Curs 4. 25.05.18

 Rolul microbiotei in raspunsul inflamator si imun in procesul de imbatranire.

 Dr. Didi Surcel

Microorganismele comensale colonizează suprafețele de barieră ale tuturor organismelor multicelulare, inclusiv cele ale oamenilor De mai bine de 500 de milioane de ani, microorganismele comensale și gazdele lor s-au adaptat reciproc. Organismele multicelulare exista ca si meta-organisme, compuse dintr-o componenta macoscopica, gazda, si componenta simbiotica,respectiv microbiota comensala . Aceasta cuprinde peste 100 trilioane de celule, cu gene ce depasesc de 10 ori genomul gazdei , iar Mi include bacterii , fungi, virusi, paraziti, si alte specii eucariote . Microbiota (Mi) joaca un rol fundamental in inducerea,formarea/instruirea si functia sistemului imun al gazdei. Sistemul imun avand o evolutie indelungata poate mentine o relatie simbiotica a gazdei cu populatia extrem de numeroasa si heterogena a microbiotei . Ca urmare, microbiota comensală interfereaza multe funcții imune și nonimune ale gazdei lor, dar de fapt două dintre ele cuprind un meta-organism. Microbiota comensală comunică cu gazda prin intermediul unor molecule biologic active. Recent, sa raportat că dezechilibrul microbiotei poate juca un rol critic în dezvoltarea mai multor boli, cum ar fi cancerul, afecțiunile autoimune și sensibilitatea sporită la infecție. Rolului microbiotei commensale în dezvoltarea, progresia și evaziunea imună a cancerului, precum și asupra unor tratamente vizand cancerul este tot mai des mentionat in lucrari de profil. În special, mecanismele cu rol reglator , mediate de microbiota , ce include atat răspunsul imun innascut cat si c raspunsul imun adaptativ in cazurile cu patologie tumorala .Colecția diversă de microorganisme care trăiesc în tractul gastrointestinal, cunoscuta ca microbiota intestinală, influențează profund multe aspecte ale fiziologiei gazdei, inclusiv de metabolismul nutrienților, rezistența la infecții și dezvoltarea sistemului imunitar. Studiile care investighează axa intestin – creier, demonstrează un rol critic pentru microbiota intestinală în orchestrarea dezvoltării și comportamentului creierului, iar sistemul imunitar detiner un rol reglator important al acestor interacțiuni. Mijloacele reglatorii intestinale modulează maturarea și funcția celulelor imune rezidente in țesutul în sistemului nervos central.
Microbiota influențează de asemenea activarea celulelor imune periferice, care la randul lor reglează răspunsurile la procese de neuroinflamare, leziuni cerebrale, autoimunitate și neurogeneza. În consecință, atât microbiota intestinală cât și sistemul imun sunt implicate în etiopatogeneza sau manifestarea bolilor psihiatrice și neurodegenerative, cum ar fi autismul, depresia și boala Alzheimer. În această revizuire, discutăm despre rolul căilor sistemului imunitar rezident și periferic al sistemului nervos central în comunicarea microfibro-intestinală în atarea de sănătate și in timpul bolilor neurologice. Pe măsură ce îmbătrânim, sistemul imunitar înnăscut devine mai putin eficient și se caracterizează prin răspunsuri inflamatorii persistente care implică diverse tipuri de celule imunitare și non-imunitare și care variază în funcție de starea activării celulelor și contextul țesutului. Această inflamație bazală asociată îmbătrânirii, în special la oameni, se presupune că este indusă de mai mulți factori, incluzând reactivarea infecțiilor virale latente și eliberarea liganzilor endogeni legați de leziuni ale receptorilor de recunoaștere a patternului (PRR).Pe măsură ce îmbătrânim, sistemul imunitar înnăscut devine mai putin eficient și se caracterizează prin răspunsuri inflamatorii persistente care implică diverse tipuri de celule imunitare și non-imunitare și care variază în funcție de starea activării celulelor și contextul țesutului. Această inflamație bazală asociată îmbătrânirii, în special la oameni, se presupune că este indusă de mai mulți factori, incluzând reactivarea infecțiilor virale latente și eliberarea liganzilor endogeni legați de leziuni ale receptorilor de recunoaștere a patternului (PRR).
Funcțiile de novo ale celulelor imune care sunt necesare pentru a răspunde la agenții patogeni cum ar fi migrația celulară și semnalizarea PRR, sunt, de asemenea, afectate la persoanele în vârstă. Această disfunctie imună poate fi raspunzatoare de afecțiunile asociate cu inflamația cronică, cum ar fi ateroscleroza , cancerul, procesele degenerative. Răspunsurile imune la agenții patogeni la care nu au fost expuși anterior sunt, în general, mai puțin eficiente . În cazul celulelor T, procesul "intrinsec" al fiziologiei timice, care începe înainte de pubertate, contribuie în continuare la reducerea producției de celule T naive. Ca și populațiile de celule T de memorie, celulele imune innate pot fi crescute în număr, dar se poate vedea scăderea eficacității acestor celule. În plus față de interacțiunile cu agenții patogeni, microbiota , nutriția gazei, exercițiile fizice, stresul și mulți alți factori extrinseci sunt modulatori cruciali ai acestui proces "imunosenescență .Trebiue cunoscute diferențele imune observate între tineri și persoane mai în varsta pentru a intelege posibilele impacturi ale variațiilor comportamentale ale acestora.

