

JOLANTA MYŚLIWSKA

*Zakład Immunologii, Katedra Histologii i Immunologii
Akademia Medyczna w Gdańsku
Dębinki 1, 80-210 Gdańsk
e-mail: jolmys@amg.gda.pl*

ODPOWIEDŹ IMMUNOLOGICZNA W PROCESIE STARZENIA

WPROWADZENIE

Nadzorująca rola układu odpornościowego jest jednym z najważniejszych mechanizmów zabezpieczających przeżycie osobnicze. Celem układu immunologicznego jest obrona przed patogenami oraz udział w usuwaniu wszelkich nieprawidłowych komórek własnych organizmu, jak na przykład uszkodzonych lub transformowanych nowotworowo.

Badanie układu immunologicznego w procesie starzenia napotykało wiele trudności ze względu na fakt, że tylko niewielka populacja ludzi starych zachowuje dobry stan zdrowia do końca życia. Większość więc obserwowanych u starych ludzi zmian może być raczej wynikiem procesów patologicznych, niż odzwierciedlać fizjologiczne przemiany towarzyszące procesowi

starzenia. W 1984 roku grupa europejskich immunogerontologów opracowała tak zwany Protokół Seniora (SP — ang. Senieur Protocol) (LIGTHART i współaut. 1984). Jest to zestaw zalecanych badań, zarówno klinicznych, jak i laboratoryjnych, które zdaniem autorów umożliwiają pełną ocenę stanu zdrowia ludzi w wieku podeszłym. Dzięki kryteriom SP udało się wyodrębnić grupę ludzi starych „w pełni zdrowych”. Należy jednak podkreślić, że populacja spełniająca wszystkie kryteria SP, a więc w pełni zdrowa, stanowi zaledwie kilka procent w stosunku do całej populacji w wieku podeszłym. Przedstawione przeze mnie dane w poniższym opracowaniu dotyczą zmian zachodzących u „w pełni zdrowych” selekcionowanych osób.

ZMIANY ODPORNOŚCI NIESWOISTEJ W PROCESIE STARZENIA

WZMOŻENIE MECHANIZMÓW ODPORNOŚCI NIESWOISTEJ W PROCESIE STARZENIA MOŻE KOMPENSOWAĆ NIEDOBORY W ZAKRESIE ODPORNOŚCI SWOISTEJ

Pierwszą formą odpowiedzi immunologicznej jest nieswoista reakcja immunologiczna, której celem jest zniszczenie patogenów lub uszkodzonych komórek organizmu przy pomocy nieswoistych mechanizmów cytotórczych. W odpowiedzi nieswoistej uczestniczą: granulocyty, monocyty, makrofagi, komórki tuczne, komórki dendrytyczne oraz limfocyty. Komórki te wywędrowują z naczyń i gromadzą się w miejscu inwazji patogenów lub okolicy uszkodzenia wytwarzając naciek komórkowy. Procesy związane z napływem komórek, tworzeniem się nacieku, wzrostem przepuszczalności naczyń

krwionośnych są odpowiedzialne za powstanie stanu zapalnego. Tak więc indukcja stanu zapalnego jest warunkiem prawidłowej odpowiedzi nieswoistej.

W pierwszej linii obrony są zaangażowane granulocyty obojętnochłonne — neutrofile. Fagocytują one mikroorganizmy i niszczą je przy pomocy tlenowych i nie zależnych od tlenu mechanizmów. Ilość granulocytów, podobnie jak ich zdolność do transmigracji do ogniska zapalnego oraz zdolność bakteriobójcza, nie zmieniają się z wiekiem (NAGEL i ADREL 1988). Neutrofile osób w wieku 65–85 lat wydają się podlegać konstytutywnej aktywacji *in vivo*. Świadczy o tym i ich podwyższona gotowość do spontanicznej apoptozy (FULOP i współaut. 1997). Liczba monocytów krwi nie zmienia się z wiekiem. Monocyty i różnicujące się z nich

makrofagi są komórkami wielofunkcyjnymi. Podobnie, jak granulocyty mogą one fagocytować mikroorganizmy. Poza tym, dzięki ich zdolności do obróbki i prezentacji antygenów, znane są, jako komórki prezentujące antygeny. Funkcja ta jest kluczową dla prawidłowej odpowiedzi swoistej rozpoznających antygeny komórek T i B. Komórki te ponadto produkują szerokie spektrum czynników, w tym cytokiny pro- i antyzapalne, białka dopełniacza i inne czynniki wpływające na odpowiedź immunologiczną. Nie znany jest wpływ starzenia na zdolność makrofagów do prezentacji antygenów. Wiadomo natomiast, że produkcja białek dopełniacza, odpowiedzialnych zarówno za indukcję stanu zapalnego, jak i za bezpośrednie niszczenie bakterii, wirusów i innych patogenów, nie zmniejsza się w procesie starzenia. Wręcz odwrotnie, w surowicy ludzi powyżej 70-tego roku życia stwierdzono podwyższony poziom składnika C3, C4, C1q (YONEMATSU i współaut. 1978) oraz C5 i C9 (PHAIR i współaut. 1978). Zależny od wieku wzrost poziomu surowiczych immunoglobulin IgG oraz IgA zapewnia efektywną aktywację dopełniacza drogą klasyczną i alternatywną. Jedną z cech procesu starzenia jest wzrost produkcji cytokin prozapalnych: interleukiny 1 (IL1), czynnika martwicy nowotworów α (TNF α — ang. tumor necrosis factor α), interleukiny 6 (IL6), interleukiny 8 (IL8) oraz czynników o działaniu antyzapalnym: transformującego wzrostu β (TGF β — ang. transforming growth factor β) oraz interleukiny 10 (IL10) (CLARK i PETERSON 1994, LLORENTE i współaut. 1997, MYŚLIWSKA i współaut. 1998, 1999). Cytokiny prozapalne stymulują indukcję cząstek adhezyjnych na powierzchni komórek wędrujących do ogniska zapalnego oraz komplementarnych cząstek na powierzchni komórek śródbłonna, aby ułatwić ich wzajemny kontakt, a poprzez to stymulować migrację. Ponadto cytokiny prozapalne aktywują monocyty, makrofagi, komórki dendrytyczne, granulocyty, komórki NK oraz prestymulują komórki biorące udział w odpowiedzi swoistej — limfocyty T i B.

Szczególnie dobrze poznano zmiany dotyczące interleukiny 6 w procesie starzenia. Wielu autorów stwierdziło, że produkcja tej cytokiny przez komórki układu immunologicznego, jak i jej aktywność biologiczna wzrastają u ludzi i innych gatunków w procesie starzenia (CANDORE i współaut. 1993, SUN i współaut. 1993). Do wzrostu produkcji IL6, mierzonej poziomem tej cytokiny w surowicy krwi, zdolnością do wydzielania IL6 *in vitro* przez niestymulowane oraz stymulowane komórki krwi, ekspresją genu dla tej cytokiny w niestymulowanych mononuklearnych komórkach krwi dochodzi już między 36

a 59-tym rokiem życia. Mononuklearne komórki krwi nie w pełni zdrowych starszych osób wydzielają jednak więcej IL6 aniżeli komórki starych w pełni zdrowych seniorów. Ponadto komórki te charakteryzują się konstytutywną ekspresją genu *IL6* (MYŚLIWSKA i współaut. 1998). Podobną zależność od stanu zdrowia zaobserwowaliśmy w przypadku *TNF α* (MYŚLIWSKA i współaut. 1999). Z gorszym stanem zdrowia, u osób powyżej 70-tego roku życia, wiąże się zarówno konstytutywna ekspresja genu *TNF α* w niestymulowanych mononuklearnych komórkach krwi, jak i wysoka sekrecja tej cytokiny w hodowlach *in vitro*. Nie znane są przyczyny doprowadzające do rozwoju nadmiernej produkcji cytokin prozapalnych w procesie starzenia. Wiadomo, że w procesie tym zasadniczą rolę odgrywają endo- i egzotoksyny bakteryjne. Stąd, nie bez słuszności, wydaje się być hipoteza zakładająca udział własnej saprofitycznej flory bakteryjnej człowieka w generowaniu tego zjawiska. Wykazano, że z wiekiem dochodzi do akumulacji bakterii w przewodzie pokarmowym (RIORDAN i współaut. 1996) oraz układzie oddechowym (MEYER i współaut. 1998). Układ fagocytny komórek Kupfera wątroby nie radzi sobie z usuwaniem produktów ich rozpadu (HABOUBI i MONTGOMERY 1992). Wynikiem nieprawidłowego działania układu fagocytnego wątroby może być rozsiew toksyn bakteryjnych do krążenia, które mogą stymulować komórki do produkcji cytokin prozapalnych. W odpowiedzi immunologicznej cytokiny prozapalne są indukowane kaskadowo. Wynika to z istnienia w promotorach genów *IL6* i *IL8* regionów wiążących NF-IL6 oraz NF-kB (MUKAIDA i współaut. 1990) oraz w promotorach genów *IL1* i *TNF α* regionów wiążących NF-IL6 (NATSUKA i współaut. 1992). Uwolnione masowo cytokiny prozapalne indukują z kolei produkcję czynników hamujących odpowiedź immunologiczną, jak na przykład TGF β (ZHOU i współaut. 1991), prostaglandyny (np. PGE2) (FREIFELD i współaut. 1995), IL10 (LLORENTE i współaut. 1997). Fakt, że wzrost produkcji cytokin prozapalnych stwierdzono także u osobników innych gatunków nasuwa pytanie — czy zależna od wieku nadekspresja cytokin prozapalnych jest zjawiskiem wynikającym z adaptacji czy z zaburzenia funkcji układu immunologicznego? Ponieważ zjawisko wzrostu sekrecji cytokin prozapalnych obserwuje się również u osób najdłużej żyjących (FRANCESCHI i współaut. 1995) świadczy, to o tym, że jest to tendencja sprzyjająca długiemu przeżyciu człowieka. Można więc przyjąć, że umiarkowane wzmożenie produkcji IL6 jest kompensacyjną odpowiedzią związaną z adaptacją do towarzyszących procesowi starzenia

