, contribui para o desenvolvimento de doenças características da população idosa tais como, doenças coronárias, desenvolvimento de placa aterosclerótica e doenças cardiovasculares, assim como neurodegenerativas.

Na Imunidade Adaptativa, a involução tímica dispõe de diversas teorias, entre as quais, a perda de progenitores das TEC e diminuída capacidade de rearranjo por alterações hormonais e de citocinas, com possíveis reversões em estudo. Esta contribui para a redução de desenvolvimento de novos Linfócitos T *naïve* circulantes resultando numa inaptidão de manter o repertório dos Linfócito T, invertendo o rácio CD4/CD8. Com a idade revela-se uma progressiva acumulação de Linfócitos T CD28⁻, denotados com perda de proliferação, encurtamento de telómeros e produtores de citocinas pró-inflamatórias. Estes linfócitos denotam também uma perda de recetores de ativação TCR e surgimento de recetores caraterísticos *Natural Killer-like*.

A Inflamação consiste numa rede de resposta imunológica a um estímulo antigénico, sendo necessária para combater infeções, reparar tecidos e suprimir iniciação tumorogénica. No entanto, devido a estímulos persistentes e/ou desregulação dos mecanismos celulares caraterísticos com o avançar da idade, verifica-se uma redução de sinais anti-inflamatórios, essenciais para prevenir qualquer dano tecidual e genético. A relação existente entre Inflamação crónica caraterística da população idosa e o declínio progressivo do SI leva ao surgimento de doenças denominadas típicas do século XX, tais como doenças cardiovasculares, diabetes, demências e o cancro. A elevação da interleucina IL-6 e de TNF- α são marcadores pró-inflamatórios caraterísticos. Células senescentes inflamatórias podem induzir instabilidade genómica através da produção de espécies reativas de oxigénio e de nitrogénio. O próprio processo de Senescência é defendido como sendo uma evolução contra o progressivo mau funcionamento celular desencadeador de patologias, tumores e cancros. Todos estes fatores tornam os idosos mais propensos a doenças infecciosas com pior prognóstico e ao ressurgimento de infeções latentes, uma vez que muitas vezes estão associadas outras morbilidades sendo por isso recomendada uma vacinação preventiva. A infeção com vírus persistentes, como é o caso do CMV e do VIH, tem uma capacidade de esgotar o Sistema Imunológico acelerando o processo de Imunosenescência e conferir estados pró-inflamatórios crónicos, oferecendo uma oportunidade de estudo para a sua compreensão.

A eficácia da vacinação considerada financeiramente viável como forma de evitar morbidade e mortalidade entre a população de todas as faixas etárias, demonstra-se um pouco alterada nos idosos devido à sua mais fraca resposta imunitária que levantam questões de possível ineficácia e de propósito farmacológico. Considera-se a falta de Linfócitos T *naïve* e a fraca resposta proliferativa dos Linfócitos B como a principal causa de menor eficácia da vacinação na terceira idade e grande parte de adjuvantes utilizados procuram estimular a resposta dos Linfócitos na resposta imunológica de memória. Uma alternativa seria a de prevenir resposta inflamatória, ou auxiliar na resposta anti-inflamatória, através de citocinas anti-inflamatórias ou mesmo anti-inflamatórios. O exercício físico regular tem sido relacionado com uma melhor resposta à vacinação melhorando a capacidade proliferativa dos linfócitos T, melhora a capacidade de apresentação de antígeno das APC's e diminui a resposta pró-inflamatória crónica na população de idosos.

12. Bibliografia

- ABBAS A. K., Lichtman A. H. (2012). *Cellular and Molecular Immunology*. 7ª ed., p. 276-290.
- ABERG J. A. (2012) *Aging Inflammation, and HIV*, Volume 20, Issue 3. Disponível em <http://www.iasusa.org/sites/default/files/tam/20-3-101.pdf>.
- ALBRIGHT J. F., Albright J.W. (2003). *Aging, Immunity and Infection*, 1ª ed. Humana Press.
- ALVAREZ R., Elbashir S., Borland T., Toudjarska I., Hadwiger P., John M., Roehl I., Morskaya S. S., Martinello R., Kahn J., Van Ranst M., Tripp R. A., DeVincenzo J. P., Pandey R., Maier M., Nechev L., Manoharan M., Kotelianski V., Meyers R. (2009) RNA Interference-Mediated Silencing of the respiratory Syncytial Virus Nucleocapsid Defines a Potent Antiviral Strategy, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, p. 3952-3962.
- AGRAWAL A., Agrawal S., Cao J., Su H., Osann K., Gupta S. (2007) Altered Innate Immune Functioning of Dendritic Cells in Elderly Humans: A Role of Phosphoinositide 3-Kinase-Signaling Pathway. *Journal of Immunology*. 178:6912-6922.
- ANTROBUS R. D., Lillie P.L., Berthoud T.K., Spencer A.J., McLaren J.E., Ladell K., Lambe T., Milicic A., Price D.A., Hill A.V.S., Gilbert S.C. (2012) A T Cell- Inducing

Influenza Vaccine for the Elderly: Safety and Immunogenicity of MVA-NP+M1 in Adults Aged over 50 Years. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3485192/>

doi:10.1371/journal.pone.0048322.

APPAY V., Sauce D., Prelog M. (2010). The role of the thymus in immunosenescence: lessons from the study of thymectomized individuals. *Aging*, Vol. 2, Nº2. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20354268>.

AROSA A. F., Cardoso E. M., Pacheco F.C., *Fundamentos de Imunologia*, 1ª ed., Lidel - Ed. Técnicas Lda., 2007 p.21- 35, p-63-87.

AW D., Silva A.B., Palmer D.B., (2010). The Effect of Age on the Phenotype and Function of Developing Thymocytes. *Journal Comp. Pathology*. v. 142 Suppl 1:S45-59.

AW D., Palmer D.B., (2011) The Origin and Implication of Thymic Involution. *Aging Disease*. Vol. 2 Number 5:437-443.

BAKER D.J., Perez-Terzic C., Jin F., Pitel K.S., Niederländer N.J., Jeganathan K., Yamada S., Reyes S., Rowe L., Hiddinga H.J., Eberhardt N.L., Terzic A., van Deursen J.M. (2008) Opposing roles for p16ink4a and p19 arf in senescence and ageing caused by BubR1 insufficiency. *Nat. Cell Biol.*, 10(7):825-836, doi: 10.1038/ncb1744.