În cele din urmă, ființele umane pot fi considerate "metaorganisme" ca urmare a unei relații simbiotice apropiate cu microbiota intestinală și, de asemenea, microbiota sistemică, cum ar fi virusurile persistente. Această ipoteză impune o viziune și mai cuprinzătoare a procesului de îmbătrânire, în care trebuie luată în considerare si dinamica interacțiunii dintre mediu, microbiota intestinală și toate procesele fiziologice ale gazdei. Procesul de îmbătrânire reflectă în mare parte consecințele biologice ale daunelor nereparate în timp și are loc un fenotip complex asociat cu schimbări progresive în multe sisteme fiziologice esențiale. Îmbătrânirea influențează întreaga fiziologie a organismului, influențând funcțiile la nivelul levurilor moleculare, celulare și sistemice și crescând sensibilitatea la multe boli cronice majore. Multe boli legate de vârstă au etiologia multifactorială și îmbătrânirea este ipoteză pentru a modifica interacțiunile extrem de coordonate la nivel sistemic, ducând la pierderea homeostaziei și la capacitatea redusă de a răspunde la provocările extrinseci și intrinsece, rezultând în senescență. Din acest motiv, o explicație cuprinzătoare la intrebarea de ce îmbătrânim necesită o înțelegere profunda a evenimentelor la diferite niveluri ale acestui declin. O complexitate suplimentară este introdusă în special în studiile asupra oamenilor, datorită diversității mari a indivizilor, care rezultă din interacțiunea dinamică a geneticii, mediului, stilului de viață, alimentației și altor factori (inclusiv cei care încă nu au fost identificați). Un exemplu evident se referă la diferențele dintre sexul masculin și cel feminin, care influențează durata vieții pentru motive care rămân neclar.
Diferențe specifice genului în modelele de secreție a hormonului sexual și modificările lor pe parcursul vieții sunt în mod clar candidați implicați intim în controlul îmbătrânirii,dar contribuțiile lor exacte la longevitate la om nu sunt bine stabilite. Influența modulativă și reciprocă a hormonilor sexuali asupra răspunsurilor fiziologice majore la factorii de stres din mediu și celular și la afectarea oxidantă poate juca un rol în longevitate.
Factorii suplimentari care se propun a avea o influență în acest context includ diferențele legate de telomeri și telomerază, precum și modificările ADN-ului mitocondrial. Acumularea de dovezi arată că funcțiile imune se schimbă odată cu îmbătrânirea si în mod independent de creșterea stresului. Stresul cronic dereglează si mai multe componente ale imunității innascute și adaptive, ceea ce duce la îmbătrânirea prematură a sistemului imun. În același timp, este posibil ca sistemul imun să influențeze rata îmbătrânirii organismului. În concordanță cu rolul central al sistemului imun, mai multe strategii de stil de viață sunt recomandate, cum ar fi : o dietă adecvată, exerciții fizice și psihice . Aceste proceduri duc la imbunatatirea functiilor imune, scaderea stresului oxidativ, si un potential de longevitate individuale in crestere.