niedoborów immunologicznych. Jednym z przykładów takiego niedoboru, nieuchronnie pojawiającego się w procesie starzenia, jest niedobór interleukiny 2 (IL2) — cytokiny stymulującej rozwój i funkcję komórek układu immunologicznego. Uważa się, że niedobór IL2 predysponuje do zachorowań na choroby infekcyjne oraz do rozwoju choroby nowotworowej (HIROKAWA i współaut. 1992). Obie cytokiny — IL6 oraz IL2 — współdziałają w indukcji proliferacji limfocytów T i generacji komórek T cytotoksycznych (CTL — ang. cytotoxic T lymphocytes) (KUHWIIDE i współaut. 1990, LE i współaut. 1989), aktywacji limfocytów B (TAGA i KISHIMOTO 1997), aktywacji monocytów i komórek NK (FREY i współaut. 1987). Silniejszy sygnał kostymulacyjny ze strony IL6 może więc kompensować osłabienie sygnału generowanego przez IL2. Mechanizm ten mógłby zabezpieczać przed deficytem funkcji komórek zaangażowanych w odporność przeciwważną oraz przeciwnowotworową. Interleukina 6 wywiera pleiotropowe działanie — a więc, oprócz powyżej przedstawionych jej funkcji, oddziałuje także na dojrzewanie komórek linii mieloidalnej (DUITS i współaut. 1992) i megakariocytów (NATSUKA i współaut. 1992). Tak więc, wzrost stężenia IL6 może zabezpieczyć szybką odnowę puli tych komórek w infekcjach — co jest warunkiem przeżycia choroby. Wysoka aktywność biologiczna cytokin prozapalnych — IL1, TNF α oraz IL6 może przeciwdziałać, jako mechanizm przeciwnowotworowy, skutkom niedoboru IL2 poprzez antyproliferacyjny efekt na komórki nowotworowe (MORINAGA i współaut. 1989) oraz stymulując funkcję komórek zaangażowanych w niszczenie nowotworów — komórek NK, monocytów/makrofagów, cytotoksycznych limfocy-

tów T (KUHWIIDE i współaut. 1990, FREY i współaut. 1987). Ponadto można przyjąć, że interleukina 6 jest bardziej intensywnie wydzielana u osobników starszych w celu wygaszania nadmiernych odczynów zapalnych. Ludzie w wieku podeszłym wykazują większą zapadalność na infekcje, a więc chorują częściej, a chorobom towarzyszy silna odpowiedź zapalna. Co więcej, badania prowadzone w ostatnich latach (MEYER i współaut. 1998) wykazały, że u ludzi w wieku podeszłym stan zapalny może pojawiać się bez ewidentnych objawów chorobowych. Okazało się, że u zdrowych starszych osób — powyżej 70-ego roku życia — utrzymuje się bezobjawowe, niewielkiego stopnia zapalenie dolnych dróg oddechowych — co można wykazać badając płyn z drzewa oskrzelowego tak zwany BAL (ang. bronchoalveolar lavage). Stan ten charakteryzuje się występowaniem zwiększonej liczby neutrofilii, makrofagów, limfocytów, wysokiego stężenia cytokin — IL8 oraz IL6 w płynie z drzewa oskrzelowego. Zjawiskom tym towarzyszy podwyższony poziom uwalnianych z neutrofilii elastaz oraz α_1 -antyproteaz. Autorzy wspomnianych badań uważają, że enzymy te są odpowiedzialne za znaną od dawna przez patologów, powolną degradację włókien elastycznych oskrzeli — czego późnym następstwem może być rozedma płuc — zmiana nierozzerwalnie związana z procesem starzenia. W wygaszaniu odczynu zapalnego uczestniczą indukowane przez IL6: białka ostrej fazy, cytokiny antyzapalne na przykład IL10, transformujący czynnik wzrostowy oraz steroidy kory nadnerczy, których sekrecja jest pobudzana przez przysadkowe ACTH (WOŁOSKI i współaut. 1985, TAGA i KISHIMOTO 1997).

INTENSYWNA ODPORNOŚĆ NIESWOISTA W PROCESIE STARZENIA POCIĄGA ZA SOBĄ ZAGROŻENIE STANU ZDROWIA

Nadmierna produkcja cytokin prozapalnych może jednak doprowadzić do niekorzystnych następstw zdrowotnych. Następstwem takim może być supresja i anergia odpowiedzi immunologicznej. Jak już wspomniano, następstwem uwolnienia cytokin prozapalnych jest produkcja różnego typu czynników działających antyzapalnie i hamująco na odpowiedź immunologiczną — między innymi cytokin oraz prostaglandyn. Tymczasem, limfocyty starych osobników są bardziej wrażliwe na hamujące ich aktywność działanie prostaglandyn (FREIFELD i współaut. 1995). Innym czynnikiem sprzyjającym supresji immunologicznej jest zależny od wieku wzrost podstawowego stężenia

we krwi steroidów nadnerczowych (KIZAKI i współaut. 1998). Korzystna przeciwważalna rola tych hormonów może, przy ich nadmiarze, doprowadzić do hamowania odpowiedzi immunologicznej. Tak więc, mechanizmy supresji i anergii mogą przyczyniać się do cięższego i dłuższego przebiegu infekcji u ludzi starszych oraz znacznej śmiertelności towarzyszącej tym chorobom. Szczególnie w przypadku posocznicy (choroba rozwijająca się w konsekwencji masowego zakażenia bakteryjnego, w którym produkty rozpadu bakterii stymulują uwalnianie TNF α) zagrożenie życia jest znacznie większe u ludzi w wieku podeszłym, aniżeli u młodych. Następstwem wysokiej produkcji cytokin proza-

palnych może być także rozwój niektórych zależnych od wieku chorób (GRAEVE i współaut. 1993, MARIE i współaut. 1993, MARIOTTI i współaut. 1992, TAKIGUCHI i współaut. 1997). Należy do nich amyloidoza — choroba prowadząca do niewydolności narządów, z powodu odkładania się w nich białek ostrej fazy, indukowanych przez IL6. W towarzyszącej procesowi starzenia osteoporozie oraz zapaleniu przyzębia aktywatorami osteoklastów, komórek odpowiedzialnych za niszczenie elementów kostnych, są cytokiny prozapalne. Nadmierna produkcja TNF α odgrywa również rolę w patogenezie miażdżycy. Krytycznym dla rozwoju tej choroby jest zwiększona w wieku podeszłym wrażliwość komórek ściany naczyń tętniczych na TNF α (BELMIN i współaut. 1995). TNF α prowadzi zarówno do bezpośredniego uszkodzenia śródbłonnków naczyń oraz pośredniego — poprzez indukcję czynników miażdżycorodnych takich jak: inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI — ang. plasminogen activator inhibitor) (EMEIS i współaut. 1992), czynnika aktywującego płytki (PAF — ang. platelet activating factor) (DAGENAIS i współaut. 1997), białek ostrej fazy w tym fibry-

nogenu (HAGER i współaut. 1994) oraz indukcję zależnej od IL6 trombogenezy (rozwój płytek krwi) (TAGA i KISHIMOTO 1997). W obecności tych czynników wytwarza się stan prokoagulacyjny śródbłonna, umożliwiając gromadzenie się w miejscach uszkodzenia fibrynogenu, płytek krwi oraz komórek układu immunologicznego, odpowiedzialnych za bezpośrednie uszkodzenie ściany naczyń tętniczych. W naszych badaniach wykazaliśmy (MYŚLIWSKA i współaut. 1999), że znamienne wzmożenie produkcji TNF α przez mononuklearne komórki krwi występowało u tych spośród starszych osób, u których jedynym objawem chorobowym było nadciśnienie tętnicze które, jak wiadomo, może prowadzić do rozwoju procesu miażdżycowego. Konstytutywna produkcja IL6 może ponadto być przyczyną zaburzeń proliferacji i dojrzewania limfocytów B. Jedną z funkcji interleukiny 6 jest stymulacja rozwoju limfocytów B i aktywacja produkcji przeciwciał (TAGA i KISHIMOTO 1997). Tak więc, z nadekspresją IL6 może być związane powstawanie nowotworu komórek plazmatycznych — szpiczak mnogi (KAWANO i współaut. 1988).

