

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

Imunossenescência: implicações no desenvolvimento da sarcopenia em cães e gatos

Caroline Garcia Konflanz

**PORTO ALEGRE
2016/2**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

Imunossenescência: implicações no desenvolvimento da sarcopenia em cães e gatos

Autora: Caroline Garcia Konflanz

Monografia apresentada à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para obtenção da graduação em Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Ana Paula Ravazzolo
Co-orientador: Prof Dr. Alan Gomes Pöppel

**PORTO ALEGRE
2016/2**

RESUMO

Nos últimos anos, a medicina veterinária avançou em muitos aspectos, especialmente em relação à nutrição e à imunoprofilaxia de cães e gatos. Paralelamente a esse fato, ocorreu um estreitamento nos laços afetivos entre os tutores e seus pets e isso refletiu-se no aumento da assistência veterinária conferida a esses animais. Esses elementos foram decisivos no aumento da expectativa de vida dessa população. Entretanto, a senilidade culmina em perda progressiva das funções orgânicas e fisiológicas. O sistema imunológico sofre modificações inerentes à idade, fenômeno denominado de imunossenescência. O processo de envelhecimento afeta ambos os ramos da imunidade, porém a resposta imune adaptativa é a mais prejudicada. Essas alterações podem deixar cães e gatos geriátricos mais susceptíveis a infecções, neoplasias, autoimunidade e falha vacinal. O envelhecimento imunológico apresenta um estado inflamatório crônico (*inflammaging*), que tem uma forte relação com o desenvolvimento das enfermidades geriátricas, entre elas a sarcopenia. Essa doença caracteriza-se pela progressiva e generalizada perda de massa e força muscular com risco de desencadear incapacidade física, diminuição da qualidade de vida e morte. A sarcopenia tem sido muito estudada na medicina humana, porém pouco se sabe sobre sua incidência em animais de companhia. Nesta revisão de literatura, temos a pretensão de abordar, de forma ampla, as principais implicações no desenvolvimento da imunossenescência e sarcopenia em cães e gatos.

PALAVRAS-CHAVE: Cães. Gatos. Envelhecimento. Imunossenescência. *Inflammaging*. Sarcopenia.

ABSTRACT

In recent years, veterinary medicine has advanced in many issues, especially regarding nutrition and immunoprophylaxis of dogs and cats. Parallel to this fact, there was a narrowing in the affective ties between guardians and their pets and this was reflected by the increase of the veterinary assistance given to these animals. These elements were decisive in increasing the life expectancy of this population. However, senility culminates in progressive loss of organic and physiological functions. The immune system undergoes modifications inherent to age, a phenomenon known as immunosenescence. The aging process affects both branches of immunity, but the adaptive immune response is the most impaired. These make geriatric dogs and cats more vulnerable to infections, neoplasms, autoimmunity, and vaccine failure. Immune aging presents a chronic inflammatory state (inflammaging), which has a strong relation with the development of geriatric syndromes, among them sarcopenia. This disease is characterized by progressive and generalized loss of muscle mass and strength with the risk of triggering physical incapacity, decreased quality of life and death. The sarcopenia is widespread in human medicine, but there few studies in companion animals. In this literature review, we intend to broadly address the main implications in the development of immunosenescence and sarcopenia in dogs and cats.

KEY WORDS: *Dogs. Cats. Aging. Immunosenescence. Inflammaging. Sarcopenia.*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Principais alterações no sistema imune ao envelhecer.....	12
Figura 2 - Ciclo do <i>inflammaging</i>	22
Figura 3 - Fatores inter-relacionados com o desenvolvimento da sarcopenia.....	25
Figura 4 - Aspectos inerentes à caquexia e sarcopenia.....	30
Figura 5 - Escore de condição muscular para cães.....	31
Figura 6 - Escore de condição muscular para gatos.....	31
Figura 7 - Mecanismos fisiopatológicos da sarcopenia e biomarcadores.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APCs	Células apresentadoras de antígenos
ATP	Trifosfato de adenosina
BCR	Receptor de antígeno dos Linfócitos B
DC	Células dendríticas
DEXA	Absorciometria de raios X de dupla energia
DHEA	Deidroepiandrosterona
GH	Hormônio do crescimento
HSCs	Células-tronco hematopoiéticas
IFN	Interferon
Ig	Imunoglobulina
IGF-1	Insulina símile
IL	Interleucina
mDC	Célula dendrítica mielóide
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
NK	Célula <i>natural killer</i>
PCR	Proteína C reativa
pDC	Célula dendrítica plasmocitóide
PMNs	Polimorfonucleares
PRRs	Receptores de reconhecimento de padrões
RM	Ressonância magnética
US	Ultrassom
TC	Tomografia computadorizada
TCR	Receptor de antígeno dos Linfócitos T
Th	Linfócito T auxiliar
TLR	<i>Toll-like receptor</i>
TNF	Fator de necrose tumoral
WSAVA	<i>World Small Animal Veterinary Association</i> –

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1	Alterações do sistema imune no envelhecimento (Imunossenescência)	11
2.2	Resposta imune inata	12
2.2.1	Neutrófilos	13
2.2.2	Monócitos e macrófagos	13
2.2.3	Células dendríticas	14
2.2.4	Células Natural Killer	15
2.3	Resposta imune adaptativa	16
2.3.1	Órgãos linfóides	17
2.3.2	Linfócitos	18
3.	O CONCEITO DE INFLAMMAGING E A SARCOPENIA	20
4	SARCOPENIA	23
4.1	Definição	23
4.2	Etiologia e patogênese	24
4.3	Modelos animais	27
4.4	Diagnóstico	28
4.4.1	Diferencial de caquexia	29
4.4.2	Biomarcadores	32
4.5	Medidas terapêuticas	33
5	CONCLUSÃO	35
	REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

O envelhecimento pode ser conceituado como um processo dinâmico e progressivo, no qual há alterações morfológicas, funcionais e bioquímicas que vão alterando o organismo progressivamente, tornando-o mais susceptível às agressões intrínsecas e extrínsecas que terminam por levá-lo à morte (CARVALHO FILHO, 2007). Contudo, a definição de envelhecimento é ainda mais complexa na medicina veterinária, onde estipular a idade a partir da qual o paciente é considerado geriátrico, sênior ou velho, é muito variável, não existindo um consenso a respeito (SALA, 2014). O termo “senil” ou “geriátrico” descreve um estágio de vida em que ocorre um declínio progressivo na condição física, no funcionamento orgânico, nas funções sensorial e mental, além da imunidade. Embora seja geralmente aceito que o estágio de vida senil se inicia em torno dos sete anos de idade, na maioria dos cães e gatos, vários fatores inter-relacionados, incluindo tamanho e genética individuais, afetam o aparecimento e a velocidade do envelhecimento (FORTNEY; HOSKINS, 2008).

Segundo Vogt (2010) a atual classificação para gatos idosos é considerá-los como “maduros” ou de “meia-idade”, dos 7 aos 10 anos, “sêniores” dos 11 aos 14 anos e “geriátricos” a partir dos 15 anos de idade. Em relação aos cães, o porte influencia significativamente na longevidade desses indivíduos. Devido a sua expectativa de vida mais curta, cachorros de raças grandes e gigantes (com peso corporal na idade adulta $\geq 22,7$ kg), podem ser considerados como “sêniores” quando atingem de 6 a 8 anos de idade e “geriátricos” quando tem ≥ 9 anos de idade. Cães de raças pequenas e médias (com peso corporal na fase adulta $< 22,7$ kg) podem ser classificados como “sêniores” quando têm de 7 a 10 anos de idade e “geriátricos” quando completam 11 ou mais anos de idade (BELLOWS *et al.*, 2015).

Indubitavelmente, melhorias nos cuidados veterinários nas últimas décadas resultaram em um aumento significativo na população de cães e gatos geriátricos. Isso se deve à implementação de programas de nutrição e vacinação adequados para animais idosos e maior conhecimento sobre as alterações fisiológicas pertinentes a essa fase (DAY, 2010). A idade, pois, tem um efeito profundo no desenvolvimento e no declínio do sistema imunológico inato e adaptativo. Nitidamente, o sistema imune inato é mais maduro no nascimento do que o sistema adaptativo, entretanto, nenhum está totalmente desenvolvido. Somente depois de várias semanas a meses de vida é que o sistema imune se torna competente. Animais jovens

de todas as espécies são dependentes da imunidade passiva e apresentam maiores riscos de desenvolver enfermidades graves nos primeiros meses de vida (SHULTZ *et al.*, 2010).

Por outro lado, o envelhecimento é acompanhado por uma função desregulada do sistema imunitário, comumente referido como imunossenescência. Esta degradação progressiva afeta a imunidade inata e adaptativa, embora evidências indiquem que a imunidade adaptativa possa exibir maiores mudanças (HABERTHUR *et al.*, 2010). Essas alterações se relacionam a uma redução na capacidade de resposta diante de uma infecção e também se traduzem pelo aumento de mediadores inflamatórios circulantes presentes nas doenças crônico-degenerativas, bem como numa maior incidência de falhas vacinais (VEIGA, 2013) e resultando em maior morbidade e mortalidade para os idosos (KINOSHITA, 2014). Esse estado inflamatório crônico observado na imunossenescência é denominado *inflammaging* (AGONDI; RIZZO; BARROS, 2012). Nele há uma produção contínua de citocinas pró-inflamatórias, que estão diretamente envolvidas com a patogênese da maioria das doenças relacionadas com o envelhecimento, entre elas a sarcopenia (BAYLIS *et al.*, 2013). A sarcopenia se caracteriza pela perda progressiva da massa muscular e parece ter origem multifatorial, visto que estão relacionados a inatividade física, o aumento da produção de citocinas, diminuição das concentrações de testosterona e hormônio do crescimento, alterações nas fibras musculares tipo II, resistência à insulina e diminuição da síntese de proteínas (FREEMAN, 2012).

Em setembro de 2016, o processo sarcopênico foi reconhecido como uma entidade patológica, sob a Classificação Internacional de Doenças (CID) – CID -10 - CM -, que entrou em vigor a partir de 1º de outubro de 2016 (ANKER; MORLEY; HAEHLING, 2016). No entanto, embora a sarcopenia esteja bem documentada em seres humanos, esta foi minimamente estudada em animais de companhia, contudo, há evidências em pesquisas atuais de que há diminuição da massa muscular mensurada através de diagnóstico por imagem em cães idosos em relação a cães jovens (HUTCHINSON *et al.*, 2012). Neste contexto, devido à alta prevalência em pacientes idosos e efeitos clínicos adversos, tais como perda da força e função muscular, a sarcopenia apresenta uma estreita relação com a mortalidade (VALENTE, 2013), além de ser um importante preditor para fraturas e distúrbios de marcha (MALAFARINA *et al.*, 2012).

