

**Artículo de
investigación**

La expresión de marcadores de superficie celular de sangre periférica de sujetos sanos no cambia con la edad

CELIA GUERRERO VELÁZQUEZ
FERNANDO ALFARO BUSTAMANTE
ARMANDO SOTEO ORTIZ

MARÍA ELENA REYES MORENO
LUIS SANTOSCOY TOVAR
MARY FAFUTIS MORRIS

INTRODUCCIÓN

El envejecimiento es un proceso dinámico en los individuos que los conduce al deterioro de varios sistemas fisiológicos. En esta etapa de la vida humana aumenta la susceptibilidad a enfermedades y el índice de muerte. Todas las discapacidades incluyendo la declinación cardiovascular, funciones neurosensoras, aumento en la incidencia a tumores y enfermedades autoinmunes así como el desarrollo de enfermedades degenerativas, representan un importante reto para los investigadores especializados en la inmunosenescencia y la biogerontología. Las investigaciones que se han realizado

incluyen mecanismos celulares y moleculares, además de aspectos clínicos basados en el programa EU “Immunology and Ageing in Europe” (1-6).

El reciente conocimiento del sistema inmune ha fortalecido a la gerontología básica y aplicada. Pawelec y Solana recientemente han acuñado el término “inmunosenescencia” para designar una gran variedad de modificaciones inmunes en el proceso de envejecimiento (6). El envejecimiento humano es inevitable y se sugiere que el rango de envejecimiento es diferente en cada individuo. A nivel molecular pueden ocurrir varios cambios específicos como fallas en la producción de

RESUMEN

Existe una opinión general sobre la disminución de la respuesta inmune en el envejecimiento. Sin embargo, dicha opinión se basa en un número limitado de estudios sobre porcentajes de subpoblaciones de linfocitos y niveles de citocinas en unos pocos individuos. Aun en la actualidad, los datos son controvertidos. Tratando de dilucidar sobre este problema, estudiamos subtipos de poblaciones en linfocitos de 101 sujetos sanos clasificados de acuerdo al protocolo de SENIEUR, entre 0 y 102 años de edad. Marcadores de linaje y de función se estudiaron cuidadosamente por citometría de flujo. Los resultados analizados por el Coeficiente de Correlación de Pearson sugieren que las funciones inmunes estudiadas no disminuyen con el progreso de la edad.

Palabras clave: Inmunosenescencia, Citometria de Flujo, Marcadores de superficie celular.

ABSTRACT

There is a general belief that immune response decrease with aging. This knowledge has been based upon a limited number of studies involving few individuals as well as studies on cell surface markers and cytokines levels. Changes in percentage of lymphocytes subsets have been described in elderly individuals. Nonetheless, such changes have frequently been found controversial. Trying to elucidate this issue we studied lymphocyte subset in 101 clinically healthy individuals classified according to SENIEUR protocol between 0 and 102 years of age. Expression of lineage and function markers were carefully determined. Taken altogether, our results expressed and calculated by Pearson's Coefficient Correlation suggested that most immune system functions do not diminish as age progresses.

Key words: Immunosenescence, Cell surface markers, Flow cytometry.

citocinas por células T, tal vez como resultado de la alteración de las señales de transducción que se involucran en la activación de la célula T. Las señales de coestimulación también se encuentran alteradas por la baja expresión de CD28 en sujetos de edades avanzadas (7).

Estudios en sujetos sanos de seniles, de acuerdo al protocolo de SENIEUR (8), han demostrado que varios de los cambios en la función inmune que se relacionan con el envejecimiento pueden ser en parte a condiciones patológicas. Tal es el caso del número y porcentaje de expresión de moléculas de superficie celular CD2, CD3, CD4, CD8, CD45RA, CD45RO, CD14, CD16, CD19, CD56, CD57, en donde algunos autores señalan que la expresión disminuye, otros que aumenta y otros que permanece similar en sujetos jóvenes y de edades avanzadas (9,10,11). Sin embargo, Miller *et al* señalan que el descubrimiento de biomarcadores en el envejecimiento es posible (12).

En cuanto a los niveles de citocinas varios autores describen un comportamiento similar en jóvenes y sujetos de edades avanzadas de los niveles de IL-1, IL-2, sIL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- α , IFN- γ y TNF- α (9,10,13). Sin embargo, Pawelec *et al* han demostrado que algunas clonas de células T de sujetos de edades avanzadas producen más IL-10 que las de sujetos jóvenes. Contrariamente las clonas que secretan una mayor cantidad de IL-6 son las de los sujetos jóvenes (14).

Debido a que existen varios reportes controversiales, acerca de la proliferación, expresión de marcadores de superficie celular y niveles de citocinas en sujetos jóvenes y de edades avanzadas sanos; el objetivo principal de este estudio fue medir la expresión de algunas moléculas de superficie celular entre ellas el CD2, CD3, CD4, CD5, CD27, CD56 y CD58 así como los marcadores de activación CD25 y CD71 y los niveles de IL-2 e IFN- γ .

Por otro lado analizamos la capacidad de proliferación de células mononucleares de sangre periférica y todas estas variables se correlacionaron entre ellas para observar una cinética biológica en todas las etapas de la vida humana.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos de estudio

Se incluyeron en el estudio 101 sujetos sanos, que incluían desde recién nacidos hasta 102 años de edad, con obtención del consentimiento informado y de acuerdo a los criterios Internacionales del protocolo de "SENIEUR" (8). El cual se basa en excluir individuos con inflamación crónica o aguda y que ingieran medicamentos que afecten la respuesta inmune. Se formaron 7 grupos de por edad (Cuadro 1).

De todos los sujetos de estudio se obtuvo sangre periférica por punción venosa en tubos con heparina para las siguientes determinaciones:

MARCADORES DE SUPERFICIE EN CÉLULAS DE SANGRE PERIFÉRICA. De las muestras de sangre periférica se lisaron los eritrocitos con cloruro de amonio, los leucocitos separados se incubaron por 30 min a 4°C con los anticuerpos monoclonales: anti-CD2, anti-CD3, anti-CD4, anti-CD5, anti-CD27, anti-CD56 y anti-CD58 (Leinco Technologies. St. Louis, Mo) marcados con isiotiocianato de fluoresceína (FITC). Posteriormente se lavaron las células con un buffer de fosfatos y se fijaron con una solución de paraformaldehído al 2%. Por último las muestras se leyeron en el citómetro de flujo

CUADRO 1

Grupos	Grupos por edad (en años)	n	F	M
1	Recién nacidos	15	7	8
2	10-16	8	6	2
3	20-29	27	15	12
4	30-39	11	10	1
5	40-59	9	4	5
6	60-79	15	10	5
7	> 80	16	9	7

(Epics V flowcytometer. Corp., Hialech FL). Los resultados obtenidos, se expresan como porcentaje de células positivas a los diferentes marcadores (15).

