

**ANÁLISES DOS NÍVEIS SOLÚVEIS DE *PROGRAMMED DEATH-LIGAND*
1 (SPD-L1) EM JOVENS E IDOSOS**

**ANALYSIS OF THE SOLUBLE LEVELS OF PROGRAMMED DEATH-
LIGAND 1 (SPD-L1) IN YOUNG AND ELDERLY**

Vinícius Rafael Agostinho Gomes ^{1,3}; Lucas Bezerra Alves Gomes ^{1,3}; Gabrielly Aguiar de Lima Silva ^{1,3}; Vitória Ferreira David Melquídes ^{1,3}; Maria Eduarda Borges Kerstenetzky ^{1,3}; Amanda Forte Mendes Tejo Salgado ^{1,3}; Eduardo Jorge Abrantes da Fonte, MD ^{1,3}; Gabriela Lucena de Almeida, MD ^{1,3}; Marina Cadena da Matta, PhD ^{1,2}; Leuridan Cavalcante Torres, PhD ^{1,2}.

¹ Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP), Recife, Brasil

² Laboratório de Pesquisa Translacional Prof CA Hart, IMIP, Recife, Brazil

³ Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS), Recife, Brasil

Reconhecimento de apoio ao estudo: Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS), através do Programa de Iniciação Científica (PIC)

Autor correspondente: Vinícius Rafael Agostinho Gomes

Telefone pessoal: (81) 99562-6053

E-mail: viniciusrafael8@gmail.com

Os autores negam quaisquer conflitos de interesse no desenvolvimento desta pesquisa.

RESUMO

Objetivo: o objetivo do estudo foi avaliar os níveis séricos de sPD-L1 em idosos e adultos jovens. **Métodos:** Foi realizado um estudo de corte transversal, exploratório e translacional no Serviço de Geriatria do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP) e Laboratório Multiusuário de Pesquisa Translacional do IMIP no período de agosto de 2018 a julho de 2019. Foram avaliados 57 pacientes idosos com idade ≥ 60 e < 70 anos ($n=42$); e ≥ 70 e < 80 anos ($n=15$). Do grupo de idosos, 40 eram do sexo feminino com média de idade de 66 anos (± 11 anos), e 17 do sexo masculino com média de idade 66,5 (± 9 anos). No grupo de adultos jovens (> 18 e < 59 anos), foram 39 indivíduos, sendo 29 do sexo feminino com média de idade de 47 anos ($\pm 8,5$) e 10 do sexo masculino com média de idade de 46,5 anos ($\pm 18,5$). A concentração solúvel do ligante de PD (sPDL1) foi determinada por ensaio imunoenzimático. Nas análises entre grupos foram realizados os testes não paramétricos de Mann-Whitney na comparação entre dois grupos, e de Kruskal-Wallis para comparação entre três grupos com correção de Dunn's. Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$. As análises foram realizadas no programa Graphpad v7.0. **Resultados:** Os níveis séricos de sPD-L1 foram diminuídos nos idosos quando comparados aos adultos jovens ($p < 0,0001$; Figura 1A). Os níveis séricos de PD-L1 nos idosos com faixas etárias entre ≥ 60 e < 70 anos e entre ≥ 70 e < 80 anos foram diminuídos quando comparados aos adultos jovens (< 59 anos; $p < 0,05$). Não foi observada diferença significativa entre os grupos de idosos com diferentes faixas etárias. Verificou-se níveis elevados de sPD-L1 no grupo do sexo feminino quando comparado ao grupo masculino ($p < 0,0001$). No grupo de idosos, não foi observada diferença significativa entre o sexo feminino e masculino. **Conclusão:** Conclui-se que o sPD-L1 está envolvido no processo de envelhecimento e é independente da faixa etária do idoso. A molécula de sPD-L1 pode ser regulada pelos hormônios femininos nas diferentes fases do ciclo menstrual. Os resultados desse estudo servem como referência para análises comparativas dos níveis encontrados de PDL1 solúveis entre idosos com patologias que envolvam a resposta imune.

