



Marcadores de inmunosenescencia y su relación con el cáncer de pulmón

Danay Saavedra Hernández ^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-6614-3819>

Beatriz García Verdecia ¹ <https://orcid.org/0000-0001-5413-7457>

Amnely González Morera ¹ <https://orcid.org/0000-0001-8253-9250>

Patricia Lorenzo-Luaces Álvarez ¹ <https://orcid.org/0000-0001-9164-0238>

Agustín Lage Dávila ¹ <https://orcid.org/0000-0001-9472-9158>

¹ Centro de Inmunología Molecular. La Habana, Cuba

*Autor para la correspondencia: danays@cim.sld.cu

Palabras clave

inmunosenescencia; células T terminalmente diferenciadas; Biomodulina T; cáncer de pulmón de células no pequeñas; CIMAvax-EGF

RESUMEN

Introducción: Los cambios en el sistema inmune relacionados con la edad se han denominado inmunosenescencia. Objetivos: investigar el efecto de la edad y el sexo en las poblaciones de linfocitos de personas sanas y de pacientes con cáncer de pulmón para evaluar el valor predictivo de los marcadores de en relación con la eficacia clínica de la vacuna terapéutica CIMAvax-EGF, así como evaluar si la administración de un factor tímico influye en la distribución de los marcadores de inmunosenescencia y las poblaciones del sistema inmunitario.

Métodos: Se estudiaron los marcadores de inmunosenescencia en personas "aparentemente sanas" de todas las edades y en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP). **Resultados:** En los sanos, los linfocitos T CD4+ y las células B disminuyeron con la edad y aumentaron las células T terminalmente diferenciadas, con diferente manifestación en los dos sexos. La intervención de ancianos con infecciones respiratorias recurrentes con el factor tímico Biomodulina T indujo la expansión de linfocitos T CD4+ vírgenes, CD4+ recientemente emigrados del timo y CD8+ de memoria con caracteres de células madre, junto a la disminución de las células T que expresan el receptor de muerte celular programada (PD1), sin modificación de la frecuencia de las células T reguladoras. La evaluación de los marcadores de inmunosenescencia en pacientes con CPCNP mostró que en los pacientes con cáncer disminuyeron los linfocitos B y el índice CD4/CD8, mientras que el empleo de quimioterapia basada en platinos incrementó los niveles de IL-6 y las células T CD28 negativas. La frecuencia de linfocitos T CD4+ por encima de 40 %, la frecuencia de células T diferenciación terminal CD8+CD28- por debajo de 24 % y la razón CD4/CD8 por encima de dos, predicen el beneficio clínico de los pacientes con cáncer de pulmón tratados con la vacuna terapéutica CIMAvax-EGF, lo que convierte a estos marcadores en potenciales predictores de la eficacia de esta vacuna. Este estudio mostró por primera vez el patrón de los marcadores de inmunosenescencia en la población cubana y sugiere que estos marcadores pueden ser modificados por la edad, el sexo, el cáncer y la quimioterapia basada en platinos.



Immunosenescence markers: relationships with lung cancer

ABSTRACT

Keywords

immunosenescence; T cells; late-stage differentiated T cells; Biomodulina T; non-small cell lung cancer; CIMAvax-EGF

Introduction: The changes that occur in the immune system with aging are commonly termed immunosenescence. Objective: To investigate the effect of age and gender on lymphocyte populations in healthy humans and patients diagnosed with lung cancer, to evaluate immunosenescence biomarkers to predict clinical efficacy of CIMAvax-EGF cancer vaccine and to evaluate whether the administration of a thymic factor influences the distribution of immunosenescence biomarkers and populations of the immune system.

Methods: an evaluation was made of immunosenescence markers in healthy people of all ages and in patients diagnosed with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Results:** In the healthy volunteers, CD4+ T lymphocytes and B cells decreased with age, while terminally differentiated T cells increased. There were different patterns of immunosenescence with respect to sex. The treatment of elderly patients diagnosed with recurrent respiratory infections with the thymic factor Biomodulina T (BT) induced the expansion of naïve CD4+ T cells, CD8+ stem cell-like memory (SCM) and CD4+ recent thymic emigrants (RTE), whereas CD4+ and CD8+ T cells expressing PD1 decreased after the treatment with BT. Moreover, BT did not increase CD4+ Tregs. The absolute count of CD19+ and the CD4/CD8 ratio were significantly lower in NSCLC patients than in age-paired controls, while IL-6 serum concentration and terminally differentiated T cells increased in NSCLC patients treated with platinum-based chemotherapy. Vaccinated patients with frequency <24 % of CD8 + CD28- T cells, >40 % of CD4 T cells and CD4/CD8 ratio higher than two at the beginning of immunotherapy achieved a 20-month increase in median survival regarding control patients. This study showed for the first time the pattern of immunosenescence markers in the Cuban population and suggests that these markers can be modified by age, sex, cancer and platinum-based chemotherapy.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos 50 años el número de individuos mayores de 65 años se ha triplicado en todo el mundo. Cuba exhibe una de las poblaciones más envejecidas de América Latina y se espera que para el año 2030 la población mayor de 60 años podría alcanzar el 30 % ^(1,2).

El envejecimiento se relaciona con cambios en ambas ramas del sistema inmune, innata y adquirida. Los cambios en el sistema inmune relacionados con la edad se han denominado inmunosenescencia. La existencia en esta etapa de la vida, de un entorno inflamatorio caracterizado por inflamación crónica de bajo grado, conocido por su nombre en inglés *inflammaging*, complementa el fenómeno de la inmunosenescencia. Los últimos veinte años de investigación han mostrado la estrecha relación entre estos fenómenos que acompañan al envejecimiento y las enfermedades relacionadas con la edad como las cardiovasculares, cerebrovasculares, degenerativas y el cáncer ⁽³⁾.