MARCADORES DE ACTIVACIÓN. De las muestras de sangre de los sujetos se aislaron células mononucleares por gradiante de densidad (16) con Ficoll-Hypaque (Sigma Chemicals, St. Louis, MO). Las células se lavaron y se resuspendieron en medio RPMI-1640 (Sigma) suplementado con 10% de suero fetal inactivado, 100 IU/ml penicilina, y 100 mg/ml de estreptomicina. Las células se ajustaron a 1×10^6 /ml en medio RPMI-1640, se sembraron en placas de 24 pozos, se estimularon con fitohemaglutinina (PHA) (10 mg/ml) y se cultivaron durante 24 horas con 5% de CO₂ a 37°C en una atmósfera húmeda. A las 24 horas las células se cosecharon y se incubaron con los anticuerpos monoclonales CD25 y CD71 (Leinco, Technologies. St. Louis, Mo) marcados con FITC y se siguió la técnica antes descrita para leer las muestras en el citómetro de flujo.

PROLIFERACIÓN CELULAR. Muestras por triplicado de 2×10^5 de células mononucleares se distribuyeron en microplacas de 96 pozos (Nunc, Roskilde, Denmark) y se cultivaron bajo las condiciones previamente descritas. A las 48 horas las células se pulsaron con [³H] Timidina (3H timidina, 0.5 μ Ci/pozo, actividad específica de 6.7 Ci/mmol) (New England Nuclear Boston, MA) y a las 24 horas las células se cosecharon automáticamente con el (Nunc Cell Harvester). La incorporación de ³HtdR se midió en un contador de centelleo de radiaciones β (Beckman LS 6500 Multi Purpose Scintillation Counter) como se ha reportado previamente (17). Los resultados se obtuvieron en cuentas por minuto (cpm) y se reportaron como la media \pm la desviación estándar (DE) del Índice de Estimulación (IE = cpm de las células estimuladas/cpm de las células no estimuladas).

NIVELES DE IL-2 E IFN- γ . Sobrenadantes libres de células mononucleares estimuladas con PHA se recolectaron a las 24 horas para medir la producción de IL-2 e IFN- γ con Kits para ELISA (R & D Systems. Minneapolis, MN).

Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos para las diferentes variables se presentaron como la media \pm DE y se utilizó una prueba *t*-Student para comparar los IE entre los diferentes grupos.

El Coeficiente de Correlación de Pearson (CCP) se utilizó para correlacionar: a) la expresión entre los diferen-

tes marcadores, b) la expresión de marcadores y niveles de citocinas, c) la expresión de marcadores y el IE, d) el IE y la producción de citocinas.

Una $P < 0.05$ se consideró como significativa para las pruebas estadísticas y se calculó usando el programa SPSS. Además, se realizó una cinética de expresión de los marcadores a través de la progresión de edad.

RESULTADOS

CCP y cinéticas para los diferentes parámetros inmunológicos.

La prueba de CCP nos permitió identificar varias tendencias entre los diferentes parámetros de estudio.

Observamos un comportamiento paralelo con una cinética muy similar entre los marcadores CD2, CD3 y CD4 en células de sangre periférica a lo largo de la vida, y el análisis de CCP mostró una correlación positiva entre estos mismos marcadores [Figura 1 (A y B)]. También observamos un comportamiento paralelo pero con otro tipo de cinética entre los marcadores CD5, CD27, CD56 y CD58 con una correlación positiva [Figura 2 (A y B)].

La prueba *t*-Student demostró únicamente diferencias significativas cuando se comparó el IE del grupo de recién nacidos contra los demás grupos de estudio [Figura 3 (A)].

Asimismo la cinética paralela que se presentó entre los marcadores de activación CD25 y CD71 demostró una correlación positiva [Figura 3 (B)]. Debido a que la proliferación es dependiente de la IL-2 correlacionamos los niveles de esta citocina con el IE y el análisis de CCP mostró una correlación positiva observándose una cinética paralela entre estos dos parámetros [Figura 3 (C)].

Al correlacionar los marcadores de activación CD25 y CD71 con los niveles de IFN- γ encontramos una cinética paralela y correlación positiva [Figura 4 (A y B)].

Al realizar el análisis de CCP entre los marcadores de superficie celular y los niveles de IL-2, encontramos una correlación negativa y una cinética anti-paralela del CD27, CD56 y CD58 con los niveles de esta citocina [Figura 4 (C y D)].

DISCUSIÓN

El objetivo de este trabajo fue correlacionar la expresión de algunos marcadores de superficie celular de sujetos sanos, así como tratar de describir la cinética biológica de estas moléculas, dada su importancia en la función y regulación de la respuesta inmune en todas las etapas de la vida.

Esperábamos un comportamiento en el cual la expresión de los diferentes marcadores disminuyera conforme avanza la edad, como ocurre en la mayoría de los elementos de otros sistemas fisiológicos. Sin embargo, la cinética y el CCP entre los marcadores, demostraron dos comportamientos interesantes y diferentes: uno en el cual la expresión de los marcadores corren en forma paralela a lo largo de la vida con una regresión lineal positiva y otro donde la expresión corre en forma anti-paralela, con una regresión lineal negativa.

En la cinética paralela, llaman la atención los marcadores CD2, CD3 y CD4 que muestran un comportamiento muy similar, en el que se observa que el porcentaje de expresión va aumentando levemente desde el nacimiento, presentando