WYSOKA AKTYWNOŚĆ KOMÓREK NK MOŻE DO KOŃCA ŻYCIA ZAPEWNIĆ DOBRY STAN ZDROWIA

Jednym z elementów odporności nieswoistej są komórki NK (ang. natural killers — naturalni zabójcy). Komórki NK stoją na straży obrony przeciwwirusowej oraz przeciwnowotworowej. Rozpoznają one antygeny na zakażonych i transformowanych nowotworowo komórkach gospodarza. Przed rozpoznaniem antygeny nie muszą podlegać skomplikowanej obróbce, jaka ma miejsce w przypadku swoistego rozpoznania przez limfocyty T i B. W wyniku rozpoznania dochodzi do szybkiego zniszczenia nieprawidłowej komórki. Aktywność cytotoksyczna NK jest dobrze korelującym, w wieku podeszłym, ze stanem zdrowia parametrem immunologicznym. U w pełni zdrowych seniorów liczba komórek NK (CD16⁺, CD56⁺) jest wyższa aniżeli u osób młodych (SANSONI i współaut. 1993, MC NERLAN i współaut. 1998), a aktywność cytotoksyczna NK utrzymuje się na wysokim poziomie do końca życia (MYŚLIWSKA i współaut. 1992). Najprawdopodobniej wysoki poziom aktywności NK zależy od stymulacji cytokiną — produkowaną przez limfocyty T pamięci — interferonem γ (IFN γ) (KRISHNARAJ 1997) oraz kostymulacji przez produkowane w zwiększonej ilości u ludzi starych cytokiny prozapalne, jak na przykład TNF α oraz IL6 (MYŚLIWSKA i współaut. 1997, 1999). Obok interferonu, silnymi aktywatorami

komórek NK są cytokiny — interleukina 2 oraz interleukina 12 (IL12) i interleukina 15 (IL15). Poziom IL2 obniża się z wiekiem, szczególnie drastycznie u ludzi nie w pełni zdrowych. Niedobór IL2 leży u podłoża niskiej aktywności cytotoksycznej NK, spotykanej u większości, nie spełniających kryteriów SP, ludzi w wieku podeszłym (MYŚLIWSKA i współaut. 1992), gdyż egzogenna IL2 w znacznym stopniu poprawia efekt cytotoksyczny (KRISHNARAJ 1997). Znaczne i długotrwałe obniżenie aktywności NK jest wiarygodnym zwiastunem ciężkiej infekcji oraz wskazuje na możliwość śmierci (OGATA i współaut. 1997). O tym, że komórki NK są jednym z najważniejszych dla przeżycia ogniów odpowiedzi immunologicznej może świadczyć fakt, że u osób które przekroczyły dziesiątą dekadę życia dochodzi do wybiórczego wzrostu liczby komórek NK, a szczególnie postaci o wysokiej aktywności cytotoksycznej (CD16⁺CD57⁺) (SANSONI i współaut. 1993, FRANCESCHI i współaut. 1995). Inkubacja *in vitro* komórek NK w obecności IL2 prowadzi do wzmożenia ich funkcji cytotoksycznej oraz rozszerzenia ich cytobójczego spektrum. W immunoterapii niektórych nowotworów tak stymulowane komórki, określane jako komórki LAK (ang. lymphokine activated killers — komórki zabójcze aktywowane limfokinami),

przeszczepia się z powrotem do chorego dawcy aby pobudzić proces niszczenia komórek nowotworowych. Zdolność do generowania dużej liczby aktywowanych komórek NK ($CD56^+$

$CD16^+$) u ludzi w wieku podeszłym wskazuje na możliwość stosowania immunoterapii opartej na komórkach LAK również u tej grupy osób (PROVINCIALI i współaut. 1995).

INWOLUCJI GRASICY TOWARZYSZY ZMIANA WŁASNOŚCI GENEROWANYCH LIMFOCYTÓW T

Jeśli, mimo mechanizmów odporności nieswoistej, nie dojdzie do zniszczenia patogenów lub usunięcia uszkodzonych komórek, rozwija się wtedy ostatni etap odporności, zależny od swoistocie rozpoznających antygeny komórek T i B. Komórki prezentujące antygeny (APC — ang. antigen presenting cells) poddają je skomplikowanej obróbce do formy peptydów i w tej postaci są one rozpoznawane przez $CD4^+$ limfocyty T pomocnicze (TH — ang. T helper). Limfocyty TH stymulują z kolei efektorowe $CD8^+$ komórki T cytotoksyczne (TC — ang. T cytotoxic, CTL — ang. cytotoxic T lymphocytes) oraz $CD19^+$ limfocyty B. Limfocyty typu TH1 poprzez wydzielane cytokiny: IL2, $TNF\alpha$ oraz $IFN\gamma$ pobudzają funkcję komórek T cytotoksycznych oraz komórek NK, natomiast limfocyty typu TH2 poprzez cytokiny IL4, IL5, IL6, IL9, IL13 aktywują komórki B do produkcji przeciwciał. Źródłem limfocytów T $CD4^+$ oraz $CD8^+$ jest grasica. Do niedawna uważano, że limfopoieza grasicza ustaje w okresie po osiągnięciu dojrzałości płciowej. Powstała więc luka interpretacyjna — jak wytłumaczyć trwającą do końca życia człowieka aktywność układu limfocytów T. Dopiero dane uzyskane w ostatnich latach uświadomiły nam, że funkcja grasicy utrzymuje się znacznie dłużej aniżeli przypuszczano a ponadto, wraz z wiekiem, uaktywniają się inne poza grasicą centra limfopoetyczne.

Znaczenie grasicy, jako źródła limfocytów T dla obwodowych tkanek limfatycznych, wydaje się rozciągać aż do późnego okresu życia. Wskazywać na to może fakt, że w badaniach autopsyjnych u osób powyżej 70-tego roku życia, w inwolucyjnej grasicy wykrywano zachowane skupiska limfocytów w korze i rdzeniu (KAY 1980). Najwięcej dowodów jednak, na rolę grasicy w procesie starzenia dostarczyły badania na myszach. Wykazały one, że mimo iż imigracja komórek pro-T ze szpiku stopniowo zmniejsza się, począwszy od dojrzewania płciowego — to jednak u 24-miesięcznej myszy, a więc odpowiednika 70-letniego człowieka, grasica wciąż jednak istnieje, zachowując około 1% swojej zdolności do dostarczania na obwód limfocytów T, podtrzymywania ich wzrostu i różnicowania (HIROKAWA i współaut. 1990). Badania funkcji przeszczepu grasicy, który umieszczano u bezgrasiczych „nagich” (nude) myszy wykazały, że