BAKER D.J., Wijshake T., Tchkonja T., LeBrasseur N.K., Childs B.G., van de Sluis B., Kirkland J.L., van Deursen J.M. (2011) Clearance of p16ink4a positive senescent cells delays ageing-associated disorders., *Nature*, 479, (7372): 232–236. doi:10.1038/nature10600.

BEENAKKER K.G., Westendorp R.G., de Craen A. J., Slagboom P. E., van Heemst D., Maier A.B. (2013). Pro-inflammatory capacity of classically activated monocytes relates positively to muscle mass and strength. *Aging Cell*. pp. 1-8, doi: 10.1111/accel.12095.

BIRJANDI S.Z., Ippolito J.A., Ramadorai A.K., Witte P.L. (2011) Alterations in Marginal Zone Macrophages and Marginal Zone B Cells in Old Mice. *Journal of Immunology*, 186(6):3441-51, doi: 10.4049/jimmunol.1001271.

BRATIC A., Larsson N.G. (2013) The Role of mitochondria in aging. *Journal Clin. Investigation*, 123 (3) :951-7. doi: 10.1172/JCI64125.

BUTCHER S.K., Chahal H., Nayak L., Sinclair A., Henriquez N.V., Sapey E., O'Mahony O., Lord J.M. (2011) Senescence in innate immune responses: reduced

neutrophil phagocytic and DC16 expression in elderly humans. *Mech Ageing Dev.* 132(4): 163-170., Doi:10.1016.

CALDERONE Z.T., Stojakovic M., Dewan R., Le Boudier G., Jankovic D., Vukmanovic S. (2012) Age-related accumulation of T cells with markers of relatively autoreactivity leads to functional erosion of T cells., *BMC Immunology*. Disponível em <http://www.biomedcentral.com/1471-2172/13/8>.

CAMOUS X., Pera A., Solana R., Larbi A. (2012) *NK Cells in Healthy Aging and Age-Associated Diseases.*, Journal of Biomedicine & Biotechnology. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1155/2012/195956>

CANCRO M.P., Hao Y., Scholz J.L., Riley R.L., Frasca D., Dunn-Walters D.K., Blomberg B.B., (2009) *B cells and aging: molecules and mechanisms.*, Trends Immunol., 30(7):313-8. doi: 10.1016/j.it.2009.04.005.

CANDORE G., Caruso C., Colonna-Romano G. (2010) Inflammation, genetic background and longevity., *Biogerontology*, 11:565-573. DOI:10.1007/s10522-010-9286-3.

CANNIZO E.S., Clement C.C., Sahu R., Follo C., Santambrogio L., *Oxidative stress, inflamm-aging and immunosenescence.*, Journal of Proteomics 74, 2011, pp. 2313-2323.

CARCELAIN G., Autran B. (2013) Immune interventions in HIV infection., *Immunol. Rev.*, 254(1):355-71. doi: 10.1111/imr.12083.

CHAN A., Hong D.L., Atzberger A., Kollnberger S., Filer A.D., Buckley C.D., McMichael A., Enver T., Bowness P., (2007) CD56 bright Human NK Cells Differentiate into CD56 dim Cells: Role of contact with Peripheral Fibroblasts., *J. Immunol.* 179(1):89-94.

CHATTERJEE V., Gashev A.A., (2012) . Aging-associated shifts in functional status of mast cells located by adult and aged mesenteric lymphatic vessels. *Am J. Physiol. Heart Circ Physiol.*, 303(6):H693-702. doi: 10.1152/ajpheart.00378.2012.

CHERUKURI A., Patton K., Gasser R.A. Jr., Zuo F., Woo J., Esser M.T., Tang R.S., (2013) Adults 65 Years Old and Older Have Reduced Numbers of Functional Memory T Cells to Respiratory Syncytial Virus Fusion Protein., *Clin. Vaccine Immunol.*, 20(2):239-47. doi: 10.1128/CVI.00580-12.

CHINN I.K., Blackburn C.C., Manley N.R., Sempowski G.D., (2012). Changes in primary lymphoid organs with aging., *Semin Immunol.*, 24(5): 309-20.

- CHOU J.P., Effros R.B., (2013) T Cell Replicative Senescence in Human Aging., *Curr. Pharm.* 19(9):1680-98. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3749774/>
- CHOU J.P. , Ramirez C.M. , Wu J.E., Effros R.B., (2013) Accelerated Aging in HIV/AIDS: Novel Biomarkers of Senescent Human CD8+ T Cells., *PLoS ONE*, Vol. 8, Issue 5: e64702. Disponível em <http://www.biomedsearch.com/attachments/00/23/71/76/23717651/pone.0064702.pdf>
- CICIN-SAIN L., Brien J.D., Uhrlaub J.L., Drabig A., Marandu T.F., Nikolich Zugich-J. (2012). Cytomegalovirus Infection Impairs Immune Responses and Accentuates T-cell Pool Changes Observed in Mice with Aging., *PLoS Pathog.*, doi: 10.1371/journal.ppat.1002849.
- COPPÉ J.P., Rodier F., Patil C.K., Freund A., Desprez P.Y., Campis J.I. (2011) Tumor Suppressor and aging Biomarker p16 INK4a Induces Cellular Senescence without the Associated Inflammatory Secretory Phenotype., *J. Biol. Chem.*, 286:36396-36403. doi: 10.1074/jbc.M111.257071.
- DALE D.C., Boxer L., Liles W.C. (2013) The phagocytes: neutrophils and monocytes. *Blood Journal*. Disponível em bloodjournal.hematologylibrary.org.
- DAY C.L., Kaufmann D.E., Kiepiela P., Brown J.A., Moodley E.S., Reddy S., Mackey E.W., Miller J.D., Leslie A.J., DePierres C., Mncube Z., Duraiswamy J., Zhu B., Eichbaum Q., Altfeld M., Wherry E.J., Coovadia H.M., Goulder P.J.R., Klenerman P., Ahmed R., Freeman G.J., Walker B.D. (2006) PD-1. expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature* 443, 350-354 doi:10.1038/nature05115.
- DEEKS S.G., Verdin E., McCune J.M., (2012) Immunosenescence and HIV. *Curr. Opin. Immunol.*, 24(4):501-6. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22658763>
- DIXIT V.D., (2010). Thymic Fatness and Approaches to Enhance Thymopoietic Fitness in Aging., *Curr. Opin. Immunol.*, 22(4):521-8, doi: 10.1016/j.coi.2010.06.010.
- DERHOVANESSIAN E., Maier A.B., Hähnel K., Beck R., de Craen A.J., Slagboom E.P., Westendorp R.G., Pawelec G., (2011) Infection with cytomegalovirus but not herpes simplex virus induces the accumulation of late-differentiated Cd4+ and CD8+ T-cells in humans., *Journal of General Virology*, v. 92, p. 2746-2756.

