

## **Caracterización inmunofenotípica de linfocitos T activados en adultos mayores cubanos**

Yaneisy Duarte Pérez <sup>1</sup> \*, Vianed Marsán Suárez <sup>2</sup>, Elizabeth Hernández Ramos <sup>3</sup>, Yenisey Triana Marrero <sup>4</sup>, Imilla Casado Hernández <sup>5</sup> y Consuelo Milagros Macías Abraham <sup>6</sup>

<sup>1-6</sup> Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba.

\*Correo del autor principal: dpyaneisy@gmail.com

### **RESUMEN**

La inmunosenescencia provee de un escenario propicio para el desarrollo de infecciones, autoinmunidad y cáncer, por lo que disponer de un inmunofenotipo por citometría de flujo que permita la evaluación cualitativa y cuantitativa de la inmunidad celular, es de gran importancia para la toma de decisiones y el tratamiento de los pacientes; lo cual redundará en el mejoramiento de su calidad de vida. El objetivo fue caracterizar el inmunofenotipo de los linfocitos T activados en adultos mayores. Se realizó un estudio transversal a 30 adultos mayores, con edades comprendidas entre 60 y 99 años, procedentes del Hogar de Ancianos “Alfredo Gómez Gendra”, de La Habana, de cualquier sexo y color de la piel. La determinación de las subpoblaciones de linfocitos T activados CD45+CD3+CD25-HLA-DR+, CD45+CD3+CD25+HLA-DR- y CD45+CD3+HLA-DR+CD25+ de sangre periférica se realizó por citometría de flujo. Como principal resultado se encontró que los ancianos con 80 años y más, mostraron un aumento en el conteo absoluto de los linfocitos T CD3+HLA-DR+CD25-. Mientras que los conteos absolutos de los fenotipos CD3+CD25+HLA-DR- y CD3+CD25+HLA-DR+, fueron menores en relación con los del grupo de < 80 años. Las mujeres mostraron menores porcentajes y conteos absolutos de los linfocitos T CD3+CD25-HLA-DR+. Por su parte, los linfocitos T CD3+CD25+HLA-DR- y CD3+CD25+HLA-DR+ no mostraron diferencias según el sexo. La caracterización inmunofenotípica por citometría de flujo de los linfocitos T activados en el adulto mayor, permite aclarar el papel de estos en el envejecimiento de origen inflamatorio, su relación con enfermedades crónicas-degenerativas e implementar intervenciones sanitarias específicas y oportunas.

Palabras clave: linfocitos T activados, citometría de flujo, adultos mayores, inmunosenescencia.

### **INTRODUCCIÓN**

Cuba es uno de los países más envejecidos de América Latina y el Caribe. A finales de 2019 el 20,8 % de su población tenía 60 años o más, para el 2030 se espera alcance un 30 %. <sup>(1)</sup> El envejecimiento se relaciona con cambios en ambas ramas del sistema inmune, innata y adquirida. Los cambios en el sistema inmune relacionados con la edad se han denominado inmunosenescencia. <sup>(2)</sup>

La inmunosenescencia afecta prácticamente todos los componentes del sistema inmune. Se produce cierta pérdida de la función inmune adaptativa con relativa preservación de la inmunidad innata; se observa una disminución en el número de células B, células T cooperadoras y un aumento relativo de los linfocitos asesinos naturales, de manera tal que el conteo global de linfocitos no varía con el envejecimiento. <sup>(3,4)</sup> Sin embargo, los cambios críticos característicos de la inmunosenescencia, ocurren en las poblaciones de células T. Los más importantes observados

son: disminución en el número de células T vírgenes; incremento de células T de memoria terminalmente diferenciadas, que resulta en un aumento de la producción de citocinas y la acumulación de células efectoras disfuncionales activadas con un repertorio limitado y por consiguiente, se generan respuestas pobres a nuevos antígenos. (2, 5,6)

Estos cambios son en esencia atribuidos a la involución del timo, el acortamiento de los telómeros asociado a un aumento en los niveles de citocinas inflamatorias "inflamm-aging" (inflamación crónica de bajo grado durante el envejecimiento), la desregulación de algunas vías hormonales y la estimulación antigénica crónica principalmente el citomegalovirus (CMV) y Epstein Barr (EBV), muchas veces adquiridas desde la infancia no sólo tienen efectos sobre el proceso de envejecimiento inmunológico sino también sobre el desarrollo de patologías con alta carga de morbilidad en el paciente adulto mayor. (7-9)

Con el envejecimiento, ocurre una inversión de la razón CD4:CD8, la cual es predictiva de disminución de la supervivencia de individuos mayores de 80 años. Este incremento en las células T CD8+ resulta de la expansión clonal de células T CD8+CD28- altamente diferenciadas. (10,11) Estas células CD8+ disfuncionales pueden reducir el repertorio de las células T disponibles para las nuevas respuestas a infecciones, vacunas o a neoplasias. (12) Se ha reportado, además, la existencia de un estado inflamatorio crónico en la vejez. En estas condiciones, las células T efectoras son resistentes a la apoptosis, no así las vírgenes ni las de memoria central. (13, 14) Durante el envejecimiento disminuye la expresión del receptor CD25 y con la pérdida de las poblaciones de linfocitos vírgenes disminuye también la producción de IL-2. (9,15)

