

INSTITUTO DE ANGIOLOGIA

## **Poblaciones linfoides, nivel de inmunoglobulinas y sistema complemento en personas sanas de 65 ó más años**

Por:

Lic. LUIS SORELL GOMEZ, Dr. CARLOS DURAN LLOBERA, Téc.  
EDUARDO GONZALEZ MARTIN, Téc. ALFREDO CIVICO MALET

Sorell Gómez, L. y otros. *Poblaciones linfoides, nivel de inmunoglobulinas y sistema complejo en personas sanas de 65 ó más años*. Rev Cub Med 24: 2, 1985.

Se determinó el nivel de linfocitos T y B en sangre periférica, el nivel de las inmunoglobulinas IgG, IgA e IgM y la actividad hemolítica total del sistema completo en un grupo de 20 personas de 65 años o más, no diabéticos, con pulsos palpables en ausencia de soplos en el examen vascular periférico, que negaban historia de claudicación intermitente y sin otra enfermedad clínicamente manifiesta. Los resultados se compararon con los de un grupo de donantes supuestamente sanos menores de 45 años. Se observó un aumento significativo de la IgG entre los ancianos y una disminución también significativa de los linfocitos T. La concentración de IgA y la actividad hemolítica del complemento igualmente estaban aumentadas en los ancianos, aunque la diferencia respecto al grupo control no alcanzó significación estadística. Se comparan los resultados obtenidos con los informados en la literatura médica.

### **INTRODUCCION**

El aumento de la incidencia de determinados tipos de infecciones, enfermedades autoinmunes por inmunocomplejos y cáncer entre las personas de avanzada edad ha motivado en los últimos años un creciente número de investigaciones dirigidas a conocer las alteraciones que se producen con el envejecimiento sobre las funciones del sistema inmune, para establecer si ambos eventos están relacionados causalmente.

\* Licenciado en bioquímica. Jefe de la sección de inmunología. Departamento de bioquímica.

\*\* Especialista de I grado en angiología.

\*\*\* Técnico químico analista. Sección de inmunología. Departamento de bioquímica.

Aunque con diferentes enfoques, se han propuesto distintas teorías para explicar en qué forma el envejecimiento afecta las funciones inmunes.<sup>1,2</sup> Estas teorías se sustentan en diversos estudios realizados, tanto en animales de experimentación como en humanos, que han señalado alteraciones en diversos niveles, como son: sobre las células primordiales (stem cells) del sistema inmune, al nivel de la médula ósea,<sup>3</sup> sobre el número<sup>4,6</sup> y capacidad funcional<sup>7</sup> de las células inmunocompetentes del sistema inmune humoral y celular (linfocitos B y T) y al nivel de las células en actividad fagocítica.<sup>10</sup>

Sin embargo, los resultados no son siempre coincidentes y aunque en general se plantea que las mayores afectaciones se observan sobre la inmunidad celular, se ha señalado que estos cambios también se producen sobre la inmunidad humoral.<sup>11</sup>

Tomando en consideración los antecedentes expuestos y que en un trabajo anterior encontramos una deficiente actividad fagocítica y microbicida de los leucocitos polimorfonucleares de personas de 65 años o más,<sup>12</sup> nos propusimos en esta investigación evaluar distintos parámetros del sistema inmune en un grupo de ancianos, y comparar los resultados con respecto a un grupo de adultos menores de 45 años y con los informados en la literatura médica.

#### MATERIAL Y METODO

Se estudió un total de 20 personas no diabéticas, de 65 años o más, 14 hombres y 6 mujeres, que sometidos a un chequeo vascular tuvieron pulsos periféricos palpables y ausencia de soplos, que negaban historia de claudicación intermitente y que no presentaban otra enfermedad clínicamente manifiesta y, como grupo control, 20 donantes del banco de sangre, supuestamente sanos, de los cuales 13 eran hombres y 7 mujeres, todos menores de 45 años (cuadro I).