La inmunosenescencia afecta prácticamente todos los componentes del sistema inmune. Sin embargo, los cambios

más descritos corresponden con la disminución de las células T vírgenes y el incremento de las células T de memoria, terminalmente diferenciadas, caracterizadas por la pérdida de marcadores de superficie como el CD28 ^(4,5). Estos cambios son en esencia atribuidos a la involución del timo ⁽⁶⁾, a la estimulación antigénica crónica (principalmente el citomegalovirus [CMV]) ⁽⁷⁾ y la desregulación de algunas vías hormonales ^(8,9).

Al desarrollarse la mayor parte de las enfermedades neoplásicas en ancianos, resulta de alta relevancia conocer las características del sistema inmune en esta etapa de la vida y especialmente las relaciones que se establecen entre la respuesta inmune y el cáncer en el contexto del envejecimiento. La población cubana presenta la inusual combinación de larga expectativa de vida y alta carga antigénica, a la cual está sometida por encontrarse en el cinturón tropical. Por lo tanto, su estudio podría ayudar a comprender nuevos aspectos de la asociación entre enfermedades relacionadas con la edad, la inflamación crónica de bajo grado y la inmunosenescencia ⁽¹⁰⁾.

El presente trabajo describe los primeros resultados del estudio de la inmunosenescencia en Cuba. Hace referencia a

las manifestaciones de este fenómeno en una población aparentemente sana, en pacientes con cáncer de pulmón y a los resultados de su tratamiento.

MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se estudiaron 209 pacientes y personas sanas, en tres etapas experimentales (figura 1).

Inicialmente se condujo el estudio de algunos marcadores de inmunosenescencia y subpoblaciones celulares en personas sanas de todas las edades. En otro momento experimental se evaluó la modificación de los marcadores de inmunosenescencia con la administración de un factor polipeptídico tímico desarrollado en Cuba (Biomodulina T). Por último, se estudiaron algunos marcadores de inmunosenescencia y subpoblaciones celulares en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas antes y después de recibir tratamiento de primera línea con quimioterapia basada en platinos, así como la relación entre los marcadores de inmunosenescencia y la supervivencia de pacientes con CPCNP, tratados con la vacuna terapéutica CIMAvax-EGF.

En todos los casos se realizó la determinación de las subpoblaciones celulares mediante la técnica de citometría de flujo.

La detección de anticuerpos anti-citomegalovirus de clase IgG, y la determinación de la concentración sérica de IL-6, se realizaron empleando el suero de los pacientes y personas sanas, mediante un ensayo inmunoenzimático con el empleo de estuches comerciales.

Se calcularon los estadígrafos descriptivos de las variables inmunológicas y se realizaron gráficos de datos agrupados. Todos los análisis se realizaron empleando los programas estadísticos SPSS para Windows, versión 19.0 y

GraphPad Prism versión 6.0. Se compararon las variables inmunológicas utilizando prueba de Friedman cuando se compararon más de dos muestras relacionadas y la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon cuando se compararon dos muestras relacionadas. En el caso del análisis de muestras no relacionadas, se utilizaron la prueba de Kruskal-Wallis o la prueba de Mann-Whitney, según fuera pertinente. Además, se emplearon pruebas de comparación a posteriori (prueba de Dunn).

En todos los casos se trabajó para un nivel de confianza de 95 %, a valores $p < 0,05$, se consideró significación estadística.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El incremento de las células T terminalmente diferenciadas en cubanos “sanos” está influenciado por la edad y el sexo

Este estudio, realizado en cubanos aparentemente sanos de todas las edades, confirmó la alta prevalencia de anticuerpos contra CMV en Cuba y demostró el efecto de la edad y el sexo en la dinámica de las poblaciones de células T durante el envejecimiento. De este modo, aunque las poblaciones de células T terminalmente diferenciadas CD8+CD28- y CD8+CD57+ se incrementaron con la edad, este incremento fue estadísticamente significativo solamente en los hombres. Las mujeres conservaron la frecuencia de estas poblaciones prácticamente constante con el paso de los años (figura 2A, 2B). Las células T terminalmente diferenciadas CD8+CD45RA+CD28- se incrementaron con la edad solo en las mujeres, pues los hombres exhibían una alta frecuencia de esta subpoblación desde edades tempranas (figura 2D, 2E). Los linfocitos T terminalmente diferenciados CD4+CD45RA+CD28- mostraron un incremento relacionado con la edad en ambos

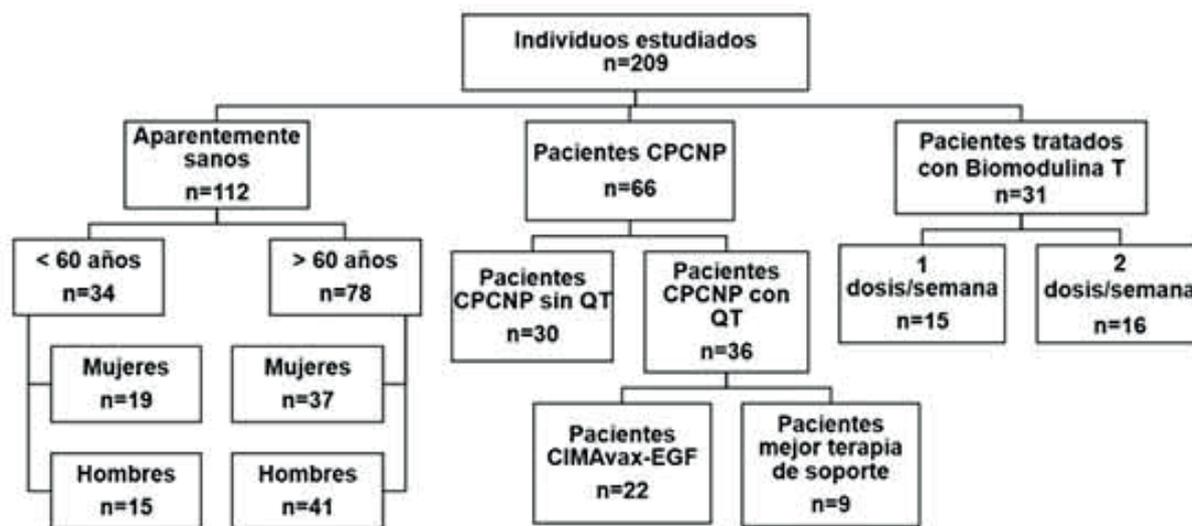


Fig. 1. Descripción de los grupos experimentales y sus participantes. **Leyenda:** CPCNP, cáncer de pulmón de células no pequeñas; QT, quimioterapia.

sexos (figura 2C, 2E), aunque los hombres exhibían altas proporciones de esta subpoblación desde la juventud ^(10,11).