Tras la activación, los linfocitos T expresan además otras moléculas de superficie como el antígeno leucocitario humano- isotipo DR (HLA-DR), este se clasifica como antígeno de activación tardía de los linfocitos T y se sintetiza después de que ha comenzado el proceso de activación celular, (16-18) este incremento en la activación celular en un intento por mantener respuestas inmunes efectivas, puede ser beneficioso para responder contra el cáncer e infecciones, pero puede acarrear un aumento en el riesgo de desarrollar enfermedades autoinmunes y enfermedades crónicas en la vejez. (19,20)

Recientemente se ha propuesto que los cambios inmunes relacionados con la edad constituyen una adaptación inmune. La relación entre la inflamación crónica de bajo grado y la inmunosenescencia podría ser un proceso de adaptación/remodelación en el que los cambios que ocurren durante el envejecimiento constituyen un proceso de adaptación que pudiera conducir por un lado a la disminución de la respuesta inmune y por otro al incremento de la inflamación, que induce un estado de alerta para asegurar la estimulación oportuna de la respuesta inmune. A partir de esta reinterpretación del fenómeno, tal vez la inflamación durante el envejecimiento no debe considerarse solo perjudicial, sino como un mecanismo homeostático adaptativo del sistema inmune que constantemente debe enfrentarse a desafíos para mantenerse como un sistema funcional. (3, 11,12) El objetivo de esta investigación fue caracterizar el inmunofenotipo de los linfocitos T activados en adultos mayores.

## **MÉTODO**

### **Diseño, sujetos y obtención de la muestra**

La investigación se desarrolló en el contexto de un ensayo clínico titulado: "Evaluación de la eficacia y seguridad de un nuevo esquema de dosificación de BIOMODULINA T® para la pre-

vención de infecciones, incluido COVID-19, en adultos mayores en Cuba”, cuyo centro impulsor es el Centro Nacional de Biopreparados (BioCen) y su Centro coordinador es el Coordinador Nacional Centro de Ensayos Clínicos (CENCEC), con registro público <http://registroclinico.sld.cu/ensayos/RPCEC00000319-Sp>. Se realizó un estudio transversal en marzo de 2020, en el Instituto de Hematología e Inmunología (IHI) de Cuba. La muestra estuvo constituida por 30 adultos mayores entre 60 y 99 años, procedentes del Hogar de Ancianos “Alfredo Gómez Gendra”, de La Habana, antes de la administración de la Biomodulina T (BT). Se incluyeron adultos de 60 años y más, de cualquier sexo y color de la piel, que expresaron su consentimiento por escrito para participar en el estudio. Fueron excluidos aquellos que hubieran recibido BT en los dos últimos meses, con hipersensibilidad a cualquier componente de la formulación, estados alérgicos agudos o antecedentes de reacciones alérgicas graves, con enfermedad intercurrente no controlada que incluía infecciones agudas con fiebre concomitante, insuficiencia cardíaca sintomática, angina de pecho inestable y tratamiento inmunosupresor.

A todos los pacientes se les extrajo 3ml de sangre periférica por venopunción y se depositaron en tubos (Vacutainer®), con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) antes del tratamiento con BT®. Las muestras fueron procesadas antes de las seis horas siguientes a la extracción.

### **Procedimientos de laboratorio y citometría de flujo**

Se agregaron 50  $\mu$ L de sangre total en dos tubos de 15 mL por muestra, uno para el control y un segundo tubo para la determinación de linfocitos T activados. Posteriormente, se añadieron 5  $\mu$ L de los anticuerpos monoclonales conjugados a fluorocromos anti- CD45PerCP/CD3F (Miltenyi-Biotec) y anti- CD25APC/HLA-DRPE, (DaKoMultiMix™) los cuales, se incubaron a temperatura ambiente (TA) y protegidos de la luz, durante 30 min. Seguidamente, se realizó el lisado de los hematíes con solución lisante, durante 10 min, a TA. Las células se lavaron dos veces con cloruro de sodio al 0,9% y centrifugadas durante 10 min a 1500 rpm.

La lectura de las muestras se realizó en un citómetro de flujo Gallios, BeckmanCoulter. Se adquirieron 100 000 células por tubo. El análisis de los datos se efectuó con el software Kaluza Analysis® versión 1.2, ubicado en el departamento de Inmunología del IHI. La estrategia de análisis se utilizó como gráfico de puntos sobre el total de células marcadas para la separación de los singletes; células que pasan solo una vez a través del láser y presentar la altura de la señal (FSC-H) y la señal uniforme de área (FSC-A) que el citómetro registra como un evento, descartando agregados de células (dos o más células) (Fig. 1A). Posteriormente, se analizó el gráfico de puntos SSC-A vs CD45PercP, para separar la población de linfocitos sobre los singletes seleccionados previamente (Fig. 1B). De la población de linfocitos CD45+se realizaron otros dos gráficos de puntos: (Fig. 1C) SSC-A vs CD3F para separar la población de linfocitos T y (Fig.1D) CD25APC-A/HLA-DRPE-A para cuantificar la expresión de estos antígenos.