Los estudios realizados fueron: cuantificación de linfocitos T y B en sangre periférica, al nivel de inmunoglobulinas séricas IgG, IgA e IgM y nivel del sistema complemento como actividad hemolítica total.

CUADRO I

#### EDAD PROMEDIO Y DISTRIBUCION POR SEXO

	Sexo		Edad	
	M	F	X	DE
Donantes 45 años n = 20	13	7	31,4	7,8
Personas sanas ^ 65 años n = 20	14	6	72,5	3,9

Para la obtención de los linfocitos, se tomó sangre venosa en ayunas, recogida en heparina libre de preservativo diluida: 1:2 con solución de Hanks, que fue colocada sobre una mezcla de ficoll-visotrac de densidad 1,07. Se centrifugó a 4°C a 1 100 g durante 30 min, después de lo cual se extrajo el anillo blanquecino de la interfase que contenía los linfocitos. Las células fueron lavadas con solución de Hanks, eliminados los eritrocitos contaminantes con solución de cloruro de amonio fría y ajustadas a una concentración de  $2-4 \times 10^6$  cel/ml.

Para la cuantificación de los linfocitos T se utilizó la formación de rosetas espontáneas (rosetas E) con eritrocitos de carnero y se siguió básicamente la técnica descrita por Fiedly y Goh;<sup>1</sup> para la cuantificación de linfocitos B la formación de rosetas con eritrocitos de carnero recubiertos de anticuerpos y complemento (rosetas EAC) según Kerman y colaboradores.<sup>3</sup> Los resultados fueron dados en por ciento contando 200 células y de ellas cuántas formaban rosetas.

La concentración de inmunoglobulinas séricas se determinó por inmunodifusión radial simple,<sup>11</sup> utilizando como suero patrón un suero estándar comercial (Sevac, Checoslovaquia, lote 50-0380). Los resultados de estas determinaciones, fueron informados en unidades internacionales por mililitro (UI/ml).

La actividad hemolítica total del sistema complemento se determinó mediante la técnica descrita por Mayer<sup>15</sup> y los resultados en este caso se informan como unidades CH50 (UCH50).

En la comparación de los valores promedio de los distintos parámetros estudiados entre los dos grupos, se utilizó la prueba de la t de Student, luego de comparada la normalidad de las distribuciones estadísticas.

## RESULTADOS

Los valores promedio y las desviaciones típicas para cada uno de los parámetros estudiados en ambos grupos se muestran en el cuadro II. Se observa que hay una disminución significativa en el por ciento de linfocitos T entre el grupo de personas con 65 años o más con respecto a los adultos menores de 45 años, mientras que no hubo diferencias significativas en cuanto al por ciento de linfocitos B de sangre periférica. Con respecto al nivel de inmunoglobulinas, se encontró un aumento significativo en el nivel sérico de la IgG y también un aumento de la IgA, aunque en este caso sin alcanzar significación estadística en el grupo de personas de 65 años o más, mientras que el nivel de IgM era muy similar en ambos grupos.

Un aumento en la actividad hemolítica del sistema complemento que no llegó a ser estadísticamente significativo también estuvo presente entre los ancianos.

CUADRO II

COMPARACION DE LOS RESULTADOS PARA LOS VALORES PROMEDIOS DE LINFOCITOS T Y B EN SANGRE PERIFERICA, NIVEL DE INMUNOGLOBULINAS Y COMPLEMENTO-HEMOLITICO

	Linfocitos T (%)		Linfocitos B (%)		Inmunoglobulinas		(U/ml)	Comple- mento	(UCH50) DE
	$\bar{x}$	DE	$\bar{x}$	DE	IgG $\bar{x}$ DE	IgG $\bar{x}$ DE	IgM $\bar{x}$ DE		
Donantes < 45 años	67,1	5,0	25,6	4,8	204 40,1	199 71,2	167 59,3	32,6	4,2
Personas sanas ≥ 65 años	64,1	3,9	24,8	5,1	263 76,7	231 67,4	160 91	34,5	3,1
Valor de t*	2,12		0,51		3,5	1,46	0,28	1,63	
p	< 0,05		NS		<0,01	NS	NS	NS	

\* Prueba de la t de Student.