DOCK J.N., Effros R.B., (2011) Role of CD8 Cell Replicative Senescence in Human Aging and in HIV- mediated immunosenescence., *Aging and Disease*, Vol.2, Number 5, p. 382-397.

DORRINGTON M.G., Bowdish D.M. (2013) Immunosenescence and novel vaccination strategies for the elderly., *Front. Immunol.*, doi: 10.3389/fimmu.2013.00171.

ESPINO J., Pariente J.A., Rodríguez A.B., (2012) Oxidative Stress and Immunosenescence: Therapeutic Effects of Melatonin., *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 670294, 9 pags., doi.10.1155/2012/670294.

FAUCE S.R., Jamieson B.D., Chin A.C., Mitsuyasu R.T., Parish S.T., Ng H.L., Kitchen C.M., Yang O.O., Harley C.B., Effros R.B. (2008) Telomerase-Based Pharmacologic Enhancement of Antiviral Function of Human CD8+ T Lymphocytes., *J. Immunol.*, 181(10):7400-6.

FOCOSI D., Bestagno M., Burrone O., Petrini M., (2010) CD57+ T lymphocytes and functional immune deficiency., *J. Leukoc. Biol.* 87(1):107-16. doi: 10.1189/jlb.0809566.

FRASCA D., Blomberg B.B. (2011) Aging Impairs Murine B Cell Differentiation and Function in Primary and Secondary Lymphoid Tissues., *Aging Dis.*, 2(5): p. 361–373.

FRASCA D., Diaz A., Romero M., Landin A.M., Blomberg B.B. (2011) Age effects on B cells and humoral immunity in humans., *Ageing Res.* 10(3):330-5. doi: 10.1016/j.arr.2010.08.004.

FRASCA D., Landin A.M., Lechner S.C., Ryan J.G., Schwartz R., Riley R.L., Blomberg B.B. (2008) Aging Down-Regulates the Transcription Factor E2A, Activation-Induced Cytidine Deaminase, and Ig Class Switch in Human B Cells., *J. Immunol.* 180(8):5283-90.

FRASCA D., Landin A.M., Riley R.L., Blomberg B.B., (2008) Mechanisms for Decreased Function of B Cells in Aged Mice and Humans., *J. Immunol.* 180(5): p. 2741-6.

FRASCA D., Romero M., Diaz A., Alter-Wolf S., Ratliff M., Landin A.M., Riley R.L., Blomberg B.B. (2002) A molecular mechanism for TNF- α - mediated down-regulation of B cell responses., *J. Immunol.*, 188(1):279-86. doi: 10.4049/jimmunol.1003964.

FREUND A., Patil C.K., Campisi J., (2011) P38MAPK is a novel DNA damage response-independent regulator of the senescence-associated secretory phenotype., *EMBO J.*, 30(8):1536-48, doi: 10.1038/emboj.2011.69.

- GARFIN P.M., Min D., Bryson J.L., Serwold T., Edris B., Blackburn C.C., Richie E.R., Weinberg K.I., Manley N.R., Sage J., Viatour P., (2013) Inactivation of the RB family prevents thymus involution and promotes thymic function by direct control of Foxn1 expression., *J. Exp. Med.*, 210(6):1087-97.
- GAYOSO I., Sanchez-Correa B., Campos C., Alonso C., Pera A., Casado J.G., Morgado S., Tarazona R., Solana R., (2011) Immunosenescence of Human Natural Killer Cells., *J. Innate Immun.*, 3(4):337-43, doi: 10.1159/000328005.
- GIBSON K.L., Wu Y.C., Barnett Y., Duggan O., Vaughan R., Kondeatis E., Nilsson B.O., Wikby A., Kipling D., Dunn-Walters D.K., (2008) B-Cell diversity decreases in old age and is correlated with poor health status, *Aging Cell.* 8(1):18-25. doi: 10.1111/j.1474-9726.2008.00443.x.
- GOLDSTEIN J.D., Pérol L., Zaragoza B., Baeyens A., Marodon G., Piaggio E., (2013) Role of cytokines in thymus- versus peripherally derived-regulatory T cell differentiation and function., *Front Immunol.* 4:155.
- GONÇALVES C., Bairos V. (2007) *Histologia, Texto e Imagens, Histologia Histogênese Organogênese.* Coimbra, Imprensa da Universidade, 2ª ed, p. 165-184.
- GRIZZI F., Di Caro G., Laghi L., Hermonat P., Mazzola P., Nguyen D.D., Radhi S., Figueroa J.A., Cobos E., Annoni G., Chiriva-Internati M., (2013) Mast cells and the liver aging process., *Immun. Ageing.* 10(1):9.
- GRUVER A.L., Sempowski G.D., (2008) Cytokines, leptin, and stress-induced thymic atrophy., *J. Leukoc. Biol.* 84(4):915-23.
- GUO J., Feng Y., Barnes P., Huang F.F., Idell S., Su D.M., Shams H. (2012) Deletion of FoxN1 in the thymic Medullary Epithelium Reduces Peripheral T Cell Responses to Infection and Mimics Changes of Aging., *PLoS One.* 2012; 7(4):e34681.
- HAAS K.M., Blevins M.W., High K.P., Pang B., Swords W.E., Yammani R.D., (2013) Aging Promotes B-1b Cell Responses to Native but not Protein- Conjugated, Pneumococcal Polysaccharides: Implications for Vaccine Protection in Older Adults., *J. Infect Dis.*
- HAASE H., Rink L. (2009) The Immune System and the impact of zinc during aging., *Immun. Ageing.*, 6:9. doi: 10.1186/1742-4933-6-9.
- HAIHOE R.P., Henson S.M., Akbar A.N., Palmer D.B. (2010) Variation of human natural killer cell phenotypes with age: Identification of a unique KLRG1-negative subset., *Hum. Immunol.*, 71 (7) :676-81.