A motivação para a realização do presente trabalho foi a possibilidade de se obter maiores esclarecimentos sobre as vias comuns que deflagram a imunossenescência e o processo sarcopênico em animais domésticos. Na revisão de literatura, temos a pretensão de abordar, de forma ampla, as principais implicações no desenvolvimento da

imunossenescência e da sarcopenia em cães e gatos e, desse modo, estimular uma conscientização sobre a importância desses fenômenos na clínica geriátrica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Alterações do sistema imune no envelhecimento (Imunossenescência)

Um grande estímulo no campo da imunologia gerontológica foi a publicação do livro *A Teoria Imunológica do Envelhecimento*, em 1964, pelo Dr Roy Walford, que resumia as modificações do sistema imune com o envelhecimento. Walford propôs que a autoimunidade era um mecanismo do processo de envelhecimento que, em um baixo grau e a longo prazo, processava a sua “autodestruição” (VEIGA, 2013).

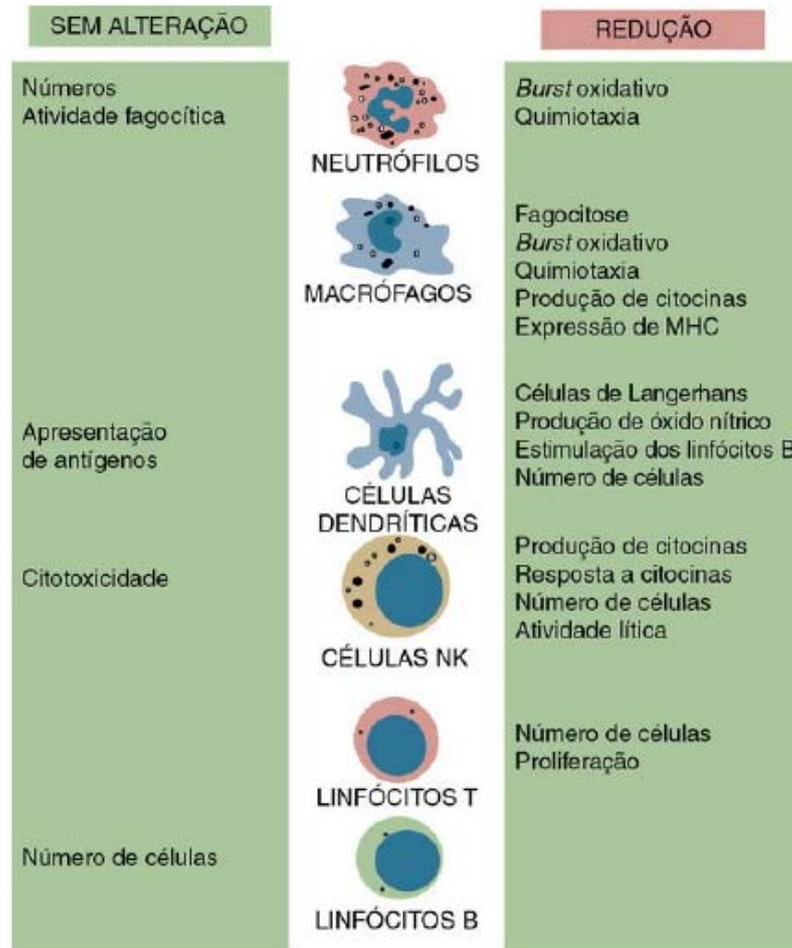
Em 1969, o termo imunossenescência foi introduzido por Walford, que levantou a hipótese de que o processo normal de envelhecimento no homem e em todos os animais está patogeneticamente relacionado a remodelações imunológicas defeituosas (EFFROS, 2005)

A complexidade da imunossenescência relaciona-se com a sua natureza multifatorial e a interindividualidade, sendo que cada uma tem o seu fenótipo imune, o seu próprio estilo de vida e a exposição a diferentes níveis de estresse e agentes patogênicos, assim como características genéticas distintas, sendo que todos esses elementos influenciam no processo de senescência (GONÇALVES, 2015).

O processo de envelhecimento afeta ambos os ramos da imunidade, embora a imunidade inata pareça estar mais bem preservada (WEISKOPF; WEINBERGER; GRUBECK-LOEBENSTEIN, 2009; AGONDI; RIZZO; BARROS, 2012). A capacidade de renovação das células do sistema imunológico, a partir das células-tronco hematopoéticas, diminui com a idade. As alterações nos precursores dos linfócitos B levam à diminuição do número de células maduras que deixam a medula óssea, enquanto a involução tímica leva a alterações substanciais no compartimento de células T. A imunossenescência caracteriza-se por um estado inflamatório crônico, denominado “*inflammaging*” (AGONDI; RIZZO; BARROS, 2012). Esse fenômeno é um efeito da inflamação crônica resultante da exposição antigênica cumulativa ao longo dos anos (DAY, 2010).

Devido aos avanços na medicina veterinária, os animais de companhia estão desfrutando cada vez mais a sua longevidade. É evidente que cães e gatos senis são igualmente afetados pelo processo de imunossenescência e que mudanças similares ocorrem nessas espécies tal como as documentadas em pessoas idosas (DAY, 2010, 2012). Sugere-se, pois, que a imunossenescência é um fator inerente ao aumento da vulnerabilidade dos animais geriátricos a infecções, doenças autoimunes e a neoplasias (DAY, 2012). Ilustrando o exposto, a Figura 1, resume as principais alterações no envelhecimento.

Figura 1 – Principais alterações no sistema imune ao envelhecer



Fonte: TIZARD (2014).

2.2 Resposta imune inata

A imunidade inata é a primeira linha de defesa do sistema imunológico contra a maioria dos agentes infecciosos, produzindo uma resposta imediata e inespecífica a agentes externos (GONÇALVES, 2015; KINOSHITA, 2014; WEISKOPF; 2009). Este sistema é composto de uma rede de células, incluindo neutrófilos, macrófagos, células *natural killer* (NK) e células dendríticas (PANDA *et al.*, 2009). Nessa fase ocorre o reconhecimento de patógenos por células imunológicas resultando em fagocitose, citotoxicidade e produção de mediadores inflamatórios, com o intuito de eliminar a infecção (KINOSHITA, 2014).

O envelhecimento é frequentemente associado ao declínio da função da barreira epitelial da pele, dos pulmões ou do trato gastrointestinal, o que permite que agentes

patogênicos invadam as mucosas dos tecidos, resultando em um aumento do desafio para o sistema imune inato (WEISKOPF; WEINBERGER; GRUBECK-LOEBENSTEIN, 2009)

2.2.1 Neutrófilos

Os neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) constituem a defesa imune primária contra infecções por bactérias e fungos, desenvolvendo mecanismos microbicidas que incluem a geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, além da liberação de enzimas proteolíticas e peptídeos microbicidas dos grânulos citoplasmáticos presentes nestas células (PANDA *et al.*, 2009). Na senescência, os neutrófilos apresentam comprometimento na capacidade de produzir *burst* oxidativo¹. Como consequência, essas células são menos capazes do que as células de um jovem de destruir as bactérias ingeridas (TIZARD, 2014), e a função fagocitária neutrofilica também é afetada pelo envelhecimento (WEISKOPF, 2009; SOLANA, 2012; TIZARD, 2014).

A quimiotaxia está reduzida em indivíduos idosos, sendo que essa alteração pode afetar o tempo dispensado pelo neutrófilo para alcançar o sítio de infecção, facilitando assim, a divisão e proliferação bacteriana (PANDA *et al.*, 2009).

2.2.2 Monócitos e macrófagos

Os monócitos são encontrados na circulação e entram nos tecidos, para se diferenciar em macrófagos, onde adquirem funções especializadas. Macrófagos teciduais são as células responsáveis pelo reconhecimento de agentes infecciosos (através dos receptores de reconhecimento padrão – PRR- que incluem uma vasta família de receptores) e pelo recrutamento de neutrófilos da circulação para o tecido infectado. Assim como os neutrófilos, macrófagos participam da fagocitose de patógenos e antígenos, destruindo-os através da ação de enzimas lisossômicas ou pela secreção de espécies reativas de oxigênio, dentro de vesículas. Além disso, macrófagos são importantes produtores de citocinas e interleucinas responsáveis por diversas sinalizações com outras células imunológicas, pelo recrutamento de neutrófilos e também pela indução da proliferação de linfócitos T. Eles também realizam a

¹ Processo que é desencadeado pela ligação de uma bactéria opsonizada a receptores fagocíticos, que resulta na ativação de um complexo enzimático na membrana do fagossomo e aumento no consumo de oxigênio em 100 vezes.

ligação entre a imunidade inata e adaptativa, servindo como células apresentadoras de antígenos (APCs) (JANEWAY *et al.*, 2001; KINOSHITA, 2014).

Com o envelhecimento, ocorre uma redução no número de monócitos circulantes. Monócitos e macrófagos de idosos saudáveis apresentam prejuízo na fagocitose e na produção de radicais livres (implicando em prejuízo no combate à infecção) e na apresentação de antígenos (envolvida na pior resposta dos idosos à vacinação). Uma vez instalada a infecção, idosos possuem menor habilidade de prevenir a sua propagação (KINOSHITA, 2014).

Na senilidade, os PRRs, isto é, padrões moleculares altamente conservados em microrganismos, têm se demonstrado alterados (OLIVIERI, 2014). O número de macrófagos declina com o envelhecimento animal e expressam baixos níveis de PRRs, como o *Toll-like receptor* (TLR). Os macrófagos envelhecidos mostram respostas reduzidas a agentes ativadores, como o interferon gama (IFN γ) (TIZARD, 2014).

Estudos sugerem que o envelhecimento está associado ao aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias por macrófagos. Acredita-se que elevados níveis desses mediadores podem ser responsáveis pela maioria das doenças associadas à idade, porque todos compartilham uma patogênese inflamatória (ANJOS; PASSOS; MALHEIRO, 2013).