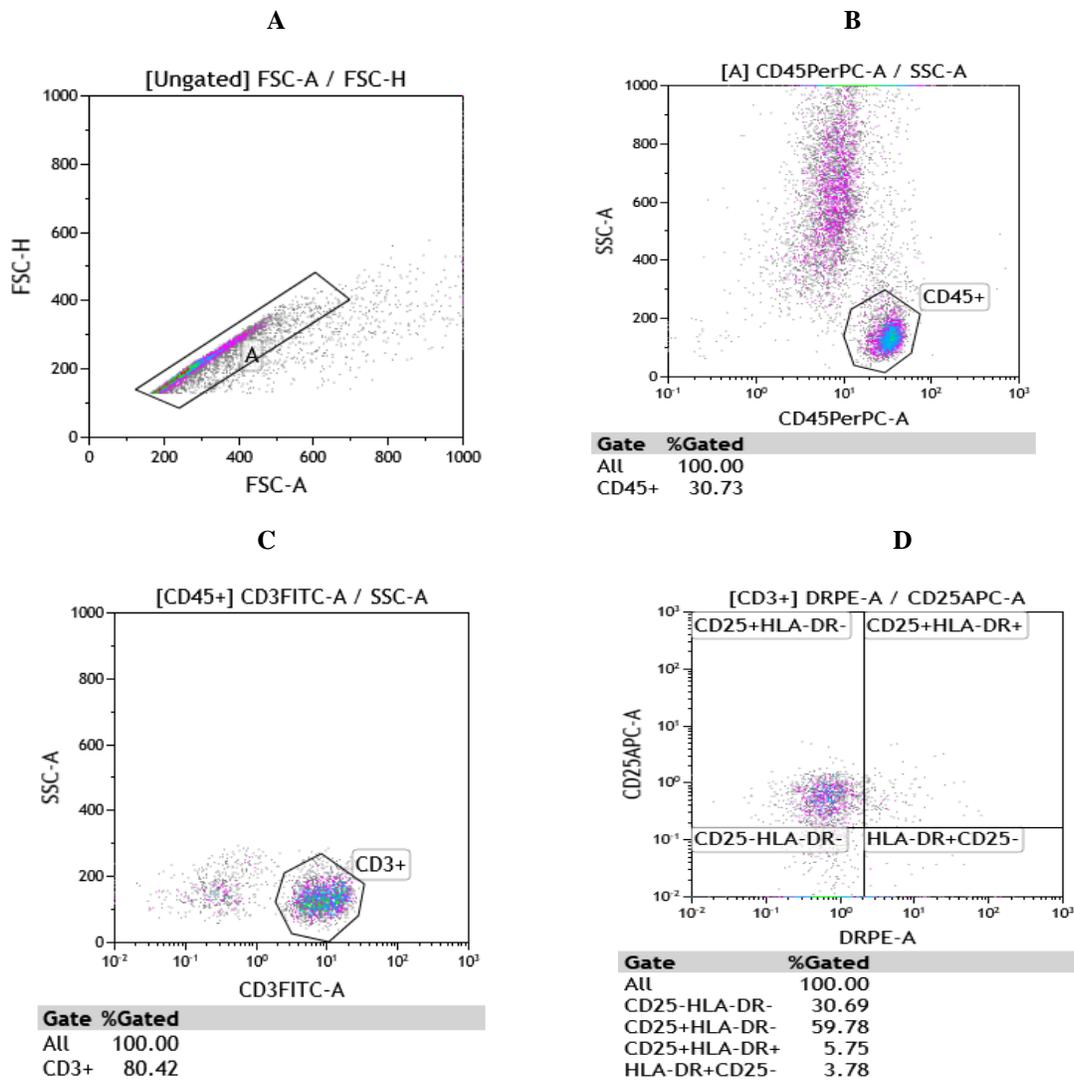


Fig. 1. Estrategia de análisis de Gate para la selección de los linfocitos T activados. A): Dotplot FSC-H/FSC-A; selección de singletes. B): Dotplot SSC-A/CD45PerCP-A; selección de linfocitos. C): Dotplot SSC-A/CD3F; selección de linfocitos T CD3+ (80.42%). D): Dotplot CD25APC-A/HLA-DRPE-A; selección de linfocitos T CD25+/HLA-DR- (59.78%), CD25+/HLA-DR+ (5.75%) y HLA-DR+/CD25- (3.78%).