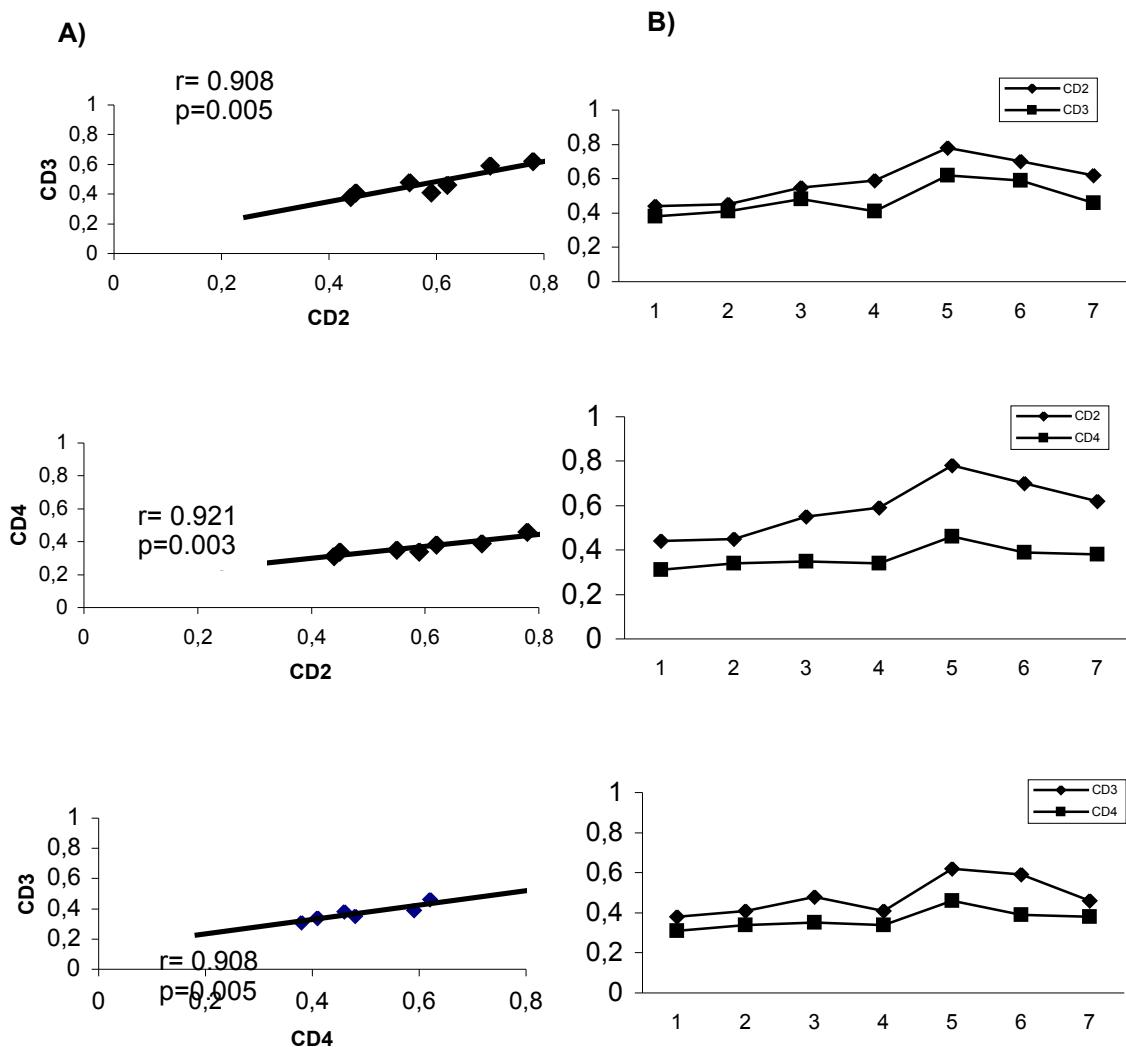
un valor máximo en el grupo de 40-59 años y a partir de esta edad comienza a disminuir el porcentaje de expresión, sin llegar en ningún momento a estar por debajo del valor inicial (grupo de recién nacidos). Estos hallazgos coinciden con lo reportado por algunos autores (18,19). Sin embargo, un tercer grupo de autores ha reportado que la expresión de CD2 permanece igual en individuos jóvenes y de edades avanzadas (9). Mientras que otros autores han reportado que el CD2 se sobre expresa en células T de sujetos de edades avanzadas (20,21). En el caso del CD3 se conoce que conforme avanza la edad este disminuye (9,10,13). Y la expresión del CD4 permanece igual en sujetos jóvenes y de edades avanzadas (9,12). Los resultados de nuestro estudio difieren en parte; no encontramos diferencias en la expresión de CD2, CD3 y CD4 y no solo entre sujetos jóvenes y de edades avanzadas, sino que observamos que estos marcadores presentan la misma cinética de expresión a lo largo de toda la vida. Esto parecería tener un significado biológico debido a que estas tres moléculas, son constitutivas de la membrana de linfocitos T, además de ser indispensables para la competencia inmune. Sin embargo, en otros estudios mediante análisis de microsatélites en diferentes clonas en cultivo se ha demostrado el aumento de una inestabilidad en la molécula CD4 a lo largo del cultivo. Probablemente en este estudio no observamos cambios debido a que fue a nivel de superficie celular (6,22).

En cuanto a los marcadores CD5, CD27, CD56 y CD58 observamos que el valor máximo de expresión lo presentó el grupo de 10-16 años y el valor mínimo el grupo de 40-59 años. Se ha descrito en la literatura que existe un aumento de la expresión de CD5 en sujetos de edades avanzadas (92 años) comparado con adultos jóvenes (31 años) (20). Nuestros resultados coinciden con lo reportado, debido a que la expresión de CD5 aumenta en el grupo de más de 80 años y aunque el valor máximo se observa entre los 10-16 años la expresión comienza a disminuir a partir de los 20 años, cayendo en un valor mínimo entre los 40-59 años de edad. A partir de allí comienza a elevarse su expresión. El mismo comportamiento se observa para el CD27.

Se conoce que el CD27 es un miembro de la familia del TNF-R, que se expresa sobre células T y B. Al unirse el CD27 con el CD70 se activan vías de señalización diferentes a la del CD25 y CD28 en el linfocito T (23). También se ha descrito que la expresión del CD27 en sujetos de edades avanzadas (83+ 15 años) aumenta (24). Nuestros datos coinciden de manera parcial con estos resultados, debido a que la cinética muestra que la expresión de CD27 aumenta de manera considerable entre los 10-16 años y disminuye entre los 40-59 años. Sin embargo, a partir de los 60 años se eleva paulatinamente, alcanzando el mismo nivel de expresión que el grupo de recién nacidos.

Por otro lado se conoce que el CD56 se expresa predominantemente sobre las células NK. Ogata *et al* señalan que las células NK no escapan al proceso de envejecimiento y aunque el número de células NK se mantiene a lo largo de la edad, la función se correlaciona negativamente, proponiendo que la baja función de las NK se relaciona con el desarrollo de infecciones severas, las cuales pueden ser fatales en los sujetos de edades avanzadas (25). Aunado a esto, Solana *et al* reportan que la inmunosenescencia está asociada a una capacidad funcional defectuosa de las células NK, que

FIGURA 1
CORRELACIÓN Y CINÉTICA DE EXPRESIÓN DE LOS MARCADORES CD2, CD3 Y CD4 CON LA PROGRESIÓN DE LA EDAD



Células de sangre periférica se incubaron con anticuerpos monoclonales anti-CD2, anti-CD3 y anti-CD4 marcados con FITC.

