

# EVALUAREA IMUNOSENESCENȚEI ȘI INFLAMAȚIEI CRONICE ASOCIATE VÂRSTEI

Iuliana Apostol\*, Alma Tudor\*, Gheorghe Voiculescu\*, Cristina Voinea\*,  
Conf. Dr. Petre Calistru\*\*, Prof. Dr. Emanoil Ceaușu\*\*

\*Fundatia „Dr. Victor Babeș”, București

\*\*Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș”, București  
U.M.F. „Carol Davila”, București

## REZUMAT

Îmbătrânirea este asociată cu alterarea răspunsului imun, ceea ce determină creșterea susceptibilității la infecții, scăderea răspunsului la imunizări și creșterea incidenței bolilor autoimune (1). În prezentul studiu am evaluat răspunsul imun al vârstnicilor și statusul inflamator asociat vârstei și am analizat existența unei corelații posibile cu alți parametri hematologici, cu statusul clinic actual și cu bolile cronice prezente.

Am studiat prospectiv 49 de vârstnici fără semne de infecții sau inflamații acute în momentul prezentării inițiale, care au fost monitorizați la 1 lună, 3 luni și 6 luni.

**Cuvinte cheie:** imunosenescență, inflamație, infecții, boli autoimune, vârstnici

## ABSTRACT

Aging is accompanied by immune responsiveness alterations, which lead to an increase in susceptibility to infectious diseases, a decrease in response to immunizations, and an increase in autoimmune diseases incidence (1). In this study we have evaluated the immune response of the elderly and the aging associated-inflammation status and we correlate the results with other hematological parameters, clinical status and the existing chronic diseases. We have lead a prospective study on 49 elderly patients without clinical signs of acute infections or inflammation at the beginning of the study, which have been monitored at 1 month, 3 months and 6 months.

**Key words:** immunosenescence, inflammation, infection, autoimmune diseases, elderly people

## INTRODUCERE

În cadrul populației vârstnice există o *incidență crescută de infecții bacteriene* (pneumonii, infecții urinare, infecții cutanate și de țesuturi moi) și de *infecții virale* (reactivarea infecției de herpes zoster, creșterea morbidității și a mortalității datorate virusului gripal și virusului respirator sincițial). Creșterea incidenței și severității bolilor infecțioase la aceste vârste poate fi explicată prin diminuarea răspunsului imun asociat vârstei.

Există numeroase dovezi că așa numitele „boli de bătrânețe” sunt cauzate de dereglarea funcției imune și de inflamația excesivă. *Imunosenescența* este rezultatul expunerii continue la o varietate de antigeni potențiali; expunerea este accelerată de atrofia timusului, creșterea nivelelor serice de cortizol și scăderea celor de DHEA, cu înaintarea în vârstă. În aditie, stilul de viață sedentar și malnutriția contribuie la accentuarea imunosenescenței.

Modificările în sistemul imun au fost observate la toate nivelurile: molecular, biochimic, celular și de organ, iar definirea modificărilor de imunosenescență poate conduce la noi strategii de imunomodulare. *Inflamația cronică* este implicată în boli ca ateroscleroza, cancer, disfuncția valvelor cardiace, insuficiență cardiacă congestivă, diabet și boala Alzheimer (2,3,4). Îmbătrânirea rezultă într-o creștere a citokinelor inflamatorii, care contribuie la progresia multor boli degenerative (5,6,7).

Imunitatea celulară este mai afectată decât imunitatea umorală, modificările fiind atribuite involuției timusului și efectelor cumulative ale îmbătrânirii asupra celulelor stem hematopoietice și a precursorilor limfoizi din măduva osoasă. Stresul fizic și psihic, malnutriția protein-calorică, anumite deficiențe minerale, medicamente sau substanțe toxice ingerate sau inhalate, expunerea la radiații ionizante pot afecta răspunsul imun.

## MATERIAL ȘI METODĂ

Studiul prospectiv a fost efectuat pe un lot de 49 de vârstnici (persoane peste 60 de ani), fără infecții acute respiratorii și fără semne clinice de inflamație acută în momentul înrolării. Vârstnicii au fost examinați geriatric, monitorizați pentru apariția de infecții acute respiratorii și din punct de vedere imunologic. Au fost executate următoarele determinări: hemoleucograma cu formula leucocitară; fenotiparea limfocitelor T: nr. absolut de CD3, CD4, CD8 și raportul CD4/CD8; imunograma (imunoglobuline și complement C3); proteina C reactivă; determinări de interleukine (IL1, IL2, IL6, IL10) și TNF alfa.