Los resultados se expresaron por los valores relativos (% de células) y absolutos valores (células/ $\mu$ L). El número absoluto de la población de células T activadas fue calculado de acuerdo con la siguiente fórmula: Recuento absoluto (células/ $\mu$ L) = Recuento de linfocitos (número de células/ $\mu$ L) en hemograma  $\times$  % del subpoblación celular de interés  $\div$  100. Se tomaron como referencia los valores absolutos en el caso del fenotipo CD3+HLA-DR+CD25- para mujeres de 59–695 cel/ $\mu$ L y para hombres 54–588 cel/ $\mu$ L. El fenotipo CD3+CD25+HLA-DR- para mujeres 17–235 cel/ $\mu$ L y para hombres 19–208 cel/ $\mu$ L y CD25+/HLA-DR+ (mujeres 7-75) y (hombres 4-46). Por otro lado, los valores porcentuales de referencia de las subpoblaciones CD3+HLA-DR+CD25- (mujeres 3,1-28,2) y (hombres 2,7–26,4); CD3+CD25+HLA-DR- (mujeres 1,0-10,3) y (hombres 1,4–12,0); y CD3+CD25+/HLA-DR+ (mujeres 0,4-3,1) y (hombres 0,2-2,2) respectivamente. <sup>(18)</sup>

## Análisis estadístico

Se creó una base de datos en Microsoft Excel con la información obtenida. La muestra se dividió por sexo y edad (<80 años y 80 años y más). Los datos fueron procesados utilizando el programa estadístico GraphPadPrism versión 6.00 usando los valores porcentuales y la mediana para la descripción de la muestra. La desviación estándar (SD) indicada el grado de variabilidad de los datos. El intervalo de confianza en cada caso se calculó al 95%. Los resultados obtenidos se expresaron en tablas para su mejor comprensión y análisis.

**Ética** Este estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki y fue aprobado por los Comités de Ética en Investigación de la IHI y CITED.

## RESULTADOS

La distribución de los diferentes fenotipos de linfocitos T activados en adultos mayores mostró que en el grupo de  $\geq 80$  años de edad, la mediana de los conteos absolutos de CD3+HLA-DR+CD25- fue mayor, en relación con los encontrados en el grupo de < 80 años (46.34vs 27.55, SD 35.59 vs 49.72). No hubo diferencias en cuanto al valor porcentual en ambos grupos (2.575vs 2.190, SD 2.909 vs 2.696); aunque los conteos absolutos y porcentajes estuvieron disminuidos respecto a los valores previamente establecidos.

Por su parte, el porcentaje del fenotipo CD3+CD25+HLA-DR- no mostrò diferencias en ambos grupos de edades (1.240vs 1.090, SD 0.9498 vs 0.9703), mientras que el conteo absoluto de este, fue mayor en los < 80 años (19.66 vs17.92, SD 34.27 vs16.65); no hubo diferencias respecto a los valores de referencia.

Los linfocitos T que coexpresaron los marcadores CD3+CD25+HLA-DR+ exhibieron porcentajes similares en ambos grupos etarios (0.4389 vs 0.4201, SD 1.581 vs 1.786) pero, el conteo absoluto de estos fue mayor en los < 80 años (7.390 vs 8.198, SD 20.83 vs 32.41). Ambos estuvieron dentro de los valores de referencia (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución de antígenos de activación de linfocitos T en adultos mayores, según grupos etarios.

	< 80 años (n=17) 56.67% of Total			$\geq 80$ años (n=13) 43.33% of Total		
	Mediana	SD	CI	Mediana	SD	CI
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> CD25 <sup>-</sup> (%)	2.190	2.696	1.601-4.374	2.575	2.909	0.9258-4.623
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> CD25 <sup>-</sup> (cells/ $\mu$ L)	27.55	49.72	27.73-78.86	46.34	35.59	17.94-63.16
CD3 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>-</sup> (%)	1.090	0.9703	0.9129-1.911	1.240	0.9498	0.7965-2.003
CD3 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>-</sup> (cells/ $\mu$ L)	19.66	34.27	11.87-47.11	17.92	16.65	11.94-33.10

CD3+CD25+ HLA-DR+ (%)	0.4201	1.786	0.3337-2.170	0.4389	1.581	0.1352-2.397
CD25+/HLA-DR+ (cells/ $\mu$ L)	8.198	32.41	7.040-40.37	7.390	20.83	3.243-33.04

HLA-DR: antígeno leucocitario humano- isotipo DR; CD: Cluster de diferenciación

En este estudio hubo un predominio de mujeres que representaban el 70%. La distribución del fenotipo de linfocitos T CD3+HLA-DR+CD25-, según el sexo exhibió porcentajes y conteos absolutos menor en mujeres que en hombres (1.860 vs 2.960, SD 2.925 vs 2.376 y de 35.55 vs 46.61, SD 42.10 vs 49.75). En ambos grupos las medianas de conteos absolutos y porcentajes en las mujeres, estuvieron disminuidos respecto a los valores previamente establecidos.

El porcentaje y el conteo absoluto de los linfocitos CD3+CD25+HLA-DR- no mostró diferencias según el sexo (1.200 vs 1.090; SD 0.9720 vs 0.9377 y de 19.55 vs 19.43, SD 29.51 vs 26.55). Ambos grupos se mantuvieron dentro de los valores previamente establecidos, excepto la mediana del porcentaje de los hombres que estuvo disminuida en relación al de las mujeres.