HEARPS A.C., Maisa A., Cheng W.J., Angelovich T.A., Lichtfuss G.F., Palmer C.S., Landay A.L., Jaworowski A., Crowe S.M. (2012) HIV infection induces age-related changes to monocytes and innate immune activation in young men that persist despite combination antiretroviral therapy., *AIDS*. 26(7): p. 843-53.

HEARPS A.C., Martin G.E., Angelovich T.A., Cheng W.J., Maisa A., Landay A.L., Jaworowski A., Crowe S.M. (2012) Aging is associated with chronic innate immune activation and dysregulation of monocyte phenotype and function., *Aging Cell*. 11(5):867-75., doi: 10.1111/j.1474-9726.2012.00851.x.

HENSON S.M., Franzese O., Macaulay R., Libri V., Azevedo R.I., Kiani-Alikhan S., Plunkett F.J., Masters J.E., Jackson S., Griffiths S.J., Pircher H.P., Soares M.V., Akbar A.N. (2009) KLRG1 signaling induces defective Akt(ser473) phosphorylation and proliferative dysfunction of highly differentiated CD8+ T cells., *Blood*., 25;113(26):6619-28.

HESDORFFER C.S., Malchinkhuu E., Biragyn A., Mabrouk O.S., Kennedy R.T., Madara K., Taub D.D., Longo D.L., Schwartz J.B., Ferrucci L., Goetzl E.J., Distinctive immunoregulatory effects of adenosine on T cells of older humans., *FASEB Journal*. 26(3):1301-10.

HIRAKATA A., Okumi M., Griesemer A.D., Shimizu A., Nobori S., Tena A., Moran S., Arn S., Boyd R.L., Sachs D.H., Yamada K. (2010) Reversal of Age-related Thymic involution by an LHRH Agonist in Miniature Swine., *Transpl. Immunol.*, 24(1):76-81, doi: 10.1016/j.trim.2010.08.001.

HOHENSINNER P.J., Goronzy J.J., Weyand C.M., (2011) Telomere Dysfunction, Autoimmunity and Aging., *Aging Dis.*, 2(6): p. 524–537.

IOB A., Brianti G., Zamparo E., Gallo T. (2005). Evidence of increased clinical protection of an MF59-adjuvant influenza vaccine compared to a non-adjuvant vaccine among elderly residents of long-term care facilities in Italy., *Epidemiol. Infect.* 133(4): 687–693.

KEREN Z., Averbuch D., Shahaf G., Zisman-Rozen S., Golan K., Itkin T., Lapidot T., Mehr R., Melamed D. (2011). Chronic B Cell Deficiency from Birth Prevents Age-Related Alterations in the B Lineage., *J. Immunol.*, 187(5):2140-7., doi: 10.4049/jimmunol.1100999.

KEREN Z., Naor S., Nussbaum S., Golan K., Itkin T., Sasaki Y., Schmidt-Suprian M., Lapidot T., Melamed D. (2011) B-cell depletion reactivates B lymphopoiesis in the BM rejuvenates the B lineage in aging., *Blood*., 117(11):3104-12.

- KIECOLT-GLASER J.K., Preacher K.J., MacCallum R.C., Atkinson C., Malarkey W.B., Glaser R. (2003) Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 100(15): p. 9090-5.
- KOBAYASHI A., Donaldson D.S., Erridge C., Kanaya T., Williams I.R., Ohno H., Mahajan A., Mabbott N.A. (2013) The functional maturation of M cells is dramatically reduced in the Peyer`s patches of aged mice, *Mucosal Immunology*, v. 6, p. 1027–1037; doi:10.1038/mi.2012.141.
- KUILMAN T., Peeper D.S. (2009) Senescence-messaging secretome: SMS-ing cellular stress., *Nat. Rev. Cancer.*, 9(2): p. 81-94, doi: 10.1038/nrc2560.
- KUILMAN T., Michaloglou C., Mooi W.J., Peeper D.S., (2010) The essence of senescence., *Genes Dev.*, 24 (22): p. 2463-79, doi: 10.1101/gad.1971610.
- KUMAR R., Avagyan S., Snoeck H.W. (2010) A Quantitative Trait Locus on chr.4 Regulates Thymic Involution., *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, 65(6): p. 620-5, doi: 10.1093/gerona/glq041.
- JANEWAY Jr. C. A., Travers P., Walport M., Shlomchik M., *Immunobiology: the immune system in health and disease*, 6^a ed, Garland Science, 2005, p.12-14.
- JOHNSON P. L., Yates A.J., Goronzy J.J., Antia R. (2012) Peripheral selection rather than thymic involution explains sudden contraction in naive Cd4 T-cell diversity with age., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 109(52): p. 21432-7, doi: 10.1073/pnas.1209283110.
- JUNQUEIRA L.C., Carneiro J., *Histologia Básica, texto/atlas*, Guanabara, Koogan, 11^aed, 2008; p. 240/ 262-75.
- LABERGE R.M., Zhou L., Sarantos M.R., Rodier F., Freund A., de Keizer P.L., Liu S., Demaria M., Cong Y.S., Kapahi P., Desprez P.Y., Hughes R.E., Campisi J.. (2012) Glucocorticoids suppress Selected Components of the Senescence-Associated Secretory Phenotype., *Aging Cell.*, 11(4): p. 569-78, doi: 10.1111/j.1474-9726.2012.00818.x.
- LAMBERT N.D., Ovsyannikova I.G., Pankratz V.S., Jacobson R.M., Poland G.A., (2012) Understanding the immune response to seasonal influenza vaccination in older adults: a systems biology approach., *Expert Rev. Vaccines.*, 11(8): p. 985-94.
- LANDIN A. M., Frasca D., Harrison P., Scallan M., Riley R.L., Blomberg B.B. (2011) E47 retroviral rescue of intrinsic B-cell defects in senescent mice., *Aging Cell.*, 10(2): p. 327-37, doi: 10.1111/j.1474-9726.2011.00673.x.
- LANG P.O., Mendes A., Socquet J., Assir N., Govind S., Aspinall R., (2012) Effectiveness of influenza vaccine in aging and older adults: comprehensive analysis of the evidence., *Clin. Interv. Aging.*, 7: p. 55-64, doi: 10.2147/CIA.S25215.