### Metodele utilizate au constat în:

- hemoleucograme – efectuate din probe de sânge recoltat pe K<sub>3</sub>-EDTA, cu ajutorul analizorului CELL DYN 3700 (ABBOTT);
- fenotiparea limfocitelor T – din probe de sânge recoltat pe K<sub>3</sub>-EDTA, cu ajutorul citometrului FACSCalibur, cu reactivi TriTEST CD4 FITC/CD8 PE/CD3 PerCP, cu TruCOUNT (Becton Dickinson);
- determinarea cantitativă a proteinelor serice speciale (imunoglobuline, complement, CRP) – prin nefelometrie, cu ajutorul analizorului BN ProSpec (Dade Behring);
- determinarea cantitativă a interleukinelor și TNF $\alpha$  din ser – prin chemiluminiscență, cu ajutorul analizorului IMMULITE (DPC).

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

La momentul selecției în lot au existat 52 de pacienți. Au fost excluși din analiza datelor 3 pacienți: 1 – prin nerespectarea prezentărilor cerute de studiu, 1 – decedat la 2 săptămâni și 1 – decedat la 2,5 luni.

Structura lotului de studiu – 49 de pacienți, dintre care 36 femei (73,46%) și 13 bărbați (26,53%), cu vârsta medie de 70,68 ani.

| Grup de vârstă | Femei     | Bărbați   | Total     |
|----------------|-----------|-----------|-----------|
| 60-64 ani      | 8         | 0         | 8         |
| 65-70 ani      | 12        | 5         | 17        |
| 71-75 ani      | 9         | 3         | 12        |
| 76-80 ani      | 6         | 4         | 10        |
| 81-85 ani      | 1         | 1         | 2         |
| <b>Total</b>   | <b>36</b> | <b>13</b> | <b>49</b> |

Fiecare subiect a fost evaluat geriatric la momentele inițial, 1 lună, 3 luni, 6 luni pentru apariția semnelor de infecții acute sau inflamații acute; la momentele inițial, 1 lună și 3 luni fiecare subiect a fost evaluat din punct de vedere imunologic și

al markerilor inflamatori. Din punct de vedere clinic au existat 3 cazuri de infecții virale respiratorii, 1 caz de plasmocitoză cronică și 1 caz de infecție urinară acută.

### A. Hemoleucograma și formula leucocitară

În cadrul lotului am urmărit existența sindromului anemic, leucocitoza sau leucopenia și alterările cantitative ale trombocitelor. Din totalul de 49 de pacienți, 35 au avut formula normală și 14 au prezentat modificări. Dintre cele 14 cazuri cu anormalități ale hemoleucogramei s-au înregistrat: 6 pacienți cu sindrom anemic ușor, 1 pacient cu eritrocitoză, 5 pacienți cu leucocitopenie, 3 pacienți cu leucocitoză, 2 pacienți cu trombopenie și 1 pacient cu trombocitoză.

Cazul cu eritrocitoză și leucocitoză cu eozinofilie marcată a fost diagnosticat ca infecție parazită cronică – toxoplasmoză și tratat specific. Cazul cu leucocitoză cu neutrofilie și trombofilie a fost identificat la un pacient cu AVC recent, dar s-a normalizat în cursul monitorizării noastre. Un caz cu leucocitoză a fost identificat în cadrul unei infecții urinare acute și tratat corespunzător. Cazurile de leucocitopenie cu limfocite scăzute au fost probabil asociate unor infecții virale intercurrente respiratorii. Dintre cazurile cu leucocite normale au prezentat formula leucocitară alterată un număr de 5 pacienți: 3 cazuri cu eozinofile crescute și 2 cazuri cu monocite crescute; investigarea pentru boli parazitare sau afecțiuni cronice nu a evidențiat un diagnostic specific. Un caz cu trombocitopenie și leucopenie a fost identificat la o pacientă cu infecție cronică cu HCV și discretă splenomegalie.

### B. Fenotiparea limfocitelor T

Panelul de determinări din studiul nostru include markerii celulei T tip CD3, CD4 și CD8 și raportul CD4/CD8. Rezultatele sunt raportate computerizat și includ atât numărul absolut, cât și procentajul din aceste celule.

Limfocitele **T-CD3** au înregistrat valori medii de 1351 (VN – 720-2330) la 41 de cazuri (83,68%), valori crescute (medie – 2481) la 5 cazuri (10,2%) și valori scăzute (medie – 535) la 3 cazuri (6,12%).

Limfocitele **T-CD4** au prezentat o medie a valorilor de 851 (VN – 500-1500) la 43 de cazuri (87,76%), valori crescute (1718 celule/mmc) într-un caz (2,04%) și valori scăzute – în medie 404 celule/mmc la 6 cazuri (12,24%).