grasice przeszczepione od najstarszych 24-miesięcznych myszy, choć ciągle aktywne w dostarczaniu komórek T na obwód, (HIROKAWA i współaut. 1982) różniły się zdolnością w indukowaniu subpopulacji limfocytów. Tak więc, indukowały one łatwiej komórki $CD4^+$ niż $CD8^+$. W związku z tym stosunek limfocytów $CD4^+$ do $CD8^+$ we krwi zmieniał się na korzyść $CD4^+$. W obecności przeszczepów grasicy od starych myszy różnicowało się mniej komórek T naiwnych (komórki, które nie miały jeszcze kontaktu z antygenem). Dochodziło także do przewagi komórek TH2 nad TH1 (HIROKAWA i współaut. 1992). Fakt, że zależne od wieku zmiany w zakresie subpopulacji limfocytów T u człowieka są podobne do tych, które opisano u myszy biorców przeszczepów starych grasic, pozwala domniemywać, że u człowieka grasicca, choć na niewielką skalę, odgrywa rolę centralnego narządu limfoproliferacyjnego przynajmniej do siódmej dekady życia. Tak więc, we krwi obwodowej ludzi w wieku podeszłym obserwuje się wzrost bezwzględnej liczby i odsetka komórek $CD4^+$ wraz ze spadkiem bezwzględnej liczby i odsetka komórek $CD8^+$. Stosunek $CD4^+/CD8^+$ we krwi wzrasta (UTSUYAMA i współaut. 1992). Z wiekiem dochodzi również do wzrostu odsetka komórek pamięci (komórki, które zetknęły się z antygenem) w puli $CD4^+$ ($CD4^+CD45RO^+$) oraz $CD8^+$ ($CD8^+CD45RO^+$) przy obniżaniu się odsetka komórek naiwnych T $CD4^+$ (komórki, które nie zetknęły się z antygenem) ($CD4^+CD45^-RA^+$) oraz $CD8^+$ ($CD8^+CD45RA^+$) (UTSUYAMA i współaut. 1992, NIJHUIJ i współaut. 1994). Limfocyty T naiwne są odpowiedzialne za produkcję interleukiny 2, cytokiny stymulującej proliferację i dojrzewanie limfocytów T, NK i komórek odporności nieswoistej a także wzmagającej funkcje limfocytów B. Komórki pamięci, choć początkowo produkują IL2, w miarę stymulacji antygenowych przedstawiają się na sekrecję interleukiny 4, cytokiny hamującej aktywność układu limfocytów T oraz NK, stymulującej zarazem produkcję przeciwciał (SALMON i współaut. 1989). Komórki pamięci charakteryzują się także intensywną produkcją interferonu γ , cytokiny stymulującej komórki T oraz komórki NK (SANDERS i współaut. 1988). Tak więc, przesunięciom w składzie subpopulacji limfocytów T

naiwnych i pamięci towarzyszy zmiana spektrum produkowanych cytokin.

Zasadniczy spadek odsetka komórek naiwnych CD4⁺ i CD8⁺ przy jednoczesnym wzroście odsetka komórek T pamięci dokonuje się mię-

dzy 20 a 30-tym rokiem życia, po czym po okresie *plateau*, powyżej 70-tego roku życia dochodzi ponownie do zaznaczenia się powyższych tendencji. (FRANCESCHI i współaut. 1995, COSSARIZZA i współaut. 1996).

LIMFOPOEZA POZAGRASICZA ZABEZPIECZA AKTYWNOŚĆ UKŁADU LIMFOCYTÓW T DO KOŃCA ŻYCIA

Dopiero niedawno zrodziła się świadomość istnienia limfopoezy pozagrasicznej. Najnowsze badania nad właściwościami ludzkich limfocytów T sugerowały istnienie populacji limfocytów T, o innych własnościach, niż klasyczne grasiczo-pochodne komórki T. Badania na zwierzętach ugruntowały ten pogląd (OHTSUKA i współaut. 1995). Komórki T pozagrasiczne nie występują po urodzeniu, zaś wzrost ich liczby obserwuje się w okresie inwolucji grasicy. Wykazują one słabszą ekspresję i mniejszą specyficzność receptorów TCR (ang. T cell receptor — struktura wiążąca antygen) aniżeli komórki T grasicze. Z tego względu zalicza się je do komórek pośrednich pomiędzy klasycznymi limfocytami T grasiczymi a komórkami NK. W odróżnieniu od komórek T pochodzenia grasiczego, charakteryzujących się zestawem antygenów powierzchniowych: CD3⁺CD4⁺ lub CD3⁺CD8⁺, większość pozagrasicznych CD3⁺ limfocytów T pozbawiona jest ekspresji powierzchniowych cząstek CD4 oraz CD8. Tylko niewielki odsetek limfocytów T pozagrasicznych posiada marker CD8. Cechą wyróżniającą pozagrasiczne limfocyty T, jest ekspresja antygenów powierzchniowych CD56 oraz CD57.

Sugeruje się, że wzrastające z wiekiem u człowieka populacje komórek T CD57⁺ (CD3⁺CD57⁺) są prawdopodobnie pochodzenia szpikowego, zaś komórki T CD3⁺CD56⁺ wywo-

dzą się z limfopoezy wątrobowej. Komórki te poprzez ich zdolność do rozpoznawania autoantygenów (antygenów na komórkach własnych gospodarza), co najprawdopodobniej wiąże się z faktem, że limfocyty T pozagrasiczne nie podlegają negatywnej selekcji, mają odgrywać znaczną rolę w odporności przeciwnowotworowej oraz przeciwwirusowej. Ich nadmierna aktywność może jednak doprowadzić do indukcji odpowiedzi autoimmunizacyjnej (skierowanej przeciw antygenom na komórkach własnych gospodarza). Stąd na przykład ilość tych komórek wzrasta u chorych po przeszczepach, wyprzedzając klasyczne grasiczo-pochodne limfocyty T (GOROCHOV i współaut. 1994) i pozostając w związku z rozwojem choroby przeszczep przeciw gospodarzowi. Wyniki badań przeprowadzonych na grupie osób w podeszłym wieku zestawione z grupą ochotników ponad 100-letnich (MCNERLAN i współaut. 1998) wykazały, że dominującą u obu grupom wiekowym, wśród komórek T, jest subpopulacja CD8⁺CD57⁺. Im lepszy stan zdrowia badanych sędziaków, tym większy odsetek i bezwzględną liczbę stanowiły komórki CD8⁺CD57⁺. Wydaje się więc, że komórki T pochodzenia pozagrasicznego, których funkcja na razie jest przedmiotem spekulacji, odgrywają ważną rolę dla zachowania zdrowia, w okresie inwolucji grasicy.

ZMIANA REAKTYWNOŚCI IMUNOLOGICZNEJ LIMFOCYTÓW T W PROCESIE STARZENIA ZAPEWNIĄ SZYBKĄ I SKUTECZNĄ ODPOWIEDŹ IMMUNOLOGICZNĄ PO POWTÓRNYM KONTAKCIE Z ANTYGENEM

Nasz układ immunologiczny odporności swojej jest przystosowany do rozwijania odpowiedzi przeciw szerokiemu repertuarowi antygenów w młodości i ograniczenia tej liczby na starość. Tak więc, w wieku podeszłym spada liczba komórek T naiwnych. Odzwierciedleniem tego w badaniach *in vitro* jest między innymi obniżenie aktywności proliferacyjnej limfocytów po stymulacji fitohemagglutyniną (PHA) i konkanawaliną A (Con A) (SONG i współaut. 1993), gdyż oba te mitogeny preferencyjnie stymulują komórki T naiwne (BYRNE i współaut. 1988). Osłabienie reaktywności limfocytów T w

odpowiedzi pierwotnej wynika także ze zmian w ekspresji receptorów odpowiedzialnych za transdukcję sygnałów. Proces starzenia wiąże się ze spadkiem ekspresji białka kostymulacyjnego CD28 na limfocytach CD8⁺ (FAGNONI i współaut. 1996). CD28 jest receptorem, zaangażowanym w proces adhezji, do ligandu — CD80 — na powierzchni komórek prezentujących antygeny. Połączenie się receptora CD28 ze swoim ligandem wzmacnia sygnał stymulujący limfocyty T w procesie prezentacji antygenu. Na powierzchni limfocytów T CD4⁺ z kolei, obniża się ekspresja antygeny CD7 (KUKEL i

współaut. 1994), związanego z aktywacją kinazy tyrozynowej, dla której głównym substratem jest cząstka CD45 (antygen leukocytarny) przenosząca sygnał aktywacji limfocytów T (LAZAROVITS i współaut. 1994). Progresywnie z wiekiem wzrasta więc liczba komórek $CD8^+CD28^-$ oraz $CD4^+CD7^-$. Obie te populacje, jako formy preaktywowane *in vivo*, charakteryzują się ograniczoną odpowiedzią na stymulację mitogenami oraz nowymi antygenami, wykazując silną odpowiedź na powtórnie podany antygen. Limfocyty $CD8^+CD28^-$ zawierające granule perforynowe oraz ziarna azurofilne są komórkami o łatwo indukowanym, dużym potencjale cytotoksycznym. Są to postacie terminalnie zróżnicowane, o skróconych telomerach (MIYUKI i współ-

aut. 1993, FAGNONI i współaut. 1996). Innym dowodem na stan podwyższonej aktywności tych komórek jest ekspresja cząstek adhezyjnych CD54, CD58, CD11a oraz CD11b. Możliwość współistnienia na komórkach $CD8^+CD28^-$ antygeny CD57 sugeruje, że omawiane komórki są identyczne z rozrastającą się z wiekiem (MERINO i współaut. 1998, MCNERLAN i współaut. 1998) populacją komórek $CD8^+CD28^-CD57^+$. Zwiększenie się puli komórek $CD4^+CD7^-$ (KUKEL i współaut. 1994), także pociąga za sobą implikacje czynnościowe. Komórki te produkując interleukinę 5 (IL5), są wzbogacone w formy pamięci i stymulują układ TH2 (REINHOLD i współaut. 1996).