1A El CCP mostró una correlación positiva entre los marcadores CD2, CD3 y CD4. Los resultados se expresan como la media de la expresión de los diferentes marcadores. Niveles de significancia $p < 0.05$.

1B, presenta la cinética paralela entre los marcadores CD2, CD3 y CD4. En estas gráficas el eje de las X corresponde a los grupos por edad en años y el eje de las Y corresponde a la media de la expresión de CD2, CD3 y CD4.

Grupos por edad (en años): 1 = Recién nacidos, 2= 10-16, 3= 20-29, 4= 30-39, 5= 40-59, 6= 60-79 y 7= >80 años.

parcialmente está compensada por un número aumentado de células NK maduras (26). El porcentaje de expresión de CD56 en las células de los sujetos sanos entre 60-100 años de este estudio aumenta.

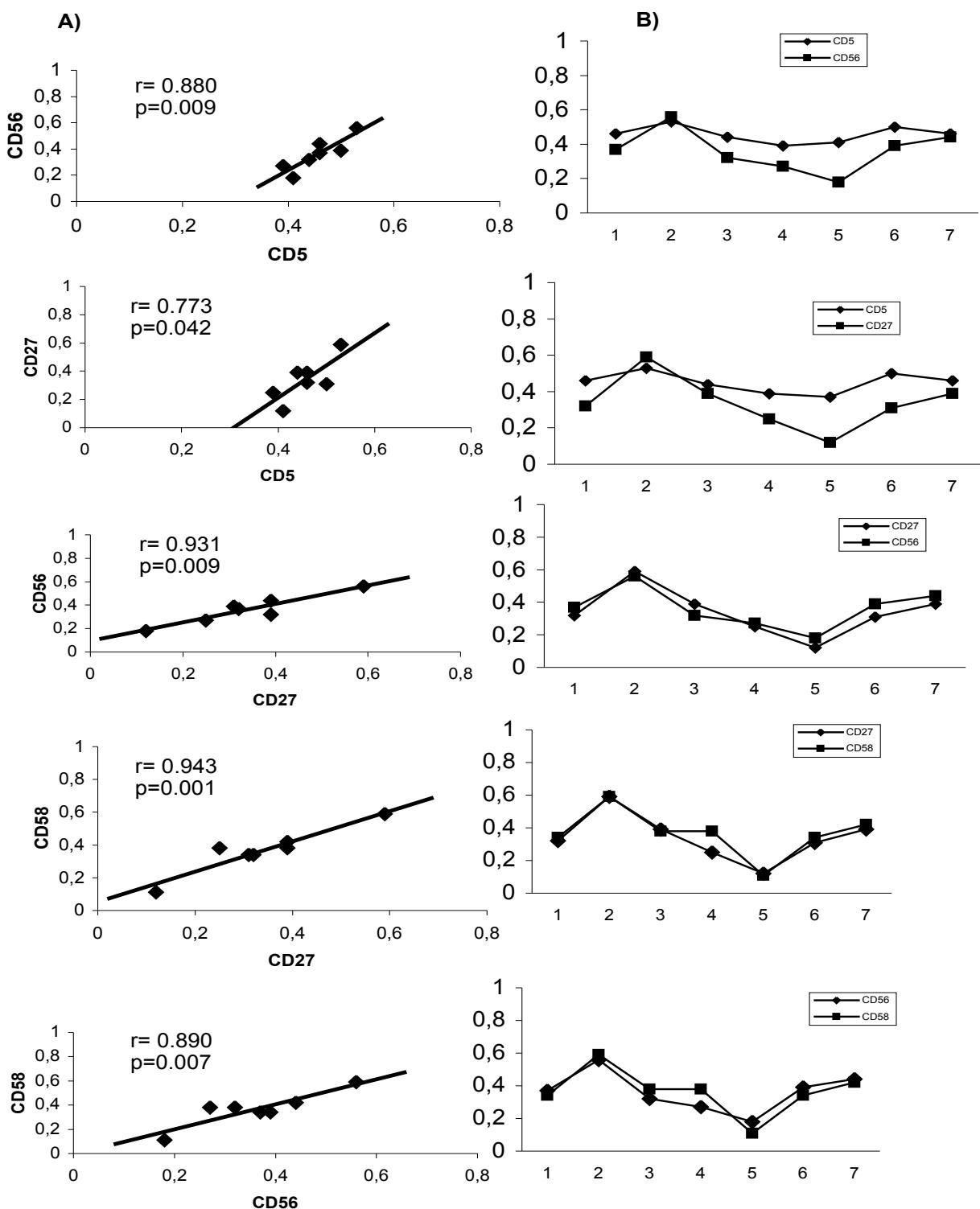
La cinética entre el CD5, CD27, CD56 y CD58 es muy similar, mostrando una baja expresión en el grupo de 40-59 años y una alta expresión en el grupo de 10-16 años. Se ha reportado que la ausencia o disminución de CD56 y CD58 está asociada con la presencia de varios tumores en individuos de edades avanzadas (27). Sería interesante asociar la expresión y funcionalidad de estos marcadores con la

aparición de tumores, debido a que existe una disminución en su función (25,26).

Por otra parte, en estudios de la función inmune en el envejecimiento no se incluyen mujeres entre los 40-59 años de edad, debido a los factores de confusión que pueden producir los cambios hormonales asociados con el periodo de la premenopausia y menopausia (19). Cabe mencionar que en este estudio no excluimos a los sujetos del sexo femenino de estas edades. Probablemente la baja expresión de CD5, CD56, CD27 y CD58 en el grupo de 40-59 años y la alta expresión de estos mismos marcadores