2.2.3 Células dendríticas

As células dendríticas (DCs), ao desempenhar a função de apresentação antigênica, estabelecem uma relação fundamental entre os componentes das vias específicas e não específicas da resposta imunitária (GONÇALVES, 2015). As DCs se originam na medula óssea, a partir de células-tronco hematopoiéticas pluripotentes (CONTI; SANTIAGO; SFORCIN 2014). Estas células constituem dois grupos populacionais funcionalmente distintos: as células mDC (mielóides) e pDC (plasmocitóides). As células plasmocitóides podem induzir a diferenciação de células B em plasmócitos e, desta forma, parecem promover a produção de autoanticorpos, exercendo um papel na indução de imunotolerância. As células mielóides, por outro lado, são produtoras de citocinas, como a interleucina IL-12, que tem função quimiotática e de ativação de células T CD4⁺ *naïve* via apresentação antigênica (LINDSTROM e ROBINSON, 2010; GONÇALVES, 2015).

As DCs desempenham três principais funções: funcionam como células sentinelas e, quando encontram invasores, ativam as defesas inatas; processam os antígenos exógenos e, então, iniciam as respostas imunes adaptativas; e regulam a imunidade adaptativa,

determinando se um antígeno desencadeará uma resposta mediada por anticorpos ou por células. As DCs são células apresentadoras de antígenos pelo menos 100 vezes mais eficientes que os macrófagos ou os linfócitos B. Elas podem capturar muitos antígenos diferentes, incluindo microrganismos mortos, antígenos solúveis nos fluidos teciduais e antígenos liberados por células que estão morrendo, apresentando-os aos linfócitos. São as únicas células processadoras de antígenos capazes de ativar os linfócitos T que nunca encontraram previamente um antígeno, sendo, portanto, essenciais para iniciar as respostas imunes primárias (TIZARD, 2014).

Pesquisas recentes evidenciaram uma redução na expressão de TLR1, TLR3 e TLR8 pelas mDCs e diminuição de TLR7 e TLR9 por pDCs, na população idosa (OLIVIERI; DOMENICO; MONTGOMERY, 2014). O reconhecimento dos componentes microbianos pelo TLR ativa as vias de transdução de sinais nas células e culmina na elaboração de resposta de citocinas pró-inflamatórias e na ativação de IFN tipo 1 que, por sua vez, molda a resposta imune adaptativa (AGONDI; RIZZO; BARROS, 2012).

As células dendríticas de animais idosos são menos eficientes na apresentação antigênica. Sua reduzida capacidade de apresentar antígenos aos linfócitos T resulta de alterações na expressão de antígenos de superfície e na produção de citocinas. Sua minorada capacidade de estimular os linfócitos B é devida à ligação reduzida a imunocomplexos (TIZARD, 2014).

2.2.4 Células *Natural Killer*

As células *natural killer* (NK) funcionam como uma primeira linha de defesa contra patógenos como vírus, algumas bactérias e parasitas. Elas também eliminam células malformadas ou neoplásicas, sendo fundamentais na imunidade antitumoral (TIZARD, 2014). As NK apresentam fenótipos distintos, de acordo com a expressão de diversos marcadores, capacidade citotóxica e produção de citocinas (GONÇALVES, 2015). As células NK são capazes de sintetizar IL-1, IL-2, IL-4, IF α , TNF α e TNF β (VEIGA, 2013). Podem ser classificadas em CD3, CD56⁺ e CD16⁺, sendo agrupadas em dois subtipos funcionais, com base na densidade da expressão à superfície de CD56 (GONÇALVES, 2015). Existem as células denominadas CD56 *bright* (imunorreguladoras) - maior responsável pela produção de citocinas - e as células CD56 *dim* (citotóxicas) (GONÇALVES, 2015; AGONDI; RIZZO; BARROS, 2012).

As funções das células NK são reguladas por diferentes citocinas, bem como padrões moleculares associados a patógenos – PAMPs. A IL-2 e a IL-4, por exemplo, aumentam a citotoxicidade dessas células, enquanto que a IL-3 aumenta sua sobrevivência. Embora as células NK estejam ativas em animais não imunizados, infecções virais ou indutores de interferons (IFN) podem promover sua atividade. Diferentemente dos linfócitos T e B, que circulam como células em repouso e necessitam de vários dias para se tornar completamente ativadas, as células NK estão à disposição e podem, rapidamente, ser ativadas pelos IFNs liberados por células infectadas por vírus ou pela IL-12, liberada por macrófagos estimulados. O resultado disso é que as células NK podem atacar, prontamente, os tumores e as células infectadas por vírus. Elas participam das defesas inatas muito antes que as respostas antígeno-específicas da imunidade adaptativa possam ser geradas (TIZARD, 2014).

A atividade da NK diminui com a idade, conforme demonstrado em estudos clínicos e, este hipotético declínio, poderia contribuir para o aumento da vulnerabilidade a doenças neoplásicas na população geriátrica (VEIGA, 2011). As células NK de indivíduos idosos são menos eficientes em destruir células tumorais (TIZARD, 2014).

Em particular, a alta citotoxicidade das células NK está associada ao envelhecimento saudável e à longevidade, enquanto a baixa citotoxicidade é encontrada em associação com o aumento de morbidade e mortalidade (ANJOS; PASSOS; MALHEIRO, 2008; AGONDI; RIZZO; BARROS, 2012;). Outras funções das células NK, como a secreção de quimiocinas ou interferon-gama (IFN- γ) em resposta à IL-2, estão também diminuídas nos idosos (AGONDI; RIZZO; BARROS, 2012).

2.3 Resposta imune adaptativa

A resposta imune inata pode ser suficiente para debelar certos tipos de agentes infecciosos, ou seja, aqueles que são reconhecidos pelos receptores de reconhecimento padrão. Entretanto, para alguns tipos de bactérias e para os vírus, macrófagos e neutrófilos podem não ser capazes de fagocitar e eliminar o patógeno. Nesse cenário, as células dendríticas presentes nos tecidos são altamente importantes. Elas são capazes, como visto anteriormente, de englobar agentes infecciosos e apresentar antígenos desses agentes a linfócitos (JANEWAY *et al.*, 2001; KINOSHITA, 2014).

O organismo possui uma variedade muito grande de linfócitos capazes de reconhecer uma variedade de antígenos através de receptores na membrana celular. No entanto, um linfócito é capaz de reconhecer apenas um tipo de antígeno, mas como existe grande

diversidade de linfócitos, existe também uma infinidade de antígenos que podem ser reconhecidos pelo organismo. Essa grande diversidade, intrínseca à imunidade adaptativa, é extremamente importante para que o organismo seja capaz de combater a imensidade de infecções às quais pode ser submetido (JANEWAY *et al.*, 2001; KINOSHITA, 2014).

A célula apresentadora de antígeno é capaz de ativar o linfócito específico para aquele antígeno, induzindo a formação de clones desse linfócito e sua ativação. Antes dessa ativação, o linfócito é dito *náive*². Dependendo do tipo de linfócito ativado, pode ocorrer a produção de anticorpos por linfócitos B, também denominado de resposta imune humoral, ou (em se tratando de ativação de linfócitos T) a destruição de células infectadas, ou a ativação de outras células imunológicas, configurando a resposta imune mediada por células (VEIGA, 2013). Essas respostas, dotadas de especificidade ao agente infeccioso, compõem a imunidade adaptativa. Após a destruição do agente infeccioso, a maior parte das células efetoras (os clones do linfócito ativado) é destruída por apoptose, mas algumas, as células de memória, permanecem, fornecendo uma resposta mais rápida, caso o organismo entre em contato novamente com o mesmo agente infeccioso (JANEWAY *et al.*, 2001; KINOSHITA, 2014).

2.3.1 Órgãos linfóides

O envelhecimento está associado à desregulação progressiva e às mudanças estruturais em órgãos linfóides primários e secundários (TIZARD, 2014). As células do sistema imunológico estão constantemente sendo renovadas por meio das células-tronco hematopoiéticas – HSCs. A capacidade de renovação dessas células-tronco e a quantidade do tecido hematopoiético presente na medula óssea sofrem uma redução com a idade (WEISKOPF, 2009; MULLER; FULOP; PAWELEC, 2013).

As HSCs dão origem a duas linhagens: linfóide e mielóide. A linhagem linfóide é composta pelos linfócitos B e T e, as células NK e a linhagem mielóide são constituídas pelos neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos, além das hemácias e os megacariócitos. O processo de envelhecimento não afeta os progenitores eritroides e mielóides. Por outro lado, há mudanças no desenvolvimento de linfócitos B, que são menos produzidos e maturados na medula óssea. As células do estroma da medula óssea têm uma redução de sua capacidade de manter a expansão dos linfócitos B devido à diminuição da produção de IL-7 (AGONDI *et al.*, 2012). Os precursores de linfócitos T, que migram para o timo para serem maturados,

² Do inglês “ingênuo”.

parecem ser menos afetados em um primeiro momento; entretanto, também sofrem mudanças devido à involução tímica que ocorre com o avanço da idade (WEISKOPF; WEINBERGER; GRUBECK-LOEBENSTEIN, 2009).

A atrofia do timo culmina com a perda do espaço epitelial tímico (ANJOS; PASSOS; MALHEIRO, 2013) e caracteriza-se pela redução do tamanho do órgão e a substituição do tecido medular por gordura (WEISKOPF; WEINBERGER; GRUBECK-LOEBENSTEIN, 2009), resultando numa estrutura menos eficiente para o desenvolvimento de células T ou timopoiese. Especula-se que a involução do timo, observada com o aumento da idade, possa resultar na diminuição da população de progenitoras de células T, perda da autoexpressão de peptídeos do epitélio tímico, defeitos no rearranjo de receptores de células T – TCR e perda de citocinas tróficas, como IL-7 (ANJOS; PASSOS; MALHEIRO, 2013 ; PASSOS; MALHEIRO).

As placas de *Peyer* envolvem após a maturação sexual em cães. Os cães idosos apresentam uma redução da polpa branca no baço. As alterações nos linfonodos variam dependendo da sua localização, mas incluem atrofia cortical e fibrose medular (TIZARD, 2014).

2.3.2 Linfócitos

A resposta imune adaptativa é mais jovem do que a inata, em termos evolutivos, é específica e, consideravelmente mais potente em seus efeitos (DAY, 2012). Os principais objetivos são: distinção do próprio do não próprio (tolerância), alta especificidade e memória imunológica (VEIGA, 2013). As células linfoides constituem a imunidade adquirida. Dentre elas, as mais importantes são os linfócitos T, com as suas citocinas e quimiocinas (proteínas mensageiras liberadas por essas células que direcionam e regulam a resposta imune específica) e os linfócitos B, que se transformam em células plasmáticas de fase tardia (plasmócitos), que produzem e secretam anticorpos (DAY, 2012).