ZMIANY REAKTYWNOŚCI LIMFOCYTÓW T MOGĄ WNOSIĆ RYZYKO DLA STANU ZDROWIA

Innym przykładem zaburzeń immunologicznych u ludzi, przypominającym zmiany u myszy z przeszczepami grasicy od starych osobników, jest zmiana profilu cytokin produkowanych przez komórki TH. Procesowi starzenia towarzyszy wzrost produkcji cytokin charakterystycznych dla komórek TH2 takim jak IL4, IL5, IL6, IL10 (CASTLE i współaut. 1997, FRANCESCHI i współaut. 1995) przy spadku produkcji cytokin typu TH1 — głównie IL2 (REA i współaut. 1996). Cytokiny typu TH2 stymulują limfocyty B oraz komórki odporności nieswoistej, odpowiedzialne za propagację stanu zapalnego, niezbędnego dla odpowiedzi nieswoistej, hamując jednocześnie aktywność komórek TH1 oraz cytotoksycznych komórek T $CD8^+$ i NK (SCHEID i współaut. 1994). Niekorzystne konsekwencje nadmiernej produkcji cytokin typu TH2 prowadzą do nadprodukcji przeciwciał i supresji układu typu TH1. Najbardziej znanym przykładem tego typu zaburzeń są zmiany w zakresie cytotoksycznych limfocytów T $CD8^+$. Bez względu na liczbę i odsetek komórek $CD3^+CD8^+$ obniżają się z wiekiem w związku z inwolucją grasicy. Na dodatek, osłabieniu ulega także funkcja tych komórek. Badania na myszach (BREDLEY i współaut. 1990) wykazały, że szczepienie wirusami grypy zwierząt młodych i powtórna ich rewakcyinacja tą samą szczepionką indukowała znacznie większą liczbę prekursorów cytotoxicznych limfocytów T, aniżeli u zwierząt starych, poddanych temu samemu protokołowi immunizacyjnemu. W przypadku limfocytów ludzkich stymulowanych *in vitro* autologicznymi komórkami zakażonymi wirusami grypy wykazano, że niższa odpowiedź przez komórki CTL wiązała się z nadmierną sekrecją IL4 — cytokiny typu TH2 — oraz niedoborem produkcji IFN γ

(MBAWUIKE i współaut. 1997). Stan ten można było odwrócić poprzez dodanie IL12 — cytokiny stymulującej układ TH1. Spadek potencjału komórek CTL $CD8^+$ wiąże się także z przeobrażeniem funkcji niektórych komórek $CD8^+$, które same stają się źródłem produkcji cytokiny typu TH2 na przykład IL10 (LLORENTE i współaut. 1997) i nabierają zdolności supresyjnej (CRISI i współaut. 1998). Rozrost populacji limfocytów o zdolnościach supresyjnych wydaje się być zjawiskiem protekcyjnym, które może odgrywać rolę w zapobieganiu nadmiernej, charakteryzującej proces starzenia, odpowiedzi na autoantygeny. Wydaje się jednak, że prawidłowym stanem dla zachowania zdrowia powinna być równowaga pomiędzy układami TH1 i TH2. Wskazują na to wyniki uzyskane od osób żyjących ponad 100 lat. W przypadku osób ponad 100-letnich komórki $CD4^+$ nie różnicują się na typy TH1 i TH2, pozostając w formie prekursorowej TH0. Dopiero pod wpływem stymulacji komórki TH0 mogą ulec polaryzacji w kierunku TH1 lub TH2 (PAGANELLI i współaut. 1996). Wiadać więc, że populacja ludzi najstarszych charakteryzuje się bardzo elastycznym układem komórek TH umożliwiającym dostosowywanie się do rodzaju antygeny.

Zasadniczą konsekwencją obniżenia liczby komórek T naiwnych jest upośledzenie odpowiedzi pierwotnej na antygeny (ARMITAGE i współaut. 1993). Jest więc to zjawisko niekorzystne w przypadku zetknięcia się osoby starszej po raz pierwszy z nowym antygenem. Takimi nowymi antygenami są każdego roku zmienione, w stosunku do poprzedniego sezonu, białka powierzchniowe wirusa grypy: hemagglutynina i neuraminidaza. Przebycie grypy wiąże się w populacji ludzi w wieku podeszłym ze

znacznie większą liczbą powikłań, aniżeli u osób młodszych. Stąd, zapobieganie u ludzi w wieku podeszłym rozwojowi infekcji grypowej poprzez szczepienia ochronne, jest szczególną troską gerontologów i geriatrów. Problem stosowania szczepionek u ludzi w wieku podeszłym jest jednak tak wielopłaszczyznowy, że wymaga on odrębnego opracowania.

Wzrost liczby komórek pamięci pociąga za sobą zwiększoną reaktywność limfocytów po ponownym kontakcie z antygenem. Komórki pamięci posiadają zwiększoną ekspresję cząstek adhezyjnych (SANDERS i współaut. 1988),

przylegają do śródbłonek naczyń, a więc mogą szybciej docierać do miejsc zapalnych. Jednak z drugiej strony, zwiększona pula komórek pamięci może doprowadzić do nadprodukcji cytokin. Szczególne znaczenie przypisuje się nadprodukcji IFN γ . Cytokina ta stymulując makrofagi i komórki NK (FREY i współaut. 1987) wzmacnia ich efekt cytotoksyczny (KRISHNARAJ 1997), z drugiej jednak strony, poprzez możliwość indukcji ekspresji cząstek MHC klasy I oraz II na wszystkich komórkach (IJZERMANS i MARQUET 1989) może indukować reakcje autoimmunizacyjne.

ZMIANY ODPORNOŚCI HUMORALNEJ ZAPEWNIAJĄ SKUTECZNĄ ODPOWIEDŹ WTÓRNA

Istotą zmian odporności humoralnej jest osłabienie odpowiedzi pierwotnej na antygeny, przy zachowanej lub nawet podwyższonej intensywności odpowiedzi wtórnej. Wiąże się to ze spadkiem surowiczego poziomu IgM (BUCKEY i DORSEY 1970) oraz wzrostem IgG, głównie IgG1 i IgG3 oraz IgA (RADL i współaut. 1975). Wzrasta także zawartość IgA w ślinie (BUCKEY i DORSEY 1970). Obniżeniu ulega ilość wykrywalnego IgE (BARBEE i współaut. 1981) oraz surowiczego IgD (BUCKEY i DORSEY 1970). Obok spadku reaktywności na egzogenne antygeny obserwuje się odpowiedź na autoantygeny i wzrost produkcji autoprzeciwciał (FRANCESCHI i współaut. 1995) oraz przeciwciał antyidiotypowych (GOIDL i współaut. 1983). Wraz z wiekiem zmniejsza się także repertuar przeciwciał i obniża się ich powinowactwo do antygenów (RADL 1984). Przyczyną obniżenia powinowactwa immunoglobulin jest brak w limfocytach B mutacji somatycznych genów kodujących regiony zmienne immunoglobulin, co wykazano u starych myszy (MILLER 1996). Zwiększona produkcja cytokin typu TH2 sprzyja utrwalaniu wysokiej aktywności limfocytów B i wysokiej produkcji immunoglobulin. Aż do 70-tego roku życia zmianom w zakresie produkcji klas immunoglobulin nie towarzyszą odchylenia ilościowe w całkowitej puli komórek B (UTSUYAMA i współaut. 1992). Po 70-tym roku życia bezwzględna liczba limfocytów B zaczyna się obniżać (PAGNALI i współaut. 1992). Innym zjawiskiem obserwowanym w procesie starzenia jest zwiększenie się puli limfocytów B CD5⁺ (BROHEE i współaut. 1991) reagujących na endogenne antygeny (JONES i współaut. 1994), a więc zaangażowanych w produkcję naturalnych autoprzeciwciał oraz przeciwciał antyidiotypowych (ZUBLER i współaut. 1994). Wzrost liczebności komórek B CD5⁺ być może jest odpowiedzią na zachodzący u ludzi starych zwiększony rozpad komórek własnych.