- LANTNER F., Starlets D., Gore Y., Flaishon L., Yamit-Hezi A., Dikstein R., Leng L., Bucala R., Machluf Y., Oren M., Shachar I. (2007) CD74 induces Tap63 expression leading to B-cell survival, *Blood.*, 110(13): p. 4303-11.
- LE GARFF-TAVERNIER M., Béziat V., Decocq J., Siguret V., Gandjbakhch F., Pautas E., Debré P., Merle-Beral H., Vieillard V. (2010) Human NK cells display major phenotypic and functional changes over the life span., *Aging Cell.*, 9(4): p. 527-35, doi: 10.1111/j.1474-9726.2010.00584.x.
- LE SAUX S., Weyand C.M., Goronzy J.J. (2012) Mechanisms of immunosenescence: lessons from models of accelerated immune aging.. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 21247: p. 69-82, doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.06297.x.
- LEVIN M. J., Schmader E., Gnann J., McNeil S., Vesikari T., Betts R., Keay S., Stek J., Bundick N., Su S., Zhao Y., Li X., Chan I., Annunziato P., Parrinos J., (2013) Varicella-Zoster Virus-Specific Antibody Responses in 50-59 Year Old Recipients of Zoster Vaccine, *J. Infect Dis.*, 208(9): p. 1386-1390.
- LI G., Yu M., Lee W.W., Tsang M., Krishnan E., Weyand C.M., Goronzy J.J. (2012) Decline in miR-181a expression with age impairs T cell receptor sensitivity by increasing DUSP6 activity, *Nat. Med.*, 18(10): p. 1518-24, doi: 10.1038/nm.2963.
- LI G., Yu M., Weyand C.M., Goronzy J.J., (2009) Epigenetic regulation of killer immunoglobulin-like receptor expression in T cells., *Blood.*, 114(16): p. 3422-30.
- LI R., Fang H., Li Y., Liu Y., Pellegrini M., Podda A. (2008) Safety and immunogenicity of an MF59tm-adjuvanted subunit influenza vaccine in elderly Chinese subjects., *Immunity & Ageing*, 5:2, doi:10.1186/1742-4933-5-2.
- LIM A., French M.A., Price P. (2009) CD4+ and CD8+T Cells Expressing Fox P3 in HIV-Infected Patients Are Phenotypically Distinct and Influenced by Disease Severity and Antiretroviral Therapy., *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.*, 1;51(3): p. 248-57, doi: 10.1097/QAI.0b013e3181a74fad.
- LINDELL D.M., Morris S.B., White M.P., Kallal L.E., Lundy P.K., Hamouda T., Baker J.R. Jr., Lukacs N.W. (2011) A Novel Inactivated Intranasal Respiratory Syncytial Virus Vaccine Promotes Viral Clearance without Th2 Associated Vaccine-Enhanced Disease., *PLoS One.*, 6(7):e21823, doi: 10.1371/journal.pone.0021823.
- LÓPEZ-ARMADA M.J., Riveiro-Naveira R.R., Vaamonde-García C., Valcárcel-Ares M.N. (2013) Mitochondrial dysfunction and the inflammatory response., *Mitochondrion.*, 13(2):106-18, doi: 10.1016/j.mito.2013.01.003.

- MACAULAY R., Akbar A.N., Henson S.M., (2013) The role of the T cell in age-related inflammation., *Age*, 35(3): p. 563-72, doi: 10.1007/s11357-012-9381-2.
- MAHBUB S., Brubaker A.L. (2011) Kovacs E.J., Aging of the Innate Immune System: An Update., *Curr. Immunol. Rev.*, 7(1): p. 104-115.
- MALE D., Brostoff J., Roth D., Roit I. (2006) *Immunology*, 7^a ed., Mosby-Elsevier, p. 19-155.
- MAZZOLA P., Radhi S., Mirandola L., Annoni G., Jenkins M., Cobos E., Chiriva Internati-M, (2012) Aging, cancer, and cancer vaccines. *Immunity & Ageing*, 9:4 doi:10.1186/1742-4933-9-4.
- MCGHEE J.R., Fujihashi K. (2012) Inside the Mucosal Immune System. *PLoS Biol.*, doi:10.1371/journal.pbio.1001397.
- MEHR R., Melamed D., (2011) Reversing B cell aging., *Aging*, 3(4): p. 438-443.
- MORO-GARCÍA M.A., Alonso-Arias R., López-Larrea C. (2012) Molecular Mechanisms Involved in the Aging of the T-cell Immune Response., *Curr. Genomics*, Dec;13(8): p.589-602, doi: 10.2174/138920212803759749.
- MORO-GARCÍA M.A., Alonso-Arias R., López-Larrea C. (2013) When aging reaches CD4+T-cells: phenotypic and functional changes., *Front. Immunol.*, vol. 4, p.107, doi: 10.3389/fimmu.2013.00107.
- MICHAUD M., Balardy L., Moulis G., Gaudin C., Peyrot C., Vellas B., Cesari M., Nourhashemi F. (2013) Proinflammatory Cytokines, Aging, and Age-Related Diseases., *J. Am. Med. Dir. Assoc.*, doi: 10.1016/j.jamda.2013.05.009.
- NAPOLITANO L.A., Schmidt D., Gotway M.B., Ameli N., Filbert E.L., Ng M.M., Clor J.L., Epling L., Sinclair E., Baum P.D., Li K., Killian M.L., Bacchetti P., McCune J.M. (2008) Growth hormone enhances thymic function in HIV-1-infected adults., *J. Clin. Invest.*, 118(3): p. 1085-98, doi: 10.1172/JCI32830.
- OSTERLUND P., Veckman V., Sirén J., Klucher K.M., Hiscott J., Matikainen S., Julkunen I. (2005) Gene expression and Antiviral Activity of Alpha/Beta Interferons and Interleukin-29 in Virus-Infected Human Myeloid Dendritic Cells., *J. Virol.*, 79(15): p. 9608-17.
- PAPADOPOULOU A.S., Dooley J., Linterman M.A., Pierson W., Ucar O., Kyewski B., Zuklys S., Hollander G.A., Matthys P., Gray D.H., De Strooper B., Liston A. (2011) The thymic epithelial microRNA network elevates the threshold for infection-associated thymic involution via miR-29a-mediated suppression of interferon alpha receptor., *Nat. Immunol.*, 13(2): p.181-7, doi: 10.1038/ni.2193.