El porcentaje de los linfocitos TCD3+CD25+HLA-DR+ fué semejante en ambos sexos (0.4961 vs 0.4099, SD 1.960 vs 0.6563) pero, el conteo absoluto de este fue mayor en las mujeres (8.537 vs 4.079, SD 32.84 vs 12.26). Ambos grupos se mantuvieron dentro de los valores de referencia (Tabla 2).

Tabla 2. Distribución de antígenos de activación de linfocitos T en adultos mayores, según el sexo.

	Masculino (n=9) 30% of Total			Femenino (n=21) 70% of Total		
	Mediana	SD	CI	Mediana	SD	CI
CD3+HLA-DR+CD25- (%)	2.960	2.376	1.467-5.120	1.860	2.925	1.353-4.091
CD3+HLA-DR+CD25- (cells/ $\mu$ L)	46.61	49.75	19.17-95.66	35.55	42.10	24.09-63.50
CD3+CD25+HLA-DR- (%)	1.090	0.9377	0.6726-2.114	1.200	0.9720	0.9581-1.868
CD3+CD25+HLA-DR- (cells/ $\mu$ L)	19.43	26.55	5.749-46.56	19.55	29.51	13.00-40.62
CD3+CD25+HLA-DR+ (%)	0.4099	0.6563	0.1579-1.167	0.4961	1.960	0.5799-2.529
CD3+CD25+HLA-DR+ (cells/ $\mu$ L)	4.079	12.26	2.161-21.01	8.537	32.84	10.34-43.00

Respecto a las comorbilidades, el 83,3% padecía enfermedades cardiovasculares, el 53,3% demencia, 30% diabetes mellitus, 26,6% enfermedad pulmonar obstructiva crónica y enfermedades cerebrovasculares, respectivamente; el 13,3% tenía enfermedades neoplásicas y 6,7% asma bronquial. De la totalidad de los pacientes, el 60% tenía más de una comorbilidad. Además, el 16,7% manifestó infecciones cutáneas, el 13,3% agudas respiratorias y 6,7% urinarias. En el 6,7% coexistieron dos infecciones.

## DISCUSIÓN

En los adultos mayores existe un desequilibrio en el sistema inmune que se manifiesta por respuestas mayormente proinflamatorias de la inmunidad innata y alteración grave de la rama adaptativa. Una de las causas más relevantes de la presencia de un estado inflamatorio de origen multifactorial es probablemente la estimulación antigénica crónica. <sup>(2)</sup> La literatura sitúa al citomegalovirus (CMV) como el germen más asociado a este fenómeno, pero se han identificado otros como el virus de Epstein Barr (EBV), virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) e incluso bacterias, <sup>(6)</sup> aunque los informes de las últimas dos décadas describen un fenómeno mucho más complejo que también involucra la senescencia celular y el envejecimiento del sistema inmunológico. <sup>(21)</sup> Las células senescentes muestran además cambios locales en la metilación del ADN y reordenamientos globales de la cromatina, lo que conduce a patrones de expresión génica alterados y la secreción de una variedad de quimiocinas, citocinas y enzimas de remodelación de tejidos. <sup>(22, 23)</sup>

En esta investigación, los ancianos con 80 años y más, mostraron un aumento en el conteo absoluto de los linfocitos CD3+HLA-DR+CD25-. Mientras que los conteos absolutos de los fenotipos CD3+CD25+HLA-DR- y CD3+CD25+HLA-DR+, fueron menores en relación con los del grupo de < 80 años. Se observa que a medida que aumenta la edad, hay incremento en la expresión del antígeno HLA-DR y disminución en la expresión del CD25, lo cual está acorde a lo planteado en la literatura. Villegas-Valverde et al plantean que esto puede estar relacionado con la presencia de poblaciones de memoria efectora de linfocitos T en sangre periférica, que también expresan estas moléculas, y con el hecho de que el tamaño de esta subpoblación está determinado, entre otros factores, por el número de exposiciones personales previas a diferentes inmunógenos. <sup>(18)</sup> Estas moléculas son antígenos de activación tardía de los linfocitos T y se sintetizan después de que ha comenzado el proceso de activación celular y se requieren para cumplir las funciones biológicas de estas células. <sup>(11-14)</sup>

Se ha demostrado una relación causal entre la presencia de células senescentes y la inflamación elevada, lo que refuerza la idea de un papel de la senescencia en la inflamación. La inflamación crónica también puede inducir la disfunción de los telómeros y promover la senescencia, lo que sugiere que la inflamación y la senescencia se refuerzan mutuamente. <sup>(24)</sup> En particular, el tejido adiposo es proinflamatorio, la obesidad y enfermedades como la diabetes que están asociadas con la aparición temprana de patologías de envejecimiento contribuye a la inflamación. <sup>(25, 26)</sup>