Być może produkowane przez komórki B CD5⁺ przeciwciała antyidiotypowe umożliwiają inaktywację autoreaktywnych klonów, które mogą powstawać w pozagasiczym rozwoju limfocytów T. Niektórzy immunogerontolodzy postrzegają powyższe zmiany jako ryzyko rozwoju zjawisk autoimmunizacyjnych. Pogląd ten jednak obecnie wydaje się kontrowersyjny. Najczęściej cytowanymi dowodami wskazującymi na autoimmunizację u ludzi starych jest fakt wykrywania w ich surowicy autoprzeciwciał, jak również wzrost odsetka komórek B CD5⁺. Obecność autoprzeciwciał wykrywa się co prawda u znacznego odsetka (20–30%) osób w wieku podeszłym, w tym także u osób ponad 100-letnich (FRANCESCHI i współaut. 1995). Z reguły brakuje jednak uchwytnego związku pomiędzy obecnością przeciwciał a stanem zdrowia (PANDEY i współaut. 1979). Badania ostatnich lat wykazały ponadto, że mogą one także występować u w pełni zdrowych seniorów, kwalifikowanych według kryteriów SP (MARIOTTI i współaut. 1992, FRANCESCHI i współaut. 1995). Nie ma dowodów wskazujących, że autoprzeciwciała pojawiające się u ludzi starszych aktywują makrofagi, cytotoksyczne komórki K oraz dopełniacz. Zjawiska te, jak wiadomo, są elementem chorób autoimmunizacyjnych. Można natomiast spekulować, że autoprzeciwciała odgrywają podobną rolę jak u zdrowych młodych ludzi (UHLIG i współaut. 1985). Tak więc, mogłyby one funkcjonować jako opsoniny i nośniki produktów degradacji metabolicznej, czynniki amplifikujące odpowiedź immunologiczną, komponenty mechanizmu tolerancji, oraz sieci idiotypowej. Proces starzenia wiąże się z zaburzeniem funkcji enzymów regulujących procesy utleniania, co prowadzi do zwiększonej produkcji wolnych rodników (NOHL 1993) i uszkodzenia tkanek. W wyniku osłabienia odpowiedzi cytotoksycznej limfocytów T CD8⁺ proces usuwania nieprawid-

łowych i zakażonych komórek jest wydłużony u ludzi starszych, co pogłębia procesy uszkodzenia tkanek (STONE 1990). Autoprzeciwciała mogłyby być więc zaangażowane w procesach usuwania, zobojętniania produktów rozpadu ko-

mórek i tkanek, jak również w ich odnowie. W istocie, spełniają one najprawdopodobniej, funkcję ochronną, zabezpieczającą przed rozwojem reakcji autoimmunizacyjnych.

PODSUMOWANIE

Przez całe życie człowieka trwa proces modelowania odpowiedzi immunologicznej, którego ostateczną formę poznajemy u ludzi w wieku podeszłym. W procesie tym na czoło swoistych mechanizmów odpornościowych wysuwają się zjawiska związane z wtórną odpowiedzią na antygeny. Zwiększa się pula limfocytów T $CD8^+CD28^-$, $CD4^+CD7^-$, najprawdopodobniej pochodzenia pozagrasicznego, o wzmożonej gotowości do odpowiedzi przeciwwirusowej, przeciwbakteryjnej i przeciwnowotworowej. Limfocyty te, wraz ze szczególnie aktywnym układem komórek NK, kompensują zależny od wieku niedobór cytotoksycznych limfocytów T, pochodzenia grasicznego. Zwiększa się także produkcja immunoglobulin, charakterystycznych dla wtórnej odpowiedzi immunologicznej, zapewniając efektywną odporność przeciwbakteryjną. Pobudzenie układu odporności nieswoistej, ze wzmożoną gotowością generowania stanu zapalnego — może przejmować rolę osłabionej w procesie starzenia, swoistej odpowiedzi pierwotnej. Zmniejszenie się puli grasicznych limfo-

cytów T $CD8^+$, zaopatrzonych w bogaty repertuar specyficznych receptorów antygenowych, jest prawdopodobnie mechanizmem zabezpieczającym przed rozwojem reakcji autoimmunizacyjnych o charakterze autodestrukcyjnym. Podobnie można tłumaczyć zmniejszenie się powinowactwa do antygeny wśród immunoglobulin produkowanych u ludzi w wieku podeszłym. Z drugiej strony, układ immunologiczny seniora jest zorientowany na odpowiedź przeciw autoantygenom, w której biorą udział komórki o ograniczonym repertuarze receptorowym — zarówno pozagrasiczne limfocyty T oraz limfocyty B $CD5^+$, produkujące autoprzeciwciała. Odpowiedź ta, związana z rozpoznawaniem tylko pewnych wspólnych antygenów, ma prowadzić do niwelowania skutków wzrastającego z wiekiem uszkodzenia tkanek i narządów. O tym, że taka konstrukcja odpowiedzi immunologicznej jest fizjologiczna i efektywna, świadczy możliwość przeżycia w dobrym zdrowiu, bez objawów niedoboru immunologicznego, nawet powyżej 100 lat.

AGE-RELATED CHANGES OF THE IMMUNE RESPONSE

Summary

In people undergoing successful ageing a high efficiency of the immune response may be maintained until the end of life. The age-related remodelling of the immune system is associated with an enhanced specific secondary immune response of T and B lymphocytes towards a wide spectrum of pathogens. A specific immune response is reinforced by high activity of the non-specific immune mechanisms — for example in the NK cells. The decline of the lymphopoietic function of the thymus is being replaced by the extrathymic lymphopoiesis. The decrease of the participation in the immune response of cells with the high

affinity specific receptors — like $CD8^+$ or B lymphocytes, producing high affinity antibodies — is probably a mechanism protecting from the development of the autoimmune and autodestructive reactions. On the other hand, the increased activity of the non-destructive autoimmune responses, basing on the limited repertoire of the receptors of T and B cells, may assure the removal of the cells changed with age. The balance between the immune response to exogenous and endogenous antigens does ensure healthy ageing.

LITERATURA

- ARMITAGE K. B., DUFFY E. G., INCEK M. A. i współaut. 1993. *Transient normalization of lymphocyte blastogenic and specific antibody responses following boosting of healthy elderly subjects with tetanus toxoid*. J. Gerontol. 48, M19–M25.
- BARBEE R. A., HALONEN M., LEBOVITZ M., 1981. *Distribution of IgE in a community population sample: correlations with age, sex and allergen skin reactivity*. J. Allergy Clin. Immunol. 68, 106–111.
- BELMIN J., BERNARD C., CORMAN B., MERVALL R., Esposito B., TEDGUI A., 1995. *Increased production of Tumor Necrosis Factor and Interleukin-6 by arterial wall of aged rats*. Am. J. Physiol. 268, H 2288–2293.
- BREDLEY S. B., TALLMAN E., JOHNSON M. P., PARKER A. S., 1990. *Enhancement of anti-influenza cytotoxic T-lymphocyte activity in senescent mice by vaccination early in life*. Mech. Ageing Dev. 55, 1–7.
- BROHÉE D., VANHAEBEKE M., KENNES B., NEVE P., 1991. *Changing pattern of $CD5^+ CD20^+$ double positive lymphocytes with ageing and cytotoxic chemotherapy*. Mech. Ageing Dev. 58, 127–138.

