



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

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

CATARINA PEDROSA DA COSTA

**O PAPEL DA IMUNOSENESCÊNCIA NO
APARECIMENTO DE CANCRO**

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE GERIATRIA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROFESSOR DOUTOR MANUEL TEIXEIRA MARQUES VERÍSSIMO**

JANEIRO/2014

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

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

CATARINA PEDROSA DA COSTA

**O PAPEL DA IMUNOSENESCÊNCIA NO
APARECIMENTO DE CANCRO**

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE GERIATRIA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROFESSOR DOUTOR MANUEL TEIXEIRA MARQUES VERÍSSIMO**

JANEIRO/2014

Índice:

1. Resumo.....	1
2. Abstract.....	2
3. Abreviaturas.....	3
4. Introdução.....	4
a. Objectivo.....	5
b. Metodologia.....	6
5. A resposta imune anti-tumoral – Vigilância Imunitária.....	7
6. Imunosenescência. O que é?.....	12
7. Imunosenescência e cancro.....	16
8. O doente idoso com cancro.....	22
9. Conclusão.....	25
10. Bibliografia.....	26

1. Resumo

A incidência e prevalência da maioria dos cancros aumentam com a idade. Além disso, a idade constitui um factor de risco major para muitos cancros. Existe também um conjunto de evidências que relata a disfunção progressiva do sistema imunitário com o avanço da idade incluindo alterações celulares e moleculares com impacto na imunidade inata e adquirida, processo este denominado comumente de imunosenescência. Sendo os cancros imunogénicos e o sistema imunitário responsável pelo impedimento da tumorigénese, existe, actualmente, um interesse crescente na defesa do potencial papel da imunosenescência no aparecimento de cancro. Um melhor conhecimento sobre este âmbito pode contribuir para atrasar o aparecimento do cancro acarretando também uma melhor qualidade de vida na 3ª idade.

Palavras-chave: *immunosenescence, cancer, ageing, elderly cancer, T cells, innate and adaptive immunity*

2. Abstract

Most of the cancers' incidence increases with age. Moreover, age is a major risk factor for many cancers. There is also a body of evidence assuring that progressive dysfunction of the immune system including cellular defects and molecular alterations happen with ageing in a process called immunosenescence, which has an impact in the innate and adaptive immunity. Being the cancer immunogenic and the immune system responsible for blocking tumor growth there is actually a growing interest in the potential role of immunosenescence in the development of cancer. A better acknowledgment in this field may contribute to retard the development of cancer and provide a better quality of life for the elderly.

Key-words: *immunosenescence, cancer, ageing, elderly cancer, T cells, innate and adaptive immunity.*

3. Abreviaturas:

- **ADN**- Ácido Desoxirribonucleico;
- **APCs** – *antigen presenting cells*
- **CCL2** – *Chemokine (C-C motif) ligand 2*
- **CMV** – Citomegalovírus
- **EBV** – *Epstein-Barr Virus*
- **EMAP-II** - *Endothelial monocyte-activating polypeptide II*
- **IL** – Interleucina
- **ICOS** - *Inducible T-cell co-stimulator*
- **IFN** - *Interferon*
- **Lck** – *lymphocyte-specific protein tyrosine kinase*
- **LAT** – *Linker of activated T cells*
- **MDSC** - *myeloid-derived suppressor cells*
- **MMPs** – *Matrix metalloproteinases*
- **NFAT** - *Nuclear factor of activated T-cells*
- **NF- κ B** - *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*
- **STAT3** - *Signal transducer and activator of transcription 3*
- **TNF** – *Tumor necrosis factor*
- **TCR** – *T-cell receptor*
- **TGF** – *Tumor growing factor*
- **TIL** – *Tumor-infiltrating Lymphocytes*
- **TLR** – *Toll-like receptor*
- **VEGF** - *Vascular endothelial growth factor*

4. Introdução

Cerca de 55% dos casos de cancro ocorrem em pacientes com mais de 65 anos. Estudos epidemiológicos indicam que os índices de cancro aumentam drasticamente com a idade em ambos os sexos: a incidência de cancro é 12 a 36 vezes mais alta em indivíduos com mais de 65 anos do que em indivíduos entre os 25 e os 44 anos, e 2 a 3 vezes mais comum em pessoas entre os 45 e os 64 anos de idade. De referir ainda que 70% das mortes atribuídas a todas as formas de cancro em homens e mulheres ocorrem acima dos 65 anos, onde 35% das mortes nos homens e 46% das mortes nas mulheres ocorreram depois dos 75 anos. [1] Os cancros mais frequentes em homens depois dos 65 anos são representados pelo cancro do pulmão, cólon, recto, próstata e bexiga enquanto as mulheres apresentam maior incidência de cancro da mama, pulmão, colo-rectal, bexiga e pâncreas bem como linfoma não-Hodgkin. [2] A relação entre o envelhecimento e o cancro é, no entanto, semelhante para a maioria das formas de cancro. Esta relação não é ainda claramente conhecida.

Várias linhas de evidência defendem que o tempo constitui o factor mais importante para a acumulação de eventos carcinogénicos. [3] Isto é, durante o longo período da vida humana o nosso organismo é atacado por radicais livres, vírus e carcinogénicos levando à acumulação de danos causadores de mutações pontuais que vão favorecendo o desenvolvimento de cancro.[4] Não só se tornam os oncogenes mais activos mas também os genes supressores tumorais, como o p53, sofrem alterações tornando-se menos eficientes na eliminação de células “danificadas”. [5] O envelhecimento engloba também alterações importantes na resposta imunitária. [6,7] Estas alterações constituem um processo complexo que envolve múltiplos pontos de reorganização e desenvoltura do sistema imunitário em vez de um declínio unidireccional de toda a sua função cujo nome se designa comumente: imunosenescência. No entanto, a contribuição da imunosenescência para o desenvolvimento, progressão e

tratamento do cancro na 3ª idade não é ainda bem conhecida.[8,9] Recentemente foi demonstrado que o envelhecimento é acompanhado por um baixo grau de inflamação devido a um desequilíbrio do sistema imunitário com o avanço da idade. [10,11] Este desequilíbrio pode favorecer a carcinogénese. A deterioração progressiva deste sistema parece ser de extrema importância no aumento da incidência do cancro nos idosos uma vez que o cancro possui um componente inflamatório. O microambiente de um tumor em desenvolvimento é infiltrado por numerosas células do hospedeiro tais como células inflamatórias, endoteliais e fibroblastos. Foi recentemente referido que estas células inflamatórias e citocinas encontradas nos tumores muito provavelmente contribuirão para o crescimento e progressão dos mesmos. [12] Outros factores relevantes também favorecedores deste processo são a resistência a apoptose, desequilíbrios de microambiente, instabilidade cromossómica, encurtamento dos telómeros e diminuição da vigilância imunitária. [13]

Estudos sobre o sistema imunitário de centenários focaram que um dos principais factores responsáveis pela longevidade poderá ser um sistema imunitário plenamente funcionante que permita a prevenção das principais patologias relacionadas com a idade incluindo o cancro.

a. Objectivo

Neste artigo discutir-se-á como a imunosenescência pode estar envolvida no aumento do risco de cancro relacionado com a idade. Assim, para além de inventariar importantes dados sobre o que caracteriza o envelhecimento do sistema imunitário este artigo vai procurar rever as principais contribuições do fenómeno ‘imunosenescência’ no aparecimento e progressão de cancro. Um esclarecimento sobre as causas de aumento de incidência de cancro com a idade abre caminho à descoberta de oportunidades para uma modulação mais específica dos mecanismos subjacentes ao aparecimento de cancro e indica, assim, possíveis alvos de actuação para a redução da morbilidade e mortalidade associadas ao aparecimento de cancro com a idade.

b. Metodologia

Para realizar este trabalho, fez-se uma revisão exaustiva da literatura mais recente entre 2003 e 2013 na base de dados *Medline* com interface de pesquisa *PubMed*. Utilizaram-se as seguintes palavras-chave: *immunosenescence, cancer, ageing, elderly cancer, T cells, innate and adaptive immunity*, e as suas respectivas traduções para espanhol e português.