Dentre as células T, existem três principais subpopulações de linfócitos T auxiliares:

- a) os linfócitos T auxiliares 1 (Th1), que são gerados pela interleucina 12 (IL12) e, em resposta, secretam IL-2 e interferon- γ (IFN- γ). De forma geral, promovem as respostas imunológicas mediadas por células (estimulam a atividade citotóxica de efectoras) (DAY, 2012; TIZARD, 2014);

- b) os linfócitos T auxiliares 2 (Th2), que secretam IL-4, IL-13 e IL-10 e estão relacionados com as respostas imunológicas mediadas por anticorpos (DAY, 2012; TIZARD, 2014);
- c) os linfócitos T auxiliares 17 (Th17), que são induzidos por IL-6, fator de crescimento transformador β (TGF- β) e IL-23. Eles secretam IL-17 e promovem inflamação, mediada por neutrófilos (TIZARD, 2014). Aparentemente, essa subpopulação apresenta participação também na autoimunidade e nas doenças neoplásicas (DAY, 2012).

O IFN- γ , produzido pelas células Th1, inibe as funções da subpopulação Th2 e IL-4 e IL-13, secretados pelas células Th2, suprimindo a ação das células Th1, ou seja, essas citocinas desempenham um papel importante na polarização do tipo resposta imune (DAY, 2012).

As estruturas mais importantes da superfície de um linfócito são seus receptores de antígenos, que são abreviados como TCR (receptor de antígeno dos linfócitos T) ou BCR (receptor de antígeno dos linfócitos B). CD3 é o nome coletivo dado às proteínas do TCR que transmitem o sinal do receptor para o linfócito T quando ocorre a ligação ao antígeno. Portanto, o CD3 é encontrado em todos os linfócitos T. Outra proteína, o CD4, é encontrada somente nos linfócitos T, capazes de reconhecer os antígenos exógenos processados e os linfócitos T auxiliares (*helper*). O CD4 é um receptor para as moléculas do complexo principal de histocompatibilidade – MHC, de classe II, das células apresentadoras de antígenos. O CD8, por outro lado, é expresso somente nos linfócitos T que combatem e destroem células anormais, o linfócito T citotóxico. O CD8 é um receptor para as moléculas do MHC classe I. Todas as espécies possuem um conjunto de genes denominado MHC, cujos produtos são de importância para o reconhecimento intercelular e a discriminação do que é próprio e não-próprio (TIZARD, 2014).

O termo imunoglobulina é usado para descrever todos os BCRs solúveis. A classe encontrada em maior concentração no soro é chamada de IgG; a classe com a segunda maior concentração (na maioria dos mamíferos) é a IgM; e a terceira classe mais abundante é a IgA. Entretanto, IgA é a predominante em secreções como saliva, leite e fluido intestinal (TIZARD, 2014).

A principal modificação da resposta imunológica, que ocorre com a idade, é o declínio na função das células T. A imunossenescência está relacionada a uma redução na proporção de linfócitos T capazes de produzir a IL-2, potente estimulador de proliferação (VEIGA,

2013). As células T de animais idosos perdem sua capacidade de progresso por meio do ciclo celular, apresentando uma diminuição das respostas aos mitógenos (TIZARD, 2014).

Em geral, existe uma diminuição relativa dos linfócitos CD4⁺ circulantes (com desequilíbrio entre as subpopulações Th1 *versus* Th2) e um aumento aparente nos linfócitos CD8⁺, com uma redução na razão CD4: CD8. Estas células circulantes são, predominantemente, células de memória, com poucas células *náive* remanescentes em animais mais velhos. Por outro lado, há indícios em que a resposta humoral permanece inalterada. Animais senis têm títulos persistentes de anticorpos no soro, a concentração de imunoglobulina G (IgG) permanece inalterada e ocorre a elevação da concentração de anticorpos do tipo A (IgA) no soro e nas mucosas (DAY, 2012).

Os animais idosos são capazes de montar respostas humorais primárias a novos antígenos, mas a magnitude desse evento é geralmente reduzida em relação aos títulos alcançados em animais mais jovens (DAY, 2010, 2012). Um estudo recente com cães que receberam vacina antirrábica pela primeira vez mostrou redução significativa nos títulos de anticorpos e um correspondente aumento na falha da vacina em animais idosos (TIZARD, 2014).

3. O CONCEITO DE *INFLAMMAGING* E A SARCOPENIA

O conceito de *inflammaging* consiste na existência de um estado de inflamação crônica, subclínica, de baixo grau, relacionada com o envelhecimento, em que há produção aumentada de mediadores pró-inflamatórios (como IL-6, TNF- α e IL-1 β) (GONÇALVES, 2015). São indicadores preditivos da incapacidade funcional, fragilidade e mortalidade (WEISKOPF; WEINBERGER; GRUBECK-LOEBENSTEIN, 2009; BAYLIS *et al.*, 2013; FRANCESCHI *et al.*, 2014).

O termo *inflammaging* foi proposto, pela primeira vez, pelo Dr. Franceschi e colaboradores, em 2000 (FRANCESCHI *et al.*, 2000). É o estado inflamatório crônico de baixo grau que caracteriza o envelhecimento. A inflamação é centrada nos macrófagos, envolve vários tecidos e compartimentos, inclusive a microbiota intestinal. É caracterizado por um equilíbrio complexo entre as respostas pró e anti-inflamatórias, sendo que o resultado da inflamação depende do equilíbrio entres esses dois mecanismos (FRANCESCHI *et al.*, 2016).

Investigações neste domínio tem atraído a atenção de pesquisadores em muitos campos, contribuindo com progressos significativos na última década. Contudo, os

mecanismos subjacentes pelos quais o *inflammaging* interage nas alterações patológicas e no desenvolvimento de doenças ainda não são claros (XIA *et al.*, 2016). Supõe-se que a principal fonte de estímulos inflamatórios seja por moléculas endógenas alteradas, resultantes de danos e ou morte. Células e organelas (detritos celulares), reconhecidas pelos receptores do sistema imune inato, enquanto a sua produção é fisiológica e aumenta com a idade, a eliminação pelo proteassoma via autofagia β , progressivamente, diminui. Este processo "auto-reativo / auto-imune" favorece o início de envelhecimento ou doenças crônicas que podem acelerar e propagar o processo (FRANCESCHI *et al.*, 2016).

Os debris celulares resultantes de lesões orgânicas podem mimetizar os produtos bacterianos e atuar como um dano endógeno associado a padrões moleculares, os quais ativam a imunidade inata. Componentes de organelas, radicais livres provenientes de estresse oxidativo, metabólitos como ATP extracelular, ácidos graxos, cristais de urato, ceramidas, cardiolipina, amilóide, succinato, peroxidado lipídios peroxidado e produtos finais de glicação avançada, são reconhecidos por uma rede de sensores (inclusive inflamassomos) e são classificados como “danosos”, desencadeando reações imunes que são necessárias para o reparo fisiológico (FRANCESCHI; CAMPISI, 2014).

Uma segunda fonte de inflamação pode ser representada por produtos nocivos produzidos pelos constituintes microbianos do organismo, tal como a microbiota oral ou intestinal, as quais podem extravazar para os tecidos circundantes e para a circulação. Presumivelmente, a capacidade do intestino de sequestrar estes microrganismos ou os seus produtos diminuem com a idade, acarretando uma inflamação crônica de baixo grau. A própria microbiota intestinal pode mudar com a idade e estimular respostas imunes (FRANCESCHI ; CAMPISI, 2014).

As mitocôndrias desempenham um papel importante na ativação do *inflammaging* e na ativação do inflamassomo Nlrp3³. A maioria dos ativadores do inflamassomo Nlrp3 induzem a geração de espécies reativas de oxigênio (FRANCESCHI ; CAMPISI, 2014).

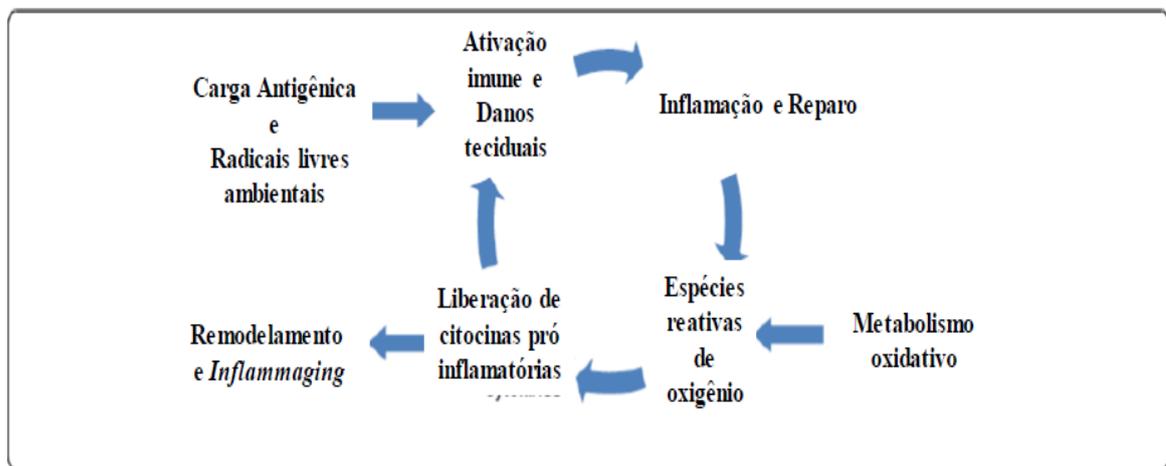
A inflamação crônica também pode ser desencadeada pela senescência. As células senescentes persistentes podem estar relacionadas com patologias associadas à idade, pois as mesmas se acumulam em tecidos e estimulam a secreção de citocinas pró-inflamatórias. Há uma infiltração importante de células senescentes no tecido adiposo. Os lipídios também estimulam a produção de citocinas inflamatórias (FRANCESCHI ; CAMPISI, 2014).

³ Complexo multiproteico que pode ativar pró-caspases 1 em resposta ao perigo celular resultando no processamento e secreção das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IL-18.

A coagulação pode estar relacionada com inflamação crônica. O aumento do estado hipercoagulável, observado com o envelhecimento, pode explicar a maior incidência de trombose venosa nos idosos (FRANCESCHI; CAMPISI, 2014).