FIGURA 2

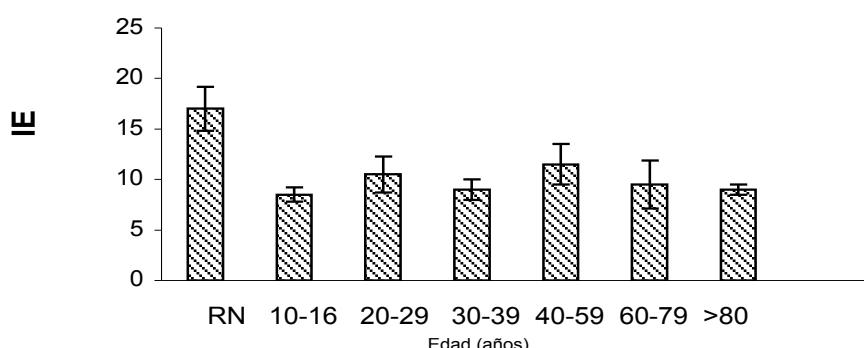
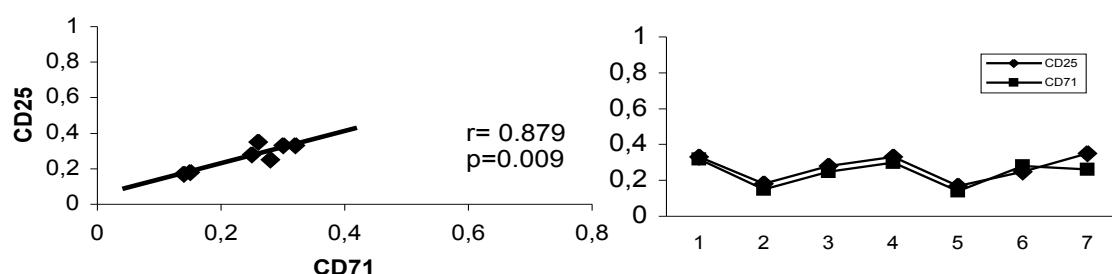
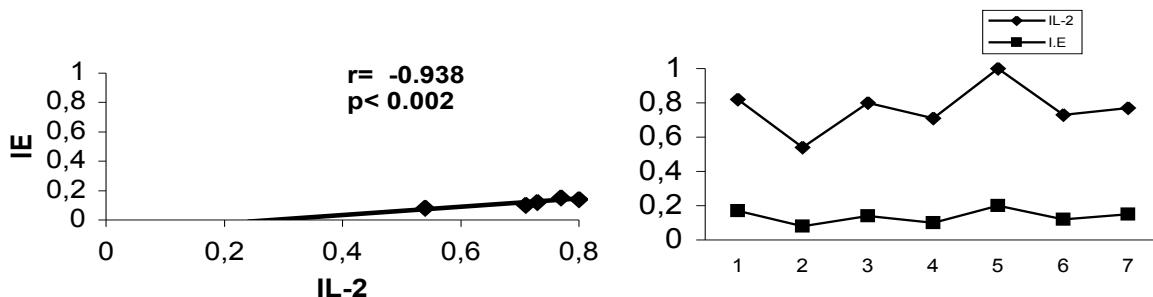
CORRELACIÓN Y CINÉTICA DE EXPRESIÓN DE LOS MARCADORES CD5, CD27, CD56 Y CD58
CON LA PROGRESIÓN DE LA EDAD



Células de sangre periférica se incubaron con anticuerpos monoclonales anti-CD5, anti-CD27, anti-CD56 y anti-CD58 marcados con FITC. 2A El CCP demostró una correlación positiva entre los marcadores CD5, CD27, CD56 y CD58. Los resultados se expresan como la media de la expresión del CD5, CD27, CD56 y CD58. Niveles de significancia $p < 0.05$.

2B, presentan la cinética paralela entre los marcadores CD5, CD27, CD56 y CD58. En estas gráficas el eje de las X corresponde a los grupos por edad en años y el eje de las Y corresponde a la media de la proporción de expresión de CD5, CD27, CD56 y CD58. Grupos por edad (en años): 1 = Recién nacidos, 2 = 10–16, 3 = 20–29, 4 = 30–39, 5 = 40–59, 6 = 60–79 y 7 = >80 años.

FIGURA 3
PROLIFERACIÓN A TRAVÉS DE LA EDAD. CORRELACIÓN Y CINÉTICA DE EXPRESIÓN DE LOS MARCADORES DE ACTIVACIÓN ASÍ COMO DEL IE CON LOS NIVELES DE CITOCINAS

A)**B)****C)**

Mediante la prueba t-Student se demostró que solamente existen diferencias significativas del IE cuando se comparó el grupo de recién nacidos (RN) contra los demás grupos del estudio 3A. Los resultados se expresan como la media ± la DE de los IE de los diferentes grupos.
 RN vs 10-16 años $p < 0.004$, RN vs 20-29 años $p < p < 0.008$, RN vs 30-39 años $p < 0.002$, RN vs 40-59 años $p < 0.05$, RN vs 60-79 años RN vs $p < 0.05$ RN vs > 80 de años $p < 0.006$.

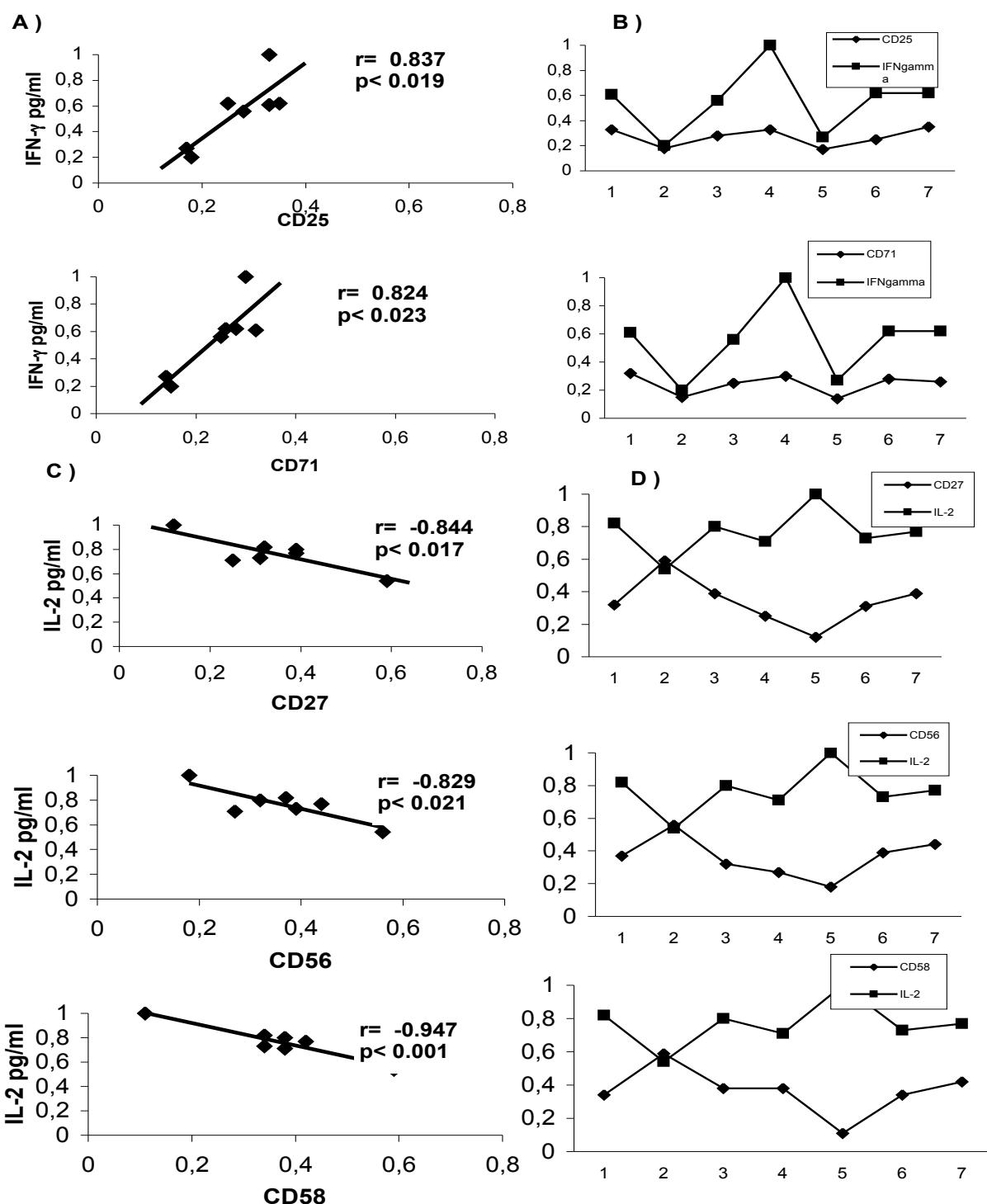
Células mononucleares de sangre periférica activadas con PHA se incubaron durante 48 horas. Las células se recuperaron y se marcaron con anti-CD25 y anti-CD71 marcados con FITC.