- BUCKEY C. E., III, DORSEY F. C., 1970. *The effect of aging on human serum immunoglobulin concentrations*. J. Immunol. 105, 964-972.
- BYRNE J. A., BUTLER J. L., COOPER M. D., 1988. *Differential activation requirements for virgin and memory T cells*. J. Immunol. 141, 3249-3257.
- CANDORE G., DI LORENZO G., MELLUSO M. i współaut. 1993. *-interferon, interleukin-4 and interleukin-6 in vitro production in old subjects*. Autoimmunity 16, 275-280.
- CASTLE S., UYEMURA K., WONG W., MODLIN R., EFFROS R., 1997. *Evidence of enhanced type 2 immune response and impaired upregulation of a type 1 response in frail elderly nursing home residents*. Mech. Ageing Dev. 94, 7-16.
- CLARK J. A., PETERSON T. C., 1994. *Cytokine production and aging: overproduction of IL-8 in elderly males in response to lipopolysaccharide*. Mech. Ageing Dev. 77, 127-139.
- COSSARIZZA A., ORTOLANI C., PAGANELLI R., 1996. *CD45 isoforms expression on CD4+ and CD8+ T cells throughout life, from newborns to centenarians: implications for T cell memory*. Mech. Ageing Dev. 86, 173-195.
- CRISI G. M., CHEN I. Z., HUANG C., THORBECKE G. J., 1998. *Age-related loss of immunoregulatory function in peripheral blood CD8 T cells*. Mech. Ageing Dev. 103, 235-254.
- DAGENAIS P., THIVIERGE M., PARENT J. L., STANKOV J., ROLAPLESZYŃSKI M., 1997. *Augmented expression of platelet-activating factor receptor gene by TNF- α through transcriptional activation in human monocytes*. J. Leukocyte Biol. 61, 106-112.
- DUITS A. J., DIMJATI W., VAN DE WINKEL J. G., CAPEL P. J., 1992. *Synergism of interleukin 6 and 1- α -25-dihydroxyvitamin D3 in induction of myeloid differentiation of human leukemic cell lines*. J. Leukoc. Biol. 51, 237-243.
- EMEIS J. J., BROUWER A., BARELDS J., HORAN M. A., DURHAM S. K., KOOISTRA T., 1992. *On the fibrinolytic system in aged rats, and its reactivity to endotoxin and cytokines*. Thrombosis and Haemostasis 67, 697-701.
- FAGNONI F. F., VESCOVINI R., MAZZOLA M., BOLOGNA G., NIGRO E., LAVAGETTO G., FRANCESCHI C., PASSERI M., SANSONI P., 1996. *Expansion of cytotoxic CD8+CD28 - T cells in healthy ageing people, including centenarians*. Immunology 88, 501-507.
- FRANCESCHI C., MONTINI D., SANSONI P., COSSARIZZA A., 1995. *The immunology of exceptional individuals: the lesson of centenarians*. Immunol. Today 16, 12-16.
- FREIFELD V., KAPLANSKI J., KUKULANSKY T., GLOBERSON A., 1995. *Increased prostaglandin E2 production by Concanavalin A stimulated splenocytes of old mice*. Gerontology 41, 129-133.
- FREY J. R., KAMBER M., PECK R., 1987. *Recombinant interferons or interleukin-2 increase cytotoxicity by human monocytes and NK cells*. Lymphokine Res. 6, 215-227.
- FULOP T. JR., FOUQUET C., ALLAIRE P., PERRIN N., i współaut. 1997. *Changes in apoptosis of human polymorphonuclear granulocytes with aging*. Mech. Ageing Dev. 96, 15-34.
- GOIDL E. A., CHOY J. W., GIBBONS J. J., 1983. *Production of auto-anti-idiotypic antibodies during normal immune response. VII Analysis of the cellular basis for the increased auto-anti-idiotypic antibody production by aged mice*. J. Exp. Med. 157, 1635-1645.
- GOROCHOW G., DEBRE P., LEBLOND V., SADAT-SOWTI B., SIGAUX F., AUTRAN., 1994. *Oligoclonal expansion of CD8⁺ CD57⁺ cells with restricted T-cell receptor chain variability after bone marrow transplantation*. Blood 83, 587-595.
- GRAEVE L., BAUMANN M., HEINRICH P. C. M., 1993. *Interleukin-6 in autoimmune disease. Role of IL-6 in physiology and pathology of the immune defense*. Clin. Investig. 71, 664-671.
- HABOUBI N. Y., MONTGOMERY R. D., 1992. *Small-bowel bacterial overgrowth in elderly people: clinical significance and response to treatment*. Age Ageing 21, 13-19.
- HAGER K., MACHEIN U., KRIEGER S., PLATT D., SEEFRIED G., BAUER J., 1994. *Interleukin-6 and selected plasma proteins in healthy persons of different ages*. Neurobiol. Aging 15, 771-772.
- HIROKAWA K., SATO K., MAKINODAN T., 1982. *Influence of age of thymic grafts on the differentiation of T cells in nude mice*. Clin. Immunol. Immunopathol. 24, 251-262.
- HIROKAWA K., UTSUYAMA M., KASAI M., 1990. *Role of the thymus in aging of the immune system*. [W:] Biomedical Advances in Aging. GOLDSTEIN A. L. (red.) New York. Plenum Press, str. 375-384.
- HIROKAWA K., UTSUYAMA M., KASAI M., KURASHIMA C., 1992. *Aging and immunity*. Acta Pathol. Jap. 42, 537-548.
- IJZERMANS J. N. M., MARQUET R. L., 1989. *Interferon-gamma. A review*. Immunobiol. 179, 456-473.
- JONES B. M., LAU C. S., WONG R. W. S., 1994. *CD5-positive and CD5-negative plaque forming cells against poly-L-lysine-treated sheep erythrocytes in patients with systemic lupus erythematosus*. Autoimmunity 18, 189-194.
- KAWANO M., HIRANO T., MATSUDA T., i współaut. 1988. *Auto-crine generation and requirement of BSF-2/IL6 for human multiple myelomas*. Nature 332, 83-85.
- KAY M. M. B. 1980. *Immunological aspects of aging*. [W:] Aging, Immunity, and Arthritic Disease. Vol. 11. KAY M. M. B., GALPIN J., MAKINODAN T. (red.), Raven Press.
- KIZAKI T., OOKAWARA T., OH-ISHI S. i współaut. 1998. *An increase in basal glucocorticoid concentration with age induces suppressor macrophages with high-density Fc gamma RII/III*. Immunology 93, 409-413.
- KUHWEIDE R., J. VAN DAMME J., LORRE K., BAROJA M. L., TSUDON M., CEUPPENS J. L., 1990. *Accessory cell-derived helper signals in human T-cell activation with phytohemagglutinin: induction of interleukin 2, responsiveness by interleukin 6 and production of interleukin 2 by interleukin 1*. Cytokine 2, 45-54.
- KUKEL S., REINHOLD U., OLTERMENN I., KREYSLER W. H., 1994. *Progressive increase of CD7 T cells in human blood lymphocytes with ageing*. Clin. Exp. Immunol. 98, 163-168.
- KRISHNARAJ R., 1997. *Senescence and cytokines modulate the NK cell expression*. Mech. Ageing Dev. 96, 89-101.
- LAZAROVITS A. I., OSMAN N., LE FEUVRE C. E., LEY S. C., CRUMPTON M. J., 1994. *CD7 is associated with CD3 and CD45 on human T cells*. J. Immunol. 153, 3956-3966.
- LE J., VILCEK J., 1989. *Interleukin 6. A multifunctional cytokine regulation in immune reactions and the acute phase protein response*. Lab. Invest. 61, 588-600.
- LIGHTHART G. J., CORBERAND J. X., FOURNIER C. i współaut. 1984. *Admission criteria for immunogerontological studies in man: the SENIEUR PROTOCOL*. Mech. Ageing Dev. 28, 47-55.
- LLORENTE L., RICHARD-PATIN Y., ALVARADO C., VIDALLER A., JAKEZ-OCAMPO J., 1997. *Autoantibody production in healthy elderly people is not promoted by Interleukin 10 although this cytokine is expressed in them by a peculiar CD8+CD3+ large granular cell subpopulation*. Scand. J. Immunol. 45, 401-407.
- MARIE P. J., HOLT M., LAUNAY J. M. i współaut. 1993. *In vitro production of cytokines by bone surface-derived osteoblastic cells in normal and osteoporotic postmenopausal women: relationship with cell proliferation*. J. Clin. Endocr. Met. 77, 824-830.
- MARIOTTI S., SANSONI P., BARBESINO G. i współaut. 1992. *Thyroid and other organ-specific autoantibodies in healthy centenarians*. Lancet. 239, 1506-1508.
- MBAWUIKE I. N., ACUNA C. L., WALZ K. C., ATMAR R. L., GREENBERG S. B., COUCH R. B., 1997. *Cytokines and impaired Cd8+ CTL activity among elderly persons and the enhancing effect of IL12*. Mech. Ageing Dev. 94, 25-39.
- MCMERLAN S. E., REA I. M., ALEXANDER H. D., MORRIS T. C. M., 1998. *Changes in natural killer cells, the CD57CD8*