Las células T de diferenciación terminal juegan un importante papel en varias enfermedades o condiciones relacionadas con la inflamación crónica, asociadas con la estimulación sostenida del sistema inmune como en el caso del cáncer, las

infecciones crónicas de curso intracelular, las enfermedades pulmonares crónicas y las enfermedades autoinmunes ⁽¹⁰⁾.

La diferencia de comportamiento entre los sexos que se manifestó en los resultados de este estudio, justifican las diferencias en la respuesta inmune entre mujeres y hombres descritas en la literatura, fundamentalmente sustenta-

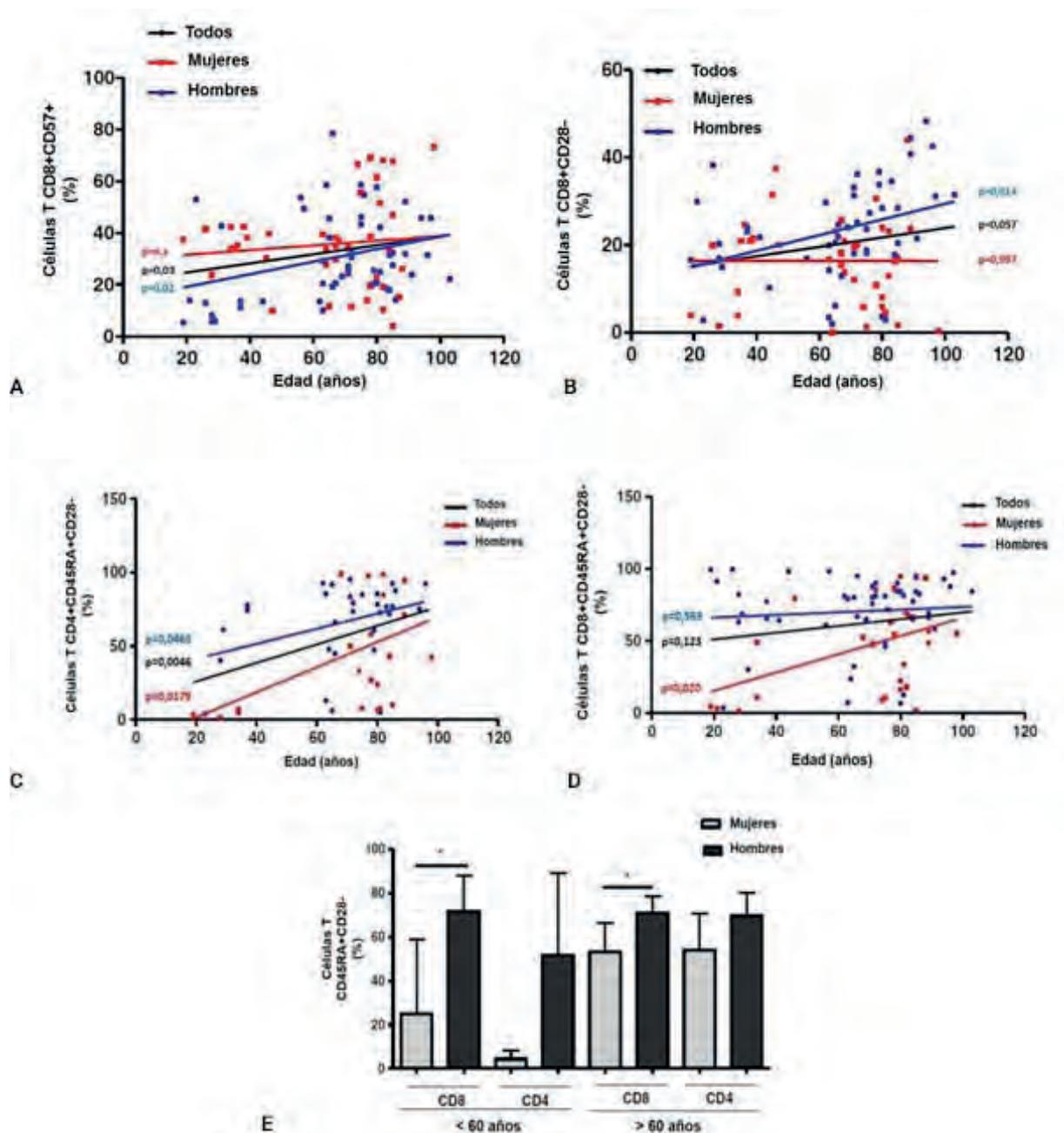


Fig. 2. Frecuencia de células T terminalmente diferenciadas en personas sanas de todas las edades. A) Regresión lineal de la frecuencia de células T CD8+CD57+ en toda la población estudiada (línea negra, $p = 0,03$), en los hombres (línea azul, $p=0,02$) y en las mujeres (línea roja). B) Regresión lineal de la frecuencia de células T CD8+CD28- en toda la población estudiada (línea negra, $p = 0,057$), en los hombres (línea azul, $p = 0,014$) y en las mujeres (línea roja, $p=0,997$). C) Regresión lineal de la frecuencia de células T CD4+CD45RA+CD28- en toda la población estudiada (línea negra, $p = 0,0046$), en los hombres (línea azul, $p = 0,0488$) y en las mujeres (línea roja, $p=0,0179$). D) Regresión lineal de la frecuencia de células T CD8+CD45RA+CD28- en toda la población estudiada (línea negra, $p = 0,123$), en los hombres (línea azul, $p = 0,569$) y en las mujeres (línea roja, $p = 0,02$). E) Frecuencia de las células CD45RA+CD28- en linfocitos T CD4+ y CD8+ según grupo de edad y sexo (mujeres (barra gris clara) y hombres (barra gris oscura)). Los asteriscos indican diferencias significativas, (*) $p < 0,05$. El gráfico C representa la media y el intervalo de confianza 95 %, prueba de Mann Whitney.