Alterações relacionadas à imunossenescência provavelmente contribuem para a inflamação (FRANCESCHI *et al.*, 2014). Acredita-se que a inflamação seja consequência de uma exposição prolongada à carga antigênica causada por infecções clínicas e subclínicas, bem como à exposição a antígenos não infecciosos. A consequente resposta inflamatória, danos teciduais e produção de espécies reativas de oxigênio que causam danos oxidativos, também desencadeiam a liberação de citocinas, principalmente das células do sistema imune inato, mas também em menor grau, a partir da resposta imunológica adaptativa (Figura 2). Isso resulta em um ciclo vicioso, induzindo um remodelamento do sistema imunológico e favorecendo um estado pró-inflamatório, no qual alterações fisiopatológicas, lesões teciduais e a cicatrização ocorrem simultaneamente. Irreversibilidade celular e danos moleculares que não são clinicamente evidentes se acumulam lentamente ao longo dos anos (BAYLIS *et al.*, 2013).

Figura 2 – Ciclo do *inflammaging*



Fonte: Adaptado BAYLIS *et al.*, (2013).

As citocinas são os principais componentes relacionados com a biologia do envelhecimento e o desenvolvimento do *inflammaging*. Dentro deste contexto, a IL-6 apresenta maior importância, pois tem ligação direta com a síndrome da fragilidade do idoso, na qual está inserida a sarcopenia (FRANCESCHI *et al.*, 2016).

Outros mediadores inflamatórios que estão relacionados com as doenças do envelhecimento são a IL-1 β e o TNF α (FRANCESCHI *et al.*, 2014).

Uma investigação comparou a transcrição de genes que codificam um painel de citocinas (predominantemente pró-inflamatórias), em monócitos cultivados de gatos de diferentes faixas etárias. Constatou-se um aumento na transcrição de IL-1 β , IL-6 e IL-12p40. Observou-se um declínio inicial das citocinas na fase juvenil e adulta dos gatos, e um subsequente aumento na idade avançada desses animais. Esses achados são consistentes com o *inflammaging* em felinos (DAY, 2010).

4 SARCOPENIA

4.1 Definição

À medida que se envelhece, ocorrem várias modificações na composição corporal do indivíduo idoso. Entre elas, a redução da massa muscular é a de maior importância clínica e funcional (VALENTE, 2011). Irwin Rosenberg, em 1989, foi o pioneiro a utilizar o termo sarcopenia para descrever essa perda muscular esquelética relacionada com o envelhecimento (SILVA *et al.*, 2006). A palavra sarcopenia deriva dos termos gregos "sarx" (carne) e "penia" (perda) (ROSENBERG, 1997).

Há uma forte relação entre massa muscular e função, sendo o preditor mais significativo de admissão hospitalar: quedas, fraturas, distúrbios da marcha e mortalidade (LEITE *et al.*, 2006; MALAFARINA *et al.*, 2012; EDWARDS; BUEHRING, 2015).

Um conceito mais moderno define a sarcopenia não apenas como o processo de perda da massa muscular relacionada à idade, mas também inclui a perda da força e da função muscular, sendo considerada por muitos autores, como uma síndrome geriátrica (VALENTE, 2011). Entretanto, em setembro de 2016, o processo sarcopênico foi reconhecido como uma entidade patológica, sob a CID-10-CM, que entrou em vigor a partir de 1º outubro de 2016 (ANKER; MORLEY; HAEHLING, 2016).

Embora a sarcopenia já esteja bem estabelecida na medicina humana, poucos estudos foram realizados em cães e gatos, porém os resultados disponíveis apontam que esses animais também perdem massa corporal magra durante o envelhecimento. Um estudo com cães usando análise centesimal (carcaça) demonstrou maior gordura corporal média em cães idosos, em comparação com os cães mais novos, bem como uma diminuição na proteína total do corpo, relacionada com a idade (FREEMAN, 2012).

Em outra pesquisa, correlacionou-se o peso corporal e a composição corporal por Absorciometria de raios X de dupla energia (DEXA) em 48 cães Labradores Retriever saudáveis, a partir de 8 semanas de idade até a morte, identificando-se uma significativa perda de massa magra durante o envelhecimento. Outra análise, com 40 cães Labradores Retriever de 2-13 anos de idade, comparou a massa corporal magra e a massa gorda entre diferentes grupos etários por DEXA e identificou uma relação linear negativa entre idade e massa muscular (FREEMAN, 2012).

Em relação aos felinos, há ainda menos dados disponíveis sobre a sarcopenia. Em um trabalho, foi observada uma pequena mudança entre a proporção de massa muscular e gordura com o avanço da idade; entretanto, a população de estudo era composta de gatos com menos de 10 anos de idade (FREEMAN, 2012).

Em 2012, Hutchinson e colaboradores realizaram um estudo entre cães jovens saudáveis (1-5 anos) e geriátricos saudáveis (> 8 anos) demonstrando que a área média do músculo epaxial, medida por ultrassom (US) e tomografia computadorizada (TC), foi significativamente menor em cães geriátricos saudáveis, em comparação com cães jovens saudáveis. No entanto, mediadores inflamatórios proteína C reativa, TNF α e fator de crescimento insulina símile (IGF-1), como não foram significativamente diferentes entre os grupos. (HUTCHINSON *et al.*, 2012)

4.2 Etiologia e patogênese

Apesar das numerosas publicações disponíveis sobre a sarcopenia, ainda não há consenso sobre as suas causas primárias (MALAFARINA *et al.*, 2012). Múltiplos fatores de risco e vários mecanismos contribuem para o desenvolvimento do processo sarcopênico (VALENTE, 2011). Dentre os principais estão a inatividade física, o aumento da produção de citocinas, a diminuição das concentrações de testosterona e hormônio do crescimento, as alterações nas fibras musculares tipo II, a resistência à insulina e a diminuição da síntese de proteínas (FREEMAN, 2012).

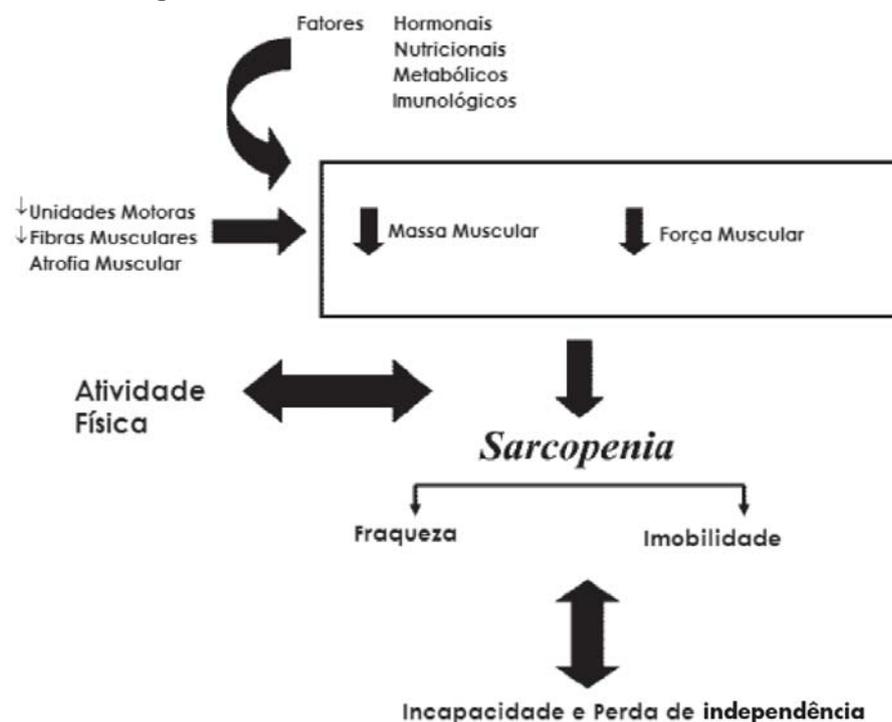
As fibras do tipo I (aeróbias, de contração lenta), parecem ser resistentes à atrofia associada ao envelhecimento, enquanto a área relativa das fibras tipo II (anaeróbias, de contração rápida) declina de 20 a 50% com o passar dos anos (SILVA *et al.*, 2006).

O tecido muscular esquelético (contração voluntária) é constituído por tipos diferentes de fibras, com base na sua velocidade de contração e sua resistência à fadiga, decorrente de estimulação repetida: as fibras de contração lenta (tipo I), inervadas por pequenos neurônios

motores alfa; as fibras glicolítico-oxidativas de contração rápida (tipo IIA) e as glicolíticas de contração rápida (tipo IIB), inervadas por grandes neurônios motores. As fibras do tipo II desenvolvem a tensão duas vezes mais rápido do que as do tipo I, e a velocidade com que a fibra contrai é determinada pela isoforma da ATPase da miosina dos filamentos grossos. As fibras glicolítico-oxidativas utilizam uma combinação do metabolismo oxidativo (fosforilação oxidativa) e glicolítico para a produção de trifosfato de adenosina – ATP; são mais resistentes à fadiga do que as fibras somente glicolíticas e apresentam grande quantidade de mioglobina, assim como as fibras de contração lenta (SILVERTHORN, 2010 *apud* LEITE *et al.*, 2012).

A Figura 3 apresenta os fatores inter-relacionados com o desenvolvimento e progressão da sarcopenia.

Figura 3- Fatores inter-relacionados com o desenvolvimento da sarcopenia



Fonte: Adaptado SILVA *et al* (2006.)

Braga e colaboradores realizaram um estudo em 2016, cujo objetivo foi determinar a porcentagem das fibras musculares tipo I e II, as quais compõem o músculo *Gluteus Medius* em caninos machos e fêmeas da raça Pastor Alemão. A metodologia adotada foi a biopsia percutânea, com análise histológica e histoquímica enzimática, em diferentes faixas etárias. Através deste ensaio, conclui-se que houve redução da porcentagem de fibras de tipo II com idade avançada em cães machos (acima de 7 anos de idade). Com o envelhecimento, ocorre a perda de neurônios motores alfa da medula espinhal, com a subsequente degeneração de seus

axônios, ocasionando redução no recrutamento das unidades motoras e, conseqüentemente, limitação no funcionamento do sistema neuromuscular e aumento da dependência funcional (VALENTE, 2011; LEITE, 2012).