- PARHAM P. (2009) *The Immune System*, 3^o ed, Garland Science, p. 146- 149.
- PARISH S. T., Kim S., Sekhon R.K., Wu J.E., Kawakatsu Y., Effros R.B., (2010) Adenosine Deaminase Modulation of Telomerase Activity and Replicative Senescence in Human CD8 T Lymphocytes., *J. Immunol.*, 184(6): p. 2847-54, doi: 10.4049/jimmunol.0903647.
- PARISH S.T., Wu J.E., Effros R.B., Modulation of T Lymphocyte Replicative Senescence via TNF- α Inhibition: Role of Caspase-3., *J. Immunol.*, 2009, Apr. 1;182(7): p.4237-43, doi: 10.4049/jimmunol.0803449.
- PARISH S.T., Wu J.E., Effros R.B. (2010). Sustained CD28 Expression Delays Multiple Features of Replicative Senescence in Human CD8 T Lymphocytes., *J. Clin. Immunol.*, 30(6): p.798-805, doi: 10.1007/s10875-010-9449-7.
- PARK J.B., (2003) Phagocytosis induces superoxide formation and apoptosis in macrophages., *Exp. Mol. Med.*,35(5): p. 325-35.
- PENFIELD J.D., Anderson M., Lutzke L., Wang K.K. (2013) The Role of Cellular Senescence in the Gastrointestinal Mucosa., *Gut Liver.* 7(3):270-7, doi: 10.5009/gnl.2013.7.3.270.
- PINKE K.H., Calzavara B., Faria P.F., do Nascimento M.P., Venturini J., Lara V.S. (2013) Proinflammatory profile of in vitro monocytes in the ageing is affected by lymphocytes presence., *Immun. Ageing.*, 10(1): p. 22, doi: 10.1186/1742-4933-10-22.
- PLUNKETT F.J., Franzese O., Finney H.M., Fletcher J.M., Belaramani L.L., Salmon M., Dokal I., Webster D., Lawson A.D.G., Akbar A.N. (2007) The Loss of Telomerase Activity in Highly Differentiated CD8+CD28-CD27T Cells Is Associated With Decreased Akt (Ser473) Phosphorylation., *J. Immunol.* 178: p. 7710-7719.
- PRELOG M. (2013) Differential Approaches for Vaccination from Childhood to Old Age., *Gerontology.* 59(3): p.230-9, doi: 10.1159/000343475.
- PRIEUR A, Peeper D.S. (2008) Cellular senescence in vivo: a barrier to tumorigenesis., *Curr. Opin. Cell Biol.*, 20(2): p. 150-5, doi: 10.1016/j.ceb.2008.01.007.
- RAYNOR J., Sholl A., Plas D.R., Bouillet P., Chougnet C.A., Hildeman D.A. (2013) IL-15 fosters age-driven regulatory T cell accrual in the face of declining IL-2 levels., *Front. Immunol.*, 24;4: p.161, doi: 10.3389/fimmu.2013.00161.
- RAULET D.H., Guerra N. (2009) Oncogenic stress sensed by the immune system: role of NK cell receptors., *Nat. Rev. Immunol.* 9(8), p. 568-580 doi:10.1038/nri2604.
- MONTECINO-RODRIGUEZ E., Dorshkind K (2012), B-1 B Cell Development in the

- Fetus and Adult., *Immunity.*, 36(1) p. 13-21doi: 10.1016/j.immuni.2011.11.017.
- SAMBHARA S., McElhaney J.E. (2009) Immunosenescence and Influenza Vaccine Efficacy., *Curr. Top Microbiol. Immunol.* 333: p. 413-29, doi: 10.1007/978-3-540-92165-3_20.
- SCHAAP L.A., Pluijm S.M., Deeg D.J., Harris T.B., Kritchevsky S.B., Newman A.B., Colbert L.H., Pahor M., Rubin S.M., Tylavsky F.A., Visser M. (2009) Higher Inflammatory Marker Levels in Older Persons: Associations With 5-Year Change in Muscle Mass and Muscle Strength, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, 64(11): p. 1183-9, doi: 10.1093/gerona/glp097.
- SCHETTER A.J., Heegaard N.H., Harris C.C. (2010) Inflammation and câncer: interweaving microRNA, free radical, cytokine and p53 pathways., *Carcinogenesis.*, 31(1): p.37-49, doi: 10.1093/carcin/bgp272.
- SHURIN M.R., Shurin G.V., Chatta G.S. (2007) Aging and the Dendritic Cell System: Implications for Cancer, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 64(2): p. 90-105.
- SIMPSON R.J., Lowder T.W., Spielman G., Bigley A. B., LaVoy E.C., Kunz H. (2012) Exercise and the Aging Immune System, *Ageing Res. Rev.*, 11(3): p. 404-20. doi: 10.1016/j.arr.2012.03.003.
- SIRÉN J., Pirhonen J., Julkunen I., Matikainen S., (2005) IFN- α Regulates TLR-Dependent Gene Expression of IFN- α ,IFN- β ,IL-28, and IL-29., *J. Immunol.*, 174(4): p. 1932-7.
- SMITH R.L. , de Boer R. , Brul S., Budovskaya Y., van Spek H. (2013) Premature and accelerated aging: HIV or HAART?, *Front. Genet.*, 3: p. 328, doi: 10.3389/fgene.2012.00328.
- SØGAARD O.S., Lohse N., Harboe Z.B., Offersen R., Bukh A.R., Davis H.L., Schønheyder H.C., Østergaard L. (2010) Improving the Immunogenicity of Pneumococcal Conjugate Vaccine in HIV-Infected Adults with a Toll-Like receptor 9 Agonist Adjuvant: A Randomized, Controlled Trial., *Clin. Infect. Dis.*, 51 (1): p. 42-50, doi: 10.1086/653112.
- SOLANA R., Tarazona R., Gayoso I., Lesur O., Dupuis G., Fulop T., (2012) Innate Immunosenescence: Effect of aging on cells and receptors of the innate immune system in humans., *Semin. Immunol.*, 24(5): p. 331-41, doi: 10.1016/j.smim.2012.04.008.
- SRIDHARAN A., Esposito M., Kaushal K., Tay J., Osann K., Agrawal S., Gupta S., Agrawal A. (2011) Aged-associated impaired plasmacytoid dendritic cell functions

lead to decreased CD4 and CD8 T cell immunity., *Age (Dordr)*., 33(3): p. 363-76, doi: 10.1007/s11357-010-9191-3.