Limfocitele **T-CD8** au prezentat valori medii de 433 celule/mmc (VN – 200-1100) la 48 de cazuri (89,79%), cu valori scăzute (115 celule/mmc) într-un singur caz (2,04%).

| Test    | Valori scăzute |       | Valori normale |       | Valori crescute |      |
|---------|----------------|-------|----------------|-------|-----------------|------|
|         | Nr. cazuri     | %     | Nr. cazuri     | %     | Nr. cazuri      | %    |
| CD3     | 3              | 6,12  | 41             | 83,68 | 5               | 10,2 |
| CD4     | 6              | 12,24 | 43             | 85,72 | 1               | 2,04 |
| CD8     | 1              | 2,04  | 48             | 89,79 | -               | -    |
| CD4/CD8 | 0              | 0     | 44             | 89,8  | 5               | 10,2 |

**Raportul CD4/CD8** a fost în medie de 2,16 [VN – 0,8-3,4 la 44 cazuri (89,8%) și crescut în 5 cazuri (10,2%)].

### C. Determinarea cantitativă a IgG, IgA și IgM și C3

Prin determinările cantitative ale imunoglobulinelor pacienților din lotul studiat s-au constatat: valori *crescute* pentru IgG (1915 mg/dl) la 2 pacienți (4,08%) și pentru IgA (537 mg/dl) la 4 cazuri (8,16%); valori *scăzute* pentru IgM la 2 cazuri (4,08 %) – 31 mg/dl). Variațiile determinărilor nu au fost foarte semnificative, medianele situându-se în limite *normale*: IgG – 1186 mg/dl (VN – 700-1600); IgA – 248 mg/dl (VN – 70-400); IgM – 106 mg/dl (VN – 40-230).

În cadrul lotului nostru, determinările de C3 au evidențiat medianele situate în limite normale – 122 mg/dl (VN – 90-180) la 45 de pacienți (91,84%), iar valori scăzute au fost înregistrate la 4 cazuri (8,16%) – 78 mg/dl.

| Test | Valori scăzute |      | Valori normale |       | Valori crescute |      |
|------|----------------|------|----------------|-------|-----------------|------|
|      | Nr. cazuri     | %    | Nr. cazuri     | %     | Nr. cazuri      | %    |
| IgG  | -              | -    | 47             | 95,92 | 2               | 4,08 |
| IgA  | -              | -    | 45             | 91,84 | 4               | 8,16 |
| IgM  | 2              | 4,08 | 47             | 95,92 | -               | -    |
| C3   | 4              | 8,16 | 45             | 91,84 | -               | -    |

### D. Proteina C reactivă

Modificările înregistrate pentru proteina C reactivă-PCR au înregistrat o valoare medie de 0,48 mg/dl peste limita superioară a normalului (0-0,3 mg/dl).

Din totalul de 49 de pacienți, un număr de 25 (51,02%) au prezentat valori crescute pentru CRP, variind de la 0,31 până la 4,05 mg/dl, cu o medie a valorilor crescute de 0,8 mg/dl.

### E. Balanța fiziologică între citokinele anti-inflamatoare și citokinele pro-inflamatoare

Determinările de IL 1 $\beta$  au arătat valori normale (<5 pg/ml) pentru 49 de pacienți (100%).

Determinările de IL 2R au înregistrat valori normale (223-710 pg/ml) cu o valoare medie de

596 pg/ml la un număr de 36 (73,47%); 13 cazuri (26,53%) au prezentat valori crescute, media acestora fiind de 1038 pg/ml.

Determinările de IL 6 au înregistrat o mediană de 5,57 pg/ml, încadrându-se în limitele biologice normale (<8,1) la 46 de cazuri (93,88%); 3 cazuri (6,12%) au prezentat valori crescute (medie – 20 pg/ml).

Determinările de IL 8 au înregistrat valori normale (media – 11,65 pg/ml), valorile de referință situându-se sub 62 pg/ml, în 49 de cazuri (100%).