5. A resposta imune anti-tumoral – Vigilância Imunitária

Dados recentes sugerem que tanto o sistema imunitário inato como o adquirido estão envolvidos na prevenção do aparecimento de tumores e, são várias as suas formas de acção sobre o desenvolvimento das células tumorais: (i) protegem o hospedeiro de tumores induzidos por vírus ao eliminarem e reprimirem infecções virais; (ii) erradicam agentes patogénicos e conferem uma resolução rápida da inflamação prevenindo o estabelecimento de um ambiente inflamatório propício para a tumorigénese; (iii) identificam e eliminam especificamente células tumorais com base na expressão de antígenos específicos do tumor ou moléculas induzidas por stresse celular. Esta última constitui aquilo a que se chama de vigilância imunitária e é o processo através do qual as células imunitárias detectam os antígenos externos ou simplesmente «modificados» e destroem o «portador» dos mesmos aquando da sua detecção. Numa situação de cancro, uma vigilância imunitária eficaz acontece quando as células cancerígenas são eliminadas antes da formação de um tumor clinicamente detectável. No entanto, os tumores desenvolvem-se na presença de um sistema imunitário funcionante. [14]

Existe actualmente um conceito central de que os passos evolutivos da carcinogénese resultam de uma interacção entre factores intrínsecos às células cancerígenas e o sistema imunitário do hospedeiro (efeitos celulares extrínsecos). [13,15] Este papel do sistema imunitário no desenvolvimento do tumor é explicado pela teoria recente do *tumor editing - immunoediting*, termo inventado por Schreider *et al.* [16] O *tumor editing* inclui três fases que podem funcionar independentemente ou em sequência: eliminação, equilíbrio e escape. [14] A fase de eliminação relaciona-se directamente com o conceito de vigilância imunitária pois o sistema imunitário detecta e elimina as células tumorais desenvolvidas como consequência de falhas nos mecanismos intrínsecos de supressão tumoral. De referir que participam neste

processo tanto o sistema inato como o adquirido. Esta fase diz-se completa quando todas as células tumorais são removidas, ou incompleta quando apenas parte do tumor é eliminado. Existe então neste caso, um equilíbrio temporário (que pode durar anos) entre o sistema imune e o desenvolvimento do tumor. As fases de eliminação e de equilíbrio podem ser mecanicamente distintas. A eliminação requer a acção de tanto o sistema imunitário inato como o adquirido enquanto a fase de equilíbrio é mantida exclusivamente pela imunidade adquirida. Durante este período de equilíbrio, as células tumorais tanto podem permanecer “dormentes” ou “quiescentes” ou continuar a evoluir, acumulando alterações adicionais (mutações no ADN ou alterações de expressão génica) o que pode modular os seus antigénios específicos e induzidos por stresse celular conferindo-lhes uma resistência ao sistema imunitário. Esta fase constitui uma componente do *immunoediting* porque as células tumorais neste equilíbrio continuam imunogénicas no entanto, aquelas que espontaneamente escapam deste equilíbrio e se tornam um tumor em crescimento possuem imunogenicidade atenuada. A inflamação crónica engloba um alargado grupo de acções com potencial promotor de tumores tais como a infiltração leucocitária, a expressão de citocinas como TNF-alfa ou interleucina1, quimiocinas como CCL2 e CXCL8, remodelação activa de tecidos e neo-angiogénese aumentada, [17,18] que podem ser o resultado da tentativa da imunidade adquirida em manter os cancros ocultos em equilíbrio. [19] A pressão exercida pelo sistema imunitário durante esta fase é suficiente para controlar a progressão do tumor mas, se a resposta imune permanecer ineficaz na remoção das células transformadas, a selecção das células tumorais resistentes sobrepõe-se à resposta imune anti-tumoral levando à fase de escape. Esta fase resulta em alterações em moléculas de transdução, como a cadeia em falta TCR- ζ dos linfócitos que infiltram no tumor (TILs), que intervêm na sua proliferação. TILs desenvolvem-se como manifestações da defesa contra células malignas pelo sistema imunitário hospedeiro. Apesar destas células serem encontradas nos tecidos tumorais o que pressupõe um contra-ataque da

resposta imunitária, por vezes, falham em controlar o crescimento tumoral. São vários os mecanismos descritos para explicar a disfunção dos TILs quanto ao seu papel na vigilância imunitária contra o cancro. Defeitos funcionais dos TILs foram ligados a anormalidades de moléculas de sinalização, tais como redução da expressão e também das funções da cadeia ϵ , P56lck, Zap-70 e p59fyn [20,21] Tanto as espécies reactivas de oxigénio derivadas dos macrófagos como a estimulação antigénica crónica, sem efeito co-estimulador, foram ligados à perda de CD3- ζ e outras moléculas de sinalização. Foi já mais detalhadamente concluído que a perda de cadeias CD3 ϵ/ζ era uma característica que acompanhava a apoptose induzida pelo tumor que partilhava a mesma via de sinalização mediada por FasL. [22] FasL é uma molécula chave no desenvolvimento, homeostase, modulação e função do sistema imunitário normal e actua ao induzir a apoptose das células sensibilizadas através da interacção com o seu próprio receptor FasR, expresso na sua superfície. Até à data, a expressão de FasL funcional tem sido relatada em várias linhas distintas de tumores [23] Como mencionado, a expressão aumentada de FasR nos leucócitos pode facilitar o escape imunitário de tumores que expressem FasL promovendo a apoptose dos TILs. Outra forma de defeito de sinalização com potencial para afectar a proliferação/activação dos TILs envolve a alteração das vias IL-2/IL-2R. [24] No carcinoma do colo do útero foi demonstrado que a falha de resposta à IL-2 pelos TILs é dependente de *downregulation* de CD25 (IL-2R α) [25] Foi também proposto um papel para as metaloproteinases de matriz (MMPs) na imunossupressão mediada pelo cancro pela clivagem de IL-2R α . Estas MMPs provenientes do cancro estão também correlacionadas com metastização tumoral, invasão linfovascular para além da imunossupressão. [26] Além disso, a causa da irresponsividade dos TILs à IL-2 no carcinoma células renais parece ser a molécula de sinalização jak3. [27] É bem sabido que a hipóxia pode resultar num tumor com características de crescimento mais agressivo e com fenótipo mais maligno [28] A hipóxia induz apoptose dos TILs proporcionando outro benefício de crescimento ao tumor,

favorecendo o crescimento de células tumorais mais resistentes. Foi relatado que o EMAP-II – polipeptídeo ativador dos monócitos do endotélio II- desempenha um papel neste mecanismo no carcinoma colo-rectal. [29]