## DISCUSION

Distintos autores refieren resultados diferentes en cuanto a la influencia del envejecimiento sobre el nivel de linfocitos T en sangre periférica. *Hallgren y colaboradores*<sup>5</sup> informan que el número de linfocitos T por milímetro cúbico no se afecta con la edad hasta la séptima década de la vida, momento a partir del cual muestran un incremento. Sin embargo, para otros las cifras de linfocitos T circulantes decrecen progresivamente después de la pubertad, para llegar a valores del 70%, con respecto a los adultos jóvenes, en la sexta década de la vida." Cifras menores de linfocitos T en personas mayores de 60 años respecto a adultos menores de 45 años han sido informados por *Czlonkowska y Korlak*,<sup>9</sup> *Reddy y Goh*<sup>1</sup> y *Augener y colaboradores*<sup>6</sup>. Nuestros resultados están acordes con estos últimos informes y podrían apoyar el señalamiento de deficiencias de inmunidad celular en personas de avanzada edad.

La cuantificación de linfocitos B mostró poca diferencia entre los ancianos y los controles. Esto concuerda con lo señalado por otros investigadores. en el sentido de que el número de linfocitos B varía poco con la edad,<sup>17</sup> a pesar de que algunos han señalado que aunque estas células globalmente parecen afectarse poco con la edad, ciertas subpoblaciones de linfocitos B sí parecen sufrir cambios," lo cual escapa al alcance del presente trabajo.

Acerca de la influencia de la edad sobre los niveles de inmunoglobulinas, también existen diversos criterios. *Czlonkowska y Korlak* y *Girard y colaboradores*,<sup>1\*</sup> señalan que no encontraron alteraciones de los niveles séricos de las inmunoglobulinas en un grupo de personas mayores de 60 años con respecto a un grupo menor de 40 años. *Kalf*<sup>10</sup> y *fiacia*,-" encuentran niveles séricos elevados de IgG e IgA en un grupo de ancianos e *Ippoliti y colaboradores*- de IgM, mientras que *Molaschi y colaboradores*-- señalan un aumento de IgA y una disminución significativa de IgM sin alteraciones de los niveles de IgG. Nuestros resultados, en este sentido, con los que más coinciden es con los señalados por *Kalf y Radal* y mostraron un aumento de la concentración sérica de IgG e IgA, en el primer caso altamente significativo, sin alteración de los niveles de IgM. Resulta difícil explicar la diversidad de resultados obtenidos por distintos investigadores, pero hay que tener en cuenta las diferencias poblacionales, el criterio de sanidad de las personas de edad avanzada y las técnicas empleadas en las determinaciones. De todas formas, habría que discernir sobre el papel de estos niveles altos de inmunoglobulinas dentro del proceso de envejecimiento del sistema inmune.

Con respecto al aumento encontrado por nosotros en la actividad hemolítica del sistema complemento, aunque no fue significativo, coincide con lo informado por *Nagaki y colaboradores*,<sup>3</sup> Según estos autores, la elevación de la actividad de este sistema implica una elevación de las concentraciones de las proteínas que lo componen. Ellos sugieren que existe un incremento de la síntesis de estas proteínas con el envejecimiento, ya que no ha sido probado que este aumento se deba a un decremento en su catabolismo. Concluyen manifestando que el incremento de la síntesis de los componentes del sistema complemento