**Modificări legate de vârstă în sistemul imun** Modificările fiziologice legate de vârstă pot fi exemplificate foarte bine în sistemul imun, care este remodelat în mod continuu pe parcursul vieții. Cea mai importantă sarcină a sistemului imun este de a apăra integritatea organismului împotriva agenților patogeni externi sau factori interni modificați și pentru a facilita menținerea unui beneficiu in raport cu microbiota.
Diferite mecanisme imune atât ale reactiilor imune înnăscute cât și cele adaptative ale sistemului imunitar,implica numeroase populații de celule disponibile pentru a răspunde acestor provocări a integritățiitesutului agresat. Recent s-a demonstrat că celulele imune înnăscute pot demonstra caracteristicile celulelor cu memorie în anumite condiții și acelasi lucru s-a notat si pentru celulele ce au raspuns imun adaptativ. pot exprima receptorii caracteristici sunt prezente în număr crescut mai tîrziu în viață, odata cu apariția schimbărilor potențiale senescente legate de vârstă. Schimbările în sistemul imunitar care însoțesc îmbătrânirea umană sunt foarte complexe și sunt denumite, în general, ca nerezidenți imunogeni.
 Îmbătrânirea nu duce neapărat la deteriorări inevitabile ale funcțiilor imunitare, dar afectează întotdeauna modularea lor. Întrucât multe aspecte ale funcției imunitare scad odată cu îmbătrânirea, unele dintre ele rămân stabile, iar unele devin hiperactive. Prin urmare, mai degrabă decât reglarea disfuncției , este mai importantă planificare pentru imunosenescență. Cu toate acestea, susceptibilitatea crescută la infecții și boli autoimune, neoplaziile, bolile metaboliene, osteoporoza și tulburările neurologice sunt într-un anumit mod probabil, cel puțin parțial, cauzate de imunosenescență. Termenul imunosenescență este acum bine stabilit în literatura științifică și include o serie de schimbări profunde, care afecteaza atat imunitatea innascuta cat s cea adaptativa. Factorii și mecanismele senescentei imune sunt multiple și includ, printre altele, defectele măduvei osoase , reflectate în modificările proporțiilor ,reducerea generării de noi celule T și defecte intrinsece în formarea, maturizarea, homeostazia și migrarea limfocitelor periferice. Fundalul genetic al persoanelor în vârstă,schimbări nete care au loc pe parcursul vieții, interacțiunea afectată a răspunsurilor imune innate și adaptive, reorganizarea continuă a repertoriului imunitar prin provocări antigenice persistente, inflamația cronică scăzută și dereglarea căilor hormonale - toți acești factori s-ar putea sinergiza, si ar fi raspunzatoare de declinul imunității observate frecvent la vârstnici. Modificările epigenetice dependente de vârstă în metilarea ADN-ului se produc în celulele sistemului imunitar.Modificările epigenetice dependente de vârstă în metilarea ADN-ului se produc în celulele sistemului imunitar, în același mod în care nivelurile globale de genomic de metilcitozină scad în alte țesuturi majore. Mai multă demetilare este cunoscută în creier, inimă, ficat, mucoasă intestinală mică, splină și, de asemenea, în limfocitele T la vârstnici.
Aceste modificări dependente de vârstă în metilarea ADN-ului pot contribui într-un fel la senescența celulelor T. Celulele sistemului imunitar innascut, cum ar fi celulele naturale ucigase, macrofagele, celulele dendritice și neutrofilele, generează un răspuns imun mai rapid, dar mai puțin fin, decât celulele sistemului imunitar adaptiv..