3B el análisis de CCP mostró una correlación positiva entre la expresión de CD25 y CD71 así como entre el IE y los niveles de IL-2.

3C, presentan la cinética paralela entre los marcadores CD25 y CD71, así como entre el IE y los niveles de IL-2. En estas gráficas el eje de las X corresponde a los grupos por edad en años y el eje de las Y corresponde a la media de la expresión de CD25 y CD71 así como la media de la proporción de los niveles de IL-2. Grupos por edad (en años): 1 = Recién nacidos, 2= 10-16, 3= 20-29, 4= 30-39, 5= 40-59, 6= 60-79 y 7= >80 años. Niveles de significancia $P < 0.05$.

FIGURA 4

CORRELACIÓN Y CINÉTICA DE EXPRESIÓN DE LOS MARCADORES CON LOS NIVELES DE CITOCINAS



Sobrenadantes libres de células tratadas con PHA ($10 \mu\text{g}/\text{ml}$) se utilizaron para medir los niveles de IL-2 e IFN- γ por ELISA.

Los resultados mostraron una correlación positiva 4A y una cinética paralela 4B entre los marcadores CD25 y CD71 con los niveles de IFN- γ . También encontramos una correlación negativa 4C y una cinética antiparalela 4D de los marcadores CD5, CD27, CD56 y CD58 estos mismos marcadores con los niveles de IL-2. En estas gráficas de las columnas B y D el eje de las X corresponde a los grupos por edad en años y el eje de las Y corresponde a la media de la expresión de CD25, CD71 y a la media de la proporción de los niveles de IL-2 e IFN- γ .

Y corresponde a la media de la expresión de CD25, CD71 y a la media de la proporción de los niveles de IL-2 e IFN- γ .

Grupos por edad (en años): 1 = Recién nacidos, 2= 10–16, 3= 20–29, 4= 30–39, 5= 40–59, 6= 60–79 y 7= >80 años.

Niveles de significancia P< 0.05.

en el grupo de 10-16 años pueda afectarse por los cambios hormonales producidos en estas etapas de la vida (adolescencia y menopausia).

Se ha reportado que en sujetos de edades avanzadas existe una baja proliferación de las células T estimuladas con mitógenos (28,29). Al realizar el ensayo de linfoproliferación únicamente encontramos diferencias significativas del grupo de los recién nacidos contra los demás grupos del estudio. Otra variante de la cinética paralela (correlación positiva) la presentan el par de marcadores CD25 (receptor a IL-2) y CD71 (receptor a transferrina), moléculas involucradas en la activación y progresión del ciclo celular, que interesantemente presentan dos valores mínimos: uno en el grupo de 10-16 años y otro en el de 40-59 años.

Se conoce que en la adolescencia se elevan los niveles de hormonas sexuales, los cuales se estabilizan entre los 20-29 años (30). Otros autores han reportado que las hormonas sexuales tienen efectos inmunomoduladores *in vitro* sobre la expresión de CD25 y CD69 en sujetos jóvenes (25-35 años) (31). Los individuos entre 20-29 años de este estudio demostraron porcentajes elevados de CD25 y CD71. Nuestros datos sugieren que probablemente los niveles de hormonas sexuales influyen sobre la expresión de estos marcadores durante la adolescencia y la edad joven adulta (20-29 años). Por lo tanto, estudios posteriores en los que se determine la expresión del CD25 y CD71 bajo el efecto de las hormonas sexuales, nos proporcionarán más conocimiento acerca del comportamiento de estas moléculas en diferentes etapas de la vida.

Se ha descrito que sujetos de edades avanzadas muestran una expresión disminuida del CD25 (28). Sin embargo De Greef *et al* señalan que esta baja expresión se debe al efecto de medicamentos o enfermedades y no al proceso propio de envejecimiento (32).

Nuestros resultados coinciden con lo reportado por De Greef *et al* ya que los sujetos de edades avanzadas de este estudio (que no ingieren medicamentos y no presentan enfermedades) expresaron CD25 de manera similar al de los jóvenes adultos, cabe señalar que lo mismo ocurre con el CD71.

Algunos autores han reportado que los niveles IL-2 disminuyen con el envejecimiento (13,33,34,35). Sin embargo, otros autores mencionan que los niveles de IL-2 aumentan (13,36). En este estudio, encontramos que los niveles de IL-2 son similares en sujetos de edades avanzadas y jóvenes adultos.

Al correlacionar los niveles de IL-2 con el IE, encontramos una cinética paralela, además de una correlación positiva en todas las etapas de la vida, lo cual era de esperarse, ya que la proliferación es dependiente de la liberación de IL-2.