Palavras chaves: idosos, imunossenescência, PDL1

ABSTRACT

Objective: The aim of the study was to evaluate serum sPD-L1 levels in the elderly and young adults. **Methods:** A cross-sectional, exploratory and translational study was performed at the Geriatrics Service of the Professor Fernando Figueira Institute of Integral Medicine (IMIP) and the IMIP Multilingual Translational Research Laboratory from August 2018 to July 2019. A total of 57 patients were evaluated. elderly patients aged ≥ 60 and <70 years ($n = 42$); and ≥ 70 and <80 years ($n=15$). Of the elderly group, 40 were female with a mean age of 66 years (± 11 years), and 17 males with a mean age of 66.5 (± 9 years). In the group of young adults (> 18 and <59 years), there were 39 individuals, 29 females with a mean age of 47 years (± 8.5) and 10 males with a mean age of 46.5 years. (± 18.5). Soluble concentration of PD binder (sPDL1) was determined by enzyme immunoassay. In the analyzes between groups, nonparametric Mann-Whitney tests were performed in the comparison between two groups, and Kruskal-Wallis for comparison between three groups with Dunn`s correction. Values of $p <0.05$ were considered significant. Analyzes were performed using Graphpad v7.0 software. **Results:** Serum sPD-L1 levels were decreased in the elderly compared to young adults ($p <0.0001$; Figure 1A). Serum PD-L1 levels in the elderly aged ≥ 60 to <70 years and ≥ 70 to <80 years were decreased compared to young adults (<59 years; $p <0.05$). No significant difference was observed between the elderly groups with different age groups. High levels of sPD-L1 were found in the female group compared to the male group ($p <0.0001$). In the elderly group, no significant difference was observed between females and males. **Conclusion:** It is concluded that sPD-L1 is involved in the aging process and is independent of the age group of the elderly. The sPD-L1 molecule can be regulated by female hormones at different stages of the menstrual cycle. The results of this study serve as a reference for comparative analyzes of soluble PDL1 levels found among the elderly with pathologies involving the immune response.

Keywords: elderly, immunosenescence, PDL1.

1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento populacional é um fenômeno mundial impulsionado pelo aumento da expectativa de vida e pela queda das taxas de fertilidade¹. Estima-se que a população mundial com 60 anos ou mais passará de 900 milhões em 2015 para 2 bilhões em 2050, e que o Brasil será o quinto país do mundo em número de idosos até 2050². Segundo a Organização Mundial da Saúde (2002), considera-se como idoso a pessoa com 60 anos ou mais em países em desenvolvimento, e com 65 anos ou mais em países desenvolvidos².

O envelhecimento é um processo gradual caracterizado por uma perda progressiva da integridade fisiológica, levando a um comprometimento de função e consequentemente um maior risco ao desenvolvimento de doenças agudas e crônicas, bem como ao aumento do risco de incapacidade física e cognitiva^{3,4}. Além disso, o envelhecimento está associado a mudanças dos mecanismos imunológicos, um processo denominado imunossenescência, que se refere à gradual adaptação do sistema imune durante o avançar da idade⁵. As mudanças que ocorrem no sistema imune durante o envelhecimento podem aumentar a suscetibilidade a infecções, menor resposta a vacinação, maior índice de fenômenos autoimunes, neoplásicos e degenerativos⁶.

A imunossenescência pode determinar alterações dos genes supressores de tumor e, com isso, menor proteção ao processo de carcinogênese ou a combinação de vários mecanismos que levam à perda da homeostase e ao dano do DNA⁷. A senilidade tem um impacto sobre o fenótipo e as funções das células do sistema imune. Defeitos associados à idade são observados na ativação de todas as células da imunidade inata, como nas células *natural killer* (NK), monócitos e células dendríticas, devido ao comprometimento das vias de sinalização que alteram a produção de citocinas⁸.