**Neutrofilele** reprezintă prima linie de apărare împotriva majorității tipurilor de agenți patogeni, cum ar fi bacterii, drojdii și ciuperci
Aceste celule au o durată relativ scurtă de viață. Cu toate acestea, au fost raportate o serie de deficiențe în funcția lor (cum ar fi chemotaxis, fagocitoză, producerea de radicali liberi precum și sensibilitatea la apoptoză) la persoanele în vârstă.
Expresia și funcția receptorilor de suprafață care recunosc modele moleculare asociate cu patogenul, cum ar fi receptorii de tip Toll, precum și producția de citokine și expresia altor molecule de suprafață cum ar fi antigeni MHC clasa II este, de asemenea,necesara functiei de aparare.
Astfel, deficiențele în aceste delimitări inițiale împotriva infecțiilor ar putea fi foarte importante la vârstnici.
**Monocite și macrofage** Exprimarea moleculelor MHC-II în macrofage este afectată de îmbătrânire, iar mecanismele epigenetice au fost invocate în această scădere. Capacitățile fagocitare și de ucidere a macrofagelor sunt, de asemenea, reduse cu vârsta, însoțite de producția mai mică de intermediari de oxigen reactivi cum ar fi N02 și H202 și niveluri scăzute de citokine derivate din macrofage (TNF-a și IL-1) care este modulat de mecanisme epigegene.
În plus față de acești factori intrinseci, și factorii extrinseci, cum ar fi comportamentele legate de sănătate și expunerea cronică la stres, pot accelera imunosenescența și procesul de îmbătrânire.
Celulele sistemului imunitar innascuta si impactul imbatranirii Raspunsurile imune innascute numesc inițial imunogene adaptive adaptive in joc si ambele brate actioneaza impreuna pentru a elimina patogeni.

**Celulele dendritice**(DD) joacă roluri esențiale în răspunsul imun și constituie o punte esențială între sistemele imune innascute și adaptative. Ei sunt responsabili pentru recunoașterea moleculelor asociate patogenului, pentru preluarea și tratarea agenților patogeni anti-
genelor și pentru prezentarea acestor antigene la celulele T. Ele reprezintă celule prezentatoare de antigen, fără de care nu pot avea loc răspunsuri imun adaptiv. Mai mult decât atât, modul în
care DC prezintă antigenul și costimularea celulelor T influențează tipul de răspuns al celulelor T inițiate și, astfel, calitatea și intensitatea răspunsurilor imune adaptive.
Aceasta implică faptul că funcția DC scăzută asociată vârstei conduce în mod inevitabil la activarea și proliferarea celulelor T rezidente. DC-urile par a fi afectate de îmbătrânire în ceea ce privește distribuția și capacitatea lor de migrare, în capacitatea lor de prelucrare a antigenului, precum și în exprimarea semnalului co-stimulator și producția de citokine Deși prezentarea antigenului prin DC pare a fi doar **subtilă la vârstnici,** mai puține DC se găsesc în sângele periferic și foliculii, ceea ce implică o eficiență redusă a acestei linii de apărare împotriva infecțiilor și a tumorilor

**Celulele ucigașe naturale**
Celulele ucigașe naturale (NK) sunt limfocite citotoxice care sunt implicate în apărarea timpurie, recunoscând celule tumorale infectate cu virus și virale sau nevirus modificate într-un mod nerestricționat MHC.
Această competență remarcabilă a celulelor NK le face probabil deosebit de importante pentru supravegherea imună a cancerului,lance în timpul îmbătrânirii. Studiile efectuate asupra persoanelor în vârstă sănătoase și a medicilor secundari demonstrează că numărul total al celulelor NK tinde să crească odată cu vârsta, dar funcția lor pe bază de celule scade și celulele NK au, de asemenea, o probabilitate mai mare de a avea un fenotip matur.
**Celulele NK de la vârstnici produc** de asemenea niveluri mai scăzute de citokine și chemokine (cum ar fi RANTES, MIP1 și IL-8). Astfel, creșterea excesivă a numărului de celule NK poate fi considerată ca un mecanism de compensare pentru a menține un nivel important de funcționalitate.
O deteriorare legată de vârstă în secreția de perforină, asociată cu polarizarea defectuoasă a granulelor litice față de sinapsul imunologic, a fost recent propusă a fi un motiv pentru reducerea asociată vârstei în citotoxicitatea NK producția de IL-2, IFN-c, TNF-a și IL-12 este de asemenea diminuată în el- care pot contribui, printre alți factori, la ameliorarea deficitelor asociate vârstei avansate
**Celulele T ucigașe naturale** (NKT) împărtășesc atributele celor două brațe adaptive ale sistemului imunitar. Ei sunt un subset unic și relativ rar (aproximativ 0,1%) de celule T CD3 pozitive care coexprimă TCR-urile și CD161 (NKR-P1A), suferă maturizarea în timus și / sau în locurile extratmice și joacă un rol important activitatea citologică virală și antitumorală.
S-a raportat că numărul absolut al celulelor **NKT crește odată** cu vârsta înaintată, în timp ce pentru celulele iNKT frecvența a fost găsite la persoanele în vârstă, fără modificări semnificative ale acestora fenotipuri. Sa demonstrat, de asemenea, că celulele iNKT au suferit o dublare a numărului populațiilor în comparație cu celulele de la tineri, ceea ce sugerează că au fost deja "mai în vârstă". La îmbătrânire, profilul citokinelor secretat de celulele NKT se modifică. Studiile recente indică profilul citokinic al celulelor iNKT
de la indivizi vârstnici au arătat o schimbare de la un T helper (Th) -1 la Th2