Los desafíos antigénicos persistentes conducen a una respuesta deficiente a los antígenos microbianos recién encontrados, así como a un cambio en el sistema inmunológico hacia un perfil inflamatorio autoinmune, Th2. Además, la carga microbiana crónica a largo plazo induce la activación progresiva de los macrófagos, contribuyendo así al estado de inflamación crónica de bajo grado. <sup>(27)</sup> Esta puede provocar disfunción y degeneración de los tejidos. Nuestro sistema inmunológico es bastante eficaz para combatir las infecciones agudas en los jóvenes, pero no para responder a los estímulos crónicos, especialmente cuando ocurren en una etapa avanzada de la vida. Esto conduce a una mayor activación celular, producción de citocinas proinflamatorias y proteínas de fase aguda y el estrés oxidativo. <sup>(28-31)</sup>

Es importante evaluar la expresión de marcadores que reflejan la función celular y el estado de activación del compartimento de las células T en adultos mayores; de este modo el proceso inflamatorio crónico de bajo grado que acompaña al envejecimiento pudiera justificar el esfuerzo

de la vigilancia inmunológica permanente, contra patógenos persistentes o estresores endógenos como las células cancerosas. Todos estos cambios contribuyen a la disminución en la expresión de los mismos y al decrecimiento de la capacidad inmunológica efectora que se torna incapaz de responder apropiadamente contra antígenos nuevos, como la emergencia de células tumorales durante toda la vida. <sup>(3,11)</sup>

Mujeres y hombres difieren en varios aspectos fisiológicos, incluyendo la respuesta inmune. Estas diferencias pueden estar relacionadas con las hormonas esteroideas sexuales (estrógenos, progesterona y testosterona), genética (efecto del cromosoma X) y factores medioambientales; las hormonas esteroideas, que se unen a receptores específicos, modularan diferencialmente el sistema inmunológico. En general, mientras que los estrógenos aumentan la respuesta inmune, la progesterona y los andrógenos tienen acciones inmunosupresoras. <sup>(9,32)</sup> La evidencia epidemiológica muestra que mientras los hombres mayores son más susceptibles a padecer enfermedades infecciosas complicadas, y a la muerte por cáncer, las mujeres mayores tienden a generar una respuesta inmune más vigorosa, <sup>(33, 34)</sup> algunos datos muestran que la inmunosenescencia se desarrolla antes en los hombres que en las mujeres. Esto se ha relacionado con una mayor esperanza de vida para las mujeres. <sup>(30)</sup>

En esta investigación, las mujeres mostraron una disminución en porcentajes y conteos absolutos de los linfocitos CD3+HLA-DR+CD25- y aumento en el conteo absoluto de CD3+CD25+HLA-DR+. Coincidiendo con lo reportado en la literatura donde se plantea que las mujeres muestran una respuesta inmune más potente en relación a los, hombres lo que se traduce en un aclaramiento más rápido de los patógenos en las infecciones agudas y una mejor respuesta a la vacunación; no obstante, también presentan mayor susceptibilidad a enfermedades inflamatorias y autoinmunes. <sup>(28)</sup> aunque no podemos dejar de considerar que el número de mujeres estudiadas fue mayor que el de hombres.

Ligotti et al plantean que determinadas causas biológicas como diferencias hormonales o la presencia de dos cromosomas X, podrían explicar parcialmente las diferencias dependientes de la edad en los conteos y porcentajes celulares, comparando hombres y mujeres, también podría afectar la respuesta a la infección por CMV. De hecho, se sabe que las mujeres son más resistentes a las infecciones. <sup>(35, 36)</sup>

Estos marcadores se mostraron variables entre individuos, con un rango especialmente amplio en el antígeno HLA-DR. Teniendo en cuenta que las células T reguladoras expresan característicamente el marcador CD25, medir la activación de linfocitos por otros marcadores, como HLA-DR, es más confiable. Dado que la expresión no se puede predecir hasta que se haya producido la activación celular, podrían influir en la variabilidad del rango. Algunos autores informan que la edad y el sexo no influyen mucho en estos niveles de expresión, pero sí afectan el proceso que desencadena dicha activación. <sup>(18,30)</sup>

Nuestros hallazgos indican que el sexo pudiera influir en el envejecimiento diferencial del sistema inmune. Se necesitan más estudios que permitan identificar factores de correlación entre el envejecimiento, el sexo y las enfermedades crónicas. Es por ello importante monitorizar la expresión de marcadores de activación de células T como CD25 y HLA-DR en los adultos mayores, para evaluar la función del sistema inmunológico en muchas enfermedades; en algunos casos como un factor inmunopatogénico y en otros como patológico o consecuencia fisiológica de una

enfermedad o condición previa. <sup>(27,28,32)</sup> No obstante, en la vejez estas reacciones inflamatorias predisponen al desarrollo de enfermedades degenerativas que condicionan la declinación funcional del adulto mayor, así como una mayor dependencia funcional, estas irregularidades en la respuesta inflamatoria está relacionadas con la patogenia de múltiples enfermedades comunes de los adultos mayores como diabetes mellitus, dislipidemia, hipertensión o cardiopatía isquémica. <sup>(37,38)</sup>

## CONCLUSIONES

La relación entre inmunosenescencia e inflamación es compleja e involucra la interacción entre los brazos innatos y adaptativos del sistema inmunitario, junto con células senescentes de linajes no inmunitarios, en un círculo potencialmente vicioso. La inflamación promueve la senescencia e impide las respuestas inmunitarias adaptativas, mientras que este deterioro puede conducir a una mayor movilización de las células inmunitarias innatas, lo que favorece la inflamación.