A imunossenescência também repercute sobre a resposta imune celular, com a diminuição dos percentuais de linfócitos TCD8+ e TCD4+ circulantes e na atividade funcional destas células e dos seus fatores transcripcionais⁹. No idoso prevalece a resposta T efetora do tipo Th2, com produção de citocinas IL-4, IL-5 e IL-13 e diminuição da resposta do tipo Th1 que é responsável pela resposta as infecções virais, bacterianas, e anti-tumorais. Os baixos percentuais de células T *naïve* encontradas no idoso promove diminuição na diversidade de repertório antigênico, o que reduz a capacidade de resposta aos novos antígenos. Além das células T, temos o outro braço da resposta imune afetado, como a resposta imune humoral, por meio de mudanças intrínsecas tanto funcionais como

fenotípicas nas células B durante o envelhecimento¹⁰. As mudanças a resposta de células T associadas ao envelhecimento parecem ter o maior impacto na imunossenescência¹¹.

Quando as células do sistema imune entram em “exaustão”, estão envolvidos alguns mecanismos que promovem inibição da resposta imune celular, através da expressão de receptores antagonistas presentes na superfície celular dos linfócitos T. Esses receptores abrangem um grupo de moléculas que funcionam na sinapse imunológica para inibir a função das células T, sendo receptores com função oposta dos receptores co-estimuladores CD28 que estimulam a resposta imunológica¹². Durante a última década, vários membros co-receptores inibidores foram relacionados com o fenômeno de "exaustão" da célula T, incluindo *Programmed Death 1* (PD-1) e CTLA-4¹³.

A molécula PD-1 é um membro da família dos receptores CD28 e atenua as respostas imunes por regular negativamente a proliferação e a atividade funcional de células T. A expressão de PD-1 nas células T ativadas, especialmente nas T reguladoras, aumenta a sua função supressora da resposta imune¹⁴. O efeito inibitório de PD-1 sobre a ativação de linfócitos T é mediada pela interação com os ligantes PD-L1 e PD-L2. Especialmente, a interação PD-1/PD-L1 modula negativamente a resposta imune pela diminuição da produção de citocinas^{15,16} e induz a anergia dos linfócitos T e a apoptose celular^{17,18}.

As moléculas PD-1 e PD-L1, assim como outros co-receptores de inibição, podem se apresentar em duas configurações: como receptores expressos na superfície das células e na forma de proteínas solúveis (sPD-1 e sPD-L1), geradas a partir do processo de clivagem dessas moléculas, nos sítios presentes na superfície celular¹⁹. As formas solúveis de tais moléculas têm um importante papel na regulação dos sinais co-inibidores.

Diante disso, o conhecimento das mudanças no sistema imunológico durante o envelhecimento permite o entendimento sobre os fatores que concorrem com o surgimento das doenças mais prevalentes no idoso. Dessa forma, o objetivo do estudo foi avaliar os níveis séricos de sPD-L1 em indivíduos idosos e adultos jovens, visando estabelecer valores de referências, uma vez que faltam ferramentas que indiquem a dosagem de sPD-L1 como componente importante da imunorregulação.

2. MATERIAIS E METODOS

2.1 Desenho e participantes do estudo

Foi realizado um estudo de corte transversal, exploratório e translacional no Serviço de Geriatria do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP) e Laboratório Multiusuário de Pesquisa Translacional do IMIP no período de agosto de 2018 a julho de 2019.

Esta pesquisa atende aos requisitos da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde do Brasil referente a pesquisas em seres humanos. Os pacientes incluídos no estudo foram esclarecidos quanto aos objetivos, protocolo de tratamento, efeitos adversos e a não obrigatoriedade da participação, mediante consentimento informado. Após essa etapa, foram aplicados os protocolos clínicos e realizada a coleta de sangue periférico. As análises do sangue foram realizadas no Laboratório de Pesquisa Translacional do IMIP.

Foram avaliados 57 pacientes idosos com idade ≥ 60 e < 70 anos ($n=42$); e ≥ 70 e < 80 anos ($n=15$). Do grupo de idosos, 40 eram do sexo feminino com média de idade de 66 anos (± 11 anos), e 17 do sexo masculino com média de idade 66,5 (± 9 anos).

No grupo de adultos jovens (> 18 e < 59 anos), foram 39 indivíduos, sendo 29 do sexo feminino com média de idade de 47 anos ($\pm 8,5$) e 10 do sexo masculino com média de idade de 46,5 anos ($\pm 18,5$).