- subset, and related cytokines in healthy aging. *J. Clin. Immunol.* 18, 31–38.
- MERINO J., MARTINEZ-GONZALES M. A., RUBIO M., INOGES S., SANCHEZ-IBARROLA A., SUBIRA M. L., 1998. Progressive decrease of CD8^{high} CD28+CD57-cells with ageing. *Clin. Exp. Immunol.* 112, 48–51.
- MEYER K. C., ROSENTHAL N. S., SOERGER P., PETERSON K., 1998. Neutrophils and low grade inflammation in the seemingly normal aging human lung. *Mech. Ageing Dev.* 104, 169–181.
- MILLER R. A., 1996. *The aging immune system: Primer and prospectus.* Science 273, 70–74.
- MIYUKI A., PHILLIPS J. H., LANIER L. L., 1993. CD28- T lymphocytes. Antigenic and functional properties. *J. Immunol.* 150, 1147–1159.
- MORINAGA Y., SUZUKI H., TAKATSUKI F., AKIYAMA Y., TANIYAMA T., MATSUSHIMA K., ONOZAKI K., 1989. Contribution of IL-6 to the antiproliferative effect of IL-1 and Tumor necrosis factor on tumor cell lines. *J. Immunol.* 143, 3538–3542.
- MUKAIDA N., MAHE Y., MATSUSHIMA K., 1990. Cooperative interaction of nuclear factor kappa B and cis-regulator enhancer binding protein-like factor binding elements in activity the interleukin 8 gene by proinflammatory cytokines. *J. Biol. Chem.* 265, 2128–2133.
- MYŚLIWSKA J., BRYL E., CHODNIK T. i współaut. 1992. Level of NK cytotoxic activity in the elderly aged more than 80 years. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 15, 21–28.
- MYŚLIWSKA J., BRYL E., ZORENA K., FOERSTER J., MYŚLIWSKI A., 1997. Overactivity of TNF α but not IL6 is associated with low NK cytotoxic activity in the elderly. *Gerontology* 43, 158–167.
- MYŚLIWSKA J., BRYL E., FOERSTER J., MYŚLIWSKI A., 1998. Increase of Interleukin 6 and decrease of Interleukin 2 production during the ageing process are influenced by the health status. *Mech. Ageing Dev.* 100, 313–328.
- MYŚLIWSKA J., BRYL E., FOERSTER J., MYŚLIWSKI A., 1999. The upregulation of TNF α production is not a generalised phenomenon in the elderly between their sixth and seventh decades of life. *Mech. Ageing Dev.* (w druku).
- NAGEL J. E., ADLER W. H., 1988. *Humoral Aging Research. [W:] Concepts and Techniques.* Butler R. Raven Press, str. 299–309.
- NATSUKA S., AKIRA S., NISHIO Y., HASHIMOTO S., SUGITA T., ISSHIKI H., KISHIMOTO T., 1992. Macrophage differentiation-specific expression of NF-IL6, a transcription factor for IL6. *BLOOD* 79, 460–466.
- NIJHUIE W. P., REMARQUE E. J., HINLOOPEN B., Van den POUW KRAAN T. i współaut. 1994. Age-related increase in the fraction CD27-CD45 T cell differentiation in vitro. *Clin. Exp. Immunol.* 96, 528–534.
- NOHL H., 1993. Involvement of free radicals in ageing : a consequence or cause of senescence. *Br. Med. Bull.* 49, 653–657.
- OGATA K., YOKOSE N., TAMURA H., AN E., NAKAMURA K., DAN K., NOMURA T., 1997. *Clin. Exp. Immunopathol.*, 84, 269–275.
- OHTSUKA K., SATO K., WATANABE H., KIMURA M., ASAKURA H., ABO T., 1995. Unique order of the lymphocyte subset induction in the liver and intestine of mice during *Listeria monocytogenes* infection. *Cell. Immunol.* 161, 112–124.
- PAGANELLI R., SCALA e., ROSSO R., i współaut. 1996. A shift to TH0 cytokine production by CD4+ cells in human longevity: studies on two healthy centenarians. *Eur. J. Immunol.* 26, 2030–2034.
- PAGNALI R., QUINTI I., FAGIOLO U. i współaut. 1992. Changes in circulating B cells and immunoglobulin classes and subclasses in a healthy age population. *Clin. Exp. Immunol.* 90, 351–354.
- PANDEY J. P., FUDENBERG H. H., AINSWORTH K., LOADHOLT C. B., 1979. Autoantibodies in healthy subjects of different age groups. *Mech. Ageing Dev.* 10, 399–404.
- PHAIR J. P., KAUFFMAN C. A., BJORNSSON A. i współaut. 1978. Host defenses in the aged: evaluation of components of the inflammatory and immune responses. *J. Infect. Dis.* 138, 67–73.
- PROVINCIALI M., DI STEFANO G., FABRIS N., 1995. Evaluation of lymphokine activated killer cell development in young and old healthy humans. *Nat. Immun.* 14, 134–144.
- RADL J., 1984. Differences among the three major categories of paraproteinemias in aging men and the mouse. A minireview. *Mech. Ageing Dev.* 28, 167–170.
- RADL J., SEPERS J. M., SKVARIL F. i współaut. 1975. Immunological pattern in humans over 95 years of age. *Clin. Exp. Immunol.* 22, 84–90.
- REA I. M., STEWART M., CAMPBELL P., ALEXANDER H. D., CROCKARD A. D., MORRIS TcM., 1996. Changes in lymphocyte subsets, Interleukin 2, and soluble Interleukin 2 receptor in old and very old age. *Gerontology* 42, 69–78.
- REINHOLD U., LIU L., SESTERHENN J., SCHNAUTZ S., ABKEN H., 1996. The CD7 T cell subset represents the majority of IL5-secreting cells within CD4⁺CD45RA⁺ T cells. *Clin. Exp. Immunol.* 106, 555–559.
- RIORDAN S. M., MCIVER C. J., WAKEFIELD D., DUNCOMBE V. M., BOLIN T. D., THOMAS M. C., 1996. Mucosal cytokine production in small-intestinal bacterial overgrowth. *Scand. J. Gastroenterol.* 31, 977–984.
- SALMON M., KITAS G. D., BACON P. A., 1989. Production of lymphokine mRNA by CD45R⁺ and CD45R⁻ helper T cells from human peripheral blood and by human CD45 T cell clones. *J. Immunol.* 143, 907–912.
- SANDERS M. E., MAKGOBA M. W., SHARROW S. O. i współaut. 1988. Human memory T lymphocytes express increased level of three cell adhesion molecules (LFA-3, CD2 and LFA-1) and there other molecules (UCHL1, Cdw29, and Pgp1) and have enhanced IFN production. *J. Immunol.* 140, 1401–1407.
- SANSONI P., COSSARIZZA A., BRIANTI V., FAGNONI F. I i współaut. 1993. Lymphocyte subsets and natural killer cell activity in healthy old people and centenarians. *BLOOD* 82, 2767–2773.
- SCHEID C., YOUNG R., Mc DERMOTT R. i współaut. 1994. Immune function of patients receiving recombinant human interleukin 6 (IL6) in a phase I clinical study: induction of C-reactive protein and IgE and inhibition of natural killer and lymphokine — activated killer cell activity. *Cancer Immunol. Immunother.* 38, 119–126.
- SONG L., KIM Y. H., CHOPRA R. K. i współaut. 1993. Age-related effects in T cell activation and proliferation. *Exp. Gerontol.* 28, 313–321.
- STONE O. J., 1990. Autoantibodies in ageing : an attempt to correct a weakening debility mechanism. *Med. Hypotheses* 32, 145–149.
- SUN W. H., BINKLEY N., BIDWELL D. W., ERSLER W. B., 1993. The influence of recombinant interleukin-6 on blood and immune parameters in middle-aged and old rhesus monkeys. *Lymphokine Cytokine Res.* 12, 449–455.
- TAGA T., KISHIMOTO T., 1997. Gp130 and the interleukin 6 family of cytokines. *Annu. Rev. Immunol.* 15, 797–819.
- TAKIGUCHI H., YAMAGUCHI M., OKAMURA H., ABIKO Y., 1997. Contribution of IL1- to the enhancement of campylobacter rectus lipopolysaccharide-stimulated PGE2 production in old gingival fibroblasts in vitro. *Mech. Ageing Dev.* 98, 75–90.
- UHLIG H., RUTTER G., DERNIK R., 1985. Self-reactive B lymphocytes detected in young adults, children and newborns after in vitro infection with Epstein-Barr virus. *Clin. Exp. Immunol.* 62, 75–84.
- UTSUYAMA M., HIROKAWA K., KURASHIMA C. i współaut. 1992. Differential age-change in the numbers of CD4+CD45RA⁺ and CD4+CD29⁺ T cell subsets in human peripheral blood. *Mech. Ageing Dev.* 63, 57–68.

- WOLOSKI B. M. R. N. J., SMITH E. M., MEYER W. J., FULLER G. M., BLALOCK J. E., 1985. *Corticotropin-releasing activity of monokines*. Science 230,1035.
- YONEMASU K., KITAJIMA H., TANABE S. i współaut. 1978. *Effect of age on C1q and C3 levels in human serum and their presence in colostrum*. Immunology 35, 523-530.
- ZHOU E. H., MUNSTER A., WINCHURCH R. A., 1991. *Pathologic concentration of interleukin 6 inhibit T cell response via induction of activation of TGF beta*. FASEB 5, 2582-2585.
- ZUBLER R. H., TUCCI A., RIEBEN R., MATTHES T., NYDEGGER U. E., 1994. *Quantification of autoreactive lymphocytes in health and disease*. Autoimmunity: Physiology and Disease. Wiley-Liss, Inc., str. 173-190.