STRIOGA M., Pasukoniene V., Characiejus D. (2011) CD8+ CD28- and CD57+ T cells and their role in health and disease., *Immunology*., 134(1): p. 17-32, doi: 10.1111/j.1365-2567.2011.03470.x.

TANG Q., Koh L.K., Jiang D., Schwarz H., (2013) CD137 ligand reverse signaling skews hematopoiesis towards myelopoiesis during aging., *Aging (Albany NY)*, 8;5(8).

TAUB D.D., Murphy W.J., Longo D.L. (2010) Rejuvenation of the Aging Thymus: Growth Hormone-and Ghrelin-Mediated Signaling Pathways., *Curr. Opin. Pharmacol.*, 10(4):408-24, doi: 10.1016/j.coph.2010.04.015.

TCHKONIA T., Zhu Y., van Deursen J., Campisi J., Kirkland J.L. (2013). Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities., *J. Clin. Invest.*, 123(3): p.966-72, doi: 10.1172/JCI64098.

TEYSSIER J.R., Chauvet-Gelinier J.C., Ragot S., Bonin B. (2012). Up-Regulation of leucocytes Genes Implicated in Telomere Dysfunction and Cellular Senescence Correlates with Depression and Anxiety Severity Scores., *PLoS ONE* vol. 7. doi:10.1371/journal.pone.0049677.

TRIFUNOVIC A., Hansson A., Wredenberg A., Rovio A.T., Dufour E., Khvorostov I., Spelbrink J.N., Wibom R., Jacobs H.T., Larsson N.G. (2005). Somatic mtDNA mutations cause aging phenotypes without affecting reactive oxygen species production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 102(50): p.17993-8.

TRIFUNOVIC A., Larsson N.G. (2008) Mitochondrial dysfunction as a cause of ageing., *J. Intern. Med.*, 263(2): p. 167-78, doi: 10.1111/j.1365-2796.2007.01905.x.

TRIGLAV T., Poljak M. (2013) Vaccination indications and limits in the elderly, *Acta Dermatovenerol Alp. Panonica Adriat.* 22(3): p. 65-70

TSENG H.F. , Smith N., Harpaz R., Bialek S.R., Sy L.S., Jacobsen S.J. (2011). Herpes Zoster Vaccine in Older Adults and the Risk of Subsequent Herpes Zoster Disease., *JAMA.* 305 (2) : p. 160-6, doi: 10.1001/jama.2010.1983.

VADASZ Z., Haj T., Kessel A., Toubi E. (2013) Age-related autoimmunity., *BMC Med.*, 11: p. 94, doi: 10.1186/1741-7015-11-94.

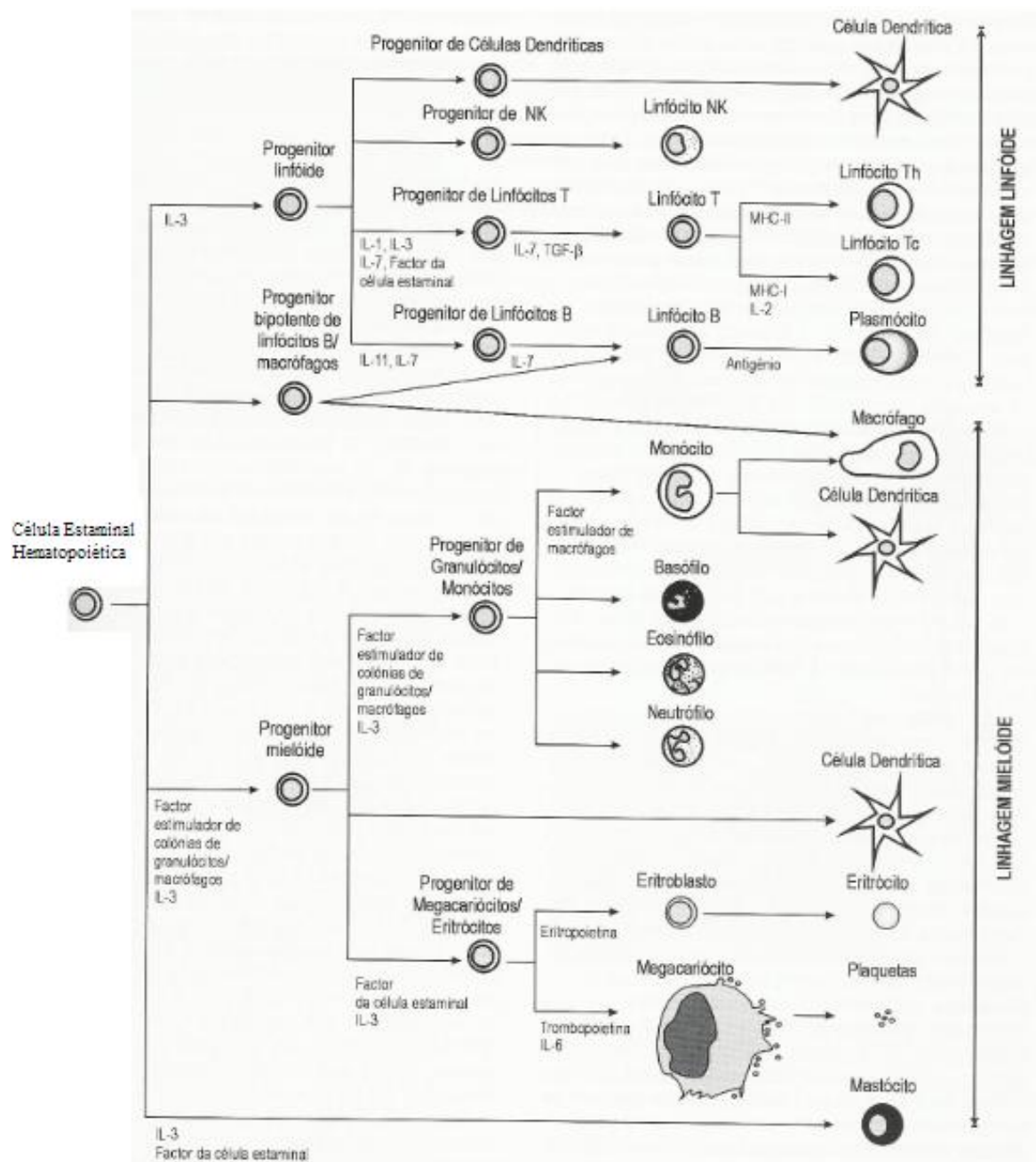
WANG B.Z., Gill H.S., Kang S.M., Wang L., Wang Y.C., Vassilieva E.V., Compans R.W. (2012) Enhanced Influenza Virus-Like Particle Vaccines Containing the Extracellular Domain of Matrix Protein 2 and Toll-Like Receptor Ligand., *Clin. Vaccine Immunol.*, vol. 19, no. 8 1119-1125, doi:10.1128/CVI.00153-12.