Determinările de TNF $\alpha$  au înregistrat valori normale la 37 de cazuri (75,52%) și valori crescute la 12 cazuri (24,48%) variind de la 8,5 la 41,3 pg/ml, cu o medie a acestor valori în afara limitelor de 21,6 pg/ml. În cadrul lotului s-a înregistrat media de 10,69 pg/ml, peste limita superioară a normalului (8,1 pg/ml).

| Test         | Valori normale |       | Valori crescute |       |
|--------------|----------------|-------|-----------------|-------|
|              | Nr. cazuri     | %     | Nr. cazuri      | %     |
| IL 1 $\beta$ | 49             | 100   | 0               | 0     |
| IL 2R        | 36             | 73,47 | 13              | 26,53 |
| IL 6         | 46             | 93,88 | 3               | 6,12  |
| IL 8         | 49             | 100   | -               | -     |
| TNF $\alpha$ | 37             | 75,52 | 12              | 24,48 |

## CONCLUZII

Odată cu înaintarea în vârstă câteva boli hematologice devin probleme serioase de sănătate: anemia vârstnicului, malignitățile hematologice, tromboza și riscul de sângerare prin utilizarea anticoagulantelor. În cadrul lotului au fost identificați 6 pacienți cu sindrom anemic ușor care au fost evaluați în vederea depistării etiologiei; dintre aceștia a fost identificat un caz de neoplasm rectal, care a fost tratat chirurgical, radiotratat și polichimiotratat.

Nu au fost identificate malignități hematologice, iar un caz special de leucocitoză cu eozinofilie marcată a fost diagnosticat ca toxoplasmoză cronică. Un număr redus de cazuri au prezentat scăderi ușoare ale trombocitelor (2 cazuri) și trombocitoză (1 caz).

În cadrul lotului nu au putut fi definite aspecte clare de imunosenescență, legate de scăderea

limfocitelor T și a celulelor CD4. Ar fi necesară atât extinderea lotului, cât și o perfectare în interpretarea rezultatelor flow-citometriei în practica curentă.

Pentru evaluarea statusului inflamator asociat vârstei am obținut valori importante concordante cu literatura. Markerul de inflamație nespecifică-CRP a fost modificat semnificativ în cadrul lotului, valoarea medie de 0,48 mg/dl situându-se peste limita superioară a normalului (0,3 mg/dl).

Creșterile CRP-ului, marker de inflamație sistemică par să se coreleze cu creșterile de IL 2R,

IL 6, TNF $\alpha$ , dar studiile trebuie continuate pentru a putea trage o concluzie.

În ceea ce privește balanța citokinelor, pentru IL 6 au obținut valori crescute (medie – 20 pg/ml) în 3 cazuri (6,12%), iar TNF $\alpha$  a prezentat o medie de 10,69 pg/ml peste limita superioară a normalului (8,1 pg/ml), deși numai 12 cazuri (24,48%) au prezentat valori crescute. Creșterile de CRP și TNF $\alpha$  denotă un status inflamator asociat vârstei, care poate fi asociat cu rezistența la insulină și disfuncții endoteliale, cu afecțiuni cardiovasculare sau cu maladia Alzheimer.

## BIBLIOGRAFIE

1. **Bunout Daniel** – Effects of a Nutritional Supplement on Immune Response and Cytokine Production in Free-Living Chilean Elderly. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, Sep/Oct 2004.
2. <http://www.lef.org/protocols/prtcl-146.shtml> (*Life Extension* Aug 2004: Chronic inflammation)
3. **Brouqui P, Dumler JS, Raoult D** – Immunohistologic demonstration of *Coxiella burnetii* in the valves of patients with Q fever endocarditis. *Am J Med*. 1994 Nov;97(5):451-8.
4. **De Keyser F, Elewaut D, De Vos M et al** – Bowel inflammation and the spondyloarthropathies. *Rheum Dis Clin North Am*. 1998 Nov;24(4):785-x.
5. **Quan Mhlanga JD, Whiteside MB, McCoy AN et al** – Chronic overexpression of proinflammatory cytokines and histopathology in the brains of rats. *J Comp Neurol*, 1999 Wiley-Interscience
6. **Safieh-Garabedian, Haddad JJ, Saade NE** – Cytokines in the central nervous system: targets for therapeutic intervention - *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*, 2004 - [ingentaconnect.com](http://ingentaconnect.com)
7. **Emsley HCA, Tyrrell PJ** – Inflammation and infection in clinical stroke, *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2002 - [nature.com](http://nature.com) 5 Invitti C. [Obesity and low-grade systemic inflammation]. *Minerva Endocrinol*. 2002 Sep;27(3):209-14.
8. **Lee H, Liao JJ, Graeler M et al** – Lysophospholipid regulation of mononuclear phagocytes. *Biochim Biophys Acta*. 2002 May 23;1582(1-3):175-7.
9. **Lee H, Liao JJ, Graeler M et al** – Lysophospholipid regulation of mononuclear phagocytes. *Biochim Biophys Acta*. 2002 May 23;1582(1-3):175-7.
10. **Sitzer M, Markus HS, Mendall MA et al** – C-reactive protein and carotid intimal medial thickness in a community population. *J Cardiovasc Risk*. 2002 Apr; 9(2):97-103.