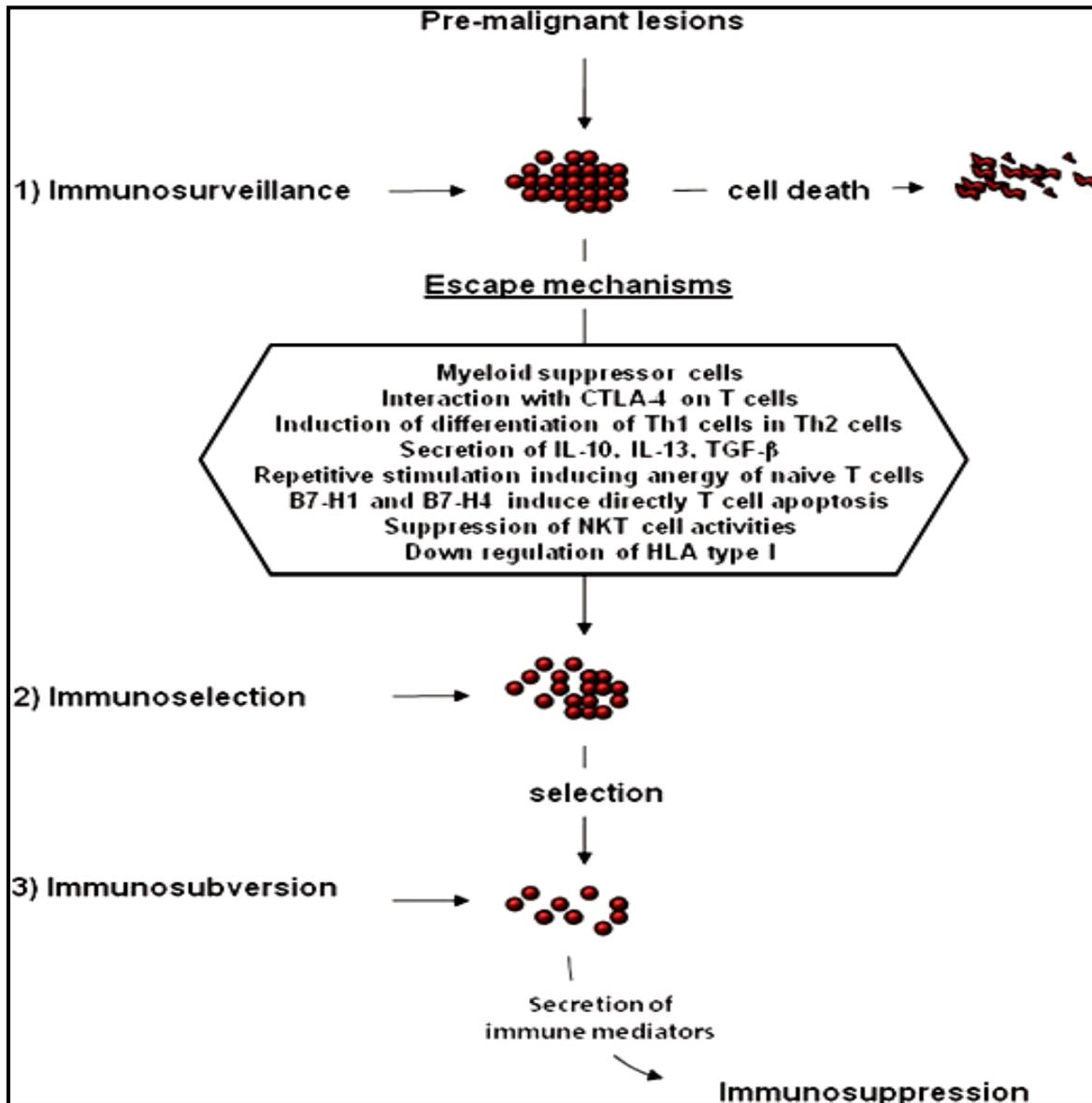


Figura.1 Relação entre o desenvolvimento do tumor e a vigilância imunitária. Fulop *et al.* Potential role of immunosenescence in cancer development, 2010.

Além do mais, a TCR- ζ é responsável pela activação de cascatas de apoptose nos linfócitos T, não protegidos pela Bcl-2 [30] Factores solúveis derivados dos tumores podem bloquear o factor NF- κ B nas células hematopoiéticas directamente inibindo a resposta anti-tumoral das células imunes, bem como induzir a libertação de IL-10 e TGF- β , citocinas anti-inflamatórias e factores inibitórios da actividade das células dendríticas e dos linfócitos T. O cancro estabelece uma rede imunossupressora que permite às células tumorais resistirem à eliminação. Assim a evasão tumoral ao sistema imunitário é o resultado tanto de ignorância imunitária, pela diminuição do número de antígenos tumorais, como da tolerância imunitária, pela redução da activação de células T efectoras. (figura 1). A continuação deste processo culmina com o sistema imunitário a exercer uma pressão selectiva nas células tumorais geneticamente instáveis mediada por linfócitos T e IFN- γ : as capazes de resistir ou suprimir a resposta imunitária são seleccionadas. Este fenómeno conhecido como imunoselecção, representa a primeira causa de escape imunitário. A fase de escape é então caracterizada por um crescimento progressivo do tumor. Mais tarde nesta progressão tumoral, as respostas imunitárias ineficientes podem até favorecer o crescimento do tumor num processo chamado imunossupressão. [13] Isto também acontece quando o tumor inibe activamente a resposta imunitária ao produzir substâncias inibitórias como: óxido nítrico, indolamina-2,3-dioxigenase (IDO) e prostaglandina E₂. Assim, parece evidente que o sistema imunitário desempenha um papel essencial na eliminação tumoral em estágios precoces, sendo necessária a função plena de quase todas as células que o constituem. Com base nesta linha de pensamento é facilmente concebível que a imunosenescência constitua um factor de promoção de escape do tumor ao sistema imunitário promovendo a *imunoediting* tumoral.

6. Imunosenescência. O que é?

O envelhecimento constitui actualmente uma verdade universal para qualquer organismo vivo. Este processo leva a uma disfunção marcada de eventos celulares e moleculares que em última instância são traduzidos por afecções crónicas e doenças que comprometem severamente a qualidade de vida dos seres vivos, nomeadamente dos seres humanos. Existe agora um fundo de evidências que defende que o sistema imunitário não escapa à disfunção inerente ao envelhecimento com a idade, a este processo dá-se o nome de imunosenescência. [7, 37, 38] Este compromete ambos os ramos do sistema imunitário, inato e adquirido, embora de formas diferentes. A imunidade inata parece ficar melhor preservada [31] enquanto a imunidade adquirida [32] parece manifestar modificações mais severas, usualmente pouco favoráveis para o estado de saúde. De um modo geral, as modificações mais comumente observadas na imunidade adquirida são: diminuição de CD4+ *naive* e de linfócitos T CD8+ juntamente com um aumento de linfócitos CD4+ e CD8+ de memória e de Linfócitos CD95+; em termos funcionais as principais alterações verificadas são: produção de interleucina 2 (IL-2), diminuição de proliferação celular, encurtamento dos telómeros simultaneamente com aumento de alterações do ADN.