Foram critérios de exclusão da pesquisa, indivíduos em uso de hemoderivados há um mês ou menos; doenças reumatológicas com descompensação aguda; história clínica de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana 1 e 2 (HIV 1 e 2), vírus linfotrópico humano 1 e 2 (HTLV 1 e 2) e neoplasias.

2.2 Ensaio imunoenzimático

Foram coletados 4 mL de sangue venoso dos participantes em tubo plástico sem anticoagulante (seco) e o soro foi separado por meio de centrifugação a 300 xg por 5 min à temperatura de 4 °C.. Os níveis solúveis de PD-L1 (sPD-L1) foram detectados nas amostras de soro, sendo realizadas a dosagens pela técnica imunoenzimática (ELISA, do inglês *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), utilizando o kit comercial *PD-L1/B7-H1 DuoSet* (R&D Systems, Minneapolis, MN). As detecções de sPDL1 foram realizadas

conforme protocolo disponibilizado pelo fabricante (R&D Systems). A leitura da absorbância foi realizada utilizando a leitora de placas Human Reader HS (Human, Wiesbaden, Germany). A leitura das absorbâncias foi realizada em um comprimento de onda de 450 nm. As concentrações foram expressas em pg/mL.

2.3 Análises estatísticas

Na análise descritiva dos dados foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk para avaliar a distribuição das amostras. As variáveis contínuas com distribuição normal foram apresentadas em média e desvio-padrão, e as variáveis sem distribuição normal, em mediana e intervalo interquartil (IQR: 25-75).

Nas análises entre grupos foram realizados os testes não paramétricos de Mann-Whitney na comparação entre dois grupos, e de Kruskal-Wallis para comparação entre três grupos com correção de Dunn`s. Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$. As análises foram realizadas no programa Graphpad v7.0.

3. RESULTADOS

3.1 Análise dos níveis de sPD-L1 entre os grupos de idosos e adultos jovens

Os níveis séricos de sPD-L1 foram diminuídos nos idosos quando comparados aos adultos jovens ($p < 0,0001$; Figura 1A). Os níveis séricos de SPD-L1 nos idosos com faixas etárias entre ≥ 60 e < 70 anos e entre ≥ 70 e < 80 anos foram diminuídos quando comparados aos adultos jovens (< 59 anos; $p < 0,05$). Não foi observada diferença significativa entre os grupos de idosos com diferentes faixas etárias (Figura 1).

Na Figura 2, verificamos níveis elevados de sPD-L1 no grupo do sexo feminino quando comparado ao grupo masculino ($p < 0,0001$). No grupo de idosos, não foi observada diferença significativa entre o sexo feminino e masculino.

4. DISCUSSÃO

Existem três principais razões que podem ser sugeridas para imunossenescência: (i) involução tímica resultando em redução drástica da produção de células T *naïve*; (ii) mudanças na composição ou danos na membrana celular resultando em alteração da sinalização celular⁹; e (iii) história imunológica, ou seja, excesso de estimulação antigênica ao longo da vida (patógenos, parasitas, possivelmente câncer), que pode resultar em "exaustão imune". Esse termo é atribuído a redução gradual das funções celulares que ocorre nas células do sistema imune¹⁰.

As moléculas de inibição, PD1 e PDL1, são fundamentais para a regulação da resposta imune. Neste estudo, foram observados baixos níveis de sPD-L1 no grupo de idosos em comparação ao de adultos jovens. À medida que envelhecemos, os mecanismos de regulação para manter a homeostase fisiológica apropriada podem estar comprometidos¹⁰, sendo o envelhecimento caracterizado por uma imunodeficiência progressiva, inflamação crônica e auto-imunidade⁹. A desregulação imunológica associada à idade (em combinação com outros mecanismos) pode, pelo menos em parte, explicar o processo de envelhecimento⁸.

Como o envelhecimento é associado com ativação crônica do sistema imune, a interação do complexo PD-1/PD-L1 pode ter um papel significativo nos defeitos funcionais das células T provocados pelo avançar da idade²³.