En este estudio se evidenció que tanto la edad como el sexo son factores biológicos que influyen en la expresión de marcadores de activación de los linfocitos T, en el adulto mayor. La caracterización inmunofenotípica por citometría de flujo de los linfocitos T activados CD3+HLA-DR+CD25-, CD3+CD25+HLA-DR- y CD3+CD25+HLA-DR+ en el anciano, permite aclarar el papel de estos en el envejecimiento de origen inflamatorio ya que se relacionan con varias de las enfermedades que representan un reto para los médicos; además muchas de las enfermedades crónicas degenerativas previamente presentes y la exposición continua a enfermedades infecciosas favorecen el desarrollo de un estado inflamatorio que requeriría un manejo adecuado para evitar sus graves consecuencias en los ancianos e implementar intervenciones sanitarias específicas y oportunas. Se recomienda ampliar la muestra de estudio y asociar otros datos clínicos que refuercen la investigación y ampliarlo a otras instituciones y regiones del país.

## REFERENCIAS

1. Menéndez- Jiménez J. El Decenio del Envejecimiento Saludable (2020-2030), una oportunidad para Cuba. *RevCubSal Púb.* 2020; 46(4):e2748.
2. Saavedra D, García B, González A, Lorenzo-Luaces P, Lage A. Marcadores de inmunosenescencia y su relación con el cáncer de pulmón. *Anal Acad CiencCub.* 2021,11(1).
3. Suárez GM, Saavedra D. Manipulación de la Inmunosenescencia. *Rev. Cuba. Hematol. Inmunol. Hemoter.* 2018; 34 (1): 33-41.
4. Moskalev A, Stambler I, Caruso C. Innate and Adaptive Immunity in Aging and Longevity: The Foundation of Resilience. *Aging and Disease.* 2020; 11 (6): 1363-1373.
5. Rodriguez IJ, Ruiz N, Llano M, Martinez L, Montilla MP, Ortiz JP et al. Immunosenescence study of T cells: A systematic review. *Front Immunol.* 2021; 11: 604591.
6. Fulop T, Larbi A, Dupuis G, Le Page A, Frost EH, Cohen AA, et al. Immunosenescence and Inflamm-Aging As Two Sides of the Same Coin: Friends or Foes?
7. Xu W and Larbi A. Markers of T cell Senescence in Humans. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(8): 1742.
8. Moro-García MA, Mayo JC, Sainz SM and Alonso-Arias R. Influence of inflammation in the Process of T Lymphocyte Differentiation: Proliferative, Metabolic, and Oxidative Changes. *Front Immunol.* 2018;(9):339.

9. Aiello A, Farzaneh F, Candore G, Caruso C, Davinelli S, Gambino CM. Immunosenescence and Its Hallmarks: How to Oppose Aging Strategically? A Review of Potential Options for Therapeutic Intervention. *Front Immunol.* 2019;(10): 2247.
10. Lang PO, Govind S, Aspinall R. Reversing T cell immunosenescence: why, who, and how. *AGE.* 2013; 35(3):609-20.
11. Fulop T, Dupuis G, Baehl S, Le Page A, Bourgade K, Frost E, et al. From inflamm-aging to immune-paralysis: a slippery slope during aging for immune-adaptation. *Biogerontol.* 2016; 17(1):147-57.
12. Pawelec G. The human immunosenescence phenotype: does it exist? *Seminars in Immunopathology.* 2020; 42:537–544
13. Picón C, Tejada-Velarde A and Villar LM. Identification of the Immunological changes appearing in the CSF during the early immunosenescence process occurring in multiple sclerosis. *Front Immunol.* 2021;(12): 685139.
14. Herndler-Brandstetter D, Schwaiger S, Veel E, Fehrer Ch, Cioca DP, Almanza G, et al. CD25-Expressing CD8+ T cells are potent memory cells in old age. *J Immunol* 2005; 175:1566-1574
15. Kuca-Warnawin E, Skalska U, Janicka I, Musiałowicz U, Bonek K, Głuszko P, et al. The phenotype and secretory activity of adipose-derived mesenchymal stem cells (ASCs) of patients with rheumatic diseases. *Cells.* 2019; 8(12):1659.
16. Abbas AK, Trotta E, Simenov D, Marson A, Bluestone JA. Revisiting IL-2. Biology and therapeutic prospects. *Sci Immunol.* 2018; 3(25):1482.
17. Palacios-Pedrero MA, Osterhaus ADME and Saletti G. Aging and options to halt declining immunity to virus infections. *Front Immunol.* 2021; 12:681449
18. Villegas-Valverde C, Kokuina E, Breff-Fonseca MC. Estimating normal values of rare T-lymphocyte populations in peripheral blood of healthy Cuban adults. *MEDICC Rev.* 2018; 20 (4): 20–26.
19. Reber A, Chirkova T, Kim J, Cao W, Biber R, Shay D and Sambhara S. Immunosenescence and challenges of vaccination against Influenza in the aging population. *Aging and Disease.* 2012; 3(1): 68-90.
20. Kuca-Warnawin E, Janicka I, Szczesny P, Olesin´ska M, Bonek K, Głuszko P, and Kontny E. Modulation of T-cell activation markers expression by the adipose tissue-derived mesenchymal stem cells of patients with rheumatic diseases. *Cell Transplantation.* 2020; 29: 1–13.
21. Teissier Th, Boulanger E and Cox LS. Interconnections between inflammaging and immunosenescence during ageing. *Cells.* 2022; 11(3): 359.
22. Ovadya Y, Landsberger T, Leins H, Vadai E, Gal H, Biran A, Yosef R, Sagiv A, Agrawal A, Shapira A, et al. Impaired immune surveillance accelerates accumulation of senescent cells and aging. *Nat. Commun.* 2018; 9:5435.
23. Jurk D, Wilson C, Passos JF, Oakley F, Correia-Melo C, Greaves L, Saretzki G, Fox C, Lawless C, Anderson R, et al. Chronic inflammation induces telomere dysfunction and accelerates aging in mice. *Nat Commun.* 2014; 5:4172.