(Tabela 1)

Como referido, existem actualmente evidências crescentes que reportam também alterações na resposta inata do sistema imunitário. Aqui a imunosenescência parece sombrear também quase todas as suas funções. [45] Verificaram-se alterações nas funções das células NK tais como produção de IL-2 e citotoxicidade. [39] As células fagocíticas, cuja importância é indiscutível ao nível do reconhecimento e *clearance* através dos seus receptores Toll-like (TLRs) estão também afectadas com a idade. [40-42] Os neutrófilos, as primeiras células a chegar ao local de entrada de um patógeno apresentam, na 3ª idade,

Tipo de célula imunitária ou tipo de alteração	Alteração funcional
<i>Imunidade Inata</i>	
Neutrófilos	Diminuição da apoptose Diminuição de morte intracelular Diminuição da quimiotaxia Diminuição da produção de radicais livres
Monócitos	Diminuição da fagocitose
Macrófagos	Diminuição da fagocitose Diminuição da produção de radicais livres Aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias
Células NK	Diminuição da citotoxicidade Diminuição da produção de IL-2
<i>Imunidade Adquirida</i>	
Alterações fenotípicas	Aumento de linfócitos T CD8+ de memória Diminuição de linfócitos <i>naïve</i> CD4+ Aumento de oligoclones de TCR
Alterações funcionais	Diminuição de expansão clonal Diminuição da produção de IL-2 Diminuição da transdução do sinal Encurtamento dos Telómeros Aumento de lesões no ADN Aumento da presença de infecção por CMV

Tabela 1 - As principais alterações que ocorrem no sistema imunitário com o envelhecimento. Adaptado de Fulop T. et al, Potencial role of immunosenescence in cancer development, 2010.

a sua actividade de quimiotaxia e fagocitose diminuída bem como a capacidade de produção de radicais livres. [41] As células dendríticas também não parecem escapar à imunosenescência não só com comprometimento das suas funções básicas, como fagocitose, quimiotaxia e produção de IL-12, mas também com diminuição da sua capacidade de activação de linfócitos T CD4+ *naïve* via apresentação de antígeno, enquanto estes mantêm a capacidade de produzir citocinas pró-inflamatórias e activar linfócitos CD8+. [44] Além disto, o avanço da idade não parece ficar por aqui. Acredita-

se já que acarreta alterações a outros níveis estendendo-se a uma diminuição da capacidade de transdução do sinal dos receptores dos linfócitos T, sejam eles TCR ou CD28 ou para citocinas. Isto significa uma disfunção da cascata de fosforilação, após a ligação ao receptor, desde a membrana até ao núcleo. (por ex.: NF- κ B, NFAT). A explicação para esta disfunção da sinalização dos linfócitos T reside na alteração da activação de tirosina cinases, como a por Lck ou Fyn, e na alteração da fosforilação de moléculas adaptadoras como a por LAT ou SLP76 (LCP2 - proteína linfocítica citosólica 2). [34] Na base de todas estas alterações, estão modificações físico-químicas na membrana que levam a disfunções na bicamada lipídica. [43] As principais causas que explicam as alterações com a idade no sistema imunitário não são ainda totalmente conhecidas no entanto existem três que se destacam: involução do timo com o crescimento [33], alterações intrínsecas devido a sinalização deficiente provocada por danos nas membranas celulares como já foi mencionado [34] e estimulação antigénica crónica durante toda a vida. [35] Por sua vez, esta estimulação antigénica pode ter várias origens: (i) estimulação vírica, como a por Citomegalovírus (CMV) ou por Epstein-Barr vírus (EBV); (ii) estimulação por antigénios tumorais e (iii) estimulação intrínseca das células imunitárias. [36] Esta última não deixa de ser uma consequência da imunosenescência já que o envelhecimento é acompanhado por um aumento ligeiro da resposta inflamatória responsável por esta estimulação. As alterações inflamatórias são comuns à maioria das doenças associadas ao avanço da idade e constituem o processo *inflammageing*. [45] *Inflammageing* resulta não só de uma diminuição da resposta imunitária a antigénios exógenos mas também de um aumento da auto-reactividade. Ainda assim, acredita-se actualmente que uma vida de estimulação antigénica parece ser a força condutora da imunosenescência, com redução ligeira do número de linfócitos T *naive*, ou seja não estimulados por antigénio, e preenchimento do espaço imunológico com linfócitos T de

memória e efectores, estimulados previamente. [46] É esta estimulação antigénica acumulada ao fim de muitos anos que parece ser responsável pelo estado inflamatório crónico que caracteriza o envelhecimento. [47] Tome-se como exemplo a estimulação por CMV [35] acompanhada de um aumento da frequência de linfócitos T CD8+ com o receptor de linfócitos T (TCR) específico para antígenos de CMV, como por exemplo o epitopo pp65-HCMV (495 – 503). Estas são células altamente diferenciadas caracterizadas pelos seus marcadores de superfície, CD45RA+, CCR7-, CD28-, e CD27-. A homeostasia dos linfócitos T mantém constantes os números destas células na periferia e mesmo que as células *naive* continuem a ser produzidas pelo timo remanescente, o reportório de linfócitos T sofre um decréscimo devido à expansão de linfócitos T específicos para CMV, contribuindo assim para um aumento da susceptibilidade a infecções e cancro. Existem dois estudos longitudinais que comprovam estes dados. Foram realizados com populações de indivíduos com mais do que 85 anos e portanto no seu envelhecimento fisiológico: o estudo longitudinal sueco OCTO (sendo o critério de selecção de indivíduos um estado de boa saúde) e o estudo NONA (não sendo os indivíduos seleccionados por um estado de boa saúde, com apenas 9% SENIEUR de compatibilidade, ou seja, de saúde excepcional, completado pelo grupo do Professor Wikby *et al.* [48,49] O objectivo era identificar factores que predissessem a mortalidade aos 2, 4 e 6 anos e os resultados culminaram num conceito emergente de perfil de risco imunológico. [50] Este perfil de resposta imunitária consiste num conjunto de parâmetros, que incluem altos níveis de CD8+, baixos níveis de CD4+ e proliferação de linfócitos T muito baixa, predizendo uma elevada mortalidade aquando do seguimento. A importância e relação entre o que a imunosenescência representa no aparecimento e desenvolvimento de cancro será discutido a seguir.

7. Imunosenescência e cancro

Chegando a este ponto, está claro que com o envelhecimento a incidência de cancro aumenta e o próprio sistema imunitário acumula disfunções inerentes a esse processo. Resta assim esclarecer melhor quais os aspectos do sistema imunitário cuja disfunção impede uma resposta anti-tumoral eficiente tentando também perceber porque é que os idosos não conseguem desenvolver uma resposta imunitária eficaz contra um tumor imunogénico.

Como referido, a imunosenescência parece ser preponderante na capacidade de reacção a antigénios exógenos nos idosos, particularmente reduzindo a resposta anti-tumoral. [51] Assim, existem alterações específicas no sistema imunitário inato e adquirido que contribuem especificamente para o desenvolvimento de cancro. (Tabela 2)

Tabela 2- As alterações mais importantes no sistema imunitário que contribuem para o aumento de desenvolvimento de cancro

1. Estimulação imunitária dos linfócitos T pelas células dendríticas para activação anti-tumoral está alterada: B7.1, B7.2, OX40, CD27, CD30, CD40, 4-1BB;
2. Sinalização TLR está alterada no sistema imunitário inato;
3. Rede de supressão imunitária na 3ª idade:
 - Aumento de linfócitos Treg
 - Aumento de MSCR
 - Aumento de produção IDO
 - Moléculas da família B7 (B7-H1)
4. Linfócitos T:
 - Naïve* e citotóxicos diminuídos em número e actividade
 - Desequilíbrio Th2-Th1
 - Citoquinas: aumento de IL-10, TGF- β e IL-6
5. Inflamação de baixo grau

Tabela 2 - Adaptado de Fulop *et al.* Potencial role of immunosenescence in the cancer development, 2010.