Todo componente do sistema imune é afetado pelo avançar da idade, entretanto as células T sofrem bastante alterações²³. Por isso, o complexo PD-1/PD-L1 pode contribuir para as disfunções das células T associadas ao envelhecer. A proliferação e produção de citocinas pelas células T encontram-se desreguladas com o envelhecimento²³. A ocupação do receptor PD-1 por seu ligante PD-L1 altera a atividade das células T de várias formas, como inibindo a proliferação de células T, sobrevivência celular, produção de citocinas e outras funções efetoras²⁴.

A maioria dos estudos comparando grupos de idosos e jovens foi em modelo experimental, cuja análise foi realizada de PD1/PDL1 na membrana dos linfócitos. Nesse sentido, encontramos um estudo que avaliou os níveis solúveis de sPDL1 em diferentes faixas etárias²⁰. O estudo realizou a dosagem de sPDL1 em indivíduos saudáveis com idade de 1 a 70 anos. Concluiu-se que os níveis de sPDL1 aumentavam com a idade, discordando com os resultados encontrados nessa pesquisa. Por isso, o estudo sobre o sPDL1 em diferentes grupos etários deve ser ampliado.

Quando foi analisado os níveis de sPD-L1 de acordo com o sexo, foi observado uma maior concentração de sPD-L1 em mulheres jovens quando comparado aos homens jovens, isso sugere que os fatores relacionados ao sexo masculino e feminino podem influenciar os níveis de sPD-L1. No entanto, os motivos acerca dessas diferenças em relação ao ligante PD-L1 ainda não estão bem esclarecidos.

O ligante PD-L1 tem um papel fundamental na progressão e manutenção do processo gestacional na mulher, pois a sobrevivência fetal durante a gestação depende de mecanismos de tolerância que suprimam a resposta imune materna aos aloantígenos herdados paternalmente. Dessa forma, o PD-L1 pode agir conferindo tal tolerância por meio de um processo inibitório das células T com o objetivo de proteção fetal^{25,26}.

Na placenta humana, o PD-L1 é expresso pelos sinciciotrofoblastos vilosos e citotrofoblastos, células fetais que se encontram em contato íntimo com o sangue e o tecido materno^{25,26}. A expressão tecidual destes ligantes pode desempenhar um papel crítico na regulação das respostas imunes locais in vivo o que evidencia que o PD-L1 desempenha um papel crítico na tolerância feto-materna. Pesquisas demonstraram que o bloqueio da sinalização de PD-L1 durante a gestação, está atrelado a um aumento na taxa de rejeição fetal, concluindo-se com isso a importância de uma maior concentração de PD-L1 no corpo feminino^{25,26}. Os resultados encontrados nesta pesquisa corroboram a importância dos níveis elevados sPD-L1 em mulheres jovens, seria interessante avaliar essa molécula em diferentes faixas etárias, e de acordo com as fases do ciclo menstrual. Estudos que também avaliem a expressão na forma solúvel e de membrana de PD-L1 em idosos, de ambos os sexos, podem ajudar a compreender o papel dessas moléculas nos processos de envelhecimento e imunossenescência.