das en la existencia de diferencias genéticas y hormonales ⁽¹²⁾. El predominio de células T terminalmente diferenciadas CD45RA+CD28- en los hombres cubanos desde su juventud, podría deberse a la exposición a altas cargas antigénicas (entre otros al CMV) desde edades tempranas, unido a la disminución de la salida de linfocitos del timo, apoyado por la involución más marcada de este órgano en los hombres ⁽¹³⁾. Además, como los andrógenos se relacionan con involución del timo y con menor activación de la respuesta inmune, los hombres podrían tener un sistema inmune menos protector que el de las mujeres y podrían aparecer rasgos de inmunosenescencia desde la juventud.

La Biomodulina T restaura transitoriamente poblaciones de células T CD4+ y CD8+

Generar un microambiente tímico funcional es de suma importancia para el mantenimiento del compartimiento de

células T con adecuada diversidad de repertorio ^(14,15). El restablecimiento del microambiente tímico pudiera resultar un enfoque prometedor para evitar la disminución del número de células T vírgenes y desacelerar la acumulación de células T terminalmente diferenciadas, durante el envejecimiento. Por lo tanto, podría contribuir con la preservación o el restablecimiento de la protección inmunológica y potenciar la calidad de la respuesta inmune contra infecciones y contra el cáncer ^(15,16), lo que resultaría de una alta relevancia para la población que envejece.

La administración de la fracción polipeptídica Biomodulina T a personas entre 65 y 85 años, con historia de infecciones respiratorias recurrentes y no otra enfermedad crónica diagnosticada, indujo la expansión temporal de linfocitos T CD4+ vírgenes (figura 3A), de linfocitos T CD4+ recientemente emigrados del timo (figura 3b) y de células T CD8+ de me-