Na base de uma activação eficiente das células dendríticas está a sua estimulação imunitária que, no entanto com o envelhecimento, está alterada através dos co-receptores: B7.1, B7.2, OX40, CD27, CD30, CD40 e 4-1BB. [52,53] Naturalmente isto culmina com o enfraquecimento da resposta dos linfócitos T e pode mesmo levar à ausência total de resposta. Uma das mais importantes descobertas dos últimos anos no que respeita ao sistema imunitário inato foi a existência de receptores *Toll-Like* (TLRs). [54] Entre os vários factores que regulam a actividade co-estimuladora das células apresentadoras de antígeno (APCs), tais como células dendríticas, macrófagos, monócitos e neutrófilos, existe este grupo de receptores no ramo inato do sistema imunitário pré-determinados para reconhecerem padrões moleculares. Os TLRs são mais ou menos específicos para várias substâncias provenientes de bactérias, vírus ou restos celulares, sendo competentes na distinção entre estruturas associadas a patógenos do próprio organismo ou externas a este, e sinalizando a presença desses patógenos às APCs. [55] Com o avanço da idade verifica-se uma diminuição da expressão e função dos TLRs resultando numa activação deficiente das células fagocíticas que vêm a sua capacidade de destruir organismos invasores ou células transformadas com potencial cancerígeno muito afectada. [56,57] Estas alterações podem até em menor escala contribuir para a progressão dos tumores. [41]

O envelhecimento é também acompanhado pelo desenvolvimento de uma rede de supressão imunitária marcada pelo aumento da frequência de linfócitos Treg (Tregs; CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺), de células supressoras derivadas da mielóide (MDSC), da produção de IDO, e da expressão de moléculas da família B7 (B7-H1). As Tregs inibem directamente os linfócitos T, células NK e células dendríticas através de contacto directo célula-célula, induzindo por isso tolerância imunitária. [58] Existem já algumas evidências que o número de células CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ está aumentado em idades mais avançadas [59], o que poderá contribuir para uma tolerância ao cancro nos idosos. Adicionalmente, as MDSC, um grupo heterogéneo de

células constituído por macrófagos, neutrófilos e células dendríticas, podem inibir a activação de células T CD4+ e CD8+ e por isso impedir a formação de respostas anti-tumorais. [60] São vários os factores anti-inflamatórios que activam estas células como IL-10, TGF- β e factor de crescimento de endotélio vascular (VEGF), também aumentados com o envelhecimento. Com efeito, o aumento da resposta anti-inflamatória (Th2) bem como as citocinas secretadas no microambiente tumoral favorecem a activação destas MDSC que por sua vez inibem a activação de uma resposta imune adequada. [61] IDO (indoleamine-2,3-dioxygenase) é uma molécula imunossupressora capaz de inibir a activação de linfócitos T, cuja frequência também se acredita aumentar com a idade e por isso com potencial para diminuir a resposta imunitária anti-tumoral.[62] Finalmente, a família de moléculas B7 está directamente relacionada com o controlo da tolerância dos linfócitos T, participando também na sua activação. No entanto, existem já alguns dados que referem que a expressão de PD-L1 (B7-H1) está alterada com a idade mas, isto requererá uma investigação mais aprofundada para melhor esclarecer o seu papel na emergência de cancros.

No âmbito da imunidade adquirida, as alterações inerentes ao envelhecimento que aqui se discutem afectam os linfócitos T, principalmente *naive* e citotóxicos, fazendo-se acompanhar de uma contracção do seu repertório e uma troca de actividade predominando a resposta Th2. Com efeito, isto manifesta-se num aumento de produção de citocinas Th2: IL-10, TGF- β , e IL-6, [61] possibilitando a conclusão que as alterações específicas que acontecem com o avanço da idade favorecem o desenvolvimento de tumor. Os antígenos provenientes do tumor não só interagem com células apresentadoras de antígeno profissionais na activação de linfócitos CD8 *naive* mas também com CD4 Tregs. Os linfócitos T CD8 *naive* tornar-se-ão citotóxicos e secretarão IL-2, interferon γ e IL-12. No entanto, a estimulação concomitante de Tregs suprime a actividade citotóxica dos linfócitos T citotóxicos ao produzir IL-10, TGF- β , etc. Além disso, a capacidade de apresentação de antígeno das células dendríticas está inibida

por factores como prostaglandinas E2, TGF- β , IL-10 e VEGF, secretados pelas células tumorais, o que pode induzir diminuição da regulação do número de moléculas do complexo de Histocompatibilidade major (MHC). [63,64] Assim, é necessária uma colaboração muito apertada entre as respostas inatas e adquiridas do sistema imunitário para eliminar as células tumorais. E é porque ambos os braços do sistema imunitário estão independentemente afectados com o envelhecimento que se torna óbvio que a sua colaboração está também comprometida.

Um outro factor importante que contribui para o desenvolvimento de cancro é a inflamação de baixo-grau associada ao envelhecimento. [10,11] A inflamação constitui uma resposta à lesão tecidual aguda, quer resultante de lesão física, isquémica, infecção, exposição a toxinas ou a outros tipos de trauma. Recentemente, estudos clínicos e experimentais têm concluído que a inflamação crónica predispõe para algumas formas de cancro e que o uso de anti-inflamatórios não esteróides pode estar associado a alguma protecção contra vários tumores. [65] Os exemplos mais pormenorizadamente estudados da associação entre inflamação e cancro são a relação entre a Doença Inflamatória Intestinal e o risco aumentado de Carcinoma Colo-rectal, a Gastrite crónica resultante de infecção por *Helicobacter pylori* e aparecimento de Adenocarcinoma gástrico e a Hepatite crónica com o carcinoma hepático.

São vários os mecanismos que participam na carcinogénese associada à inflamação. A inflamação crónica causa a libertação de uma plethora de agentes, como citoquinas, prostaglandinas, factores quimiotáticos, espécies reactivas de oxigénio e nitrogénio. Estas últimas, produzidas pelos leucócitos que participam no processo inflamatório, são capazes de causar alterações teciduais locais e lesão no ADN. As próprias citoquinas libertadas pelas células inflamatórias medeiam sinais proliferativos aumentando o risco de mutações.

A inflamação crónica determina também alterações nos mecanismos epigenéticos que alteram os padrões de expressão génica favorecendo a activação de oncogenes e a diminuição da

expressão de genes supressores tumorais. [66] Estes factores também alteram a resposta das células aos sinais apoptóticos e sobre-regulam os factores angiogénicos bem como os factores favorecedores do crescimento de células tumorais. Assim, o próprio microambiente inflamatório favorece a angiogénese tumoral e as citocinas deste meio podem até constituir um nicho preferencial que suporta as células *stem cell* tumorais. Tem sido demonstrado que a biologia das *stem cells* tumorais é estreitamente afectada por um ambiente pró-inflamatório tumoral: evidências recentes mostram que citocinas inflamatórias, como interleucina-6 (IL-6) desempenham um papel principal na patogénese do cancro da mama ao sustentarem a capacidade de sobrevivência e proliferação das *stem cells* tumorais. [68] Outra citocina cujo papel crucial na sobrevivência de *stem cells* tumorais foi muito recentemente descoberta, em particular no carcinoma do cólon é a interleucina 4 (IL-4). [69] Dado que a supra-regulação da resposta inflamatória é uma característica major do processo de remodelação do sistema imunitário durante o envelhecimento, impõe-se uma pesquisa mais alargada para avaliar a possibilidade de que o microambiente no idoso possa constituir um nicho preferencial para a sobrevivência das *stem cells* tumorais.

Como foi já referido os mediadores inflamatórios afectam também as populações de células supressoras particularmente MDSCs e Tregs polarizando a resposta imunitária no sentido de uma resposta T *helper* tipo 2. Além disso, alguns destes mesmos factores causam limitação na vigilância imunitária, o que facilita o escape de células tumorais à vigilância e a sua expansão clonal. [67] Este aumento de MDSCs em virtude do aumento de determinadas citocinas inflamatórias ao proporcionar o escape tumoral à vigilância imunitária constitui também um dos mecanismos que liga a inflamação e o cancro.