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que o sPD-L1 está envolvido no processo de envelhecimento, entretanto a avaliação de sua variação de acordo com o grupo etário deve ser ampliada. A molécula de sPD-L1 pode ser regulada pelos hormônios femininos, porém o envelhecimento não mostrou está envolvido na regulação dessa molécula nas mulheres. Os resultados desse estudo servem como referência para análises comparativas dos níveis encontrados de PDL1 solúveis na população de idosos e adultos jovens.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. National Institute on Aging. Global health and aging. 2011. Disponível em: <https://www.who.int/ageing/publications/global_health.pdf>.
2. Organização Mundial de Saúde. Relatório mundial de envelhecimento e saúde: resumo. Estados Unidos da América: Organização Mundial da Saúde, 2015. 28 p. Disponível em: <<http://sbgg.org.br/wp-content/uploads/2015/10/OMSENVELHECIMENTO-2015-port.pdf>>.
3. Dodig S, Čepelak I, Pavić I. Hallmarks of senescence and aging. *Biochem Med (Zagreb)*. 2019 Oct 15;29(3):030501.
4. Bektas A, Schurman SH, Sen R, Ferrucci L. Human T cell immunosenescence and inflammation in aging. *J Leukoc Biol*. 2017 Oct;102(4):977-988.
5. Hong H, Wang Q, Li J, Liu H, Meng X, Zhang H. Aging, Cancer and Immunity. *J Cancer*. 2019 Jun 2;10(13):3021-3027.
6. Valiathan R, Ashman M, Asthana D. Effects of Ageing on the Immune System: Infants to Elderly. *Scand J Immunol*. 2016 Apr;83(4):255-66.
7. Falandry C, Bonnefoy M, Freyer G, Gilson E. Biology of cancer and aging: a complex association with cellular senescence. *J Clin Oncol*. 2014 Aug 20;32(24):2604-10.
8. 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*. 2012;24(5):331-341.
9. Larbi A, Pawelec G, Wong SC, Goldeck D, Tai JJ, Fulop T. Impact of age on T cell signaling: A general defect or specific alterations? *Ageing Res Rev* 10(3):370-378, 2011.
10. Pawelec G, Lustgarten J, Ruby C, Gravekamp C. Impact of aging on cancer immunity and immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 58(11):1723-1724, 2009.
11. Goronzy J, Cornelia MW. Understanding immunosenescence to improve responses to vaccines. *Nature Immunology* 2013; 14:428-436
12. Odorizzi PM, Wherry EJ. Inhibitory receptors on lymphocytes: insights from infections. *J Immunol* 2012; 188(7):2957-65.
13. Park HJ, Kusnadi A, Lee EJ, et al. Tumor infiltrating regulatory T cells delineated by upregulation of PD-1 and inhibitory receptors. *Cell Immunol* 2012; 278:76-83.
14. Raimondi G, Shufesky WJ, Tokita D, et al. Regulated compartmentalization of programmed cell death-1 discriminates CD4+CD25+ resting regulatory T cells from activated T cells. *J Immunol* 2006; 176:2808-16.
15. Dong H, Strome SE, Salomao DR, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med* 2002; 8:793-800.
16. Dong H, Zhu G, Tamada K, et al. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat Med* 1999; 5:1365-69.
17. Selenko-Gebauer N, Majdic O, Szekeres A, et al. B7-H1 (programmed death-1 ligand) on dendritic cells is involved in the induction and maintenance of T cell anergy. *J Immunol* 2003; 170:3637-44.

18. Ghebeh H, Mohammed S, Al-Omair A, et al. The B7-H1 (PD-L1) T lymphocyte-inhibitory molecule is expressed in breast cancer patients with infiltrating ductal carcinoma: correlation with important high-risk prognostic factors. *Neoplasia* 2006; 8:190-8.
19. Pieren D KJ, Smits NA, de Garde MD; Guichelaar T. Response kinetics reveal novel features of ageing in murine T cells. *Scientific Reports*. 2019 v 9. 5587.
20. Chen Y, Wang Q, Shi B, et al. Cytokine Development of a sandwich ELISA for evaluating soluble PD-L1 (CD274) in human sera of different ages as well as supernatants of PD-L1 + cell lines. *Cytokine*. 2011;56(2):231-238.
- 22 Prasad S, Sung B, Aggarwal BB. Age-associated chronic diseases require age-old medicine: Role of chronic inflammation. *Preventive Medicine* 2012; 54:29-37.
23. Barnes PJ. Mechanisms of development of multimorbidity in the elderly. *Eur Respir J* 2015; 45(3): 790-806.
24. Xia S, Zhang X, Zheng S, et al. An Update on Inflamm-Aging: Mechanisms, Prevention and Treatment. *J Immunol Res* 2016; 1-12.
25. Lages CS, Lewkowich I, Sproles A, Wills-karp M. Partial restoration of T-cell function in aged mice by in vitro blockade of the PD-1/PD-L1 pathway. *Aging Cell*. 2010 Oct;9(5):785-98
26. Sun C, Mezzadra R, Schumacher TN. Review Regulation and Function of the PD-L1 Checkpoint. *Immunity*. 2018;48(3):434-452.
27. Guleria I, Khosroshahi A, Ansari MJ, et al. A critical role for the programmed death ligand 1 in fetomaternal tolerance. *J Exp Med*. 2005 Jul 18;202(2):231-7.
28. Tripathi S, Guleria I. Role of PD1/PDL1 pathway, and TH17 and treg cells in maternal tolerance to the fetus. *Biomed J*. 2015 Jan-Feb;38(1):25-31.