Varios autores han reportado que los niveles de IFN- γ producidos por células T disminuyen con el

envejecimiento (10,13,34,35,36).

En cuanto a la correlación de los marcadores CD25 y CD71 y los niveles de IFN- γ , encontramos una cinética paralela y una correlación positiva. Sin embargo, podemos observar que en el grupo de 10-16 años y 40-59 años se encuentra el valor menor de esta citocina, este mismo comportamiento se observa en la expresión de los marcadores CD25 y CD71. Estos resultados pudieran sugerir que probablemente la producción de IFN- γ y la expresión de CD25 y CD71 está regulada por otros factores (hormonas).

Por otro lado, observamos que mientras la IL-2 disminuye en los sujetos de 10-16 años, la expresión de CD27, CD56 y CD58 aumenta. Y en el grupo de 40-59 años mientras los niveles de IL-2 aumentan, la expresión de CD27, CD56 y CD58 disminuye mostrando una cinética anti-paralela (correlación negativa).

No encontramos algún tipo de correlación entre los marcadores de activación CD25 y CD71 con los niveles de IL-2, debido a que estos marcadores se expresan después de la activación. Sin embargo, lo que podemos observar es que la mínima expresión de CD25 también la presentan los grupos de 10-16 y 40-59 años.

Evidencias recientes indican que los sistemas neuroendocrino-inmune están íntimamente integrados dentro de un solo sistema, y proveen una compleja red homeostática (37). Estos hallazgos sugieren que los andrógenos modulan el sistema inmune, aunque no se conoce el mecanismo exacto (31).

Finalmente, nuestros datos sugieren que el envejecimiento, no involucra considerablemente un estado de inmunodeficiencia, debido a que algunos individuos viven largo tiempo con un sistema inmune bien fortalecido.

En la misma línea de evidencia, juventud no es sinónimo de inmunocompetencia individual.



Miguel Ángel López

REFERENCIAS

1. Aspinall R. Longevity and the immune response. *Biogerontology*, 2000;1(3):273-8.
2. Butler R, Warner HR, Williams TF, Austad SN. The aging factor in health and disease: the promise of basic research on aging. *Aging Clin Exp Res*, 2004;16(2):104-11.
3. Pawelec G, Akbar A, Caruso C, Effros R, Grubeck-Loebenstein B, Wikb A. Is immunosenescence infectious? *Trends Immunol*, 2004;25(8):406-10.
4. Tarazona R, Solana R, Ouyang Q, Pawelec G. Basic biology and clinical impact of immunosenescence. *Exp Gerontol*, 2002;37(2-3):183-9.
5. Solana R. Biogerontology research in Spain. *Exp Gerontol*, 2003;38(8):819-24.
6. Pawelec G, Solana R. Immunoageing – the cause or effect of morbidity. *Trends Immunol*, 2001;22(7):348-9.
7. Effros RB. Replicative senescence of CD8 T cells: effect on human ageing. *Exp Gerontol*, 2004;39(4):517-24.
8. Ligthart GH. The SENIEUR protocol after 16 years: the next step is to study the interaction of ageing and disease. *Mech Ageing Dev*, 2001;122(2):136-40.
9. Xu X, Beckman I, Ahern M, Bradley J. A comprehensive analysis of peripheral blood lymphocytes in healthy aged humans by flow cytometry. *Immunol Cell Biol*, 1993;71:549-557.
10. Rink I, Cakman I, Kirchner H. Altered cytokine production in the elderly. *Mech Ageing Dev*, 1998;102:199-209.
11. Cossarizza A, Ortolani C, Monti D, Franceschi C. Cytometric Analysis of Immunosenescence. *Cytometry*, 1997;27:297-313.
12. Miller RA. Biomarkers of aging. *Sci Aging Knowledge Environ*, 2001;1:2.
13. Born J, Uthgenannt D, Dodt C, Nünninghoff D, Ringvold E, Wagner T, Fehm HL. Cytokine production and lymphocyte subpopulations in aged humans. An assessment during nocturnal sleep. *Mech Ageing Dev*, 1995;84:113-126.
14. Pawelec G, Mariani E, Bradley B, Solana R. Longevity in vitro of human CD4+ T helper cell clones derived from young donors and elderly donors, or from progenitor cells: age-associated differences in cell surface molecule expression and cytokine secretion. *Biogerontology*, 2000;1(3):247-54.
15. Islam D, Lindber AA, Christensson B. Peripheral blood cell preparation influences the level of expression of leukocyte cell surface markers as assessed with quantitative multicolour flow cytometry. *Cytometry*, 1995;22:128-134.
16. Böyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand J Clin Lab Invest*, 1968;21(supl 197):77-85.
17. Fafutis MM, Alfaro BF, González MA. Response to phytohemagglutinin of LL patient's lymphocytes preincubated in culture media. *Int J Lepr*, 1991;59:480-482.
18. Pallis M, Robins RA, Powell RJ. Peripheral blood lymphocyte adhesion molecule deployment in the immune response. *Scand J Immunol*, 1996;43(3):1-17.
19. Krause D, Mastro AM, Handte G, Smiciklas H, Miles P, Ahluwalia N. Immune function did not decline with aging in apparently healthy, well-nourished women. *Mech Ageing Dev*, 1999;112(1):43-57.
20. Ginalgi Lia, De Martinis M, D' Ostilio A, Marini L, Loreto F, Modesti M, Quaglino D. Changes in the expression of surface receptors on lymphocyte subsets in the elderly: Quantitative flow cytometric analysis. *Am J Hematol*, 2001;67:63-72.
21. De Martinis M, Modesti M, Loreto MF, Quaglino D, Ginaldi L. Adhesion molecules on peripheral blood lymphocyte subpopulation in elderly. *Life Sci*, 2002;68:139-151.
22. Neri S, Cattini L, Facchini A, Pawelec G, Mariani E. Microsatellite instability in vitro ageing of T lymphocyte clones. *Exp Gerontol*, 2004;39(4):499-505.
23. Lens MA, Tesselaar K, Van Oers HJ, Van Lier RAW. Control of lymphocyte function through CD27-CD70 interactions. *Semin Immunol*, 1998;10:491-499.
24. Stohlawetz P, Hahn P, Köller M, Hauer J, Resch H, Smolen J, Pietschmann P. Immunophenotypic characteristics of monocytes in elderly subjects. *Scand J Immunol*, 1998;48(3):324-326.
25. Ogata K, An E, Shioi Y, Nakamura K, Luo S, Yokose N, Minami S, Dan K. Association between natural killer cell activity and infection in immunological normal elderly people. *Clin Exp Immunol*, 2001;124(3):392-397.
26. Solana R, Mariani E. NK and NK/T. *Vaccine*, 2000;25(16):1613-20.
27. Lanier LL, Tests R, Bindi J, Phipps JH. Identity of Leu-19 (CD56) Leucocyte differentiation antigen and neural cell adhesion molecule. *J Exp Med*, 1989;169:2233-38.
28. Son L, Kim YH, Chopra RK, Proust JJ, Nagel JE, Nordin AA, Adler WH. Age-related effects in T cell activation and proliferation. *Exp Gerontol*, 1993;28(4-5):313-319.
29. Staiano-Coico L, Darzynkiewicz Z, Melamed MR, Weksler ME. Immunological studies of aging. IX. Impaired proliferation of T lymphocytes detected in elderly humans by flow cytometry. *J Immunol*, 1984;132:1788-1792.
30. Sulcová J, Hill M, Hampl R, Stárka L. Age and sex related differences in serum levels of conjugated dehydroepiandrosterone and its sulphate in normal subjects. *J Endocrinol*, 1997;154:57-62.
31. Komlos L, Zahavi Z, Cicker D, Luria D, Salman H, Zahavi I. In vitro modulation of activation antigens on human lymphocytes by beta-estradiol. *Am J Reprod Immunol*, 1998;40(6):418-23.
32. De-Greef GE, Van Attaalduinen, Van Doorninck H, Van tol- Hijmans W. Age-related changes of the antigen specific antibody formation in vitro and PHA-induced T-cell proliferation in individuals who met the health criteria of the Senieur protocol. *Mech Ageing Dev*, 1992;66(1):1-14.
33. Huang YP, Pichere JC, Michel M, Cauthey L, Loreto M, Curran JA, Michel JP. In vivo T cell activation, in vitro defective IL-2 secretion and response to influenza vaccination in elderly woman. *J Immunol*, 1992;148:715-722.
34. Paganelli R, Scala E, Rosso R, Cossarizza A, Bertollo I, Barbieri D, Fabrizi A, Lusi EA, Fagiolo U, Franceschi C. A shift to TH0 cytokine production by CD4+ cells in human longevity: studies on two healthy. *Eur J Immunol*, 1996;26(9):2030-4.
35. Chitanova T, Kemp RA, Sutherland APR, et al. Gene microarrays reveal extensive differential gene expression in both CD4+ and CD8+ type 1 and type 2 T cells. *J Immunol*, 2001;167:3057-3063.
36. Sindermann J, Krause A, Frercks HJ, Schütz RM, Kirchner H. Investigations of the lymphokine system in elderly individuals. *Mech Ageing Dev*, 1993;70:149-159.
37. Mosley RL. Aging, immunity and neuroendocrine hormones. *Adv Neuroimmunol*, 1996;6(4):419-32.