Desta feita, a sobre-produção de citocinas pro-inflamatórias tais como Il-6, factor de necrose tumoral alfa, e Il-1, pelas células imunes inatas assume uma posição basal no desenvolvimento de todas estas alerações. O processo inflamatório aqui discutido está

também associado a outras alterações neuroendócrinas tais como níveis aumentados de glucocorticoides e diminuição dos níveis de factor de crescimento insulina-like. Toda esta inflamação é capaz de lesar as células através dos mecanismos já explicitados. Para a devida eliminação das células lesadas é necessária a activação da p53. Contudo a via da p53 está também alterada com o envelhecimento, levando a acumulação de lesões e de, possivelmente, células senescentes que pode posteriormente fertilizar o terreno da oncogénese. [5] Assim sendo, existe uma ligação estreita entre o sistema imunitário via inflamação de baixo-grau, o sistema neuroendócrino, e a rede de supressão tumoral quer a nível orgânico quer a nível celular.

Como a estimulação antigénica desempenha um papel na imunosenescência e consequentemente na inflamação de baixo grau, é legítimo questionar se a infecção por CMV pode também desempenhar o seu papel no desenvolvimento de cancro. Os dados são poucos e por isso inconclusivos. No entanto, no que respeita ao envelhecimento, pode apenas especular-se que a estimulação crónica por CMV e por antigénios do cancro poderia ser fundamental na indução de moléculas pro-inflamatórias e levar a uma exaustão imunitária mais rapidamente, e desequilibrar a imunidade adquirida. Isto, por um lado, reduz a capacidade de resposta a novos antigénios e bloqueia a resposta imune a antigénios previamente conhecidos, incluindo os crónicos. Como foi já discutido, aspectos específicos da imunosenescência previnem uma resposta imune eficaz contra o cancro e contribuem para uma susceptibilidade ao cancro com o envelhecimento. A contribuição exacta de cada parâmetro requiere mais investigação. Contudo, se a maioria dos parâmetros pudessem ser caracterizados, o tratamento a oferecer poderia ser mais específico e eficiente.

8. O doente idoso com cancro

A heterogeneidade da 3ª idade torna a abordagem do doente idoso com cancro muito desafiante. A idade cronológica não se correlaciona com uma resposta mais favorável ao tratamento nem com aumento da toxicidade do mesmo. Não são conhecidos critérios que ajudem a decidir o plano de abordagem e por isso os idosos estão sub-representados em ensaios clínicos de oncologia que determinam o tratamento padrão.

A *Comprehensive Geriatric assessment (CGA)* foi sugerida como uma ferramenta para avaliar idosos com cancro. Esta inclui abordagens multidimensionais com comorbilidades, estado funcional, compreensão, estado psicológico, nutrição, condições sociais e medicação. Isto disponibiliza uma abordagem detalhada do doente e ajuda a individualizar o tratamento.

Descobriu-se que a malnutrição e estado funcional predizem independentemente uma mudança na abordagem do cancro especialmente em idosos vulneráveis. [70]

São várias as diferentes possibilidades de administração e associação de tratamento que antes de mais têm os objectivos comuns de: manter ou melhorar o estado funcional; manter ou melhorar a qualidade de vida; controlar os sintomas relacionados com o cancro e prolongar a sobrevida, sempre que possível. Independentemente do objectivo, no entanto, a manutenção da qualidade de vida e o controlo dos sintomas relacionados com o cancro devem ser os objectivos primários.

Para isso, precedendo o tratamento, deve ser sempre estimada a esperança de vida do doente bem como realizada uma análise das comorbilidades e estado funcional do mesmo. Estes factores são de extrema importância para a escolha do tratamento do cancro no idoso já que um maior ou menor risco de morbidade e mortalidade pelo cancro pressupõe uma comparação com a esperança de vida do doente bem como com a severidade das suas comorbilidades. Quando o risco de morbidade e mortalidade de doença neoplásica é baixo

considerando a esperança de vida e a severidade das comorbilidades, a escolha deve ser tratamento paliativo incluindo: manutenção das comorbilidades; abordagem sintomática (controlo da dor e de sintomas relacionados com o cancro em si); cuidados médicos de suporte e psicossociais. Se, por outro lado, a estimativa de esperança de vida bem como a abordagem das comorbilidades e o estado funcional determinam um risco moderado a alto de morbidade e mortalidade pelo cancro durante o período de vida, então deve ser levada a cabo uma avaliação clínica completa e psicossocial no sentido de estimar uma razão risco/benefício realista do tratamento a aplicar. Aparte das características da clínica do doente e do número de condições que afectam o sistema imunitário durante o cancro, os verdadeiros factores de risco de uma terapia para o cancro são representados pela sua ineficácia e efeitos secundários. Se o risco/benefício é aceitável, as opções curativas convencionais incluem cirurgia, radioterapia e quimioterapia.

Não obstante, um único tipo de terapia no cancro é geralmente mal sucedida [64] e os tratamentos são comumente combinados para atacarem em múltiplas vertentes. [71,72] No que respeita o sistema imunitário, as vertentes mais importantes a atingir são: indução da morte de células cancerígenas imunogénicas, potenciação da apresentação de antígenos tumorais e bloqueio de um grande número de pontos-chave da regulação imunitária. A administração de adjuvantes imunitários, como agonistas CD40 ou CpG ODNs, pode potenciar e aumentar a apresentação antigénica. O ponto-chave da regulação imunitária mais importante e cuja manipulação aparentemente traz mais benefício poderão ser antagonistas de factores de supressão imunitária (por exemplo TGF- β , IL-6 e IL-10), oncogenes (por exemplo STAT3) e agonistas de co-receptores activadores (por exemplo CD28 e ICOS).

A prevenção do cancro permanece ainda crítica em geriatria, assim como na população mais jovem. [70] O desenvolvimento e uso de vacinas para o cancro, que consistem no fundo na transferência de imunidade através da administração de anticorpos específicos ou mesmo

células imunitárias como linfócitos T ou células dendríticas deveria também ser largamente encorajado. [70] O sistema imunitário nos idosos está debilitado por alterações relacionadas com o avanço da idade e usualmente por efeitos supressores da imunidade de tratamentos convencionais: esta condição pode sugerir o uso de vacinas para o cancro antes ou em conjunto com outros tratamentos. Existem várias formas de melhorar a vacinação na 3ª idade. Entre elas nomeiam-se as seguintes: eliminação da activação da supressão de linfócitos T pelas Tregs e macrófagos; estimulação de macrófagos com capacidade para matar células tumorais; potenciação da apresentação de antígenos pelas células dendríticas e recrutamento de células T *naive* pela IL-7. Existe esperança que com uma melhor compreensão das interações entre imunosenescência e tumorigénese será possível produzir vacinas melhores para a 3ª idade no combate do cancro. Identificar e perceber que alterações ocorrem num sistema imunitário senescente é a única forma de individualizar, otimizar e potenciar as respostas imunes anti-tumorais na população geriátrica.

Para já, despoletar a resposta imunitária por si só constitui uma estratégia incompleta de vacinação por causa da multitude de factores que afectam o sistema imunitário. E assim, apesar de mais e melhores avanços estarem prometidos nas vacinas para o cancro, no presente a abordagem deve ser sugerida em associação com prevenção do cancro sistemática e terapias convencionais (cirurgia, quimioterapia, radioterapia). No que respeita ao cancro, tanto na população mais jovem como nos idosos, a estratégia deve ser: “tratar o quanto antes, tratar frequentemente”.