y, agregamos nosotros, quizás de las inmunoglobulinas que encontramos elevadas, puede ser un mecanismo de compensación ante el declive de la función inmune celular con el envejecimiento. Lo que parece escapar a toda duda es que, en mayor o menor medida, con el decursar de la vida surgen alteraciones de las funciones normales del sistema inmune que por estar relacionado con la mayoría de las células (sino con todas), tejidos y órganos del cuerpo, podrían implicar alteraciones en esos sistemas, lo que tendría invariablemente repercusión sobre una adecuada hemostasia. No obstante lo anterior, el envejecimiento no debe enfocarse con una óptica fatalista, si tomamos en consideración que ya se desarrollan algunas medidas, tanto desde el punto de vista preventivo como restaurador, para tratar de prevenir o al menos atenuar estos procesos.<sup>24</sup> Esto resulta de gran importancia, si se toma en cuenta el aumento de la expectativa de vida logrado en los países con un alto desarrollo y en aquellos que sin haberlo alcanzado, como el nuestro, debido a adecuadas medidas socioeconómicas y de salud, presentan una cifra incluso superior a la de países desarrollados

#### CONCLUSIONES

1. El grupo de personas de 65 años de edad o más tuvo cifras de linfocitos T en sangre periférica significativamente menores que un grupo control menor de 45 años.
2. No encontramos diferencia significativa para el número de linfocitos B entre ambos grupos.
3. Los niveles séricos de IgG e IgA estaban aumentados entre los ancianos y la diferencia respecto al grupo control es altamente significativa para el caso de la IgG. No encontramos diferencias en los niveles de IgM.
4. La actividad hemolítica del sistema complemento estuvo aumentada entre los ancianos respecto al grupo control, aunque este aumento no llegó a ser significativo.

#### SUMMARY

Sorell Gómez, L. et al. *Lymphoid populations, immunoglobulins level and total system in healthy individuals over 65 year old*. Rev Cub Med 24: 2, 1985.

Level of T and B lymphocytes in peripheral blood level of IgG, IgA and IgM immunoglobulins and total hemolytic activity of whole system was determined in a group of 20 individuals over 65 year old. They were nondiabetics with palpable pulse in absence of murmurs at peripheral vascular examination, denying intermittent claudication history and without other clinically revealed disease. Results were compared with those from a group of supposedly healthy donors younger than 45 years. A significant increment of IgG was observed among old individuals and also a significant decrement of T lymphocytes.

IgA concentration and complement hemolytic activity likewise were increased in the older age group, although difference with regard to the control group did not reach statistical significance. Results obtained are compared with those reported in the medical literature.

#### RÉSUMÉ

Sorell Gómez, L. et al. *Populations lymphoïdes, taux d'immunoglobulines et système complet chez des sujets sains âgés de 65 ans ou davantage*. Rev Cub Med 24: 2. 1985.

On a déterminé le taux de lymphocytes T et B dans le sang périphérique, le taux des immunoglobulines IgG, IgA et IgM et l'activité hémolytique totale du système complet dans un groupe de 20 sujets âgés de 65 ans ou davantage, non diabétiques, avec des pouls palpables en absence de souffles dans l'examen vasculaire périphérique, qui n'avaient une histoire de claudication intermittente, et sans d'autre maladie cliniquement évidente. Les résultats ont été comparés avec ceux obtenus chez un groupe de donneurs apparemment sains âgés de moins de 45 ans. Il a été observé une augmentation significative de l'IgG parmi les vieillards, ainsi qu'une diminution significative des lymphocytes T. La concentration d'IgA et l'activité hémolytique du complément étaient aussi augmentées chez les vieillards, quoique la différence par rapport au groupe de contrôle ne soit pas significative du point de vue statistique. Les résultats obtenus sont comparés à ceux qui ont été rapportés dans la littérature médicale.