Uma unidade motora consiste de um único neurônio alfa-motor e de todas as fibras musculares que inerva. O mecanismo compensatório do organismo para a perda dos neurônios alfa-motores é produzir moléculas de adesão de células neurais na junção neuromuscular para atrair axônios regeneradores para as células musculares abandonadas. As moléculas de adesão de células neurais aumentam em músculos envelhecidos, sugerindo que a remodelação já ocorre após a denervação relacionada à idade, à medida que os neurônios motores alfa diminuem em número. Como consequência desta remodelação, o tamanho da unidade motora aumenta, isto é, um neurônio individual inerva mais fibras musculares, resultando em menos unidades motoras. Essa reorganização do sistema nervoso com unidades motoras maiores pode ser em parte, responsável pelo controle e coordenação motora menos precisos (JONES, 2009), o que justificaria o surgimento de tremores e fadiga típicos observados em idosos (MALAFARINA *et al.*, 2012). Outro fator desencadeador da perda da massa magra na população geriátrica é uma exposição prolongada e crônica a citocinas pró-inflamatórias, caracterizando o fenômeno de *inflammaging*. A elevação de citocinas constitui um estímulo catabólico (VALENTE, 2011).

O aumento dos níveis circulantes do TNF- α IL-6 e proteína C reativa (PCR), são vistas nos idosos. Essas alterações imunológicas decorrentes da idade estão associadas a um aumento progressivo nos níveis de glicocorticoides, catecolaminas e diminuição do hormônio do crescimento (GH) e hormônios sexuais. Essas características são similares às encontradas durante o estresse crônico (MALAFARINA, *et al.*, 2012).

O aumento das citocinas estimula a ubiquitina-proteossomo, sistema proteolítico responsável por processar e degradar proteínas celulares (TEIXEIRA *et al.*, 2012). Acarreta na elevação da degradação de proteínas, e, além disso, diminui o fator de crescimento insulina símile (IGF-1), o que constitui um desequilíbrio entre a síntese e deterioração de proteínas musculares (SILVA, *et al.*, 2006; VALENTE, 2011).

A deidroepiandrosterona (DHEA), um hormônio esteróide anabolizante, diminui consideravelmente com a idade. (VALENTE, 2011). Na velhice, ocorre uma falha na inibição da produção de IL-6, por meio do DHEA (MALAFARINA *et al.*, 2012).

Os níveis de testosterona declinam com a idade. Em estudos epidemiológicos, esse hormônio apresentou um papel importante na diminuição da massa muscular e em menor

grau, no declínio da força muscular na população idosa. A testosterona provoca um aumento no número de células-satélite musculares (VALENTE, 2011; MORLEY, 2012).

A sarcopenia é comumente associada à infiltração de gordura no músculo, o que contribui também para diminuição da força (MORLEY, 2012), ocasionando fadiga muscular, fragilidade e incapacidade. Nos idosos, um aumento do teor de gordura pode ser visto entre os grupos musculares (tecido adiposo intermuscular) ou entre os fascículos musculares (tecido adiposo intramuscular). O papel catabólico da IL-6 na sarcopenia pode ser exacerbado em indivíduos com sobrepeso ou obesos (MALAFARINA *et al.*, 2012).

O aumento da massa gorda também está associado a baixos níveis de testosterona, GH e aumento do cortisol. Todos esses fatores facilitam o catabolismo muscular, o acúmulo de gordura abdominal e o desenvolvimento de resistência à insulina (VALENTE, 2011; MALAFARINA *et al.*, 2012). Os adipócitos abdominais contribuem com a produção de adipocinas, citocinas e outros mediadores pró-inflamatórios que promovem a manutenção da inflamação crônica (MALAFARINA *et al.*, 2012).

4.3 Modelos animais

Modelos animais para envelhecimento têm sido utilizados há décadas para investigar os mecanismos relacionados à senilidade e intervenções para aumentar a longevidade. Esses modelos animais tem a vida relativamente curta, redução da diversidade genética, fatores ambientais controlados onde são submetidos a avaliações comportamentais e funcionais do soro, urina, bem como a análise de tecidos. Os modelos animais se tornam ferramentas valiosas no estudo de envelhecimento (KANE *et al.*, 2016). Em geral, utiliza-se roedores para estudo do envelhecimento; porém, recentemente, tem havido um crescente reconhecimento de que as abordagens da Gerociência (ciência interdisciplinar que visa compreender a relação entre envelhecimento e doenças relacionadas à idade) podem ter um impacto muito maior na saúde e na doença do que a biomedicina tradicional.

Os cães de companhia compartilham nosso ambiente e o importante papel na melhoria da qualidade de vida de milhões de pessoas. Os caninos também demonstram alterações progressivas em múltiplos órgãos com o avançar da idade e desenvolvem muitas das mesmas doenças e incapacidades dos seres humanos (KAEBERLEIN; CREEVY; PROMISLOW, 2016). A rapidez com que os cães envelhecem, em relação às pessoas, é um grande estímulo quando se trata de investigar os mecanismos de envelhecimento, porque as mudanças

relacionadas à idade são avaliadas em um período muito mais curto (KAEBERLEIN; CREEVY; PROMISLOW, 2016).

Foram constatadas semelhantes informações genóticas, bioquímicas sobre a via GH / IGF-1, e algumas investigações longitudinais limitadas indicam a possibilidade de estudo do cão doméstico como um modelo de envelhecimento (GILMORE; GREER, 2015). Na doença neurodegenerativa, o cão geriátrico demonstra alterações cognitivas e patológicas semelhantes às do ser humano (DAY, 2012).

4.4 Diagnóstico

Os parâmetros para a identificação de sarcopenia são a quantidade de músculo e a sua função. As variáveis mensuráveis são massa, força e desempenho físico (VALENTE, 2011). Vários métodos são utilizados para caracterização da composição corporal, como bioimpedância (estima o valor de gordura e massa muscular por meio da passagem de uma corrente elétrica alternada), US, TC (SILVA *et al.*, 2006). A TC e a ressonância magnética – RM são métodos de muita precisão e são considerados padrão-ouro para a estimativa da massa muscular em pesquisa. (VALENTE, 2011). A DEXA, é uma técnica de análise da composição corporal. Esse método é, atualmente, o procedimento de escolha para a avaliação rotineira da densidade óssea (MALAFARINA *et al.*, 2012).

Na medicina veterinária ainda não está bem estabelecida qual é técnica de análise da composição corporal mais indicada para pequenos animais, embora alguns autores considerem o método DEXA, como já padronizado para gatos (APTEKMANN *et al.*, 2014). Borges e colaboradores avaliaram a precisão do DEXA em quatro felinos mestiços adultos, gonadectomizados, e constatou-se que esse método demonstra ser preciso na estimativa da composição corporal (massa magra e massa gorda) em gatos adultos (BORGES *et al.*, 2008)

Hutchinson *et al.*, testaram métodos clinicamente aplicáveis para avaliar a massa magra em nove cães Labradores Retriever. Utilizou-se o US e o TC para mensurar a musculatura epaxial, que fica ao nível da T13-L1. Concluiu-se que ambas as técnicas podem ser utilizadas na prática clínica de pequenos animais para diagnóstico de sarcopenia.

4.4.1 Diferencial de caquexia

O termo caquexia, deriva do grego “kakos” (ruim) e “hexis” (condição) (MALAFARINA *et al.*, 2012). Nas pessoas e animais de companhia, a caquexia e sarcopenia são dois processos importantes, que ocorrem em uma variedade de doenças crônicas e envelhecimento, respectivamente. Embora a caquexia tenha sido reconhecida em pessoas há mais de 2.000 anos, só recentemente tornou-se reconhecido como um achado comum e prejudicial que está associado com o aumento da morbidade e da mortalidade (FREEMAN, 2012). A caquexia é uma condição clínica que está relacionada com uma doença sistêmica (VALENTE, 2011). O principal sinal clínico é a perda de peso, associado com diminuição da massa muscular, com ou sem perda de gordura. A caquexia ocorre em qualquer idade, diferentemente da sarcopenia, que acomete os idosos (MALAFARINA, 2012).

Caquexia é a perda de massa corporal magra que afeta uma grande proporção de cães e gatos com insuficiência cardíaca congestiva, doença renal crônica, câncer e uma variedade de outras doenças crônicas (FREEMAN, 2012). A característica clínica proeminente da caquexia é perda de peso em adultos (corrigida para retenção de líquidos) ou insuficiência de crescimento em crianças (excluindo distúrbios endócrinos). Anorexia, inflamação, resistência à insulina e aumento da degradação de proteínas musculares são frequentemente associados à caquexia (FREEMAN, 2012; ARGILÉS *et al.*, 2015).

A sarcopenia é semelhante à caquexia, na medida em que é caracterizada por perda de massa muscular, porém é um processo inerente ao envelhecimento, na ausência de doença (FREEMAN, 2012). A perda de peso que ocorre na caquexia é diferente do que é visto em um animal saudável que perde peso. Em um animal saudável, que está a receber calorias suficientes para cumprir os requisitos, adaptações metabólicas permitirão que a gordura seja usada como a fonte de combustível primária, preservando assim, a massa muscular magra. Por outro lado, as doenças agudas e crônicas alteram as concentrações de uma variedade de mediadores (por exemplo, citocinas inflamatórias, catecolaminas, cortisol, insulina e glucagon), que então diminuem a capacidade de fazer adaptações metabólicas necessárias para mudar para a utilização de gordura e aminoácidos continuam a ser utilizados como uma fonte primária de energia (FREEMAN, 2012). A Figura 4 apresenta os aspectos inerentes à caquexia e a sarcopenia.

Figura 4 - Aspectos inerentes à caquexia e sarcopenia

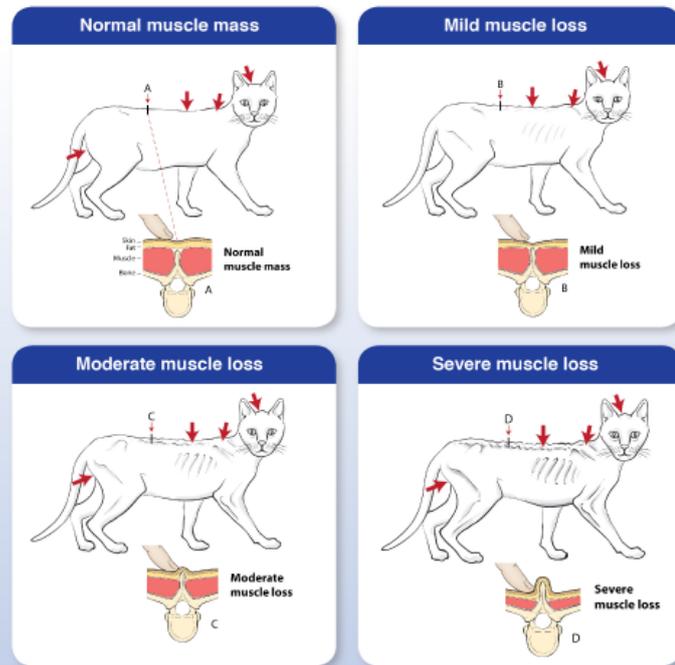


Fonte: Adaptado de Josep et al (2015)

Uma das necessidades mais urgentes na área de pesquisa de caquexia para as pessoas e animais de companhia, é a necessidade de uma definição precisa e uma maneira clinicamente relevante para diagnosticar este processo. Definições atuais em pessoas dependem, principalmente, da perda de peso corporal. A perda de peso total é uma medida insensível da perda muscular, e a utilização da perda de peso como critério de diagnóstico, diminui a capacidade de identificar caquexia até os seus estágios mais avançados, resultando em subdiagnóstico (FREEMAN, 2012).