9. Conclusão

Com o envelhecimento, a incidência e prevalência de cancro aumenta, para além disso verifica-se uma população crescente na 3ª idade a desenvolver cancro. O processo de envelhecimento contribui para uma incidência aumentada, entre os idosos, de morbilidades e mortalidade por doenças infecciosas e cancro, favorecendo por si o desenvolvimento de cancro. Contudo, as respostas imunitárias desreguladas directamente relacionadas com a redução dramática da responsividade bem como com uma desregulação funcional do sistema imunitário inerentes à imunosenescência também parecem contribuir para a carcinogénese. Sendo também esta um fenómeno extremamente complexo torna-se difícil de estabelecer o papel exacto da imunosenescência. Evidências circunstanciais ligam a imunosenescência ao cancro, mas não existe nenhum estudo que estabeleça plenamente a contribuição da imunosenescência para o aparecimento de cancro, e por esta razão são necessárias mais investigações.

Um melhor conhecimento deste âmbito constituiria uma grande ajuda no planeamento de intervenções mais eficazes e melhores independentemente da faixa etária a que queremos dirigir a nossa abordagem do cancro. O que pressupõe estudos futuros e esforços continuados no sentido de quebrar o ciclo vicioso que leva à formação de populações de células disfuncionais e a restaurar a boa função do sistema imunitário nos idosos.

Em conclusão, o conhecimento de alterações consistentes com o envelhecimento poderia influenciar a qualidade de vida e a esperança de vida nestas populações.

10. Bibliografia

1. A. Bürkle. et al. 2007. **Pathophysiology of ageing, longevity and age related diseases.** *Immunity & Ageing* 2007, 4:4 doi:10.1186/1742-4933-4-4.
2. National Cancer Institute - SEER Cancer Statistics Review 1975–2005.
3. Anisimov, V.N. 2009. **Carcinogenesis and ageing 20 years after: escaping horizon.** *Mech.AgeingDev.* 130: 105–121.
4. Federico, A. et al. 2007. **Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis.** *Int. J. Cancer* 121: 2381–2386.
5. Salvioli, S. et al. 2009. **Why do centenarians escape or postpone cancer? The role of IGF-1, inflammation and p53.** *Cancer Immunol. Immunother.* [Epub ahead of print.]
6. Fülöp, T. et al. 2007. **Immunosupportive therapies in ageing.** *Clin. Interv. Ageing* 2: 33–54.
7. Larbi, A. et al. 2008. **Ageing of the immune system as a prognostic factor for human longevity.** *Physiology (Bethesda)* 23: 64–74.
8. Malaguarnera, L. et al. 2001. **Immunosenescence and cancer: a review.** *Arch. Gerontol. Geriatr.* 32: 77–93
9. Derhovanessian, E. et al. 2008. **Immunity, ageing and cancer.** *Immun. Ageing* 5: 11
10. Miki, C. et al. 2008. **Remodeling of the immune-inflammatory network system in elderly cancer patients: implications of inflammageing and tumor-specific hyperinflammation.** *Surg. Today* 38: 873–878.
11. Vasto, S. et al. 2009. **Inflammation, ageing and cancer.** *Mech. Ageing Dev.* 130: 40–45.
12. Balkwill F, Mantovani A: **Inflammation and cancer: back to Virchow?** *Lancet* 2001, 357:539-45

13. Zitvogel, L., A. Tesniere & G. Kroemer. 2006. **Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion.** *Nat. Rev. Immunol.* 6: 715–727.
14. Kim R, Emi M, Tanabe K. **Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape.** *Immunology* 2007;121:1–14.
15. Swann, J.B.&M.J. Smyth. 2007. **Immune surveillance of tumors.** *J. Clin. Invest.* 117: 1137–1146.
16. Mazzola, Paolo;Radhi, Saba;Mirandola, Leonardo;Annoni, Giorgio;Jenkins, Marjorie;Cobos, Everardo; Chiriva-Internati, Maurizio. **Ageing, cancer, and cancer vaccines.** *Immunity & ageing : I & A* 2012; 9:4.
17. Mauro C, Zazzeroni F, Papa S, Bubici C, Franzoso G. **The NF- kappaB transcription factor pathway as a therapeutic target in cancer: methods for detection of NF-kappaB activity.** *Methods Mol Biol* 2009;512:169–207
18. Allavena P, Sica A, Solinas G, Porta C, Mantovani A. **The inflammatory micro-environment in tumor progression: the role of tumor-associated macrophages.** *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;66:1–9]
19. Koebel CM, Vermi W, Swann JB, et al. **Adaptive immunity maintains occult cancer in an equilibrium state.** *Nature* 2007;450(7171):903–7.]
20. Lai P, Rabinowich H, Crowley-Nowick PA, Bell MC, Mantovani G, Whiteside TL. **Alterations in expression and function of signal transducing proteins in tumor-associated T and natural killer cells in patients with ovarian carcinoma.** *Clin Cancer Res* 1996;2:161–73.
21. Mizoguchi H, O’Shea JJ, Longo DL, Loeffler CM, McVicar DW, Ochoa AC. **Alterations in signal transduction molecules in T lymphocytes from tumor-bearing mice.** *Science* 1992;258(5089):1795–8.]
22. Rabinowich H, Reichert TE, Kashii Y, Bell MC, Whiteside TL. **Lymphocyte apoptosis induced by Fas ligand-expressing ovarian carcinoma cells: implications for altered expression of TCR in tumour-associated lymphocytes.** *J Clin Invest* 1998;101:2579–88

23. Walker PR, Saas P, Dietrich P-Y (1997) **Role of Fas ligand (CD95L) in immune escape.** The tumor cell strikes back. *J Immunol* 158:4521
24. Sheu BC, LinRH, Lien HC, Ho HN, Hsu SM, Huang SC. **Predominant Th2/Tc2 polarity of tumor-infiltrating lymphocytes in human cervical cancer.** *J Immunol* 2001;167:2972–8
25. Sheu BC, Lin RH, Ho HN, Huang SC. **Down-regulation of CD25 expression on the surface of activated tumor-infiltrating lymphocytes in human cervical carcinoma.** *Hum Immunol* 1997;56:39–48.
26. Sheu BC, Lien HC, Ho HN, et al. **Increased expression and activation of gelatinolytic matrix metalloproteinases is associated with the progression and recurrence of human cervical cancer.** *Cancer Res* 2003;63:6537–42
27. KolenkoV,Wang Q, RiedyMC,et al. **Tumor-induced suppression of T lymphocyte proliferation coincides with inhibition of Jak3 expression and IL-2 receptor signaling: role of soluble products from human renal cell carcinomas.** *J Immunol* 1997;159:3057–67.
28. Harris AL. **Hypoxia—a key regulatory factor in tumour growth.** *Nat Rev Cancer* 2002;2:38–47.
29. Youssef MM, Symonds P, El lis IO, Murray JC. **EMAP-II-dependent lymphocyte killing is associated with hypoxia in colorectal cancer.***Br J Cancer* 2006;95:735–43.
30. Gastman BR, Johnson DE, Whiteside TL, Rabinowich H. **Tumor- induced apoptosis of T lymphocytes: elucidation of intracellular apoptotic events.** *Blood* 2000;95:2015–23
31. Malaguarnera L, Cristaldi E, Vinci M, Malaguarnera M. **The role of exercise on the innate immunity of the elderly.** *Eur Rev Ageing Phys Act* 2008;5: 43–9.
32. Malaguarnera L, Cristaldi E, Lipari H, Malaguarnera M. **Acquired immunity: immunosenescence and physical activity.** *Eur Rev Ageing Phys Act* 2008;5 (2):61–8.
33. Mitchell, W.A. et al. 2006. **Thymic output, ageing and zinc.** *Biogerontology* 7: 461–470.