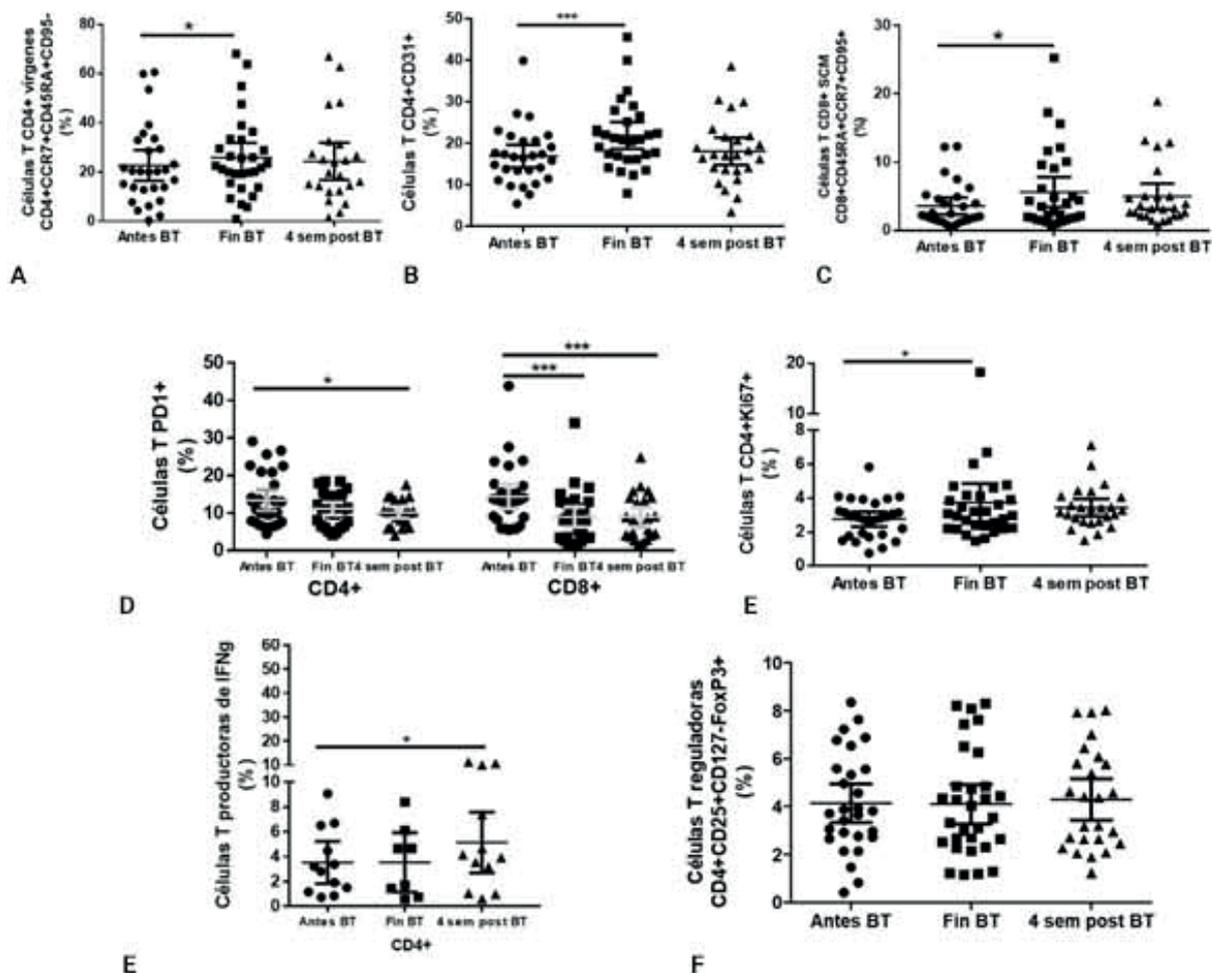


Fig. 3. Valores relativos de células T CD4+ y T CD8+ en pacientes tratados con Biomodulina T. A) Frecuencia de células T CD4+ vírgenes. B) Frecuencia de células T CD4+ recientemente emigradas del timo (RTE). C) Frecuencia de células T CD8+ de memoria con características de células madre (SCM). D) Frecuencia de células T CD4+ y T CD8+ que expresan PD1. E) Frecuencia de células T CD4+Ki67+. F) Frecuencia de células T CD4+ productoras de IFN- γ . G) Frecuencia de células T reguladoras. Se representa la media y el intervalo de confianza 95%. Los asteriscos indican diferencias significativas, (*) $p < 0,05$, prueba de Wilcoxon, prueba de Friedman, prueba de Dunn a posteriori. (Antes BT) antes del tratamiento, (Fin BT) al finalizar el tratamiento, (4 semanas post-BT) 4 semanas después de concluido el tratamiento con Biomodulina T.

moria con caracteres de células madre (figura 3C). También disminuyó la expresión de células T CD4+PD1+ y T CD8+PD1+ (figura 3D), lo que resalta el valor anti-agotamiento de este polipéptido tímico cubano. La expresión de Ki67, evaluada como marcador de proliferación celular (figura 3E), y de interferón gamma (IFN- γ) intracelular (figura 3F) fue significativamente superior después del tratamiento con Biomodulina T en las células T CD4+. Todos estos beneficios al sistema inmune, con el empleo de Biomodulina T, ocurrieron en un contexto de no modificación de las células T reguladoras (figura 3G),

por lo tanto, dada la importancia de restablecer la competencia inmunológica en pacientes con cáncer avanzado que han recibido tratamiento con terapias convencionales y que pudieran ser tributarios de inmunoterapia, podría sugerirse a la Biomodulina T como una estrategia potencial para la inmunomodulación en ancianos con cáncer (17).

La aplicación de estrategias terapéuticas para revertir los cambios del sistema inmune con la edad, debe ser cuidadosamente analizada (3,14). No obstante, como no es esperable que la evolución pueda fijar rasgos en la etapa post reproductiva,