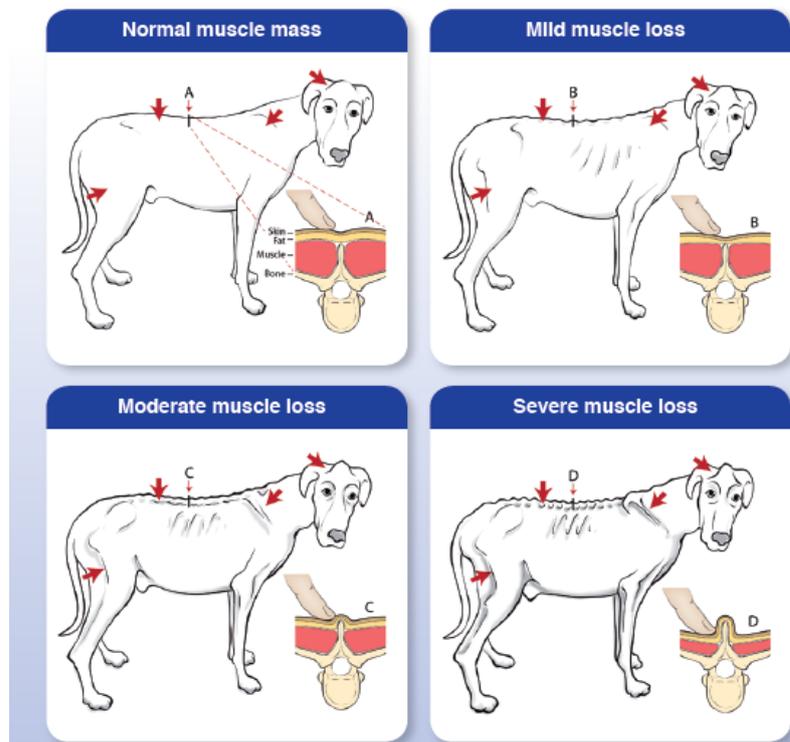
A Dra Lisa Freeman desenvolveu um exclusivo sistema de pontuação de condição muscular pela *World Small Animal Veterinary Association* (WSAVA) para animais domésticos. (Figura 5 e 6).

Figura 5 - Escore de condição muscular para gatos



Fonte: WSAVA (2013)

Figura 6 - Escore de condição muscular para cães



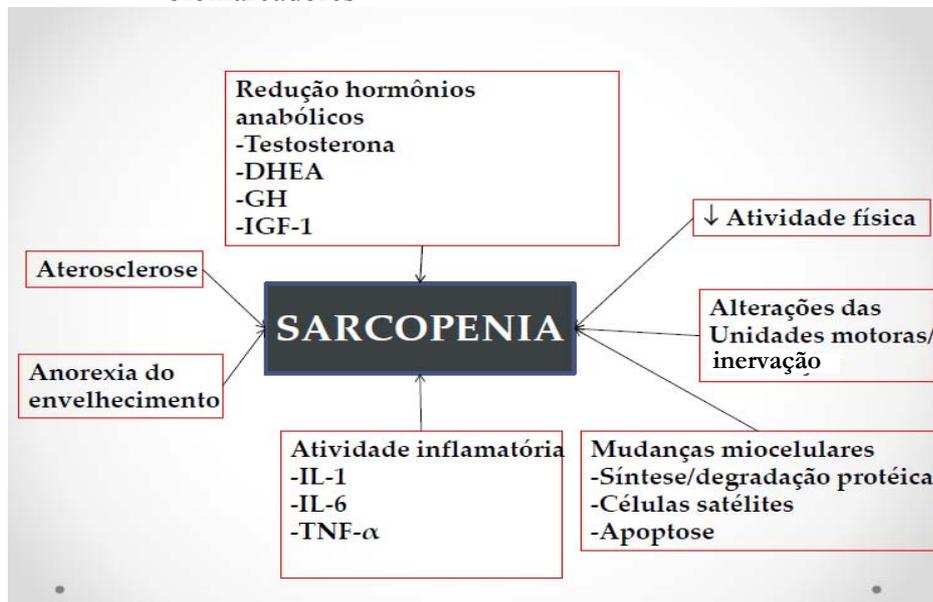
Fonte: WSAVA (2013).

4.4.2 Biomarcadores

O melhor conhecimento da fisiopatologia tem permitido a identificação de marcadores genéticos, bioquímicos e imunológicos que contribuem não só com o diagnóstico das doenças, mas também com a atividade e remissão dos processos patológicos. Marcadores bioquímicos e imunológicos têm mostrado forte associação com câncer de próstata, câncer de intestino, câncer de fígado e de mama, sendo amplamente utilizados como método auxiliar no diagnóstico das doenças autoimunes e doenças inflamatórias crônicas. Marcadores genéticos têm sido associados com várias doenças e espera-se, para o século XXI, um grande avanço no conhecimento sobre o papel de genes no desenvolvimento de doenças inflamatórias, neoplásicas e doenças infecciosas (SCHRIEFER; CARVALHO, 2008).

A sarcopenia não está relacionada apenas à perda e à disfunção contrátil do tecido muscular. A sua fisiopatologia também inclui anormalidades endócrinas, metabólicas e inflamatórias. Portanto, a identificação de um único biomarcador para sarcopenia não seria confiável, devido à sua patogênese multifatorial (Figura 7). O ideal seria o paciente ser avaliado por meio de um painel de biomarcadores de todas as vias envolvidas. Assim, poderíamos identificar biomarcadores de sarcopenia de acordo com diferentes mecanismos fisiopatológicos (CURCIO *et al.*, 2016).

Figura 7 - Mecanismos fisiopatológicos da sarcopenia e biomarcadores



Fonte: FERRIOLI (2012)

Legenda: DHEA - deidroepiandrosterona ; IGF-1 - insulina símile; GH - hormônio do crescimento ; IL-6 - interleucina 6 ; IL-1 – interleucina 1; TNF α - fator de necrose tumoral alfa.

4.5 Medidas terapêuticas

A abordagem terapêutica atual da sarcopenia baseia-se em intervenções farmacológicas e não farmacológicas (VALENTE, 2011). A prática de exercícios de resistência é ainda a intervenção mais efetiva para aumentar a massa e a força muscular nos idosos (SILVA *et al.*, 2006; VALENTE, 2011; MALAFARINA *et al.*, 2012), embora ainda não se saiba por quanto tempo durarão seus efeitos após sua suspensão (MALAFARINA *et al.*, 2012). Um estudo realizado em ratos evidenciou que o exercício físico conseguiu reverter a apoptose da musculatura esquelética (VALENTE, 2011). É importante ressaltar que a sarcopenia pode ser prevenida, retardada ou parcialmente revertida, por meio de treinamentos para o incremento da força, potência e resistência muscular (VALENTE, 2001; SILVA *et al.*, 2006; LEITE *et al.*, 2012). Pesquisas têm demonstrado que a suplementação de quantidade moderada de aminoácidos não essenciais estimula a síntese proteica em idosos (VALENTE, 2011), embora alguns estudos não tenham constatado a melhora do anabolismo proteico nos pacientes geriátricos (SILVA, 2006; VALENTE, 2011).

Atualmente, muitas drogas estão sendo testadas, tais como a grelina e miostatina. A grelina é um ligante endógeno para o receptor de secretagogo do hormônio do crescimento,

secretado principalmente por células endócrinas gástricas em resposta ao jejum e subsequentemente resulta numa ingestão alimentar aumentada, além de ser um inibidor de miostatina que, por sua vez, é inibidor natural do crescimento muscular (MALAFARINA *et al.*, 2012). Segundo dados de uma pesquisa recente com roedores adultos e velhos, a inibição da miostatina aumentou significativamente a massa muscular nesses animais (WHITE; LEBRASSEUR, 2014).

O uso de ácidos graxos ômega-3 em uma dieta altamente enriquecida ou através de suplementos, pode ter uma série de benefícios em animais com doenças que predisõem à caquexia ou em animais sarcopênicos. Os ácidos graxos ômega-3 podem diminuir a produção de TNF e IL-1 (FREEMAN, 2012).

A reposição de testosterona apresenta resultados inconsistentes em diferentes estudos (VALENTE, 2011; MALAFARINA *et al.*, 2012). A administração de testosterona demonstrou um aumento na massa muscular de indivíduos idosos; entretanto, esse tratamento tem sido associado a efeitos adversos graves (MALAFARINA *et al.*, 2012).

Estudos atuais indicam que a suplementação com hormônio de crescimento – GH melhora a composição corporal ao aumentar a massa muscular, porém não há indicativos quanto ao incremento da força muscular. Também está associado ao surgimento de efeitos colaterais em idosos. O uso DHEA para idosos, apesar de aumentar a densidade óssea, não se demonstrou eficaz quanto ao aumento da massa e da força muscular (VALENTE, 2011; MALAFARINA *et al.*, 2012). Os níveis de 25-OH-vitamina D diminuem com a idade. Estudos apontam que suplementação de vitamina D em idosos melhorou a força muscular e o desempenho físico (VALENTE, 2011).

5 CONCLUSÃO

O envelhecimento é um processo biológico complexo que causa o declínio das funções do organismo e invariavelmente termina por levar o animal a morte. Dentre as maiores alterações provocadas por esse fenômeno, se destaca a imunossenescência que modifica as respostas imunológicas e implica no aumento de doenças autoimunes, neoplasias e infecções. O envelhecimento do sistema imune culmina com um estado de inflamação crônica (*inflammaging*). Essa condição, associada a uma exposição contínua de antígenos em cães e gatos faz com que a imunossenescência seja um dos fatores chave para o desencadeamento da sarcopenia.