34. Larbi, A. et al. 2006. **Differential role of lipid rafts in the functions of CD4+ and CD8+ human T lymphocytes with ageing.** Cell. Signal. 18: 1017–1030.
35. Pawelec, G. et al. 2009. **Cytomegalovirus and human immunosenescence.** Rev. Med. Virol. 19: 47–56.
36. DeMartinis, M. et al. 2005. **Inflammageing and lifelong antigenic load as major determinants of ageing rate and longevity.** FEBS Lett. 579: 2035–2039.
37. Ostan, R. et al. (2008). **Immunosenescence and immunogenetics of human longevity.** Neuroimmuno-modulation 15: 224–240
38. Pawelec, G. & A. Larbi. 2008. **Immunity and ageing in man: annual review 2006/2007.** Exp. Gerontol. 43: 34–38.
39. Mocchegiani, E. & M. Malavolta. 2004. **NK and NK T cell functions in immunosenescence.** Ageing Cell 3: 177–184.
40. Dace, D.S. & R.S. Apte. 2008. **Effect of senescence on macrophage polarization and angiogenesis.** Rejuvenation Res. 11: 177–185.
41. Fortin, C.F. & P.P. McDonald. 2008. **Ageing and neutrophils: there is still much to do.** Rejuvenation Res. 11: 873–882.
42. Gomez, C.R. et al. 2008. **Innate immunity and ageing.** Exp. Gerontol. 43: 718–728.
43. Fulop, T. et al. 2006. **T cell response in ageing: influence of cellular cholesterol modulation.** Adv. Exp. Med. Biol. 584: 157–169.
44. Agrawal, A. et al. 2008. **Biology of dendritic cells in ageing.** J. Clin. Immunol. 28: 14–20.
45. Franceschi C, Bonafe M, Valensin S, et al. **Inflamm-ageing. An evolutionary perspective on immunosenescence.** Ann NY Acad Sci 2000;908:244–54.
46. Fagnoni FF, Vescovini R, Passeri G, Bologna G, Pedrazzoni M, Lavagetto G, Casti A, Franceschi C, Passeri M, Sansoni P: **Shortage of circulating naive CD8(+) T cells provides new insights on immunodeficiency in ageing.** Blood 2000, 95:2860-8.

47. Vasto S, Candore G, Balistreri CR, Caruso M, Colonna-Romano G, Grimaldi MP, Listi F, Nuzzo D, Lio D, Caruso C: **Inflammatory networks in ageing, age-related diseases and longevity.** Mech Ageing Dev 2007, 128:83-91.
48. Wikby, A. et al. 2002. **Expansions of peripheral blood CD8 T-lymphocyte subpopulations and an association with cytomegalovirus seropositivity in the elderly: the Swedish NONA immune study.** Exp. Gerontol. 37: 445– 453
49. Olsson, J. et al. 2000. **Age-related change in peripheral blood T-lymphocyte subpopulations and cytomegalovirus infection in the very old: the Swedish Longitudinal OCTO Immune Study.** Mech. Ageing Dev. 121: 187–201
50. Derhovanessian, E., A. Larbi & G. Pawelec. 2009. **Biomarkers of human immunosenescence: impact of cytomegalovirus infection.** Curr. Opin. Immunol. 21: 440– 445.
51. Motta M, Ferlito L, Malaguarnera L, et al. **Alterations of the lymphocytic set-up in elderly patients with cancer.** Arch Gerontol Geriatr 2003; 36:7–14.
52. Morel, Y. et al. 2001. **The TNF superfamily members LIGHT and CD154 (CD40 ligand) costimulate induction of dendritic cell maturation and elicit specific CTL activity.** J. Immunol. 167: 2479–2486.
53. Sharma, S., A.L. Dominguez & J. Lustgarten. 2006. **Ageing affect the anti-tumor potential of dendritic cell vaccination, but it can be overcome by co-stimulation with anti-OX40 or anti-4-1BB.** Exp. Gerontol. 41: 78–84.
54. Takeda, K., T. Kaisho & S. Akira. 2003. **Toll-like receptors.** Annu. Rev. Immunol. 21: 335–376
55. Akira S, Takeda K, Kaisho T. **Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity.** Nat Immunol 2001; 2:675–80.
56. Van Duin, D. & A.C. Shaw. 2007. **Toll-like receptors in older adults.** J. Am. Geriatr. Soc. 55: 1438–1444.
57. Fulop, T. et al. 2004. **Signal transduction and functional changes in neutrophils with ageing.** AgeingCell 3: 217–226.

58. Sakaguchi, S. et al. 2008. **Regulatory T cells and immune tolerance.** Cell 133: 775–787.
59. Gregg, R. et al. 2005. **The number of human peripheral blood CD4+ CD25high regulatory T cells increases with age.** Clin. Exp. Immunol. 140: 540–546.
60. Nagaraj, S. & D.I. Gabrilovich. 2008. **Tumor escape mechanism governed by myeloid-derived suppressor cells.** Cancer Res. 68: 2561–2563.
61. Huang, H., D.D. Patel & K.G. Manton. 2005. **The immune system in ageing: roles of cytokines, T cells and NK cells.** Front. Biosci. 10: 192–215.
62. Pertovaara, M. et al. 2007. **Indoleamine 2,3-dioxygenase activity is increased in patients with systemic lupus erythematosus and predicts disease activation in the sunny season.** Clin. Exp. Immunol. 150: 274–278.
63. Lustgarten, J. 2009. **Cancer, ageing and immunotherapy: lessons learned from animal models.** Cancer Immunol. Immunother. [Epub ahead of print.]
64. Pawelec, G. et al. 2009. **Impact of ageing on cancer immunity and immunotherapy.** Cancer Immunol. Immunother. 58: 1723–1724.
65. Seth R-N (2006) **Why cancer and inflammation?** Yale J Biol Med 79:123
66. Mumm JB, Oft M (2008) **Cytokine-based transformation of immune surveillance into tumor-promoting inflammation.** Oncogene 27:5913
67. Whiteside TL (2008) **The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth.** Oncogene 27:5904
68. Sansone P, Storci G, Tavolati S, Guarnieri T, Giovannini C, TaVurelli M, Ceccarelli C, Santini D, Paterini P, Marcu KB, Chieco P, Bonafè M (2007) **IL-6 triggers malignant features in mammospheres from human ductal breast carcinoma and normal mammary gland.** J Clin Invest 117:3988
69. Francipane MG, Perez Alea M, Lombardo Y, Todaro M, Medema JP, Stassi G (2008) **Crucial role of interleukin-4 in the survival of colon cancer stem cells.** Cancer Res 68:4022

70. Caillet P, Canoui-Poitrine F, Vouriot J, Berle M, Reinald N, Krypciak S, Bastuji- Garin S, Culine S, Paillaud E: **Comprehensive Geriatric Assessment in the Decision-Making Process in Elderly Patients With Cancer: ELCAPA Study.** J Clin Oncol 2011, 29(27):3636-3642.
71. Gravekamp, C. 2009. **The importance of the age factor in cancer vaccination at older age.** Cancer Immunol. Immunother. [Epub ahead of print.
72. Gravekamp, C., S.H. Kim&F. Castro. 2009. **Cancer vaccination: manipulation of immune responses at old age.** Mech. Ageing Dev. 130: 67–75.