Modelul Th-2 comparativ cu celulele iNKT de la tineri
Deși celulele NKT sunt cunoscute pentru abilitatea lor de a influența funcțiile imunologice ale APC și a celulelor T, doar câteva studii au examinat rolul celulelor NKT în imunosenescență.
 **Sistemul imunitar adaptiv și imunosenescența**
Celulele sistemului imunitar adaptiv (limfocitele T și B) acționează într-o manieră foarte specifică antigenului și introduc sistemul cu memorie imunologică (precum și reglarea homeostaziei imune.) Receptorii acestor limfocite sunt generați prin recombinarea somatică a segmentelor secvențelor lor de codificare și, în acest fel, oferă un repertoriu extrem de divers de specificități ale receptorilor capabile să recunoască componentele în esență a tuturor agenților patogeni potențiali.
Imunitatea adaptivă cuprinde o celulă NK infectată sau modificată cu celule ARL AR Perforin Granzyme IFN-γ NF-γ IL-2 Creșterea compensatorie a numărului de celule Reducerea citotoxicității per-celulă Reducerea transducției semnalului Răspuns redus la citokine Producția de citokine și productia de chemokine Numerele de celule NKT Reducerea numărului de pacienti care necesită iNKT Reducerea populatiei dublate în iNKT Productia de citokine depreciată Schimbarea în profilul citokinelor:

**Dezvoltarea limfocitelor si impactul îmbătrânirii**
Dezvoltarea limfocitelor apare în mediile specializate ale măduvei osoase si ale timusului. Precursorii limfoizi ai celulelor T si B provin de la celule stem hematopoietice pluripotente din măduva osoasă.
Compartimentul celulei stem hematopoietice (HSC), care este sursa alimentării continue a sângelui si a sistemului imunitar pe tot parcursul vietii.
Matricea stromală a măduvei osoase îmbătrânite, care în mod normal stimulează si conduce productia de celule stem, prezintă, de asemenea, schimbări structurale în ceea ce priveste numărul de celule stromale si scăderea productiei de IL-7. Compartimentul hematopoietic al măduvei se schimbă odată cu vârsta si se compune din tesut adipos gras.
Modificările legate de vârstă în cadrul compartimentului HSC pot fi partial dependente de îmbătrânirea celulară "intrinsecă" a HSC-urilor. Acumularea ADN-ului, uzura telomerilor si dereglementarea epigenetică, combinată cu o crestere a speciilor de oxigen reactiv intracelulare, caracterizează HSCs în vârstă .
Aceste evenimente de instabilitate genomică pot, de asemenea, să conducă la transformarea malignă a HSC si la tulburările de yeloproliferare. Relatia de vârstă a scăzut cu o eficientă scăzută si o miscare mieloidă a potentialului de diferentiere se datorează schimbărilor în compozitia celulară a compartimentului HSC. Piscul de celule stem hematopoietice contine un amestec heterogen de HSCs, iar îmbătrânirea este asociată cu o schimbare marcată a proportiilor acestor subseturi HSC. Astfel de schimbări în linia limfoidă si mieloidă sunt considerate de unii anchetatori ca fiind esentiale pentru declinul competentei imunitare si predispozitiei la bolile mieloproliferative la vârstnici
**Involuta timica**
O altă caracteristică majoră care contribuie la imunosenescentă este involutia timică. În timpul acestui proces o reducere progresivă a dimensiunilor timusului în functie de vârstă are loc prin înlocuirea tesutului limfoid cu tesutul gras si prin reducerea ariilor active ale timofezei (involutia timusului este asociată cu o eficientă redusă a dezvoltării celulelor T si cu migrarea redusă a celulelor T naive în periferii