#### BIBLIOGRAFIA

1. *Waldorf, R. L.*: Immunologic theory of aging. Fed Proc 33: 2020, 1974.
2. *Kay, M. M. B.*: The thymus: clock for immunologic aging? J Invest Dermatol 73 (1): 29-38, 1979.
3. *Ogden, D. H.; H. S. Micklen.*: The fate of marrow cell populations from young and old donors. Transplantation 12: 287-293, 1976.
4. *Reddy, M. M.; K. Goh.*: B and T lymphocytes in man. IV, circulating B, T and naive lymphocytes in aging population. J Gerontol 34 (1): 5-8, 1979.
5. *Hallgren, H. M. and cois.*: Lymphocyte subsets and integrated immune function in aging humans. Clin Immunol Immunopathol 10: 65-78, 1978.
6. *Augener, W. and cois.*: Decrease of T lymphocytes during aging. Lancet 1. (7867): 1164, 1974.
7. *Hallgren, H. M. and cois.*: Lymphocyte phytohemagglutinin responsiveness, immunoglobulins and autoantibodies in aging humans. J Immunol 111 (4): 987, 1979.
8. *Duchateau, J.*: Cellular Interactions in the proliferative response of human circulating lymphocytes to PAH-analysis on the impaired response in old age. Acta Endocrinol Suppl. 205: 83, 35, 1976.
9. *Hallgren, H. M.; E. J. Yunis*: Suppressor lymphocytes in young and aged humans. Immunol 118: 2004, 1977.
10. *Charpentier, B. and cois.*: Immunological studies in human aging I- In vitro functions of T cells and polymorphs. J Clin Lab Immunol 5: 87-93, 1981.
11. *Kay M. M. B.*: Immunological aspects of aging. In: *Kay, M. M. B., J. Galpin and T. Makmodam* (Eds.) New York, The Raven Press, 1980. Pp. 33-75.
12. *Cívico Malet, A.; L. Sorell Gómez*: Funciones leucocitarias en personas sanas de 65 o mas años. Trabajo inédito.
13. *Kerman, R. and cois.*: Unification and technical aspects of total T active T and B lymphocytes rosette assays. Immunol Commun 5: 685-694, 1976.
14. *Mancini, F. and cois.*: Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry 2: 235, 1965.

15. *Mayer, M. M.*: Complement and complement fixation. *In: fivac, E. A.; M. M. Mayer: Experimental immunochemistry*. 2nd. edition. Springfield, I11.C.C. Thomas, 1967. P.P. 149-153.
16. *Czlonkowska, A.; J. Korlak*: The immune response during aging. *J Gerontol* 34: 9-14, 1979.
17. *Makinodan, T.; W. Alder*: The effects of aging on the differentiation and proliferation potentials of cells of the immune system. *Fed Proc* 34: 153-158, 1975.
18. *Girard, J. P. and cois.*: Cell mediated immunity in an aging population. *Clin Exp Immunol* 27: 85-91, 1977.
19. *Kalf, M. W.*: A population study on serum immunoglobulin levels. *Clin Chim Acta* 28: 277-289, 1970
20. *Rada!, J., and cois.*: Immunoglobulin patterns in human over 95 years of age. *Clin Exs Immunol*. 22: 84-90, 1975.
21. *Ippoliti, G. and cois.*: T lymphocytes and immunoglobulins in the aged. *Lancet* 2 (7886): 953-954, october 19, 1974.
22. *Molaschi, M. et al.*: Il dosaggio deile immunoglobuline nell anziano. *Minerva Med* 70: 1-8, 1979.
23. *Nagaki, K. and cois.*: The effect of aging on complement activity (CH50) and complement protein levels. *J Clin Lab Immunol* 3 (1): 45-50, 1980.
24. *Makinodan, T.*: Preventlon and restoratin of age-associated impaired normal immune functions. *Aging* 8: 61-70, 1979.

Recibido: 12 de septiembre de 1983.

Aprobado: 12 de marzo de 1984.

Lic. *Luis Sorell Gómez*.  
 Instituto de Angiología  
 Calzada del Cerro No. 1551,  
 Municipio Cerro, La Habana,  
 Cuba.