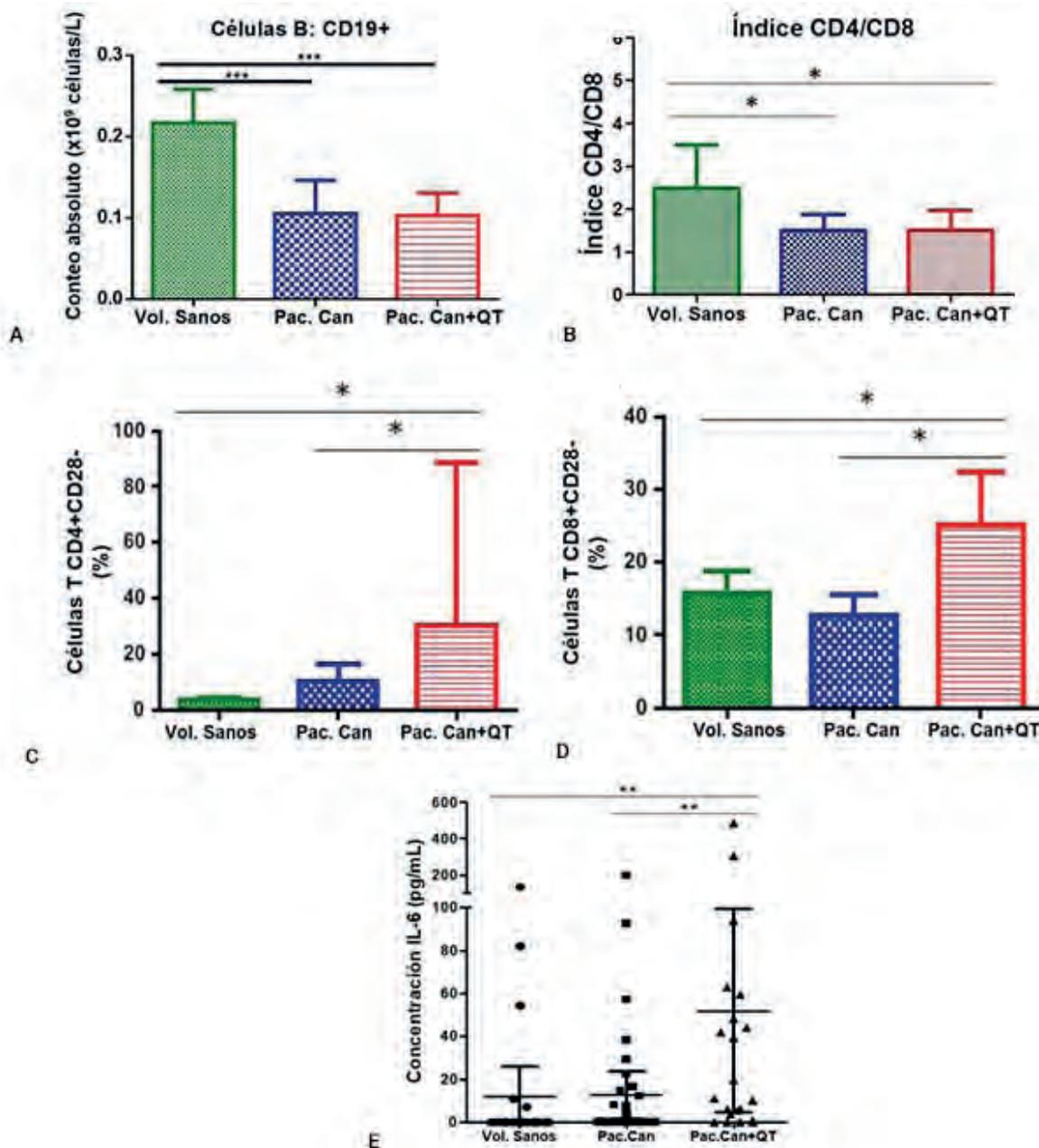


Fig. 4. Linfocitos T (CD4+ y CD8+) y células B (CD19+) en pacientes con CPCNP y personas sanas y concentración sérica de IL-6 en pacientes y personas sanas. A) Conteo absoluto de células B. B) Índice CD4/CD8. C) Frecuencia de células T CD4+CD28-. D) Frecuencia de células T CD8+CD28-. E) Concentración en suero de IL-6 en pacientes y personas sanas. Se representa la media y el intervalo de confianza 95 %. Los asteriscos indican diferencias significativas, (**) $p < 0,01$, ANOVA, prueba de Dunn a posteriori. Vol. Sanos: personas sanas; Pac.Can: pacientes con CPCNP; Pac.Can+QT: pacientes con CPCNP tratados con quimioterapia; CPCNP: cáncer de pulmón de células no pequeñas; QT: quimioterapia.

las estrategias de intervención sobre la inmunosenescencia pudieran contribuir positivamente con la restauración inmune para potenciar la respuesta contra agresores. Asimismo, pudieran preparar el escenario inmunológico para mejorar la eficacia de la inmunoterapia en pacientes con cáncer.

La quimioterapia basada en platinos induce el incremento de poblaciones T CD4+ y CD8+ terminalmente diferenciadas

La edad es el factor de riesgo más importante de la carcinogénesis (18). El elemento más importante pudiera ser simplemente el paso del tiempo que permite la acumulación de

daños por radicales libres, virus, carcinógenos u otros agentes que pueden causar mutaciones y favorecer el desarrollo de procesos oncoproliferativos (18,19). El conocimiento de la contribución de la inmunosenescencia al desarrollo y la progresión del cáncer, podría propiciar mejores intervenciones terapéuticas contra esta enfermedad en los ancianos (20).

En nuestra investigación realizada en pacientes diagnosticados con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) avanzado se demostró disminución de los linfocitos B (figura 4A) y del índice CD4/CD8 (figura 4B) en los pacientes con cáncer, vírgenes de tratamiento. Así como, incremento de