- WILLIAMS-BEY Y., Jiang J., Murasko D.M. (2011) Expansion of Regulatory T cells in Aged Mice following Influenza Infection., *Mech. Ageing Dev.* 132(4): p.163-70, doi: 10.1016/j.mad.2011.03.001.
- YANG H., Youm Y.H., Dixit V.D. (2009). Inhibition of Thymic Adipogenesis by Caloric Restriction Is Coupled with Reduction in Age-Related Thymic Involution., *J. Immunol.*, 183(5): p.3040-52, doi: 10.4049/jimmunol.0900562.
- YOUM Y.H., Yang H., Sun Y., Smith R.G., Manley N.R., Vandanmagsar B., Dixit V.D. (2009). Deficient Ghrelin Receptor-mediated Signaling Compromises Thymic Stromal Cell Microenvironment by Accelerating Thymic, *Adiposity*, *J. Biol. Chem.*, 284(11): p.7068-77, doi: 10.1074/jbc.M808302200.
- YANG H., Youm Y.H., Sun Y., Rim J.S., Galbán C.J., Vandanmagsar B., Dixit V.D. (2009). Axin expression in thymic stromal cells contributes to an age-related increase in thymic adiposity and is associated with reduced thymopoiesis independently of ghrelin signaling., *J. Leukoc. Biol.*, 85(6): p. 928-38, doi: 10.1189/jlb.1008621.
- ZENG R., Zhang H., Hai Y., Cui Y., Wei L., Li N., Liu J., Li C., Liu Y. (2012). Interleukin-27 inhibits vaccine-Enhanced Pulmonary Disease following Respiratory Syncytial Virus Infection by regulating Cellular Memory Responses., *J. Virol.*, 86(8): p. 4505-17, doi: 10.1128/JVI.07091-11.

ANEXOS

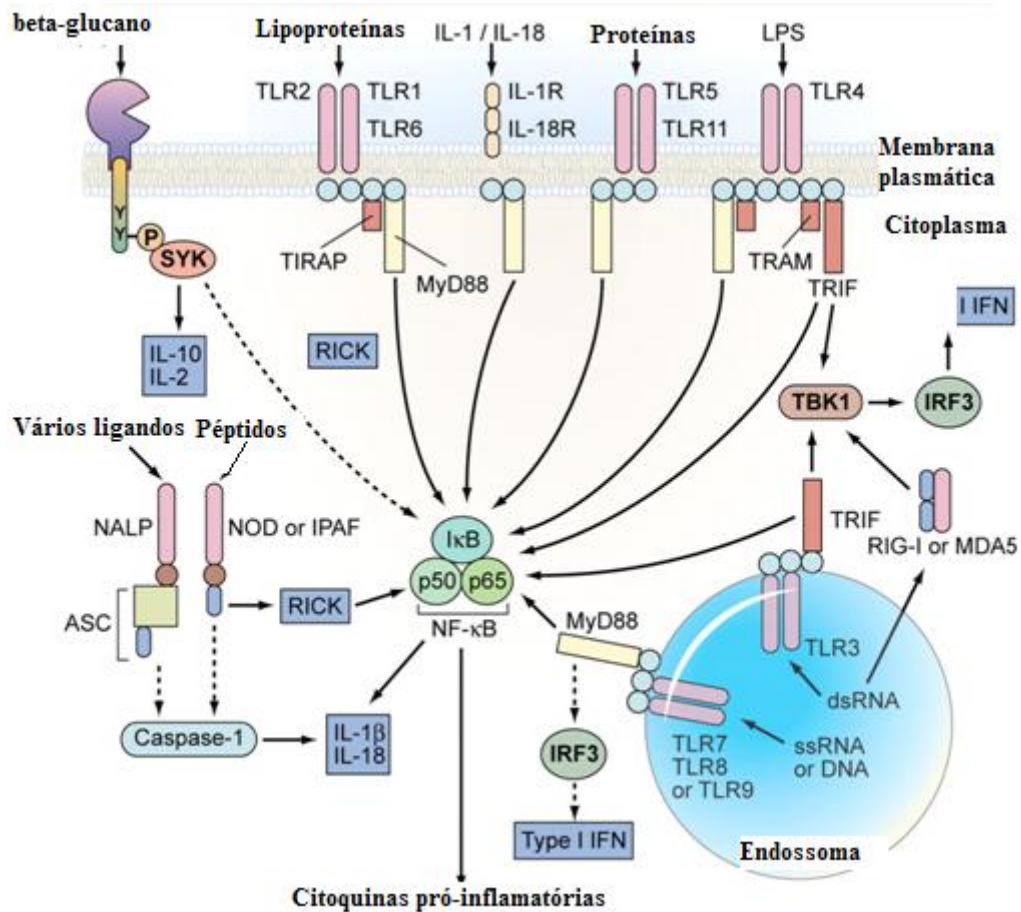
Anexo I

Esquema representativo da diferenciação das diversas linhagens celulares sanguíneas elaborado por Arosa F. *et al*, 2007.



Anexo II

Esquema Representativo do Sistema de Reconhecimento para ativação da Fagocitose elaborado por Dale D., Boxer L. and Liles W., 2008



Anexo III

Biomarcadores da senescência celular identificados em neoplasias iniciais.

Fonte: Kuilman T. *et al.*, 2010.