24. Ryder J.R, Northrop E, Rudser KD, Kelly AS, Gao Z, Khoury PR, Kimball TR, Dolan LM, Urbina EM. Accelerated early vascular aging among adolescents with obesity and/or type 2 Diabetes Mellitus. *J. Am. Heart Assoc.* 2020; 9:e014891.
25. Seo Y, Shin TH, Kim HS. Current strategies to enhance adipose stem cell function: an update. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(15):3827.
26. Chiossone L, Conte R, Spaggiari GM, Serra M, Romei C, Bellora F et al. Mesenchymal stromal cells induce peculiar alternatively activated macrophage escapable of dampening both innate and adaptive immune responses. *Stem Cells.* 2016; 34(7):1909–1921.
27. Davies LC, Heldring N, Kadri N, Le Blanc K. Mesenchymal stromal cell secretion of programmed death-1 ligands regulates T cell mediated immunosuppression. *Stem Cells.* 2017;35(3): 766–776
28. Yin K, Zhu R, Wang S, Zhao RC. Lower level laser (LLL) attenuate LPS-induced inflammatory responses in mesenchymal stem cells via the suppression of NFkB signaling pathway in vitro. *PLoS One.* 2017;12(6):e0179175
29. Salminen A. Immunosuppressive network promotes immunosenescence associated with aging and chronic inflammatory conditions. *J Mol Med.* 2021; 25: 1-17.
30. Leng SX, Margolick JB. Aging, sex, inflammation, frailty, and CMV and HIV Infections. *Cell Immunol.* 2020; 348: 104024.
31. Crooke SN, Ovsyannikova IG, Kennedy RB, Poland GA. Immunosenescence: A Systems-Level overview of immune cell biology and strategies for improving vaccine responses. *Exp Gerontol.* 2019; 124: 110632.
32. Piasecka B, Duffy D, Urrutia A, Quach H, Patin E, Posseme C, et al. Distinctive roles of age, sex, and genetics in shaping transcriptional variation of human immune responses to microbial challenges. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018 116; 115(3):E488–E497.
33. Starska K, Głowacka E, Kulig A, Lewy-Trendal, Bryś M, Lewkowicz P. Prognostic value of the immunological phenomena and relationship with clinicopathological characteristics of the tumor—the expression of the early CD69+, CD71+ and the late CD25+, CD26+, HLA/DR+ activation markers on T CD4+ and CD8+ cells in squamous cell laryngeal carcinoma. Part II. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; 49(4):593–603.
34. Lukas S, Keller M, Leonard F, Weinberger B, Pangrazzi L, Sopper S et al. CD8+HLA-DR+ regulatory T cells change With aging: They increase in number, but lose checkpoint inhibitory Molecules and suppressive Function. *Front Immunol.* 2018;(9): 1201.
35. Ligotti ME, Aiello A, Accardi G, Aprile S, Bonura F, Bulati M et al. Analysis of T and NK cell subsets in the Sicilian population from young to supercentenarian: The role of age and gender. *Clin Exp Immunol.* 2021; 205:198–212.
36. Márquez EJ, Chung C-H, Marches R, Rossi RJ, Nehar-Belaid D, Eroglu A, et al. Sexual-dimorphism in human immune System aging. *Nat Commun.* 2020;11:751
37. Costantini E, D'Angelo Ch and Reale M. The Role of Immunosenescence in Neurodegenerative Diseases. *Med Inflamm.* 2018; 6039171.

38. Wakiguchi H, Hasegawa S, Suzuki Y, Kudo K, Ichiyama T. Relationship between T-cell HLA-DR expression and intravenous immunoglobulin treatment response in Kawasaki disease. *Pediatr Res.* 2015; 77(4):536–40.