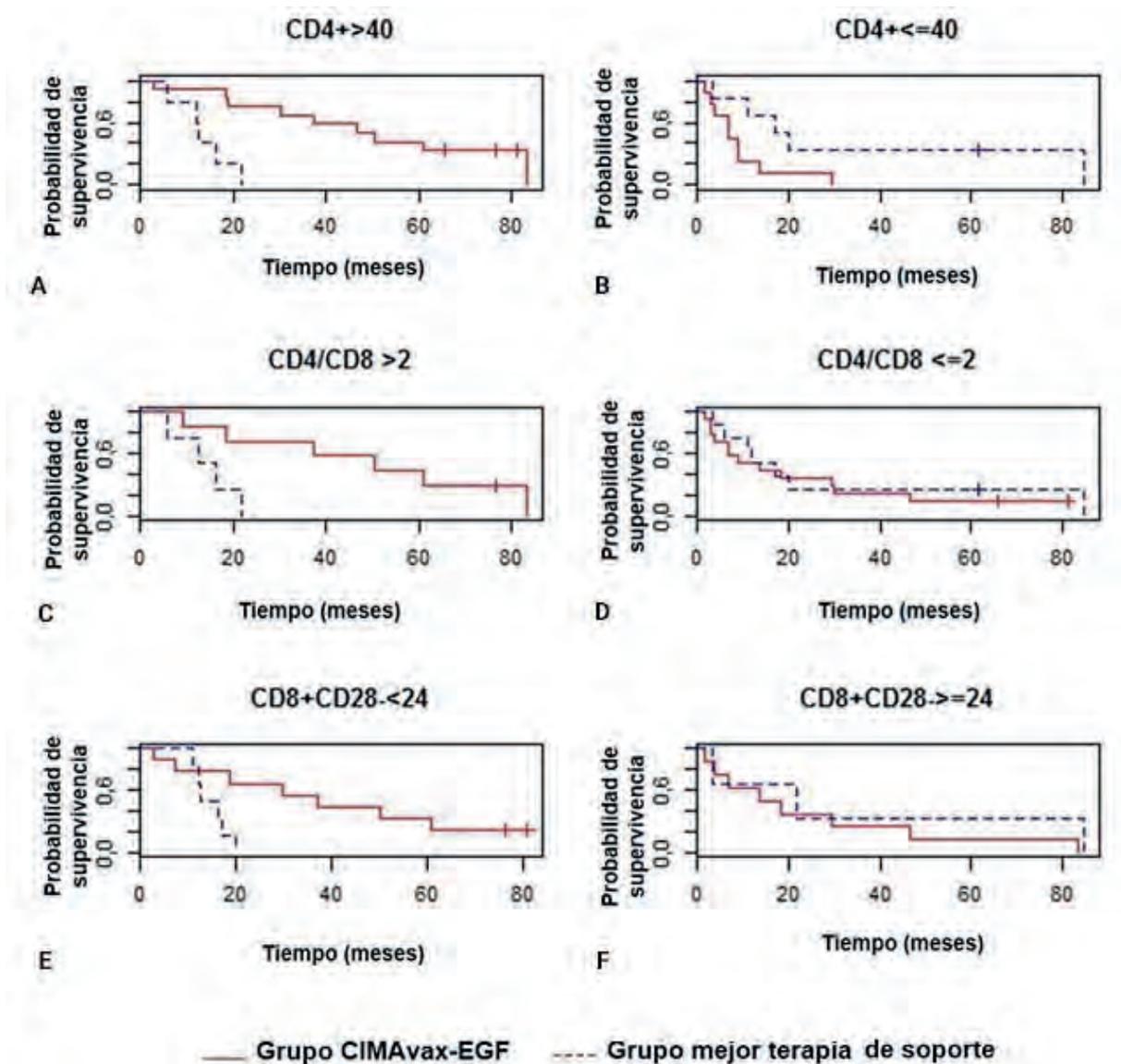


Fig. 5. Funciones de supervivencia con relación a marcadores de inmunosenescencia en pacientes con CPCNP vacunados con CIMAvax-EGF y no vacunados. A) Función de supervivencia para pacientes vacunados y no vacunados con frecuencia de células T CD4+>40 % ($p = 0,01$). B) Función de supervivencia para pacientes vacunados y no vacunados con frecuencia de células T CD4+<=40 %. C) Función de supervivencia para pacientes vacunados y no vacunados con índice CD4/CD8 >2 ($p = 0,04$). D) Función de supervivencia para pacientes vacunados y no vacunados con índice CD4/CD8 <2. E) Función de supervivencia para pacientes vacunados y no vacunados con frecuencia de células T CD8+CD28.<24 % ($p = 0,03$). F) Función de supervivencia para pacientes vacunados y no vacunados con frecuencia de células T CD8+CD28.>=24 %. CPCNP: cáncer de pulmón de células no pequeñas

la concentración sérica de interleuquina 6 (IL-6) (figura 4E) y de las células T terminalmente diferenciadas CD4+CD28- y CD8+CD28- (figura 4C y 4D) en los pacientes que habían recibido tratamiento de primera línea con quimioterapia basada en platinos. Lo que sugiere el efecto del cáncer y la quimioterapia sobre los marcadores de inmunosenescencia evaluados. La reducción de las células B y del índice CD4/CD8 en los pacientes con cáncer, vírgenes de tratamiento, apunta hacia un efecto de la enfermedad tumoral. Por otra parte, los niveles elevados de IL-6 en suero y el incremento de las poblaciones CD28 al emplearse quimioterapia basada en platinos, apuntan a un efecto de la quimioterapia y a la observación de que la quimioterapia basada en platinos pudiera generar la inducción de rasgos de inmunosenescencia en los pacientes que la reciben ^(10,21).

Marcadores de inmunosenescencia como predictores de la eficacia clínica de CIMAvax-EGF

La frecuencia de células T CD8+CD28-, de células T CD4+ y el índice CD4/CD8 evaluados después de concluir la primera línea de quimioterapia y antes del inicio del tratamiento con la vacuna terapéutica CIMAvax-EGF, impactaron en el beneficio clínico de los pacientes con CPCNP vacunados. Los pacientes vacunados con células T CD4+ mayor de 40 %, índice CD4/CD8 mayor que 2 y frecuencia de células T CD8+CD28- por debajo de 24, alcanzaron supervivencias superiores en 20 meses en comparación con los pacientes no vacunados (figura 5). Estos resultados sugieren la utilidad de los marcadores de inmunosenescencia como predictores de la eficacia clínica de la vacuna terapéutica CIMAvax-EGF ^(10,21).

La vacuna terapéutica CIMAvax-EGF, creada y desarrollada en nuestro país, sobresale entre las alternativas inmunoterapéuticas para tratar pacientes con CPCNP. Diseñada para inducir anticuerpos capaces de neutralizar el factor de crecimiento epidérmico (EGF) circulante, ha mostrado su seguridad y eficacia durante más de 20 años de investigación clínica ⁽²²⁾.

Conclusiones

Una mirada de conjunto a los resultados contenidos en este artículo, permite identificar que en los cubanos ocurren cambios en el sistema inmune dependientes de la edad, del sexo, del cáncer, de la quimioterapia y que los cambios que se generan por la edad son susceptibles de intervención. Este es el primer estudio del fenómeno de la inmunosenescencia en Cuba, y como todo camino que se inicia, contiene todavía más preguntas que respuestas.

Los resultados de este trabajo sugieren que, en los cubanos, en un contexto de alta prevalencia de anticuerpos contra CMV, varias subpoblaciones linfocitarias y marcadores de inmunosenescencia se modifican por la edad y el sexo en su-

jetos sanos; así como por la enfermedad tumoral y el empleo de quimioterapia de primera línea en pacientes con cáncer de pulmón. La recomendación del uso de marcadores de inmunosenescencia como posibles biomarcadores predictivos de la eficacia clínica de la vacuna terapéutica CIMAvax-EGF, evidencia su utilidad para personalizar el tratamiento de los pacientes y administrar la inmunoterapia a aquellos pacientes que recibirán un mayor beneficio clínico.

Finalmente, este estudio sugiere la posibilidad de revertir rasgos de inmunosenescencia a partir de la intervención con el factor tímico Biomodulina T y orienta el camino hacia la posible utilización de este medicamento en combinación con otras inmunoterapias como la propia vacuna terapéutica CIMAvax-EGF, con el fin de incrementar el potencial del sistema inmune como parte de la terapéutica contra el cáncer. No obstante, la descripción y clasificación de los cambios del sistema inmune relacionados con la edad dista mucho de estar completa. En los próximos años asistiremos a la ampliación de la cantidad de marcadores y su categorización según su significación biológica y su valor pronóstico. De este modo, la evaluación de nuevas intervenciones terapéuticas, tendrá que irse amoldando al nuevo panorama que surja de los estudios básicos sobre la inmunosenescencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acosta LF. Mejoran los indicadores de salud y crece la esperanza de vida. Granma [Internet]. 2017 [citado el 2 de abril de 2019];:p.1. Disponible en: <http://www.granma.cu/todo-salud/2017-12-29/mejoran-los-indicadores-de-salud-y-crece-la-esperanza-de-vida-29-12-2017-00-12-01>.
2. Amaro MC. El envejecimiento poblacional en cuba, desde el prisma de la epidemiología social y la ética. Anales de la Academia de Ciencias de Cuba. 2016;6(2): 1-24.
3. Fulop T, Larbi A, Dupuis G, Le Page A, Frost EH, Cohen AA, et al. Immunosenescence and Inflamm-Aging As Two Sides of the Same Coin: Friends or Foes? Front Immunol. 2017;(8):1960
4. Larbi A, Fulop T. From "truly naive" to "exhausted senescent" T cells: when markers predict functionality. Cytometry A. 2014;85(1):25-35.
5. Weltevrede M, Eilers R, de Melker HE, van Baarle D. Cytomegalovirus persistence and T-cell immunosenescence in people aged fifty and older: A systematic review. Exp Gerontol 2016 May;77:87-95.
6. Sauce D, Appay V. Altered thymic activity in early life: how does it affect the immune system in young adults? Curr Opin Immunol. 2011;23(4):543-8.
7. Pawelec G. Immunosenescence: role of cytomegalovirus. Exp Gerontol. 2014;(54):1-5.
8. Lang PO, Samaras D. Aging adults and seasonal influenza: does the vitamin d status (h) arm the body? J Aging Res. 2012;2012:806198.
9. Lang PO, Mendes A, Socquet J, Assir N, Govind S, Aspinall R. Effectiveness of influenza vaccine in aging and older adults:

comprehensive analysis of the evidence. *Clin Interv Aging*. 2012;7:55-64.

10. Saavedra D, García B and Lage A. T cell subpopulations in healthy elderly and lung cancer patients: insights from Cuban studies. *Front. Immunol* 2017. 8:146.
11. Garcia Verdecia B, Saavedra Hernandez D, Lorenzo-Luaces P, de Jesus Badia Alvarez T, Leonard Rupale I, Mazorra Herrera Z, et al. Immunosenescence and gender: a study in healthy Cubans. *Immun Ageing*. 2013;10(1):16.
12. Klein SL, Flanagan KL. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol*. 2016;16(10):626-38
13. Araki T, Nishino M, Gao W, Dupuis J, Hunninghake GM, Murakami T, et al. Normal thymus in adults: appearance on CT and associations with age, sex, BMI and smoking. *Eur Radiol*. 2016;26(1):15-24
14. Fulop T, Larbi A, Hirokawa K, Mocchegiani E, Lesourds B, Castle S, et al. Immunosupportive therapies in aging. *Clin Interv Aging*. 2007;2(1):33-54.
15. Lang PO, Govind S, Aspinall R. Reversing T cell immunosenescence: why, who, and how. *Age*. 2013;35(3):609-20
16. Chaudhry MS, Velardi E, Dudakov JA, van den Brink MR. Thymus: the next (re)generation. *Immunol Rev*. 2016;271(1):56-71
17. Saavedra D, Fuertes S.A, Suárez G.M, González A, Lorenzo-Luaces P, García B, Aznar E, Mazorra Z, Crombet T, Speiser D, Lage A. Biomodulina T partially restores immunosenescent CD4 and CD8 T cell compartments in the elderly. *Exp Gerontol* 2019; 124:110633
18. Fulop T, Larbi A, Kotb R, de Angelis F, Pawelec G. Aging, immunity, and cancer. *Discov Med*. 2011;11(61):537-50.
19. Anisimov VN. Carcinogenesis and aging 20 years after: escaping horizon. *Mech Ageing Dev*. 2009;130(1-2):105-21
20. Fulop T, Larbi A, Kotb R, Pawelec G. Immunology of aging and cancer development. *Interdiscip Top Gerontol*. 2013; 38:38-48
21. Saavedra D, Garcia B, Lorenzo-Luaces P, Gonzalez A, Popa X, Fuentes KP, et al. Biomarkers related to immunosenescence: relationships with therapy and survival in lung cancer patients. *Cancer Immunol Immunother*. 2016;65(1):37-45

voluntarios sanos del Centro de Inmunología Molecular. Muy especialmente a la Profesora Dra. Elia Neninger Vinageras, y a nuestros pacientes y sus familiares. Una gratitud especial y todo nuestro respeto por la Dra. Elisa Aznar, que penosamente ya no se encuentra entre nosotros. A los colegas de los policlínicos Mártires del Corinthya y Vedado, especialmente a las doctoras Yoandra Lora Acosta y Ana Margarita López Medina, a la enfermera Milagro González Mayo y la psicóloga María Elena Barros Ulacia. Los autores extendemos nuestro agradecimiento y afecto a la Dra. Silvia A. Fuertes Marraco y al profesor Daniel Speiser de la Universidad de Lausana, Suiza. A las doctoras Gisela María Suárez Formigo, Zaima Mazorra Herrera y Tania Crombet Ramos del Centro de Inmunología Molecular. Nuevamente a nuestros participantes, nuestros pacientes y familiares, todo nuestro más profundo agradecimiento.

Conflicto de intereses. Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Contribución de autoría

1. Conceptualización: Danay Saavedra, Beatriz García, Agustín Lage
2. Curación de datos: Danay Saavedra, Beatriz García, Amnely González, Patricia Lorenzo-Luaces
3. Análisis formal: Danay Saavedra, Beatriz García, Patricia Lorenzo-Luaces, Agustín Lage
4. Adquisición de fondos: -
5. Investigación: Danay Saavedra, Beatriz García, Agustín Lage, Amnely González, Patricia Lorenzo-Luaces
6. Metodología: Danay Saavedra, Beatriz García, Patricia Lorenzo-Luaces, Agustín Lage
7. Administración del proyecto: Danay Saavedra, Beatriz García
8. Recursos: -
9. Software: -
10. Supervisión: Danay Saavedra, Beatriz García
11. Validación: -
12. Visualización: -
13. Redacción – borrador original: Danay Saavedra
14. Redacción – revisión y edición: Danay Saavedra, Agustín Lage

Declaración de financiamientos

Parte de este trabajo fue realizado gracias a la participación en una visita de intercambio científico en el laboratorio del profesor Daniel Speiser de la Universidad de Lausana (International short visit grant from the Swiss National Science Foundation).

Recibido: 08/05/2020

Aprobado: 23/03/2020

Agradecimientos. Los autores agradecen mucho a las personas sanas participantes en nuestra investigación, entre ellos a los