FIGURAS

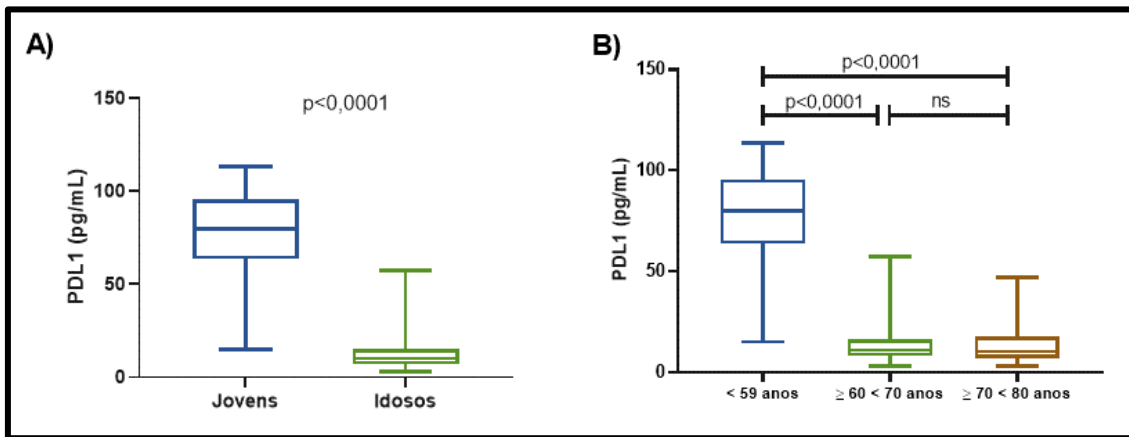


Figura 1. Análises dos níveis séricos de sPD-L1 no sangue periférico de pacientes adultos jovens e idosos. Os gráficos foram representados em mediana e interquartil 25-75. Foi considerado significativo $p < 0.05$. NS: não significativo.

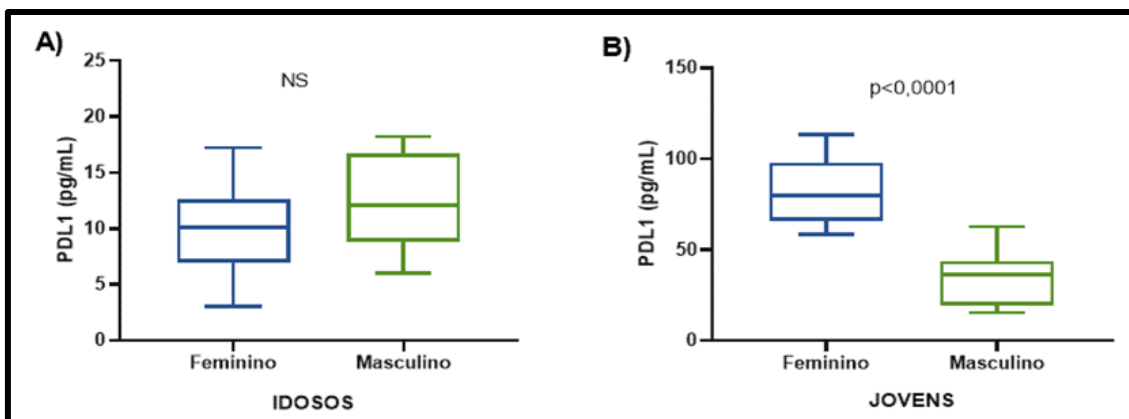


Figura 2. Análises dos níveis séricos de sPD-L1 no sangue periférico de pacientes adultos jovens e idosos de acordo com o sexo. Os gráficos foram representados em mediana e interquartil 25-75. Foi considerado significativo $p < 0.05$. NS: não significativo.