**Modificări legate de vârstă ale celulelor T**
Celulele T CD4 + circulante actionează în majoritate ca celule T helper, prin semnale de declansare a activării celulelor B pentru producerea de anticorpi. O submultime contra-echilibrată a populatiei CD4 constă în Tcells regulatori (Treg), care exercită activităti inhibitoare asupra altor celule T, supunând răspunsurilor imune excesive sau gresit ghidate. Numărul de celule T regulate periferice poate creste în timpul îmbătrânirii, precum si în conditii de stres cronic.
Procesul de îmbătrânire imună pare să reprezinte o remodelare a răspunsurilor adaptive im-mune prin reducerea progresivă a repertoriilor TCR în subseturile CD4 + si CD8 + care contribuie la repertoriul TCR oli-goclonal foarte restrictionat la periferia vârstnicilor). Acest lucru ar putea duce la o crestere dependentă de vârstă a susceptibilitătii la boli infectioase, autoimune, maligne si la scăderea eficientei vaccinării. La nivelul unei singure celule, celulele T de la persoane în vârstă demonstrează o reducere a potentei functionale în comparatie cu celulele aceluiasi fenotyp de la tineri. Această reducere a functionalitătii functionale a celulelor T a fost dovedită a fi restaurată în anumite conditii prin adăugarea de IL-15 . În mod normal, după reînchirierea lor de la timus, celulele T naive pot fi activate prin legarea TCR-ului lor la complexul peptidic MHC corespunzător prezentat de PC-uri, cum ar fi celulele dendritice. Pasul initial crucial în această celulă T imunitară perturbată. Ambele gene specifice imunitătii (cum ar fi moleculele de suprafată sau citokinele IL-2 si IFN-c si genele implicate în căile generale de celulostomie, arată modificarea profilurilor de metilare a ADN în timpul îmbătrânirii). Senescenta remodelanta imunitara este un factor semnificativ care contribuie la cresterea riscului si severitătii infectiilor la vârstnici

**Inflamarea cronică scăzută** a fost identificată în mod repetat la indivizi aparent sănătosi în timpul îmbătrânirii si este caracterizată de niveluri crescute de citokine pro-inflamatorii circulante, cum ar fi TNF-a, IL1Ra, IL-6 si markeri de inflamatie, Proteina C-reactivă (CRP). Sa presupus că acest proces numit "inflamare" pare a fi un fenomen cheie asociat cu diferite boli legate de vârstă si caracteristicile lor patologice.Inflamarea pare a fi un fenomen universal care însoteste imbătrânirea,si este asociat cu fragilitate, morbiditate si mortalitate la persoanele în vârstă.

**Imunitate umorală** la un organism în vârstă este cunoscută atât ca fiind calitativ si cantitativ diferită fată de cea a tinerilor. Există o frecventă mai mică si un număr absolut de limfocite pro-B în măduva osoasă, împreună cu o reducere a capacitătii lor de a diferentia în limfocite pre-B. Sub-seturile de celule B si repertoriul de anticorpi, sunt modificate în specificitate si izotip.
Rezultatul este o scurtă durată a răspunsului umoral si reducerea capacitătii celulelor B de a stabili răspunsuri primare si secundare specifice la vârstnici. Acest proces depinde, de asemenea, de interactiunile înrudite între celulele B activate cu antigen si celulele T CD4 + în interiorul GCs. De aceea, deficitele legate de vârstă în celulele T pot modula interactiunile înrudite între celulele B si T si pot reduce astfel anticorp de aviditate. Schimbările legate de îmbătrânire în statusul epigenetic ar putea fi, de asemenea, responsabile de modificarea functiei celulelor B în rândul oamenilor, datorită modificărilor în căile de diferentiere si în reglarea si rearanjarea genelor BCR / Ig uate impreuna, se poate concluziona ca calitatea raspunsului imun humor scade odata cu varsta inaintata.