Portanto, são necessário maiores estudos sobre a patogênese do processo sarcopênico, pois é uma enfermidade incapacitante que diminui a qualidade de vida dos animais geriátricos.

REFERÊNCIAS

- AGONDI, R. C.; RIZZO, J. K.; BARROS, M. T. Imunossenescência. **Revista Brasileira de Alergologia e Imunopatologia**, São Paulo, v. 35, n. 5, p. 169-176, 2012.
- ANJOS, M.C.G.; PASSOS, L. F. S.; MALHEIRO, A. Efeitos do condicionamento físico sobre a imunossenescência. **Revista Geriatria & Gerontologia**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 1, p. 60-67, 2013.
- ANKER, S. D.; MORLEY, J. E.; HAEHLING, S. Welcome to the ICD-10 code for sarcopenia. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 7, n. 5, p. 512-514, Dec. 2016.
- APTEKMANN, K. P.; MENDES Jr, A. F.; PASSOS, C. B. Comparação dos diferentes métodos de avaliação corporal em felinos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 2, p. 215-218, 2014.
- ARGILÉS, J. M.; BUSQUETS, S.; STEMMLER, B.; LÓPEZ-SORIANO, F. J. Cachexia and Sarcopenia: Mechanisms and Potential Targets for Intervention. **Current Opinion in Pharmacology**, Oxford, v. 22, p. 100-106, 2015.
- BAYLIS, D. *et al.* Understanding how we age: insights into Inflammaging. **Longevity & Healthspan**, London, v. 2, n. 1, p. 2-8, May 2013.
- BELLOWS, J. *et al.* Common physical and functional changes associated with aging in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 246, n. 1, p. 67-73, Jan. 2015.
- BRAGA, S. A.; PADILHA, F. G. F.; FERREIRA, A. M. R. Evaluation of muscle fiber types in german shepherd dogs of different ages. **The Anatomical Record**, v. 299, p. 1540-1547, 2016.
- BORGES, N. C. *et al.* Precisão da técnica de absorciometria de raios-x de dupla energia na determinação da composição corporal em gatos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 263-266, 2008.
- CARVALHO FILHO, E. T. Fisiologia do envelhecimento. *In*: PAPALÉO NETTO, M. (Ed.). **Tratado de Gerontologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 2007, cap. 8, p. 105.
- CONTI, B. J.; SANTIAGO, K. B.; SFORCIN, J. M. Células dendríticas: mini-revisão. Dendritic cells: a short review. **Biosaúde**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 28-33, 2014.
- CURCIO, F. *et al.* Biomarkers in sarcopenia: a multifactorial approach. **Experimental Gerontology**, v. 85, p. 1-8, 2016.
- DAY, M. J. Ageing, Immunosenescence and inflammaging in the dog and cat. **Journal of Comparative Pathology**, Liverpool, v. 142, p. S60-S69, Jan. 2010.
- DAY, M. J.; SHULTZ, R. **Veterinary immunology: principles and practice**. 2. ed. London: Manson Publishing, 2012.

EDWARDS, M. H.; BUEHRING, B. Novel approaches to the diagnosis of sarcopenia. **Journal of Clinical Densitometry: Assessment & Management of Musculoskeletal Health**, v. 18, n. 4, p. 472-477, 2015.

EFFROS, R. B. Roy Walford and the immunologic theory of aging. **Immunity & Ageing**, London, v. 2, n. 7, p. 1-3, Apr. 2005.

FERRIOLI, E. Fragilidade e Sarcopenia. Fóruns Permanentes Esporte e Saúde, Universidade Estadual de Campinas. Disponível em: <http://www.foruns.unicamp.br/foruns/projetocotuca/biblioteca_virtual/arquivos/EDUARDO%20FERRIOLLI.pdf>. Acesso em 12 dez. 2016.

FORTNEY, W. D.; HOSKINS, J.D. **Geriatrics e gerontologia do cão e gato**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008.

FRANCESCHI, C. B. M. *et al.* Inflamm-aging: an evolutionary perspective on immunosenescence. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 908, p. 244-254, June 2000.

FRANCESCHI, C.; CAMPISI, J. Chronic Inflammation (Inflammaging) and Its Potential Contribution to Age-Associated Diseases. **Journal of Gerontology: Biological Sciences**, v. 69, p. S4-S9, 2014.

FRANCESCHI, C. *et al.* Inflammaging and ‘Garb-aging’. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2016.09.005>>. Acesso em: 10 dez. 2016.

FREEMAN, L. M. Cachexia and sarcopenia: emerging syndromes of importance in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 26, n. 1, p. 3-17, Jan./Feb. 2012. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1939-1676.2011.00838.x/full>>. Acesso em: 2 dez. 2016.

GILMORE, K. M.; GREER, K. A. Why is the dog an ideal model for aging research? **Experimental Gerontology**, Tarrytown, v. 71, p. 14-20, nov. 2015.

GONÇALVES, D. F. R. **O envelhecimento e a autoimunidade**: artigo de revisão. 2015. 78 f. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal, 2015.

HABERTHUR, K. *et al.* Immune senescence in aged nonhuman primates. **Experimental Gerontology**, v. 45, p. 655-661, 2010.

HUTCHINSON, D.; SUTHERLAND-SMITH, J.; WATSON, A. L.; FREEMAN, L. M. Assessment of methods of evaluating sarcopenia in old dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 73, n. 11, p. 1794-1800, Nov. 2012.

JONES, T.E. *et al.* Sarcopenia: mechanisms and treatments. **Journal of Geriatric Physical Therapy**, La Crosse, v. 32, n. 2, p. 83-89, 2009.

KAEBERLEIN, M., CREEVY, K.E.; PROMISLOW, D.E.L. The dog aging project: translational geroscience in companion animals. **Mammalian Genome**, v. 27, p. 279-288, 2016.

KANE, A. E. *et al.* Animal models of frailty: current applications in clinical research. **Clinical Interventions in Aging**, v. 11, p. 1519-1529, 2016.

KINOSHITA, D. Alterações do sistema imunológico relacionadas ao envelhecimento e suas consequências. **Revista da Universidade Ibirapuera**, São Paulo, v. 7, p. 11-19, jan./jun. 2014.

LEITE, L. E. A. *et al.* Envelhecimento, estresse oxidativo e sarcopenia: uma abordagem sistêmica. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 2, p. 365-380, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1809-98232012000200018> Acesso em: 2 dez. 2016.

LINDSTROM, T. M.; ROBINSON, W. H. Rheumatoid arthritis: a role for immunosenescence? **Journal of the American Geriatrics Society**, Malden, v. 58, n. 8, p. 1565-1575, 2010.

MALAFARINA, V. *et al.* Sarcopenia in the elderly: diagnosis, physiopathology and treatment. **Maturitas**, Amsterdam, v. 71, n. 2, p. 109-114, 2012.

MORLEY, J. E. Sarcopenia in the elderly. **Family Practice**, Oxford, v. 29, Apr, 2012. Suplemento 1. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22399555>>. Acesso em: 2 dez. 2016.

MULLER, L.; FULOP, T.; PAWELEC, G. Immunosenescence in vertebrates and invertebrates. **Immunity & Ageing**, v. 10, p. 12, 2013.

OLIVIERI, F.; DOMENICO, A. P.; MONTGOMERY, R. R. Effect of aging on microRNAs and regulation of pathogen recognition receptors. **Current Opinion in Immunology**, Philadelphia, v. 29, p. 29-37, Aug. 2014.

PANDA, A. *et al.* Human innate immunosenescence: causes and consequences for immunity in old age. **Trends in Immunology**, Oxford, v. 30, n. 7, p. 325-333, July 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19541535>>. Acesso em: 2 dez. 2016.

SALA, S.C. A geriatria em pequenos animais. *In*: Geriatria canina e felina. São Paulo: Editora MedVet, 2014, cap. 1, p. 3-8.

SILVA, T. A. de A.; JUNIOR, A. F.; PINHEIRO, M. M.; SZEJNFELD, V. L. Aspectos Etiológicos e Opções Terapêuticas. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 46, n.6, p. 391-397, nov./dez. 2006.

SCHRIEFER, A.; CARVALHO, E. M. Biomarcadores em Medicina. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 78, p. 47-51, 2008.

SCHULTZ, R.D. *et al.* Age and long-term protective immunity in dogs and cats. **Journal of Comparative Pathology**, v. 142, p. S102-S108, 2010.

SOLANA, R.; TARAZONA, R; GAYOSO, I; LESUR, O; DUPUIS, G; FULOP, T. Innate immunosenescence: effect of aging on cells and receptors of the innate immune system in humans. **Seminars in Immunology**, v. 24, n. 5, p. 331-341, Oct. 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22560929>> Acesso em: 02 dez. 2016.

TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária**. 9ª ed. Ed. Elsevier: Rio de Janeiro, 2014.

VALENTE, M. **Sarcopenia**. In.: Tratado de geriatria e gerontologia. Elizabete Viana de Freitas et al. 3 ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

VEIGA, A. M. V. da. **Imunidade e Envelhecimento**. In.: Tratado de geriatria e gerontologia/ Elizabete Viana de Freitas et al. 3 ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

VOGT, A.H. *et al.* AAFP-AAHA feline life stage guidelines. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 46, p. 70-85, 2010.

WEISKOPF, D.; WEINBERGER, B.; GRUBECK-LOEBENSTEIN, B. The aging of the immune system. **Transplant International**, v. 22, p. 1041-1050, Jul. 2009.

WHITE, T.A.; LEBRASSEUR, N.K. Myostatin and sarcopenia: opportunities and challenges – a mini-review. **Gerontology**, v.60, p. 289-293, Jan. 2014.

WSAVA, WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION. **Muscle condition score [cats]**. Ontario, 2014. Disponível em: <<http://www.wsava.org/sites/default/files/Muscle%20condition%20score%20chart-Cats.pdf>>. Acesso em: 10 dez. 2016

WSAVA, WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION. **Muscle condition score [dogs]**. Ontario, 2013. Disponível em: <<http://www.wsava.org/sites/default/files/Muscle%20condition%20score%20chart%202013.pdf>>. Acesso em: 10 dez. 2016

XIA, S. *et al.* An Update on Inflamm-Aging: Mechanisms, Prevention, and Treatment. **Journal of Immunology Research**, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2016/8426874>>. Acesso em: 10 dez. 2016.