Agradecimientos

Un reconocimiento muy especial al M en C. Fernando Alfaro que fue parte fundamental en la realización de este trabajo. También le agradecemos al Médico Elías Pérez por su asistencia técnica en la citometría de flujo y al Ing. Rogelio Troyo por su apoyo en el análisis estadístico.



Miguel Ángel López

ANÁLISIS DE LAS REFERENCIAS QUE REPORTAN DIFERENCIAS

En La expresión de marcadores de membrana en células mononucleares de sangre periférica en relación con el avance de la edad

Marcador	Aumento	Disminución	Sin Diferencia
CD2	(20, 21)	NR	RET
CD3	NR	(9,10,13)	RET
CD4	(9,12) RET	NR	NR
CD5	(20) RET	NR	NR
CD27	(24) RET	NR	NR
CD56	(25, 26) RET	NR	NR

En Los marcadores de activación y el índice de proliferación en células mononucleares de sangre periférica, estimuladas con PHA en relación con el avance de la edad

	Aumento	Disminución	Sin Diferencia
CD25	NR	(28) RET	NR
CD71	NR	NR	NR
IE	NR	(28,29)	(32) RET

En Los niveles de citocinas en el sobrenadante de cultivos de células mononucleares de sangre periférica, estimuladas con PHA en relación con el avance de la edad

Citocina	Aumento	Disminución	Sin Diferencia
IL-2	(35)	(13,33,34,36)	RET
IFN- α	(36)	(10,13,34,35)	RET

RET= Resultados encontrados en este Trabajo

Celia Guerrero Uelázquez¹
Fernando Alfaro Bustamante²
Armando Sotelo Ortiz³
Maria Elena Reyes Moreno⁴
Luis Santoscoy Touar⁵
Mary Fafutis Morris⁶

¹ M en C, Estudiante de Doctorado. Centro de Investigación en Inmunología y Dermatología. Departamento de Fisiología CUCS. Universidad de Guadalajara/Instituto Dermatológico de Jalisco, México.

² M en C, Profesor Investigador U de G. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias CUCBA. Universidad de Guadalajara. México.

³ QFB. Estudiante. Centro de Investigación en Inmunología y Dermatología. Departamento de Fisiología CUCS. Universidad de Guadalajara/Instituto Dermatológico de Jalisco, México.

⁴ MD. Médico Dermatólogo. Centro de Investigación en Inmunología y Dermatología. Departamento de Fisiología CUCS. Universidad de Guadalajara/Instituto Dermatológico de Jalisco, México.

⁵ MD. Jefe de Hematología de la Unidad de Patología Clínica. Guadalajara, Jalisco, México.

⁶ Dr en C. Profesor Investigador Titular "C" del CUCS. Centro de Investigación en Inmunología y Dermatología. Departamento de Fisiología CUCS. Universidad de Guadalajara/Instituto Dermatológico de Jalisco, México.

Correspondencia

Mary Fafutis Morris

CIINDE del Instituto Dermatológico de Jalisco.

Av. Federalismo Norte 3102.

Guadalajara, Jalisco, México. CP 44220.

Tel/Fax: (33) 36-72-2848 y (33) 36-17-5099.

mfafutis@cucs.udg.mx

Presentado en:

XV Congreso Nacional de Investigación Biomédica. 20-24 de octubre de 1997. Monterrey, N.L.

Vº Congreso Latinoamericano de Inmunología (ALAI) 12-16 de diciembre de 1999. Punta del Este, Uruguay.

Proyecto apoyado por la Fundación SANDOZ (for gerontological investigations Fund-333/93-MF/1pb).

Conflictos de interés no declarado